

Inês Virgínia Rocha Martins

Aplicação do Ozônio na Terapêutica do Sistema de Canais
Radiculares: Revisão de Literatura

Brasília
2018

Inês Virgínia Rocha Martins

Aplicação do Ozônio na Terapêutica do Sistema de Canais
Radiculares: Revisão de Literatura

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Departamento de Odontologia da Faculdade de
Ciências da Saúde da Universidade de Brasília,
como requisito parcial para a conclusão do curso
de Graduação em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Edson Dias Costa Junior

Brasília
2018

Aos meus queridos pais,
por todo amor, dedicação e apoio.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Gilsa e Luiz Gonzaga, que com amor e muita credibilidade investiram na minha formação e me ensinaram o valor da educação e a importância de uma carreira profissional. Obrigada pela coragem que tiveram de buscarem uma vida, em que a Isabel e eu tivéssemos mais oportunidades. Serei imensamente grata à minha mãe por me ensinar que sonhos são o que impulsionam a nossa vida, dão sentido, nos fazem crescer e para realizá-los basta ter persistência, dedicação e responsabilidade.

À minha irmã, Isabel, obrigada pelo companheirismo desde o tempo de escola, cursinho e até hoje. E por sempre me ajudar em tudo.

Ao Flávio e ao Enzo, que marcaram essa graduação tanto pelos desafios extras quanto pelo imenso amadurecimento, incentivo e alegrias que uma família proporciona. Vocês sempre serão uma parte muito importante nisso tudo!

Ao Enzo, por ser o presente mais lindo que Deus me deu, por ter me ajudado a ser uma pessoa melhor, mais forte, mais determinada. Ser sua mãe é sem dúvida minha maior missão, meu maior desafio e motivo de grande felicidade.

Aos professores que tive ao longo de todos esses anos por fazerem parte da minha formação. Em especial, ao Neto (Dínatos), Gastão e César (Exatas), que contribuíram para o sonho de ingressar numa universidade como a UnB.

Aos meus amigos de graduação da turma 67, pelos aprendizados e companheirismo. Especialmente: João Sinott, Ana Carolina, Alan Rocha, Camila Harumi, Raquel Vitória, Álvaro Medeiros, Camila Gontijo e a super querida Francisca Iresdania por todas as risadas e os dindins deliciosos que tornavam o almoço mais interessante. Vocês tornaram a minha jornada mais leve e mais proveitosa!

Aos queridos amigos, Carol e Alan, vocês foram fundamentais nessa trajetória! Obrigada pelo compartilhamento de material de estudo, resumos, horas no WhatsApp discutindo questões. Agradeço pelo carinho, amizade e gentileza em terem me ajudado nos momentos difíceis.

Ao João Sinott, meu grande amigo, por ter feito dupla comigo, por me acalmar antes de algum procedimento/trabalho difícil. Obrigada por tornar os atendimentos clínicos mais divertidos, mais leves e mais tranquilos. Você é um ser humano incrível e exemplo de que estudar é maravilhoso e que a gente não deve se cansar nunca de buscar novos conhecimentos.

Às minhas amigas de infância, Bruna e Láyra (in memoriam), por todos esses anos de amizade e encorajamento. Obrigado pelo apoio, incentivo e por compartilharem sonhos comigo desde a infância.

À Universidade de Brasília, funcionários e todos os professores da Odontologia que se dedicam tanto para que tenhamos um curso de excelência. Vocês foram extremamente importantes para o meu aprendizado. Em especial, à professora Aline Úrsula, com quem aprendi conceitos muito além dos acadêmicos. Obrigada por estar sempre pronta para ajudar, por sempre ter uma palavra amiga que traz conforto e confiança. Tenho grande admiração pelo ser trabalho e pela pessoa maravilhosa que é.

Ao professor Edson, que é uma das minhas grandes referências na UnB por sua ética, inteligência e profissionalismo. O senhor é minha inspiração e exemplo a ser seguido! A minha paixão pela endodontia vem em parte pelo que aprendi com o seu trabalho. Obrigada pelo aprendizado e orientação neste trabalho de conclusão de curso.

EPÍGRAFE

“Porque te digo uma coisa, Sancho, que boca sem queixais é
como moinho sem mós; e muito mais se-há de estimar um dente,
que um diamante.”

(Dom Quixote de La Mancha. Miguel de Cervantes; 1605)

RESUMO

MARTINS, Inês Virgínia Rocha. Aplicação do Ozônio na Terapêutica do Sistema de Canais Radiculares. Revisão de Literatura. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Os microrganismos são os principais desencadeadores das alterações patológicas que acometem a polpa e os tecidos perirradiculares, sua eliminação e neutralização de endotoxinas é o foco da terapia endodôntica. Constantemente buscam-se novas técnicas e tecnologias que possam auxiliar nessa terapêutica para atingir o objetivo do tratamento e que não causem dano aos tecidos periapicais. Nesse contexto é que tem crescido o interesse na utilização do ozônio. Este trabalho teve como objetivo revisar a literatura científica pertinente ao uso da ozonioterapia na terapêutica dos canais radiculares, quanto à eficácia antimicrobiana e ação biológica. Artigos científicos na língua inglesa foram reunidos por meio da base de dados Pubmed, usando os descritores catalogados: ozone in endodontics OR root canal OR root canal therapy OR root canal preparations AND ozone OR ozonated water OR ozonated oil OR ozone gas. Estudos demonstraram que o ozônio é aplicado na forma de gás (oxigênio/ozônio), dissolvido na água como agente irrigante e óleo ozonizado como medicação intracanal. A aplicação do ozônio na terapêutica do sistema de canais representa um tratamento altamente biológico, indolor ao paciente, capaz de melhorar a assepsia dos canais e é considerada coadjuvante ao tratamento convencional com eficácia antimicrobiana e biocompatibilidade. Associado a outras substâncias, a mistura ozônio-oxigênio tem mostrado resultados clínicos e laboratoriais entusiasmantes. Entretanto, muito há de se investigar sobre características de aplicação, concentrações e dosagens totais do ozônio para concluir sobre suas vantagens e desvantagens.

ABSTRACT

MARTINS, Inês Virgínia Rocha. Application of Ozone in the Therapy of the Root Canals System. Literature review. 2018. Undergraduate Course Final Monograph (Undergraduate Course in Dentistry) - Department of Dentistry, School of Health Sciences, University of Brasília.

