



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

OZONOTERAPIA NO TRATAMENTO DA PERIODONTITE

Trabalho submetido por
Gonçalo Tavares dos Santos
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2018



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

OZONOTERAPIA NO TRATAMENTO DA PERIODONTITE

Trabalho submetido por
Gonçalo Tavares dos Santos
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Mestre José Maria Cardoso

Setembro de 2018

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Mestre José Maria Cardoso, pela prontidão com que assumiu a responsabilidade de orientar a minha tese, bem como pelo empenho que revelou numa situação tão díspar como aquela em que me encontrava.

Ao Dr. Francisco Proença, por toda a dedicação, disponibilidade, rigor e franqueza com que soube criticar o meu trabalho.

À Dra. Tânia Moreira pelo exemplo e empenho que me transmitiu na prática clínica bem como pela atitude positiva que demonstra em momentos de adversidade, agradecer-lhe pela disponibilidade e pela amizade.

Aos meus amigos, aos “de sempre” e aos que vieram “para sempre”. Pelo vosso companheirismo em todas as horas, essencialmente por serem diferentes de todos os outros e se recusarem a ser parte integrante “do que é normal e politicamente correto”.

Aos meus pais que desde cedo me transmitiram os valores do trabalho, do esforço, da dedicação e da honestidade, bem como pelas oportunidades que me deram e para as quais muitas vezes tiveram de se sacrificar imensuravelmente. A vocês devo toda esta caminhada.

À minha avó companheira de todas as horas, pelo orgulho e carinho com que fala do neto, pelo espírito de sacrifício que sempre demonstrou e pelo amor, por todo o amor que tem por mim.

RESUMO

A periodontite apresenta-se como a principal doença inflamatória dos tecidos de suporte dos dentes. Sabe-se que resulta da interação entre a microbiota subgengival, a resposta imune e inflamatória do hospedeiro e os fatores ambientais modificadores. A placa bacteriana está intimamente ligada com o risco de desenvolvimento de doenças periodontais.

O ozono é usado para fins medicinais desde o século passado no tratamento de várias patologias. Pode apresentar-se sobre a forma gasosa, aquosa ou óleo, sendo-lhe reconhecidas características antimicrobianas, anti-inflamatórias, imunoestimuladoras, anti-hipóxicas e de biossíntese.

O objetivo do trabalho é fornecer uma revisão geral sobre a molécula de ozono e as suas características químicas, mas também sobre as potencialidades da ozonoterapia relacionando-as com o tratamento da doença periodontal, usando como recurso diversos estudos *in vitro* e *in vivo* que nos dão informação sobre o sucesso ou o fracasso do seu uso na prática clínica.

Palavras Chave: ozono, periodontite, antimicrobiana, anti-inflamatória.

ABSTRACT

Periodontitis presents as a major disease of the tissues supporting the teeth. It is known that periodontitis results from the interaction between the subgingival microbiota, the immune and inflammatory response of the host and the environmental modifying factors. The bacterial plaque is closely linked with the risk of developing periodontal diseases.

Ozone has been used for medicinal purposes since the last century in the treatment of several pathologies. It can present on the gaseous, aqueous or oil form, and it is recognized antimicrobial, anti-inflammatory, immunostimulatory, anti-hypoxic and biosynthesis characteristics.

The objective of the present work is to provide a general review of the ozone molecule and its chemical characteristics, but also about the potentialities of ozone therapy, related to the treatment of periodontal disease, using several *in vitro* and *in vivo* studies which give us information about the success or failure of its use in clinical practice.

Key words: ozone, periodontitis, antimicrobial, anti-inflammatory.

ÍNDICE GERAL

I. INTRODUÇÃO	pág. 11
II. DESENVOLVIMENTO	pág. 13
1. DOENÇAS PERIODONTAIS	pág. 13
1.1 Determinantes Clínicos da Saúde Periodontal	pág. 13
1.1.1. Biofilme Subgengival	pág.13
1.1.2 Higiene Oral	pág. 14
1.2. Periodontite	pág.15
1.2.1. Nova classificação das Doenças Periodontais e Peri-implantares	pág.15
1.3. Tratamento	pág.18
1.3.1 Estabilidade da Doença Periodontal	pág.19
1.3.2. Remissão e Controlo da Doença Periodontal	pág.19
2. A MOLÉCULA DE OZONO	pág.20
2.1. Estrutura	pág.20
2.2. Propriedades	pág.21
3. A HISTÓRIA DA OZONOTERAPIA.....	pág.22
4. INDICAÇÕES GERAIS DA OZONOTERAPIA	pág.23
5. CONTRA-INDICAÇÕES DA OZONOTERAPIA	pág. 23
6. TOXICIDADE DO OZONO	pág. 24
7. MODOS DE ADMINISTRAÇÃO DO OZONO.....	pág. 25
7.1. Ozono terapêutico.....	pág.25
7.2. Sistemas de produção de ozono	pág.25
7.2.1. Sistema ultravioleta	pág.25
7.2.2. Sistema plasma a frio (por reação eletroquímica)	pág.26
7.2.3. Sistema “ <i>corona discharge system</i> ” (por choque elétrico)	pág.26
7.3. As diferentes formas de aplicação do ozono	pág.26
7.3.1. Ozono Gasoso	pág.26
7.3.2. Água Ozonada	pág.27
7.3.3. Óleo Ozonado	pág. 27
8. APLICAÇÕES DA OZONOTERAPIA NA MEDICINA DENTÁRIA	pág.27
8.1. Cirurgia Oral	pág.28

8.2. Prevenção e Controlo da Cárie Dentária	pág.28
8.3. Endodontia	pág.30
8.4. Periodontologia	pág.31
9. INTERESSES DO OZONO NO TRATAMENTO DA DOENÇAS PERIODONTAIS	pág.31
9.1. Os efeitos biológicos do ozono	pág.32
9.1.1. Efeitos antimicrobianos do ozono	pág.32
9.1.1.1. Ação antibacteriana e antifúngica do ozono - estudos <i>in vitro</i>	pág.32
9.1.1.2. Ação antibacteriana e antifúngica do ozono <i>in vivo</i>	pág.41
9.1.1.3. Ação antiviral do ozono	pág.44
9.2. Os efeitos imunoestimuladores do ozono	pág.44
9.3. Os efeitos imunoestimuladores do ozono	pág.45
9.4. Os efeitos anti-hipóxicos do ozono	pág.47
9.5. Os efeitos do ozono na biossíntese	pág.48
10. A BIOCAMPATIBILIDADE DO OZONO	pág.48
11. A FUNÇÃO DO OZONO NA TERAPIA PERIODONTAL	pág.50
III. CONCLUSÃO	pág.63
IV. BIBLIOGRAFIA	pág.65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modelo de interações hospedeiro-microbiota na patogénese da periodontite. A resposta do hospedeiro desencadeia uma disbiose incipiente (gingivite). A não remoção do biofilme leva a uma disbiose franca que resulta e perpetua uma inflamação crónica (Murakami et al., 2018).	pág.15
Figura 2. Classificação das doenças e condições periodontais e peri-implantares (Caton et al., 2018).	pág.16
Figura 3. Classificação da periodontite em estágios definidos pela gravidade (de acordo com o nível de inserção clínica interdentária, perda óssea, perda óssea radiográfica e perda de dentes), complexidade e extensão e distribuição (Papapanou, et al. 2018).	pág.17
Figura 4. Classificação de periodontite quanto ao grau que reflete as características biológicas da doença, incluindo evidências ou risco de progressão rápida, resposta antecipada ao tratamento e efeitos na saúde sistémica (Papapanou, et al. 2018).	pág.17
Figura 5. Formulas do Oxigénio e do Ozono (Nogales, et al., 2008).	pág.20
Figura 6. Produção do ozono (Nogales, et al., 2008).	pág.20
Figura 7. Reações químicas em torno do ozono (Viebahn-Haensler & Lee, 2007).	pág.21
Figura 8. Cilco de Krebs (Rodwell, et al., 2015).	pág.29
Figura 9. Eficácia antimicrobiana da água ozonada contra microrganismos orais (Nagayoshi et al., 2004).	pág.33
Figura 10. Atividade antimicrobiana da água ozonada e dos desinfetantes disponíveis comercialmente contra <i>S. mutans</i> (imagem A) e <i>C. albicans</i> (imagem B) (Nagayoshi et al., 2004).	pág.34
Figura 11. Atividade antimicrobiana da água ozonada na placa bacteriana humana (Nagayoshi et al., 2004).	pág.35
Figura 12. Microrganismos testados por grupos adaptado de (Eick, Tigan, & Sculean, 2012).	pág.36
Figura 13. Número de microrganismos que foram mortos por tempo de exposição (Eick et al., 2012).	pág.37

Figura 14. Influência do soro na viabilidade ou não dos microrganismos quando aplicado ozono (Eick et al., 2012).	pág.38
Figura 15. Efeito antimicrobiano do ozono contra bactérias periodontopatogênicas numa cultura planctônica (Huth et al., 2011).	pág.39
Figura 16. Efeito antimicrobiano do ozono contra as bactérias periodontopatogênicas em biofilmes monoespécicos (Huth et al., 2011).	pág.40
Figura 17. Evolução do número total de bactérias presentes na placa subgingival em cada tipo de tratamento (Hayakumo, Arakawa, Mano, & Izumi, 2013).	pág.41
Figura 18. Redução percentual no número total de bactérias presentes na placa subgingival (Hayakumo et al., 2013).	pág.42
Figura 19. Percentagem de placa subgingival com uma redução >95 % no número de <i>P. gingivalis</i> e <i>T. forsythia</i> (Hayakumo et al., 2013).	pág.43
Figura 20. Alterações na percentagem de hemorragia à sondagem (Hayakumo et al., 2013).	pág.51
Figura 21. Alterações registadas da profundidade de sondagem expressas em mm (Hayakumo et al., 2013).	pág.52
Figura 22. Alterações registadas do nível de inserção expressas em mm (Hayakumo et al., 2013).	pág.52
Figura 23. Melhoria nos parâmetros clínicos às 4 e 8 semanas (Hayakumo et al., 2013).	pág.53
Figura 24. Índice BPE (Iliadis & Millar, 2013).	pág.54
Figura 25. Melhorias do índice BPE registadas nos 25 pacientes após a aplicação de ozono (Iliadis & Millar, 2013).	pág.55
Figura 26. Diferenças na profundidade das bolsas antes e depois da aplicação do ozono em cada um dos 25 pacientes. As séries 1-6 indicam as seis bolsas mais profundas medidas em cada paciente (Iliadis & Millar, 2013).	pág.55
Figura 27. Dados estatísticos descritivos dos índices clínicos medidos em 3 momentos (Sacco & Campus, 2017).	pág.57
Figura 28. Gráfico de barras da hemorragia média à sondagem (Sacco & Campus, 2017).	pág.57
Figura 29. Profundidade de sondagem média ao longo do tempo (Sacco & Campus, 2017).	pág.57

Figura 30. Comparativo índice gengival (Issac et al., 2015).	pág.58
Figura 31. Comparativa profundidade de sondagem (Issac et al., 2015).	pág.59
Figura 32. Comparativo nível de inserção (Issac et al., 2015).	pág.59
Figura 33. Alterações no índice de placa, índice gengival e percentagem de pontos hemorrágicos à sondagem no grupo de teste e de controlo em T0 e T1 (Habashneh et al., 2014).	pág.60
Figura 34. Alterações na profundidade de sondagem no grupo de teste e de controlo em T0 e T1 (Habashneh et al., 2014).	pág.60
Figura 35. Alterações no nível de inserção periodontal nos grupos de teste e de controlo em T0 e T1 (Habashneh et al., 2014).	pág.61

LISTA DE ABREVIATURAS

Acetil-CoA - Acetilcoenzima A
ATP - Adenosina Trifosfato
BHY – Células epiteliais orais humanas
CAL – Perda de inserção clínica
CHX – Clorexidina
EBV – Vírus Epstein-Barr
EPB – Exame periodontal básico
GUN – Gengivite Ulcerativa Necrosante
H₂O₂ – Peroxido de Hidrogénio
HCMV – Vírus citomegalovírus humano
HGF-1 - Fibroblastos gengivais
HSV – Vírus herpes simplex
IECA - Inibidor da enzima de conversão da angiotensina
LDH – Enzima lactato desidrogenase
LPS - Lipopolissacaridos
MMP'S – Metaloproteinases da matriz
NADH – Nicotinamida adenina dinucleotido
NaOCl – Hipoclorito de sódio
NF-kB – Factor nuclear kappa B
PO₂ – Pressão parcial de oxigénio
RNA – Acido ribonucleico
SRP – Alisamento radicular e curetagem
TNF – Fator de Necrose Tumoral
UV - Ultravioleta

I. INTRODUÇÃO

As doenças periodontais são condições inflamatórias resultantes da acumulação de microrganismos organizados em biofilme, nas superfícies dentárias. A periodontite consiste na destruição dos tecidos que suportam os dentes: gengiva, ligamento periodontal, cimento e osso alveolar, podendo levar à perda de dentes (Issac et al., 2015; Sacco & Campus, 2016; Saini, 2011).

O tratamento da periodontite consiste na eliminação dos microrganismos. O tratamento convencional passa pelos alisamentos radiculares sendo que, por vezes, esta terapia pode estar associada à irrigação com antissépticos locais como a clorexidina. (Issac et al., 2015; Sacco & Campus, 2016; Saini, 2011).

O ozono tem sido usado nas últimas décadas com sucesso no tratamento de várias patologias graças às suas excelentes propriedades. Na medicina dentária o ozono é considerado como uma alternativa aos antissépticos orais devido às suas propriedades antimicrobianas (Iliadis & Millar, 2013; Srikanth, Sathish, & Sri Harsha, 2013).

A ozonoterapia pode ser considerada como uma alternativa ou terapia complementar às terapias convencionais no tratamento de diversas doenças (Kumar, Haldia, Gupta & Meena, 2015).

No tratamento da periodontite o ozono pode ser uma alternativa à clorexidina como antisséptico nas bolsas periodontais (Habashneh, Alsalman, & Khader, 2015).

O objetivo deste trabalho é perceber que contributo pode dar o ozono enquanto terapia coadjuvante à terapia convencional no tratamento da periodontite através de uma revisão da literatura.

II. DESENVOLVIMENTO

1. DOENÇAS PERIODONTAIS

1.1. DETERMINANTES CLÍNICOS DA SAÚDE PERIODONTAL

As doenças periodontais são doenças complexas de natureza multifatorial, que envolvem uma complexa interação entre a microbiota subgengival, a resposta imune e inflamatória do hospedeiro e os fatores ambientais modificadores.

A saúde periodontal não deve ser considerada unicamente no contexto dos níveis de placa bacteriana e no seu controlo, deve-se ter uma visão mais global da mesma, avaliando todos os fatores responsáveis pelo aparecimento da doença, bem como pela restauração e manutenção da saúde do periodonto.

Neste contexto, fatores predisponentes são definidos como qualquer agente ou condição que contribui para a acumulação de placa bacteriana (por exemplo, anatomia, posição do dente, restaurações mal adaptadas). Fatores modificadores são definidos como qualquer agente ou condição que altere a maneira como um indivíduo responde à acumulação de placa subgengival (por exemplo, tabagismo, condições sistêmicas, medicamentos) (Lang & Bartold, 2018).

1.1.1. BIOFILME SUBGENGIVAL

A composição bacteriana do biofilme subgengival está associada tanto à gengivite como à periodontite e resulta de interações dinâmicas com o seu microambiente. Normalmente a composição microbiana é uma comunidade de organismos comensais que coexistem em relativa harmonia. Assim, sempre que há uma alteração neste equilíbrio dinâmico, gera-se um estado de disbiose, que pode resultar num crescimento acentuado de componentes mais virulentos do biofilme, com conseqüente exacerbação da inflamação periodontal. Com a resultante inflamação e desenvolvimento de periodontite, ocorre uma mudança na composição e na severidade dos agentes patogénicos, levando a um aumento dos danos tecidulares no hospedeiro (Lang & Bartold, 2018).

1.1.2. HIGIENE ORAL

A higiene oral continua a ser o fator mais importante na obtenção e manutenção da saúde periodontal, não deve, no entanto, ser o único foco de atenção.

Uma boa higiene oral sempre foi considerada um dos pilares para manter a saúde periodontal, ainda assim, a placa bacteriana representa apenas 20% do risco direto de desenvolver periodontite. Dos restantes 80% do risco de desenvolvimento de doenças periodontais, fazem parte fatores diretos e indiretos e fatores modificadores do meio (Lang & Bartold, 2018).

