

THIAGO PEREIRA DE CASTRO GUIMARÃES

**EFEITO DA ÁGUA OZONIZADA NA RESISTÊNCIA
DE UNIÃO À DENTINA**

**Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2019**

Thiago Pereira de Castro Guimarães

**EFEITO DA ÁGUA OZONIZADA NA RESISTÊNCIA
DE UNIÃO À DENTINA**

Monografia apresentada ao curso de Especialização em Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Dentística.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Reis Oliveira

Belo Horizonte

2019

Ficha Catalográfica

G963e Guimaráes, Thiago Pereira de Castro.
2019 Efeito da água ozonizada na resistência de união à
MP dentina / Thiago Pereira de Castro Guimaráes. -- 2019.

42 f. : il.

Orientador: Ricardo Reis Oliveira.

Monografia (Especialização) -- Universidade Federal de
Minas Gerais, Faculdade de Odontologia.

1. Dentina. 2. Resinas sintéticas. 3. Água destilada. 4.
Ozônio. I. Oliveira, Ricardo Reis. II. Universidade Federal
de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. III. Título.

BLACK - D122



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Odontologia
Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 – Pampulha
Belo Horizonte – MG – 31.270-901 – Brasil
Tel. (31) 3409-2470
e-mail: odonto-posgrad@ufmg.br



Ata da Comissão Examinadora para julgamento de Monografia do aluno **THIAGO PEREIRA DE CASTRO GUIMARÃES**, do Curso de Especialização em Dentística, realizado no período de 23/03/2017 a 14/03/2019.

Aos 14 dias do mês de março de 2019, às 15:00 horas, na sala de Pós-Graduação (3403) da Faculdade de Odontologia, reuniu-se a Comissão Examinadora, composta pelos professores Ricardo Reis Oliveira (orientador), Luiz Thadeu de Abreu Poletto e Daniel José Braga Dutra. Em sessão pública foram iniciados os trabalhos relativos à Apresentação da Monografia intitulada “Efeito da Água Ozonizada na Resistência de União à Dentina.”. Terminadas as arguições, passou-se à apuração final. A nota obtida pelo aluno foi 9,5 (nove e cinco) pontos, e a Comissão Examinadora decidiu pela sua aprovação. Para constar, eu, Ricardo Reis Oliveira, Presidente da Comissão, lavrei a presente ata que assino, juntamente com os outros membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 14 de março de 2019.

Prof. Ricardo Reis Oliveira
Orientador

Prof. Luiz Thadeu de Abreu Poletto

Prof. Daniel José Braga Dutra

AGRADECIMENTO

Aos professores do curso de especialização (Prof. Dr. Lincoln Lanza, Prof. Dr. Luiz Thadeu Poletto, Prof. Dr. Hugo Alvim, Profa. Dra. Patrícia Valente) pelos ensinamentos ao longo desse percurso e pela dedicação ao ensino da odontologia.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Reis. Obrigado pela oportunidade, por garantir que esse trabalho acontecesse e pelo apoio durante o desenvolvimento da pesquisa. Agradeço o incentivo, confiança e ensinamentos.

Ao meu amigo Prof. Me. Daniel Braga, que não mediu esforços para me ajudar durante a elaboração dessa pesquisa. Obrigado pelo apoio, incentivo e amizade. A sua contribuição foi de extrema importância para a realização desse trabalho.

Aos meus colegas de turma da especialização. Obrigado pela amizade, companheirismo e convivência durante esses dois anos.

A Universidade Federal de Minas Gerais, em que tive a oportunidade de cursar a graduação e agora a especialização.

RESUMO

A longevidade clínica das restaurações adesivas depende principalmente da remoção completa da estrutura infectada e da obtenção de um selamento marginal para evitar a microinfiltração. Apenas a limpeza mecânica da cavidade normalmente não é o suficiente para eliminação total dos microrganismos, que permanecem na cavidade após a remoção física da cárie, sendo, portanto, indicada a utilização de agentes antimicrobianos. O ozônio apresenta-se como uma substância antimicrobiana alternativa, devido a sua forte atividade oxidante. No entanto ainda levanta questionamentos sobre sua influência em relação ao procedimento adesivo. O presente trabalho, tem como objetivo avaliar o efeito da aplicação da água ozonizada na resistência de união imediata à dentina humana, de um sistema adesivo de dois passos (Single Bond 2), pelo teste de microtração. Neste estudo laboratorial *in vitro* quantitativo, 12 dentes foram preparados em dois diferentes protocolos de desinfecção cavitária. Eles foram divididos aleatoriamente em dois grupos (n = 6), obtendo-se no mínimo 7 palitos por dente. Os dados foram analisados por meio do ANOVA ($p < 0,05$). As comparações individuais foram realizadas com teste de diferença significativa de Tukey (HSD) ($p < 0,05$). Os resultados revelaram que houve diferença estatística entre os grupos 1 (água destilada) e 2 (água ozonizada). A análise microscópica revelou que o modo de falha predominante foi a adesiva. A aplicação da água ozonizada aumentou a resistência de união da resina à dentina humana.

Palavras-chave: Resistência de união. Dentina. Água ozonizada.

ABSTRACT

Effect of ozonated water on dentin bond strength

The clinical longevity of adhesive restorations depends primarily on complete removal of the infected structure and obtaining a marginal seal to prevent microleakage. Only the mechanical cleaning of the cavity is usually not sufficient for the total elimination of microorganisms, which remain in the cavity after the physical removal of caries, and therefore the use of antimicrobial agents is indicated. Ozone appears as an alternative antimicrobial substance due to its strong oxidizing activity. However, it still raises questions about its influence on the adhesive procedure. The aim of this study was to evaluate the effect of the application of ozonated water on the immediate bond strength to human dentin of a two - step adhesive system (Single Bond 2), through the microtensile test. In this quantitative in vitro laboratory study, 12 teeth were prepared in two different cavity disinfection protocols. They were randomly divided into two groups (n = 6), obtaining at least 7 sticks per tooth. Data were considered by the ANOVA test ($p < 0.05$). The individual comparisons were performed with Tukey's Difference Test (HSD) ($p < 0.05$). The results revealed that there was a statistical difference between groups 1 (distilled water) and 2 (ozonated water). Microscopic analysis showed that the predominant failure mode was adhesive. The application of ozonated water increased the bond strength of the resin to human dentin.

Keywords: Bond strength. Dentin. Ozonated water.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Molares extraídos, selecionados com dimensões e formatos similares	23
Figura 02 - Exposição da dentina coronária média	24
Figura 03 - Padronização da camada de esfregaço	25
Figura 04 - Aplicação do sistema adesivo de acordo com a estratégia adesiva: procedimento restaurador	28
Figura 05 - Dispositivo de resina acrílica acoplado à Isomet para a realização dos cortes no dente para obtenção dos palitos	29
Figura 06 - Preparo dos espécimes para o teste de microtração	31
Figura 07 - Ensaio de microtração executado na máquina de ensaio universal (EZ – Test, Shimadzu, Japan)	32
Figura 08 - Microscópio Óptico Stemi DV4 (Zeiss)	33

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 - Média da resistência à tração (MPa) dos grupos experimentais	34
Gráfico 02 - Número e porcentagem de espécimes (%) de acordo com o modo de fratura dos grupos experimentais	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 01 – Composição química dos materiais utilizados 26

Quadro 02 – Distribuição dos grupos de acordo com o procedimento restaurador
..... 27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3	OBJETIVOS	20
3.1	Objetivo geral	20
3.2	Objetivos específicos	20
4	HIPÓTESE NULA	21
5	METODOLOGIA	22
5.1	Delineamento experimental	22
5.2	Cálculo amostral	22
5.3	Seleção, limpeza e armazenamento dos dentes	22
5.4	Preparo dos dentes	23
5.5	Distribuição dos grupos e tratamento restaurador	25
5.6	Confecção dos espécimes para o teste	29
5.7	Ensaio de microtração	30
5.8	Análise do modo de fratura utilizando microscópio óptico	33
5.9	Análise estatística	33

6	RESULTADOS	34
7	DISCUSSÃO	36
8	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

O objetivo do tratamento restaurador é preservar a integridade do dente por um máximo período de tempo (SCHMIDLIN *et al.*, 2005). No entanto, um dos problemas para atingir tal propósito é a remoção mecânica incompleta da dentina infectada. Apenas a limpeza mecânica da cavidade normalmente não é suficiente para eliminação dos microrganismos, que permanecem na *smear layer* e nos túbulos dentinários (KAPTAN e ÖZTAŞ, 2015). Tais microrganismos remanescentes podem causar inflamação pulpar, cárie secundária e conseqüentemente falha na restauração (MARTIN *et al.*, 2002). É, portanto, evidente que outros meios adicionais à remoção física da cárie são vantajosos antes da realização da restauração (ROBERSON *et al.*, 2002).

Nos últimos anos, o ozônio foi apresentado como um agente antimicrobiano alternativo devido à sua forte atividade oxidante (BROADWATER *et al.*, 1973) que causa a ruptura da membrana celular e a destruição de componentes intracelulares através de uma reação de oxidação (MÜLLER *et al.*, 2007).

Entretanto, substâncias oxidantes, como agentes clareadores, prejudicam a resistência de união à dentina e influenciam negativamente na polimerização de sistemas adesivos quando aplicados antes do procedimento adesivo (CADENARO *et al.*, 2006; SPYRIDES *et al.*, 2000).