The microorganisms are the main triggers of the pathological alterations affecting the pulp and periradicular tissues, their elimination and neutralization of endotoxins is the focus of endodontic therapy. We constantly seek new techniques and technologies that may aid in this therapy to achieve the goal of treatment and that do not cause damage to the periapical tissues. In this context, there is an increasing interest in the use of ozone. This work aimed to review the scientific literature relevant to the use of ozone therapy in the treatment of root canals, regarding antimicrobial efficacy and biological action. Scientific articles in the English language were gathered through the Pubmed database, using the cataloged descriptors: ozone in endodontics OR root canal OR root canal preparations OR ozone OR ozone OR ozone OR ozone gas. Studies have shown that ozone is applied in the form of gas (oxygen / ozone), dissolved in water as an irrigating agent and ozonated oil as intracanal medication. The application of ozone in the therapy of the canal system represents a highly biological treatment, painless to the patient, able to improve the asepsis of the channels and is considered as an adjunct to the conventional treatment with antimicrobial efficacy and biocompatibility. Associated with other substances, the ozone-oxygen blend has shown exciting clinical and laboratory results. However, much research is needed on the application characteristics, concentrations and total dosages of ozone to conclude about its advantages and disadvantages.

SUMÁRIO

Artigo Científico	18
Folha de Título.....	20
Resumo	21
Abstract.....	22
Introdução.....	23
Metodologia	24
Ozônio - aspectos gerais.....	25
Ozonioterapia na Endodontia.....	27
Discussão	30
Refências bibliográficas	35
Anexos.....	40
Normas da revista	40

ARTIGO CIENTÍFICO

Este trabalho de Conclusão de Curso é baseado no artigo científico:

MARTINS, Inês Virgínia Rocha; COSTA-JUNIOR, Edson Dias. Aplicação do Ozônio na Terapêutica do Sistema de Canais Radiculares: Revisão de Literatura.

Apresentado sob as normas de publicação do Brazilian Dental Journal.

FOLHA DE TÍTULO

Aplicação do Ozônio na Terapêutica do Sistema de Canais Radiculares: Revisão de Literatura

*Application of Ozone in the Therapy of the Root Canals System:
Literature review*

Inês Virgínia Rocha Martins¹

Edson Dias Costa Junior²

¹ Aluna de Graduação em Odontologia da Universidade de Brasília.

² Professor Adjunto de Endodontia da Universidade de Brasília

Correspondência: Prof. Dr. Edson Dias Costa Junior
Campus Universitário Darcy Ribeiro - UnB - Faculdade de
Ciências da Saúde - Departamento de Odontologia - 70910-900 -
Asa Norte - Brasília - DF
E-mail: edsondias@unb.br / Telefone: (61) 3107-1909

RESUMO

Aplicação do Ozônio na Terapêutica do Sistema de Canais Radiculares: Revisão de Literatura

Resumo

Os microrganismos são os principais desencadeadores das alterações patológicas que acometem a polpa e os tecidos perirradiculares, sua eliminação e neutralização de endotoxinas é o foco da terapia endodôntica. Constantemente buscam-se novas técnicas e tecnologias que possam auxiliar nessa terapêutica para atingir o objetivo do tratamento e que não causem danos aos tecidos periapicais. Nesse contexto é que tem crescido o interesse na utilização do ozônio. Este trabalho teve como objetivo revisar a literatura científica pertinente ao uso da ozonioterapia na terapêutica dos canais radiculares, quanto à eficácia antimicrobiana e ação biológica. Artigos científicos na língua inglesa foram reunidos por meio da base de dados Pubmed, usando os descritores catalogados: ozone in endodontics OR root canal OR root canal therapy OR root canal preparations AND ozone OR ozonated water OR ozonated oil OR ozone gas. Estudos demonstraram que o ozônio é aplicado na forma de gás (oxigênio/ozônio), dissolvido na água como agente irrigante e óleo ozonizado como medicação intracanal. A aplicação do ozônio na terapêutica do sistema de canais representa um tratamento altamente biológico, indolor ao paciente, capaz de melhorar a assepsia dos canais e é considerada coadjuvante ao tratamento convencional com eficácia antimicrobiana e biocompatibilidade. Associado a outras substâncias, a mistura ozônio-oxigênio tem mostrado resultados clínicos e laboratoriais entusiasmantes. Entretanto, muito há de se investigar sobre características de aplicação, concentrações e dosagens totais do ozônio para concluir sobre suas vantagens e desvantagens.

Palavras-chave

Ozônio na endodontia; Terapia dos Canais Radiculares; Ozônio; Água ozonizada; Óleo Ozonizado; Gás Ozônio; Ozonioterapia.

ABSTRACT

Application of Ozone in the Therapy of the Root Canals System: Literature review

Abstract

The microorganisms are the main triggers of the pathological alterations affecting the pulp and periradicular tissues, their elimination and neutralization of endotoxins is the focus of endodontic therapy. We constantly seek new techniques and technologies that may aid in this therapy to achieve the goal of treatment and that do not cause damage to the periapical tissues. In this context, there is an increasing interest in the use of ozone. This work aimed to review the scientific literature relevant to the use of ozone therapy in the treatment of root canals, regarding antimicrobial efficacy and biological action. Scientific articles in the English language were gathered through the Pubmed database, using the cataloged descriptors: ozone in endodontics OR root canal OR root canal preparations OR ozone OR ozone OR ozone OR ozone gas. Studies have shown that ozone is applied in the form of gas (oxygen / ozone), dissolved in water as an irrigating agent and ozonated oil as intracanal medication. The application of ozone in the therapy of the canal system represents a highly biological treatment, painless to the patient, able to improve the asepsis of the channels and is considered as an adjunct to the conventional treatment with antimicrobial efficacy and biocompatibility. Associated with other substances, the ozone-oxygen blend has shown exciting clinical and laboratory results. However, much research is needed on the application characteristics, concentrations and total dosages of ozone to conclude about its advantages and disadvantages.

Keywords

Ozone in endodontics; Root Canal Therapy; Ozone; Ozonated Water; Ozonated oil; Ozone gas; Ozone Therapy.