Mesmo quando o número de colônias presentes no biofilme oral é mínimo, há um infiltrado inflamatório continuamente presente nos tecidos gengivais, o qual representa uma vigilância imunológica fisiológica. No entanto, o início da gengivite ocorre se a placa bacteriana se acumular ao longo de dias ou semanas sem rutura ou remoção, devido a uma perda de simbiose entre o biofilme oral e a resposta imune-inflamatória do hospedeiro, levando ao desenvolvimento de uma disbiose incipiente. Vários fatores sistêmicos, incluindo endocrinopatias, condições hematológicas, dieta e drogas podem modificar esta resposta imuno-inflamatória.

A inflamação gengival é considerada um pré-requisito necessário para o desenvolvimento subsequente da periodontite e perda de inserção progressiva ao redor das peças dentárias. O tratamento da gengivite é, portanto, uma estratégia preventiva primária fundamental para a periodontite, e uma estratégia preventiva secundária para recorrência da doença periodontal (Murakami, Mealey, Mariotti, & Chapple, 2018).

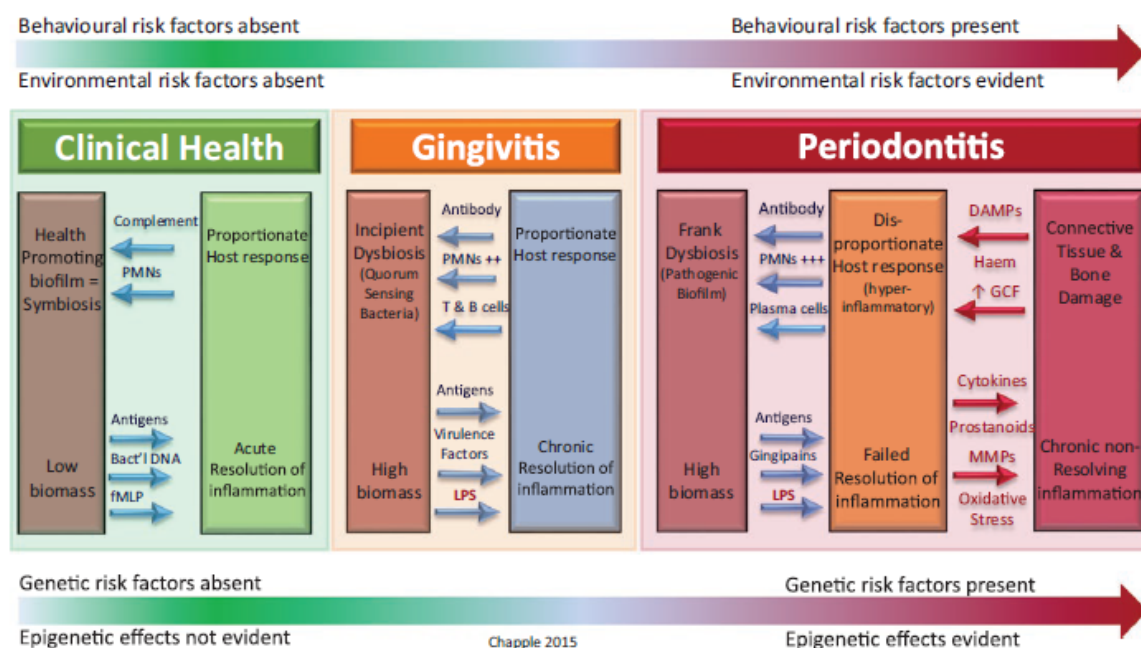


Figura 1. Modelo de interações hospedeiro-microbiota na patogênese da periodontite. A resposta do hospedeiro desencadeia uma disbiose incipiente (gingivite). A não remoção do biofilme leva a uma disbiose franca que resulta e perpetua uma inflamação crônica (Murakami et al., 2018).

1.2. PERIODONTITE

A periodontite é uma doença inflamatória crônica multifatorial associada ao biofilme da placa bacteriana e caracterizada pela destruição do aparelho de suporte dos dentes. A perda de suporte periodontal manifesta-se pela perda de inserção clínica (CAL), a perda óssea alveolar avaliada radiograficamente, a presença de bolsas periodontais e a hemorragia gengival (Papapanou, et al. 2018).

1.2.1. NOVA CLASSIFICAÇÃO DAS DOENÇAS PERIODONTAIS E PERI-IMPLANTARIAS

Em 1999 a periodontite foi classificada como crônica, agressiva (localizada e generalizada), necrosante e como manifestação de doença sistêmica. Em 2017, e à luz dos conhecimentos atuais baseados em estudos populacionais, investigações científicas e evidências provenientes de estudos prospectivos, desenvolveu-se outra classificação a partir dos conhecimentos fisiopatológicos, passando a haver três formas de periodontite: periodontite necrosante, periodontite como uma manifestação de doenças sistêmicas e as

formas da doença previamente conhecidas como “Crônicas” ou "Agressivas", agora agrupadas na categoria "Periodontite" (Caton et al., 2018).

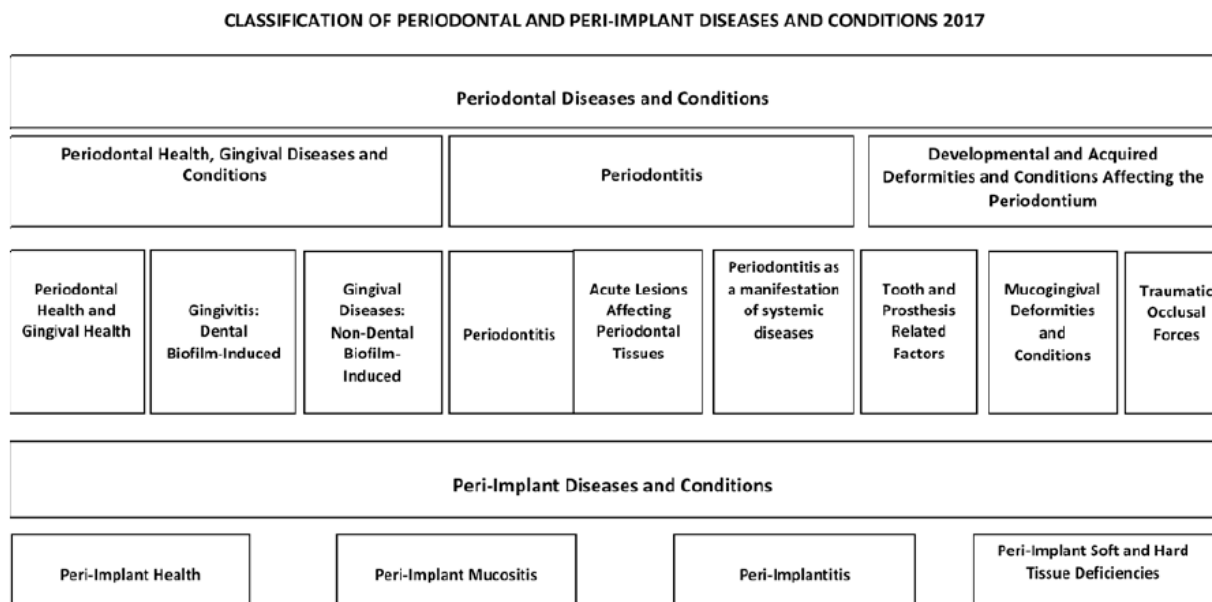


Figura 2. Classificação das doenças e condições periodontais e peri-implantares (Caton et al., 2018).

Foi ainda decidido que a doença deve ser caracterizada por um sistema multidimensional de estadiamento e graus, os quais devem ser adaptados ao longo do tempo à medida que surgirem novas evidências.

O estadiamento envolve quatro etapas, sendo que, a etapa é determinada tendo em consideração os seguintes fatores: perda de inserção clínica, quantidade e percentagem de perda óssea, profundidade de sondagem, presença e extensão de defeitos ósseos, envolvimento de furca, mobilidade dentária e perda de dentes devido à doença periodontal. A classificação inclui três graus (Grau A - baixo risco, Grau B - risco moderado, Grau C - alto risco) e engloba, além de aspetos relacionados com a progressão da periodontite, o estado geral de saúde e também o nível de controlo metabólico da diabetes. Assim, a classificação permite que o clínico cruze os fatores individuais do paciente com o diagnóstico obtido, sendo que isto é crucial para a gestão dos diferentes casos (Caton et al., 2018).

Periodontitis stage		Stage I	Stage II	Stage III	Stage IV
Severity	Interdental CAL at site of greatest loss	1 to 2 mm	3 to 4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radiographic bone loss	Coronal third (<15%)	Coronal third (15% to 33%)	Extending to middle or apical third of the root	Extending to middle or apical third of the root
	Tooth loss	No tooth loss due to periodontitis		Tooth loss due to periodontitis of ≤4 teeth	Tooth loss due to periodontitis of ≥5 teeth
Complexity	Local	Maximum probing depth ≤4 mm Mostly horizontal bone loss	Maximum probing depth ≤5 mm Mostly horizontal bone loss	In addition to stage II complexity: Probing depth ≥6 mm Vertical bone loss ≥3 mm Furcation involvement Class II or III Moderate ridge defect	In addition to stage III complexity: Need for complex rehabilitation due to: Masticatory dysfunction Secondary occlusal trauma (tooth mobility degree ≥2) Severe ridge defect Bite collapse, drifting, flaring Less than 20 remaining teeth (10 opposing pairs)
		For each stage, describe extent as localized (<30% of teeth involved), generalized, or molar/incisor pattern			
Extent and distribution	Add to stage as descriptor	For each stage, describe extent as localized (<30% of teeth involved), generalized, or molar/incisor pattern			

Figura 3. Classificação da periodontite em estágios definidos pela gravidade (de acordo com o nível de inserção clínica interdentária, perda óssea, perda óssea radiográfica e perda de dentes), complexidade e extensão e distribuição (Papanou, et al. 2018).

Periodontitis grade		Grade A: Slow rate of progression	Grade B: Moderate rate of progression	Grade C: Rapid rate of progression
Primary criteria	Direct evidence of progression	Longitudinal data (radiographic bone loss or CAL)	Evidence of no loss over 5 years	<2 mm over 5 years
	Indirect evidence of progression	% bone loss/age	<0.25	0.25 to 1.0
		Case phenotype	Heavy biofilm deposits with low levels of destruction	Destruction commensurate with biofilm deposits
Grade modifiers	Risk factors	Smoking	Non-smoker	Smoker <10 cigarettes/day
		Diabetes	Normoglycemic / no diagnosis of diabetes	HbA1c <7.0% in patients with diabetes

Figura 4. Classificação de periodontite quanto ao grau que reflete as características biológicas da doença, incluindo evidências ou risco de progressão rápida, resposta antecipada ao tratamento e efeitos na saúde sistêmica (Papanou, et al. 2018).

1.3. TRATAMENTO

No contexto atual compreendemos que as doenças periodontais (associadas à placa bacteriana) são de natureza multifatorial, sendo que a redução da inflamação e a melhoria de saúde clínica periodontal pode ser alcançada em 2 níveis: a estabilidade e a remissão/controlo. Estes dois parâmetros são variantes de resultados terapêuticos para restaurar os níveis de saúde num periodonto afetado (Lang & Bartold, 2018).

O alisamento radicular das superfícies do dente e raiz tem sido o tratamento de escolha para as doenças periodontais. No entanto, outras modalidades terapêuticas como cauterização usando agentes térmicos ou químicos, o uso de adstringentes nos tecidos moles e duros, bem como a remoção de tecido mole usando curetas ou lâminas cirúrgicas têm sido defendidas em vários estudos como tratamentos da doença periodontal.

A eliminação do biofilme patogénico pode ainda ser conseguida com antimicrobianos e, às vezes, anti-inflamatórios como terapêutica adjuvante aos alisamentos radiculares. Contudo a ação tópica de antimicrobianos apresenta algumas limitações como é evidenciado no estudo de Goodson 1989. Numa situação patológica, a média da taxa de turnover de uma bolsa de tamanho moderado (0,5 µL) é de cerca de 40 vezes por hora. Já o turnover do fluxo salivar dentro da cavidade oral é de 28 vezes por hora. Percebe-se por isso que há uma rápida remoção das substâncias presentes nas bolsas periodontais. Este rápido turnover pode estar relacionado com a curta duração de ação dos antimicrobianos (Goodson, 1989).

A limpeza mecânica da raiz como tratamento da periodontite, alisamento radicular e curetagem tem sido o *gold standard* para o tratamento crónico da periodontite (Dentino, Lee, Mailhot, & Hefti 2013).

Por vezes quando não se obtém uma eliminação das bolsas com este tratamento é necessária uma abordagem cirúrgica. Esta tem como objetivo ter acesso aos defeitos periodontais para uma adequada descontaminação, além de permitir a criação de condições anatómicas que permitem a manutenção da saúde periodontal ao longo do tempo (Graziani, Karapetsa, Alonso, & Herrera, 2017).

1.3.1. ESTABILIDADE DA DOENÇA PERIODONTAL

A estabilidade da doença periodontal é definida como um estado em que a periodontite foi tratada com sucesso, através do controlo de fatores locais e sistémicos, resultando numa diminuição da hemorragia à sondagem, melhorias na profundidade de sondagem e aumentos dos níveis de inserção, e ausência de destruição progressiva dos tecidos de suporte. Além disto, deve haver um controlo dos fatores modificadores, como a redução do consumo diário de cigarros e o controlo de certas patologias sistémicas como a Diabetes de Mellitus (Lang & Bartold, 2018).

1.3.2. REMISSÃO E CONTROLO DA DOENÇA PERIODONTAL

A remissão e controlo da doença periodontal é definida como um período no curso da doença, durante o qual o tratamento resultou numa redução (embora não resolução total) da inflamação e alguma melhoria do nível da profundidade de sondagem e dos níveis de inserção, mas não se conseguiu o controlo ideal dos fatores sistémicos contribuintes. Isto, pode ser um resultado de tratamento aceitável para indivíduos com fatores modificadores incontroláveis, como por exemplo, quando portadores de condições médicas inflamatórias crónicas - Diabetes Mellitus, doença cardiovascular, hiperlipidémia e artrite reumatóide.

O objetivo da remissão da doença é importante, e baseia-se no conceito emergente de tratar até à meta. Este é um paradigma de tratamento que utiliza resultados de tratamento específicos e bem definidos para monitorizar o controlo dos sinais e sintomas clínicos de uma doença até se atingir um estado de saúde.

Este modelo não diminui a importância da microbiota periodontal, mas está mais direcionado no controlo da inflamação, da infecção e da destruição contínua do periodonto. Este parâmetro requer que se tenham em conta indicadores modificáveis da periodontite, tais como nível de inserção, nível ósseo e profundidade de sondagem, mas também, marcadores inflamatórios que possam sofrer alterações, como a medição da inflamação periodontal e de mediadores inflamatórios no fluido crevicular gengival; por último, os fatores de risco sistémicos modificáveis, como é o caso da Diabetes de Mellitus e do tabagismo, devem ser contabilizados ao avaliar o resultado da tratamento da periodontite (Lang & Bartold, 2018).

2. A MOLÉCULA DE OZONO

2.1. ESTRUTURA QUÍMICA DA MOLÉCULA DE OZONO

O ozono é uma molécula constituída por três átomos de oxigénio (O_3), os quais se ligam entre si formando um ângulo obtuso de 116° , através de ligações simples conferindo uma carga negativa à molécula, tendo um peso molecular de $41,98 \text{ g / mol}$ (Srikanth, et al. 2013).

O ozono é um composto altamente instável, não só porque a sua estrutura está dependente de condições físicas como a temperatura e a pressão, acabando por se decompor em átomos de oxigénio separados, mas também porque a sua estrutura química interna impede a obtenção de uma disposição triangular (Saini, 2011; Tiwari, Avinash, Katiyar, Iyer, Jain, et al. 2017).