Estudos anteriores concluíram que o gás ozonizado utilizado antes da confecção da restauração não compromete as propriedades mecânicas de sistemas adesivos (MAGNI *et al.*, 2008) e a força de união da resina ao esmalte e à dentina para adesivos de dois passos (POLYDOROU *et al.*, 2006), adesivos autocondicionantes (ABDELAZIZ e ATTIA, 2007) e cimentos resinosos (BITTER *et al.*, 2008). Porém, poucos estudos estão disponíveis sobre a influência da água ozonizada previamente ao procedimento adesivo.

Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo, a partir de um estudo laboratorial *in vitro* quantitativo, avaliar o efeito da água ozonizada, utilizada para desinfecção cavitária, na resistência de união à dentina humana.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O ozônio (O_3), variedade alotrópica do oxigênio, é constituído por moléculas triatômicas deste elemento. Apresenta-se na natureza na forma de gás e é obtido a partir da dissociação do oxigênio molecular (O_2) em átomos de oxigênio ativado, que então reage com moléculas suplementares de O_2 , mediante uma descarga elétrica, reações fotoquímicas ou artificialmente por geradores elétricos. É um potente oxidante, o que o torna um poderoso agente antimicrobiano. Devido a suas propriedades bactericida, fungicida e virucida vem sendo estudado e utilizado no tratamento de lesões cariosas, na estomatologia, endodontia, periodontia e cirurgia (AZARPAZHOOH e LIMEBACK, 2008; BAYSAN *et al.*, 2001; NOGALES *et al.*, 2008; STUBINGER *et al.*, 2006).

A utilização do ozônio para desinfecção cavitária apresenta-se como uma interessante alternativa, devido a sua comprovada propriedade antimicrobiana na inibição e/ou destruição de muitos microorganismos orais, tais como microorganismos Gram-positivos, Gram-negativos e *Candida albicans*. O potencial oxidante do ozônio induz a destruição da parede celular e da membrana citoplasmática de microorganismos. Destrói glicoproteínas, glicolípídeos e outros aminoácidos, e inibe o controle enzimático da célula (CELIBERTI *et al.*, 2006; HODSON *et al.*, 2007; NAGAYOSHI *et al.*, 2004; POLYDOROU *et al.*, 2006). Sua alta atividade oxidante é responsável por degradar compostos orgânicos e abrir os túbulos dentinários (HOLMES e DALEY, 2003).

Nagayoshi *et al.* (2004), examinaram o efeito da água ozonizada sobre microorganismos bucais e sobre a placa dental. Para avaliar a atividade antimicrobiana, culturas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Porphyromonas Gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Candida albicans* foram expostas a diferentes concentrações de água ozonizada. Foi realizada também uma cultura de biofilme dental para determinar o efeito da água ozonizada sobre o mesmo. Observou-se que quase nenhum microrganismo foi encontrado após o tratamento das culturas com água ozonizada e que após o tratamento do biofilme

experimental o número de *S. mutans* diminuiu notavelmente. Concluíram que a água ozonizada foi efetiva contra microrganismos bucais e da placa dental.

Embora a maioria das pesquisas comprovem sua eficácia no tratamento de lesões cárias (AZARPAZHOOH e LIMEBACK, 2008; BAYSAN *et al.*, 2001), o ozônio possui alta instabilidade, voltando a ser oxigênio em um curto período de tempo (NAGAYOSHI *et al.*, 2004; STUBINGER *et al.*, 2006). A presença de radicais livres de oxigênio pode inibir a polimerização dos sistemas adesivos, e como consequência diminuir a resistência de união entre o material restaurador e o substrato dentário (CADENARO *et al.*, 2006; SPYRIDES *et al.*, 2000).

Em 1994, Sano *et al.*, introduziram o ensaio de microtração que permitia testar interfaces adesivas utilizando-se espécimes de dimensões reduzidas. O método previa a execução de cortes perpendiculares entre si no dente preparado, para confecção de corpos de prova em formato de palitos, com secção transversal aproximada de 1 mm². Os palitos posicionados e fixados por meio de cola a um dispositivo específico eram tracionados em máquina de testes universal, a uma velocidade de 0,5 mm/min. Os valores de resistência adesiva eram calculados pela razão entre a carga necessária para ruptura do corpo-de-prova e a área de sua interface adesiva.

Abdelaziz e Attia (2007) avaliaram o efeito da aplicação do gás ozonizado na resistência de união ao cisalhamento de diferentes tipos de sistemas adesivos à dentina. Três sistemas adesivos, representando diferentes gerações (Exite, Adper Prompt L-pop e G Bond), foram usados na adesão de corpos de prova de compósito Tetric Ceram (3 mm de diâmetro e altura), em dois grupos: superfícies dentinárias tratadas com ozônio (Grupos II, III, V e VII) e não tratados (Grupos I, IV e VI). A resistência ao cisalhamento foi testada após 24 horas do procedimento adesivo, em uma máquina universal de ensaio e os modos de fratura dos espécimes foram determinados com o uso de estéreomicroscópio. O tratamento com ozônio das superfícies dentinárias não demonstrou efeito significativo na resistência de união dos diferentes adesivos à dentina. A única exceção foi registrada quando o gás foi aplicado após o condicionamento ácido e antes da aplicação do adesivo monocomponente Exite (grupo III) que apresentou menores valores de resistência de união quando comparados com o grupo sem aplicação de ozônio (grupo I) e com aplicação de ozônio antes do condicionamento ácido (grupo II). O achado microscópico demonstrou

que o modo de fratura predominante foi o adesivo. Os autores concluíram que a aplicação de ozônio parece não causar efeito na resistência de união à dentina. Entretanto, no caso de uso de adesivos de dois passos, a aplicação do gás ozonizado deveria ser realizada antes do condicionamento ácido da dentina.

Ibraheem e Habeeb (2008) estudaram a influência da água ozonizada na resistência de união ao cisalhamento da resina à dentina humana. Cinquenta pré-molares superiores extraídos foram seccionados perpendicularmente aos seus longos eixos para expor a superfície dentinária oclusal de forma plana e divididos em 5 grupos (n=10). Todos grupos receberam tratamento dentinário, exceto o grupo 1 (grupo controle). No grupo 2, foi utilizado água destilada por 10 segundos. Para o grupo 3, foi utilizado hipoclorito de sódio 5.25% por 10 segundos. No grupo 4, foi utilizado clorexidina 0,2% durante 10 segundos e no grupo 5 foi utilizada água ozonizada por 10 segundos. Após o tratamento dentinário, o excesso de umidade foi removido com um jato de ar por 3 segundos, realizado o condicionamento ácido da superfície dentinária por 15 segundos e lavagem por 10 segundos com água destilada. Foi removido o excesso de umidade da dentina com uma ponta aplicadora com a extremidade de algodão. O sistema adesivo (Ventura Unibond 2, Madespa, Espanha) foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante e foi realizado a reconstrução com resina composta. Os dentes foram armazenados em água destilada a 37°C por 2 dias e submetidos a termociclagem durante 500 ciclos a 5°C e 55°C. A resistência ao cisalhamento das amostras foi testada a uma velocidade de 1 mm/min. As superfícies fraturadas foram analisadas com microscópio óptico e os modos de fratura foram classificados em coesivo, adesivo ou misto. Os espécimes tratados com água ozonizada foram os que apresentaram maior resistência de união ao cisalhamento. O modo de fratura predominante foi adesivo. Os autores concluíram que a água ozonizada pode ser usada como um agente de desinfecção cavitária para aumentar a resistência de união ao cisalhamento da resina à dentina.

Rodrigues *et al.* (2011) analisaram, por meio do teste de microtração, o efeito da aplicação do gás ozonizado na resistência de união à dentina humana. Quarenta terceiros molares humanos extraídos foram seccionados aproximadamente 2 mm abaixo da junção amelodentinária, perpendicularmente ao longo eixo dos dentes. Foram divididos em 4 grupos experimentais (n=10). O grupo 1 não foi tratado com gás ozonizado. Para o grupo 2, o ozônio foi aplicado anteriormente ao condicionamento ácido. No grupo 3, o gás ozonizado foi aplicado após o condicionamento ácido. E para

o grupo 4 foi aplicado gás ozonizado e posteriormente ascorbato de sódio 10%. Após o procedimento adesivo, foi realizada reconstrução com resina composta pela técnica incremental e os dentes foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas. Para execução do teste de microtração, os dentes foram seccionados no sentido mesio-distal e vestibulo-lingual para obtenção de palitos com aproximadamente 1 mm² de área. O padrão de falha dos palitos foi avaliado por meio de microscopia óptica. A resistência de união do grupo 1 foi significativamente maior do que os grupos 2 e 3 e semelhante ao grupo 4. A utilização do gás ozonizado previamente ao condicionamento ácido (grupo 2) resultou em menor valor de resistência de união do que o grupo 3, em que o ozônio foi aplicado após o condicionamento ácido. Os autores concluíram que o gás ozonizado diminuiu a resistência de união entre a dentina e a resina, porém com a utilização de um antioxidante após a aplicação do ozônio não houve diminuição dessa resistência.