INTRODUÇÃO

Microrganismos são os principais desencadeadores das alterações patológicas que acometem a polpa e os tecidos perirradiculares. Sua eliminação, neutralização de endotoxinas e resíduos orgânicos em decomposição por meio do preparo cirúrgico do sistema de canais radiculares, acrescido do uso de substâncias irrigadoras, auxiliares e medicação intracanal é o foco da terapia endodôntica (1). Hipoclorito de sódio em concentrações diferentes é a solução irrigadora mais empregada mundialmente durante o preparo cirúrgico do sistema de canais e a clorexidina gel a 2% ganhou expressão nos últimos anos como substância auxiliar da instrumentação. O hipoclorito tem a vantagem na dissolução de tecidos necróticos e a clorexidina por sua substantividade e biocompatibilidade. Constantemente buscam-se novas substâncias que possam auxiliar nessa terapêutica, de forma que sejam antimicrobianos e que não causem dano aos tecidos periapicais. Nesse contexto é que tem crescido o interesse na utilização do ozônio como coadjuvante na prática endodôntica (2).

Trata-se de um gás formado por três átomos de oxigênio, encontrado facilmente em alta atmosfera e serve como um filtro contra as radiações ultravioletas emitidas pelo sol. É bastante reativo, incolor, parcialmente solúvel em água, possui odor forte, penetrante e desagradável. É instável e sua vida média é de 30 a 40 minutos a 20 °C (3). A ozonioterapia pode ser definida como um método que utiliza a mistura dos gases oxigênio (O_2) e ozônio (O_3) combinados na proporção de 95 a 99,95% de O_2 e 0,05 a 5% de O_3 , de forma terapêutica no tratamento de diversas doenças. É reconhecida por sua capacidade de melhorar oxigenação tecidual, ativação imune, propriedade antioxidante e antimicrobiana (4).

O ozônio tem grande potencial de uso na endodontia devido à sua propriedade antimicrobiana e por ser biocompatível

com os tecidos orais. É aplicado topicamente na forma de gás (oxigênio/ozônio), água ozonizada e óleo ozonizado, isoladamente ou em associação. A água ozonizada e o gás são usados como irrigante em canais necróticos e óleo ozonizado como medicação intracanal (5).

O presente estudo objetivou fazer uma revisão da literatura científica pertinente ao uso do ozônio aplicado à terapêutica dos canais radiculares, quanto à eficácia antimicrobiana e ação biológica.

METODOLOGIA

Para a presente revisão foram pesquisados artigos na língua inglesa com abordagens no tema ozonioterapia na área de endodontia. Foi utilizada a base de dados Pubmed (último acesso em abril de 2018). A busca foi realizada por descritores catalogados (MeSH/DeCS), interligados por operadores booleanos: “ozone in endodontics OR root canal OR root canal therapy OR root canal preparations” AND “ozone OR ozonated water OR ozonated oil OR ozone gas” AND “ozone”. A busca obteve 40 artigos, todos foram revisados e artigos não relacionados ao objetivo da pesquisa e revisões gerais foram excluídos, ao total 24 artigos foram incluídos.

OZÔNIO - ASPECTOS GERAIS

O poder antimicrobiano do ozônio é atribuído à sua atividade altamente oxidante sobre os ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares de bactérias e fungos e inibe e bloqueia o sistema de controle enzimático celular, resultando em aumento da permeabilidade da membrana plasmática. Com isso as moléculas de ozônio entram nas células, onde podem se recombinar com os elementos citoplasmáticos; oxidando aminoácidos e ácidos nucleicos causando lise celular (6,7,8). Esse efeito é seletivo para células microbianas, já que as células de mamíferos possuem capacidade antioxidante. Possui também ação antiinflamatória e analgésica, com alívio da dor devido à modulação do metabolismo celular, favorecendo a oxigenação tecidual e imunomodulação (7,9).

O gás ozônio utilizado na odontologia é produzido por geradores elétricos que formam ozônio por meio do chamado efeito corona, que consiste basicamente na passagem de oxigênio puro por um campo elétrico, que leva a dissociação do oxigênio e os átomos instáveis de oxigênio ligam-se a outros átomos, formando o ozônio. Para que o ozônio seja produzido de forma adequada alguns padrões devem ser seguidos; como o uso de oxigênio puro pelos geradores e não o ar ambiente, pois este contém nitrogênio, o que leva a produção de compostos nitrogenados. A água deve ser bidestilada, para evitar que subprodutos tóxicos sejam formados, devido aos íons presentes, e refrigerada, para garantir maior concentração de gás dissolvido (10). A concentração do ozônio vai depender da composição do gás, se oxigênio puro ou ar, frequência, fluxo e voltagem do gerador (8).

Diversos modelos de geradores estão disponíveis no mercado, um dos mais usados nos estudos analisados é o HealOzone (Kavo, Biberach, Alemanha) que fornece

concentração fixa de aproximadamente 4 µg/ml e dosagem final entre 0,06 e 8,20 de gás ozônio. A maioria das pesquisas avaliadas fez aplicação durante 120 segundos. Recentemente, esse gerador foi substituído por outro, HealOzone X4 (CurOzone, Wiesbaden, Alemanha), que fornece ozônio na concentração de 32 µg/ml, especialmente para o tratamento endodôntico. Devido aos perigos de inalação do gás ozônio, o desing de qualquer equipamento para uso na cavidade bucal deve estar livre de criar um risco para o dentista e principalmente, para o paciente em tratamento. Então, esse dispositivo assim como o anterior tem um sistema de sucção a vácuo que recobre o dente e protege o paciente da inalação indesejada de ozônio.

O ozônio não deve ser inalado, porque o sistema antioxidante pulmonar é muito sensível à oxidação. Efeitos colaterais que incluem: irritação respiratória, rinite, tosse, dor de cabeça, dependem da concentração, do tempo de exposição e da capacidade do organismo em regular os radicais livres. São proibidas as injeções intravenosas de gás ozônio pela sociedade europeia de ozonioterapia desde 1983, devido ao risco de embolia pulmonar. No entanto, complicações causadas pela terapia de ozônio são raras (0.0007 por aplicação). No caso de intoxicação o paciente deve ser colocado em posição supina, inalar oxigênio úmido e ingerir ácido ascórbico, n-acetilcisteína e vitamina E (4).

A ozonioterapia foi reconhecida pelo Conselho Federal de Odontologia como procedimento odontológico em novembro de 2015. É requisito para habilitação, conclusão de curso de formação específico com comprovação de formação por meio de certificação expedido por uma instituição de ensino superior devidamente registrada no Ministério da Educação com conteúdo programático da habilitação em ozonioterapia aplicada à odontologia.

