UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

JESSICA STHEFANNY CARVALHO SOUZA

AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA DE OZONIZAÇÃO HIDRODINÂMICA PARA DESINFECÇÃO DE GUTA-PERCHA E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU

São José dos Campos, setembro/2025

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

JESSICA STHEFANNY CARVALHO SOUZA

AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA DE OZONIZAÇÃO HIDRODINÂMICA PARA DESINFECÇÃO DE GUTA-PERCHA E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Carlos José de Lima
Co-orientadora: Profa. Dra. Adriana Barrinha Fernandes Moretti

São José dos Campos, setembro/2025

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

JESSICA STHEFANNY CARVALHO SOUZA

AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA DE OZONIZAÇÃO HIDRODINÂMICA PARA DESINFECÇÃO DE GUTA-PERCHA E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica aprovada pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Dr. Carlos José de Lima

Orientador

Mestrado em Engenharia Biomédica

Universidade Anhembi Morumbi

Prof(a). Dr(a). Adriana Barrinha Fernandes Moretti

Co-orientadora

Mestrado em Engenharia Biomédica

Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Fabio Roberto Passador (externo)

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Prof. Dr. Renato Amaro Zangaro (coordenação)

Universidade Anhembi Morumbi

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da Universidade, do autor e do orientador.

JESSICA STHEFANNY CARVALHO SOUZA

Biomédica, habilitada em pesquisa e docência em patologia, pela Universidade Anhembi Morumbi.

Ficha Catalográfica

S713a Souza, Jessica Sthefanny Carvalho

Avaliação de um sistema de ozonização hidrodinâmica para desinfecção de guta-percha e caracterização estrutural / Jessica Sthefanny Carvalho Souza - 2025

71; 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Carlos José de Lima.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo - 2025.

CDD 610.28

Biblioteca Faculdade Anhembi Morumbi

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais, Cristiano e Edivânia, por todo amor, apoio incondicional e presença constante em minha vida. À minha querida avó Cristina (*in memoriam*), que mesmo ausente fisicamente, continua presente em cada conquista da minha vida, guiando meus passos com sua sabedoria e amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde, força e sabedoria ao longo desta caminhada. Por estar presente mesmo nos momentos de incerteza, guiando meus passos e renovando minha fé.

Aos meus pais, Cristiano e Edivânia, por todo amor e apoio incondicional. Sou imensamente grata por cada gesto de cuidado, por acreditarem no poder da educação e por me incentivarem desde sempre a seguir esse caminho. Com o exemplo, as palavras de encorajamento e a fé de vocês, aprendi a persistir e a acreditar que esta conquista era possível.

Agradeço, de modo especial, aos professores Prof. Dr. Carlos José de Lima e Profa. Dra. Adriana Barrinha Fernandes Moretti, pela orientação, pelos ensinamentos compartilhados, pela constante disponibilidade, confiança e pela valiosa amizade ao longo desta jornada.

À minha irmãzinha de quatro patas, Maya, que, com seu amor sem limites, seu olhar acolhedor e o conforto do seu simples estar, foi alívio nos dias difíceis e alegria nos momentos de cansaço.

Sou grata aos meus colegas Christmas Barros, Sarah Santana, Pedro Marrafa, Pedro Correia, Ana Carolina Brisola, Marcelo Fabiano, Bianca Kawata, Maycon Carvalho, Anelise Ribeiro, Raissa Monteiro, Vinícius Lima e Alexandre Souza, assim como a todos os demais colegas de curso e estagiários, cujo apoio e companheirismo foram fundamentais ao longo de toda essa jornada.

Agradeço ao Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, pela dedicação e pelo comprometimento na condução do programa.

Sou grata a todos os professores pelo valioso aprendizado e pelas experiências transmitidas, que contribuem significativamente para a excelência do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Agradeço ao Milton Faria Diniz, do Instituto de Aeronáutica e Espaço (IAE), do Departamento de Ciência e Tecnologia Aeroespacial (DCTA) pelo apoio na realização dos espectros de Infravermelho.

Agradeço a Gislene Valdete Martins da Coordenação de Pesquisa Aplicada e Desenvolvimento Tecnológico (COPDT), do Instituto Nacional de Pesquisas

Espaciais (INPE) pelo apoio nas análises na perfilometria óptica.
Agradeço ao Erick Gabriel Ribeiro dos Anjos e ao Prof. Dr. Fabio Roberto Passador do Instituto de Ciência e Tecnologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) pelo apoio nos ensaios mecânicos.
Não poderia deixar de agradecer à Nidia Macedo, cuja simpatia, prontidão e eficiência foram constantes desde o início.
Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pelo apoio concedido por meio da bolsa de Mestrado, fundamental para a realização deste trabalho.

RESUMO

A guta-percha (GP), amplamente utilizada na obturação de canais radiculares para o selamento endodôntico apresenta em sua composição estrutural predominância da configuração *trans* do poliisopreno. Estudos demonstram que cones de GP, mesmo provenientes de embalagens lacradas, podem apresentar contaminação bacteriana, sendo esse risco potencializado após a exposição ao ambiente clínico. Métodos convencionais como a esterilização por autoclave e a desinfecção por agentes químicos apresentam limitações relacionadas, respectivamente, à possíveis alterações nas propriedades do material e à variabilidade da eficácia antimicrobiana. Diante dessas limitações o presente estudo avaliou a eficácia de um sistema hidrodinâmico utilizando água ozonizada na inativação de *Enterococcus faecalis* em cones de GP experimentalmente contaminados. As amostras foram submetidas a um fluxo contínuo de água ozonizada durante 5 e 7 minutos, seguido de incubação em meio de cultura para análises microbiológicas quantitativas e qualitativas. Os resultados demonstraram que o tratamento por 7 minutos utilizando uma concentração de ozônio de 57,2 mg/L na fase gasosa, promoveu a completa inativação bacteriana. Para avaliar a preservação da integridade do biomaterial após o tratamento foram realizadas análises por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), perfilometria óptica, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e ensaios mecânicos de tração. A análise de FTIR revelou alterações discretas sem evidências de comprometimento significativo da estrutura principal do polímero. A perfilometria óptica demonstrou redução significativa da rugosidade superficial após a ozonização hidrodinâmica. Os ensaios mecânicos indicaram preservação da resistência à tração, acompanhada de redução do módulo de elasticidade, sugerindo maior flexibilidade do material, característica que pode favorecer sua adaptação à anatomia dos canais radiculares. As imagens de MEV não evidenciaram alterações morfológicas significativas nos cones tratados. Dessa forma, os resultados indicam que a utilização de água ozonizada em um sistema hidrodinâmico constitui uma alternativa promissora para a desinfecção de cones de GP, proporcionando inativação bacteriana

eficaz sem comprometer significativamente suas propriedades estruturais, mecânicas e morfológicas, com potencial para futuras aplicações clínicas.
Palavras-chave: Engenharia Biomédica; desinfecção; sistema hidrodinâmico; guta-percha; água ozonizada.

ABSTRACT

Gutta-percha (GP), widely used for root canal obturation in endodontic procedures, is predominantly composed of *trans*-polyisoprene. Studies have demonstrated that GP cones, even those obtained from sealed packages, may exhibit bacterial contamination, with an increased risk following exposure to the clinical environment. Conventional methods, such as autoclave sterilization and chemical disinfection, present limitations related to potential alterations in material properties and variability in antimicrobial efficacy, respectively. Given these limitations, this study evaluated the effectiveness of a hydrodynamic system using ozonated water for the inactivation of *Enterococcus faecalis* in experimentally contaminated GP cones. The samples were exposed to a continuous flow of ozonated water for 5 and 7 minutes, followed by incubation in culture medium for quantitative and qualitative microbiological analyses. The results demonstrated that treatment for 7 minutes, using a gaseous ozone concentration of 57.2 mg/L, achieved complete bacterial inactivation. To assess the preservation of material integrity following treatment, the GP cones were characterized using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), optical profilometry, scanning electron microscopy (SEM), and mechanical tensile testing. FTIR analysis revealed minor alterations, with no evidence of significant changes to the main polymer structure. Optical profilometry demonstrated a significant reduction in surface roughness following hydrodynamic ozonation. Mechanical testing indicated preservation of tensile strength, accompanied by a reduction in elastic modulus, suggesting increased material flexibility, which may favor adaptation to root canal anatomy. SEM images revealed no significant morphological alterations in the treated cones. Overall, these findings indicate that the use of ozonated water in a hydrodynamic system represents a promising alternative for GP cone disinfection, providing effective bacterial inactivation without significantly compromising the material's structural, mechanical, and morphological properties, with potential for future clinical applications.

Keywords: Biomedical Engineering; Disinfection; Hydrodynamic System; Gutta-Percha; Ozonated Water.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1
2. OBJETIVOS 5
   2.1 Objetivo geral 5
   2.2 Objetivos específicos 5
3. REVISÃO DE LITERATURA 5
   3.1 Endodontia 5
   3.2 Objetivos da endodontia 6
   3.3 Guta-percha (GP) 7
   3.4 Visão geral dos métodos de esterilização com guta-percha 8
   3.4.1 Hipoclorito de sódio (NaClO) 9
   3.4.2 Clorexidina 9
   3.4.3 Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 10
   3.4.4 Ácido peracético (PAA) 11
   3.4.5 MTAD (Mixture of Tetracycline isomer, Acid, and Detergent) 11
   3.5 *Enterococcus faecalis* 12
   3.6 Ozônio (O3) 13
   3.7 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) 15
   3.8 Perfilometria Óptica 17
   3.9 Resistência à Tração e Módulo de Elasticidade 18
   3.9.1 Resistência à tração (σt) 18
   3.9.2 Módulo de Elasticidade (E) ou Módulo de Young 18
   3.10 Resistência à tração e módulo de elasticidade de cones de guta-percha 19
   3.11 Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) 21
4. MATERIAIS E MÉTODOS 22
   4.1 Tipo de estudo 22
   4.2 Local de realização do protocolo experimental 22
   4.3 Desenvolvimento do sistema hidrodinâmico 22
   4.4 Inoculação experimental das amostras 24
   4.5 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 27
   4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 28
   4.7 Perfilometria Óptica 29
   4.8 Teste de resistência à tração 30
5. RESULTADOS 32
   5.1 Determinação da velocidade da água 32

5.2 Número de Reynolds 32
5.3 Análise microbiológica da superfície dos cones de GP..... 33
5.4 Curva de concentração de O3 dissolvido em água 35
5.5 Análise FTIR 35
5.6 Análise dos dados na perfilometria óptica 37
5.7 Teste de resistência a tração e modulo de elasticidade..... 39
5.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... 41
6. DISCUSSÃO..... 42
7. CONCLUSÃO 50
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Determinação da presença ou ausência de crescimento microbiano a partir da análise da GP considerando os diferentes grupos experimentais. 33
Tabela 2 Estatísticas descritivas dos valores de rugosidade (Ra) dos cones de GP. .. 37
Tabela 3 Resultados de tensão máxima, a diferença percentual entre as medias foi de 0,84%. 40
Tabela 4 Resultado da análise estatística sobre o módulo elástico, a diferença percentual entre as medias foi de 27,01% 40

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Teste de resistência à tração dos cones de guta-percha. Teste de resistência à tração dos cones de guta-percha. 20
Figura 2 Diagrama computadorizado de tensão de amostras de cone de guta-percha; 20
Figura 3 Representação esquemática do sistema de ozonização hidrodinâmico desenvolvido para desinfecção dos cones de Guta Percha. FONTE: Próprio autor 24
Figura 4 Porta amostra de politetrafluoretileno (PTFE) para a fixação e posicionamento dos cones de guta-percha. Inserir nas imagens as letras A e B, escrever um descritivo de cada uma delas. FONTE: Próprio Autor..... 25
Figura 5 Contaminação controlada de cones de guta-percha em uma solução contendo a bactéria *Enterococcus faecalis.* Fonte: Próprio Autor 26
Figura 6 Imagens do protocolo de desinfecção da GP utilizando água ozonizada sob condição dinâmica. Figura 6a detalha as amostras fixadas junto ao conector PTFE em que flui a água ozonizada. Figura 6b mostra imagem mais ampla evidenciando todo o cabeçote ligado ao reservatório de água ozonizada.**Fonte:** Próprio Autor..... 27
Figura 7 (a) Espectrômetro de infravermelho Perkin Elmer modelo Frontier usado na pesquisa. (b) Cone de GP durante o processo de análise no espectrômetro. FONTE: Próprio autor..... 28
Figura 8 Equipamento para a deposição de filme metálico em ambiente de vácuo, equipamento Sputter Coater Quorum Q150T Es. FONTE: Próprio autor..... 29
Figura 9 (a) Microscópio Eletrônico de Varredura (b) Amostras no processo de deposição de filme metálico. FONTE: Próprio autor 29
Figura 10 Cone de GP durante a análise de mapeamento de rugosidade superficial, utilizando o microscópio óptico interferométrico. FONTE: Próprio autor 30
Figura 11 Ensaio de resistência de tração gerados sobre os corpos de prova GP. FONTE: Próprio autor 31
Figura 12 Amostras que foram expostas a água ozonizada por sete minutos, após 24h de incubação, a aparência translúcida da solução indica a não presença da bactéria viável. FONTE: próprio autor..... 34
Figura 13 Curva de concentração de O3 dissolvido em água, a equação matemática apresentada permite o cálculo da concentração de O3 em posteriores protocolos similares de ozonização, o parâmetro R^2 indica o grau de aproximação da curva experimental com a teórica polinomial. 35
Figura 14 Espectro FTIR dos cones de GP in natura e após exposição à água ozonizada (O_3). FONTE: Próprio autor 36
Figura 15 Representação das amostras da guta percha após a exposição ao sistema hidrodinâmico na perfilometria óptica (A) dados de superfície (B) Exibição interativa tridimensional..... 38
Figura 16 Representação das amostras da guta percha In Natura na perfilometria óptica. A figura A é uma vista plana com o mapeamento em altura indicada pela escala de cores ao lado, a figura B é uma vista tridimensional da superfície da amostra. FONTE: Próprio autor 38
Figura 17 Curva tensão-deformação da GP in natura e exposta a água ozonizada 39
Figura 18 Imagens de MEV-FEG de cones de GP in natura, sem tratamento. (A) Escala de 20 µm; (B) Escala de 10 µm; (C) Escala de 1 µm. **FONTE**: Próprio autor..... 41
Figura 19 Imagens MEV-FEG de cones de GP após exposição à água ozonizada em sistema hidrodinâmico por 7 minutos. (A) Escala de 20 µm; (B) Escala de 10 µm; (C) Escala de 1 µm. **FONTE**: Próprio autor 42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GP Guta-percha

NaClO hipoclorito de sódio

CHX clorexidina

PAA ácido peracético

FTIR espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

MEV microscopia eletrônica de varredura

mm Milimetros

EDTA ácido etilenodiaminotetracético

pH potencial hidrogeniônico

°C Graus Celsius

DNA ácido desoxirribonucleico

O_3 fórmula molecular do ozônio

g/mol gramas por mol

Å Ångström Km quilômetro

UV Ultravioleta

O_2 fórmula molecular do oxigênio

σt resistência à tração

Pa Pascal

MPa Mega Pascal

F força máxima aplicada

A área da seção transversal do material N newton

m² metro quadrado

E Módulo de elasticidade ou Módulo de Young

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

σ tensão aplicada

ε deformação relativa

keV quiloelétron-volt

SEs elétrons secundários

BSEs elétrons retroespalhados

Cm centímetro

PVDF polo(fluoreto de vinilideno)

mg/L miligramas por litro

L/min litros por minuto

mL/s mililitros por segundo

UFC/mL Unidade Formadora de Colônias por mililitro

cm^{-1} Escala do Número de Onda Espectral Infravermelho

Ra rugosidade média

Q vazão volumétrica

Vm velocidade média

cm^3/s centímetros cúbicos por segundo

-OH grupos hidroxila

μm micrômetro

1. INTRODUÇÃO

A doença endodôntica, uma infecção do biofilme do canal radicular, é a principal causa de morbidade dentária em todo o mundo, o tratamento endodôntico, ou tratamento de canal radicular, como é comumente conhecido, baseia-se na capacidade de erradicar a infecção do biofilme microbiano e prevenir a reinfecção do espaço altamente complexo do canal radicular. A infecção do sistema de canais radiculares ocorre após cárie, perda de superfície dentária, trauma, doença periodontal ou em casos em que a polpa dentária foi removida devido a uma terapia de canal (ABUSREWIL et al,2020).

O tratamento endodôntico envolve a higienização e a modelagem do canal radicular, com o intuito de reduzir a presença de microrganismos, como as bactérias, e os seus subprodutos resultantes de suas funções metabólicas. Além de reduzir a população bacteriana, este tratamento busca selagem completa do mesmo, prevenindo infecções e, ainda, contribuindo para a prevenção ou tratamento da periodontite apical. (LIMA; BRAITT; PORTO JR,2023)

Um dos principais objetivos do tratamento endodôntico é desinfetar o sistema de canais radiculares eliminando os microrganismos. Todo esse processo depende de uma cadeia asséptica realizada antes, durante e após o tratamento endodôntico, promovendo assim o sucesso da terapia por meio do reparo biológico (SIQUEIRA JR, et al. ,2012).

