

## EVALUACIÓN "IN VITRO" DE LA ASOCIACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL OZONO UNIDO A VEHÍCULOS Y MEDICAMENTOS DE ACCIÓN PROLONGADA

Recibido para publicación: 31/07/2006

Aceptado para publicación: 08/05/2007

- **Hernán Freddy Ortega Cruz**, Profesor titular de la Escuela Profesional de Odontología de la Facultad de Ciencias de la salud de la Universidad Nacional del Altiplano Puno- Perú, maestrando en Endodoncia de la Facultad de Odontología, Universidad Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, Brasil.
- **Idomeo Bonetti Filho**, Profesor titular de la Facultad de Odontología, Universidad Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, Brasil,
- **Brenda Paola López Ampuero**, alumna de la especialidad de Prótesis Dentaria de la Facultad de Odontología, Universidad Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, Brasil

### RESUMEN

Se realizó una evaluación "in vitro" de la capacidad de asociación del efecto antimicrobiano del ozono con diversos vehículos (aceite de oliva, aceite de girasol y propilenglicol) y medicamentos de acción prolongada (propilenglicol con hidróxido de calcio, calen y calen con paramonoclorofenol alcanforado) con la intención de encontrar un medicamento de acción prolongada de gran poder germicida y de baja o ninguna toxicidad para los tejidos parodontarios.

Para tal fin, se empleó el medio de cultivo Agar Muller Hinton (Bacto®) Laboratorios DIFCO Ltda. contenido en 6 placas de petri. Como bacterias indicadoras se emplearon cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*. Por cada medio previamente sembrado, se realizaron nueve pozos que permitieron alojar a su vez los diversos materiales empleados, los cuales fueron sometidos al proceso de ozonización por burbujeo. Posteriormente fueron evaluados mediante la técnica de sensibilidad antimicrobiana (difusión en agar y medición del halo de inhibición en cultura de bacterias) en cinco periodos de tiempo: 1, 7, 15, 30 y 180 días.

Dadas las diferencias existentes entre los diámetros de los distintos halos de difusión formados en el agar por parte de los vehículos en los diferentes vehículos empleados, no se consideró necesario el análisis estadístico y se observó que el propilenglicol ozonizado formó el mayor halo de inhibición en ambas bacterias. **Conclusiones.** De acuerdo con la metodología empleada y los resultados obtenidos podemos afirmar que entre las sustancias evaluadas, el propilenglicol mostró la mejor capacidad de asociación al ozono, seguida del propilenglicol con hidróxido de calcio, aceite de girasol y aceite de oliva respectivamente, manteniendo su acción antimicrobiana por todo el tiempo de evaluación. Calen y Calen PMCC no se mostraron con una acción sinérgica tan efectiva, por lo que podemos concluir que estas pastas no tienen capacidad de asociación con el ozono o ésta no fue suficiente para acrecentar su acción antimicrobiana.

**Palabras - Clave:** ozono, desinfección, cavidad de la pulpa dentaria, microbiología.

### SUMMARY

It was made an in vitro evaluation to test the capability of association of the antimicrobial effect of the ozone with severe vehicles (olive oil, sunflower oil and propylene glycol) and delayed dressings (propylene glycol with calcium hydroxide, calen and calen with alcanphored paramonoclorofenol ) with the intention of finding a new delayed dressing with great germicide power and of low or non toxicity to the parodontal tissues.

For this purpose, there were used several culture cultivations in 6 plaques of Petri. As indicative bacterias were studied the *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis*. In each plaque previously sowed, nine holes received the diverse materials and were submitted to ozonization by a bubble process. After that, they were evaluated by the antimicrobial sensitivity technique (agar diffusion and measurement of the inhibition halo) in five periods of time: 1, 7, 15, 30 and 180 days after being prepared.

No statistical analysis has been made as the difference of diffusion at the agar with the different vehicles was significant enough and it was observed that the ozonized propylene glycol formed the biggest

inhibitor halo in both bacterias. **Conclusions:** According to the used methodology and with the obtained results we can affirm that between the evaluated substances, the propylene glycol showed the best capability of association with the ozone, followed by the propylene glycol with calcium hydroxide, sunflower oil and olive oil respectively, maintaining its antimicrobial action by all the time of evaluation.

Calen and Calen PMCC did not show an effective synergic action, and so we conclude that these pastes do not have a capability of association with the ozone or this was not sufficient enough to increase their antimicrobial action.