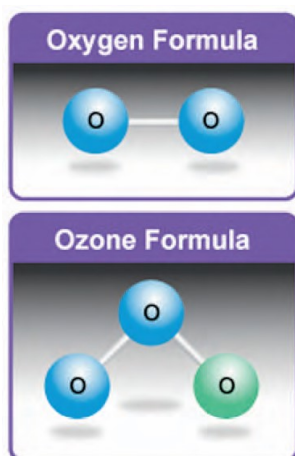


Figura 5. Formulas do Oxigénio e do Ozono (Nogales, et al. 2008)

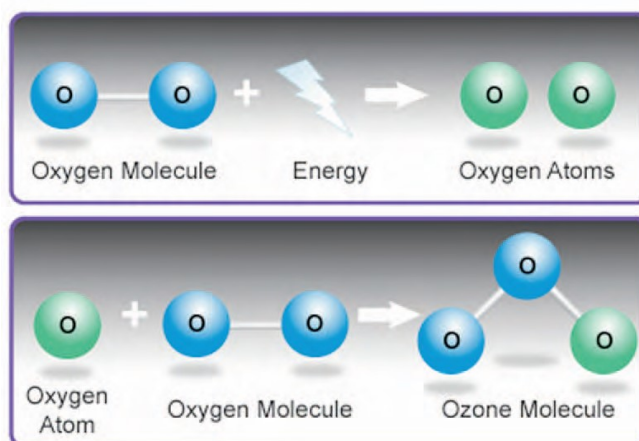


Figura 6. Produção do ozono

2.2. PROPRIEDADES

A molécula de ozono é 1,6 vezes mais denso e 10 vezes mais solúvel em água (49,0 mL em 100 mL de água a 0 ° C) do que o oxigénio, sendo detetável mesmo a baixas concentrações, 0,02 a 0,05 ppm (Iliadis & Millar, 2013; Saini, 2011).

O ozono é produzido naturalmente pela foto dissociação de oxigénio molecular em dois átomos de oxigénio, os quais reagem com outras moléculas de oxigénio, formando-se um radical livre. Este radical livre torna-se rapidamente num protão de hidrogénio, o qual, por sua vez decompõe-se num radical hidroxila OH. Esta reação química torna a molécula de ozono num composto oxidante altamente tóxico (Iliadis & Millar, 2013; Srikanth, et al. 2013).

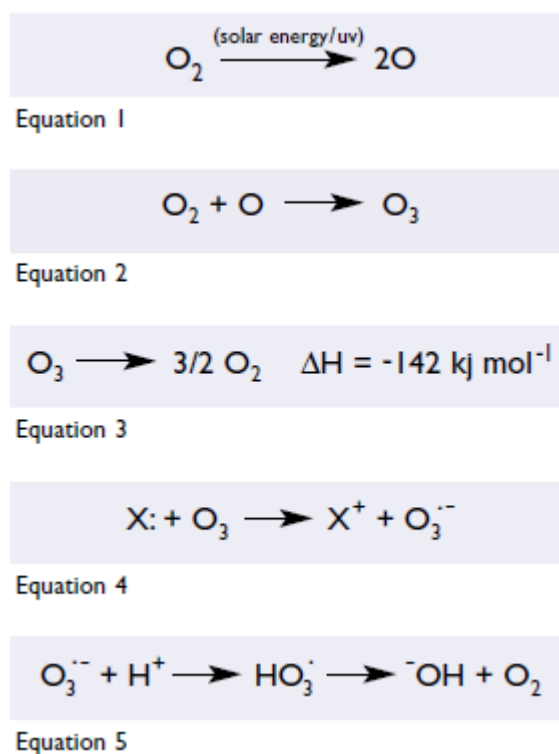


Figura 7. Reações químicas em torno do ozono (Baysan & Lynch, 2005)

A estrutura química do ozono está dependente das variações de temperatura, e por conseguinte, também a sua semi-vida, visto que aos 20° C tem uma semi-vida de 40 min e aos 0°C cerca de 140 min (Tiwari, et al. 2017).

A ozonoterapia é utilizada na Medicina Dentária através de uma mistura de oxigénio e ozono puro na proporção de 0,05% a 5% de ozono, e 95% de 99,95% de oxigénio.

Devido à instabilidade da molécula de ozono, este deve ser preparado imediatamente antes de usar. Em menos de uma hora a preparação terá apenas metade da quantidade inicial de ozono, enquanto que a outra metade já será oxigénio. Como resultado, é impossível armazenar ozono durante longos períodos de tempo.

Para controlar a decomposição de ozono em oxigénio pode ser utilizado um meio com propriedades mais aquosas de forma a ter uma conversão mais rápida ou um meio com propriedades mais viscosas para retardar a conversão (Gupta & Mansi, 2012; Makkar & Makkar, 2011).

3. HISTÓRIA DA OZONOTERAPIA

O uso de ozono para fins medicinais data há mais de 100 anos. Neste período de tempo surgiram inúmeros relatos sobre o seu sucesso no tratamento de várias patologias, aumentando, assim, o interesse da comunidade científica a este respeito (Seidler et al., 2008).

Em 1785, Martinus Van Marum submeteu o oxigénio molecular a choques elétricos e detetou "um cheiro peculiar". O termo ozono foi usado pela primeira vez em 1840 na Universidade de Basel, na Suíça, pelo químico alemão Christian Friedrich Schonbein, considerado hoje o pai da ozonoterapia, que associou esse cheiro peculiar, detetado por Martinus Van Marum, a um gás, o qual denominou de ozono, que provem do grego *Ozein*. Mais tarde, Mariniak e Delarive demonstraram que era uma forma alotrópica de oxigénio, e determinaram a sua arquitetura molecular (Gupta & Mansi, 2012; Rubin, 2001; Sunnen, 1988)

Durante a Primeira Guerra Mundial, os soldados alemães que padecessem de gangrena, feridas infectadas, fistulas ou danos relacionados com gás mostarda foram tratados com ozono.

Em 1929, era possível tratar 114 doenças através da ozonoterapia (Azarpazhooh & Limeback, 2007; Makkar & Makkar, 2011; Srikanth et al., 2013)

O primeiro uso do ozono na Medicina Dentária foi descrito em 1930, pelo médico dentista E. Fish, sob a forma de água ozonada. Mais tarde, este médico dentista tratou infecções dentárias no cirurgião austríaco Ernst Payr recorrendo à ozonoterapia, o que impulsionou o cirurgião a realizar uma investigação sobre o seu uso para fins médicos (Gopalakrishnan1 & Parthiban, 2012; Nogales, Ferrari, Kantorovich, & Lage-Marques, 2008).

4. INDICAÇÕES GERAIS DA OZONOTERAPIA

- Condições inflamatórias;
- Distúrbios circulatórios arteriais;
- Doenças reumáticas;
- Doenças virais (por exemplo: Hepatite);
- Imunodeficiência e equilíbrio
- Oncologia
- Úlceras e lesões de pele;
- Patologia Oral

(Sujatha, Kumar, Gowd, & Vardhan, 2013)

5. CONTRAINDICAÇÕES GERAIS DA OZONOTERAPIA

- Alergia ao ozono;
- Anemia severa;
- Deficiência na Glucose-6-fosfato-desidrogenase (favismo);
- Doença cardiovascular;
- Doenças autoimunes;
- Enfarte do miocárdio recente;
- Gravidez;
- Hemorragia ativa;
- Hipertireoidismo;
- Angina instável;
- Intoxicação aguda por álcool;
- Miastenia grave;

- Pacientes medicados com iECA;
- Trombocitopénia.

(Garg & Tandon 2008; Gupta & Mansi, 2012; Kumar, et al. 2015; Makkar & Makkar, 2011; Nogales et al., 2008; Saini, 2011; Srikanth et al. 2013; Sujatha et al. 2013)

6. TOXICIDADE DO OZONO

O ozono é conhecido pela sua toxicidade, principalmente ao nível do sistema respiratório, mas também noutros órgãos. O ozono em contato continuado com trato respiratório leva a uma produção excessiva de citoquinas pró-inflamatórias, que iniciam e perpetuam a inflamação crônica localizada (Bocci, 2007).

Intoxicação por ozono pode causar: irritação respiratória alta, rinite, tosse, cefaleias, náuseas e vômitos. (Nogales, et al, 2008)

De modo a minimizar a sintomatologia referida em pacientes de risco, recomenda-se a toma de antioxidantes diários: vitaminas C e E, bem como N-acetil-cisteína. (Bocci, 2006; Nogales et al., 2008)

Muitos dos profissionais de saúde que praticam a ozonoterapia na sua prática clínica têm apenas em consideração a dose a usar, sem conhecer a real ação do ozono e os possíveis efeitos colaterais. Em alguns países, os pacientes são submetidos à administração de ozono intravenoso, prática esta que está proibida na Europa devido aos elevados riscos de embolia pulmonar.

De acordo com V. Bocci em 2006, é um erro não usar as propriedades do ozono na Medicina porque, quando aplicado com cuidado, pode ser extremamente benéfico no tratamento de várias patologias, sendo considerado como um dos melhores antibacterianos, antivirais e antifúngicos existentes. No entanto, a falta de conhecimento associado ao uso indevido da ozonoterapia e à sua toxicidade conduz a um impasse entre a comunidade científica sobre a sua aplicação na prática clínica (Bocci, 2006).

7. MODOS DE ADMINISTRAÇÃO DO OZONO

7.1. OZONO TERAPÊUTICO

Os geradores de ozono terapêutico produzem ozono a partir do oxigênio puro que passa por um gradiente de alta voltagem de acordo com a reação:



Consequentemente, a mistura de gás obtida será sempre na ordem dos 95% de oxigênio e não mais do que 5% de ozono.

A produção da mistura de ozono/oxigênio para aplicação médica está sujeita a considerações técnicas importantes que devem ser tomadas em conta. Os geradores clínicos de ozono devem regularizar e monitorizar o fluxo de oxigênio que flui através de campos de alta voltagem. Devem garantir que a mistura é precisa (Bocci, 2006; Sunnen, 1988).

7.2. SISTEMAS DE PRODUÇÃO

A produção de ozono para uso médico é feita através de geradores próprios, em que o oxigênio flui através de tubos de alta voltagem com saídas que variam de 4000V a 14000V (Tiwari, et al. 2017).

Existem várias técnicas usadas para produzir ozono para fins terapêuticos: sistema ultravioleta, sistema de plasma a frio, e “*corona discharge system*”.

7.2.1. SISTEMA ULTRAVIOLETA

Os raios ultravioleta libertam os átomos de oxigênio que se encontram ligados e estáveis nas moléculas diatômicas, produzindo-se, assim, uma mistura de ozono e oxigênio. O oxigênio passa lentamente pela lâmpada UV que, quanto mais brilhante for mais quantidade de ozono é produzido. Este sistema permite a produção de ozono a baixa

concentração (0,05%), sendo utilizado para a purificação do ar e da água (Gupta & Mansi, 2012; Nogales, 2008; Srikanth et al., 2013).

7.2.2. SISTEMA DE PLASMA A FRIO (POR REAÇÃO ELETROQUÍMICA)

O plasma, produzido pelo gerador, está repleto de iões e eletrões, os quais vão interagir com as moléculas de oxigénio promovendo a formação de uma mistura de ozono e oxigénio. Comparado com o sistema UV, é igualmente utilizado na purificação do ar e da água, no entanto permite a produção do ozono em concentrações superiores, 5% água (Gupta & Mansi, 2012; Nogales, 2008; Srikanth et al., 2013).

7.2.3. “CORONA DISCHARGE SYSTEM” (POR DESCARGA ELÉTRICA)

O efeito *corona* corresponde a uma descarga elétrica que ioniza o meio em torno de um condutor. Este é o sistema mais usado na Medicina Dentária. É muito fácil de manusear e permite obter um gás com uma concentração de ozono até 5%, e tem como vantagens ser mais económico que o sistema de plasma a frio e ser mais fácil de manusear (Garg & Tandon, 2008; Makkar & Makkar, 2011; Srikanth, et al. 2013; Tiwari, et al. 2017).

7.3. DIFERENTES FORMAS DE APRESENTAÇÃO DO OZONO

Os métodos terapêuticos de administração de ozono intraoral incluem aplicação de gás, irrigação de ozono líquido e aplicação de óleo ozonado.

7.3.1. OZONO GASOSO

O ozono pode ser utilizado sob a forma gasosa através de sistema aberto ou através de um sistema de aspiração fechado para evitar a sua inalação e consequentemente, os seus efeitos adversos. O ozono gasoso é frequentemente usado em dentisteria, atuando como

antisséptico antes de colocar uma restauração direta, e ainda como terapia em dentes com amelogenese imperfeita (Gupta & Mansi, 2012; Srikanth, et al. 2013).

7.3.2. ÁGUA OZONADA

Água ozonada tem-se mostrado muito eficaz e tem como principal vantagem o custo reduzido. O ozono gasoso apesar de ter um maior efeito anti-microbiano do que a forma aquosa, tem mais efeitos tóxicos ao nível do trato respiratório aquando a sua inalação. Assim, a água ozonada pode ser útil para controlar infeções orais e vários agentes patogénicos evitando ao mesmo tempo os efeitos adversos do ozono gasoso (Gupta & Mansi, 2012; Srikanth, et al. 2013).

7.3.3. ÓLEO OZONADO

Além da forma gasosa e aquosa o ozono também se pode apresentar sob a forma de óleo. A ampla acessibilidade do óleo faz dele um bom agente antimicrobiano. O óleo ozonado mostrou ser eficaz não só contra diversas estirpes bacterianas nomeadamente *Estafilococos*, *Estreptococos*, *Enterococos*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli* e especialmente *Mycobacteria*, mas também contra alguns fungos (Gupta & Mansi, 2012; Srikanth, et al. 2013).

Embora o ozono gasoso se tenha mostrado mais eficaz no que toca às propriedades anti-microbianas do que a forma aquosa, devido aos seus efeitos tóxicos por inalação, a água ozonada é a opção de preferência para o uso em Medicina Dentária. Espera-se, portanto, que seja desenvolvido um sistema seguro para aplicação de ozono gasoso nas bolsas periodontais de forma a evitar a inalação do mesmo (Srikanth, et al. 2013).

8. APLICAÇÕES DA OZONOTERAPIA NA MEDICINA DENTÁRIA

A ozonoterapia tem um vasto leque de aplicações nas diversas especialidades da Medicina Dentária, entre elas: na cirurgia oral, na prevenção e controlo da cárie dentária, na endodontia e na periodontologia.

8.1. CIRURGIA ORAL

O ozono, devido às suas capacidades antimicrobianas e cicatrizantes, parece ser eficaz na terapêutica pós-cirúrgica de feridas intraorais infetadas, após o paciente ter sido submetido a tratamentos de radioterapia, melhorando assim o prognóstico.

Após um paciente ter sido submetido a radioterapia da cabeça e pescoço, o osso mandibular apresenta uma diminuição acentuada do aporte de oxigénio por haver uma obliteração dos vasos sanguíneos da zona afetada. Como tal, este osso apresenta uma taxa de reparação e cicatrização muito diminuída quando comparada com um osso saudável. O ozono leva a uma vasodilatação, melhorando assim o aporte sanguíneo às zonas isquémicas, a uma maior libertação de oxigénio por parte dos eritrócitos, contornando, deste modo a diminuição do fluxo sanguíneo no osso irradiado. Isso irá permitir um melhor estado pós-cirúrgico (Sujatha, et al., 2013; Tiwari, et al., 2017).

Ao longo dos anos foram realizados alguns estudos com o objetivo de avaliar a eficácia terapêutica do óleo de ozono na alveolite, tendo os autores constatado que o processo de cicatrização dos pacientes tratados com óleo ozonado foi mais rápido quando comparado com os grupos controlo, sem a necessidade de medicação sistémica, sugerindo assim, que o óleo ozonado é eficaz no tratamento da alveolite (Nogales et al., 2008; Sujatha, et al., 2013; Tiwari, et al., 2017).

Têm sido também demonstradas algumas vantagens na utilização do ozono para o tratamento de certas patologias dos tecidos moles tais como úlceras aftosas, herpes labial, Gengivite Ulcerativa Necrosante (GUN) e outras infeções da gengiva; visto que o ozono melhora o processo de cicatrização (Garg & Tandon, 2008; Sujatha et al., 2013).

8.2. PREVENÇÃO E CONTROLO DA CÁRIE DENTÁRIA

A cárie dentária tem uma etiologia multifatorial - substrato, tempo, hospedeiro e bactérias cariogénicas, pelo o que o ozono deve ser considerado como um método complementar ao tratamento e/ou aos métodos preventivos já existentes, e não como um

forma de tratamento isolada, visto que este atua sobre o substrato e os agentes bacterianos (Kumar et al. 2015; Nogales et al., 2008; Tiwari et al., 2017).

A profundidade dos sulcos e fissuras torna certas superfícies difíceis de higienizar havendo a acumulação de restos alimentares que por sua vez levam a um maior crescimento bacteriano, conduzindo ao desenvolvimento da cárie. A capacidade do ozono em eliminar a cárie dentária não está somente relacionada com as suas propriedades anti microbianas, mas também com o facto do ozono ter a capacidade de oxidar o ácido pirúvico em acetato e dióxido de carbono, não se chegando este a converter em Acetil-CoA necessário para que as bactérias iniciem o ciclo de Krebs, essencial para a obtenção de ATP.