DALKILIC *et al.* (2012) avaliaram o efeito de diferentes métodos de desinfecção cavitária na resistência de união à dentina. Vinte terceiros molares inferiores extraídos foram seccionados de forma paralela ao plano oclusal e divididos em 4 grupos. No grupo OZ, a superfície dentinária foi exposta ao gás ozonizado por 60 segundos. No grupo ND, a dentina foi irradiada com laser Nd:YAG por 20 segundos. No grupo CHX, a superfície dentinária foi tratada com clorexidina 2% por 40 segundos. No grupo controle não foi realizado nenhum tratamento dentinário. Em todos os grupos, os dentes foram restaurados com um adesivo autocondicionante de dois passos (Clearfil SE Bond, Kuraray, Tokyo, Japão) e resina composta híbrida (Clearfil Majesty Posterior, Kuraray) e armazenados em água destilada por 24 horas. Posteriormente foram seccionados perpendicularmente à superfície de união para obtenção de corpos de prova de aproximadamente 1 mm² de área. Todos corpos de prova foram submetidos ao teste de microtração a uma velocidade de 1mm/min. Os modos de fratura foram determinados por meio de microscopia óptica. O grupo OZ foi o que apresentou a menor resistência de união, e os grupos ND, CHX e controle não apresentaram diferença significativa. Em todos os grupos, o modo de fratura predominante foi adesivo. Os autores concluíram que o laser Nd:YAG e a clorexidina 2% não interferiram na resistência de união e que o gás ozonizado diminuiu a resistência de união da resina à dentina.

Garcia *et al.* (2012), avaliaram a influência da aplicação da água ozonizada e do gás ozonizado previamente e após o procedimento adesivo. Sessenta terceiros molares humanos extraídos foram seccionados perpendicularmente aos seus longos eixos para expor a superfície dentinária oclusal de forma plana. Os dentes foram divididos em dois grupos experimentais. No grupo 01, 05 dentes foram tratados com água ozonizada, 05 dentes com gás ozonizado e 05 dentes com água destilada e depois realizado o procedimento adesivo com adesivos de dois passos Adapter Single Bond 2 (3M ESPE) e XP-Bond (Dentsply). Reconstruções de resina composta (Z350 e ESTHET X) foram realizadas com técnica incremental. Foram então armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foram seccionados no sentido mesio-distal e vestibulo-lingual para obtenção dos corpos de prova em formato de palito com aproximadamente 0,8 mm² de área. No grupo 02, o procedimento adesivo foi realizado com os mesmos sistemas adesivos e resinas do experimento um. Os dentes restaurados foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas e os corpos de prova foram obtidos da mesma forma que no primeiro grupo. Os espécimes foram então tratados com água ozonizada, gás ozonizado e água destilada. Todos corpos de prova foram submetidos ao teste de microtração a uma velocidade de 1mm/min. O padrão de falha dos palitos foi determinado por meio de microscopia eletrônica de varredura. Foi observado que não houve diferença estatística na resistência de união entre os grupos e o padrão predominante de falha foi adesiva. Observou-se também, pela microscopia, a presença de uma camada híbrida sem a presença de espaços vazios e “gaps”. Os autores concluíram que a utilização da água ozonizada e do gás ozonizado antes ou após o procedimento adesivo não influenciou a resistência de união à dentina.

Pires *et al.* (2013) avaliaram a influência do pré tratamento do esmalte com gás ozonizado em relação à resistência de união ao cisalhamento de um adesivo autocondicionante (AdheSE, Ivoclar Vivadent AG, Liechtenstein) e um adesivo convencional de dois passos (Excite, Ivoclar Vivadent AG, Liechtenstein). Sessenta incisivos bovinos foram utilizados. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais (n=15): Grupo G1 (Excite® com ozônio) e grupo G3 (AdheSE® com ozônio) foram preparados com gás ozonizado por 20 segundos antes do procedimento adesivo. Os grupos G2 (Excite®) e G4 (AdheSE®) foram usados como controle. A superfície dentária foi polida com discos de carbeto de silício para criar

uma superfície plana e simular uma camada de *smear layer*. Os adesivos foram aplicados de acordo com as instruções do fabricante e reconstruções de resina composta (Synergy D6, Coltene, Whaledent) foram realizadas pela técnica incremental. Os espécimes foram armazenados em água destilada por 24 horas a 37°C e então submetidos a termociclagem durante 500 ciclos a 5°C e 55°C. Foi realizado o teste de cisalhamento em uma máquina universal de ensaio a uma velocidade de 0,5mm/min. Os modos de fratura foram analisados por microscopia eletrônica de varredura e classificados em adesiva, coesiva e mista. Os valores médios de resistência de união foram os seguintes: G1 - 26,85 ± 6,18 MPa; G2 - 27,95 ± 5,58 MPa; G3 - 15,0 ± 3,84 Mpa; G4 - 13,1 ± 3,68 Mpa. O modo de fratura predominante foi a adesiva. Os autores concluíram que o gás ozonizado não influenciou na resistência de união ao cisalhamento no esmalte para os dois adesivos testados.

Oznurhan *et al.* (2014) compararam os efeitos de diferentes agentes para desinfecção cavitária na resistência de união à dentina. Doze primeiros molares decíduos extraídos por motivos ortodônticos foram seccionados perpendicularmente aos seus longos eixos para expor a superfície dentinária oclusal de forma plana. Os dentes foram divididos em 06 grupos, cada um com 02 dentes. O primeiro grupo foi tratado com clorexidina 2% por 20 segundos. O segundo grupo com uma solução de própolis a 30% por 20 segundos. O terceiro com gás ozonizado por 30 segundos. O quarto grupo foi tratado com água ozonizada por 30 segundos. O quinto com laser KTP (Fosfato de Titanil Potássio) por 60 segundos e por fim o sexto grupo não recebeu nenhum tratamento, sendo, portanto, o grupo controle. Após o tratamento dentinário, foi realizado a aplicação do sistema adesivo Adapter Prime and Bond NT (Dentsply) por 20 segundos, fotoativado por 15 segundos, seguida de reconstrução coronária com resina composta pela técnica incremental. Os dentes foram armazenados em água destilada por 24 horas e então seccionados no sentido mesio-distal e vestibulo-lingual para obtenção dos corpos de prova em formato de palito com aproximadamente 1 mm² de área. Os espécimes foram submetidos ao teste de microtração a uma velocidade de 0,5mm/min. Observaram que a água ozonizada apresentou resultados significativamente maiores do que os outros grupos, exceto o grupo tratado com laser KTP. Os autores concluíram que a água ozonizada e o laser

KTP podem ser usados como agentes antimicrobianos para desinfecção cavitária sem comprometer a resistência de união à dentina.

Ercan *et al.* (2015) avaliaram os efeitos de diferentes agentes para desinfecção cavitária na resistência de união ao cisalhamento. Neste estudo, foram utilizados 60 molares humanos extraídos. Os dentes foram seccionados de forma paralela ao plano oclusal e divididos em 4 grupos (n=15) de acordo com o agente de desinfecção utilizado: grupo 1 (controle); Grupo 2 (gás ozonizado); Grupo 3 (clorexidina); Grupo 4 (ácido bórico). Após o tratamento dentinário, o sistema adesivo autocondicionante S3 Bond Plus (Kuraray, Japão) foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante e reconstruções de resina composta (Clearfil APX, Kuraray, Japão) foram confeccionadas utilizando uma matriz plástica de formato cilíndrico com o diâmetro interno de 2.3 mm e altura de 3 mm. Os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas. A resistência de união ao cisalhamento foi testada com uma máquina de ensaio universal a uma velocidade de 1 mm/min. Os maiores valores de resistência de união foram observados no grupo 1 (controle), sendo que não houve diferença significativa com o grupo 2 (gás ozonizado). O grupo 3 (clorexidina) e 4 (ácido bórico) apresentaram os menores valores. Os autores concluíram que a aplicação do ozônio representa uma alternativa viável para desinfecção cavitária, uma vez que não apresentou alteração relevante na resistência de união.

Alkan *et al.* (2017) avaliaram o efeito da aplicação de gás ozonizado na resistência de união ao cisalhamento de bráquetes ortodônticos ao esmalte dentário. Sessenta caninos humanos, extraídos por motivo periodontal, foram divididos aleatoriamente em 3 grupos (n=20) e receberam os seguintes tratamentos: Grupo I - profilaxia com pedra-pomes, condicionamento ácido com ácido ortofosfórico a 37% e aplicação de sistema adesivo Transbond XT (3M Unitek, Monrovia, EUA); Grupo II - profilaxia com pasta profilática Sultan (Topex, NJ, EUA), condicionamento ácido com ácido ortofosfórico a 37% e aplicação de sistema adesivo Transbond XT. Grupo III - Aplicação de gás ozonizado por 40 segundos, condicionamento ácido com ácido ortofosfórico a 37% e aplicação de sistema adesivo Transbond XT. Foram colados bráquetes ortodônticos após o procedimento adesivo. Todos os espécimes foram armazenados a 37°C por 24 horas. A resistência ao cisalhamento foi avaliada usando uma máquina de teste universal a uma velocidade de 1mm/min. A resistência ao

cisalhamento dos bráquetes ortodônticos foi de 16,10; 18,01 e 19,23 MPa para os Grupos I, II e III, respectivamente. Concluíram que o gás ozonizado não teve impacto negativo na resistência de união dos bráquetes ortodônticos ao esmalte dentário.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar o efeito da aplicação da água ozonizada na resistência de união imediata à dentina humana.

3.2 Objetivos específicos

- Testar e comparar o adesivo Single Bond 2 (3M ESPE) por meio do teste de microtração em dentina humana, utilizando ou não a água ozonizada, como agente irrigante da cavidade.
- Observar, por microscopia óptica, a interface adesiva após a fratura em ensaio mecânico das amostras dos grupos experimentais Single Bond 2 (3M ESPE) irrigados com água ozonizada e com água destilada.