**Key- words:** ozone, disinfection, pulpar cavity, microbiology.

## INTRODUCCIÓN

La instrumentación biomecánica es considerada una de las fases más importantes en el combate a los microorganismos del sistema de conductos radiculares, siendo que para algunos autores, el tratamiento de conducto radicular es realizado en una única sesión convirtiéndose en un procedimiento de rutina. Siguiendo ese razonamiento Landers y Calhoun(1) y Oliet,(2) preconizaron el tratamiento endodóntico en una única sesión, basado en la instrumentación biomecánica, coadyuvado por soluciones irrigadoras bactericidas y subsecuente obturación como el camino para el éxito de dicho tratamiento endodóntico. Hipotéticamente, de acuerdo con estos autores, las bacterias sobrevivientes en el momento de la obturación, estarían predestinadas a morir, llevando al éxito del tratamiento endodóntico debido a que el material obturador las confinaria al interior de los túbulos dentinarios, imposibilitando que alcancen los tejidos periapicales(3) . Sin embargo, los trabajos de Silveira(4); Soares (5) y Bonetti Filho(6) demostraron que las bacterias localizadas en el interior de los túbulos dentinarios a nivel del tercio apical del conducto radicular, en casos de dientes con lesión periapical crónica, logran alcanzar los tejidos periapicales a través de los túbulos dentinarios y cementoblastos, siendo el cemento apical siendo el cemento apical de naturaleza celular el que permita la difusión bacteriana. En los casos de retratamiento fueron encontradas bacterias en los conductos radiculares, en diversas cantidades y tipos diferentes.

Considerando que las bacterias y sus productos no son frecuentemente alcanzados por la acción de la instrumentación biomecánica; específicamente aquellas localizadas en los túbulos dentinarios, ramificaciones apicales, áreas de reabsorción y las que forman parte del biofilme apical, el uso de un medicamento de acción prolongada antibacteriano es recomendado para la completa desinfección del sistema de conductos radiculares de dientes con lesión periapical crónica.(7,8,6)

Así, el control de la infección antes de la obturación debe ser obligatorio, realizando el tratamiento endodóntico por lo menos en dos sesiones, colocando en el conducto radicular un medicamento de acción prolongada con la finalidad de combatir no solamente la infección remanente en el conducto radicular, sino principalmente, aquella situada profunda y difusamente en la estructura dental interna, áreas inaccesibles a la instrumentación biomecánica y a los antibióticos administrados sistémicamente.(9,10,11)

Frente a este hecho, los investigadores están en búsqueda de un producto que se difunda por todo el sistema de conductos radiculares, capaz de actuar a distancia, destruyendo los microorganismos aerobios y anaerobios o dejando el medio impropio para su desarrollo y que tenga propiedades de máxima biocompatibilidad.

Aunque el hidróxido de calcio posee una potente acción antibacteriana, este material no es efectivo sobre todas las formas de bacterias presentes en el conducto radicular.(12) Él es efectivo sobre los microorganismos anaerobios estrictos (13,14,15,16) y poco eficaz contra aerobios facultativos (*E. faecalis*).(17,18,19)

Todavía existe un gran interés científico permanente en buscar sustancias más eficaces, con acción bactericida más potente, rápida y de mejor comportamiento biológico con los tejidos perirradiculares.

Siqueira Jr. et al.(20) evaluaron la actividad antibacteriana de un nuevo medicamento: el aceite de girasol ozonizado, frente al hidróxido de calcio asociado al paramonoclorofenol alcanforado (PMCC)/glicerina o al tricresol formalina/glicerina contra bacterias comúnmente involucradas en la etiopatogenia de las enfermedades perirradiculares. La metodología utilizada fue el test de difusión en agar. La mayor eficacia de actividad antibacteriana fue observada con el aceite ozonizado.

El ozono (O<sub>3</sub>), descubierto por Schonbein en 1840, es un gas que en la actualidad está ganando gran preferencia de utilización tanto en la industria como en el campo de la medicina y odontología por su poder bactericida, fungicida, virucida y en otras múltiples utilidades. El ozono es una forma alotrópica del oxígeno (O<sub>2</sub>), muy inestable, formada por la adición de un tercer átomo a la molécula de oxígeno, que la torna mucho más activa desde del punto de vista bio-oxidativo en su acción biológica. En la naturaleza, el ozono es el gas más importante de la estratosfera. Puede ser generado espontáneamente en tempestades con tormentas eléctricas, y también por acción de rayos ultravioleta que al reaccionar con el oxígeno, forman el ozono. La aplicación tópica del ozono como cicatrizante de heridas sépticas se remonta a la Primera Guerra Mundial. El conocimiento de la aplicación médica del ozono se difundió por Europa, como en Suiza, Austria, Italia, España y ganó gran adherencia en los países del este europeo, especialmente en Rusia. Por el estrecho contacto tecnológico con Rusia, Cuba pasó a desarrollar

también su experiencia con el uso del ozono, y hoy tiene la mayor experiencia en sistema público de salud y el mayor centro de investigación básica y ensayos biológicos de ozono. Aunque el ozono inhalado es agresivo para los alvéolos pulmonares, otras formas de administración han demostrado tener un alto valor terapéutico a lo largo de más de un siglo de utilización, por sus múltiples aplicaciones en las diferentes ramas de la medicina y la principal ventaja, que es la única medicación que tiene pocos o ningún efecto colateral, cuando es usado en dosis terapéuticas y sus efectos colaterales son beneficiosos para la salud. A diferencia de otros productos farmacéuticos, el ozono necesita ser preparado próximo al local de su utilización por su límite de estabilidad, ya que se transforma nuevamente en oxígeno cuando es usado por vía parenteral.