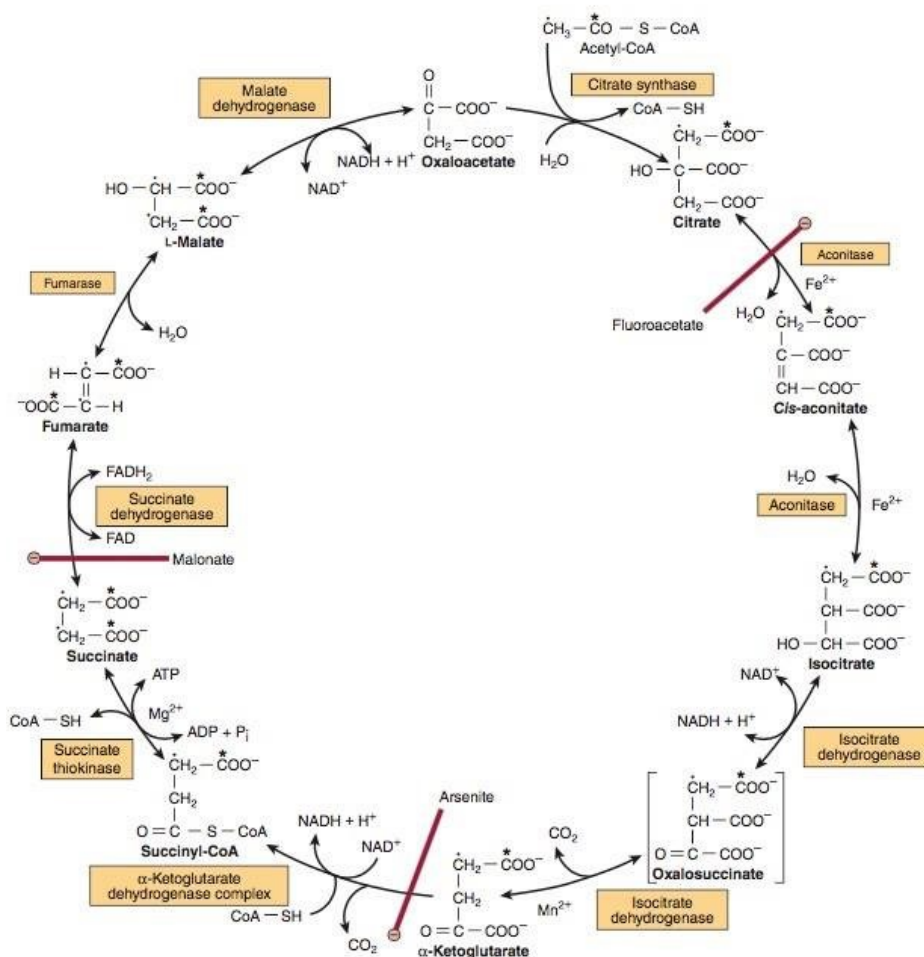


Figura 8. Ciclo de Krebs. (Rodwell, Bender, Botham, Kennelly, & Weil, 2015).

O ozono é aplicado sobre a lesão cáries de maneira controlada, eliminando com segurança bactérias que causam cáries dentárias.

Depois de utilizado o ozono para remover estes microrganismos e os seus produtos, nos casos de caries incipientes, pode-se esperar pela remineralização das lesões sem efetuar restaurações ou promover esta remineralização com recurso a fluoretos, xilitol ou probióticos. (Domb, 2014; Garg & Tandon, 2008; Nogales, et al. 2008)

Do mesmo modo existem evidencias baseadas em estudos *in vitro* que indicam que o ozono pode ser utilizado como agente antimicrobiano profilático antes da colocação do sistema adesivo e da respetiva restauração.

Após a remoção da lesão de cárie e antes da colocação da restauração na cavidade é aplicado ozono gasoso por 20-30 segundos. Este procedimento reduz substancialmente a sensibilidade pós-operatória, e elimina mais eficazmente a camada de dentina infetada.

Com a ozonoterapia as quantidades de tecido dentário que precisam de ser removidos são menores. Isso faz com que o tratamento restaurador seja mais simples, mais rápido e mais conservador (Nogales, et al. 2008; Sujatha et al., 2013)

8.3. ENDODONTIA

O ozono pode ser utilizado na endodontia sob a forma de água ozonada ou óleo. O óleo de ozono é usado como medicação intracanal reduzindo a atividade metabólica das bactérias anaeróbicas presentes nos canais dos dentes infetados; ao passo que a água ozonada pode ser utilizada como um agente de irrigação intracanal; esta tem uma capacidade antisséptica semelhante ao hipoclorito de sódio a 2,5%, visto que tem a capacidade antimicrobiana (*Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Peptostreptococcus micros* e *Pseudomonas aeruginosa*) (Domb, 2014; Kumar et al. 2015; Nogales, et al. 2008; Sujatha et al., 2013).

O ozono demonstrou ter um vasto potencial para ser usado como antimicrobiano na endodontia evitando muitas vezes que seja necessário complementar o tratamento endodôntico com o tratamento cirúrgico (Domb, 2014; Garg & Tandon, 2008; Nogales et al. 2008; Sujatha et al., 2013; Tiwari et al., 2017).

8.4. PERIODONTOLOGIA

Vários estudos verificaram que a água ozonada inibe a formação de placa bacteriana, sendo realmente eficaz contra bactérias gram + e gram -.

A água ozonada pode ser utilizada de várias formas: no reservatório de água de ultrassons ou até como um pré-tratamento antes de efetuar o alisamento radicular, sendo a irrigação das bolsas feita através de uma seringa e de cânula. Esta terapêutica vai reduzir a carga patogénica inicial (Kumar et al. 2015; Nogales et al. 2008; Sujatha et al., 2013; Tiwari et al., 2017).

A água ozonada pode também ser usada para irrigar bolsas periodontais por um período de 5 a 10 minutos, uma vez por semana, em quatro semanas em doentes com periodontite agressiva. Os resultados demonstram uma melhoria significativa em relação aos sinais inflamatórios periodontais (Tiwari et al., 2017).

9. INTERESSES DO OZONO NO TRATAMENTO DA DOENÇAS PERIODONTAIS

A doença periodontal é caracterizada como um processo inflamatório crónico, causado pela resposta do hospedeiro a microrganismos específicos, em especial aos lipopolissacaridos (LPS) produzidos pelas bactérias, dando origem a uma resposta inflamatória, a qual é responsável pela perda de tecido conjuntivo e do tecido ósseo (Huth et al., 2011; Yılmaz et al., 2013).

A eliminação do biofilme patogénico é o principal objetivo a que se propõe a terapia periodontal, tradicionalmente através de alisamentos radiculares que podem, também, fazer-se acompanhar de coadjuvantes antimicrobianos. Ainda que, a clorexidina seja o antisséptico auxiliar mais comumente aplicado, o ozono surge agora como uma alternativa (Huth et al., 2011).

O ozono apresenta funções biológicas como a síntese de interleucinas, leucotrienos e prostaglandinas que vão reduzir a inflamação e promover a cicatrização. Por outro lado, ativa não só processos aeróbicos como a glicólise, o ciclo de krebs e a beta oxidação de ácidos gordos, mas também promove a secreção de vasodilatadores, ativa o mecanismo de síntese proteica e aumenta a quantidade de ribossomas e mitocôndrias nas células eucariotas, sendo que, tudo isto promove um aumento do potencial de regeneração dos tecidos (German et al., 2013; Sujatha et al., 2013).

9.1. OS EFEITOS BIOLÓGICOS DO OZONO

Ao conhecermos os mecanismos de destruição do periodonto, as propriedades do ozono revelam-se extremamente importantes, entre elas: a sua capacidade antimicrobiana, imunestimuladora, anti-inflamatória, anti-hipóxica e seus efeitos na biossíntese (Gupta & Mansi, 2012; Srikanth et al., 2013; Sujatha et al., 2013; Tiwari et al., 2017).

9.1.2. EFEITOS ANTIMICROBIANOS DO OZONO

O efeito antimicrobiano do ozono resulta das lesões provocados ao nível da membrana citoplasmática, promovendo não só a lise de ligações duplas, mas também a modificação do conteúdo intracelular das células com base nos efeitos oxidativos secundários (oxidação de proteínas levando à perda da função organolética). Esta ação está limitada às células microbianas, não provocando quaisquer alterações ao nível das células humanas, visto que estas possuem um maior poder oxidativo (Gupta & Mansi, 2012; Srikanth et al., 2013; Sujatha et al., 2013; Tiwari et al., 2017).

9.1.2.1. Ação antibacteriana e antifúngica do ozono - estudos *in vitro*

Em 2004, Nagayoshi realizou um estudo onde pretendia verificar a eficácia do ozono na sobrevivência dos microrganismos. Este expôs, *in vitro*, colónias de bactérias gram⁺ e gram⁻ a várias concentrações de água ozonada e durante diferentes períodos de tempo.

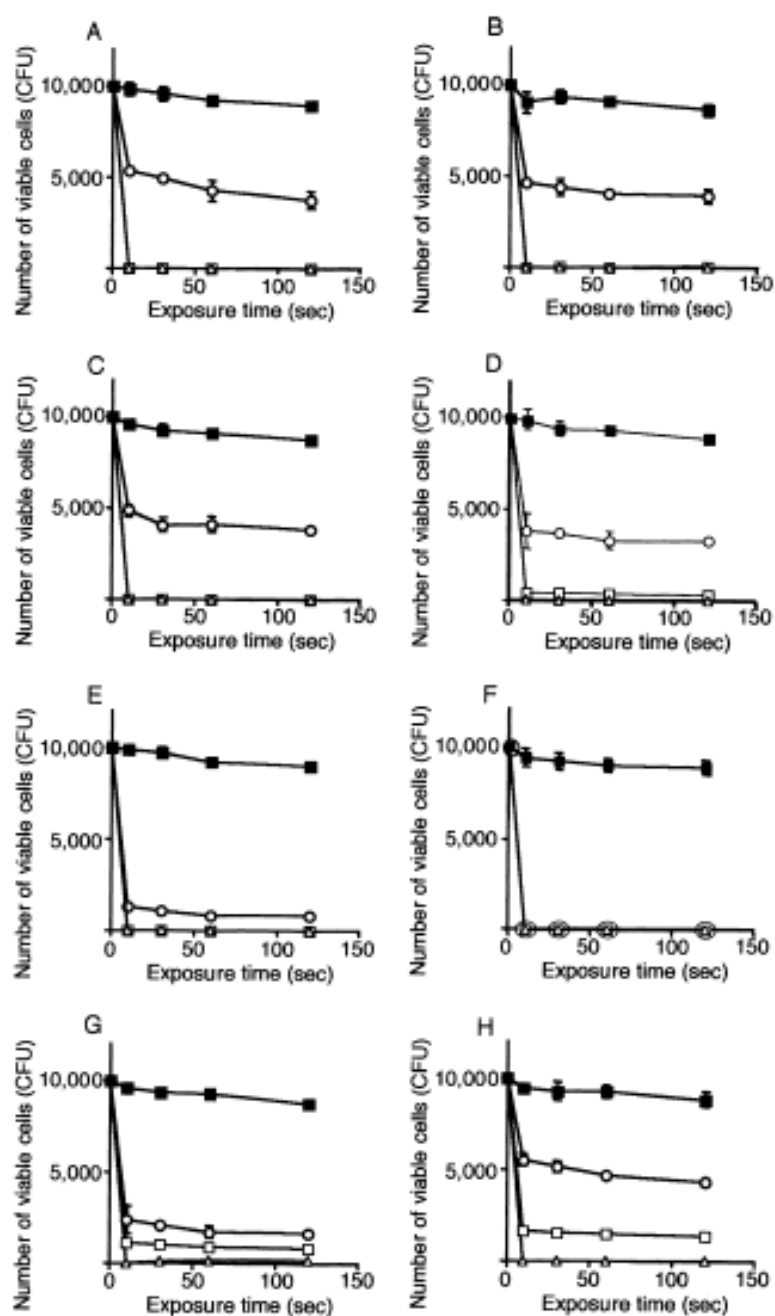


Figura 9. Eficácia antimicrobiana da água ozonizada contra microrganismos orais (Nagayoshi et al., 2004).

As culturas *S. mutans* (A), *S. sobrinus* (B), *S. sanguis* (C), *S. salivarius* (D), *P. gingivalis* (E), *P. endodontalis* (F), *A. Actinomycetemcomitans* (G) e *C. albicans* (H) foram expostas a diferentes concentrações de água ozonada (circulo aberto, 0.5 mg/l; quadrado aberto, 2 mg/l; triangulo aberto, 4 mg/l), e foram comparadas com as bactérias cultivadas num meio de crescimento (quadrado fechado) durante 10, 30, 60, e 120 segundos, onde o autor verificou que a água ozonada promove a diminuição de todas as

culturas (gram+, gram- e leveduras), sendo que esta diminuição está dependente da concentração da água ozonada e não do tempo de exposição.

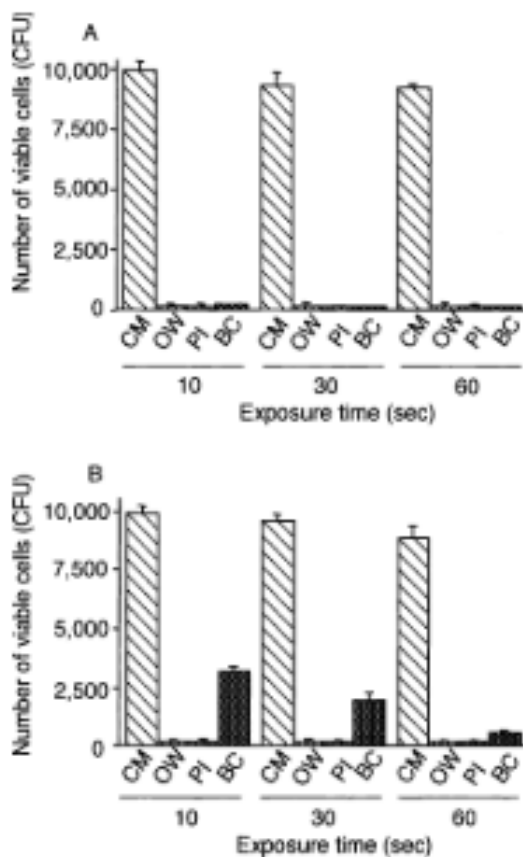


Figura 10. Atividade antimicrobiana da água ozonada e dos desinfetantes disponíveis comercialmente contra *S. mutans* (imagem A) e *C. albicans* (imagem B); (Nagayoshi et al., 2004).

Foi ainda comparada a capacidade antimicrobiana da água ozonada (4mg/l) com a da iodopovidona (2.3mg/l) e do cloreto benzalconio (40 µg/ml) contra a estirpes bacterianas *S. mutans* (imagem A) e *C. albicans* (imagem B). O investigador concluiu que a água ozonada e a iodopovidona demonstraram-se eficazes contra todas as colónias, visto terem sido eliminadas, ao passo que com o cloreto benzolico foram detetadas colónias viáveis de *C. albicans*.

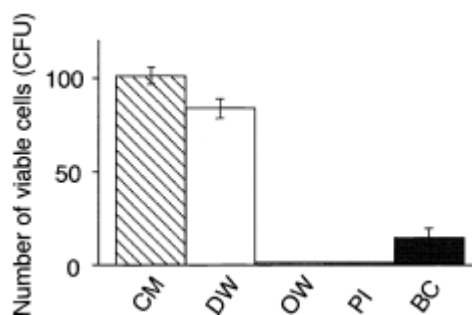


Figura 11. Atividade antimicrobiana da água ozonada na placa bacteriana humana (Nagayoshi et al., 2004).

Por último, o estudo permite observar a eficácia da água ozonada contra o biofilme dentário – expôs-se placa bacteriana (1mg) a água destilada (30 ml), a água ozonada (4mg/l), a iodopoviona (2.3 mg/ml) e a cloreto benzolico (40 µg/ml) por 120 segundos. No final foram contadas o número de colónias de *S. Mutans* presentes em 10 µl da suspensão de placa bacteriana. A par com a iodopoviona a água ozonada demonstrou, em comparação com os outros produtos, ter uma excelente atividade antimicrobiana.

Este estudo permite concluir que a água ozonada parece ser eficaz no controlo de bactérias gram+ e gram- e fungos *in vitro* (Nagayoshi et al., 2004).

