



Universidade Federal de Goiás
Faculdade de Odontologia
Programa de Pós Graduação



Avaliação do efeito do ozônio na dentina exposta a biofilme

Rafaella Mosquera CHAVES¹; Carlos ESTRELA²; Paula de Carvalho CARDOSO³;
Lawrence Gonzaga LOPES³

¹Aluna do Programa de Pós Graduação em Odontologia da FO-UFG. ² Professor adjunto da Disciplina de Endodontia da FO-UFG. ³ Professor (a) adjunto das disciplinas de Dentística e Materiais Dentários da Fo-UFG.

Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás (FO-UFG); Programa de Pós Graduação em Odontologia; Telefone/ Fax: (62) 35211882/32096059; Endereço eletrônico- www.ufg.br ; Endereço- Avenida Universitária, esquina com 1ª Avenida, s/n Setor Universitário CEP: 74605-220 - Goiânia, Goiás

Correspondência autor: ramosquera_odonto@hotmail.com

Palavras-chave: Dentina, ozônio, biofilme oral.

1- INTRODUÇÃO

O ozônio é um potente agente oxidante, o que o torna um poderoso agente antimicrobiano¹. Devido a suas propriedades bactericida, fungicida e virucida, o ozônio é muito utilizado na Medicina e, atualmente, na Odontologia vêm sendo usado no tratamento de lesões cariosas, na estomatologia, endodontia, periodontia e cirurgia^{1,2,3,4}.

A utilização do ozônio apresenta-se como uma alternativa conservadora no tratamento de lesões de cárie, devido sua comprovada propriedade antimicrobiana na inibição e/ou destruição de muitos microrganismos orais, tais como microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e *Candida albicans*^{4,5,6}. O seu uso no tratamento das lesões cariosas é baseado na atividade antimicrobiana, com capacidade de oxidar proteínas presentes nas lesões, permitindo a difusão de íons cálcio e fosfato pelas lesões cariosas e resultando na remineralização dos tecidos dentários afetados^{4,6}. Além disso, o ozônio pode descarboxilar o ácido pirúvico, o ácido mais forte produzido naturalmente pelas bactérias cariogênicas durante a cariogênese. Desta forma, a remineralização de lesões de cáries incipientes pode

ocorrer quando a produção de ácido acético, ou outro ácido com alto pKa presente no biofilme, tampone o fluido do biofilme^{2,3,6}.

Teoricamente, o ozônio pode reduzir a contagem bacteriana em lesões de cárie ativa e, conseqüentemente, pode estabilizar temporariamente a progressão da cárie, resultando em prevenção ou retardando a necessidade de restauração do dente. Esta terapia pode, portanto, ser uma alternativa e / ou estratégia complementar de tratamento em Odontologia^{1,3,4,6}.

Existem vários estudos que mostram que o ozônio tem efeito antibacteriano e pode levar a remineralização de lesões de cáries incipientes^{1,2,3,5,6}. Porém a literatura não dispõe de nenhum estudo que avalie o efeito no substrato que esse agente oxidante pode induzir. O presente estudo vem preencher essa lacuna do conhecimento por meio da utilização da Espectroscopia de Energia Dispersiva para avaliar o conteúdo mineral na dentina exposta a biofilme antes e após a terapia com ozônio.

2- METODOLOGIA

2.1- Obtenção e seleção da amostra

Vinte terceiros molares humanos inclusos, hígidos, livres de cárie e com ausência de defeitos ou trincas serão extraídos, por indicação prévia de exodontia, durante as disciplinas de Estágio em Clínica Integrada I, II e III da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás. A utilização de tecidos humanos seguirá um protocolo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás.

2.2- Preparo das amostras

Os dentes recém-extraídos serão raspados com uma cureta periodontal 13/14 Hu-Friedy para a remoção de restos de ligamento periodontal e armazenados, em água deionizada a 4°C, contendo Timol a 0,2% (Terapêutica Pharmacia de Manipulação, Goiânia, GO, Brasil) a fim de prevenir a desidratação e o crescimento bacteriano.

Os dentes serão fixados horizontalmente em suportes de acrílico (4,0 cm x 2,5 cm x 0,3 cm) com godiva de baixa fusão Exata (DFL Indústria e Comércio Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e serão acoplados ao dispositivo da cortadeira

metalográfica LabCut 1010 para serem cortados no sentido perpendicular ao longo eixo do dente para obter-se “fatias” de dentina com aproximadamente 1mm de espessura . Com a utilização de um disco de corte diamantado, em baixa velocidade (250 rpm), com constante irrigação, será realizado um corte à aproximadamente 2,5 mm acima da junção amelo-cementária e outro corte a 1mm abaixo do primeiro corte.