Mezclado con agua y aceite es posible su empleo por vía tópica por periodos más prolongados. Las principales vías de administración son: auto-hemoterapia mayor, auto-hemoterapia menor, inyección intra-dérmica, inyección intramuscular, inyección intra-articular, inyección peri-articular, inyección intradiscal o tópica agua, aceite o cremas ozonizadas. (21,22)

La aplicación del Ozono en el área de Odontología, es conocida internacionalmente. Se ha empleado en el tratamiento de caries dental con éxito, además de sus aplicaciones como antiséptico para el tratamiento de la Periodontitis, Estomatitis, Alveolitis, así como en cirugía bucal.

En Endodoncia, también fueron hechos trabajos que demuestran su efectividad en la desinfección de los conductos radiculares, utilizado el aceite ozonizado como medicamento de acción prolongada. (21,22,23,24).

En la tentativa de elevarse el porcentaje de éxito endodóntico de dientes con lesión periapical crónica y conscientes de la necesidad del control de la infección y del respeto a los principios biológicos, en el presente trabajo de investigación se hizo una evaluación "in vitro" de la asociación del efecto antimicrobiano del ozono a los vehículos, y medicamentos de acción prolongada a base de hidróxido de calcio en periodos de tiempo post-ozonización, mediante la técnica de sensibilidad microbiana a antisépticos (difusión en agar y medición del halo de inhibición) en cultivo de bacterias.

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la asociación del efecto antimicrobiano del ozono con vehículos que puedan ser utilizados como medicamentos de acción prolongada o con productos que en la actualidad son usados como tal en diferentes periodos de almacenaje, con la intención de encontrar un medicamento de acción prolongada de gran poder germicida y de baja o ninguna toxicidad para los tejidos paradentarios. Es importante destacar que aún deben realizarse más estudios para esclarecer la acción de dichos vehículos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención de las muestras

Las muestras fueron obtenidas del comercio y luego sometidas a un proceso de ozonización, utilizando como sustancias de control negativo el propilenoglicol, aceite de oliva y aceite de girasol.

- Hidróxido de calcio "Calen" (SS White Artículos Dentários Ltda., Industria Brasileira): pasta lista para uso como medicamento de acción prolongada. Composición: hidróxido de calcio 2,5 g; óxido de zinc 1,0 g; colofonia 0,05 g y polietilenglicol 400 1,75 ml.
- Hidróxido de calcio + paramonoclorofenol alcanforado (PMCC) "Calen -PMCC" (SS White Artículos Dentários Ltda., Industria Brasileira): pasta lista para su uso como medicamento de acción prolongada. Composición: hidróxido de calcio 2,5 g; óxido de zinc 1,0 g; colofonia 0,05 g; polietilenglicol 400 1,75 ml y paramonoclorofenol alcanforado (2,5:7,5) 0,15 ml;
- Aceite de oliva (Extra Virgen "Andaluzia", Euro Comercio Ltda. Industria Brasileira);
- Aceite de girasol ("Siol" siol alimentos Ltda. Industria Brasileira);
- Propilenoglicol (Industria Brasileira).

### Preparación de las Muestras.

#### Proceso de ozonización

Los materiales a ser ozonizados fueron colocados en tubos de ensayo con 5 ml. de cada producto y sometidos al burbujeo de ozono por 60 minutos, obtenido de un generador de ozono marca "TURBOZONO" (modelo ME500) con potencia de 13 mg/l. Los productos ozonizados fueron almacenados en refrigeración a 0,5 °C aproximadamente, en tubos de plástico tipo Cárpule esterilizados, hasta el día de su uso.

Para evaluar el efecto antimicrobiano de los materiales evaluados fueron utilizados como microorganismos indicadores las cepas de bacterias aerobias *P. aeruginosa* (ATCC: 10541) y anaerobias facultativas *E. faecalis* (ATCC: 10541), de cepas controles internacionales, existentes en el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la

Universidad Estadual Paulista, "Julio de Mesquita Filho" UNESP - Araraquara- Sao Paulo-Brasil, las cuales fueron cultivadas en Agar Müller-Hinton (Bacto®) Laboratorios DIFCO Ltda., que es un medio de cultivo común empleado para el crecimiento de las dos bacterias indicadoras usadas.