Foi ainda realizado outro estudo por Eick, Tigan, & Sculean em 2012, no qual se pretendia não só testar o efeito do ozono sobre os microrganismos que estão envolvidos na periodontite, mas também avaliar a possível influência que as proteínas do soro sanguíneo presente no fluido crevicular teriam na proteção contra esses mesmos microrganismos.

Para este estudo foram cultivadas 23 estirpes microbianas divididas em 5 grupos conforme representado no quadro abaixo.

Species	Origin	Group
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	Laboratory strain	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. gingivalis</i> M5-1-2	Clinical isolate	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. gingivalis</i> MaRL	Clinical isolate	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. gingivalis</i> J430-1	Clinical isolate	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC 33384	Laboratory strain	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<i>A. actinomycetemcomitans</i> J1	Clinical isolate	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<i>A. actinomycetemcomitans</i> J2	Clinical isolate	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<i>A. actinomycetemcomitans</i> J7	Clinical isolate	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<i>Campylobacter rectus</i> ATCC 33238	Laboratory strain	Other gram-negatives
<i>Capnocytophaga gingivalis</i> ATCC 33624	Laboratory strain	Other gram-negatives
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC 23834	Laboratory strain	Other gram-negatives
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Laboratory strain	Other gram-negatives
<i>Prevotella intermedia</i> ATCC 25611	Laboratory strain	Other gram-negatives
<i>Tannerella forsythia</i> ATCC 43037	Laboratory strain	Other gram-negatives
<i>Eubacterium nodatum</i> ATCC 33099	Laboratory strain	Gram-positives
<i>Parvimonas micra</i> ATCC 33270	Laboratory strain	Gram-positives
<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823	Laboratory strain	Gram-positives
<i>Enterobacter cloacae</i> JGr1	Clinical isolate	Potentially "superinfecting" strains
<i>Klebsiella pneumoniae</i> JGr2	Clinical isolate	Potentially "superinfecting" strains
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50071	Laboratory strain	Potentially "superinfecting" strains
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Laboratory strain	Potentially "superinfecting" strains
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Laboratory strain	Potentially "superinfecting" strains
<i>Candida albicans</i> ATCC 76615	Laboratory strain	Potentially "superinfecting" strains

Figura 12. Microrganismos testados por grupos adaptado de (Eick, Tigan, & Sculean, 2012).

O ozono foi aplicado por um período de seis a vinte e quatro segundos (dezoito segundos é o tempo recomendado pelo fabricante para uso periodontal). O efeito bactericida foi avaliado num ambiente isento de soro ou constituído por soro inativado a 25% do volume do meio de incubação. As medições foram então determinadas de acordo com o teste de difusão em ágar.

Resultados obtidos num ambiente isento de soro:

Globalmente o ozono foi muito eficaz na eliminação dos microrganismos estudados, como se verifica na tabela abaixo, pois conseguiu-se uma eliminação total de grande parte das estirpes microbianas após duas aplicações de dezoito segundos de gás ozonado. No entanto, em quatro das seis espécies superinfectiosas potencialmente responsáveis por infeções secundárias, não houve um decréscimo do número de colónias. Existe uma

sensibilidade muito alta do gás ozonado contra a estirpe bacteriana *Porphyromonas gingivalis*, visto que, foram totalmente eliminadas com apenas seis segundos de aplicação do gás ozonado. De referir ainda, que após duas exposições de dezoito segundos, 6% das colónias de *Candida albicans* resistiram.

Group of microbes (number of strains)	Application of ozone					
	6 s	12 s	18 s	2×18 s	24 s	2×24 s
<i>P. gingivalis</i> (4)	4	4	4	4	4	4
<i>A. actinomycetemcomitans</i> (4)	0	2	3	4	3	4
Other gram-negatives (6)	4	5	5	6	5	6
gram-positives (3)	2	2	3	3	3	3
“Superinfecting” species (6)	0	1	2	2	2	2

Figura 13. Número de microrganismos que foram mortos por tempo de exposição (Eick et al., 2012).

Resultado obtidos num ambiente com soro:

Observou-se uma clara proteção da viabilidade bacteriana pelo soro, havendo uma diminuição significativa na taxa de eliminação das estirpes microbianas por parte do ozono. De facto, nenhuma estirpe é totalmente erradicada após ser exposta a diferentes tempos de exposição ao gás ozonado. Em média, a taxa de eliminação das estirpes bacterianas diminuiu em 78% por seis segundos de aplicação e 47% por duas aplicações de dezoito segundos quando as colónias estão num meio com soro, como pode ser observado na tabela de resultados abaixo.

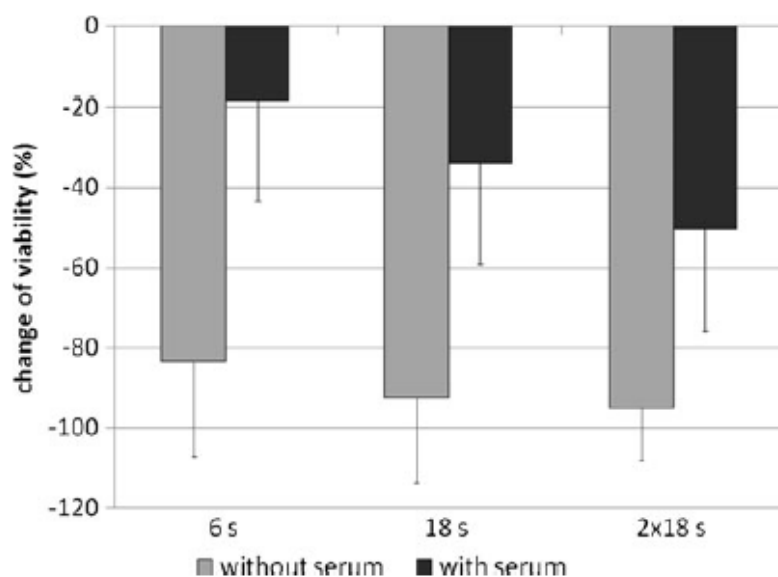


Figura 14. Influencia do soro na viabilidade ou não dos microrganismos quando aplicado ozono (Eick et al., 2012).

Este estudo confirma os resultados observados por Nagayoshi descritos acima sobre a eficácia antimicrobiana do ozono, especialmente para bactérias patogênicas periodontais como *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Por outro lado, fica patente a diminuição do efeito bactericida do gás ozonado aquando na presença de proteínas do soro sanguíneo, o qual acaba por ter um papel protetor que inibe a atividade de diferentes antibióticos e antissépticos. Sabe-se que o biofilme subgingival é constituído por proteínas do soro, sendo assim, a eficácia *in vivo* do ozono nas bactérias organizadas num biofilme seria bastante reduzida. Isso demonstra tanto necessidade de mais estudos, particularmente *in vivo*, mas também a importância da desorganização do biofilme mecanicamente antes de qualquer uso de produtos antissépticos (Eick et al., 2012).

Karin C. Huth et al. (2011) fez também um estudo, no qual se pretende comparar a eficácia antimicrobiana do ozono quer no estado aquoso quer gasoso, em comparação com o antisséptico de eleição, a clorexidina.

Os microorganismos utilizados foram: *A. Actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *P. micra*.

Os microorganismos foram colocados numa cultura planctónica e expostos durante 1 minuto a diferentes concentrações de clorexidina, ou a água ozonada ou a ozono gasoso.

Depois de expostos a estes agentes os microrganismos viáveis foram contados e expressos em unidades formadoras de colónias conforme demonstrado no quadro abaixo (Huth et al., 2011).

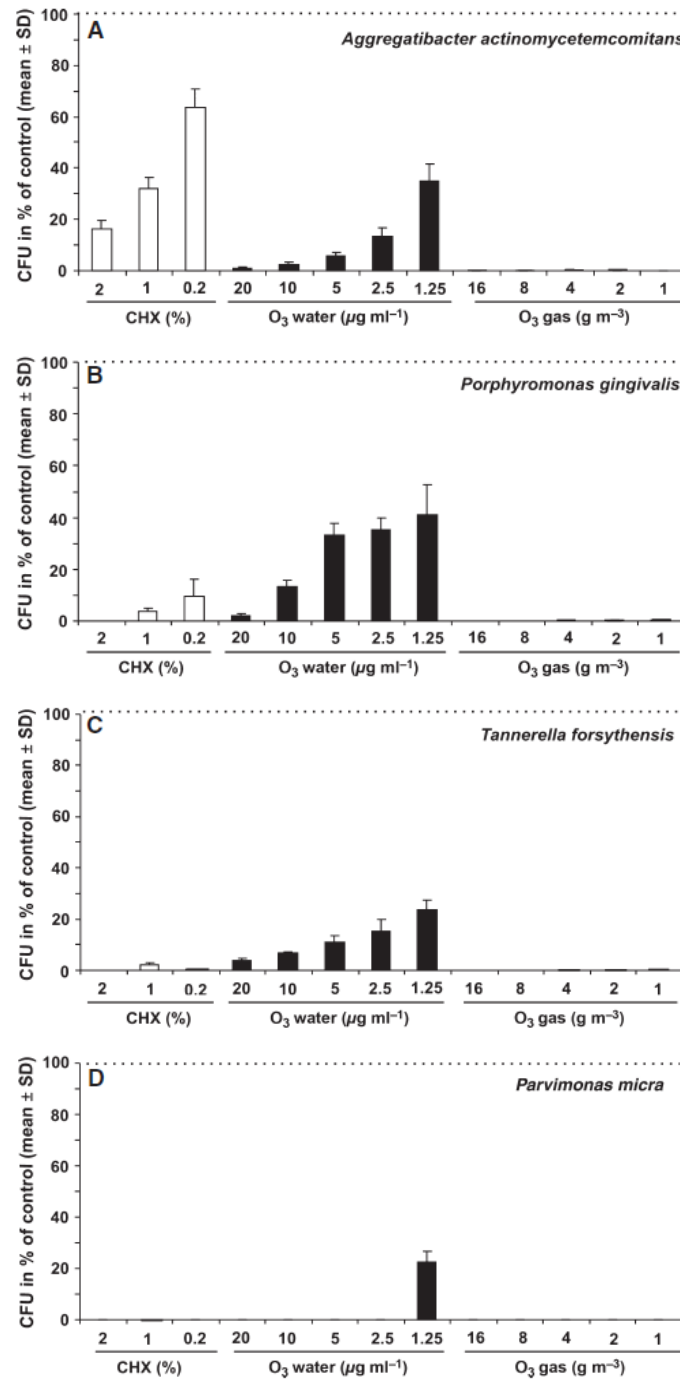


Figura 15. Efeito antimicrobiano do ozono contra bactérias periodontopatogénicas numa cultura planctónica (Huth et al., 2011).

Para todos os microrganismos os agentes revelaram-se dependentes da dose no que se refere à sua eficácia. Ainda que, a água ozonada tenha tido excelentes resultados, quase sempre a par da clorexidina, foi o ozono gasoso que conseguiu melhores resultados na eliminação das bactérias.

Foi também avaliada a eficácia dos agentes nas mesmas estirpes, mas desta vez em biofilmes com monoestirpes, onde se verificou que mesmo a altas concentrações nenhum dos agentes demonstrou grande atividade antibacteriana contra *A. actinomycetemcomitans*. Relativamente às outras estirpes os agentes mostraram ser mais uma vez eficazes como demonstra a tabela abaixo, ainda assim é evidente que numa cultura planctónica os resultados são mais animadores do que em biofilmes (Huth et al., 2011).

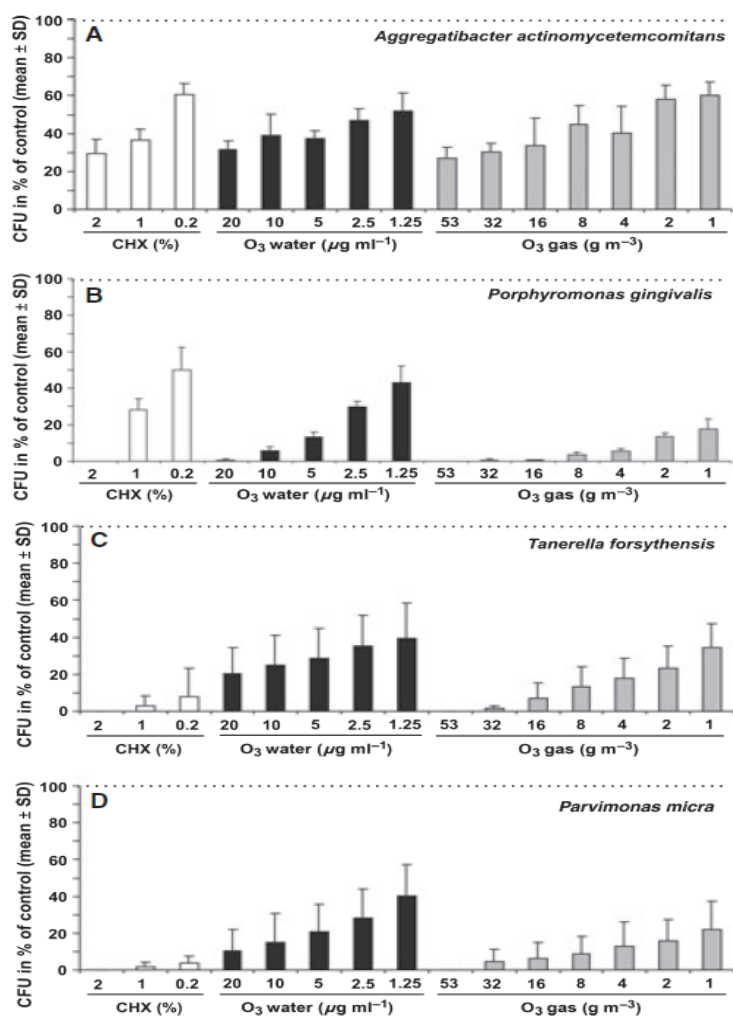


Figura 16. Efeito antimicrobiano do ozono contra as bactérias periodontopatogénicas em biofilmes monoespécies (Huth et al., 2011).

9.1.2.2. Ação antibacteriana e antifúngica do ozônio *in vivo*

Em 2013, Hayakumo, Arakawa e Mano efetuaram um estudo microbiológico com 22 indivíduos, onde procuraram perceber se havia diminuição do conteúdo bacteriano com a aplicação do ozônio aquando dos alisamentos radiculares. A colheita do material para análise foi feita imediatamente após o tratamento periodontal, uma semana depois e oito semanas depois como demonstram os resultados recolhidos na tabela abaixo.

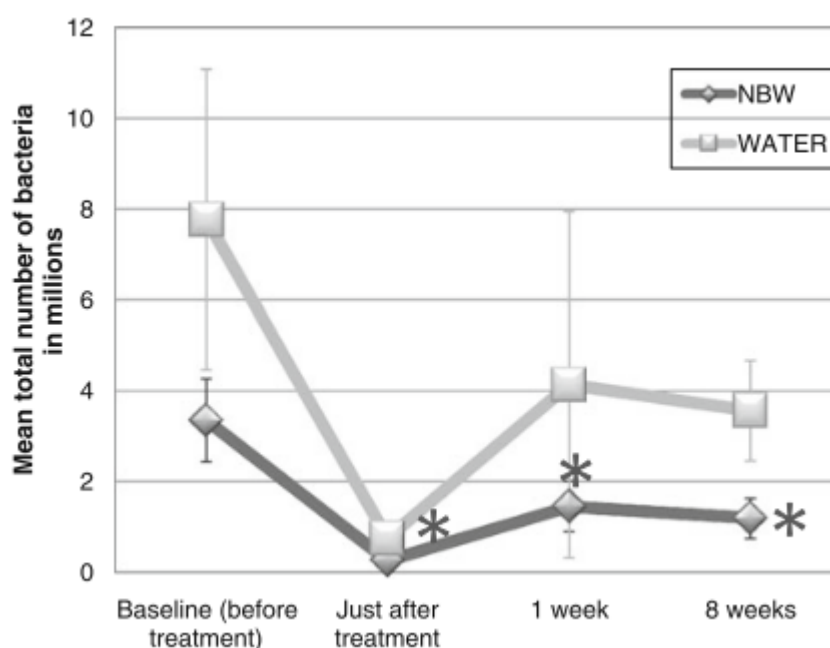


Figura 17. Evolução do número total de bactérias presentes na placa subgengival em cada tipo de tratamento (Hayakumo, Arakawa, Mano, & Izumi, 2013).

O número total de bactérias aquando do tratamento com ozônio parece decrescer significativamente até às 8 semanas quando comparado com o grupo tratado com água.