4 HIPÓTESE NULA

Hipótese nula testada: a aplicação de água ozonizada previamente ao protocolo adesivo não influenciará na resistência de união imediata à dentina humana.

5 METODOLOGIA

5.1 Delineamento experimental

O presente trabalho será constituído de um estudo laboratorial *in vitro* quantitativo. As variáveis independentes analisadas serão o sistema adesivo em 1 nível: Single Bond 2 (3M ESPE), utilizado conforme instruções do fabricante e agentes de irrigação de cavidade em 2 níveis: irrigação da cavidade durante o preparo dos corpos de prova e após condicionamento ácido da dentina com água destilada e água ozonizada por 60s. A variável-resposta será resistência de união dos sistemas adesivos à dentina humana.

5.2 Cálculo amostral

Arias (2007) concluiu em sua pesquisa que, para se ter uma probabilidade do erro tipo II inferior a 20% nesse tipo de estudo, devem-se utilizar 6 dentes por grupo e, independentemente do número de dentes utilizados por grupo, o número mínimo de palitos utilizado por dente deve ser 7. Portanto, neste estudo, os dentes foram divididos em 2 grupos, cada grupo contendo 6 dentes, para se conseguir no mínimo 42 espécimes (palitos) por grupo.

5.3 Seleção, limpeza e armazenamento dos dentes

Foram utilizados 12 terceiros molares humanos íntegros, recém extraídos, obtidos do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais (FO-UFMG), com aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (COEP) (CAAE – 68999817.4.0000.5149).

Os dentes com dimensões coronárias similares foram selecionados para o desenvolvimento desta pesquisa. Todo o tecido gengival, restos de ligamento periodontal e cálculo dentário foram removidos com lâmina de bisturi nº 12, montada em cabo de bisturi ou curetas periodontais. Em seguida, foram limpos em baixa rotação com escova de Robinson e pedra pomes. Após essa etapa, os dentes foram examinados com o auxílio de uma lupa com aumento de 10X (Leica Zoom 2000 – Leica Microsystems®, Wetzlar, Alemanha) para verificar se estavam livres de trincas ou defeitos estruturais. Foram armazenados em solução de Cloramina 0,5% para desinfecção por 24 horas (MUÑOZ *et al.*, 2013) (FIGURA 1). Os dentes permaneceram em recipientes plásticos contendo água destilada, para evitar desidratação, até o início dos procedimentos experimentais.

Figura 1 – Molares extraídos, selecionados com dimensões e formatos similares



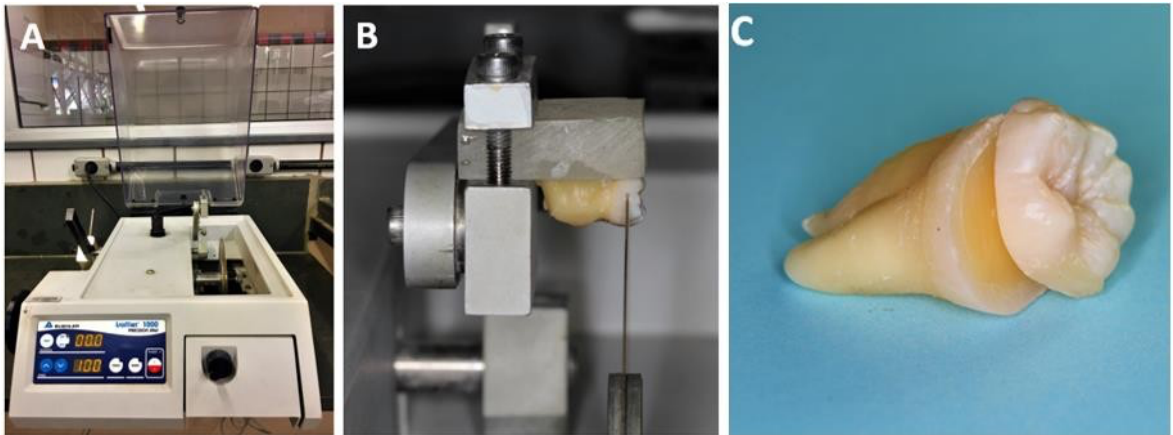
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

5.4 Preparo dos dentes

Para a padronização do corte em dentina coronária média, foi feita uma secção coronária com um corte perpendicular ao longo eixo dos dentes utilizando-se um disco de diamante (Diamond Wafer Blade, Series 15 HC, Lake Bluff, Illinois, EUA) posicionado na máquina de cortes (IsoMet®, Buehler, Lake Bluff, Illinois, EUA) sob irrigação, estabelecendo-se a superfície definitiva de dentina após remover o terço oclusal da coroa (FIGURA 2). Os dentes do grupo

1 foram seccionados sob refrigeração de água destilada, enquanto para os dentes do grupo 2 foi utilizada água ozonizada (O&LSS DIGITAL, Ozone & Life, São José dos Campos, Brasil).

Figura 2 – Exposição da dentina coronária média

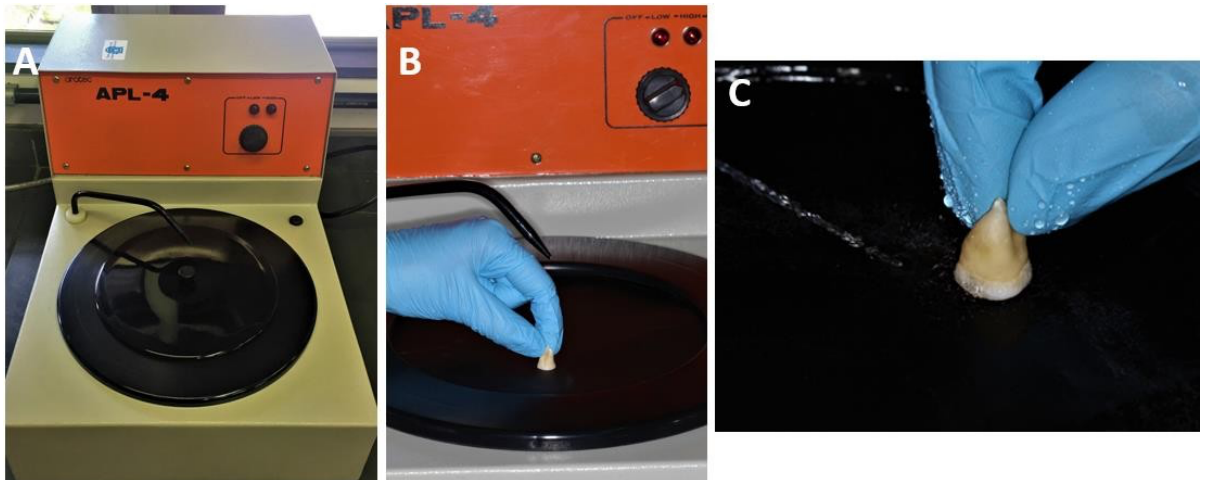


Legenda: (A) Máquina de corte Isomet. (B) Acesso coronário realizado com o disco de corte perpendicular ao longo eixo do dente. (C) Dentina exposta.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Para se obter a planificação da superfície do substrato dental e formar a camada de esfregação padrão, todas as superfícies dentinárias foram lixadas em uma poltriz metalográfica APL-4 (Arotec Indústria e Comércio, Cotia, SP, Brasil) com lixas d'água de carbeto de silício de granulação #600 (3M, Brasil) sob irrigação de água destilada (grupo 1) e água ozonizada (grupo 2), num tempo predeterminado de 60 segundos para cada dente (LU *et al.*, 2013) (FIGURA 3). Em seguida, foi realizado o procedimento restaurador.

Figura 3 – Padronização da camada de esfregaço



Legenda: (A) Máquina Politriz. (B) Dente posicionado sobre a Politriz. (C) Superfície dentinária sendo planificada sob irrigação aquosa.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

5.5 Distribuição dos grupos e tratamento restaurador

Os dentes foram divididos em 2 grupos, cada grupo com 6 dentes. O Quadro 1 apresenta a composição química dos materiais utilizados, e o Quadro 2 representa a descrição do procedimento restaurador para os dois grupos.