Em seguida, cada disco de dentina será seccionado em cinco partes para produzir, assim, um total de cinco amostras por dente. Posteriormente as “fatias” obtidas serão polidas com lixas de carbetto de silício (SiC paper), na seguinte sequência nº 600, 1000 e 1200, com irrigação constante.

Para minimizar a variabilidade entre as diferentes fatias” de dentina, as cinco amostras de cada dente serão divididas aleatoriamente entre dois grupos experimentais (n=25, 50 amostras para todos os grupos), contendo cinco subgrupos cada (um controle e quatro experimentais), como descritos no fluxograma apresentado na Figura 1.

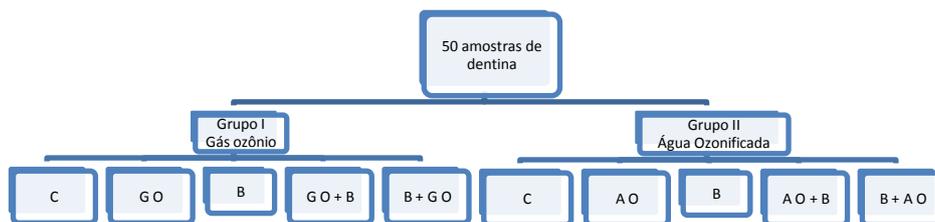


Figura 1 Apresentação dos grupos de estudo e procedimentos realizados em seu respectivo grupo

(C- Controle; G O- Gás ozônio; B- Biofilme; A O- Água ozonificada)

2.3- Desenvolvimento de biofilme

A cepa de referência de Gram-positivos anaeróbios facultativos cocos (*S. mutans*), proveniente da American Type Culture Collection será utilizada para a formação de biofilme. Cinco ml de "Brain Heart Infusion (BHI) serão misturados com 5 mL de inóculo bacteriano (*S. mutans*) e inoculados com volume suficiente para preencher os discos de dentina durante 28 dias. Este procedimento será repetido a cada 72 horas, sempre utilizando 24 h de cultura pura preparada e ajustada para o número de turbidez MacFarland 1 padrão.

2.4- Gás Ozônio e Água Ozonizada

Para o grupo I, o ozônio será aplicado numa concentração de 7,0 g/L por 40s, utilizando um gerador de gás ozônio acoplado a uma autoclave. O dente, após

secagem com papel absorvente, será colocado no interior da autoclave com a superfície dentinária exposta, posicionada abaixo do orifício de saída do gás ozônio.

No grupo II, o ozônio será produzido por meio de uma descarga elétrica através de oxigênio atômico (PXZ3507; Eaglesat Tecnologia em Sistemas Ltda, São José dos Campos-SP, Brasil) e borbulhará diretamente na tubo de penicilina em 5ml de água destilada estéril a uma taxa de fluxo de ozônio 7 g h^{-1} (1,2%).

2.5- Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS-Energy Dispersive Spectroscopy)

O objetivo da EDS será analisar o conteúdo mineral no espécime antes da exposição ao biofilme e da terapia com ozônio e, posteriormente, estudar as mudanças no conteúdo mineral (em termos de registro, Log Ca:P) do tecido dentário calcificado na área desmineralizada sob o biofilme gerado no disco de dentina sob ação do biofilme. Por meio da utilização da EDS, será feita uma avaliação do log Ca:P no centro da amostra, formando uma linha na vertical e outra na horizontal com o intuito de atingir áreas desmineralizadas e adjacentes à zona desmineralizada.

2.6- Tratamento e análise dos dados

Todas as amostras de cada grupo serão primeiramente submetidas a EDS e as imagens serão analisadas e quantificadas para comparação quanto ao conteúdo mineral (Log Ca/P) do tecido calcificado da amostra (dentina). Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância (Anova) seguido pelo teste de comparações múltiplas Tukey ($p=0,05$)

2.7- Estudo Preliminar

O estudo preliminar foi realizado para verificar a validação e aplicabilidade da metodologia proposta. Foi feita a análise de 4 amostras do grupo controle para avaliar o conteúdo mineral das mesmas em dois pontos diferentes utilizando a ferramenta EDS. O resultado da análise está apresentado nos Gráficos 1 e 2, Tabela 1 e Figura 2 abaixo.