Quando os grupos de tratamento foram comparados entre si, o grupo tratado com ozônio apresentou uma redução de 95% ou mais no número total de bactérias, em 40% das amostras iniciais imediatamente após o tratamento, o mesmo após uma semana e após oito semanas houve 20% das amostras com uma redução de 95%. O grupo tratado com água revelou reduções semelhantes logo após o tratamento (45,5%), no entanto, após uma e oito semanas do tratamento inicial, apenas 9,1% e 0%, respetivamente, das amostras demonstravam uma redução superior a 95% na placa subgengival como se pode verificar na tabela abaixo.

		Percentage reductions in the total number of bacteria in subgingival plaque		
		% of subgingival plaque samples showing >95 % reduction	% of subgingival plaque samples showing 95–33 % reduction	% of subgingival plaque samples showing <33 % reduction
NBW3 (N=10)	Just after treatment	40	60	0
	1 week	40	40	20
	8 weeks	20	40	40
WATER (N=11)	Just after treatment	45.5	45.5	9.1
	1 week	9.1	45.5	45.5
	8 weeks	0	45.5	54.5

Figura 18. Redução percentual no número total de bactérias presentes na placa subgingival (Hayakumo et al., 2013).

As variações do número médio e da percentagem, ao longo do tempo de estudo, relativas às colónias de *P. gingivalis* e de *T. forsythia* presentes na placa subgingival para o Grupo tratado com ozono (NBW3) e com água (WATER) foram registadas sendo que os indivíduos inicialmente negativos para cada patógeno foram excluídos das análises estatísticas.

Foram registadas reduções não significativas do número médio e de percentagem em relação às colónias de *P. Gingivalis*, em ambos os grupos durante as oito semanas de estudo. Quando os grupos de tratamento foram comparados entre si, não houve diferenças estatisticamente significativas entre o número médio e a percentagem de *P. Gingivalis* em qualquer período de reavaliação. Observações idênticas foram verificadas nas colónias de *T. forsythia*.

É possível verificar, segundo a tabela abaixo exposta, que houve uma redução superior a 95% no número de colónias de *P. gingivalis* e de *T. forsythia*, em bastantes amostras de placa subgingival. Quando os grupos de tratamento foram comparados entre si, verificou-se que as diferenças na média de reduções percentuais no número de *P. gingivalis* e *T. forsythia* não foram estatisticamente significativas. No entanto, *P. gingivalis* foi reduzido em pelo menos 95% em todos os casos inicialmente positivos quando tratado com ozono, enquanto no grupo controlo o patógeno foi reduzido em mais de 95% apenas em 66,7 e 50% da placa subgingival na 1ª e 8ª semana respetivamente. Por outro lado, a redução da

percentagem superior a 95% de *T. forsythia* foi semelhante entre os grupos teste e controlo em ambas as semanas.

		% of subgingival plaque samples showing >95 % reduction	
		<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>
NBW3	Just after treatment	100	83.3
	1 week	100	50
	8 weeks	100	33.3
WATER	Just after treatment	83.3	88.9
	1 week	66.7	55.6
	8 weeks	50	33.3

Figura 19. Percentagem de placa subgingival com uma redução >95 % no número de *P. gingivalis* e *T. forsythia* (Hayakumo et al., 2013).

No presente estudo, o grupo tratado com ozono mostrou reduções do número de colónias estatisticamente significativas durante todo o período do estudo, enquanto que o grupo tratado com água não apresentou reduções significativas em qualquer período de reavaliação. Além disso, cerca de 40% da amostra inicial de placa subgingival no grupo ozono, apresentou uma redução de pelo menos 95% no espaço de uma semana, e em oito semanas de estudo cerca de 20% da mesma amostra teve a mesma redução, enquanto que no grupo da água apenas 9,1% da amostra inicial apresentou uma redução no espaço de uma semana, e em oito semanas não houve qualquer redução do número de bactérias.

Em relação a cada bactéria patogénica periodontal, nenhum dos grupos apresentou reduções significativas no número médio e na percentagem de *P. gingivalis* e *T. forsythia* em qualquer período de reexame (mesmo imediatamente após o tratamento). Isto parece contrastar com os estudos anteriores, que mostraram que a terapia mecânica não cirúrgica poderia reduzir a prevalência e os níveis dos principais agentes patogénicos periodontais. A falta de significância estatística pode ser causada pelo pequeno tamanho da amostra, visto que os sujeitos inicialmente negativos para cada patógeno foram excluídos das análises estatísticas.

De acordo com o que foi descrito anteriormente, conclui-se que quando o tratamento mecânico não cirúrgico é complementado com a ozonoterapia, revela melhores e mais prolongados benefícios microbiológicos, do que quando complementado apenas com água. (Hayakumo et al., 2013).

9.1.2.3. Ação antiviral do ozono

Em 1981, Roy, Wong, Engelbrecht, & Chian realizaram um estudo *in vitro* com o objectivo de verificar os efeitos do ozono sobre o poliovírus 1, que é um enterovirus (vírus sem envelope de cadeia simples RNA). Observou-se que a exposição do vírus ao ozono causou uma alteração de duas das quatro cadeias polipeptídicas presente no nível do capsídeo viral, reduzindo assim sua capacidade de se ligar a recetores celulares. O ozono também causou danos significativos no RNA viral, assim como nas capacidades de ligação do vírus às células hospedeiras, e conseqüentemente a sua replicação dentro das células foi alterada (Roy, Wong, Engelbrecht, & Chian, 1981).

Outro estudo *in vivo* foi realizado em 2010 por Kshitish e Laxman, os quais procuraram determinar o efeito de ozono em diferentes vírus, nomeadamente: vírus herpes simplex (HSV-1 e 2), vírus citomegalovírus humano (HCMV) e vírus Epstein-Barr (EBV). As amostras virais obtidas no sétimo dia do estudo não revelaram qualquer eficácia antiviral do ozono, uma vez que as percentagens de microrganismos virais nestas amostragens foram idênticas à situação inicial (Kshitish & Laxman, 2010).

Estes diferentes estudos mostram mais uma vez a insuficiência das pesquisas atuais para tirar conclusões reais, uma vez que apresentam resultados dispares. O ozono parece causar a inativação de certos vírus, sem destruí-los.

9.2. OS EFEITOS IMUNOESTIMULADORES DO OZONO

O ozono influencia tanto o sistema imunológico humoral como o celular, ao estimular a proliferação de células imunocompetentes, bem como a síntese de imunoglobulinas. Por outro lado, também permite a ativação da função macrofágica, bem como o aumento da sensibilidade dos microrganismos à fagocitose. Além disso, o ozono em contato com

os ácidos gordos da camada lipídica insaturada de membranas celulares, forma peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que é um dos mais importantes indutores da produção de citocininas.

O ozono usado em altas concentrações causa efeitos imunossupressores enquanto que quando utilizado em baixas concentrações, tem efeitos imunoestimuladores e benéficos na redução da inflamação e na reparação de danos nos tecidos, propriedades importantes no caso de doenças periodontais (Gupta & Mansi, 2012; Pattanaik et al., 2011; Seidler et al., 2008).

9.3. OS EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS DO OZONO

As zonas de infecção ou inflamação são geralmente meios ácidos, e como ozono tem um pH básico é quimicamente atraído para estas zonas, sendo responsável por um vasto leque de ações biológicas, entre elas: intervém positivamente na síntese de substâncias biologicamente ativas como as interleucinas, leucotrienos e prostaglandinas que vão reduzir a inflamação e a dor na área (Sujatha et al., 2013).

Em 2007, Huth e os seus colaboradores realizaram um estudo que pretendia avaliar o efeito do ozono sobre o sistema NF-κB (factor nuclear kappa B), que se encontra envolvido na patogénese da doença periodontal e periodontite apical, sendo um factor de transcrição responsável pela apoptose. A análise dos dados revelou que a ativação do NF-κB induzida pela citocinina TNF (fator de necrose tumoral) foi inibido de forma dose-dependente em células orais quando cultivadas num meio com ozono, sendo que, nenhum efeito tóxico foi observado. Foi ainda incubado tecido do ligamento periodontal lesado com O₃, onde foi também observada a inibição da atividade do NF-κB, o que sugere que o ozono sob certas condições exhibe efeitos anti-inflamatórios (Huth et al., 2007).

A ativação de certas células do sistema imunológico, particularmente de neutrófilos e de macrófagos, leva à libertação de muitas enzimas que podem ser responsáveis pela destruição do tecido periodontal. Um papel importante nestes processos é atribuído às metaloproteinases da matriz (MMPs), as quais são parte da maior família de enzimas metaloproteinases que desempenham um papel importante na cicatrização de feridas. Estas MMP degradam preferencialmente as proteínas que compõem a matriz extracelular dos tecidos e para isso requerem a presença de um ião metálico de zinco no centro ativo

da enzima. Durante o fenómeno inflamatório, as MMPs são produzidas por células inflamatórias ativadas (neutrófilos e macrófagos), bem como pelas células da área lesada (células epiteliais, fibroblastos e células endoteliais dos vasos). Embora, estas tenham um papel importante na neoformação tecidual, quando presentes numa concentração elevada, por muito tempo e fora dos locais habituais, as MMPs podem degradar proteínas que não são os seus substratos normais, o que pode conduzir à destruição de fatores de crescimento, receptores e proteínas matriz extracelular, que são essenciais para regeneração tecidual (Gibson, Cullen, Legerstee, Harding, & Schultz, 2009) (Skurska et al., 2010).

Skurska et al. (2010) realizou uma pesquisa clínica para determinar o efeito da ozonoterapia na taxa de MMPs em pacientes com periodontite crónica ou agressiva. Um total de cinquenta e dois pacientes participaram neste estudo, divididos em três grupos: um primeiro grupo CP-S correspondendo a pacientes com periodontite crónica, no qual somente é feito destartarização e alisamento radicular (SRP), um segundo grupo CP-O que corresponde a pacientes com periodontite crónica tratada com SRP e suplementada com irrigação de ozono, que é aplicado a cada dois dias durante uma semana, e finalmente, um grupo AP composto por pacientes com periodontite agressiva que também são tratados com SRP e é feita a irrigação com ozono da mesma forma. Foram realizadas várias medições em três momentos do estudo (antes tratamento, duas semanas e dois meses após o tratamento), tais como: índice de placa (IP), índice gengival (IG), profundidades de sondagem e perda de inserção clínica, e foram recolhidas amostras salivares para medir o nível de MMP-1, 8 e 9 de acordo com o teste ELISA. Os resultados obtidos mostram nos três grupos uma diminuição significativa nos vários parâmetros clínicos medidos, no entanto, a medição da taxa de MMP mostra um aumento da mesma no grupo CP-O, mas uma redução no grupo AP. Este estudo clínico não permite, portanto, concluir que a terapia com água ozonada associada à SRP tenha uma eficácia adicional quando comparada com um SRP sozinho no que diz respeito aos níveis de MMP's (Skurska et al., 2010).

Dhingra e Vandana realizaram, em 2011, um estudo clínico que procurava demonstrar o potencial anti-inflamatório do ozono. Orientaram, por isso, o estudo para a inflamação presente na doença periodontal encontrada em pacientes com múltiplas bolsas. Da amostra do estudo clínico fizeram parte 15 pacientes saudáveis, com idade média de 17 anos, todos a efetuar tratamento ortodôntico *multi-ward*, com o objetivo de avaliar a

atividade dentro do fluido gengival destes pacientes, da enzima lactato desidrogenase (LDH), que, de acordo com vários estudos, está relacionada com inflamação gengival e com a destruição tecidual, culminando, assim, no desenvolvimento e progressão da periodontite. Os diferentes índices clínicos, bem como a atividade da LDH no fluido e a taxa de fluxo do fluido gengival (que está relacionada com o grau de inflamação) foram medidos inicialmente antes da irrigação gengival com água ozonada, catorze e vinte dias depois. Os resultados mostram uma diminuição significativa nos índices clínicos (gengival e hemorrágico), bem como uma diminuição significativa no fluxo do fluido gengival, e também da atividade da LDH. Podemos, portanto, assumir que há eficácia anti-inflamatória do ozono, são, no entanto, necessários estudos adicionais (Dhingra & Vandana, 2011).

Tal como acontece com a investigação realizada sobre os efeitos antimicrobianos do ozono, os dados atuais não permitem concluir com certeza a eficácia anti-inflamatória do ozono, no entanto, os resultados obtidos em algumas destas investigações parecem muito promissores.

9.4. OS EFETOS ANTI-HIPÓXICOS DO OZONO

Ao nível dos tecidos submetidos ao ozono, observa-se um aumento da pressão parcial de oxigénio no sangue (PO_2). Isto traduz-se em mudanças no nível de metabolismo celular, com ativação de processos aeróbicos (glicólise, ciclo de Krebs, β -oxidação) e o uso de recursos energéticos.

A ozonoterapia causa um aumento do índice glicólico nos glóbulos vermelhos, o que conduz a uma estimulação da 2,3-difosfoglicerato, havendo uma alteração da estrutura da membrana celular dos eritrócitos, que leva a um aumento dos níveis de oxigénio presentes nos tecidos. Por outro lado, o ozono ativa o ciclo de Krebs aumentando a carboxilação oxidativa do piruvato, estimulando a produção de ATP (adenosina trifosfato). Causa também uma redução significativa do NADH (nicotinamida adenina dinucleotido) e ajuda a oxidar o citocromo C. Há, também, uma estimulação da produção de enzimas que captam os radicais livres e protegem a parede celular: glutatião peroxidase, catalase e superóxido dismutase e prostaciclina (Gupta & Mansi, 2012; Seidler et al., 2008; Srikanth et al., 2013; Sujatha et al., 2013; Tiwari et al., 2017).

9.5. OS EFEITOS DO OZONO NA BIOSÍNTESE

O ozono ativa mecanismos de síntese proteica, aumenta a quantidade de ribossomas e mitocôndrias nas células que por sua vez fazem aumentar a sua atividade funcional bem como o seu potencial de regeneração ao nível dos tecidos e órgãos (Gupta & Mansi, 2012; Seidler et al., 2008; Sujatha et al., 2013).

10. A BIOCAMPATIBILIDADE DO OZONO

Em 2004, Nagayoshi, Kitamura, & Fukuizumi concluíram que a água ozonada apresenta uma excelente atividade antimicrobiana e baixa citotoxicidade ao nível dos tecidos periapicais, mais especificamente os fibroblastos (Nagayoshi, Kitamura, Fukuizumi, Nishihara, & Terashita, 2004).

Huth et al. (2006), realizou um estudo *in vitro* com o objetivo de entender se o ozono aquoso ou gasoso exercia efeitos tóxicos sobre as células epiteliais (BHY) e sobre os fibroblastos gengivais humanos (HGF-1), em comparação com os antissépticos comumente usados e com um antibiótico tópico (metranidazol), usando diversas técnicas bioquímicas independentes.

As amostras são inicialmente expostas a ozono gasoso durante 1 minuto e é então feita a contagem do número de células sendo que, há um decréscimo significativo no total de células, bem como um aumento no número de células necrosadas. Por outro lado, foi também avaliada a atividade metabólica das células, sendo que após a exposição ao ozono, houve um decréscimo da atividade enzimática na ordem dos 50% ou mais consoante a dose aplicada, salientando-se que com concentrações mais elevadas a atividade enzimática chegou a ser praticamente nula. Este resultado é confirmado ao avaliar os níveis de ATP presentes nas células, sendo que há um decréscimo na ordem dos 50% em ambos os tipos de células.

O efeito do ozono aquoso nas células também foi estudado e comparado com clorexidina (CHX), hipoclorito de sódio (NaOCl) e ainda peróxido de hidrogénio (H₂O₂). A contagem das células BHY e HGF-1 no grupo tratado com água ozonada não mostrou

mudanças significativas comparativamente ao grupo controle. Já o contato com CHX (0,2% e 2%) resultou numa redução acentuada de BHY, e uma ligeira redução HGF-1. No entanto, a exposição ao NaOCl (2,25% e 5,25%) e ao H₂O₂ (3%) levou a uma forte diminuição na contagem de células (BHY, HGF-1) e a um aumento marcado no número de células necrosadas. Neste estudo foi também avaliada a atividade metabólica das células, as quais não mostraram alterações significativas na sua atividade metabólica após o contato com a água ozonada, apenas um decréscimo mínimo quando a concentração foi mais elevada em comparação com o controle. Ao passo que, após o contacto com CHX, a atividade metabólica das células BHY diminuiu significativamente, enquanto que as células HGF-1 só foram afetadas pela CHX em maiores concentrações; e após a exposição ao NaOCl e ao H₂O₂ a atividade metabólica das células em estudo foi significativamente inibida. A exposição de 24 horas ao metronidazol resultou numa diminuição da atividade metabólica das células BHY mas não houve nenhuma alteração ao nível das células HGF-1. Resultados semelhantes foram obtidos ao analisar os níveis de ATP, não houve alteração após o contacto com a água ozonada, apenas um ligeiro decréscimo quando a concentração foi mais elevada, em comparação com o controle; e as células expostas ao NaOCl e ao H₂O₂ (BHY, HGF-1) ou à CHX (apenas BHY) mostraram níveis significativamente mais baixos de ATP do que as que contactaram com a água ozonada.