Quadro 1 – Composição química dos materiais utilizados

MATERIAL (fabricante, lote)	COMPOSIÇÃO
Adpter Single Bond 2 (3M do Brasil LTDA, lote N920206)	Álcool etílico, bisfenol A diglicil éter dimetacrilato (BIS-GMA), sílica tratada, 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), glycerol 1,3-dimetacrilato, copolímero de ácido acrílico e ácido itacônico, água, diuretano dimetacrilato (UDMA), difeniliodônio hexafluorofosfato e etil 4-dimetil aminobenzoato (EDMAB).
Filtek Z350 XT (3M ESPE, St Paul, MN, EUA, lote 1827200471)	Cerâmica tratada com silano, bisfenol A diglicil éter dimetacrilato (BIS-GMA), bisfenol A polietileno glicol diéter dimetacrilato (BIS- EMA), sílica tratada com silano, sílica-óxido de zircônia tratado com silano, diuretano dimetacrilato polietilenoglicol, dimetacrilato de trietileno glicol (TEG-DMA), 2,6-di terc-butil-p-cresol (BHT) e pigmentos.
Gel de Ácido Fosfórico a 37% (FGM, Joinville, SC, Brasil, lote 201117)	Ácido fosfórico a 37%, espessante, corante e água deionizada.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

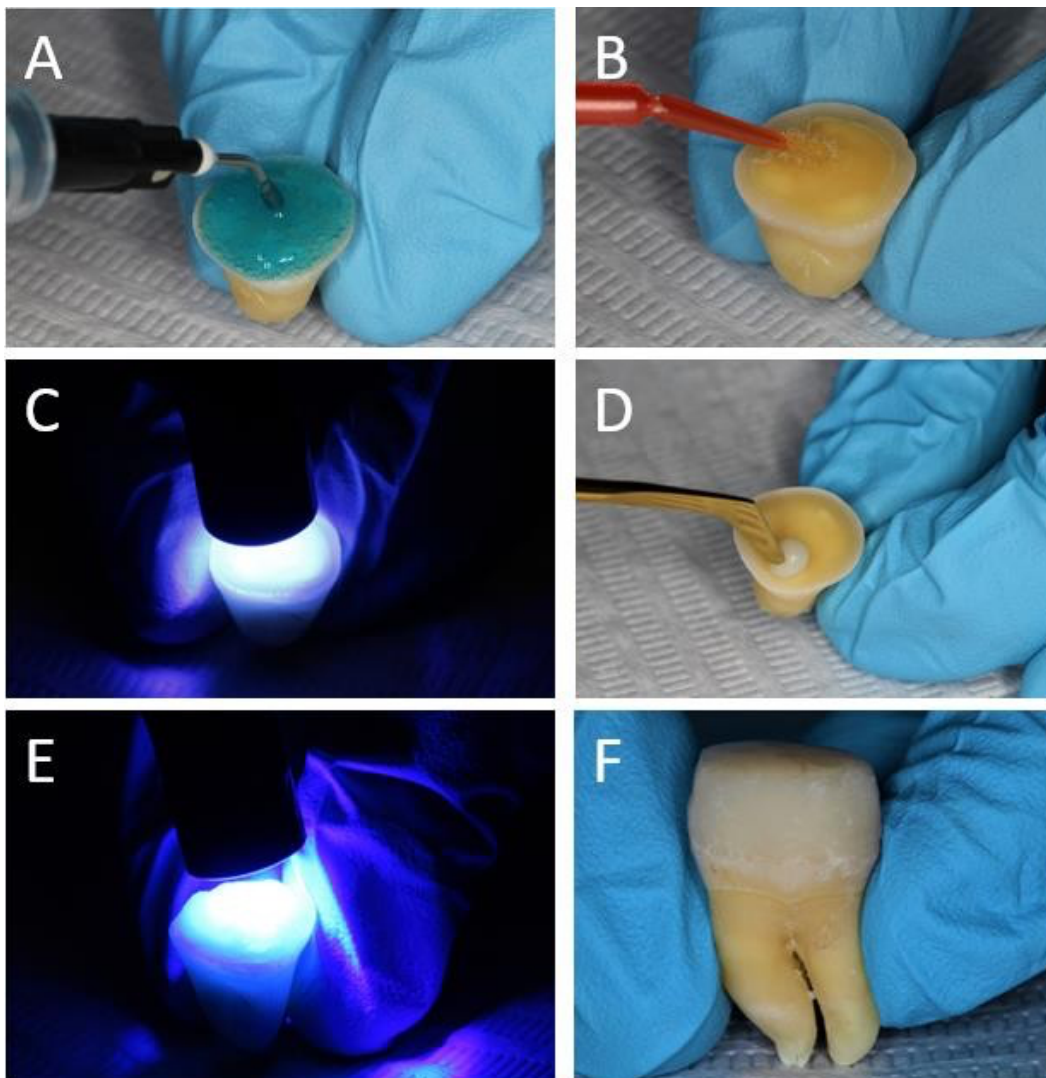
Quadro 2 – Distribuição dos grupos, de acordo com o procedimento restaurador.

GRUPO	MATERIAL	DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO RESTAURADOR
<p>Grupo 1 (Água Destilada)</p>	<p>Gel ácido fosfórico a 37% Água destilada Single Bond 2 Filtek Z350 XT</p>	<p>A superfície dentinária foi condicionada com ácido fosfórico a 37% por 15s, enxaguada por 60s com água destilada e o excesso de umidade removido com papel absorvente. Com o auxílio de um aplicador descartável, a primeira camada de adesivo foi aplicada ativamente na dentina durante 15s, seguido de leve jato de ar a 30cm por 15s e a segunda camada de adesivo aplicada ativamente por 15 segundos, seguido de leve jato de ar a 30cm por 15s.</p>
<p>Grupo 2 (Água Ozonizada)</p>	<p>Gel ácido fosfórico a 37% Água ozonizada Single Bond 2 Filtek Z350 XT</p>	<p>A superfície dentinária foi condicionada com ácido fosfórico a 37% por 15s, enxaguada por 60s com água ozonizada e o excesso de umidade removido com papel absorvente. Com o auxílio de um aplicador descartável, a primeira camada de adesivo foi aplicada ativamente na dentina durante 15s, seguido de leve jato de ar a 30cm por 15s e a segunda camada de adesivo aplicada ativamente por 15 segundos, seguido de leve jato de ar a 30cm por 15s.</p>

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Após a fotoativação do sistema adesivo, foi confeccionada para cada dente uma reconstrução da porção coronária com resina composta nanoparticulada (Filtek Z350 XT, cor A2B, 3M ESPE). Cada incremento de aproximadamente 2 mm foi fotoativado por 20 segundos, com uma intensidade de 800 mW/cm^2 , controlada por meio de um radiômetro, totalizando uma altura aproximada de 6 mm (FIGURA 4). O aparelho fotopolimerizador utilizado em todos os passos foi o Bluephase (Ivoclar Vivadent – Schaan, Liechtenstein). Terminado o procedimento restaurador, os corpos de prova foram imersos em recipientes contendo água destilada e armazenados em estufa a 37°C por 24 horas.

Figura 4 – Aplicação do sistema adesivo de acordo com o tratamento dentinário e procedimento restaurador

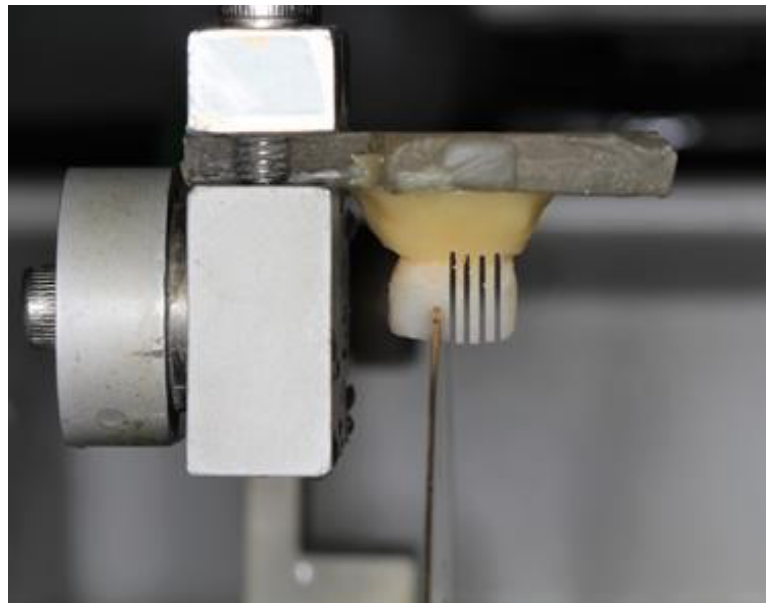


Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

5.6 Confecção dos espécimes para o teste

Após 24 horas, os dentes restaurados foram estabilizados com cera pegajosa sobre um dispositivo de resina acrílica acoplado à máquina de corte. Com o auxílio de um disco de diamante (Diamond Wafer Blade, Series 15 HC, Buehler, EUA) de 15,2 cm de diâmetro, com uma espessura de 0,3 mm, sob constante irrigação aquosa, pressão de 50 g e velocidade de 250 rpm, foram feitos cortes sequenciais no sentido vestibulo/palatal deixando espessura suficiente para a obtenção de fatias de aproximadamente 1 mm de espessura cada, considerando a espessura do disco de 0,3 mm. Em seguida, realizaram-se cortes no sentido mesio/distal, mantendo-se também a espessura de 1 mm. Um corte paralelo ao plano oclusal foi realizado em seguida, obtendo-se corpos de prova em formato de palito com aproximadamente 1,0 mm² de área (FIGURA 5). Os espécimes íntegros foram armazenados em umidade relativa a 100% à temperatura ambiente até serem submetidos ao teste.