Su composición es: Infusión de carne 300,0 g/l; Casamino ácidos 17,5 g/l; Almidón 1,5 g/l; Bacto agar 17,0g/l; Ph  $7,3 \pm 0,2$ ; T° 25°C. **Preparación:** Fueron colocados en un balón de vidrio 38 g del producto deshidratado Muller Hinton (MHB), se agregaron 1.000,0 ml de agua destilada, autoclavándose por 20 minutos a una temperatura de 120°C. Después de la esterilización, fue distribuido el producto asépticamente, con auxilio de pipetas previamente autoclavadas, en placas de Petri de 20 x 100 mm esterilizadas, en la porción de 20 ml para cada placa.

Las bacterias padrón fueron sometidas a una turbidez de escala MAC Farland, 102 en medio de cultura TSB (Tripticaseina de Soya Bacto) y luego sembradas en 3 placas de Petri cada una, haciendo un total de 6 placas cultivadas. La suspensión que contenía a las bacterias fue distribuida homogéneamente sobre toda la superficie del medio de cultivo contenido en las placas de Petri, manteniendo las condiciones adecuadas de asepsia durante todo el procedimiento.

En cada placa fueron realizados nueve pozos de difusión utilizando un dispositivo cilíndrico( en forma de un bolígrafo) que removía una pequeña porción de cultivo dejando una depresión para alojar posteriormente los materiales evaluados, para lo que se utilizó una jeringa tipo Cárpule, cubriendo los pozos hasta el nivel del medio de cultura. Los materiales fueron evaluados en cinco periodos de tiempo después de haber sido preparados, 1, 7, 15, 30 y 180 días.

Para medir el halo de inhibición, fue utilizada una regla milimetrada, tomándose en cuenta el menor diámetro del halo formado alrededor de cada sustancia evaluada.

#### 4.5.2 Evaluación estadística

El análisis estadístico no se realizó debido a las diferencias existentes entre los diámetros de los distintos halos de difusión formados en el agar por parte de los vehículos empleados en la presente investigación. La valorización de actividad de cada material fue realizada considerando la presencia o ausencia de la zona de inhibición, en concordancia con trabajos realizados por Sipert et al.(25) , Leonardo et al.(7) y Al-Khatib et al.(26)

## RESULTADOS

Tabla 1 - Media de la medición de los halos de inhibición, en milímetros, producidos por los materiales evaluados en las tres placas sembradas con *P. aeruginosa*, en cada período de tiempo después de la ozonización. (R: resistente)

<i>P. aeruginosa</i>						
N°	Materiales	1 D	7 D	15 D	30 D	180 D
1	Aceite de oliva ozonizado	R	R	R	R	R
2	Aceite de girasol ozonizado	R	R	R	R	R
3	Calen PMCC	22,0	21,3	20,7	21,7	21,3
4	Calen PMCC ozonizado	20,7	19,3	20,3	20,7	20,3
5	Calen ozonizado	11,3	12,0	11,3	11,3	11,3
6	Calen	11,3	12,0	11,0	10,7	10,3
7	Propilenoglicol ozonizado	10,3	13,0	12,3	13,0	13,0
8	Propilenoglicol ozonizado+ Ca(OH) <sub>2</sub>	9,3	11,0	10,7	10,7	10,3
9	Propilenoglicol	R	R	R	R	R
10	Aceite de girasol	R	R	R	R	R
11	Aceite de oliva	R	R	R	R	R

Fuente: Propia

Tabla 2 - Media de los halos de inhibición, en milímetros, producidos por los materiales evaluados en las tres placas sembradas con *E. faecalis*, en cada período de tiempo después de la ozonización. (R: resistente)

<i>E. faecalis</i>						
N°	Materiales	1 D	7 D	15 D	30 D	180 D
1	Aceite de oliva ozonizado	8,7	8,3	8,7	6	6
2	Aceite de girasol ozonizado	10,7	10,3	10,7	8,3	8
3	Calen PMCC	11,3	11,3	11,3	10	10
4	Calen PMCC ozonizado	9,3	9	9,3	9,7	9,7
5	Calen ozonizado	6	6	6	6	6
6	Calen	6	6	6	6	6
7	Propilenoglicol ozonizado	11,3	11,3	11	9,3	9,7
8	Propilenoglicol ozonizado+ Ca(OH) <sub>2</sub>	8,7	8,7	7,3	7,7	7,7
9	Propilenoglicol	R	R	R	R	R
10	Aceite de girasol	R	R	R	R	R
11	Aceite de oliva	R	R	R	R	R

Fuente: Propia

En base a ambas tablas se determinó el comportamiento de los productos ozonizados que tuvieron formación de halo de inhibición donde se puede observar que: el propilenoglicol ozonizado tuvo el mayor halo de inhibición en ambas bacterias, y aún mayor sobre *P. aeruginosa* (halos mayores: PA.13mm y EF.11.3mm), seguida de propilenoglicol ozonizado más hidróxido de calcio que también formó halo de inhibición en ambas bacterias (halos mayores: PA.11mm y EF.8,7mm).