Conclui-se, portanto, neste estudo que o ozono gasoso parece ter efeitos tóxicos sobre as células epiteliais e fibroblastos, já a água ozonada demonstra ter uma biocompatibilidade superior aos antissépticos e antibióticos vulgarmente utilizados (Huth et al., 2006).

A evidencia científica atual sugere, então, que existe uma boa biocompatibilidade do ozono com as células epiteliais, com as células periodontais e com os fibroblastos gengivais (Azarpazhooh & Limeback, 2007; Ebensberger, Pohl, & Filippi, 2002; Habashneh, Alsalman, & Khader, 2015)

11. A FUNÇÃO DO OZONO NA TERAPIA PERIODONTAL

O objetivo do tratamento periodontal é eliminar a infecção e prevenir a progressão da doença. Muitos estudos demonstraram que a terapia não-cirúrgica, que inclui destartarização e alisamento radicular (SRP) associada a um bom nível de higiene oral, pode prevenir a progressão da periodontite e permitir a manutenção adequada da saúde oral. (Greenstein, 2000)

O tratamento mecânico das raízes, com ou sem acesso cirúrgico em locais subgingivais, é um pré-requisito para controlar infecções periodontais. No entanto, geralmente não é suficiente para eliminar totalmente as colónias de *A. actinornycetemcomitans*, de *P. gingivalis*, de *P. intermedia*, de *B. forsythus*, de *P. micros*, e de bastonetes entéricos. Assim, de modo a aumentar a eficácia do tratamento periodontal podem ser aplicados localmente agentes antimicrobianos nas bolsas periodontais, visto que, estes compostos químicos suprimem certos agentes patogénicos periodontais.

A eficácia dos agentes antimicrobianos, aplicados localmente nas zonas de progressão da doença periodontal, depende do tempo de contato entre o agente antimicrobiano e os microrganismos-alvo, e da aplicação de concentrações que sejam eficazes contra os microrganismos patogénicos (Rams & Slots, 1996).

Em Medicina Dentária, a aplicação de agentes antimicrobianos é frequentemente feita através de soluções de irrigação antissépticas, sendo que a clorexidina e a iodopovidona são os agentes mais utilizados (Srikanth et al., 2013). No entanto, ambas têm os seus efeitos secundários. Sabe-se que o uso prolongado de clorexidina pode causar descamação do mucosa oral, ulcerações e alterações do paladar; além disso, já foram descritos riscos alérgicos como choques anafiláticos após o uso de clorexidina. Relativamente à iodopovidona, deve haver o maior dos cuidados em especial com os doentes alérgicos ao iodo, aos que padecem de disfunção tiroideia e mulheres grávidas (Fleischer & Reimer, 1997; Hayakumo et al., 2013; Krautheim, Jermann, & Bircher, 2004; Srikanth et al., 2013).

Assim, tendo em conta os efeitos descritos acima, as propriedades antimicrobianas do ozono, o facto deste composto não desenvolver resistências por parte das bactérias, ser capaz de modular a resposta imune e ser bem tolerado pelas células da mucosa oral (especialmente sob a forma aquosa), pode ser nos dias de hoje uma alternativa aos agentes antissépticos convencionalmente usados (Srikanth et al., 2013).

Em 2013, Hayakumo e seus colaboradores realizaram um estudo onde pretendiam avaliar se haveria efeitos práticos ao usar o ozono como terapia coadjuvante à técnica de alisamento radicular. Foram seleccionados 21 doentes portadores de periodontite crónica leve a moderada, com pelo menos 20 dentes e que tivessem pelo menos uma bolsa com profundidade superior a 4 mm por quadrante. Foi feito o alisamento supra e infra gengival e aplicada água ou água ozonada (11 e 10 doentes respetivamente), sendo que os seguintes parâmetros foram registados antes do tratamento e 4 e 8 semanas após o tratamento: profundidade de sondagem, hemorragia à sondagem e nível de inserção.

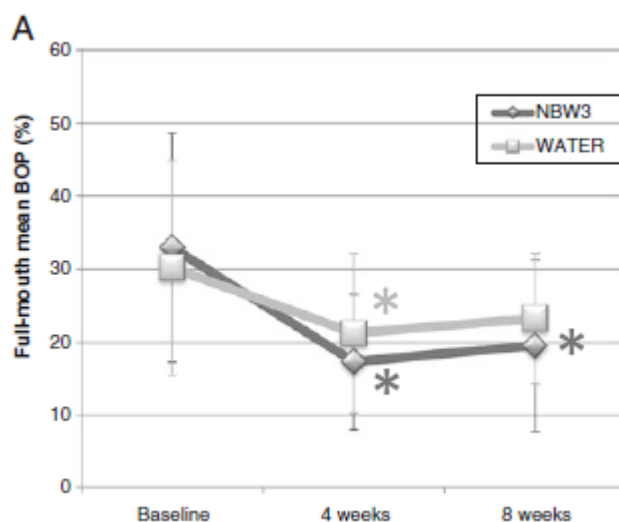


Figura 20. Alterações na percentagem de hemorragia à sondagem (Hayakumo et al., 2013).

A percentagem de hemorragia diminuiu significativamente desde o início até 4 semanas em ambos os grupos. No entanto, apenas o grupo tratado com água ozonada apresentou um resultado de melhoria estatisticamente significativo às 8 semanas (>10%). Quando os grupos de tratamento foram comparados entre si, não houve diferenças estatisticamente significativas em qualquer período de reavaliação.

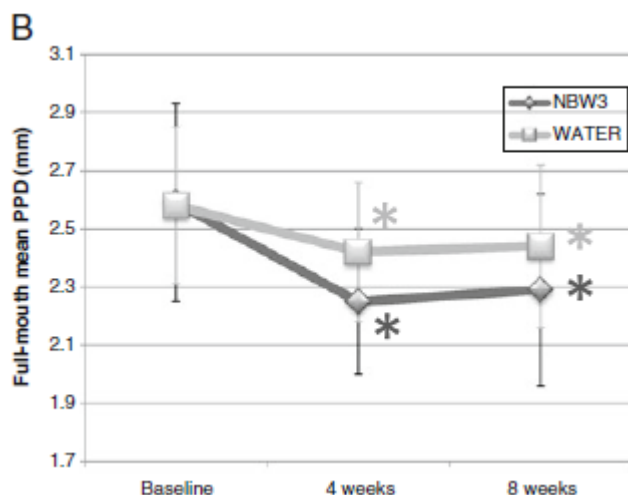


Figura 21. Alterações registadas da profundidade de sondagem expressas em mm (Hayakumo et al., 2013).

Relativamente à profundidade de sondagem houve melhorias estatisticamente significativas em ambos os grupos, desde o início até 4 semanas e 8 semanas. Quando os dois grupos de tratamento foram comparados, as diferenças na profundidade média de sondagem em toda a boca não foram estatisticamente significativas.

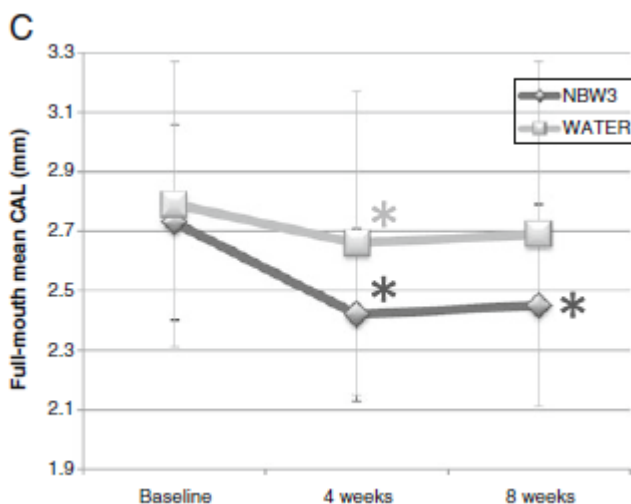


Figura 22. Alterações registadas do nível de inserção expressas em mm (Hayakumo et al., 2013).

A média da perda do nível de inserção periodontal diminuiu significativamente desde o início até 4 semanas em ambos os grupos. No entanto, apenas o grupo da água ozonada mostrou uma melhora estatisticamente significativa às 8 semanas. Quando os grupos de

tratamento foram comparados entre si, não houve diferença estatisticamente significativa na média do nível de inserção em qualquer período de reexame.

		Δ BOP (%) ^a	Δ PPD (mm) ^a	Attachment gain (mm) ^a
4 weeks	NBW3 (N=10)	15.69±12.5	0.34±0.2*	0.31±0.1*
	WATER (N=11)	8.98±9.2	0.17±0.1	0.10±0.2
8 weeks	NBW3 (N=10)	13.47±9.2	0.29±0.2*	0.27±0.2*
	WATER (N=11)	6.97±10.8	0.14±0.2	0.09±0.2

Figura 23. Melhoria nos parâmetros clínicos às 4 e 8 semanas (Hayakumo et al., 2013).

A percentagem da hemorragia à sondagem foi reduzida em 15,69 e 8,98% em 4 semanas e 13,47 e 6,97% em 8 semanas nos grupos água ozonada e água, respetivamente. Quando os grupos de tratamento foram comparados um com o outro, não houve diferenças significativas em relação à quantidade de redução da percentagem de hemorragia nas 4 e 8 semanas, ainda assim, numericamente detetaram-se maiores reduções no grupo tratado com água ozonada.

A profundidade de sondagem média foi reduzida 0,34 e 0,17 mm às 4 semanas e 0,29 e 0,14mm às 8 semanas nos grupos tratados com água ozonada e água, respetivamente. Quando os grupos de tratamento foram comparados entre si, houve diferenças significativas na redução da média da profundidade de sondagem em ambas as semanas.

O ganho de inserção periodontal foi de 0,31 e 0,1 mm às 4 semanas e 0,27 e 0,09 mm às 8 semanas no tratamento com água ozonada e água, respetivamente. Quando os grupos de tratamento foram comparados um com o outro, houve diferenças significativas a quantidade de ganho de inserção em ambas as semanas.

Conclui-se que apesar de não haverem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos tratados com ozono e água em qualquer um dos parâmetros avaliados e em qualquer período de reavaliação, o estudo mostra que as reduções na média de profundidade de sondagem às 4 e 8 semanas no grupo do ozono foram significativamente

maiores do que as do grupo da água, com o correspondente maior ganho no nível de inserção no grupo do ozono (Hayakumo et al., 2013).

Iliadis & Millar em 2013 realizaram um estudo no qual pretendiam avaliar os efeitos do ozono gasoso no tratamento periodontal. Decidiu-se recrutar 25 doentes nos quais a terapia periodontal convencional tivesse falhado. Começaram por fazer um exame periodontal básico (EPB), trata-se de um índice que agrupa a hemorragia, os fatores retentivos de placa e a profundidade das bolsas sendo traduzido de forma numérica como demonstrado no quadro abaixo.

0	No bleeding or pocketing detected
1	Bleeding on probing—no pocketing > 3.5 mm
2	Plaque retentive factors present—no pocketing > 3.5 mm
3	Pockets > 3.5 mm but < 5.5 mm in depth
4	Pockets > 5.5 mm in depth

Figura 24. Índice BPE (Iliadis & Millar, 2013).

Os pacientes foram tratados com uma associação entre a terapia periodontal convencional e a aplicação de ozono gasoso durante 18 segundos por bolsa. Após o tratamento foram dadas instruções sobre a higiene oral e marcaram-se *follow-ups* de 6 semanas e 3 meses.

O índice EPB e a profundidade das bolsas só foram registados na segunda consulta de *follow-up*. A primeira consulta teve meramente como objetivo avaliar se todos os pacientes estavam a cumprir as instruções de higiene oral.

Com base no EPB realizado três meses após o tratamento inicial com ozono, ficou claro que de uma maneira geral vinte dos pacientes melhoraram (80%), quinze tiveram melhorias em mais do que três regiões e cinco numa ou duas regiões. Ainda assim, cinco dos pacientes não só não melhoraram como nalguns casos até houve um avanço da doença periodontal. O gráfico mostra as alterações no índice EPB para cada um dos 25 pacientes que compareceram às duas consultas.

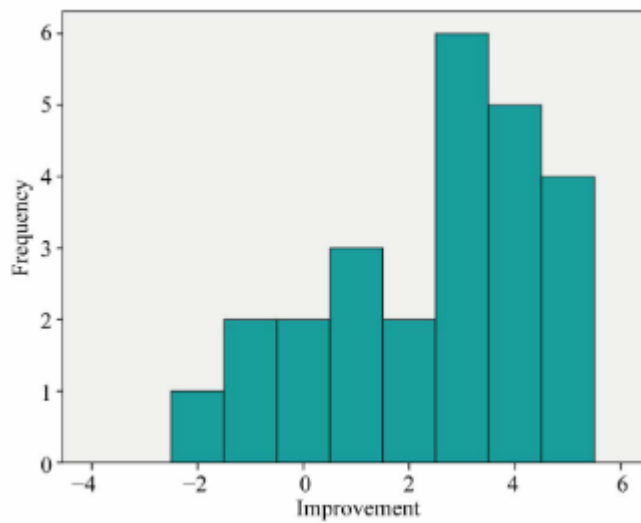
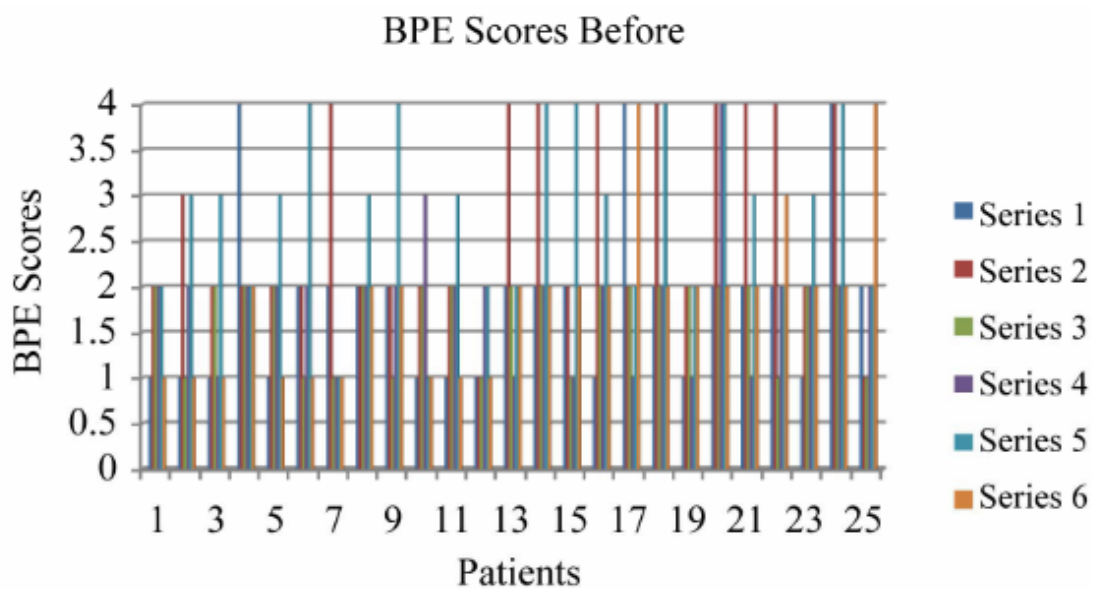


Figura 25. Melhorias do índice BPE registadas nos 25 pacientes após a aplicação de ozono (Iliadis & Millar, 2013).

Os gráficos seguintes permitem-nos avaliar para cada um dos vinte cinco doentes se o índice EBP apresentou melhorias depois da aplicação do ozono.