Figura 5 – Dispositivo de resina acrílica acoplado à Isomet para realização dos cortes no dente para obtenção dos palitos



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

5.7 Ensaio de microtração

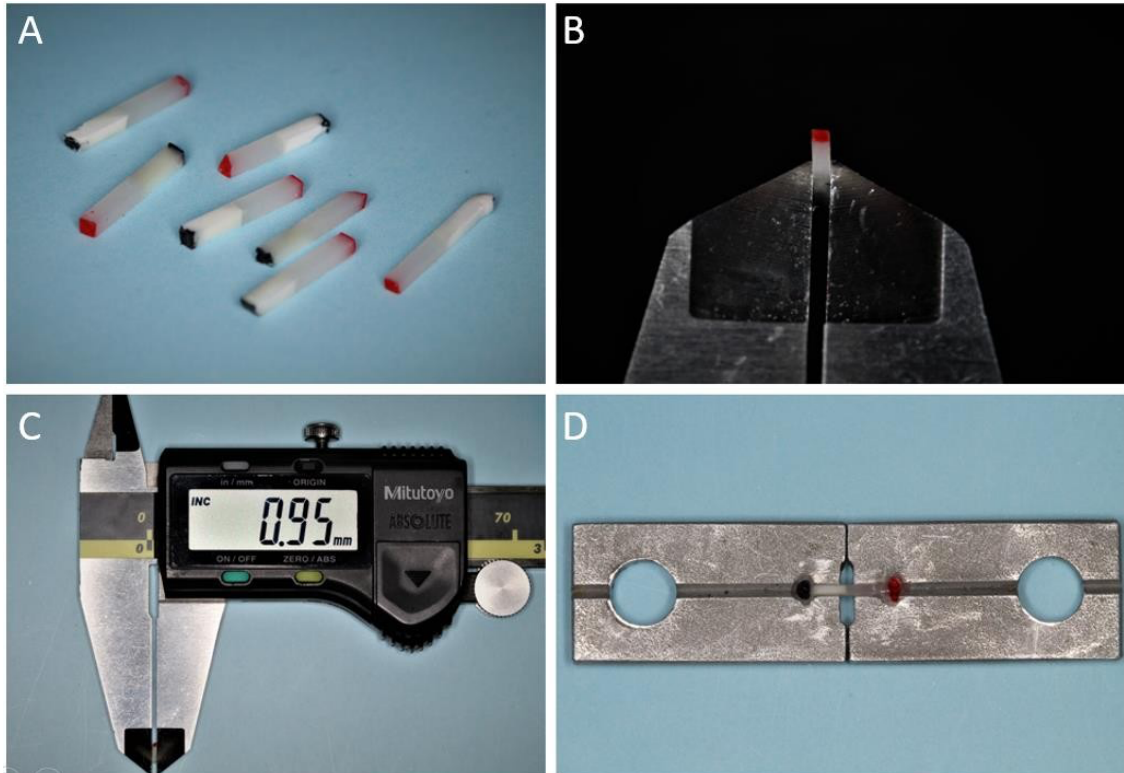
Os espécimes íntegros (palitos) de cada grupo foram mensurados com paquímetro eletrônico digital Mitutoyo (Kawasaki, Kanagawa, Japão), com precisão de 0,01 mm, estando a largura e a espessura de cada palito em torno de 1,0 mm, totalizando uma área de superfície aproximada de 1,0 mm². Os palitos com suspeita de qualquer falha adesiva foram descartados. Os palitos selecionados tiveram suas porções de resina composta identificadas com caneta hidrocor vermelha e a porção de dentina com a cor preta, (FIGURA 6 – A, B e C). Esse procedimento facilitou a identificação das partes após a fratura.

Os palitos foram individualmente fixados pelas suas extremidades com um adesivo em gel à base de cianoacrilato de polimerização rápida (Super Bonder, Henkel Loctite Adesivos Ltda.) à garra de Geraldeli (PERDIGÃO *et al.*, 2002), dispositivo de microtração que se adapta ao acessório específico usado na máquina de ensaios universal (Figura 6 – D).

Para realização dos testes de microtração, o painel da máquina de ensaio universal (EZ –Test, Shimadzu, Japão) foi previamente programado com uma velocidade constante de 0,5 mm/min e ajustado para detectar o valor máximo de carga necessária para a fratura do espécime (em quilonewton – Kn) e retornar à posição zero (inicial), permitindo que novo espécime fosse posicionado para o teste (FIGURA 7 – A, B, C e D). Os resultados de resistência a microtração obtidos foram expressos em MPa e registrados em planilha.

O número de palitos prematuramente descolados em cada grupo foi registrado, mas esses valores não foram incluídos na análise estatística. Isso ocorreu porque todas as falhas prematuras aconteceram durante o procedimento de corte e não excederam 3% do número total de amostras testadas, além de estarem distribuídas de maneira semelhante nos grupos.

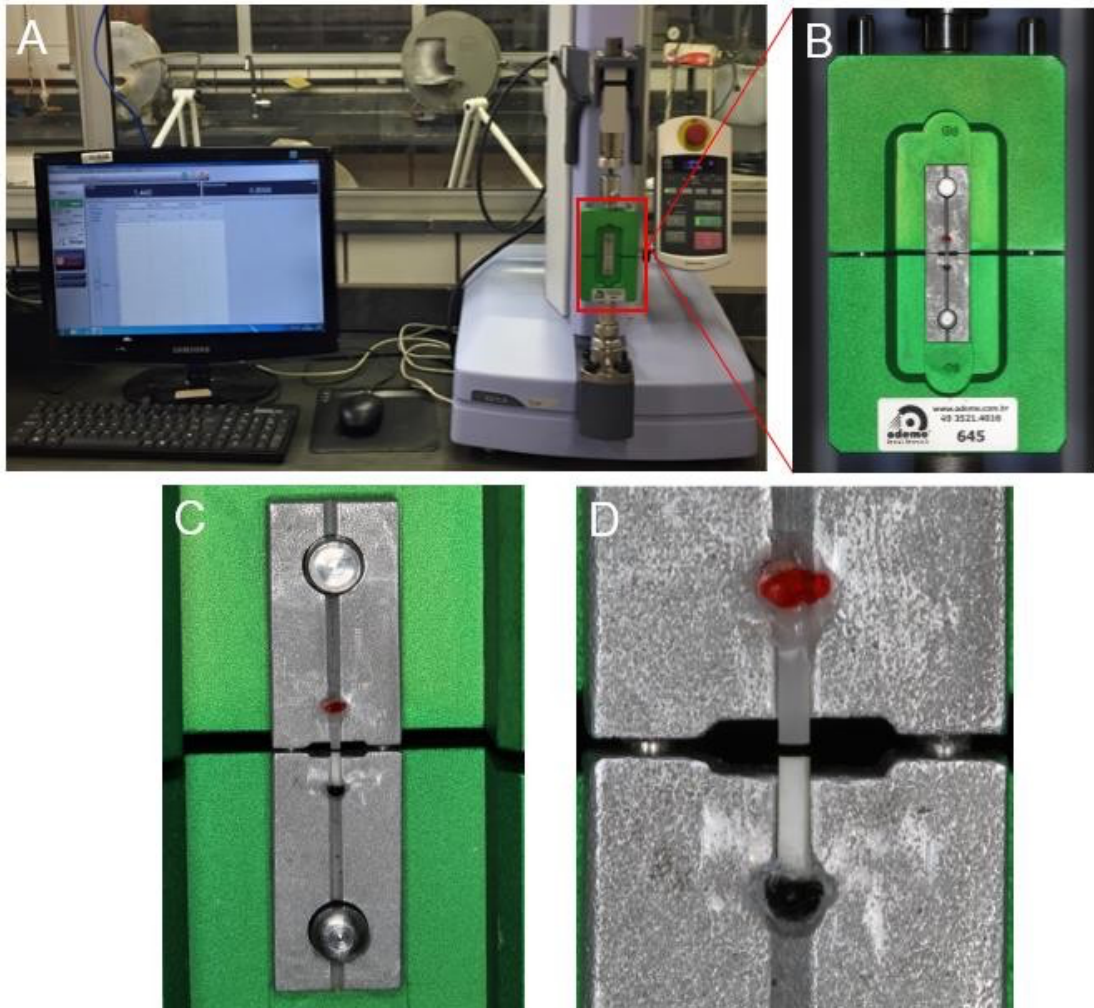
Figura 6 – Preparo dos espécimes para o teste de microtração



Legenda: (A) Espécimes para teste de microtração com as extremidades de resina composta e de dentina identificadas. (B) Mensuração da largura e espessura do palito. (C) Mensuração registrada em aproximadamente 1,0mm. (D) Palitos montados no dispositivo de Geraldeli.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Figura 7 – Ensaio de microtração executado na máquina de ensaio universal (EZ – Test, Shimadzu, Japan)



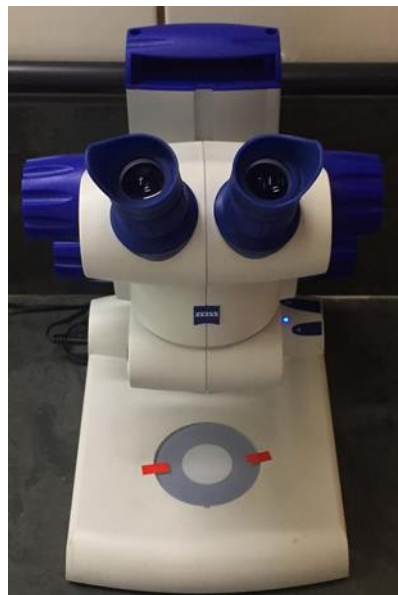
Legenda: (A) Máquina de Ensaio Universal (EZ –Test, Shimadzu, Japan) (B) Espécime montado no dispositivo de Geraldeli que foi adaptado ao acessório específico para teste de microtração. (C) Espécime fraturado após teste de microtração. (D) Visão aproximada do espécime fraturado.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

5.8 Análise do modo de fratura utilizando microscópio óptico

Após os espécimes serem submetidos ao ensaio de microtração, a interface fraturada foi analisada à luz do microscópio óptico Stemi DV4 (Zeiss, Oberkochen, Alemanha), por dois profissionais diferentes daquele que executou o teste de microtração, com aumento de 32X (FIGURA 8), e o modo de fratura classificado em: adesivo (A); misto (M); coesivo na resina (CC) ou coesivo na dentina (CD). A porcentagem de padrão de falha foi calculada de acordo com a frequência observada em cada grupo experimental.