El aceite de girasol formó un halo de inhibición mayor sobre *E. faecalis* (halo mayor: 10,7mm), que el propilenoglicol ozonizado con hidróxido de calcio; pero, sobre *P. aeruginosa* no tuvo ninguna actividad. De la misma forma el aceite de oliva tuvo actividad frente a *E. faecalis*, (halo mayor: 8,7mm), pero en menor cantidad que el aceite de girasol y en igual potencia que el propilenoglicol ozonizado con hidróxido de calcio. Frente a *P. aeruginosa* el aceite de oliva no tuvo ninguna actividad.

## DISCUSION

Se sabe que las bacterias son responsables por los procesos patógenos de la pulpa dental, y algunos autores ya realizaron evaluaciones del efecto bactericida de los más variados antisépticos, en la tentativa de encontrar una sustancia capaz de eliminarlas de los conductos radiculares infectados y así no causar daño a los tejidos adyacentes. Es por ello que implementaron diferentes técnicas de evaluación tanto *in vivo* como *in vitro*, Haapasalo y Orstavik, (27), desarrollaron un modelo *in vitro* utilizando incisivos bovinos recientemente extraídos. En 1999, Estrella et al. (28) intentando aproximarse más a la realidad, evaluaron la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio en dientes humanos extraídos, y Bonetti (6) realizó una evaluación radiográfica, histopatológica e histomicrobiológica, *in vivo*, en dientes de canes. Sin embargo, estas técnicas son ideales para sustancias de conocida efectividad antimicrobiana. En nuestro trabajo de investigación evaluamos la acción antimicrobiana de diversos medicamentos, siguiendo la técnica de evaluación utilizada por Siqueira et al. (20) para encontrar un antibiótico ideal frente a una bacteria desconocida o resistente frente a algunos antibióticos. Se utilizó el test de sensibilidad antimicrobiana que mide la difusión en un medio de cultivo.

Es bien conocido el hecho de que en la infección de la pulpa en sus estadios iniciales se encuentran microorganismos predominantemente aerobios, y cuando esta infección avanza apicalmente se vuelve mixta, pudiéndose encontrar bacterias tanto aerobias como anaerobias facultativas, en tanto que en el tercio apical los microorganismos predominantemente son anaerobios estrictos. (7,29)

Estrella et al (13), usaron cultivos puros de *P. aeruginosa*, bacteria aerobia de difícil eliminación y dos bacterias anaerobias facultativas, *E. faecalis* y *Escherichia coli*, a fin de analizar el efecto antimicrobiano de las pastas de hidróxido de calcio, una asociada al suero fisiológico y la otra asociada al paramonoclorofenol alcanforado. Estos investigadores demostraron que las dos pastas de hidróxido de calcio fueron eficaces sobre las bacterias analizadas, proporcionando diferentes halos de inhibición de crecimiento bacteriano.

En cuanto a las bacterias implicadas en este estudio, *E. faecalis* es un coco Gram positivo aerobio facultativo, también ha sido separado con relativa frecuencia de conductos infectados, siendo considerado uno de los pocos microorganismos facultativos asociados con lesiones perirradiculares persistentes. (7,29,5) *Enterococcus SP* puede presentar resistencia a una gama variada

de agentes antimicrobianos y así, causar infecciones de difícil tratamiento.(30,31) *A. P. aeruginosa* es una bacteria aerobia considerada de difícil eliminación.(32)

Dadas esas premisas, consideramos interesante evaluar las propiedades antimicrobianas de estos materiales frente a una cultura bacteriana aerobia y otra anaerobia facultativa. Estas referencias y tras una coordinación con el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Estadual Paulista, "Julio de Mesquita Filho" UNESP - Araraquara-Sao Paulo-Brasil fueron utilizadas para nuestra pesquisa, como bacterias indicadores la *P. aeruginosa* (aerobia) y *E. faecalis* (anaerobia facultativa).