O êxito no tratamento endodôntico depende da execução criteriosa e asséptica de todas as suas fases, como abertura, limpeza, desinfecção, modelagem e selamento posterior dos canais radiculares. No entanto, falhas na instrumentação, bactérias na saliva, uso de instrumentos e materiais contaminados podem ocorrer durante o processo. Essas falhas podem comprometer a eficácia do tratamento e aumentar o risco de infecções nos canais radiculares persistentes ou recorrentes (SCHMIDT et al.,2015).

A principal causa do fracasso no tratamento endodôntico é a presença de certas bactérias no sistema de canais radiculares, sendo *Enterococcus faecalis* uma das mais resistentes aos métodos de desinfecção. Essa resistência permite

que a infecção persista, tanto dentro quanto fora do canal radicular. *E. faecalis* é um coco gram-positivo anaeróbico, comumente encontrado na cavidade oral, no trato gastrointestinal e na região vaginal, pois se adapta bem a ambientes ricos em nutrientes e com baixos níveis de oxigênio. Estudos demonstram que essa bactéria é mais frequente em casos de insucesso endodôntico do que em infecções primárias. Além disso, foi identificada em até 90% dos casos de dor e infecção após o tratamento endodôntico (VITALI, et al., 2019).

Para prevenir a recontaminação, os materiais de obturação devem estar isentos de microrganismos. A guta-percha (GP), extraída principalmente do látex de árvores do gênero *Palaquium* (família *Sapotaceae*), é constituída quimicamente pela forma trans do poliisopreno e representa o material de obturação mais utilizado em endodontia. Sua consistência mais rígida e quebradiça é alcançada pela adição de ceras e resinas, sendo o óxido de zinco o componente predominante, responsável também por certa atividade antimicrobiana. Apesar disso, pesquisas relatam que entre 8% e 20% dos cones de guta-percha, mesmo quando retirados de embalagens seladas, podem apresentar crescimento bacteriano, embora outros estudos não confirmem essa contaminação. De todo modo, o risco aumenta consideravelmente após a abertura da embalagem e durante o uso clínico dos cones (KAYAOGLU et al., 2009).

Os cones de GP, por serem termoplásticos, não podem ser esterilizados com calor, pois isso alteraria suas propriedades físicas e químicas, resultando em plastificação. A desinfecção desses cones, portanto, é feita com substâncias químicas, como hipoclorito de sódio e clorexidina, que precisam ser utilizadas na concentração e no tempo de ação corretos para serem eficazes. A imersão prolongada pode causar deformações nos cones, enquanto um tempo insuficiente de desinfecção pode comprometer a eficácia do tratamento endodôntico devido a uma descontaminação inadequada e ao selamento marginal deficiente. (COSTA et al.,2021)

A contaminação dos cones de guta-percha por *Enterococcus faecalis* constitui uma preocupação significativa na endodontia, visto que pode comprometer o sucesso do tratamento. Evidências indicam que características

superficiais, como rugosidade e irregularidades, favorecem a adesão bacteriana, sobretudo em superfícies com áreas mais profundas e rugosidade mais acentuada. (RIBEIRO et al.,2023).

As aplicações comuns atuais da ozonioterapia na prática odontológica incluem redução de biofilme, odontologia preventiva e restauradora, periodontia, endodontia, patologia oral e cirurgia oral, implantologia, cicatrização de feridas, bem como descontaminação de manufaturas, tratamento de hipersensibilidade dentinária, dor e distúrbios temporomandibulares (VENERI et al.,2025)

Na prática clínica, o ozônio é aplicado na forma gasosa, em água ou óleo ozonizado, sendo utilizado em tratamentos periodontais não cirúrgicos, no controle de patógenos cariogênicos e como adjuvante em raspagem, alisamento radicular e curetagem gengival. A água ozonizada destaca-se por sua biocompatibilidade com células orais humanas, baixo risco de efeitos adversos e eficácia contra microrganismos resistentes, enquanto o gás ozonizado requer cuidados específicos para evitar inalação e intoxicação. Por ser não invasiva, segura e eficiente, a ozonoterapia representa um avanço significativo na odontologia, melhorando a experiência do paciente e potencializando os resultados clínicos quando aplicada em doses controladas (SANDA,2024)

Diante da necessidade de desenvolver novas estratégias para o controle de infecções microbianas, a utilização de agentes desinfetantes, como a água ozonizada, surge como uma alternativa eficaz e segura. Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a eficácia de um sistema hidrodinâmico com água ozonizada na inativação de *Enterococcus faecalis*. Esta tecnologia, que já demonstrou resultados positivos na desinfecção da membrana amniótica humana (AWOYAMA et al., 2022; BOTELHO et al., 2024), apresenta potencial de ser adaptada para a descontaminação de cones de GP experimentalmente contaminados com *E. faecalis*. A proposta visa otimizar a desinfecção desses cones, preservando sua integridade estrutural e, consequentemente, contribuindo para a segurança e o sucesso dos tratamentos endodônticos. Além da análise microbiológica, foi realizada a caracterização do biomaterial após o processo de ozonização, por meio de técnicas como

espectroscopia na região do infravermelho, perfilometria óptica, ensaio de tração mecânica e microscopia eletrônica de varredura (MEV), possibilitando uma avaliação detalhada das possíveis alterações físicas e químicas decorrentes do procedimento de desinfecção.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este estudo consiste em avaliar a eficácia de um sistema hidrodinâmico com água ozonizada na desinfecção de cones de guta-percha contaminados com *Enterococcus faecalis*. A pesquisa investiga tanto a capacidade antimicrobiana do sistema quanto os efeitos nas propriedades físicas e estruturais do material obturador endodôntico, propondo uma alternativa atual aos métodos convencionais de desinfecção química.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração de ozônio dissolvido na água e a dosagem de O_3 para cada tempo de exposição da GP no processo hidrodinâmico;
- Comparar a eficácia da inativação do *Enterococcus faecalis* por análises microbiológicas após o processo de desinfecção utilizando somente água ozonizada;
- Caracterizar a composição, superfície e a resistência mecânica da GP utilizando as técnicas FTIR; perfilometria óptica; ensaio de tração e análise morfológica por MEV.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Endodontia

Em 1981, a Associação Americana de Endodontia estabeleceu a endodontia como uma disciplina da odontologia dedicada à pesquisa da estrutura, função e doenças da polpa dentária e dos tecidos ao redor das raízes. Esta área abrange estudos tanto nas ciências fundamentais quanto nas práticas clínicas, abordando desde a biologia da polpa saudável até as causas, diagnóstico, prevenção e tratamento das condições patológicas da polpa e dos tecidos periapicais (Maurice CG, 1981). Ao longo da história, a endodontia testemunhou múltiplas progressões, tanto em termos de métodos quanto de

substâncias utilizadas, em sintonia com o avanço contínuo do conhecimento nesta área específica (FOCHUK, 2017).

O procedimento de tratamento dos canais radiculares seguia os princípios fundamentais aplicados até os dias de hoje: diagnóstico preciso, preparação dos canais, limpeza e selamento adequado. As mudanças significativas ao longo do tempo ocorreram principalmente na forma como esses princípios são abordados, nas técnicas empregadas, nos materiais utilizados e nos instrumentos aplicados (BERGER, 1989).

3.2 Objetivos da endodontia

As finalidades biológicas e técnicas da endodontia incluem alcançar a adequada forma do sistema radicular, facilitando a completa desinfecção para criar um ambiente livre de bactérias. Isso, por sua vez, promove a cicatrização dos tecidos afetados após o completo preenchimento do canal. As bactérias são as principais agentes causadoras das doenças pulpares e periapicais. A terapia endodôntica envolve a limpeza completa dos canais radiculares, o uso de instrumentos para remover bactérias e toxinas que causam a doença, seguido pelo preenchimento do canal para manter o dente funcional (HARGREAVES & BERMAN, 2016).

O tratamento visa a recuperação dos dentes afetados, envolvendo a remoção do tecido comprometido, o selamento completo dos canais radiculares e a posterior restauração da estrutura dentária, visando a saúde do paciente e a recuperação da função e estética dentárias. A falta de selamento adequado do dente entre as sessões ou após o término do tratamento pode resultar na ruptura desse material, expondo os canais tratados à cavidade oral e aumentando o risco de reinfecção (SANTOS et al ,2020).

O propósito principal da instrumentação na endodontia é abrir espaço para que o líquido de irrigação possa avançar. Busca-se deixar os canais na sua posição original, com toda a superfície da raiz mecanicamente preparada de forma precisa, sem causar erros como desvios, perfurações ou transporte. Embora a instrumentação não tenha um impacto direto no resultado final do tratamento, pode deixar áreas da raiz inacessíveis para a desinfecção. Outra

meta é conservar a estrutura da dentina na região cervical e radicular, de modo a manter a resistência da raiz e prevenir possíveis fraturas. A espessura natural da parede da dentina é de aproximadamente 1 mm. Durante a preparação dos canais, as paredes radiculares curvas podem ser desgastadas, para evitar o desgaste excessivo das mesmas e prevenir perfurações, é crucial realizar uma adequada abertura do acesso e alargar o terço coronário de forma apropriada. É necessário remover completamente a camada interna da dentina infectada, juntamente com as bactérias, do canal radicular, a fim de garantir a eficácia do tratamento endodôntico (BERMAN; HARGREAVES, 2016).

3.3 Guta-percha (GP)

A GP é um polímero natural derivado do látex, usado na produção de cones e bastões. Suas propriedades são influenciadas pela composição química, pela quantidade de substâncias inorgânicas adicionadas e pelas alterações térmicas ocorridas durante a fabricação dos cones, o que confere à GP características que a tornam especialmente vantajosa para a obturação de canais radiculares. Os cones de GP são fabricados em condições assépticas e possuem propriedades antibacterianas. A composição principal desses cones inclui óxido de zinco (75%) e GP (20%), além de sulfato de bário, resinas e corantes (Ribeiro et al., 2023). Entretanto, eles podem ser contaminados por aerossóis, armazenamento inadequado e manuseio físico (Vanapatla et al., 2022).

Kayaoglu et al. (2009) observaram que cones de guta-percha retirados diretamente de embalagens seladas do fabricante já podiam apresentar contaminação microbiana, sugerindo que o processo de produção, transporte ou armazenamento poderia favorecer a presença de microrganismos. Os autores também verificaram que a frequência de contaminação aumentava significativamente após a abertura da embalagem e o uso clínico, indicando que o manuseio e as condições de conservação desempenham papel essencial na manutenção da esterilidade desses materiais. Esses achados reforçam a necessidade de protocolos rigorosos de desinfecção antes do uso, uma vez que

a introdução de cones contaminados no canal radicular representa um risco para o sucesso do tratamento endodôntico.

Por isso, é crucial adotar um protocolo rápido de desinfecção dos cones de GP antes de utilizá-los. O gênero *“Staphylococcus”* é frequentemente detectado nos cones de GP, tanto dentro de suas embalagens quanto após o manuseio. Além disso, o *Enterococcus faecalis”* (ATCC 29212) é amplamente reconhecido como um dos patógenos intracanais mais resistentes. Devido à termossensibilidade dos cones de GP, a esterilização por calor úmido ou seco não é recomendada, pois compromete a integridade estrutural do material (Vanapatla et al., 2022).

3.4 Visão geral dos métodos de esterilização com guta-percha

Em razão de sua suscetibilidade à contaminação é fundamental utilizar métodos de esterilização eficazes para assegurar o sucesso dos tratamentos endodônticos. Métodos tradicionais de esterilização, como calor úmido ou seco, são inadequados para a GP devido às suas propriedades termoplásticas. Por isso, métodos de desinfecção química foram desenvolvidos e avaliados quanto à sua eficácia (CHANDRAPPA et al.,2014).

A guta-percha é o material de obturação mais amplamente utilizado em endodontia devido às suas propriedades físico-químicas e à capacidade de se adaptar ao sistema de canais radiculares. Entre suas principais características destaca-se a termoplasticidade, ou seja, a capacidade de sofrer amolecimento e deformação sob efeito do calor, retornando a um estado sólido após o resfriamento (TANOMARU-FILHO et al., 2007). Essa propriedade permite que o material seja compactado e adaptado às irregularidades do canal radicular, favorecendo o selamento tridimensional.

Do ponto de vista estrutural, a guta-percha apresenta diferentes fases cristalinas que sofrem transições quando submetidas ao aquecimento. Estudos demonstram que a fase β, predominante em cones comerciais, sofre transição para a fase α em temperaturas em torno de 48–55 °C, e posteriormente para a fase amorfa entre 59–63 °C (MANIGLIA-FERREIRA et al., 2005; LIAO et al.,

2021). Essas transições estão diretamente relacionadas à sua capacidade de fluir e preencher espaços durante técnicas de obturação termoplástica.

Pesquisas também evidenciam que a composição química, especialmente a proporção entre óxido de zinco e polímeros orgânicos, influencia no comportamento térmico e na condutividade da guta-percha (BRISEÑO-MARROQUÍN et al., 2014; LIAO et al., 2021). Materiais classificados como "*soft type*" apresentam maior fluidez, mas também menor estabilidade física após o resfriamento, demandando maior condensação para garantir qualidade de obturação semelhante à dos tipos convencionais (LEE et al., 2019). Além disso, a guta-percha apresenta baixa condutividade térmica, o que implica aquecimento irregular em procedimentos clínicos, reforçando a importância de protocolos adequados de aplicação de calor (BRISEÑO-MARROQUÍN et al., 2014).

3.4.1 Hipoclorito de sódio (NaClO)

O hipoclorito de sódio (NaClO) é amplamente empregado como solução irrigante em tratamentos endodônticos, devido à sua comprovada eficácia na dissolução de tecidos orgânicos e à sua potente ação antimicrobiana. Nos últimos anos, diferentes formulações de NaOCl contendo moléculas surfactantes foram desenvolvidas e disponibilizadas no mercado. A presença desses surfactantes reduz a tensão superficial da solução, favorecendo uma melhor umectação das paredes dentinárias. Como resultado, há um aumento da penetração do irrigante ao longo do canal radicular, o que contribui para uma desinfecção mais eficaz de regiões de difícil acesso, como o interior dos túbulos dentinários, áreas que os instrumentos endodônticos não conseguem alcançar (VITALI et al., 2019).

3.4.2 Clorexidina

O digluconato de clorexidina (CHX), é um composto sintético formado por dois grupos de biguanida e dois anéis simétricos de 4-clorofenil, conectados por uma cadeia de hexametileno ($C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}2C_6H_{12}O_7$). A CHX é uma molécula pouco solúvel em água, miscível em lipídios e que interage com

lipopolissacarídeos e fosfolipídios na membrana das células bacterianas. Seus efeitos benéficos decorrem da interação de sua carga positiva com os fosfatos de carga negativa presentes nas paredes celulares das bactérias, além de sua capacidade de alterar o equilíbrio osmótico das células bacterianas. Isso pode aumentar a permeabilidade das paredes celulares, permitindo a entrada do CHX na célula. Em concentrações elevadas (≥2%), a CHX atua como bactericida, causando a precipitação do conteúdo celular; em concentrações mais baixas (0,2%), provoca o vazamento de fósforo e potássio das estruturas celulares (MOHAMMADI; JAFARZADEH; SHALAVI, 2014).

A CHX tem sido sugerida como uma alternativa promissora ao NaClO para irrigação durante a desinfecção de canais radiculares e a instrumentação endodôntica. As propriedades antibacterianas do CHX foram amplamente confirmadas quando utilizado como tratamento auxiliar para diversas condições orais. Além disso, o CHX é conhecido por suas excelentes propriedades antissépticas, e sua eficácia no controle químico do biofilme dental em pacientes com doença periodontal já foi estabelecida. No entanto, a principal limitação do CHX como irrigante endodôntico é a sua incapacidade de dissolver o tecido pulpar (GONÇALVES et al.,2016).

3.4.3 Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)

Estudos demonstram que o EDTA a 17% é eficaz na eliminação da camada de biofilme bacteriano sendo comparável ou superior a outros agentes, como Mistura de isômero de tetraciclina, ácido e detergente (MTAD) e ácido cítrico. Além disso, em combinação com NaClO a 5,25%, apresenta resultados satisfatórios na remoção da camada de smear. Apesar de sua eficácia na eliminação dessa película, o EDTA apresenta uma atividade antimicrobiana limitada, que depende da interação com íons metálicos e das condições de temperatura. Estudos mostraram que o aumento da temperatura melhora sua eficácia, porém não tem um efeito significativo sobre o biofilme bacteriano e *Enterococcus faecalis* (MOHAMMADI et al.,2021).

A literatura demonstrou que a remoção eficaz da camada de *smear* da

parede do canal pode ser alcançada utilizando 10 mL de solução de EDTA durante 1 minuto. Quanto mais tempo a solução permanece em contato com a dentina, maior é o grau de desmineralização. A aplicação ultrassônica de EDTA a 17% por um minuto no terço apical da raiz mostrou ser altamente eficaz, e o uso de EDTA líquido durante a terapia endodôntica também é recomendado (ALI et al., 2022).