Figura 8 – Microscópio óptico Stemi DV4 (Zeiss)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

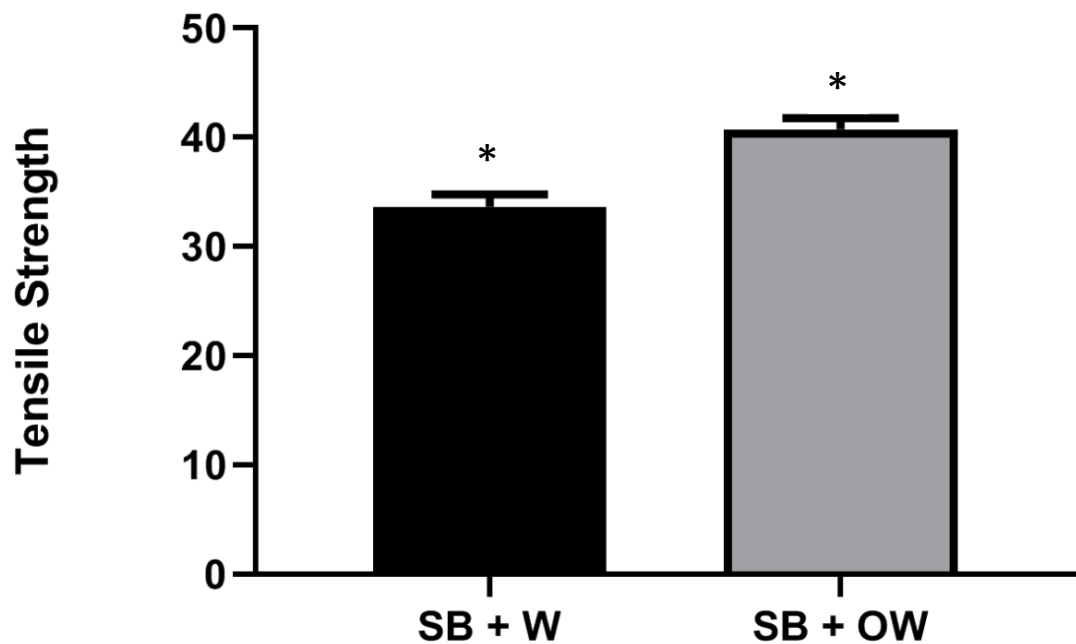
5.9 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados, com o objetivo de verificar possíveis diferenças entre os grupos, foi empregada análise de variância (ANOVA) ($p < 0,05$). As comparações individuais foram realizadas com teste de diferença significativa de Tukey (HSD) ($p < 0,05$). Foi usado o software GraphPad Prism 7 (La Jolla, Califórnia, EUA).

6 RESULTADOS

Verificou-se que houve diferenças estatísticas entre os grupos 1 (água destilada) e 2 (água ozonizada) em relação aos valores de microtração. O gráfico 1 expõem as médias do teste de microtração dos dois grupos. Todos os testes foram aplicados com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Gráfico 1 – Média da resistência à tração (MPa) dos dois grupos experimentais

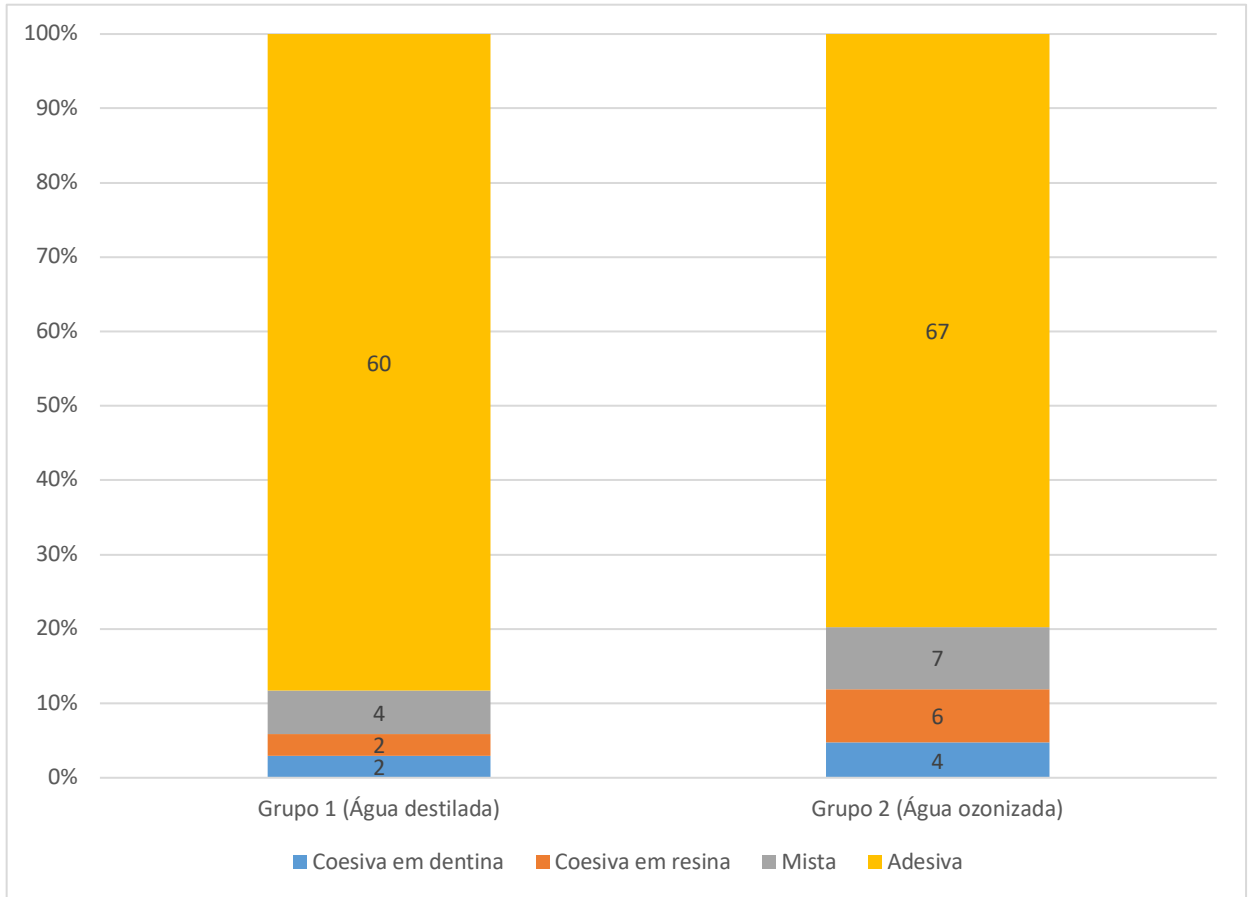


(*) Símbolos iguais indicam médias estatisticamente diferentes (ANOVA e Teste de Tukey; $p < 0,05$)

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Todos os espécimes submetidos ao teste de microtração foram analisados ao microscópio óptico e classificados quanto ao modo de fratura. O modo de falha predominante foi a adesiva. Os modos de fratura observados em cada grupo estão apresentados no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Número e porcentagem de espécimes (%) de acordo com o modo de fratura dos dois grupos experimentais



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

7 DISCUSSÃO

O sucesso do procedimento restaurador depende principalmente da remoção completa da estrutura infectada e da obtenção de um selamento marginal para evitar a microinfiltração. Apenas a limpeza mecânica da cavidade normalmente não é o suficiente para eliminação total dos microorganismos, que permanecem na cavidade após a remoção física da cárie, sendo, portanto, indicada a utilização de agentes antimicrobianos. A principal motivação para o desenvolvimento deste estudo foi verificar o efeito da aplicação da água ozonizada na resistência de união à dentina, permitindo ao clínico uma nova alternativa para desinfecção cavitária previamente a confecção de restaurações adesivas.

Os ensaios de microtração permitem a análise da união entre superfícies em áreas reduzidas e foram desenvolvidos inicialmente por Sano *et al.* (1994). No presente estudo elegemos esse teste para nossas análises, pois ele nos possibilita a utilização de um número reduzido de dentes, já que múltiplos espécimes podem ser obtidos a partir de um único dente, o que também possibilita uma boa padronização do desenho do estudo. Além de fornecer uma análise quantitativa sobre a resistência adesiva dos materiais testados até o momento de falha, ele permite, em conjunto com técnicas de microscopia, a identificação e qualificação dos tipos de fratura, na interface dos espécimes dentários e materiais empregados.