OZONIOTERAPIA NA ENDODONTIA

Na Endodontia, a propriedade antimicrobiana é a mais estudada pelo fato das infecções serem polimicrobianas. O ozônio é empregado durante o preparo dos canais tanto na forma de gás, água ozonizada como irrigante e óleo ozonizado como medicação intracanal, podendo essas formas de aplicação serem usadas individualmente ou em combinação.

Foi demonstrada eficácia antimicrobiana significativa com irrigação de água ozonizada (7,8,11-17) na redução de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Peptostreptococcus micros*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* em canais radiculares infectados, principalmente quando realizada com auxílio de agitação ultrassônica (7,16). A água ozonizada em concentração de até 5 µg/ml foi eficaz contra microrganismos na forma planctônica. E quando organizados na forma de biofilme, a eliminação foi quase completa com o uso de concentração mais elevada, como 20 µg/ml (8,13). Além do poder antimicrobiano, apresentou biocompatibilidade com células orais (7,9,15).

Nogales et al.; 2016 (15), demonstraram que a ozonioterapia aplicada a um protocolo convencional com instrumentação dos canais radiculares e uso de substâncias comumente utilizadas na endodontia, como ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), Endo-PTC (creme composto de peróxido de uréia, polissorbato 80 e carbowax) e hipoclorito de sódio (NaOCl), proporcionou melhores resultados na descontaminação dos canais em comparação com o tratamento convencional sem uso de ozônio. Nesse estudo foi observado que a água ozonizada a 8 µg/ml (Philozon, Balneário Camboriú, Santa Catarina, Brasil) em comparação com o gás ozônio na concentração de 40 µg/ml, aplicado por 30 segundos, foi mais eficaz, por conseguir eliminar o biofilme das três espécies avaliadas. Adotando os mesmos parâmetros de concentração e tempo de exposição, um estudo

recente (17) obteve resultados semelhantes em canais radiculares de molares com curvatura severa. Corroborando para indicação de que a água ozonizada pode ser uma opção complementar para redução microbiana na terapêutica endodôntica. No entanto, outros autores (11,12) consideraram que tanto o gás quanto a água ozonizada foram ineficazes em eliminar biofilme de *E. faecalis*.

Quanto ao ozônio gasoso, vários estudos demonstraram sua eficácia contra patógenos endodônticos, tanto em suspensão quanto em biofilme (11-13,15,18-27). Dentre esses estudos, o de Huth et al., 2009 (13), avaliou ozônio gasoso (Ozonosan photonic, Dr Haensns, Alemanha) sobre biofilme de *E. faecalis*, *C. albicans*, *P. aeruginosa* incubados durante três semanas em dentes humanos. Foram aplicadas concentrações de 1 a 53 µg/ml. Ozônio gasoso em alta concentração de 32 µg/ml foi capaz de eliminar completamente o biofilme de *E. faecalis* e *P. aeruginosa* por um tempo de exposição de 1 minuto. Em concentração mais baixa, 4 µg/ml, foi eficaz contra o biofilme de *E. faecalis*, desde que o tempo de exposição ao ozônio fosse um pouco maior, pelo menos 2,5 minutos. Apenas o biofilme de *C. albicans* não foi completamente erradicado. Os autores concluíram que a eficácia antimicrobiana depende da concentração (dose), tempo e do microrganismo avaliado.

Avaliando os resultados dos estudos que compararam a eficácia do ozônio gasoso aplicado sozinho ou associado a soluções convencionais no tratamento endodôntico, como NaOCl, EDTA, clorexidina (19,22-24), pôde-se observar que ozônio gasoso foi significativamente eficiente, mas quando em associação exibiu resultados superiores. Já o estudo de Kaptan et al.; 2014 (25), avaliou a aplicação isolada de ozônio gasoso (OzonytronX, Mymed, Alemanha), realizada 5 vezes ao longo de dezenove dias, o que demonstrou efeito antibacteriano positivo e crescente. A única desvantagem que os autores comentaram quanto a esse protocolo de aplicação de doses sucessivas de

ozônio é o aumento no número de sessões, o que torna o tratamento mais longo. Outro estudo (26) observou que a combinação de ozônio gasoso com hipoclorito resultou em redução bacteriana semelhante ao tratamento de duas sessões usando medicação intracanal a base de hidróxido de cálcio.

Os microrganismos não são os únicos responsáveis pelas falhas do tratamento endodôntico, existe a preocupação em neutralizar as suas endotoxinas presentes na membrana externa de bactérias gram-negativas com potente ação citotóxica, como a endotoxina LPS (complexos lipopolissacarídicos) de *Escherichia coli*, que embora não seja uma bactéria comumente encontrada nos canais radiculares com polpa necrosada, sua endotoxina apresenta uma estrutura básica responsável pela atividade endotóxica relacionada com reações teciduais apicais. E os resultados dos estudos demonstraram que tanto o gás ozônio (27) quanto a água ozonizada (8) não foram capazes de neutralizar o LPS inoculado no interior dos canais radiculares.

Além da forma aquosa e gasosa, o ozônio pode ser apresentado sob forma de óleo, que libera oxigênio ativo lentamente conferindo efeito prolongado, podendo ser armazenado por vários meses quando mantido sob-refrigeração. Possui atividade antimicrobiana, ativação da oxigenação dos tecidos, auxilia na regeneração tecidual e propriedades cicatrizantes. Foi analisado como medicação intracanal e obteve taxa de sucesso significativo no reparo de lesões perirradiculares, demonstrando potencial de uso como medicação intracanal (28). A hidrólise dos óleos ozonizados pode gerar peróxido de hidrogênio, aldeído e cetonas, que são antimicrobianos. Uma avaliação química da ozonização dos óleos de girassol, mamona, oliva, amêndoa e propilenoglicol, concluiu não haver percentual de ozônio em nenhuma das amostras e presença de formaldeído foi encontrada, sugerindo que a ação bactericida e curativa dos óleos ozonizados poderia

ser atribuída aos seus subprodutos e não ao ozônio propriamente dito (29). Outro estudo relatou eficácia na associação do ozônio com o propilenoglicol como medicação em canais contaminados com *Enterococcus faecalis* (30).