Son muchas las sustancias utilizadas en Endodoncia para combatir los microorganismos presentes en el conducto radicular, las cuales ya fueron estudiadas ampliamente por los científicos y clínicos endodontistas, intentándose encontrar la sustancia ideal para la desinfección del sistema de conductos radiculares. En el presente trabajo de investigación fueron evaluadas las sustancias, que de acuerdo con la literatura especializada, son consideradas como las más aceptadas por sus propiedades antimicrobianas y de biocompatibilidad. El hidróxido de calcio es uno de los medicamentos de acción prolongada más utilizado y estudiado por los científicos y entre las múltiples presentaciones comerciales, el más popular en nuestro medio es el "Calen", desarrollado por Leonardo et al.(33). Estudios demostraron que existen microorganismos resistentes a esta medicación, por este motivo agregó el paramonoclorofenol alcanforado (Calen PMCC) para eliminación total de estos microorganismos, un ejemplo es el *E. faecalis*, frecuentemente encontrado en retratamientos endodónticos.(33)

El objetivo de mezclar el ozono al Calen y al Calen PMCC fue aumentar el potencial antimicrobiano de estas pastas.

Los resultados de nuestro estudio revelaron que el Calen al ser mezclado con el ozono no tuvo variación ninguna sobre el halo de inhibición de la *P. aeruginosa* y tuvo un pequeño incremento sobre el *E. faecalis* a partir del 15°. día en 0,3mm, lo que hizo llegar a la conclusión que la pasta Calen aparentemente no fue capaz de incorporar el ozono. Creemos que este resultado se dio porque la consistencia de la pasta Calen, no permitió una buena mezcla e incorporación del ozono a sus componentes o ésta si hubo, no fue significativo.

Los resultados para el Calen PMCC fueron aún más desalentadores, porque la acción antimicrobiana, contrariamente a nuestro objetivo, disminuyó al ser mezclado con el ozono. Creemos que en el momento de la ozonización la pasta Calen PMCC pudo haber tenido una alteración en uno de sus componentes como la evaporación del cloro, en la cual redujo su acción antimicrobiana o puede ser que el PMCC reaccionó con el ozono pudiendo sufrir una oxidación, formando catecol o degradándose en ácido oxálico + ácido fórmico, disminuyendo así su actividad antimicrobiana.

El aceite de girasol ozonizado es también un antiséptico ampliamente desarrollado, estudiado y usado, especialmente en Cuba por el CNIC (Centro Nacional de Investigación de Cuba). Recientemente, esta siendo difundido en muchos países del mundo; en la Endodoncia fue probado *in vitro* por Siqueira Jr. et al.(20) que lo compararon con pastas de hidróxido de calcio, mostrando efectividad frente a la *E. faecalis*; *e in vivo* por Pereira(24) quien no encontró diferencia significativa tanto radiográfica como histológica, post-tratamiento con medicamento de acción prolongada a base de pastas de hidróxido de calcio con PMCC, y aceite de girasol ozonizado en dientes de perros con lesión periapical inducida con *E. faecalis*.

En cuanto al aceite de oliva ozonizado, no se tiene información específica con respecto a su elaboración; por este motivo hallamos importante evaluar el aceite de oliva extra virgen ozonizado, que por su pureza química puede ser un buen vehículo para el ozono.

Los resultados de nuestro estudio demostraron que el aceite de girasol tiene mayor afinidad por el ozono de lo que el aceite de oliva extravirgen (Gráfico 1), confirmando el estudio hecho por Contreras et al.(34), en el Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), en Cuba, donde fueron realizados estudios sobre la sustitución del aceite de oliva ozonizado por aceite de girasol.

A pesar que la eficacia antimicrobiana del aceite ozonizado está demostrada, sin embargo nosotros creemos que el ozono puede ser mezclado con vehículos viscosos de mayor poder de difusión y más fácil remoción del interior del conducto radicular. Cruz et al.(35), hicieron un estudio comparando la capacidad de difusión del agua y el propilenglicol en la dentina humana, demostrando que el propilenglicol es un vehículo de gran difusión en la dentina y que sería un óptimo vehículo para un agente antibacteriano, el cual, de acuerdo con nuestros resultados, aparentemente fue encontrado.

El propilenglicol es un líquido viscoso límpido, inodoro, incoloro, higroscópico, hidrofílico, volátil, no irritante de la piel, ampliamente utilizado por la industria farmacéutica como vehículo de un gran número de medicamentos de uso tópico, digestivo, rectal y parenteral, entre ellos productos antibacterianos.(36)

Los resultados de la presente investigación demostraron que el propilenglicol es un vehículo que tiene gran afinidad por el ozono y su actividad antimicrobiana es mantenida en el tiempo (Tablas 1 y 2), y entre los materiales evaluados, fue el que más cumplió nuestras expectativas, quedando el propilenglicol ozonizado como un curativo intrarradicular que debe ser investigado más ampliamente hasta lograr las condiciones ideales para su uso clínico, tanto en Endodoncia como en otras especialidades de la odontología y en la medicina en general.