Os resultados demonstraram que houve diferença estatística significativa entre os grupos 1 (irrigados com água destilada) e 2 (irrigados com água ozonizada), sendo esses resultados superiores para o grupo 2. Esses achados nos permitem rejeitar totalmente a hipótese nula na qual a aplicação de água ozonizada previamente ao protocolo adesivo não influenciaria na resistência à microtração. Esses resultados são corroborados pelos encontrados por Ibraheem e Habeeb (2008) e Oznurhan *et al.* (2014) que observaram aumento da resistência à microtração à dentina após utilização da água ozonizada. No que se diz respeito ao padrão das falhas observadas, Ibraheem e Habeeb (2008) observaram que o grupo tratado com ozônio apresentou mais falhas coesivas e mistas do que os outros grupos testados, o que foi demonstrado também em nosso estudo, apesar de termos observado um predomínio de falhas adesivas assim como no grupo irrigado com água destilada. Em contrapartida, Abdelaziz e Attia (2007), Rodrigues *et al.* (2011) e Dalkilic *et al.* (2012)

verificaram valores inferiores de resistência de união dos espécimes tratados com ozônio em relação aos espécimes tratados com outros agentes desinfetantes e ao grupo controle. No entanto, todos os três autores testaram o gás ozonizado e não a água ozonizada, como no presente estudo. Já Garcia *et al.* (2012) e Ercan *et al.* (2015) observaram que a aplicação do gás ozonizado representa uma alternativa viável para desinfecção cavitária, uma vez que não influenciou na resistência de união à dentina. Quanto ao efeito do ozônio no esmalte dentário, Pires *et al.* (2013) e Alkan *et al.* (2017) concluíram que o gás ozonizado aplicado previamente ao procedimento adesivo não teve impacto negativo na resistência de união de bráquetes ortodônticos.

Não há evidências suficientes sobre o efeito da água ozonizada na resistência de união à dentina. No presente estudo, os resultados com água ozonizada foram significativamente maiores do que o grupo controle. A razão desse resultado pode estar relacionada com o efeito oxidativo do ozônio, que oxida compostos orgânicos e abre os túbulos dentinários, como demonstrado por Holmes e Daley (2003). Portanto, com uma melhor remoção de compostos orgânicos e maior abertura dos túbulos dentinários, teríamos uma melhor e maior infiltração do sistema adesivo.

Apesar das limitações desse estudo e de termos avaliado apenas um sistema adesivo de dois passos (Single Bond 2), podemos inferir que a água ozonizada pode ser utilizada como agente de irrigação de cavidade, antes e após o condicionamento ácido, previamente à utilização de sistemas adesivos convencionais e à confecção de restaurações em resina composta. A aplicação do ozônio incorporado na água, em nosso trabalho melhorou a resistência adesiva do Single Bond 2 testado à dentina de dentes humanos. Esses achados são importantes uma vez que agentes oxidantes podem interferir negativamente nos procedimentos adesivos (CADENARO *et al.*, 2006; SPYRIDES *et al.*, 2000). Sendo o ozônio um agente com diversas propriedades de interesse para odontologia, nossos achados, confirmados por alguns autores já anteriormente referenciados, nos abre um vasto horizonte para novas pesquisas correlatas, uma vez que a literatura de interesse se apresenta bastante escassa.

8 CONCLUSÃO

De acordo com o objetivo inicial, nas condições em que foi desenvolvido este experimento e após análise estatística dos resultados obtidos, podemos elaborar a seguinte conclusão:

- A aplicação da água ozonizada antes do procedimento adesivo aumentou a resistência de união da resina à dentina humana.

Levando em consideração a revisão de literatura, as limitações deste estudo *in vitro* e os resultados da presente pesquisa, as implicações da utilização da água ozonizada sobre o substrato dentário antes do procedimento adesivo ainda não estão bem esclarecidas. Sendo assim, outras pesquisas devem ser desenvolvidas com o objetivo de avaliar estas variáveis.

REFERÊNCIAS

ABDELAZIZ, K. M; ATTIA, A. Bonding of contemporary adhesives to ozone treated dentin surfaces. **Revista de Clínica e Pesquisa Odontológica**, v.3 n.3, p.165-173, 2007.

ALKAN, O. *et al.* Effects of Ozone and Prophylactic Antimicrobial Applications on Shear Bond Strength of Orthodontic Brackets. **Turkish Journal of Orthodontics**, v. 30, n. 4, p. 101-105, 2017.

ARIAS, V. G. Determinação do número de dentes, palitos e influência da localização dos palitos na dentina para o ensaio de microtração. 2007. 96 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2007.

AZARPAZHOOH, A; LIMEBACK, H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. **Journal of Dentistry**, v. 36, n. 2, p. 104-106, 2008.

BAYSAN, A. *et al.* The use of ozone for the management of primary root carious lesions. Tissue Preservation and Caries Treatment. **Quintessence Book** 2001, Chapter 3, 49-67.

BITTER, K. *et al.* Bond strength of fiber posts after the application of erbium:yttrium-aluminum-garnet laser treatment and gaseous ozone to the root canal. **Journal of Endodontics**, v.34, n.3, p. 306-309, 2008.

BROADWATER, W. T; HOEHN, R. C; KING, P. H. Sensitivity of Three Selected Bacterial Species to Ozone. **Applied Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 391-393, 1973.

CADENARO, M. *et al.* Influence of whitening on the degree of conversion of dental adhesives on dentin. **European Journal of Oral Sciences**, v. 114, n. 3, p. 257-262, 2006.

CELIBERTI, P; PAZERA, P; LUSSI, A. The impact of ozone treatment on enamel physical properties. **American Journal Of Dentistry**, v. 19, n. 1, p. 67-72, 2006.

DALKILIC, E. E. *et al.* Effect of different disinfectant methods on the initial microtensile bond strength of a self-etch adhesive to dentin. **Lasers in Medical Science**, v. 27, n. 4, p. 819-825, 2012.

ERCAN, E; ÇOLAK, H. **Can Dentin Surfaces Be Bonded Safely With Ozone and Boric Acid?** The Journal of the International Ozone Association, v. 37, n. 6, p. 556-562, 2015.

GARCIA, J. E. *et al.* Influence of ozone gas and ozonated water application to dentin and bonded interfaces on resin-dentin bond strength. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v. 14, n. 4, p. 363-370, 2012.

HODSON, N. *et al.* Using ozone to treat dental caries. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 19, p. 303-05, 2007.

HOLMES, J; DALEY, T. Sensitivity and cracked teeth: Treatment with ozone. **Dental Practice**, v. 6, p. 88-91, 2003.

IBRAHEEM, A & HABEEB, H. M. Effect of ozonated water on dentin bond strength. **Journal of Baghdad College of Dentistry**, v. 20, n. 2, p. 33-37, 2008.

KAPTAN, A, ÖZTAŞ, N. Effects of chlorhexidine and gaseous ozone on microleakage and on the bond strength of dentin bonding agents with compomer restoration on primary teeth. **Journal of Dental Sciences**, v. 10, n. 1, p. 46-54, 2015.

LU, S. *et al.* A new fixation method for stick-shaped specimens in microtensile tests: laboratory tests and FEA. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v. 15, n. 6, p. 511-518, 2013.

MAGNI E. *et al.* Effect of ozone gas application on the mechanical properties of dental adhesives bonded to dentin. **Dental Materials**, v. 24, n. 10, p. 1428-1434. 2008.

MARTIN, F. E. *et al.* Quantitative Microbiological Study of Human Carious Dentine by Culture and Real-Time PCR: Association of Anaerobes with Histopathological Changes in Chronic Pulpitis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 5, p.1698-1704.

MULLER, P; GUGGENHEIN, B; SCHIMIDLIN, P. R. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. **European Journal of Oral Sciences**, v. 115, n. 1, p.77-80, 2007.

MUÑOZ, M. A. *et al.* Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. **Journal of Dentistry**, v. 41, n. 5, p. 404-411, 2013.

NAGAYOSHI, M. *et al.* Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 19, n. 4 p. 240–246, 2004.

NOGALES, C. G. *et al.* Ozone therapy in medicine and dentistry. **Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 9, n. 4, p. 75-84, 2008.

OZNURHAN, F. *et al.* Effects of different cavity-disinfectants and potassium titanyl phosphate laser on microtensile bond strength to primary dentin. **Nigerian Journal of Clinical Practice**, v. 18, n. 3, p. 400-404, 2014.

Rodrigues, P. C. F; Souza, J. B; Soares, C. J; Lopes, L. G; Estrela, C. Effect of Ozone Application on the Resindentin Microtensile Bond Strength. **Operative Dentistry**, v.36, n. 5, p.537-544, 2011

PERDIGAO, J. *et al.* *In vivo* influence of residual moisture on microtensile bond strengths of one-bottle adhesives. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 14, n. 1, p. 31-38, 2002.

PIRES, P. T. *et al.* Effect of ozone gas on the shear bond strength to enamel. **Journal of Applied Oral Science**, v. 21, n. 2, p.177-182, 2013.

POLYDOROU, O. *et al.* Antibacterial effect of an ozone device and its comparison with two dentin-bonding systems. **European Journal of Oral Sciences**, v. 114, n. 4, p. 349– 353, 2006.

ROBERSON, T. M, HEYMANN, H. O, SWIFT, E. J. Sturdevant's art and science in operative dentistry, 4th edn. St. Louis: Mosby, 2002.

SANO, H. *et al.* Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength: evaluation of a micro-tensile bond test. **Dental Materials**, v. 10, n. 4, p. 236-240, 1994.

SCHMIDLIN, P. R, ZIIMMERMANN, J; BINDL, A. Effect of ozone on enamel and dentin bond strength. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v. 7, n. 1, p. 29-32, 2005.

SPYRIDES, G. M. *et al.* Effect of whitening agents on dentin bonding. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 12, n. 5, p. 264-270, 2000.

STUBINGER, S. *et al.* The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: A review. **Quintessence International**, v. 37, n. 5, p. 353-359, 2006.