3.4.4 Ácido peracético (PAA)

O ácido peracético é um líquido incolor com pH ácido e alto poder oxidante, eficaz em baixas concentrações contra todos os microrganismos e esporos bacterianos, sendo estável em uma ampla faixa de temperatura (0 a 40 °C) e resistente a pequenas variações de pH. Sua ação desinfetante ocorre por meio da oxidação dos componentes celulares, liberando oxigênio ativo que interage com as ligações de enxofre em proteínas, enzimas e outros metabólitos, interrompendo a função osmótica e o transporte de lipoproteínas na membrana citoplasmática, além de causar a ruptura da parede celular, o que é especialmente eficaz contra microrganismos gram-negativos. O ácido peracético também desnatura proteínas, contribuindo para sua ação esporicida e ovicida, interfere nas bases do DNA e inibe a catalase, enzima responsável por neutralizar radicais livres de hidroxila. Suas principais vantagens incluem a biodegradabilidade, baixa toxicidade e eficácia na presença de matéria orgânica, além de se decompor rapidamente em ácido acético, água e oxigênio após o uso, permitindo seu descarte seguro e simples através de diluição em água e lançamento na rede de esgoto, sem necessidade de cuidados especiais (NASCIMENTO et al., 2015).

3.4.5 MTAD (Mixture of Tetracycline isomer, Acid, and Detergent)

MTAD é uma solução de irrigação formada por uma combinação de um isômero de tetraciclina (antibiótico), ácido cítrico e um detergente. Estudos recentes indicam que o MTAD é eficaz na eliminação de *Enterococcus faecalis*,

na redução da contaminação bacteriana do canal radicular auxilia na remoção da camada de smear da dentina, preservando sua integridade estrutural (MURAD et al., 2012).

3.5 *Enterococcus faecalis*

O *Enterococcus faecalis* é uma bactéria anaeróbica gram-positiva que geralmente reside na cavidade oral humana, trato gastrointestinal e vaginal, pois demonstrou uma adaptação eficaz a esses ambientes, que oferecem nutrientes abundantes e baixos níveis de oxigênio. Diversos estudos indicaram que o *E. faecalis* é mais comum em casos de falha no tratamento endodôntico do que em infecções primárias. Em pacientes que experimentam dor e infecção após a terapia endodôntica, observou-se que o *E. faecalis* é frequentemente detectado,com uma prevalência tão alta quanto 90%. Em casos de infecção endodôntica primária, o *E. faecalis* têm maior probabilidade de estar associado a casos assintomáticos do que sintomáticos. (PINHEIRO et al.,2003; SINGH,2016).

Diversos estudos laboratoriais investigaram a resposta do *E. faecalis* ao tratamento endodôntico, revelando uma considerável resistência a agentes antimicrobianos. Além disso, o *E. faecalis* é capaz de sobreviver em condições adversas, incluindo ambientes com baixa disponibilidade de nutrientes e pH extremamente alcalinos, chegando a 11,5. Sua habilidade de formar biofilme nas paredes dos canais radiculares e de ser a única bactéria presente em canais tratados, sem o suporte sinérgico de outras espécies, contribui para sua alta resistência aos agentes antimicrobianos, tornando-o um patógeno especialmente desafiador no tratamento endodôntico. (ESTRELA et al,2008; MURAD et al,2011)

O *E. faecalis* apresenta poucas exigências para o seu crescimento, é capaz de se desenvolver em temperaturas de 10 a 45 °C, pH 9,6 em 6,5% de solução salina, e de sobreviver a 60 °C por 30 minutos. Para a identificação de enterococos por procedimentos microbiológicos convencionais, testes de fermentação de carboidratos e utilização de piruvato são determinados em meio

de infusão cérebro-coração (BHI), contendo bromocresol violeta e 1% de carboidratos esterilizados por filtração ou piruvato a 1% (FIGDOR, DAVIES, SUNDQVIST,2023).

3.6 Ozônio (O_3)

O ozônio (do grego, significa "dar cheiro") é um fluido de estrutura molecular triatômica, uma forma alotrópica do oxigênio. Naturalmente presente na atmosfera terrestre sob forma de gás, é, contudo, uma molécula instável. O gás puro exibe uma coloração azul-celeste suave e um odor pungente e acre. Sua massa molar é de 48 g/mol, em comparação com a molécula diatômica de oxigênio (32 g/mol). Possui uma estrutura cíclica, com uma distância entre os átomos de oxigênio de 1,26 Å, existindo em diversos estados mesoméricos em equilíbrio dinâmico. Em termos de capacidade oxidante, o ozônio se posiciona como o terceiro mais reativo, seguindo o flúor e o persulfato, o que explica sua elevada reatividade (BOCCI,2011).

O ozônio se forma naturalmente por meio de diferentes processos atmosféricos, sendo as descargas elétricas e a radiação ultravioleta os principais catalisadores. Durante tempestades, por exemplo, é possível notar um odor característico causado pela formação de ozônio a partir do oxigênio, induzida pelas descargas elétricas. Esse fenômeno foi observado ainda no século XIX por Christian Friedrich Schönbein, que associou o cheiro pungente a uma forma “superativa” de oxigênio (BOCCI,2011).

Outra via fundamental para a geração natural de ozônio ocorre na estratosfera, por volta de 22 km de altitude, onde a radiação ultravioleta (~255 nm) do sol dissocia moléculas de oxigênio, dando origem ao ozônio. Esse processo é vital para a formação da camada de ozônio, que atua como um escudo protetor contra a radiação UV nociva. A presença dessa camada começou a se estabelecer há cerca de 2,3 bilhões de anos, em um momento crucial da evolução atmosférica terrestre (BOCCI,2011).

Para fins industriais e médicos, o ozônio é gerado artificialmente por meio de dispositivos específicos. Inspirado pelo princípio de que o ozônio se forma a partir do oxigênio submetido a descargas elétricas, o químico Werner

von Siemens desenvolveu o tubo de superindução, conhecido como tubo de *Siemens*, marcando o início da produção controlada de ozônio. Atualmente, a tecnologia mais comum para uso médico é o ozonizador de descarga elétrica corona (BOCCI,2011).

Esse tipo de gerador funciona ao passar oxigênio puro (O_2) por um espaço entre um eletrodo e outro de aterramento, ambos com elevado potencial elétrico aplicado em kV (quilovolts), criando um campo de energia chamado "corona". A descarga elétrica tem a capacidade de dissociar algumas moléculas de oxigênio em átomos individuais, que, ao encontrarem outras moléculas de O_2, se recombinam e formam ozônio (O_3), segundo a reação $3\ O_2 \rightarrow 2\ O_3$. Os geradores médicos geralmente utilizam de 2 a 4 tubos de elevada tensão elétrica aplicada entre eles, operando com valores entre 4.000 e 13.000 V, sendo que concentrações mais altas de ozônio são obtidas com maior inserção de tensão elétrica (BOCCI,2011).

O uso do ozônio na medicina teve início de forma empírica e com pouca precisão há cerca de dois séculos, com o primeiro relato de sua aplicação para esterilização datando de 1826. Contudo, nas últimas décadas, especialmente nos últimos dez anos, avanços notáveis foram alcançados graças ao desenvolvimento de geradores de ozônio médico mais modernos, os quais possibilitam a determinação mais precisa de suas concentrações em tempo real, além de favorecer uma compreensão mais aprofundada de seus mecanismos de ação no tratamento de diversas enfermidades. Quando administrado em concentrações adequadas, o ozônio pode atuar como um agente terapêutico eficaz. Diversos estudos relatam seu potencial antimicrobiano**,** o ozônio degrada por oxidação a membrana lipídica dos microrganismos. Após essa ruptura, a permeabilidade da membrana celular aumenta, facilitando a entrada das moléculas de ozônio no interior da célula. Ademais, o ozônio desencadeia reações moleculares no meio em que está presente, liberando radicais livres de oxigênio que, subsequentemente, promovem a destruição indireta do microambiente biológico (ZENG; LU, 2018)

A aplicação da ozonioterapia na odontologia já foi testada em diversas áreas, como odontologia operatória e periodontia. Na endodontia, a

ozonioterapia tem sido proposta como medicação intracanal ou irrigante para o canal radicular. O ozônio demonstrou ser eficaz contra a bactéria *Enterococcus faecalis*. Além disso, um estudo recente indicou que o ozônio possui eficácia semelhante ao NaClO contra o biofilme da mesma bactéria. Quando testado contra diferentes espécies bacterianas, o ozônio mostrou capacidade de eliminar ou reduzir significativamente esses microrganismos. O ozônio em solução aquosa é bem tolerado por células epiteliais da cavidade oral e por fibroblastos gengivais humanos (MORAES et al.,2021).

Nagayoshi et al. (2004) verificaram que a água ozonizada foi capaz de reduzir a presença de *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans* em túbulos dentinários, indicando potencial de aplicação como irrigante endodôntico. Resultados semelhantes foram observados por Huth et al. (2009), que avaliaram biofilmes de microrganismos cariogênicos e periodontopatogênicos, constatando ação antimicrobiana significativa do ozônio, embora dependente da concentração e do tempo de exposição.

Na endodontia, o ozônio tem se mostrado promissor como agente complementar à desinfecção do sistema de canais radiculares. Um estudo ex vivo realizado por Filizola et al. (2021) demonstrou que protocolos de irrigação com ozônio reduziram em mais de 99% a carga bacteriana de *E. faecalis* em canais radiculares, embora sem eliminar completamente o biofilme, reforçando a importância da associação com métodos convencionais de irrigação, como o hipoclorito de sódio. Além disso, revisões de literatura apontam benefícios do ozônio também no manejo de doenças periodontais, com redução de patógenos periodontais e melhora clínica de índices periodontais (CARNEIRO et al., 2019).

3.7 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia tem se consolidado como uma ferramenta essencial em aplicações biomédicas, com avanços significativos na avaliação clínica. Estudos em tecidos naturais, especialmente com a espectroscopia FTIR, destacam sua simplicidade, reprodutibilidade e caráter não destrutivo, exigindo apenas pequenas quantidades de amostra com preparação mínima. Além disso, essas

técnicas fornecem informações moleculares detalhadas, permitindo a análise de grupos funcionais, tipos de ligações e conformações moleculares. As bandas espectrais são específicas para cada molécula, fornecendo dados diretos sobre a composição bioquímica, além de serem estreitas, facilmente resolvíveis e sensíveis a alterações na estrutura, conformação e no ambiente molecular (MOVASAGHI; REHMAN; UR REHMAN, 2008).

O princípio do FTIR baseia-se na interação da radiação infravermelha com as moléculas, levando à absorção de energia em frequências específicas que correspondem às vibrações químicas das ligações moleculares. O instrumento emite um feixe de radiação IR que atravessa um interferômetro, gerando um interferograma que é posteriormente transformado matematicamente (por Transformada de Fourier) em um espectro de absorção ou transmitância. A radiação infravermelha é dividida e recombinada no interferômetro com diferentes comprimentos de caminho óptico**,** criando um padrão de interferência chamado interferograma**.** Esse interferograma contém informações sobre todas as frequências de radiação absorvidas pelas moléculas da amostra, que são posteriormente convertidas em um espectro de absorção ou transmitância por meio da Transformada de Fourier. Esta, ao absorver a radiação, vibra em modos específicos dependendo de suas características moleculares, como grupos funcionais e ligações químicas. O detector óptico registra a variação da intensidade da radiação em função do tempo, e, por meio de uma transformação matemática (Transformada de Fourier), o espectro final é gerado, exibindo as frequências de absorção que são características da composição molecular da amostra. O FTIR é eficiente, pois permite a análise simultânea de todas as frequências dentro de uma certa banda de atuação, oferecendo um espectro detalhado em um curto período de tempo (MOHAMED et al., 2017).

No campo odontológico, o método tem sido empregado para avaliar modificações químicas resultantes de processos de degradação, envelhecimento, bem como para verificar a incorporação de aditivos e substâncias bioativas. Sua alta sensibilidade possibilita detectar pequenas mudanças moleculares que podem impactar diretamente nas propriedades

físicas e funcionais dos materiais (SILVA JÚNIOR; PAULA, 2007; VAUCHER et al., 2013).

No caso da guta-percha, principal material de obturação utilizado em endodontia, o FTIR tem sido essencial para estudar sua composição química, que inclui poliisopreno, óxido de zinco, resinas, ceras e agentes radiopacificadores. A análise espectroscópica fornece informações relevantes sobre a estabilidade do material, variações entre marcas comerciais e potenciais alterações após processos clínicos ou de armazenamento. Assim, o uso da FTIR contribui para compreender de forma mais aprofundada as propriedades químicas da guta-percha e sua relação com o desempenho clínico no selamento dos canais radiculares (SILVA JÚNIOR, 2003; AL-HADDAD et al., 2015).

3.8 Perfilometria Óptica

O perfilômetro óptico é um instrumento usado para obter dados topográficos de superfícies, permitindo analisar a morfologia, a altura de degraus e a rugosidade de suma superfície com alta precisão dimensional. Diferente dos métodos tradicionais que utilizam uma sonda mecânica, o perfilômetro óptico emprega luz para realizar medições sem contato, focando-a sobre a superfície para detectar variações na escala de nanômetros. Essa abordagem não invasiva facilita a análise detalhada, oferecendo dados visuais e numéricos sobre a topografia da superfície. Por sua capacidade de caracterizar superfícies com precisão e eficiência, o perfilômetro óptico é amplamente utilizado em controle de qualidade, estudos de materiais e pesquisas científicas (EKICI et al., 2021).

A rugosidade superficial dos cones de guta-percha representa um fator relevante na endodontia, uma vez que pode influenciar tanto a adaptação do material às paredes do canal radicular quanto sua interação com cimentos endodônticos. Alterações na topografia superficial podem comprometer a vedação apical, favorecer a penetração bacteriana ou, em contrapartida, aumentar a retenção mecânica do cimento. Nesse contexto, Nunes, Gouvea e Silva (2019) avaliaram o impacto de diferentes protocolos de desinfecção sobre a rugosidade de cones de guta-percha, utilizando dois métodos distintos de

análise. Os autores observaram que alguns protocolos de desinfecção, embora eficazes no controle microbiano, promoveram modificações significativas na superfície dos cones.

Esses achados reforçam a importância de compreender a relação entre métodos de desinfecção e a integridade superficial da guta-percha, visto que procedimentos destinados à redução da contaminação podem interferir diretamente nas propriedades físicas do material. Dessa forma, a análise da rugosidade torna-se fundamental não apenas para avaliar a qualidade dos cones disponíveis comercialmente, mas também para assegurar a previsibilidade clínica dos tratamentos endodônticos.

3.9 Resistência à Tração e Módulo de Elasticidade

A resistência à tração e o módulo de elasticidade são propriedades mecânicas dos materiais usadas para descrever seu comportamento em termos de deformação sob forças externas.

3.9.1 Resistência à tração (σ_t)

É a máxima tensão que um material pode suportar antes de se romper quando submetido a um esforço de tração. É medida em Pascal (Pa) ou seus múltiplos, como Mega Pascal (MPa) (CALLISTER; RETHWISCH, 2002; BEER et al., 2011).

Fórmula:

$$\sigma_t = \frac{F}{A}$$

Onde:

- F = força máxima aplicada (N)
- A= área da seção transversal do material (m^2)

3.9.2 Módulo de Elasticidade (E) ou Módulo de Young

O módulo de elasticidade é um parâmetro que especifica o quanto o

material se deforma elasticamente antes de sofrer deformação permanente (ABNT, 2002). É uma medida da rigidez do material, ou seja, sua capacidade de resistência elástica quando submetido a uma tensão mecânica. Um material com módulo de elasticidade alto é mais rígido e menos deformável (CALLISTER; RETHWISCH, 2002; BEER et al., 2011).

Fórmula:

$$E = \frac{\sigma}{s}$$

- σ = tensão aplicada (Pa)
- ε = deformação relativa (adimensional), definida como a relação entre a deformação e o comprimento do corpo de prova sob teste.

3.10 Resistência à tração e módulo de elasticidade de cones de guta-percha

O teste de resistência à tração dos cones de GP é realizado em uma máquina universal de ensaios, o mesmo deve seguir a norma da Organização Internacional para Padronização (ISO) 527-1:2019-12. As extremidades dos cones são fixadas nos fixadores mordentes da máquina (FIGURA 1). Durante o ensaio, o diagrama tensão-deformação (FIGURA 2) é gerado em tempo real em um computador conectado à máquina de ensaios, evidenciando duas fases distintas: a zona elástica e a região plástica do material a ser analisado (BELLIDO-GUZMÁN et al.,2024).