Estudos in vivo (31,32), demonstraram que a ozonioterapia obteve eficácia antimicrobiana na terapia dos canais radiculares, com resultados positivos quanto a diminuição de lesão periapical, redução microbiana e taxa de sucesso no tratamento de periodontite apical avaliada em seis e doze meses após o tratamento endodôntico em dentes com periodontite apical.

DISCUSSÃO

Os microrganismos podem sobreviver aos efeitos da instrumentação em aproximadamente 40-60% dos casos, devido à complexidade da anatomia pulpar, à capacidade dos microrganismos mais resistentes em invadir os túbulos dentinários e formar biofilme, assim como falhas na instrumentação e/ou selamento coronário; esses fatores contribuem para o insucesso do tratamento (33). Com isso, faz-se necessário o uso de substâncias irrigantes e auxiliares, além da medicação intracanal, as quais devem ser bactericidas, germicidas, fungicidas e serem biocompatíveis com os tecidos orais (34). A ozonioterapia apresenta-se com potencial promissor na endodontia por reunir como características o poder antimicrobiano e biocompatibilidade com células orais e auxílio no processo de cicatrização de feridas e reparo tecidual (35).

As controversias que permeiam sua utilização na endodontia dizem respeito às várias concentrações mencionadas nas pesquisas, com tempos de contato e modos de produção distintos do gás ozônio e água ozonizada, que interferem nos resultados de sua eficácia.

De acordo com Lynch, 2008 (36), o ozônio é eficaz quando administrado em concentração suficiente, com tempo de exposição adequado e aplicado de maneira correta nos canais radiculares. Baseados nessa perspectiva, os relatos da ineficiência do ozônio na endodontia, podem estar relacionados às diferentes metodologias adotadas. Hems et al.; 2005 (11) usaram concentração de ozônio muito baixa (0,68 µg/ml), devido ao tempo de ozonização da água de apenas quatro minutos, enquanto que Huth et al.; 2009 (13) mencionaram que para alcançar uma concentração elevada (20 µg/ml) que foi eficaz em eliminar 96% das amostras de biofilme, a água precisou ser ozonizada por quinze minutos. Estrela et al.; 2007 (12) também concluíram que o ozônio não foi eficaz. Entretanto, os autores não mencionaram a concentração que foi utilizada e adotaram o maior tempo de incubação das amostras, sessenta dias, o que pode ter contribuído para maior penetração dos microrganismos nos túbulos dentinários e para formação de um biofilme mais resistente. Dessa forma não se pode afirmar que as cepas foram resistentes aos irrigantes, já que é possível que o ozônio nem tenha entrado em contato com os microrganismos que podem sobreviver e tolerar condições ambientais críticas.

Embora tenham adotado metodologias diferentes, os autores relataram o poder antimicrobiano da água ozonizada como irrigante em concentrações que variam de 8 a 20 µg/ml (8,13-16). Quando a irrigação foi realizada com o uso de ultrassom a eficácia foi ainda maior em comparação com a forma convencional (7,16). Uma vez que a agitação ultrassônica possibilita uma irrigação mais profunda nos túbulos dentinários e canais colaterais capaz de potencializar o efeito da água ozonizada (37). No entanto, é importante ressaltar que a concentração da água ozonizada é limitada pela solubilidade do gás. No estudo de Nogales et al.; 2014 (38), as concentrações de 5, 20 e 40 µg/mL de gás ozônio, resultaram em concentrações de 2, 5, 8 µg/mL, respectivamente de água ozonizada. Evidenciando

que o meio líquido não retém todo o ozônio e que a concentração de ozônio na água será inferior ao valor marcado no gerador. Então, é provável que os valores mencionados em alguns estudos não sejam de fato coerentes com a concentração final da água ozonizada e sim o valor calibrado no gerador.

No que diz respeito aos protocolos, as informações sobre o tempo e concentração ideais ainda não estão completamente elucidadas. A maioria dos estudos dessa revisão avaliou concentrações de até 4 µg/ml de ozônio gasoso, com tempo de exposição de 120 segundos. Essa é a concentração usada clinicamente mais relatada na literatura e demonstrou resultados promissores tanto nos modelos laboratoriais quanto *in vivo*. Porém, atualmente, de acordo com os parâmetros estabelecidos pelos estudos mais recentes (15,20,32) concentrações elevadas, em torno de 40 µg/ml de ozônio gasoso, com tempo de exposição de até dois minutos têm sido preconizada na eliminação de microrganismos resistentes. As divergências em relação à concentração e tempo de aplicação podem ser devido às poucas pesquisas que avaliem os melhores protocolos.

Ao comparar protocolos adotados nas pesquisas e na prática clínica de cirurgiões-dentista, Sabbah et al.; 2018 (39), observaram que há concordância em relação ao uso de água ozonizada em médias e altas concentrações (4 - 25 µg/ml); nos quais 89% dos estudos revisados nas diversas áreas odontológicas obtiveram resultados bons e significativos. No entanto, em relação ao gás ozônio ainda há grande discrepância, uma vez que notaram que na prática clínica, os dentistas adotam concentrações de 10 a 100 µg/ml, enquanto nas pesquisas os autores usaram entre 0,2 a 4,2 µg/ml.

O estudos apontam o ozônio não como um substituto para alguma substância convencional, mas como um coadjuvante às terapias comumente empregadas que usam antissépticos já conhecidos (15,19,20,23,25). A associação com substâncias, como EDTA, Endo-PTC, NaOCl, aumentam a

permeabilidade dentinária fazendo com que o ozônio tanto na forma de gás quanto água ozonizada, penetre mais profundamente nos túbulos dentinários, o que possibilita uma irrigação mais eficaz e potencializa a chance de sucesso do tratamento.

A aplicação do ozônio gasoso associado ao EDTA poderia ser uma alternativa nos casos em que o hipoclorito não puder ser usado, como quando o forame apical está aberto ou ápice reabsorvido. Assim como, em casos de infecções persistentes em que já se tenha feito o uso do hipoclorito sem obter sucesso (23). Há também, relatos do uso de ozônio gasoso de forma isolada (25) aplicado em doses recorrentes ao longo de várias sessões com resultados promissores ou associado à clorexidina (22) como sugestão de protocolo alternativo a outras substâncias comumente utilizadas na endodontia. Essas propostas visam usar substâncias que sejam além de antimicrobinas, biocompatíveis. Mas, esses estudos (22,25) não descreveram as concentrações de ozônio gasoso adotadas, nem quantas sessões seriam necessárias para finalizar o tratamento.