**CONCLUSIÓN**

De acuerdo con la metodología empleada y los resultados obtenidos podemos concluir que entre las sustancias evaluadas; el propilenoglicol mostró la mejor capacidad de asociación con el ozono, seguida del propilenoglicol con hidróxido de calcio, aceite de girasol y aceite de oliva respectivamente, manteniendo su acción antimicrobiana por todo el tiempo de evaluación. El Calen y Calen PMCC no mostraron acción sinérgica con el ozono, por lo que podemos concluir que estas pastas no tienen capacidad de asociación con este gas o ésta no fue lo suficiente para acrecentar su acción antimicrobiana.

**REFERENCIAS**

1. LANDERS, R. R.; CALHOUN, R. L. One-appointment endodontic therapy: an opinion survey. *J. Endod.*, Chicago, v.6, n.10, p.799-801, Oct. 1980.
2. OLIET, S. Single-visit endodontic: a clinical study. *J. Endod.*, Chicago, v.9, n.4, p.147-52, Apr. 1983.
3. SJÖGREN, U.; FIGDOR D.; PERSSON S.; SUNDQVIST G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int. Endod. J.*, Oxford, v.30, n.5, p.297-306, Sept.1997.
4. SILVEIRA, F. F. Efeito do tempo de ação do medicamento de acción prolongada à base de hidróxido de cálcio, utilizado em canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical crônica induzida. Análise histopatológica e microbiológica. 1997. 218p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.
5. SOARES, J. A. Estudo microbiológico dos canais radiculares, histopatológico e histobacteriológico dos tecidos apicais e periapicais, em função do preparo biomecânico e de dois medicamentos de acción prolongada à base de hidróxido de cálcio, utilizados em dois períodos de avaliação, no tratamento endodôntico de dentes de cães, com reação periapical crônica induzida. 1999. 408p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.
6. BONETTI F. I. Tratamento de conducto radicular de dentes de cães com necrose pulpar e lesão periapical crônica induzida, realizado em sessão única e duas sessões, utilizando três diferentes medicamentos de acción prolongada. Avaliação radiográfica, histopatológica e histomicrobiológica. 2000. Tese 336f. (Livre docência em Endodontia) Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
7. LEONARDO M. R.; DA SILVA L. A.; TONOMARU FILHO, M.; BONIFACIO K. C.; ITO I. Y. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. *J. endod.* Chicago, v.26, n.9, p.391-394, Sept. 2000.
8. TROPE, M.; DELANO, E. O.; ORSTAVIK, D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single v.s. multivisit treatment. *J. Endod.*, Chicago v.25, n.5, p.345-350, May 1999.
9. ABBOTT, P. V. Medicaments: aids to success in endodontics. Part. 1 A review of the literature. *Aust. Dent. J.*, Sydney, v.35, n.5, p.438-448, Oct. 1990.
10. LEONARDO, M. R.; SILVEIRA, F. F.; SILVA, L. A. B.; TANOMARU FILHO, M.; UTRILLA, L. S. Calcium hydroxide root conducto dressing. Histopathological evaluation of periapical repair at different time periods, *Braz. Dent. J.*, Ribeirão Preto, v.13, n.1, p.17-22, 2002.
11. PETERS, L. B.; WESSELINK, P.R.; MOORER, W. R. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. *Int. Endod. J.*, Oxford, v.28, n.2, p.95-99, Mar. 1995.
12. CHONG, B. S.; PITT FORD, T. R. The role of intraconducto medication in root conducto treatment. *Int. Endod. J.*, Oxford, v.25, n.2 p.97-106, Mar. 1992.