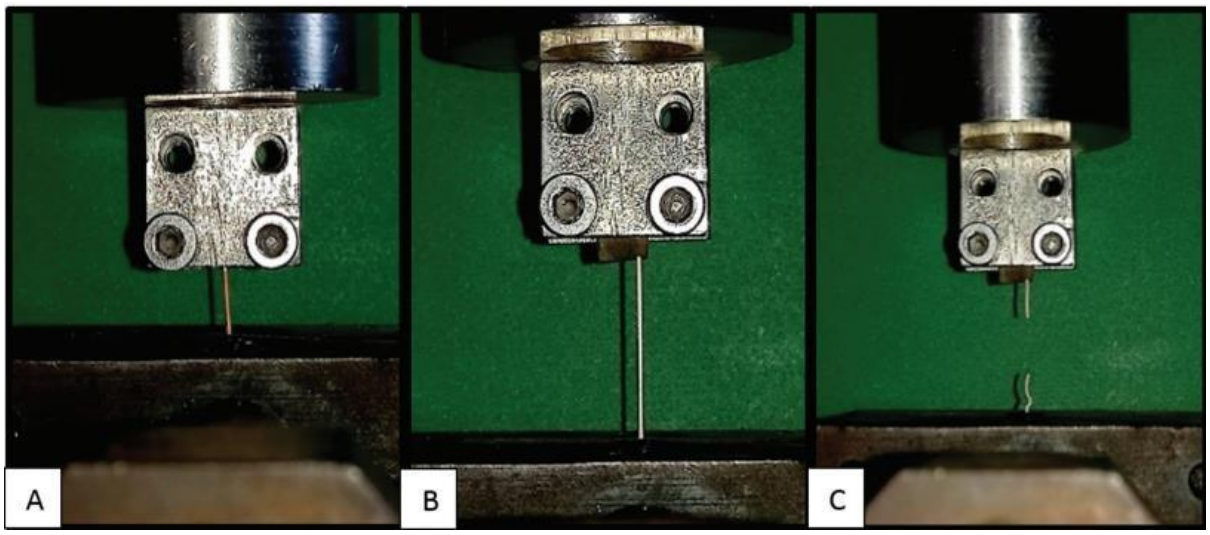


Figura 1 Teste de resistência à tração dos cones de guta-percha. Teste de resistência à tração dos cones de guta-percha.

FONTE: BELLIDO-GUZMÁN et al.,2024



Figura 2 Diagrama computadorizado de tensão de amostras de cone de guta-percha;

FONTE: BELLIDO-GUZMÁN et al.,2024

3.11 Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

O MEV é amplamente reconhecido como um sistema registro de imagens indispensável para a análise morfológica de materiais inorgânicos e biológicos. Com capacidade de ampliação que varia de 1.000 até mais de 500.000 vezes. Sua alta precisão torna essa técnica essencial em diversas áreas científicas, como engenharia química, ciência dos materiais e biologia, fornecendo informações fundamentais sobre a superfície e a composição dos materiais analisados (DAVIES et al., 2022).

Para realizar uma análise no MEV, a amostra é fixada em um suporte específico metálico chamado "stub", utilizando fita de carbono dupla-face para garantir sua aderência. Esse preparo é essencial para evitar problemas de carregamento elétrico, que podem prejudicar a qualidade das imagens. Amostras não condutoras, como polímeros, são revestidas por pulverização catódica (“*sputtering*”) com uma fina camada de carbono ou metais como ouro ou platina, que fornecem uma superfície condutiva capaz de refletir elétrons e melhorar a captura de sinais (AKHTAR et al., 2018).

A MEV utiliza um feixe de elétrons primários, gerado e acelerado a altas energias (1–40 keV), que interage com a superfície da amostra. Durante essa interação, diferentes sinais são gerados, como elétrons secundários (SEs), que fornecem informações sobre a topografia, e elétrons retroespalhados (BSEs), que revelam contrastes de composição. Raios X também podem ser emitidos, permitindo a identificação elementar da amostra. Esses sinais são coletados por detectores e processados para formar imagens de alta qualidade. A técnica é não destrutiva, já que a emissão de raios X não altera a amostra, permitindo análises repetidas. O MEV é amplamente utilizado em pesquisas científicas e controle de qualidade devido à sua versatilidade e precisão (AKHTAR et al., 2018).

O MEV tem sido amplamente utilizado para investigar a morfologia superficial de cones de GP e os efeitos de diferentes procedimentos clínicos sobre sua integridade. Estudos demonstram que protocolos de desinfecção com hipoclorito de sódio podem induzir alterações na topografia dos cones,

como aumento da rugosidade e presença de depósitos cristalinos, dependendo da concentração e do tempo de exposição (BRITO et al., 2013; FERRAZ et al., 2003). Além disso, variações no método de corte dos cones também influenciam sua superfície apical, sendo que cortes realizados com tesoura produzem deformações e bordas irregulares, enquanto a utilização de lâmina contra base de vidro resulta em superfícies mais regulares (ASGARY et al., 2006). Tais achados são relevantes clinicamente, uma vez que irregularidades superficiais podem comprometer a adaptação do cone ao canal radicular e interferir na qualidade da obturação (GOLDBERG et al., 1991).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Um estudo *in vitro* foi conduzido por meio de análise microbiológica quantitativa para avaliar a inativação de *Enterococcus faecalis* em cones de GP contaminados experimentalmente.

4.2 Local de realização do protocolo experimental

O protocolo experimental foi realizado no Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ), localizado no Parque Tecnológico de São José dos Campos, são José dos Campos, SP. Para o desenvolvimento do sistema de desinfecção, foi utilizado o Laboratório de Apoio Mecânico, para a contaminação microbiológica dos cones de guta-percha e avaliação dos protocolos de desinfecção foram utilizados os Laboratórios de Biotecnologia e Desinfecção/Esterilização.

4.3 Desenvolvimento do sistema hidrodinâmico

No desenvolvimento deste projeto, utilizou-se uma tecnologia patenteada RPI 2666 (21) 10 2021 025.690-7, contando com modificações mecânicas para a fixação das amostras, o sistema inclui em seus componentes materiais que apresentam significativa resistência oxidativa ao ozônio, como por exemplo

reservatório d'água de acrílico (500 mL), dutos flexíveis de silicone para fluir a água ozonizada, bomba d'água e válvula Venturi de PVDF. Os componentes do sistema, exceto a bomba d'água e a válvula Venturi, foram submetidos à desinfecção de alto nível em autoclave a vapor.

Os experimentos foram conduzidos continuamente dentro de uma capela de exaustão, visando garantir a segurança do operador devido ao gás ozônio excedente. Após o procedimento de contaminação das amostras, o suporte de teflon mantendo a fixação de oito cones de guta-percha foi colocado em um tubo de acrílico com 2,3 cm de diâmetro interno e 14 cm de comprimento, sendo então inserido no sistema desenvolvido, baseado em um circuito hidrodinâmico fechado para a transferência de ozônio para a água.

O sistema atuou com antecedência por 10 minutos de ozonização para alcançar um valor de concentração de ozônio (mg/L) na água destilada, com o principal objetivo de inativar a possível microbiota presente no sistema hidráulico. Foi coletado a cada 30 segundos, o valor de concentração de ozônio na água destilada durante o processo de ozonização, até o décimo minuto. Para isso, foi utilizado o instrumento medidor de ozônio (Portable Orp Test Pen Alkaline Water Orp Meter ORP/Temp ORP30).

Antes do experimento, o gerador de ozônio (MS3G, MS Ltda, Brasil) foi calibrado usando um medidor fotométrico para concentração de ozônio gasoso (BMT 964 ST, BMT GmbH, Alemanha). Em seguida, foi ajustado para uma concentração de 57,2 mg/L, com uma taxa de fornecimento de gás oxigênio de 0,25 L/min na entrada junto a entrada do gerador de ozônio.

O cilindro de oxigênio medicinal e uma válvula reguladora de fluxo foram conectados a entrada do gerador de ozônio, que, por sua vez, na saída do mesmo, foi acoplado a um injetor Venturi, responsável por promover a transferência de massa do ozônio para o fluxo de água utilizado no sistema de desinfecção. O experimento foi realizado em ambiente climatizado a 21°C, com a temperatura da água monitorada ao longo do procedimento, mantendo-se constante no mesmo valor. A água ozonizada circula continuamente pelo sistema (**FIGURA 3**) sendo forçosamente escoada por uma bomba centrífuga, que opera a uma vazão de 35 mL/s. Esse fluxo percorre um circuito com dutos

flexíveis de silicone e é direcionado para o tubo de acrílico onde estão localizadas as guta-perchas. Após passar pelo cabeçote, a água retorna a um reservatório de acrílico com capacidade de 500 mL.

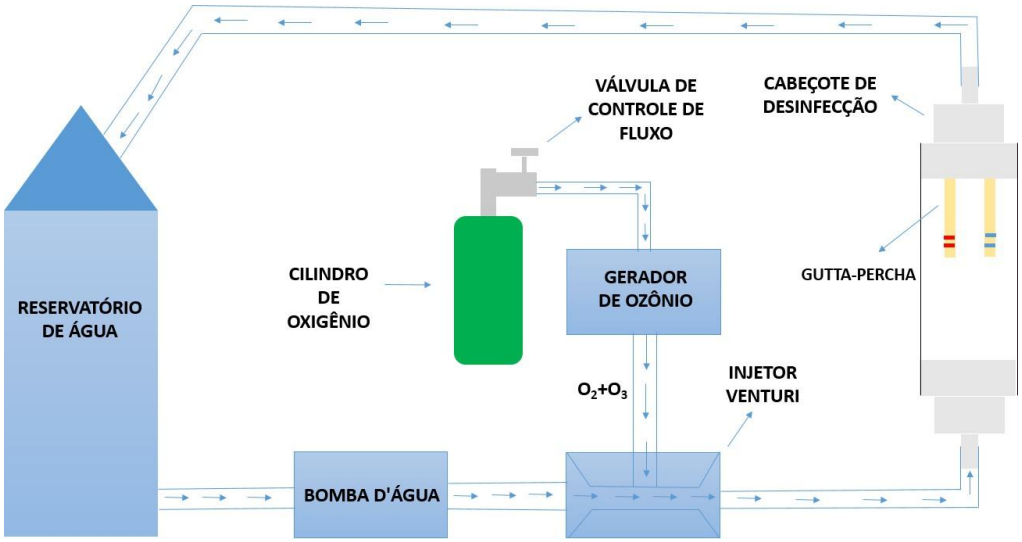


Figura 3 Representação esquemática do sistema de ozonização hidrodinâmico desenvolvido para desinfecção dos cones de Guta Percha. FONTE: Próprio autor

Para a análise, inicialmente foram considerados os seguintes intervalos de tempo para o protocolo de desinfecção: 5, 10, 15 e 20 minutos. No decorrer da pesquisa, durante os ensaios microbiológicos observou-se que o tempo ideal para a desinfecção era de 7 minutos. O processo ocorreu em um sistema hidrodinâmico fechado e automatizado, no qual a água ozonizada é bombeada continuamente, circulando pelo injetor Venturi. Esse fluxo contínuo permite que a água ozonizada percorra toda a superfície da amostra produzindo um efeito de arraste constante durante o protocolo de desinfecção.

4.4 Inoculação experimental das amostras

Para a contaminação experimental, cepas de *Enterococcus faecalis* foram cultivadas em meio TSA (Tryptic Soy Agar - Liofilchem®) e incubadas por 24 horas a 37 °C, sendo posteriormente utilizadas no preparo das suspensões bacterianas. As suspensões foram obtidas pela transferência de colônias de *E. faecalis* para solução de cloreto de sódio a 0,9% estéril, com a concentração

ajustada por turbidez, de acordo com a escala nefelométrica de McFarland entre 0,2 e 0,25 (equivalente a 10^7 UFC/mL).

A turbidez foi verificada em turbidímetro (Plus, Alfakit, Florianópolis, Brasil), previamente calibrado com água ultrapura e conferido com os padrões 0,5 e 4,0 McFarland. Após o ajuste da concentração, a suspensão foi diluída até atingir a concentração final de 10^6 UFC/mL.

Os cones de guta-percha foram inseridos em um porta amostras (**FIGURA 4**) constituído de material politetrafluoretileno (PTFE), este dispositivo possuía capacidade para acomodar até oito cones simultaneamente.

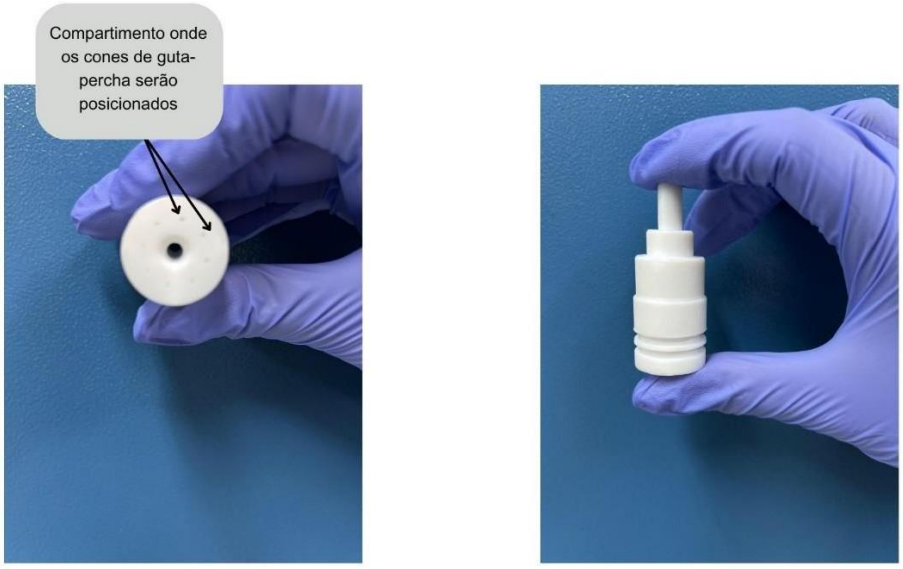


Figura 4 Porta amostra de politetrafluoretileno (PTFE) para a fixação e posicionamento dos cones de guta-percha. Inserir nas imagens as letras A e B, escrever um descritivo de cada uma delas. FONTE: Próprio Autor

Após o acondicionamento dos cones de GP no porta amostras, estes foram submetidas a um processo de contaminação experimental (**FIGURA 5**). A cepa *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) foi cultivada por 24 horas a 37 °C em *Ágar Tryptic Soy* (KASVI Platinum) e utilizada para o preparo das suspensões microbianas. A concentração final de *E. faecalis* foi ajustada para 10^6 UFC/mL em solução fisiológica estéril, por meio de diluição seriada baseada no método nefelométrico (Escala de McFarland). A porta amostra contendo os cones de GP foi então inserido em um béquer de 40 mL, onde as amostras permaneceram por

30 minutos.

O experimento utiliza um béquer contendo uma solução bacteriana com solução salina, onde os cones são expostos para executar a contaminação. Para garantir a estabilidade do sistema, foram empregados um suporte universal de laboratório e uma garra tipo pinça com mufa, que fixa a porta amostras durante o procedimento.



Figura 5 Contaminação controlada de cones de guta-percha em uma solução contendo a bactéria *Enterococcus faecalis.* Fonte: Próprio Autor

Após o tempo determinado para a inoculação bacteriana, foram coletadas amostras em triplicata, incluindo os controles positivo e negativo, além das amostras que foram submetidas à exposição à água ozonizada por 7 minutos. A peça de PTFE porta amostras contendo os cones de GP foi inserida em um tubo de acrílico com diâmetro externo de 23 mm (2,3 cm), permitindo o contato direto com a água ozonizada sob condição dinâmica (**FIGURA 6**).

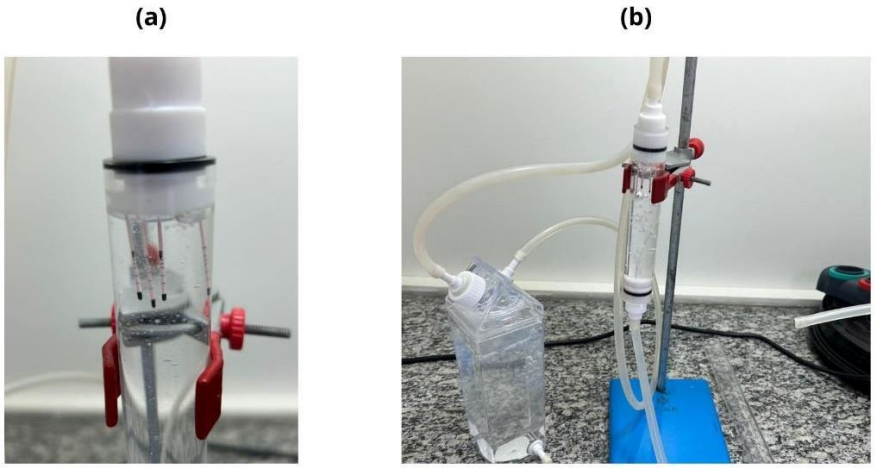


Figura 6 Imagens do protocolo de desinfecção da GP utilizando água ozonizada sob condição dinâmica. Figura 6a detalha as amostras fixadas junto ao conector PTFE em que flui a água ozonizada. Figura 6b mostra imagem mais ampla evidenciando todo o cabeçote ligado ao reservatório de água ozonizada.**Fonte:** Próprio Autor

4.5 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Foi realizada uma análise para investigar possíveis alterações químicas na composição dos cones de GP após a exposição ao ozônio. Para isso, foram obtidos espectros de FTIR em triplicata na região do infravermelho médio, abrangendo duas condições experimentais distintas: cones de guta-percha *in natura* e cones expostos por 7 minutos à água ozonizada no sistema hidrodinâmico.