Até o momento, existe apenas um ensaio clínico controlado randomizado (32) sobre esse tema, no qual foi demonstrado sucesso no tratamento endodôntico em que o ozônio gasoso inserido num protocolo de instrumentação biomecânica com o uso de clorexidina, foi eficaz na redução dos microorganismos e de lesão periapical em dentes com diagnóstico de periodontite apical. Porém, trata-se de um estudo com doze meses de acompanhamento, que ainda é considerado um período curto de tempo quando se avalia o reparo de lesões perirradiculares. Períodos de observações mais longos são necessários para apoiar essa conclusão. Mas representa um avanço no conhecimento que embasa a aplicação clínica da ozonioterapia na endodontia.

Tanto o gás ozônio (27) quanto a água ozonizada (8) não foram capazes de neutralizar o LPS inoculado no interior dos

canais radiculares, o que é justificável pelo próprio princípio antimicrobiano do ozônio que é a oxidação das paredes celulares e membranas citoplasmáticas das bactérias e o LPS não possui tais estruturas. Isso reitera a importância da instrumentação e o uso de medicações intracanaís para atingir essas endotoxinas e regiões, como istmos e ramificações que não são alcançadas pela instrumentação e irrigação.

A melhor forma de aplicação do ozônio, de acordo com os artigos revisados, é após o preparo cirúrgico dos canais, que é uma etapa fundamental na remoção de detritos para que o ozônio possa penetrar mais profundamente nos túbulos dentinários e ter maior eficácia. Após o preparo, os canais são irrigados com água ozonizada e secos. Posteriormente, o gás ozonizado é aplicado lentamente com auxílio de uma cânula que leva o ozônio, em concentração de 32 a 40 µg/ml, diretamente aos canais radiculares a 1 ou 2 mm do ápice; durante um período de até 120 segundos. O gás também pode ser aplicado nos canais preenchidos com água ozonizada. Segundo Kurtarci et al.; 2009 (19), é possível que o ozônio gasoso aplicado nos canais radiculares úmidos seja mais eficaz.

Em relação aos óleos ozonizados, falta nos estudos especificar a concentração de peróxido de hidrogênio e dos demais subprodutos para melhor avaliar as vantagens como medicação intracanal, assim como a penetração nos túbulos dentinários e interferência em cimentações adesivas.

Em conclusão, o ozônio apresenta grande potencial na terapia endodôntica, devido ao elevado poder antimicrobiano e à biocompatibilidade. De acordo com a literatura, seu uso, puro ou associado a outras substâncias tem se mostrado promissor. Entretanto, muito há de se investigar sobre características de aplicação, concentração e dosagens totais para avaliar suas vantagens e desvantagens, assim como estabelecer os melhores protocolos de aplicação clínica.

REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Siqueira Junior JF, Batista MMD, Fraga RC, Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gramnegative anaerobes and facultative bacteria. J Endod 1998;24:414-6.
- 2- Mohammadi Z, Shalavi S, Soltani MK, Asgary S. A review of the properties and applications of ozone in endodontics: An update. Iran Endod J. 2013;8:40–3.
- 3- Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. Arch Med Res. 2006;37(4):425-35.
- 4- Nogales CG, Ferrari PA, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone Therapy in Medicine and Dentistry. J Contemp Dent Pract 2008 May; (9)4:075-084.
- 5- Tiwari S, Avinash A, Katiyar S, Aarthi Iyer A, Jain S. Dental applications of ozone therapy: A review of literature. The Saudi Journal for Dental Research. 2017; 8:105-111.
- 6- Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. Journal of Dentistry 2008;36:104–16.
- 7- Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuzumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. J Endod. 2004;30(11):778-81
- 8- Cardoso MG, Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;105:e85-91.
- 9- Huth KC, Jakob FM, Saugel B, Cappello C, Paschos E, Hollweck R, et al. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. European Journal of Oral Sciences. 2006;114, 435–40.

- 10- Bocci V. Physical-chemical properties of ozone. Natural production of ozone. The toxicology of ozone. In:Ozone, a new medical drug. Itália: Springer; 2005. p. 5-8.
- 11- Hems RS, Gulabivala K, Ng YL, Ready D, Spratt DA. An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2005; 38: 22-9.
- 12- Estrela C, Estrela CRA, Decurcio DA, Hollanda ACB, Silva JA. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *International Endodontic Journal* 2007;40:85–93.
- 13- Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, Alkhayer M, Paschos E, Welsch U, Miethke T, Brand K, Hickel R. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *Int Endod J*. 2009; 42:3–13.
- 14- Zan R, Hubbezoglu I, Sumer Z, Tunc T, Tanalp J. Antibacterial effects of two different types of laser and aqueous ozone against *Enterococcus faecalis* in root canals. *Photomed Laser Surg*. 2013;31(4):150–4.
- 15- Nogales CG, Ferreira MB, Montemor AF, Rodrigues MF, Lage-Marques JL, Antoniazzi JH. Ozone therapy as an adjuvant for endodontic protocols: microbiological – *ex vivo* study and cytotoxicity analyses *J Appl Oral Sci*. 2016 Nov-Dec;24(6):607-613.
- 16- Hubbezoglu I, Zan R, Tunc T, Sumer Z. Antibacterial efficacy of aqueous ozone in root canals infected by *Enterococcus faecalis*. *J Microbiol*. 2014 Jul;7(7):e1141.
- 17- Pinheiro SL, da Silva CC, da Silva LA, Cicotti MP, Bueno CE da S, Fontana CE, et al. Antimicrobial efficacy of 2.5% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, and ozonated water as irrigants in mesiobuccal root canals with severe curvature of mandibular molars. *Eur J Dent*. (2018); 12(1), 94–99.