13. ESTRELA, C.; PIMENTA, F. C.; ITO, L. Y.; BAMANN, L. L. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. *J. Endod.*, Chicago, v.24, n.1 p.15-17, Jan. 1998.
14. GEORGOPOULOU, M.; KONTAKIOTIS, E.; NAKOU, M. In vitro evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonochlorophenol on anaerobic bacteria from the root conducto. *Endod. Dent. Traumatol.*, Copenhagen, v.9, n.6, p.249-253, Dec. 1993.
15. GOMES, B. P. F. A.; DRUCKER, D. B.; LILLEY, J. D. Potencial antimicrobiano de alguns medicamentos intracanaís. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS, 14., 1997, Águas de São Pedro. Anais... Águas de São Pedro, 1997. p.84. Abstract 157.
16. LEONARDO, M. R., ARAÚJO, C. H., MENDES, A. J. D. Contribuição para o emprego de pastas à base de hidróxido de cálcio na obturação de canais radiculares - Estudo de propriedades físicas, químicas e biológicas. Parte I. *Rev. Fac. Farm. Odontol. Araraquara*, Araraquara, v.10, n.1, p.125-135, 1976.
17. BYSTROM, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0,5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, St. Louis, v.55, n.3, p.307-312, Mar. 1983.
18. ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod. Dent. Traumatol.*, Copenhagen, v.6, n.4, p.142-149, Ago. 1990.
19. SIQUEIRA Jr., J. F.; UZEDA, M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J. Endod.*, Chicago, v.22, n.12, p.674-676, Dec. 1996.
20. SIQUEIRA Jr., J. F.; ROÇAS, I. N., CARDOSO, C. C. MACE DO, S. B.; LOPES, H. P. Efeitos antibacterianos de um novo medicamento - o óleo ozonizado - comparado às pastas de hidróxido de cálcio. *Rev. Bras. Odont.*, Rio do Janeiro, v.57, n.4, P.252-256, jul./ago. 2000.
21. BOCCI, V. Ozonoterapia: ieri, oggi e domani? *Ossigeno Ozono*, Fitness News, Milan, v.6, n.1, p.12, Jan.1994.
22. O OZÔNIO In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DO USO MEDICO E ODONTOLÓGICO DO OZÔNIO 1., 2004, Santo André. Disponível em: . Acesso em: 15 dez. 2004.
23. MENENDEZ, S.; CRUZ, O.; REYES, O. Application of ozonized oil in the treatment of infected radicular conducts. In: WORLD CONGRESS OF THE INTERNATIONAL OZONE ASSOCIATIONS, 12., 1995, Lille, Proceedings... Lille, 1995. p.287-290.
24. PEREIRA, A. M. V. S. Comparação do efeito da medicação intraconducto com pasta HPG (hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado e glicerina) e com óleo ozonizado, no tratamento endodôntico de dentes despulpados com lesão perirradicular associada: estudo radiográfico, histopatológico e histobacteriológico em cães. 2002. 134p. Tese (Doutorado em Endodontia) Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2002.
25. SIPERT C. R.; HUSSNE R. P.; NISHIYAMA C. K.; TORRES S. A. In vitro antimicrobial activity of Fill Conducto, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. *Int. Endod. J.*, Oxford, v.38, n.8, p.539-543, Ago. 2005.
26. AL-KHATIB Z. Z.; BAUM R. H.; MORSE D. R.; YESILSOY C.; BHAMBHANI S.; FURST M. L. The antimicrobial effect of various endodontic sealers. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, St. Louis, v. 70, n.6, p.784-790, Dec. 1990.
27. HAAPASALO, M., ORSTAVIK, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J. Dent.*

- Res., Chicago, v.66, n.8, p.1375-1379, Ago.1987.
28. FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; OHMAN, A. E.; MOLLER A. J. R. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root conductos after varied times of closure. Scand. J. Dent. Res., Chicago, v.90, n.2, p.134-144, Apr. 1982.
  29. WEINE F. S. Tratamento endodôntico. 5. ed. São Paulo: Santos, 1997. p.695-711.
  30. HOLLAND, R.; OTOBONI FILHO, J. A.; SOUZA, V.; NERY, M. J.; BERNABÉ, P. F. E.; DEZAN JR., E. Reparação dos tecidos periapicais com diferentes formulações de Ca(OH)<sub>2</sub> Estudo em cães. Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent. São Paulo, v. 53, n.4, p.327-331, jul./ago. 1999.
  31. SIQUEIRA Jr., J. F.; ROÇAS, I. N.; SOUTO, R.; UZEDA, M. de; COLOMBO, A. C. Actinomyces Species, Streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root conducto infections J. Endod., Chicago, v.28, n.3, p.168-171, Mar. 2002.
  32. ESTRELA, C. ; BAMMAN, I. I.; SYDNEY, G. B. ; MOURA, J. Efeito antibacteriano de pastas de hidróxido de cálcio sobre bactérias aeróbias facultativas. Ver. FOB, Bauru, v.3, n.1/4, p.109-114, jan./dez., 1995.
  33. LEONARDO, M. R., Medicamento de acción prolongada In: LEONARDO, M. R. Endodontia: tratamento de canais radiculares principios técnicos e biológicos. v.2. São Paulo: Artes Médicas., 2005. p.997-1048.
  34. CONTRERAS, R.; GÓMES, M.; MENÉNDEZ, S. Efecto de la sustitución del aceite de oliva por aceite de girasol, sobre la actividad antimicrobiana del aceite ozonizado. Rev. CENIC Ciene Quím., Habana, v.20, n.1/3, p.121-124, 1989.
  35. CRUZ, E. V.; KOTA K.; HUQUE, J.; IWAKU, M.; HOSHINO, E. Penetration of propylene glycol into dentine. Int. Endod. J., Oxford, v. 35, n.4, p.330-336, Apr. 2002.
  36. RAYMOND C. R.; PAUL J. S.; PAUL, J. W. Handbook of pharmaceutical excipients, Washington: American Pharmaceutical Association (APhA), 2002. p.521-523.