A análise por espectroscopia FTIR (Spectrum Frontier PerkinElmer) foi realizada utilizando um espectrômetro equipado com o acessório de reflexão UATR. O espectro foi obtido na faixa de 4000 a 550 cm^{-1}, com um total de 20 varreduras ganho ajustado para 1, este equipamento fica localizado em laboratório com ambiente climatizado em termos de temperatura e umidade relativa. Para a elaboração dos espectros com as indicações de picos específicos, foi utilizado o *software OriginPro* (**FIGURA 7**).

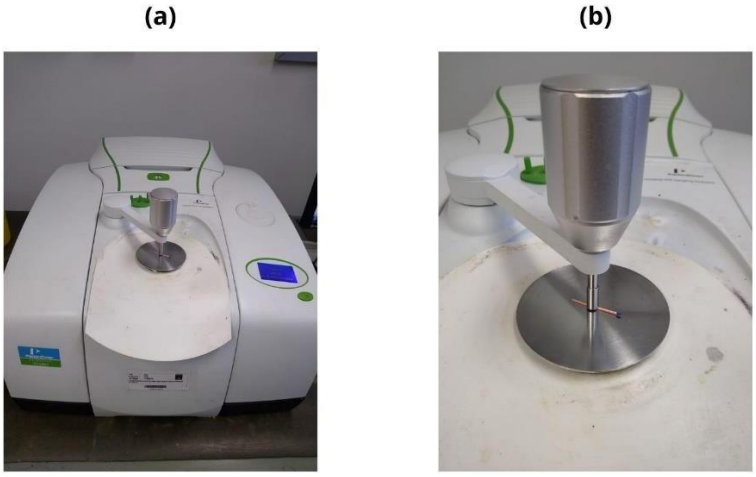


Figura 7 (a) Espectrômetro de infravermelho Perkin Elmer modelo Frontier usado na pesquisa. (b) Cone de GP durante o processo de análise no espectrômetro. FONTE: Próprio autor

4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise por MEV foi realizada em duas condições experimentais distintas: na região média de cones de guta-percha in natura e cones expostos por 7 minutos à água ozonizada no sistema hidrodinâmico.

Foi realizada a fixação das amostras com glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,2 M e água destilada. As amostras foram mantidas entre 2 e 8 °C por 48 horas antes da análise. Posteriormente, foram submetidas a três lavagens de 30 minutos cada, utilizando uma solução composta por fosfato dissódico, fosfato monossódico e água destilada em proporção 1:1. O processo de desidratação ocorreu em 7 etapas sequenciais com etanol em diferentes concentrações: 30% por 10 minutos, 50% por 10 minutos, 70% por 10 minutos, 90% por 10 minutos,90% por 20 minutos, 100% por 10 minutos e, por fim, 100% por 20 minutos. As amostras foram então fixadas em suportes com fita de carbono dupla face e metalizadas com uma camada de ouro com a utilização do metalizador, Sputter Coater Quorum Q150T Es (**FIGURA 8**). As imagens foram obtidas com o equipamento MEV-FEG Tescan Mira 3 **(FIGURA 9)**.



Figura 8 Equipamento para a deposição de filme metálico em ambiente de vácuo, equipamento Sputter Coater Quorum Q150T Es. FONTE: Próprio autor

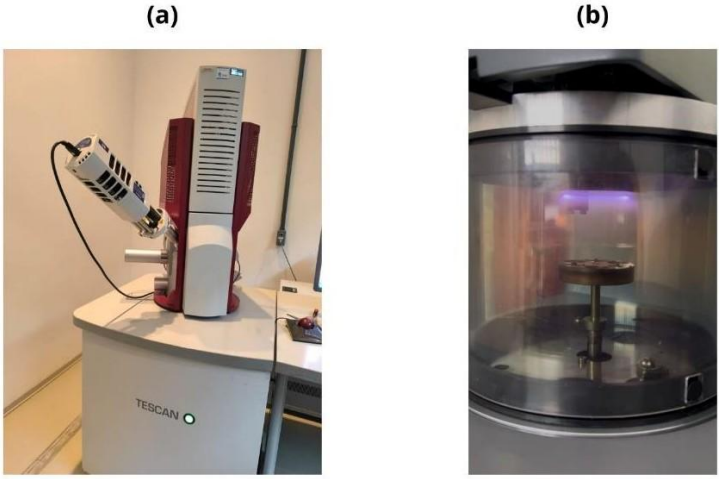


Figura 9 (a) Microscópio Eletrônico de Varredura (b) Amostras no processo de deposição de filme metálico. FONTE: Próprio autor

4.7 Perfilometria Óptica

Para as análises de perfilometria em superfície dos itens, foram realizadas com o microscópio óptico interferométrico WYKO NT1100 (*Veeco Instruments* Inc., EUA), o qual permite a obtenção de imagens tridimensionais e medidas quantitativas de rugosidade com alta precisão (**Figura 10**). As amostras foram preparadas em triplicata, incluindo cones de GP *in natura* e aqueles expostos ao sistema hidrodinâmico com água ozonizada por sete minutos. A análise da

rugosidade foi realizada utilizando o método de perfil único (*multiple profile*), conforme descrito no estudo de Nunes et al. (2019).

Esse método se mostrou adequado para a avaliação de materiais de pequenas dimensões, como os cones de guta-percha, permitindo a análise de múltiplos perfis em uma região restrita da superfície do material. Para a análise de cortes axiais dos cones foram feitos na região média, o principal parâmetro anaisado foi a rugosidade média (Ra), que representa a média aritmética das variações absolutas da altura da superfície em relação a uma linha média ao longo do perfil avaliado.

A análise topográfica das amostras de cones de GP foi realizada por perfilometria óptica utilizando o *software Vision*, e depois a análise estatística dos dados foram analisados no *software GraphPad InStat*.

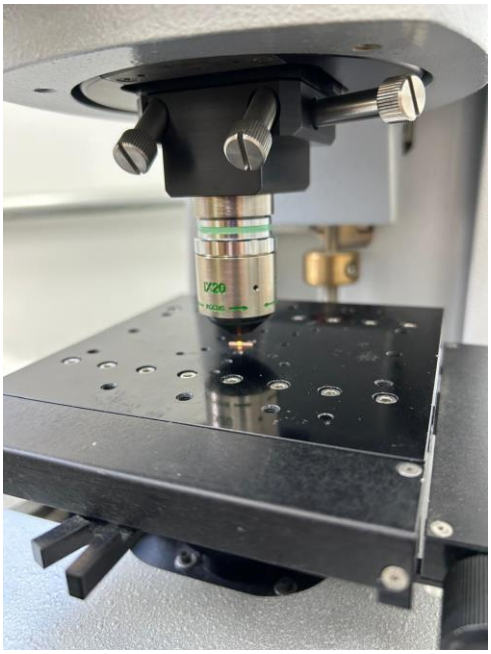


Figura 10 Cone de GP durante a análise de mapeamento de rugosidade superficial, utilizando o microscópio óptico interferométrico. FONTE: Próprio autor

4.8 Teste de resistência à tração

A resistência mecânica à tração dos cones de GP foi avaliada utilizando uma máquina de teste universal (MTS modelo Criterion 42), seguindo os critérios estabelecidos pela norma ISO 527-1:2019-12. Para a realização do teste, as

extremidades dos cones foram fixadas nos suportes da máquina, e a carga foi aplicada com uma velocidade de subida de 1 mm/min até a obtenção da ruptura do corpo de prova. Durante o ensaio, o comportamento mecânico de cada corpo de prova foi registrado em um computador conectado à máquina, permitindo a visualização em tempo real do diagrama tensão-deformação. Esse processo evidenciou duas fases consecutivas no comportamento do material: a zona elástica, onde a deformação é reversível, e a zona plástica, caracterizada por escoamento permanente do material (**FIGURA 11**).

Ao todo, foram utilizadas 24 amostras de GP, inicialmente divididas em dois grupos:12 em estado *in natura* e 12 expostas ao sistema hidrodinâmico com água ozonizada por 7minutos. No entanto, durante os experimentos, algumas amostras precisaram ser descartadas, resultando em um total final de 12 amostras válidas, sendo 6 de cada grupo.

A comparação entre os grupos *in natura* e exposto a água ozonizada foi realizada por meio do teste t não pareado (independente), utilizando o *software GraphPad InStat*. Os dados analisados referem-se aos resultados dos testes de resistência à tração e módulo de elasticidade.



Figura 11 Ensaio de resistência de tração gerados sobre os corpos de prova GP. FONTE: Próprio autor

5. RESULTADOS

5.1 Determinação da velocidade da água

Especificamente no cabeçote em que ficaram posicionadas as amostras GP, a velocidade média da água ozonizada no sistema hidrodinâmico foi calculada com base na equação da vazão volumétrica $Q = A.Vm$, sendo Q a vazão, A é a área da seção transversal do tubo diâmetro interno do cabeçote de acrílico, e Vm a velocidade média de escoamento do fluido. Considerando um tubo com diâmetro interno de 1,4 cm, obteve-se uma área de 1,54 cm^2. A vazão medida foi de 22 cm³/s (22 mL/s), substituindo esses valores na equação, a velocidade média da água ozonizada foi estimada em aproximadamente 14,3 cm/s.

5.2 Número de Reynolds

O número de Reynolds (R) é um parâmetro adimensional utilizado para caracterizar o regime de escoamento de um fluido em um conduto. Ele pode ser determinado pela equação:

$R = (\rho \cdot D \cdot V) / \mu$ onde:

- ρ é a densidade do fluido (kg/m³);
- D é o diâmetro interno do (m) cabeçote de acrílico;
- V é a velocidade média do fluido (m/s);
- μ é a viscosidade dinâmica do fluido (Pa·s).

Para este cálculo, considerou-se um escoamento de água à temperatura ambiente com as seguintes propriedades:

- Densidade: ρ = 1000 kg/m³
- Viscosidade dinâmica: $\mu = 1{,}003 \times 10^{-3}$ Pa·s
- Vazão volumétrica: Q = 22 cm³/s
- Diâmetro interno do tubo: D = 1,4 cm = 0,014 m

A área da seção transversal do tubo foi determinada pela expressão da área de um círculo:

$A = (\pi \cdot D^2) / 4 = (3{,}1416 \cdot 1{,}4^2) / 4 = 1{,}539$ cm² $A = 1{,}539 \times 10^{-4}$ m²

A velocidade média do fluido foi calculada a partir da relação entre vazão e área:

$V = Q / A = (22 \times 10^{-6}\ m^3/s) / (1{,}539 \times 10^{-4}\ m^2) \approx 0{,}1429$ m/s

$R = (1000 \cdot 0{,}014 \cdot 0{,}1429) / (1{,}003 \times 10^{-3}) \approx 1993$

De acordo com a classificação dos regimes de escoamento:

- R < 2000: regime laminar
- 2000 ≤ R ≤ 3000: regime de transição
- R > 3000: regime turbulento

Conclui-se que o escoamento analisado está em regime laminar.

5.3 Análise microbiológica da superfície dos cones de GP

A figura 12 apresenta que os tubos do controle negativo permaneceram translúcidos, indicando ausência de contaminação e confirmando a esterilidade dos cones *in natura*. No controle positivo, observou-se turbidez do meio, evidenciando crescimento bacteriano e demonstrando que *E. faecalis* permaneceu viável durante o experimento. Nos tubos contendo cones submetidos à infecção experimental e tratados pelo sistema hidrodinâmico por 7 minutos, o meio permaneceu límpido, indicando a total inativação da bactéria.

A Tabela 1 apresenta os resultados as quais sugerem que o sistema hidrodinâmico de ozonização foi eficaz na descontaminação dos cones de guta-percha, eliminando *E. faecalis* e prevenindo a proliferação bacteriana.

Tabela 1 Determinação da presença ou ausência de crescimento microbiano a partir da análise da GP considerando os diferentes grupos experimentais.

Amostras	24 horas	48 horas	7 dias
controle positivo	15*/15**	15*/15**	15*/15**
controle negativo	0*/15**	0*/15**	0*/15**
Grupo O_3 5'	7*/15**	7*/15**	7*/15**
Grupo O_3 7'	0*/15**	0*/15**	0*/15**

***representação do número de amostras com crescimento microbiano /**representação total de15 amostras**

FONTE: próprio autor

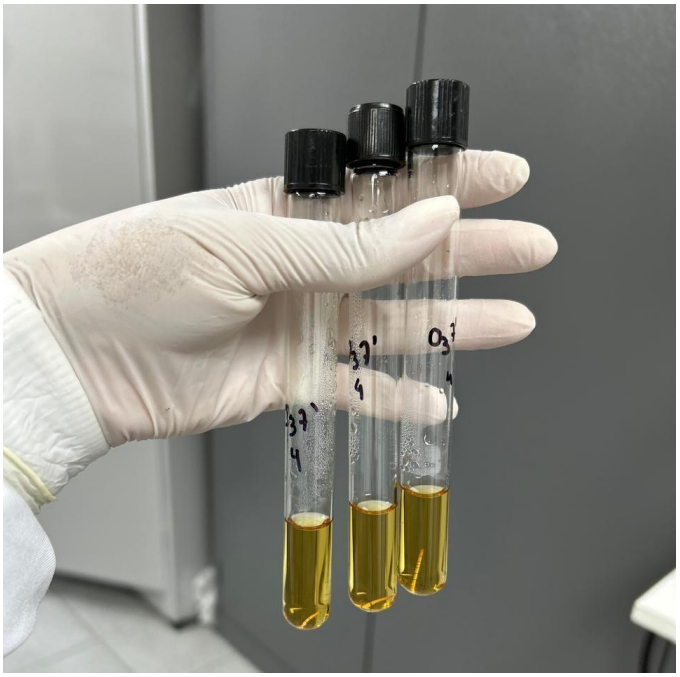


Figura 12 Amostras que foram expostas a água ozonizada por sete minutos, após 24h de incubação, a aparência translúcida da solução indica a não presença da bactéria viável.
FONTE: próprio autor

5.4 Curva de concentração de O_3 dissolvido em água

A Figura 13 apresenta a relação entre o tempo de exposição e a concentração de O_3 presente na água. Com base nos parâmetros previamente estabelecidos em estudos de Heinzelmann et al. (2024) e Santos et al. (2024), observou- se que após 600 s (10 min) foi alcançada uma concentração de 4,5 mg/L. A análise da curva de concentração resultou em um coeficiente de determinação R^2 = 0,96, indicando uma forte correlação entre o tempo de exposição e a concentração de ozônio.

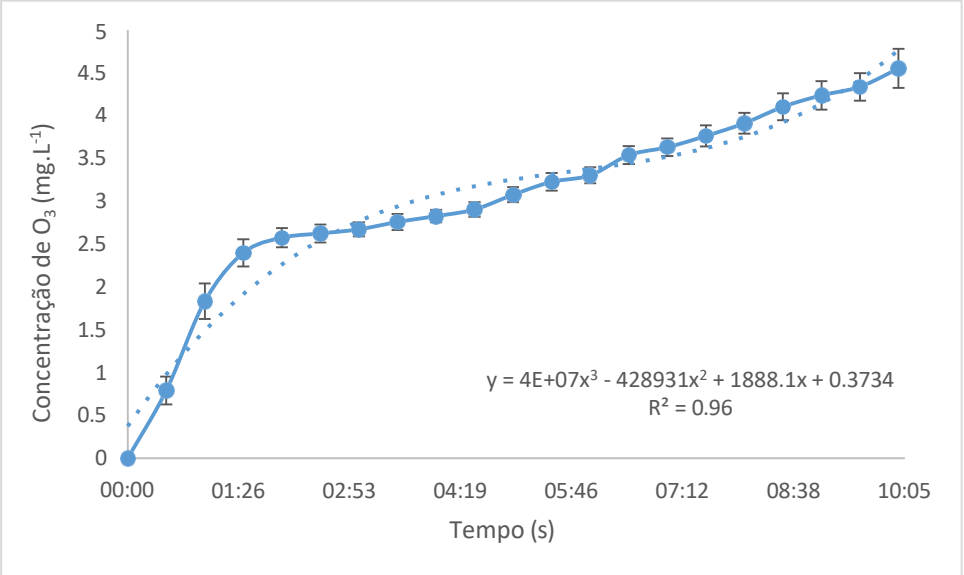


Figura 13 Curva de concentração de O_3 dissolvido em água, a equação matemática apresentada permite o cálculo da concentração de O_3 em posteriores protocolos similares de ozonização, o parâmetro R^2 indica o grau de aproximação da curva experimental com a teórica polinomial.
FONTE: Próprio autor

5.5 Análise FTIR

A FIGURA 14 apresenta os espectros obtidos por meio da espectroscopia FTIR, utilizados para avaliar possíveis alterações químicas em cones de GP após exposição à água ozonizada por 7 minutos. As análises espectrais correspondentes às amostras *in natura* (linha preta) e às amostras expostas à água ozonizada (linha vermelha) demonstram que a composição química da matriz polimérica permaneceu, em grande parte, inalterada.