- 18- Stoll R, Veanne L, Jablonski-Momeni A, Mutters R, Stachniss V. The disinfecting effect of ozonised oxygen in an infected root canal: an in vitro study. *Quintessence International*. 2008; 39(3): 231-6.
- 19- Kuştarci A, Sümer Z, Altunbaş D, Koşum S. Bactericidal effect of KTP laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with gaseous ozone: an ex vivo study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009; 107:73–79.
- 20- Tuncay Ö, Dinçer AN, Kuştarci A, Er Ö, Dinç G, Demirbuga S. Effects of ozone and photo-activated disinfection against *Enterococcus faecalis* biofilms in vitro. *Niger J Clin Pract*. 2015; Nov-Dec;18(6):814 8.
- 21- Camacho-Alonso F, Salmerón-Lozano P, Martínez-Beneyto Y. Effects of photodynamic therapy, 2 % chlorhexidine, triantibiotic mixture, propolis and ozone on root canals experimentally infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Odontology*. 2017 Jul;105(3):338-346.
- 22- Noites R, Pina-Vaz C, Rocha R, Carvalho MF, Gonçalves A, PinaVez I. Synergistic antimicrobial action of chlorhexidine and ozone in Endodontic treatment. *Biomed Res Int*. 2014;2014:592423.
- 23- Boch T, Tennert C, Vach K, Al-Ahmad A, Hellwig E, Polydorou O. Effect of gaseous ozone on *Enterococcus faecalis* biofilm - an in vitro study. *Clin Oral Investig*. 2016 Sep;20(7):1733-9. Epub 2015 Dec 4.
- 24- Ajeti NN, Pustina-Krasniqi T, Apostolska S. The effect of gaseous ozone in infected root canal. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018 Feb 15; 6(2):389-396.
- 25- Kaptan F, Güven EP, Topcuoglu N, Yazier M, Külekçi G. In vitro assessment of the recurrent doses of topical gaseous ozone in the removal of *Enterococcus faecalis* biofilms in root canals. *Niger J Clin Pract*. 2014;17(5):573-8.

- 26- Bitter K, Vlassakidis A, Niepel M, Hoedke D, Schulze J, Neumann K, Moter A, Noetzel J. Effects of diode laser, gaseous ozone, and medical dressings on *Enterococcus faecalis* biofilms in the root canal - Ex vivo. *Biomed Res Int*. 2017;2017:6321850.
- 27- Melo TA, Gründling GS, Montagner F, Scur AL, Steier L, Scarpato RK, et al. LPS levels in root canals after the use of ozone gas and high frequency electrical pulses. *Braz Oral Res*. 2016;30.
- 28- Silveira AMV, Lopes HP, Siqueira jr JF, Macedo SB, Consolaro A. Periradicular repair after two-visit endodontic treatment using two different intracanal medications compared to single-visit endodontic treatment. *Braz Dent J* 2007;18(4):299-304.
- 29- Guinesi AS, Andolfatto C, Bonetti Filho I, Cardoso AA, Passaretti Filho J, Farac RV. Ozonized oils: a qualitative and quantitative analysis. *Braz Dent J*. 2011;22(1):37-40.
- 30- Farac RV, Pizzolitto AC, Tanomaru JM, Morgental RD, Lima RK, Bonetti-Filho I. Ex-vivo effect of intracanal medications based on ozone and calcium hydroxide in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Braz Dent J*. 2013;24(2):103-6.
- 31- Halbauer K, Prskalo K, Janković B, Tarle Z, Pandurić V, Kalenić S. Efficacy of ozone on microorganisms in the tooth root canal. *Coll Antropol*. 2013 Mar;37(1):101-7.
- 32- Kist S, Kollmuss M, Jung J, Schubert S, Hickel R, Huth KC. Comparison of ozone gas and sodium hypochlorite/chlorhexidine two-visit disinfection protocols in treating apical periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2017 May;21(4):995-1005.
- 33- Siqueira JF Jr, Magalhães KM, Rôças IN. Bacterial reduction in infected root canals treated with 2.5% NaOCl as an irrigant and calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing. *J Endod* 2007;33:667-672.

- 34- Andrabi SM, Kumar A, Kumar Tewari R, Kumar Mishra S, Iftekhhar H. An In Vitro SEM Study on the Effectiveness of Smear Layer Removal of Four Different Irrigations. *iran Endod J.* 2012;7(4):171-6.
- 35- Borges GA, Elias ST, da Silva SM, Magalhaes PO, Macedo SB, Ribeiro AP, et al. In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. *J Craniomaxillofac Surg.* 2017; 45(3): 364-370.
- 36- Lynch E. Evidence-based efficacy of ozone for root canal irrigation. *J COMP* 2008; 20(5):287-293.
- 37- Paragliola R, Franco V, Fabiani C, Mazzoni A, Nato F, Tay FR, et al. Final rinse optimization: influence of different agitation protocols. *J Endod*; 2010;36:282-285.
- 38- Nogales CG, Ferreira MB, Lage-Marques JL, Antoniazzi JH. Comparison of the antimicrobial activity of three different concentrations of aqueous ozone on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* – in vitro study. *Revista Española de Ozonoterapia.* 2014. Vol. 4, nº 1, pp. 9-15.
- 39- Sabbah F, Nogales CG, Zaremski E, Martinez-Sanchez G. Ozone therapy in Dentistry - Where we are and where we are going to? *Revista Española de Ozonoterapia.* 2018. Vol. 8, nº 1, pp 37-63.

ANEXOS

NORMAS DA REVISTA

O Brazilian Dental Journal é um periódico científico revisado por pares (sistema duplo-cego) que publica Documentos Originais Completos, Comunicações Curtas, Relatórios de Casos e Críticas Convidadas, tratando os diversos campos da Odontologia ou áreas relacionadas, com acesso aberto. Serão considerados para publicação apenas artigos originais. Na submissão de um manuscrito, os autores devem informar em carta de encaminhamento que o material não foi publicado anteriormente e não está sendo considerado para publicação em outro periódico, quer seja no formato impresso ou eletrônico.

ENDEREÇO ELETRÔNICO PARA SUBMISSÃO:

<http://mc04.manuscriptcentral.com/bdj-scielo>

AS NORMAS DESCRITAS A SEGUIR DEVERÃO SER CRITERIOSAMENTE SEGUIDAS.

GERAL

- Submeter o manuscrito em Word e em PDF, composto pela página de rosto, texto, tabelas, legendas das figuras e figuras (fotografias, micrografias, desenhos esquemáticos, gráficos e imagens geradas em computador, etc).
- O manuscrito deve ser digitado usando fonte Times New Roman 12, espaço entrelinhas de 1,5 e margens de 2,5 cm em

todos os lados. NÃO UTILIZAR negrito, marcas d'água ou outros recursos para tornar o texto visualmente atrativo.