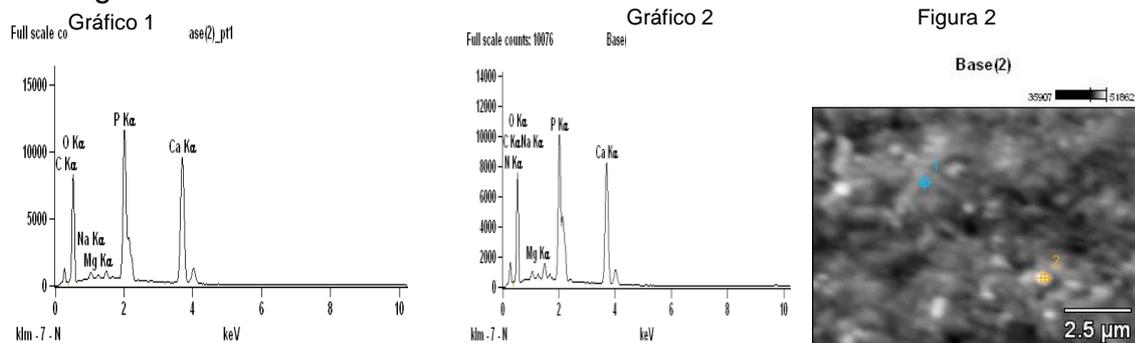


Tabela 1: Composição %

	C	N	O	Na	Mg	P	Ca
Base(2)_pt1	3.27		44.86	0.93	0.50	15.69	34.75
Base(2)_pt2	4.76	3.25	44.45	1.19	0.73	13.05	32.58

Além de permitir uma análise pontual, a ferramenta EDS faz uma varredura na amostra a partir de uma reta determinando a distribuição dos elementos ao longo dessa, como podemos observar na Figura 3 e no Gráfico 3.

Figura 3

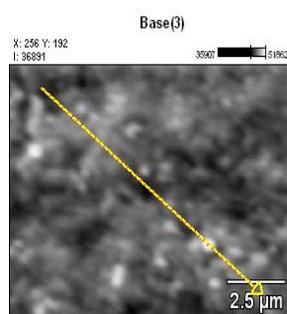
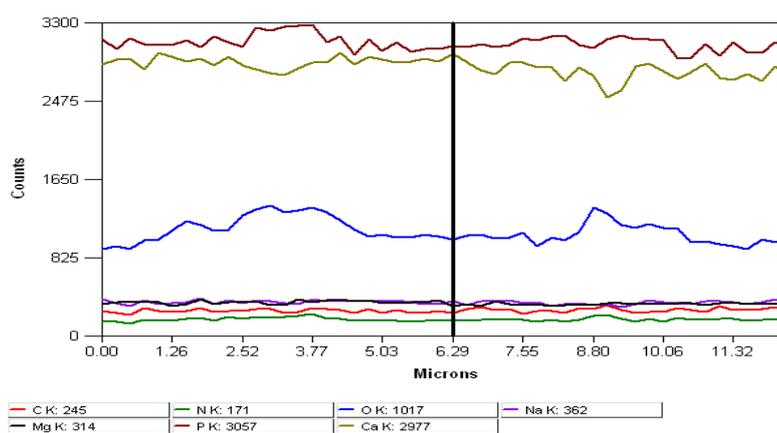


Gráfico 3: Base(3)



3- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- BAYSAN, A. et al. The use of ozone for the management of primary root carious lesions. Tissue Preservation and Caries Treatment. **Quintessence Book** 2001, Chapter 3, 49-67.
- 2- STUBINGER, S. et al. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: A review. **Quintessence Int**, v. 37, p. 353-359, 2006.
- 3- NOGALES, C.G. et al. Ozone therapy in medicine and dentistry. **J Contemp Dent Pract**, v. 9, p. 75-84, 2008.
- 4- HODSON, N. et al. Using ozone to treat dental caries. **J Esthet Restor Dent**, v. 19, p. 303-05, 2007.
- 5- NAGAYOSHI, M. et al. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. **Oral Microbiol Immunol**, v. 19, p. 240-246, 2004.
- 6- POLUDOROU, O. et al. Antibacterial effect of an ozone device and its comparison with two dentin-bonding systems. **Eur J Oral Sci**, v. 114, p. 349-353, 2006.