Pequenas variações de intensidade foram verificadas em regiões

específicas do espectro. Na faixa de 3442 cm^{-1}, identificou-se um discreto aumento de absorbância, associado aos estiramentos vibracionais de grupos hidroxila (–OH), o que pode estar relacionado à introdução de grupos funcionais oxigenados na superfície do material (CAMPANALE et al., 2023; NANDIYANTO et al., 2023).

Além disso, foi observado um leve incremento na banda localizada em 1664 cm^{-1}, atribuída aos estiramentos do grupo carbonila (C=O), comumente relatados como indicativos de formação de compostos oxigenados, como aldeídos, cetonas ou ácidos carboxílicos, em polímeros submetidos a processos oxidativos (SMITH, 2022; ISLAM et al., 2004).

As demais bandas características da GP especialmente aquelas entre 2800–3000 cm^{-1} (C–H) e 1100–1250 cm^{-1} (C–O), mantiveram-se praticamente inalteradas, sugerindo preservação da estrutura principal da matriz polimérica (AGUILAR-HERNÁNDEZ et al., 2023). Assim, as alterações detectadas parecem estar restritas à superfície do material, refletindo modificações químicas sutis decorrentes da interação com a água ozonizada.

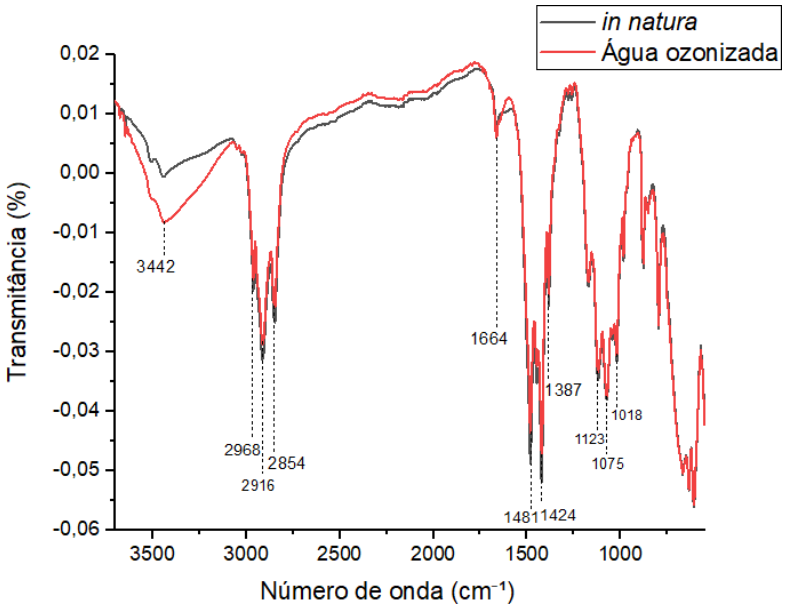


Figura 14 Espectro FTIR dos cones de GP in natura e após exposição à água ozonizada (O_3). FONTE: Próprio autor

5.6 Análise dos dados na perfilometria óptica

A análise dos dados obtidos na perfilometria óptica (**Tabela 2**) mostraram um impacto dos protocolos envolvendo a água ozonizada na rugosidade dos cones de GP. A análise estatística da rugosidade média (Ra) dos cones de GP revelou uma diferença significativa entre os grupos avaliados, com uma diferença percentual de aproximadamente 45%.

Tabela 2 Estatísticas descritivas dos valores de rugosidade (Ra) dos cones de GP.

PARÂMETRO	***In natura* (µm)**	**O_3 (µm)**
MÉDIA	3,52	1,94
DESVIO PADRÃO (DP)	0,25	0,24
N	9	9
VALOR DE P	< 0.0001	

FONTE: Próprio autor

Na **Figura 15**, correspondente ao grupo *in natura*, observa-se as modalidades bidimensional (A) e tridimensional (B). A Figura15A revela uma distribuição heterogênea da topografia. Essa ampla faixa de variação evidencia uma superfície rugosa, com presença de picos e depressões distribuídos ao longo da amostra. Na Figura 15B, tridimensional, confirma a presença de um relevo irregular, com acentuação central de elevações, possivelmente indicativa de modificações estruturais localizadas.

Após a exposição à água ozonizada, **Figura 16**, a análise revelou alterações visíveis na microtopografia da superfície. É possível observar uma região central com padrão geométrico e intensamente modificado, sugerindo remoção ou reorganização superficial de material polimérico, possivelmente causada pela ação oxidativa do ozônio.

A reconstrução 3D (Figura 16B) confirma essa alteração com picos mais proeminentes e distribuição irregular da rugosidade, sobretudo nas bordas da amostra. Essas observações sugerem que a água ozonizada promove

modificações estruturais na superfície da GP, possivelmente por degradação parcial da matriz polimérica ou reorganização superficial.

(A) (B)

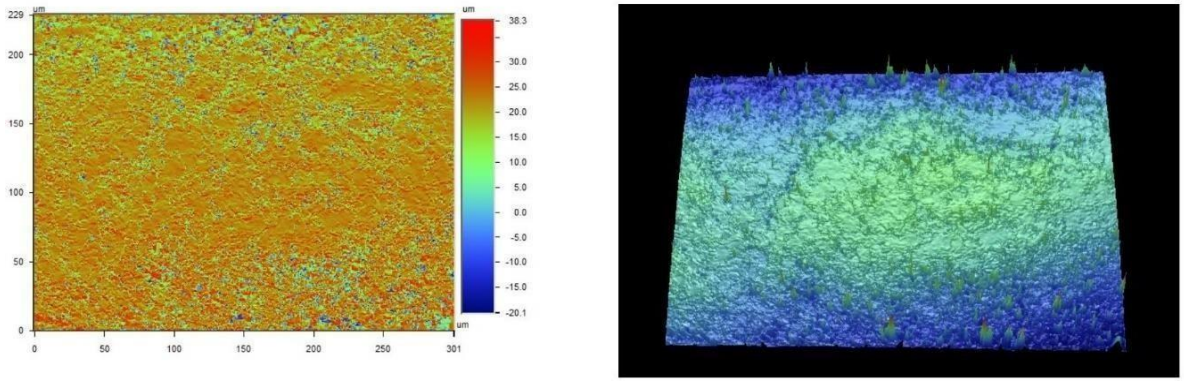


Figura 16 Representação das amostras da guta percha In Natura na perfilometria óptica. A figura A é uma vista plana com o mapeamento em altura indicada pela escala de cores ao lado, a figura B é uma vista tridimensional da superfície da amostra. FONTE: Próprio autor

(A) **(B)**

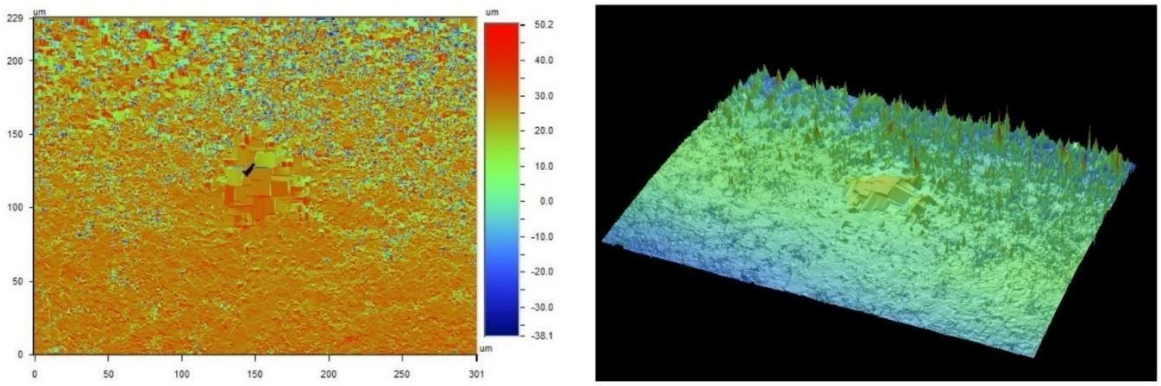


Figura 15 Representação das amostras da guta percha após a exposição ao sistema hidrodinâmico na perfilometria óptica (A) dados de superfície (B) Exibição interativa tridimensional.
FONTE: Próprio autor

5.7 Teste de resistência a tração e modulo de elasticidade

A **FIGURA 17** representa as curvas de tensão versus deformação obtidas por meio de ensaios de tração realizados em cones de GP em duas condições: *in natura* (curva preta) e após exposição à água ozonizada (curva vermelha).

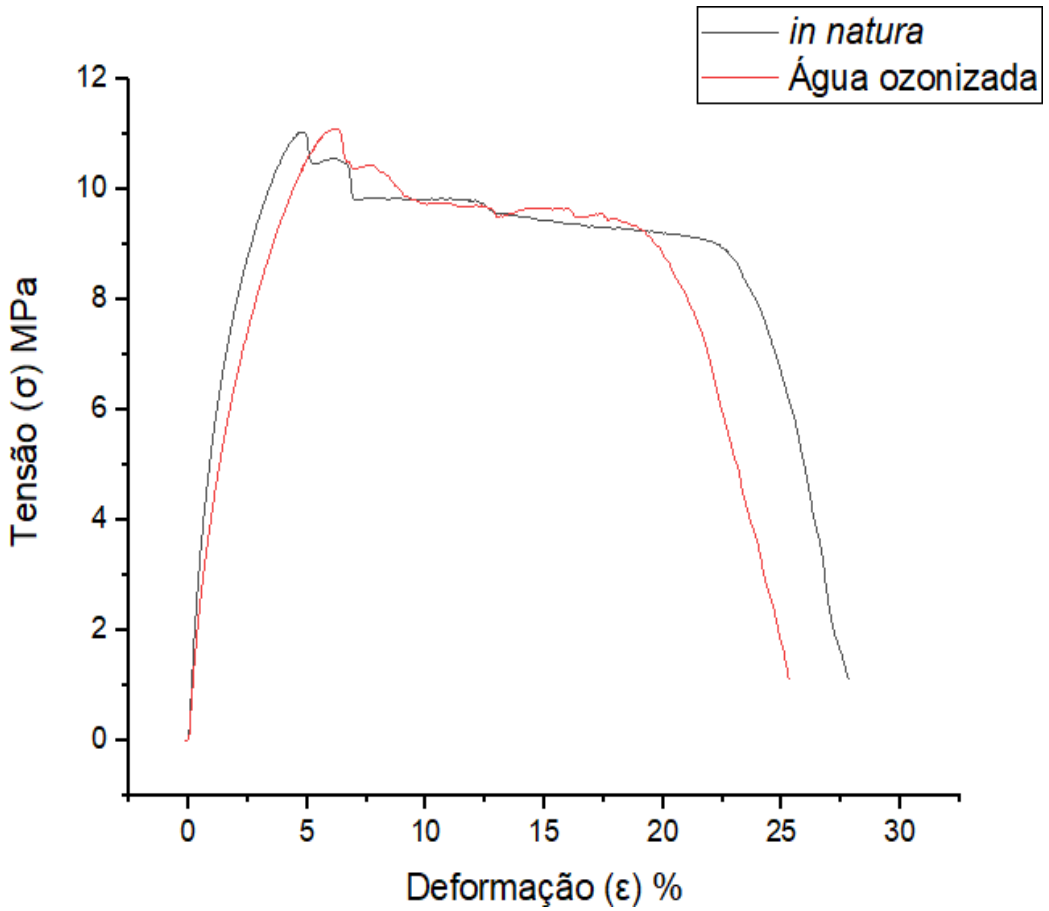


Figura 17 Curva tensão-deformação da GP in natura e exposta a água ozonizada

FONTE: Próprio autor.

Os dados apresentado na **TABELA 3** correspondem aos valores de tensão máxima do material obtidos em cada grupo. A exposição a água ozonizada, durante 7 minutos, promoveu uma redução média de aproximadamente 0,84% na tensão máxima em comparação as amostras *in natura*. A análise estatística dos dados revelou que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos grupos. Esses dados indicam que o protocolo realizado com ozônio não produziu efeito significativo sobre a variável mensurada, quando comparado à condição controle.

Tabela 3 Resultados de tensão máxima, a diferença percentual entre as medias foi de 0,84%.

PARÂMETRO	*In natura* (MPa)	O_3 (MPa)
MÉDIA	9,85	9,77
DESVIO PADRÃO (DP)	1,06	1,42
N	6	6
VALOR DE P	0.9108	

FONTE: Próprio autor

A **Tabela 4** apresenta a comparação entre os grupos *in natura* e expostos a água ozonizada durante 7 minutos quanto ao módulo elástico. Observa-se uma redução de aproximadamente 27% no módulo elástico após o processamento no sistema hidrodinâmico com ozônio. Esses resultados indicam que a ação da água ozonizada produziu uma redução significativa no módulo elástico em relação ao grupo *in natura*.

Tabela 4 Resultado da análise estatística sobre o módulo elástico, a diferença percentual entre as medias foi de 27,01%

PARÂMETRO	*In natura* (MPa)	O_3(MPa)
Média	742,5	541,67
Desvio padrão (DP)	60,202	31,608
N	6	6
VALOR DE P	0.0002	

FONTE: Próprio autor

5.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises morfológicas dos cones de GP *in natura* foram realizadas por MEV-FEG, conforme apresentado na **Figura 18**. Em menor ampliação (Figura 18A), a superfície dos cones mostrou-se lisa e homogênea, com poucas irregularidades visíveis. À medida que a ampliação aumenta (Figura 18B), torna-se evidente a presença de microporos e heterogeneidades estruturais distribuídas ao longo da superfície. Na ampliação intermediária (Figura 18C).

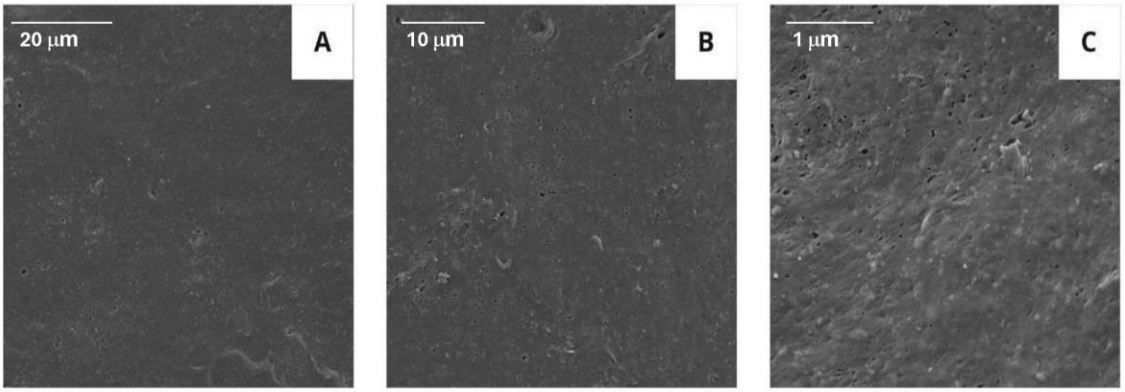


Figura 18 Imagens de MEV-FEG de cones de GP in natura, sem tratamento. (A) Escala de 20 μm; (B) Escala de 10 μm; (C) Escala de 1 μm. **FONTE**: Próprio autor

A comparação entre as imagens da amostra exposta à água ozonizada por 7 minutos (Figura 19) e das amostras *in natura* não evidenciou diferenças morfológicas relevantes na superfície do material entre os grupos. As imagens de ambos os grupos apresentaram superfícies homogêneas, com porosidades discretas e ausência de fissuras. A topografia superficial manteve-se visualmente semelhante em ambos os casos, indicando que a ação oxidativa do ozônio, nas condições testadas, não foi suficiente para promover alterações estruturais detectáveis. Destaca-se, entretanto, que na Figura 19C as crateras observadas na superfície apresentaram dimensões incompatíveis, se considerar como o alojamento de microrganismos.