- As páginas devem ser numeradas seqüencialmente, começando no *Summary*.
- Trabalhos completos devem estar divididos seqüencialmente conforme os itens abaixo:

1. Página de Rosto
2. Summary e Key Words
3. Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão
4. Resumo em Português (obrigatório apenas para os autores nacionais)
5. Agradecimentos (se houver)
6. Referências
7. Tabelas
8. Legendas das figuras
9. Figuras

- Todos os títulos dos capítulos (Introdução, Material e Métodos, etc) em letras maiúsculas e sem negrito.
- Resultados e Discussão NÃO podem ser apresentados conjuntamente.
- Comunicações rápidas e relatos de casos devem ser divididos em itens apropriados.
- Produtos, equipamentos e materiais: na primeira citação mencionar o nome do fabricante e o local de fabricação completo (cidade, estado e país). Nas demais citações, incluir apenas o nome do fabricante.
- Todas as abreviações devem ter sua descrição por extenso, entre parênteses, na primeira vez em que são mencionadas.

- A primeira página deve conter: título do trabalho, título resumido (short title) com no máximo 40 caracteres, nome dos autores (máximo 6), Departamento, Faculdade e/ou Universidade/Instituição a que pertencem (incluindo cidade, estado e país). NÃO INCLUIR titulação (DDS, MSc, PhD etc) e/ou cargos dos autores (Professor, Aluno de Pós-Graduação, etc).
- Incluir o nome e endereço completo do autor para correspondência (informar e-mail, telefone e fax).
- A página de rosto deve ser incluída em arquivo separado do manuscrito.

MANUSCRITO

- O manuscrito deve conter: a primeira página do manuscrito deve conter: título do trabalho, título resumido (short title) com no máximo 40 caracteres, sem o nome dos autores.

SUMMARY

- A segunda página deve conter o Summary (resumo em Inglês; máximo 250 palavras), em redação contínua, descrevendo o objetivo, material e métodos, resultados e conclusões. Não dividir em tópicos e não citar referências.
- Abaixo do Summary deve ser incluída uma lista de Key Words (5 no máximo), em letras minúsculas, separadas por vírgulas.

INTRODUÇÃO

- Breve descrição dos objetivos do estudo, apresentando somente as referências pertinentes. Não deve ser feita uma

extensa revisão da literatura existente. As hipóteses do trabalho devem ser claramente apresentadas.

MATERIAL E MÉTODOS

- A metodologia, bem como os materiais, técnicas e equipamentos utilizados devem ser apresentados de forma detalhada. Indicar os testes estatísticos utilizados neste capítulo.

RESULTADOS

- Apresentar os resultados em uma sequência lógica no texto, tabelas e figuras, enfatizando as informações importantes.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto.
- Tabelas e figuras devem trazer informações distintas ou complementares entre si.
- Os dados estatísticos devem ser descritos neste capítulo.

DISCUSSÃO

- Resumir os fatos encontrados sem repetir em detalhes os dados fornecidos nos Resultados.
- Comparar as observações do trabalho com as de outros estudos relevantes, indicando as implicações dos achados e suas limitações. Citar outros estudos pertinentes.
- Apresentar as conclusões no final deste capítulo. Preferencialmente, as conclusões devem ser dispostas de forma corrida, isto é, evitar citá-las em tópicos.

RESUMO (em Português) - Somente para autores nacionais

- O resumo em Português deve ser IDÊNTICO ao resumo em Inglês (Summary). OBS: NÃO COLOCAR título e palavras-chave em Português.

AGRADECIMENTOS

- O Apoio financeiro de agências governamentais deve ser mencionado. Agradecimentos a auxílio técnico e assistência de colaboradores podem ser feitos neste capítulo.

REFERÊNCIAS

- As referências devem ser apresentadas de acordo com o estilo do Brazilian Dental Journal. É recomendado aos autores consultar números recentes do BDJ para se familiarizar com a forma de citação das referências.
- As referências devem ser numeradas por ordem de aparecimento no texto e citadas entre parênteses, sem espaço entre os números: (1), (3,5,8), (10-15). NÃO USAR SOBRESCRITO.
- Para artigos com dois autores deve-se citar os dois nomes sempre que o artigo for referido. Ex: "According to Santos and Silva (1)...". Para artigos com três ou mais autores, citar apenas o primeiro autor, seguido de "et al.". Ex: "Pécora et al. (2) reported that..."
- Na lista de referências, os nomes de TODOS OS AUTORES de cada artigo devem ser relacionados. Para trabalhos com 7 ou mais autores, os 6 primeiros autores devem ser listados seguido de "et al."
- A lista de referências deve ser digitada no final do manuscrito, em sequência numérica. Citar NO MÁXIMO 25 referências.
- A citação de abstracts e livros, bem como de artigos publicados em revistas não indexadas deve ser evitada, a menos

que seja absolutamente necessário. Não citar referências em Português.

TABELAS

- As tabelas com seus respectivos títulos devem ser inseridas após o texto, numeradas com algarismos arábicos; NÃO UTILIZAR linhas verticais, negrito e letras maiúsculas (exceto as iniciais). O título de cada tabela deve ser colocado na parte superior. Cada tabela deve conter toda a informação necessária, de modo a ser compreendida independentemente do texto.

FIGURAS

- NÃO SERÃO ACEITAS FIGURAS INSERIDAS EM ARQUIVOS ORIGINADOS EM EDITORES DE TEXTO COMO O WORD E NEM FIGURAS EM POWER POINT;
- Os arquivos digitais das imagens devem ser gerados em Photoshop, Corel ou outro software similar, com extensão TIFF e resolução mínima de 300 dpi. Apenas figuras em PRETO E BRANCO são publicadas. Salvar as figuras no CD-ROM.
- Letras e marcas de identificação devem ser claras e definidas. Áreas críticas de radiografias e fotomicrografias devem estar isoladas e/ou demarcadas.
- Partes separadas de uma mesma figura devem ser legendadas com letras maiúsculas (A, B, C, etc). Figuras simples e pranchas de figuras devem ter largura mínima de 8 cm e 16 cm, respectivamente.
- As legendas das figuras devem ser numeradas com algarismos arábicos e apresentadas em uma página separada, após a lista de referências (ou após as tabelas, quando houver).