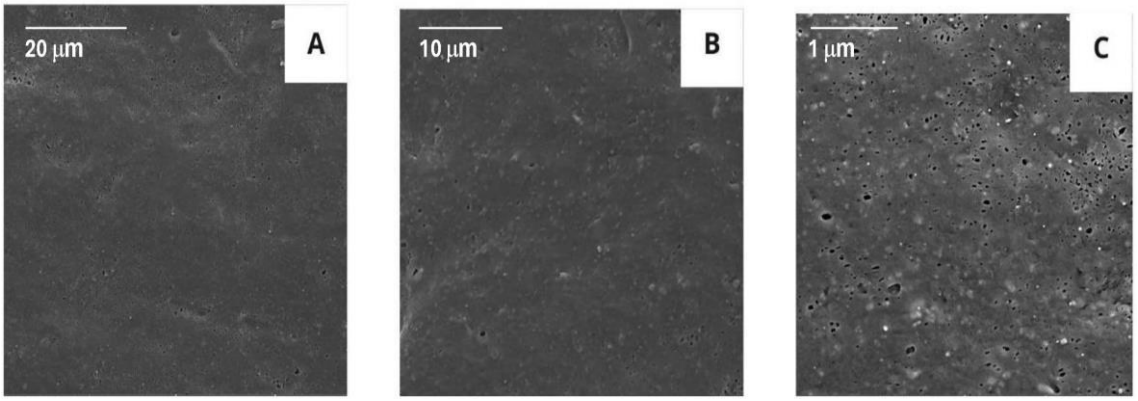


Figura 19 Imagens MEV-FEG de cones de GP após exposição à água ozonizada em sistema hidrodinâmico por 7 minutos. (A) Escala de 20 μm; (B) Escala de 10 μm; (C) Escala de 1 μm. **FONTE**: Próprio autor

6. DISCUSSÃO

A análise microbiológica demonstrou a eficácia do sistema hidrodinâmico com ozônio na inativação de *Enterococcus faecalis* em cones de GP contaminados. Os resultados indicaram que 7 minutos, com uma concentração de 57,2 mg/L a partir do gerador de ozônio, de exposição à água ozonizada foram suficientes para inativação o microrganismo, enquanto tempos menores, como cinco minutos, resultaram em crescimento bacteriano.

Fonseca *et al.* (2021) realizou uma avaliação dos efeitos do ozônio e do ultrassom na bactéria *Streptococcus mutans*, um agente etiológico chave nas cáries dentárias. A pesquisa examinou os danos morfológicos causados a esta bactéria *in vitro*, utilizando MEV e microscopia de força atômica. De maneira complementar foi avaliada a viabilidade microbiana e a formação de Espécies Reativas de Oxigénio (ROS) após a aplicação de ambas as técnicas. Os resultados indicam que, embora ambas os protocolos apresentem efeitos microbicidas e causem alterações morfológicas, o ozônio mostrou-se mais eficiente, induzindo um aumento significativo de ROS e sendo quatro vezes mais rápido na inativação da bactéria, com um consumo de energia doze vezes menor em comparação com o ultrassom.

Ao comparar esses achados com os do estudo de Awoyama *et al.* (2022), que também utilizou o mesmo sistema hidrodinâmico para desinfecção *in vitro* de um biomaterial, a Membrana Amniótica Humana (MAH),

metodologicamente, os estudos padronizaram a inoculação de *E. faecalis* e *Staphylococcus aureus* com concentrações ajustadas por diluição seriada e analisaram os resultados com base no crescimento bacteriano em meio de cultura apropriado. No presente estudo foram necessários 7 minutos (57,2 mg/L) de ozonização para desinfecção da GP, em contra partida, no estudo de Awoyma *et al.* (2022) foram necessários 15 minutos (62 mg/L).

O estudo de Botelho *et al.* (2024) investigou a esterilização da MAH utilizando o sistema hidrodinâmico. Os autores descrevem que a exposição à água ozonizada durante 40 minutos (62 mg/L) foi capaz de eliminar eficientemente *S. aureus, E. coli, C. albicans, S. epidermidis* e esporos de *Clostridium sporogenes*. Botelho *et al.* (2024) e Awoyama *et al.* (2022) exploraram o uso do sistema hidrodinãmico com água ozonizada na desinfecção e esterilização de tecido biológico, demonstrando sua versatilidade como agente antimicrobiano.

Diante dos resultados obtidos e da comparação com estudos prévios, é possível concluir que o sistema hidrodinâmico com água ozonizada e o ozônio apresentam-se como uma estratégia eficaz para a desinfecção de cones de GP contaminados por *E. faecalis*, sendo capaz de promover inativação microbiana em tempos significativamente menores do que aqueles relatados para outros biomateriais. A eficácia observada em apenas 7 minutos de exposição reforça o potencial do ozônio como agente antimicrobiano versátil, com ação rápida e consistente, em concordância com evidências da literatura que apontam sua superioridade em relação a outras técnicas, como o ultrassom. Esses resultados contribuem para ampliar as perspectivas de aplicação clínica do sistema hidrodinâmico e do ozônio, especialmente no contexto endodôntico, onde a redução do risco de contaminação cruzada é fundamental para o sucesso terapêutico.

As análises por FTIR foram utilizadas para avaliar a composição química e as mudanças estruturais em cones de guta-percha. A pesquisa de *Taqa et al.* (2014) teve como objetivo avaliar os efeitos antimicrobianos da GP incorporada com clorexidina (CHX) utilizando espectroscopia FTIR. No estudo, 80 cones de GP convencionais foram utilizados, sendo 10 cones desinfetados por imersão

em uma solução de 2% de clorexidina por 10 minutos e armazenados em água destilada estéril por 24 horas. A incorporação química da CHX nos cones de GP foi analisada por FTIR, e o efeito antimicrobiano foi testado utilizando um teste de sensibilidade antimicrobiana. Os resultados da espectroscopia FTIR indicaram que houve uma incorporação química da clorexidina nos cones de GP após a imersão na solução de 2%. Antes da imersão, os cones de GP apresentaram uma banda de vibração característica do estiramento C=C a 1482 cm^{-1}, que desapareceu após a incorporação da clorexidina, sugerindo que houve uma interação química entre o CHX e o material da GP. Após a imersão, as amostras de GP com CHX apresentaram uma nova vibração a 1636 cm^{-1}, indicando que a clorexidina foi incorporada ao material. Isso confirma que a clorexidina não apenas se adsorveu na superfície, mas foi quimicamente integrada à estrutura do cone de GP, indicando alterações através da espectroscopia. Esses resultados evidenciaram uma modificação química significativa nos cones de GP após o tratamento com a solução de CHX. Em contra-partida, a exposição dos cones de GP ao sistema hidrodinâmico causou alterações espectrais muito sutis e podem ser atribuídas a uma oxidação superficial leve promovida pela água ozonizada. Isso sugere que o protocolo não comprometeu a estrutura polimérica principal, trans-1,4-poliisopreno.

As alterações detectadas por FTIR estão dentro do nível de detecção para modificações superficiais, o que pode ser interessante do ponto de vista de funcionalização leve da superfície, sem afetar propriedades mecânicas globais. A análise dos efeitos da desinfecção química e da exposição à água ozonizada sobre a rugosidade da superfície de cones de GP revelou diferenças significativas entre os métodos avaliados. No estudo de Nunes *et al.* (2019) o uso de soluções químicas como hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2,5% por 10 minutos e clorexidina (CHX) a 2% por 5 minutos resultou em uma redução estatisticamente significativa da rugosidade superficial ($p < 0,01$), o que sugere um efeito de alisamento devido à dissolução de irregularidades microscópicas. Em contraste, o NaOCl a 5,25% por apenas 1 minuto demonstrou menor redução da rugosidade, o que pode estar

associado ao tempo de exposição reduzido.

Os dados do presente estudo, obtidos por perfilometria óptica, mostram que a exposição à água ozonizada por 7 minutos também produziu uma redução significativa da rugosidade média (Ra) dos cones. Em um sistema hidrodinâmico, a água em movimento possui energia cinética, expressa pela equação $Ec = (m.v^2)/2$, sendo esta diretamente proporcional à massa do fluido e ao quadrado de sua velocidade. Durante a exposição dos cones ao fluxo, a energia cinética do fluido gera forças de cisalhamento sobre a superfície do material, que atuam na redução progressiva de microirregularidades, diminuindo assim a rugosidade da superfície. Esse efeito é intensificado nas regiões de maior relevo superficial, promovendo um nivelamento da topografia do material. Portanto, enquanto o estudo de Nunes *et al.* sugere que soluções químicas atuam promovendo a dissolução de irregularidades da superfície, na presente pesquisa a água ozonizada também realiza esse processo, sem a necessidade de compostos químicos com potencial residual.

A redução da rugosidade superficial dos cones de GP pode exercer efeitos positivos sobre o selamento endodôntico. Superfícies mais lisas favorecem um melhor assentamento do cone no interior do canal radicular, reduzindo a formação de espaços vazios e, consequentemente, a ocorrência de infiltrações miniaturizadas. A baixa rugosidade pode contribuir para uma interface mais estável entre o cone e o cimento obturador, aumentando a sua capacidade de vedação. Além disso, superfícies menos irregulares apresentam menor propensão à retenção de microrganismos e biofilme, o que representa um fator adicional de biossegurança clínica. No entanto, tempos excessivos de imersão em soluções desinfetantes podem induzir alterações morfológicas relevantes na superfície da guta-percha, comprometendo a adaptabilidade dos cones ao canal radicular e, por consequência, a eficácia da obturação. Assim, torna-se fundamental estabelecer protocolos de desinfecção que mantenham o equilíbrio entre biossegurança e preservação das propriedades do material. Sugere-se como proposta para trabalhos futuros, avaliar a adesão de diferentes cimentos endodônticos à guta-percha após distintos protocolos de desinfecção, de modo a identificar quais condições oferecem melhores

resultados em termos de vedação e estabilidade da obturação.

As imagens obtidas por MEV-FEG corroboram esses achados, evidenciando que não ocorreram alterações morfológicas relevantes entre as amostras tratadas e não tratadas. Ambas apresentaram superfícies homogêneas, discretamente porosas e sem fissuras aparentes, mesmo em maiores ampliações. A ausência de modificações visíveis ao MEV sugere que a variação detectada por perfilometria corresponde a alterações sutis de topografia superficial, abaixo do limite de resolução da microscopia eletrônica, indicando que o tratamento com ozônio produziu apenas um nivelamento microscópico da superfície, sem comprometer a integridade estrutural do material.

Em relação às propriedades mecânicas, o estudo de Bellido-Guzmán *et al.* (2024), avaliou o impacto da desinfecção com hipoclorito de sódio (NaOCl) nas propriedades mecânicas dos cones de GP. Foram testadas duas concentrações (2,5% e 5,25%) e diferentes tempos de imersão (1, 5 e 10 minutos). Os resultados mostraram que a resistência à tração não apresentou alterações significativas em nenhum dos grupos. Entretanto, o módulo de elasticidade sofreu redução significativa após a exposição ao NaOCl, especialmente em concentrações mais elevadas.

O limite de resistência a tração do presente estudo, indicou que a exposição dos cones de GP a água ozonizada, não comprometeu a integridade mecânica do material em termos do valor limite de resistência. Tal resultado é relevante, pois indica a viabilidade do uso de ozônio como agente em protocolos de desinfecção, sem prejuízo da resistência do material obturador. O cálculo da redução relativa revelou uma diminuição de aproximadamente 0,84% na resistência máxima à tração no grupo tratado com ozônio em comparação ao grupo controle, uma variação mínima e clinicamente irrelevante.

Ocorreu uma redução de aproximadamente 27% no módulo de elasticidade após a desinfecção com água ozonizada, esse achado pode representar uma modificação benéfica do ponto de vista clínico. Um menor módulo de elasticidade indica maior elasticidade do material, o que pode favorecer sua adaptação às irregularidades das estruturas anatômicas dos

canais radiculares, contribuindo para uma vedação mais eficaz. Além disso, a maior flexibilidade pode reduzir o risco de fraturas e melhorar o desempenho do material sob condições de estresse mecânico (Meira et al., 2009).

A melhor adaptação às irregularidades anatômicas do sistema de canais radiculares pode favorecer o preenchimento de regiões com curvaturas, ramificações ou morfologias complexas, reduzindo a presença de espaços não obturados e contribuindo para uma obturação mais precisa e completa. O módulo de elasticidade reduziu, mas não tanto, sem comprometer de forma significativa a elasticidade. Dessa forma, promove-se uma vedação mais eficaz e contínua, o que é fundamental para a prevenção de infiltrações microbianas e falhas terapêuticas. Assim, os resultados obtidos sugerem que a exposição da GP ao ozônio pode modificar suas propriedades mecânicas de forma benéfica, ampliando sua performance clínica em determinadas situações.

Em síntese, os resultados indicam que a desinfecção dos cones de guta-percha com água ozonizada não comprometeu sua resistência à tração, mantendo a integridade mecânica essencial do material obturador. Embora tenha sido observada uma redução no módulo de elasticidade, esse efeito pode representar uma modificação favorável, uma vez que maior elasticidade tende a favorecer a adaptação do cone às irregularidades anatômicas do canal radicular, contribuindo para uma obturação mais precisa e eficaz. Comparativamente ao estudo de Bellido-Guzmán *et al.* (2024), no qual o NaOCl também reduziu o módulo de elasticidade de forma significativa, o ozônio oferece ação antimicrobiana eficiente sem necessidade de aditivos químicos, reduzindo potenciais riscos associados a resíduos ou alterações deletérias do material.

As análises obtidas por MEV-FEG demonstraram que a exposição ao sistema hidrodinâmico promoveu modificações topográficas sutis, de caráter superficial, sem comprometer a integridade estrutural da guta-percha. Esse comportamento evidencia que o processo de desinfecção com ozônio ocorre de maneira controlada e segura, mantendo as características morfológicas fundamentais do material. Do ponto de vista clínico, essa estabilidade é relevante, pois garante a preservação da função obturadora e a eficácia da

vedação do material durante o tratamento endodôntico. A topografia superficial dos cones de guta-percha, tanto a inicial quanto a aprimorada pelo ozônio, não oferece o alojamento dimensionalmente compatível necessário para o crescimento e a proteção dos agregados bacterianos e dos biofilmes, desqualificando essas microirregularidades como fontes primárias de recontaminação ou nichos microbianos clinicamente relevantes.

Os achados são comparáveis aos resultados descritos por Goldberg *et al.* (1991), que analisaram o terço apical de 60 cones padronizados de guta-percha provenientes de 6 fabricantes distintos. O estudo relatou que, embora a maioria dos cones apresentasse superfícies lisas e uniformes, alguns exibiam irregularidades morfológicas, como protuberâncias acentuadas contendo partículas cristalinas, livres ou incorporadas, características também observadas nas micrografias obtidas no presente trabalho. Dessa forma, torna-se evidente as cavidades identificadas nas gutas, tanto antes quanto após a exposição à água ozonizada, possam estar relacionadas ao processo de fabricação.

Com relação uma situação clínica real, a exposição dos cones de GP à água ozonizada pode representar uma vantagem adicional relacionada à dinâmica de escoamento dentro do sistema de canais radiculares, após o processo de ozonização, é possível que uma fina película residual da própria água contendo ozônio permaneça aderida à superfície do cone, essa película pode escoar com menor resistência pelos canalículos dentinários, estruturas microscópicas dentro da dentina que desempenham um papel crucial na microarquitetura e função do dente (Gevkaliuk et al.,2023). Essa condição favorece uma melhor penetração do agente desinfetante, o ozônio dissolvido, em microestruturas do sistema de canais, potencializando a inativação de microrganismos remanescentes em áreas de difícil acesso.

O uso de água ozonizada na odontologia oferece benefícios ambientais, pois é uma alternativa natural e ecologicamente correta aos desinfetantes químicos tradicionais. Ao contrário de muitos produtos químicos odontológicos convencionais, o ozônio (O_3) se decompõe rapidamente em oxigênio (O_2) após o uso, não deixando resíduos nocivos ou poluentes ambientais. Isso não

acarreta a liberação de produtos químicos tóxicos em águas residuais e no meio ambiente, tornando o ozônio uma opção ecologicamente correta para esterilização e desinfecção em consultórios odontológicos (Remondino & Valdenassi, 2018).

7. CONCLUSÃO

O presente estudo *in vitro* demonstrou que o uso do sistema hidrodinâmico com água ozonizada é uma alternativa eficaz e segura para a desinfecção de cones de GP contaminados com o microrganismo *Enterococcus faecalis*. A exposição de 7 minutos (57,2 mg/L) foi suficiente para promover a completa inativação bacteriana, sem comprometer significativamente as propriedades físico-químicas e mecânicas do biomaterial. A análise por FTIR não indicou modificações químicas, enquanto a perfilometria óptica revelou uma redução significativa da rugosidade,o que pode favorecer a adaptação anatômica no canal radicular. Embora o módulo de elasticidade tenha apresentado redução após a ozonização, essa alteração pode contribuir positivamente para a flexibilidade do material, sem prejuízo à sua resistência à tração. Além disso, as imagens obtidas por MEV confirmaram a preservação da integridade morfológica da superfície dos cones. Diante disso, o sistema hidrodinâmico com a água ozonizada é promissor, podendo ser incorporado à prática clínica como uma alternativa sustentável aos desinfetantes químicos tradicionais. Como perspectiva para trabalhos futuros, sugere-se a realização de análises complementares por MEV acoplado à espectroscopia de energia dispersiva (EDS), a fim de verificar a composição elementar da superfície e confirmar a presença de ZnO nos cones de guta-percha após o tratamento.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, JohnPaul R.; ZHU, Heping. 3D optical surface profiler for quantifying leaf surface roughness. Surface Topography: Metrology and Properties, v. 7, n. 4, p. 045016, 2019.

ABUSREWIL, S.; ALSHANTA, O. A.; ALBASHAIREH, K.; ALQAHTANI, S.; NILE, C. J.; SCOTT, J. A.; MCLEAN, W. Detection, treatment and prevention of endodontic biofilm infections: what's new in 2020? Critical Reviews in Microbiology, 46(2), 194– 212. https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1739622

AGUILAR-HERNÁNDEZ, Jeannette et al. Investigation of the thermal and physicochemical behavior of two types of gutta-percha cones for back-filling the root canal. Journal of Clinical and Experimental Dentistry, v. 15, n. 5, p. e382–e389, maio 2023. doi:10.4317/jced.60095.

AKHTAR, K.; KHAN, S. A.; KHAN, S. B.; ASIRI, A. M. Scanning Electron Microscopy: Principle and Applications in Nanomaterials Characterization. Handbook of Materials Characterization, p. 113–145, 2018. DOI: 10.1007/978-3-319-929552_4.

AL-HADDAD, A. et al. Physicochemical properties of calcium phosphate based coating on gutta-percha root canal filling. International Journal of Biomaterials, v. 2015, p. 1-7, 2015. DOI: https://doi.org/10.1155/2015/414521.

ALI, Azhar et al. Current trends in root canal irrigation. Cureus, v. 14, n. 5, 2022.

ALKAHTANY, S. M. et al. Assessment of dental students' knowledge and performance of master gutta-percha cone selection and fitting during root canal treatment: a pilot study. BMC Medical Education, v. 24, p. 371, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s12909-024-05347-9.

ASGARY, S. et al. Scanning Electron Microscopy Study of Dental Gutta-Percha after Cutting. Iranian Endodontic Journal, v. 1, n. 2, p. 53-56, 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Materiais metálicos – Ensaio de tração à temperatura ambiente, NBR 6152. Rio de Janeiro, 2002.

AWOYAMA, S. M.; CARVALHO, H. C.; BOTELHO, T. S.; SANTOS, S. I. S. dos; PALACIOS, D. A. B.; HENRÍQUE, S. S. M.; ZÂNGARO, R. A.; LIMA, C. J. de; FERNANDES, A. B. Disinfection of Human Amniotic Membrane Using a Hydrodynamic System with Ozonated Water. Ozone: Science & Engineering. doi: 10.1080/01919512.2021.2022452.

BEER, Ferdinand P. et al. Mecânica dos materiais. Porto Alegre: AMGH, 2011.

BELLIDO-GUZMÁN, Rolando et al. Tensile strength and elastic modulus of guttapercha cones disinfected with sodium hypochlorite at different immersion times: An in vitro comparative study. Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry, v. 14, n. 1, p. 69-77, 2024

BERGER, R. C. Histórico da Endodontia. EPUC: Editora de Publicações Científicas Ltda. (1th Eds.), Endodontia (pp. 1-6). Ponta Grossa, Paraná, 1-6

BOCCI, V. Ozone: A New Medical Drug.2ª ed.Springer: Dordrecht, Holanda, 2011.

BOTELHO, T.; KAWATA, B. A.; AWOYAMA, S. M. et al. Sterilization of Human Amniotic Membrane Using an Ozone Hydrodynamic System. Annals of Biomedical Engineering 52:1425–1434. doi: 10.1007/s10439-024-03467-3.

BRISEÑO-MARROQUÍN, B. et al. Thermoplastic properties of endodontic

guttapercha: a thermographic in vitro study. International Endodontic Journal, v. 48, n. 7, p. 667-673, 2014. DOI: https://doi.org/10.1111/iej.12363.
BRITO, J. R. S. et al. Gutta-percha points surface alterations after sodium hypochlorite disinfection. Brazilian Dental Science, v. 16, n. 2, p. 72-78, 2013.
CALLISTER JUNIOR, William D.; RETHWISCH, David G. Ciência e engenharia de materiais: uma introdução. Rio de Janeiro: LTC, v. 589, p. 249, 2002.
CAMPANALE, C. et al. Fourier Transform Infrared Spectroscopy to Assess the Aging/Oxidation of Polymers. Polymers, v. 15, n. 4, 2023.
CARNEIRO, V. C. S. et al. Ação do ozônio no tratamento de doenças periodontais: revisão de literatura. Revista Brasileira de Odontologia, v. 76, n. 1, p. 1-6, 2019. DOI: https://doi.org/10.18363/rbo.v76n1.p1.
CHANDRAPPA, M. M.; MUNDATHODU, N.; SRINIVASAN, R.; NASREEN, F.; KAVITHA, P.; SHETTY, A. Disinfection of gutta-percha cones using three reagents and their residual effects. Journal of Conservative Dentistry, v. 17, n. 6, p. 571-574, nov. 2014. DOI: 10.4103/0972-0707.144607.
COSTA, Manoela da et al. Avaliação da desinfecção dos cones de guta percha utilizando diferentes produtos químicos: revisão de literatura. Revista de Odontologia de Araçatuba, Araçatuba, p. 4-8, 2021.
DAVIES, Thomas E. et al. Experimental methods in chemical engineering: Scanning electron microscopy and X-ray ultra-microscopy—SEM and XuM. The Canadian Journal of Chemical Engineering, v. 100, n. 11, p. 3145-3159, 2022.
EKICI, Ö.; ASLANTAŞ, K.; KANIK, Ö.; KELEŞ, A. Evaluation of surface roughness after root resection: An optical profilometer study. Microscopy Research and Technique, v. 84, n. 4, p. 828–836, 2021. doi:10.1002/jemt.23714.
ESTRELA, C.; SILVA, J. A.; ALENCAR, A. H.; LELES, C. R.; DECURCIO, D. A. Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against Enterococcus faecalis--a systematic review. J Appl Oral Sci. 2008;16(6):364-368. doi:10.1590/s16787757200800060002
FERRAZ, C. C. R. et al. The crystallization of sodium hypochlorite on gutta-percha cones after the rapid-sterilization technique: an SEM study. International Endodontic Journal, v. 36, n. 12, p. 874-878, 2003
FIGDOR, D.; DAVIES, J. K.; SUNDQVIST, G. Starvation survival, growth and recovery of Enterococcus faecalis in human serum. Oral Microbiol Immunol. 2003;18(4):234239. doi:10.1034/j.1399-302x.2003.00072.x
FILIZOLA, R. et al. The antimicrobial effect of different ozone protocols applied in severe curved canals contaminated with Enterococcus faecalis: ex vivo study. Odontology, v. 109, p. 861-868, 2021. DOI: https://doi.org/10.1007/s10266-02100592-6.
FOCHUK, Lyudmyla. Avaliação e comparação de diversas réplicas de dentes utilizados para tratamento endodôntico em pré-clínico. 2017. Dissertação de Mestrado. Egas Moniz School of Health & Science (Portugal).
GEVKALIUK, N. O.; SYDLIARUK, N. I.; MARTYTS, Y. M.; PYNDA, M. Y.; KRUPEI, V. Y.; MYKHAILIUK, V. M. Differentiation of the Structure of Dentinal Tubules and Dentinal Canaliculi in Human Teeth of Different Ages. Regulatory Mechanisms in Biosystems 15(3):394–404. doi: 10.15421/022455.
GOLDBERG, F. et al. SEM Study of Surface Architecture of Gutta-Percha Cones. Dental Traumatology 7(1):15–18.

GONÇALVES, Lucio Souza et al. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine as irrigant solutions for root canal disinfection: a systematic review of clinical trials. Journal of Endodontics, v. 42, n. 4, p. 527-532, 2016.
HARGREAVES, K.; BERMAN, L. H. Tooth Mophorfology, Isolation and Acess; Cleaning and Shaping the Root Canal System; Obturation of the Cleaned and Shaped Root Canal System. Ilan Rostein (11th Eds.), Cohen's Pathway of the pulp (pp. 133-136; pp. 176-178; pp. 210-212; pp. 249-252; pp. 283-284). Philadelphia, PA, USA: Elsevier.
HEINZELMANN, Tatiana Regina de Oliveira et al. Disinfection of Surgical Instruments Using a Hydrodynamic System with Ozonated Water and Ultrasound: Preliminary Study. Ozone: Science & Engineering, v. 46, n. 5, p. 455-463, 2024.
HUTH, K. C. et al. Effect of ozone on oral microorganisms in vitro. Caries Research, v. 43, n. 5, p. 408-416, 2009. DOI: https://doi.org/10.1159/000231572.
ISLAM, M. T. et al. Fourier transform infrared spectroscopy for the analysis of gels: assignation of bands and interactions, 2004.
KAYAOGLU, Guven et al. Examination of gutta-percha cones for microbial contamination during chemical use. Journal of Applied Oral Science, São Paulo, v. 17, p. 244-247, 2009.
LEE, C. C. et al. Thermal behavior and viscoelastic properties of gutta-percha used for back-filling the root canal. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, v. 96, p. 260-265, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.05.033.
LIAO, W. C. et al. The investigation of thermal behaviour and physical properties of several types of contemporary gutta-percha points. BMC Oral Health, v. 21, n. 1, p. 1-10, 2021. DOI: https://doi.org/10.1186/s12903-021-01562-4.
LIMA, LARA SILVA CAMPOS; BRAITT, ANTÔNIO HENRIQUE; PORTO JÚNIOR, ALBERTO COSTA. Tratamento de lesão periradicular, de origem endodôntica, com auxílio de laserterapia: uma revisão sistemática da literatura e apresentação de caso clínico. Revista de Odontologia de Araçatuba, Araçatuba, v. 38, p. 38-45, 2023.
MANIGLIA-FERREIRA, C. et al. Brazilian gutta-percha points. Part II: thermal properties. Brazilian Oral Research, v. 19, n. 3, p. 193-197, 2005. DOI: https://doi.org/10.1590/S1806-83242005000300006.
MAURICE, C. G. An annotated glossary of terms used in endodontics. American Association of Endodontists. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1968 Mar;25(3):491512. doi: 10.1016/0030-4220(68)90027-3. PMID: 5237485.
MEIRA, J. B. C. et al. Elastic Modulus of Posts and the Risk of Root Fracture. Dental Traumatology 25(4):394–398.
MOHAMED, M. A.; JAAFAR, J.; ISMAIL, A. F.; OTHMAN, M. H. D.; RAHMAN, M. A. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. In: Membrane Characterization. p. 3– 29, 2017. doi:10.1016/b978-0-444-63776-5.00001-2.
MOHAMMADI, ZAHED; JAFARZADEH, HAMID; SHALAVI, SOUSAN. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine as a root canal irrigant: a literature review. Journal of Oral Science, v. 56, n. 2, p. 99-103, 2014.
MOHAMMADI, Z.; SHALAVI, S.; KINOSHITA, J.-I.; GIARDINO, L.; GUTMANN,

J. L.; BANIHASHEM RAD, S. A.; UDOYE, C. I.; JAFARZADEH, H. A review on root canal irrigation solutions in endodontics. Journal of Dental Materials and Techniques, v. 10, n. 3, p. 121-132, 2021. DOI: 10.22038/jdmt.2021.56003.1431.

MORAES, M. M.; COELHO, M. S.; NASCIMENTO, W. M.; NOGALES, C. G.; CAMPOS, F. U. F.; SOARES, A. J.; FROZONI, M. The antimicrobial effect of different ozone protocols applied in severe curved canals contaminated with Enterococcus faecalis: ex vivo study. Odontology, 109(3), 696–700. doi: 10.1007/s10266-021-00592-6

MOREIRA FONSECA, P. M.; BUENDÍA PALACIOS, D. A.; SÁ JÚNIOR, P. L. de; MIYAKAWA, W.; DAMIÃO, Á. J.; FERNANDES, A. B.; LIMA, C. J. de Preliminary Study: Comparative Analysis of the Effects of Ozone and Ultrasound on Streptococcus Mutans. Ozone: Science & Engineering, 43(3), 263–275. https://doi.org/10.1080/01919512.2020.1796581

MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S.; UR REHMAN, Dr. I. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. Applied Spectroscopy Reviews, v. 43, n. 2, p. 134– 179, 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1080/05704920701829043.

MURAD, Cristiana Francescutti et al. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite, chlorhexidine and MTAD® against Enterococcus faecalis biofilm on human dentin matrix in vitro. RSBO, v. 9, n. 2, p. 143-50, 2012.

NAGAYOSHI, M. et al. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. Journal of Endodontics, v. 30, n. 11, p. 778-781, 2004. DOI: https://doi.org/10.1097/01.don.0000128740.20191.1c.

NANDIYANTO, A. B. D. et al. Interpretation of Fourier Transform Infrared Spectra (FTIR): A Practical Approach in the Polymer / Plastic Thermal Decomposition. Indonesian Journal of Science & Technology, 8(1), 113-126, 2023.

NASCIMENTO, Ana Carolina do et al. Estabilidade do ácido peracético no processo de desinfecção prévia à lavagem. Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas, v. 69, n. 4, p. 367-382, 2015.

NUNES, A. M.; GOUVEA, J. P.; DA SILVA, L. Influence of different disinfection protocols on guttapercha cones surface roughness assessed by two different methods. Journal of Materials Research and Technology, v. 8, n. 6, p. 5464-5470, 2019.

PINHEIRO, E. T.; GOMES, B. P.; FERRAZ, C. C.; SOUSA, E. L.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. International endodontic journal, 36(1), 1–11. https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2003.00603.x

REMONDINO, M.; VALDENASSI, L. Different Uses of Ozone: Environmental and Corporate Sustainability. Literature Review and Case Study. Sustainability 10(12):4783. doi: 10.3390/su10124783.

RIBEIRO, A. V. et al. Influence of Gutta-Percha Surface on Enterococcus faecalis Initial Adhesion In Vitro: An Atomic Force Microscopy Study. Life, Basel, v. 13, n. 2, p. 456, 2023. DOI: 10.3390/life13020456.

SANDA, A. P. R. Advances in Dental Treatments: Benefits of Ozone Therapy, Health Leadership and Quality of Life, vol. 3, p. .446, Dec. 2024, doi: 10.56294/hl2024.446.

SANTOS, G. C. F.; DE OLIVEIRA, G. L.; FERNANDES, C. de S.; BRAITT, A. H.; MAIA, D. C. A.; SOUZA, C. C.; BEZERRA, R. A.; LIMOEIRO, A. G. da S. Importância do selamento coronário no sucesso do tratamento endodôntico / Importance of coronary seal in the success of endodontic treatment. Brazilian Journal of Health Review, [S. l.], v. 3, n. 6, 2020. DOI: 10.34119/bjhrv3n6-188.

SANTOS, Francisco Dimitre Rodrigo Pereira et al. De-Epithelization of the Human Amniotic Membrane Using a System Involving Ozonated Water and Ultrasound. Bioengineering, v. 11, n. 10, p. 987, 2024.

SCHMIDT, Maico Henrique Manica et al. Effectiveness of different auxiliary chemical substances in the rapid disinfection of gutta-percha points – an in vitro study. RFO UPF, Passo Fundo, v. 20, n. 1, p. 64-68, 2015.

SILVA JÚNIOR, J. B. Correlação entre a composição química de cones de gutapercha e sua qualidade obturadora. 2003. 125 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

SILVA JÚNIOR, J. B.; PAULA, J. B. Estudo da degradação térmica da gutapercha utilizada em endodontia. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2007.

SINGH, Harpreet. Microbiology of endodontic infections. J Dent Oral Health, v. 2, n. 5, p. 1-4, 2016.

SIQUEIRA JR, José F. et al. Princípios biológicos do tratamento endodôntico de dentes com polpa viva. Revista Brasileira de Odontologia, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 161, 2012.

SMITH, Brian C. The Infrared Spectra of Polymers, VII: Polymers with Carbonyl (C=O) Bonds. Spectroscopy Online, 2022.

TANOMARU-FILHO, M. et al. Evaluation of the thermoplasticity of different guttapercha cones and the TC system. Journal of Applied Oral Science, v. 15, n. 6, p. 439-443, 2007. DOI: https://doi.org/10.1590/S1678-77572007000600010.

TAQA, A. A.; SULIMAN, R. T.; SHEHAB, E. Y. Evaluation of Antimicrobial Effect for Chlorhexidine Incorporated Gutta Percha Using FTIR Spectroscopy. Evaluation 3(1):1–6.

VANAPATLA, Amulya et al. Antibacterial efficacy of herbal solutions in disinfecting gutta percha cones against Enterococcus faecalis. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, v. 14, Suppl 1, p. S748-S752, jul. 2022. DOI: 10.4103/jpbs.jpbs_111_22.

VAUCHER, R. A. et al. Avaliação dos métodos de espectroscopia Raman, de espectroscopia de absorção de infravermelho e testes de nanodureza para o estudo de cones de guta-percha. Porto Alegre: UFRGS, 2013.

VENERI, F.; LANTERI, V.; CONSOLO, U. et al. Ozone in Dentistry: An Updated Overview of Current Applications and Future Perspectives. Curr Oral Health Rep 12, 3 (2025). https://doi.org/10.1007/s40496-024-00395-y

VITALI, Filipe C. et al. Disinfection and surface changes of gutta-percha cones after immersion in sodium hypochlorite solution containing surfactant. Microscopy Research and Technique, v. 82, n. 8, p. 1290-1296, 2019.

ZENG, JINRONG; LU, JIANYUN. Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases. International immunopharmacology, v. 56, p. 235-241, 2018.