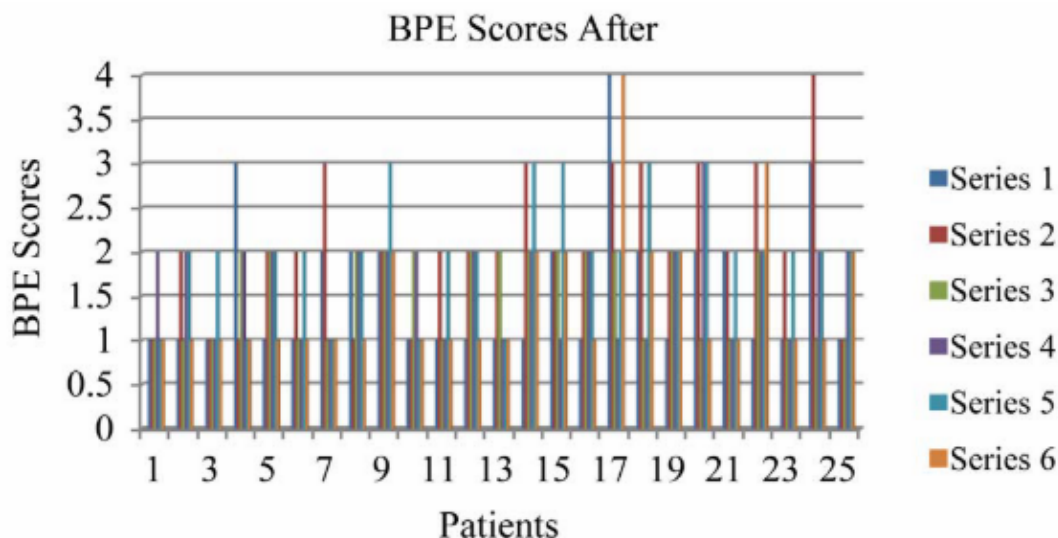


Figura 26. Diferenças na profundidade das bolsas antes e depois da aplicação do ozono em cada um dos 25 pacientes. As séries 1-6 indicam as seis bolsas mais profundas medidas em cada paciente (Iliadis & Millar, 2013).

O estudo conclui que oito pacientes tiveram uma melhoria na profundidade das bolsas periodontais de três milímetros, dezasseis pacientes tiveram melhoria de um a dois milímetros e um paciente não só não melhorou como a profundidade da bolsa aumentou um milímetro. Ainda assim, segundo o estudo, a profundidade das bolsas após o uso de ozono diminuiu significativamente (Iliadis & Millar, 2013).

Em 2016, Sacco & Campus deram início a uma investigação científica com uma amostra de 113 doentes, na qual pretendiam averiguar os resultados clínicos da ozonoterapia local como tratamento coadjuvante. Os doentes incluídos tinham que apresentar pelo menos oito dentes com uma bolsa periodontal superior a 5 mm e tinham que ter pelo menos 20 dentes em boca. Os doentes foram divididos em dois grupos: o primeiro grupo recebeu tratamento mecânico e ozonoterapia, já o segundo serviu como grupo controlo e recebeu apenas tratamento mecânico. Os fatores avaliados no estudo foram a hemorragia a sondagem e a profundidade de sondagem antes do tratamento, às 6 e 8 semanas, e por fim aos 6 meses. Os respetivos resultados são apresentados nos quadros abaixo.

Variable	Time	Case group	Control group
PD (mm±SD)	t ₀	4.13±0.66	3.98±0.60
	t ₁	3.3±0.3	3.5±0.4
	t ₂	3.5±0.5	3.6±0.3
Bleeding (%±SE)	t ₀	89.90±1.66	86.66±1.87
	t ₁	16.52±1.77	21.87±1.45
	t ₂	16.95±2.22	26.65±1.84

Figura 27. Dados estatísticos descritivos dos índices clínicos medidos em 3 momentos (Sacco & Campus, 2016).

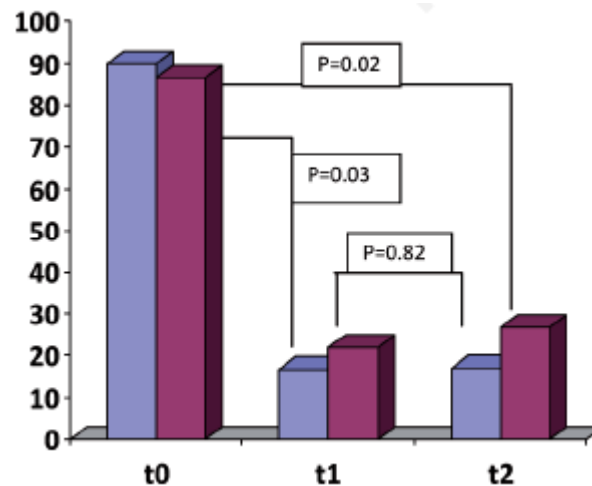


Figura 28. Gráfico de barras da hemorragia média à sondagem (Sacco & Campus, 2016).

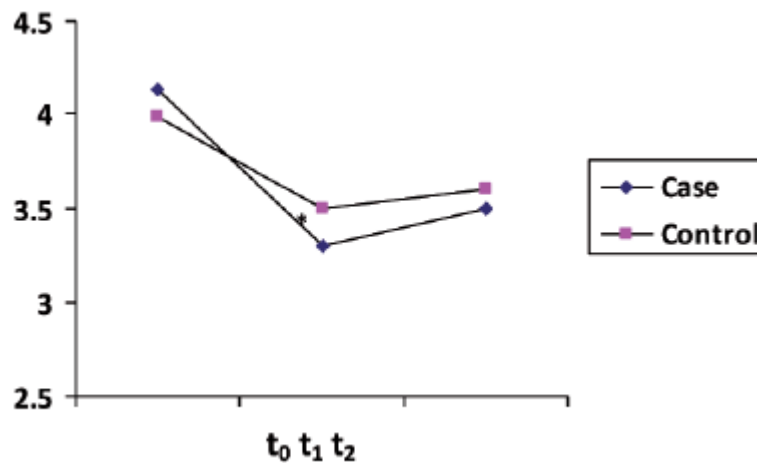


Figura 29. Profundidade de sondagem média ao longo do tempo (Sacco & Campus, 2016).

É evidente neste estudo que tanto a profundidade de sondagem como a hemorragia à sondagem diminuíram quer no grupo de teste quer no grupo controlo. Ainda assim, como demonstrado nos quadros acima, aos 6 meses a profundidade de sondagem tem um decréscimo maior no grupo de teste (4.13-3.5mm) do que no grupo controlo (3.98-

3.6mm), tal como a hemorragia à sondagem que passa de 89.90% a 16.95% no grupo de teste enquanto que no grupo controlo apenas houve um decréscimo dos 86.66% para os 26.65%.

À luz dos resultados, conclui-se que a ozonoterapia como tratamento coadjuvante à terapia periodontal convencional apresenta melhorias clínicas em relação à terapia convencional como monoterapia pelo menos no que diz respeito à profundidade de sondagem e à hemorragia à sondagem (Sacco & Campus, 2016).

Issac e os seus colaboradores em 2015 realizaram um estudo clínico com uma amostra de 30 doentes com periodontite crónica com o objetivo de avaliar o efeito da irrigação de água ozonada nos parâmetros clínicos (índice gengival, profundidade de sondagem da bolsa e nível de inserção). Foram selecionados dois locais com profundidade de sondagem ≥ 6 mm, em que um representa o grupo de teste (mandibular), e o outro no lado contralateral e na arcada oposta (maxilar) serviu de controlo.

No grupo de controlo foi efetuada uma terapia convencional através de alisamento e curetagem, já no grupo de teste efetuou-se não só a terapia convencional como uma posterior irrigação com água ozonada.

Como demonstrado nos quadros abaixo os seguintes parâmetros foram avaliados antes do tratamento e 4 semanas após o mesmo: índice gengival, profundidade de sondagem e nível de inserção.

		Mean	SD±	N	t	p-value
Baselines	Test	1.88	0.33	30	1.63	0.109
	Control	2.00	0.21	30		
4 weeks	Test	0.73	0.27	30	5.25**	<0.0001
	Control	1.13	0.33	30		

Figura 30. Comparativo índice gengival (Issac et al., 2015).

		Mean	SD	N	t	p
Baselines	Test	6.43	0.73	30	1.12	0.269
	Control	6.67	0.88	30		
4 weeks	Test	3.93	1.72	30	4.7**	<0.0001
	Control	5.67	1.06	30		

Figura 31. Comparativa profundidade de sondagem (Issac et al., 2015).

		Mean	SD	N	t	p-value
Baselines	Test	6.90	0.92	30	0.39	0.699
	Control	6.80	1.06	30		
4 weeks	Test	4.40	1.85	30	3.38**	0.001
	Control	5.73	1.11	30		

Figura 32. Comparativo nível de inserção (Issac et al., 2015).

Todos os parâmetros observados neste estudo diminuíram às quatro semanas quer no grupo de teste quer no de controlo, ainda assim, os resultados obtidos no grupo de teste revelaram maiores ganhos.

O estudo conclui que a irrigação de água ozonada sub gengival parece ter um papel importante na melhoria da higiene oral, na redução da inflamação gengival, na diminuição da profundidade de sondagem e ainda no aumento do nível de inserção, quando utilizada como técnica coadjuvante aos alisamentos e destartarização no tratamento da doença periodontal (Issac et al., 2015).

Por outro lado, em 2015 Habashneh, Alsalman, & Khader realizaram um estudo clínico também com o objetivo de averiguar se a irrigação com água ozonada produz algum efeito significativo no tratamento da doença periodontal.

Recrutaram 41 doentes com periodontite crónica dos quais 21 sujeitos fizeram parte do grupo controlo que recebeu tratamento não cirúrgico e irrigação com água destilada e 20 pacientes fizeram parte do grupo de teste que recebeu tratamento não cirúrgico com irrigação das bolsas com água ozonada. Os seguintes parâmetros foram medidos antes do tratamento(t0) e 3 meses após o tratamento(t1): índice de placa, índice gengival,

hemorragia à sondagem, profundidade de sondagem, recessão gengival e nível de inserção. Os resultados são apresentados nas tabelas abaixo.

Parameter	T0	T1	Mean change from T0 to T1	p-Value
Average PI				
Test	1.6 ± 0.5	1.1 ± 0.7	0.5	0.004*
Control	1.5 ± 0.6	1.1 ± 0.8	0.4	0.010*
<i>p</i> -Value (Test vs. Control) = 0.525**				
Average GI				
Test	1.6 ± 0.5	1.5 ± 0.6	0.1	0.287*
Control	1.6 ± 0.5	1.3 ± 0.6	0.3	0.016*
<i>p</i> -Value (Test vs. Control) = 0.540**				
Percentage of sites with BOP				
Test	75.0 ± 26.0	23.0 ± 20.0	52.0	< 0.001*
Control	72.0 ± 28.0	26.0 ± 24.0	46.0	< 0.001*
<i>p</i> -Value (Test vs. Control) = 0.399**				

Figura 33. Alterações no índice de placa, índice gengival e percentagem de pontos hemorrágicos à sondagem no grupo de teste e de controlo em T0 e T1 (Habashneh et al., 2015).

No índice gengival as diferenças depois do tratamento são maiores no grupo controlo do que no próprio grupo de teste. Já ao nível do índice de placa e hemorragia à sondagem as diferenças são maiores no grupo de teste, mas não são consideradas estatisticamente significativas.

Parameter	T0	T1	Mean change from T0 to T1	p-Value
Probing pocket depth (mm)				
Test	2.8 ± 0.4	2.0 ± 0.4	0.8	< 0.001*
Control	2.4 ± 0.4	2.0 ± 0.3	0.4	< 0.001*
<i>p</i> -Value (Test vs. Control) = 0.059**				
Percentage of sites with probing pocket depth ≥ 4 mm				
Test	24.1 ± 13.2	4.0 ± 6	20.1	< 0.001*
Control	15.6 ± 10.1	4.0 ± 6	11.6	< 0.001*
<i>p</i> -Value (Test vs. Control) = 0.163**				

Figura 34. Alterações na profundidade de sondagem no grupo de teste e de controlo em T0 e T1 (Habashneh et al., 2015).

Relativamente à profundidade de sondagem verifica-se uma diminuição em ambos os grupos, mas esta é superior no grupo de teste.

Parameter	T0	T1	Mean change from T0 to T1	<i>p</i> -Value
Clinical attachment loss (mm)				
Test	1.5 ± 1.2	1.1 ± 1.1	0.4	0.015*
Control	1.7 ± 1.2	1.1 ± 1.0	0.6	< 0.001*
<i>p</i> -Value (Test vs. Control) = 0.934**				
Percentage of sites with clinical attachment loss ≥ 3 mm				
Test	24.0 ± 24.2	19.0 ± 21.1	5.0	0.019*
Control	28.0 ± 18.0	22.8 ± 17.2	5.2	0.141*
<i>p</i> -Value (Test vs. Control) = 0.879**				

Figura 35. Alterações no nível de inserção periodontal nos grupos de teste e de controlo em T0 e T1 (Habashneh et al., 2015).

Sobre o nível de inserção, registaram-se ganhos nos dois grupos, mas contrariamente ao que se esperava foi o grupo de controlo que registou um maior ganho de inserção.

Este estudo conclui que 3 meses após o tratamento de irrigação com água ozonada como terapia coadjuvante à terapia convencional não houve resultados benéficos estatisticamente significativos quando comparado com o tratamento convencional com irrigação com água destilada no que diz respeito ao índice de placa, índice gengival, hemorragia à sondagem, profundidade de sondagem e nível de inserção (Habashneh et al., 2015).

V. CONCLUSÃO

A ozonoterapia tem vindo a ser testada e usada na Medicina ao longo dos anos com a finalidade de tratamento de diversas patologias. As propriedades únicas do ozono já conhecidas há largos anos como imunoestimuladoras, analgésicas, anti hipóxicas, antimicrobianas e bio sintéticas fazem da ozonoterapia, em teoria, uma boa solução para diversas patologias. Esta alternativa terapêutica tem como vantagens ser um procedimento não invasivo, atraumático e indolor pelo que cada vez mais se aposta na procura de resultados clínicos no tratamento de diversas patologias, entre elas a periodontite.

Os tratamentos com ozono na Medicina Dentária têm vindo a ganhar algum espaço e interesse, mas o seu uso ainda é muito controverso junto da comunidade científica devido à sua toxicidade.

Parece haver uma boa evidência nos estudos *in vitro* em relação à biocompatibilidade da água ozonada quando em contacto com as células epiteliais. Já em relação ao ozono em estado gasoso, parece apresentar excelentes resultados, mas os investigadores consideram que ainda não é segura a sua aplicação correndo-se o risco de inalação por parte do doente.

A água ozonada parece ser eficaz no controlo de bactérias gram+, gram- e fungos *in vitro*. No entanto, parece haver uma diminuição do efeito bactericida do ozono na presença de soro, o qual é parte integrante da matriz extracelular do biofilme subgingival. Isto acontece não só porque o soro tem um papel protetor, que inibe a atividade de diferentes antibióticos e antissépticos, mas também porque as colónias organizam-se em biofilmes. Sendo assim, o uso da ozonoterapia deve ser aplicada conjuntamente com os alisamentos radiculares para desorganizar o biofilme e permitir uma maior eficácia.

Conclui-se que a água ozonada melhora a higiene oral, reduz a inflamação gengival, visto que pode levar a um decréscimo da concentração de MMP's; diminui a profundidade de sondagem, reduz a hemorragia à sondagem e aumenta o nível de inserção quando é aplicada juntamente com os alisamentos radiculares em doentes com periodontite crónica, uma vez que é capaz de reduzir a quantidade de bactérias

anaeróbicas presentes nas bolsas periodontais e de prevenir a sua recolonização. Quando comparado com outros agentes antissépticos usualmente utilizados, consegue resultados semelhantes ou superiores, sendo que apresenta menos efeitos adversos.

Contudo, em termos de custo-benefício, a aplicação de ozono não parece ainda ter tido resultados satisfatórios. Verifica-se, também, alguma divergência de resultados nos estudos, sendo que na maioria a amostra é reduzida. Assim, é imperativo a realização de mais estudos com o mesmo protocolo de aplicação e análise, a avaliarem os mesmos parâmetros e com amostras significativas para que haja uma maior evidência científica. Ainda assim parecem haver resultados encorajadores que justifiquem a continuidade da investigação científica sobre esta terapia complementar, de modo a ser possível proporcionar o melhor tratamento aos pacientes.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Algan, S., Gursoy, H., Noyan, U., Kuru, B. E., & Kadir, T. (2013). Evaluation of the Clinical and Antimicrobial Effects of the Er : YAG Laser or Topical Gaseous Ozone as Adjuncts to Initial Periodontal Therapy. *Photomedicine and Laser Surgery*, 31(6), 293–298. doi: 10.1089/pho.2012.3379
- Azarpazhooch, A., & Limeback, H. (2007). The application of ozone in dentistry: A systematic review of literature. *Journal of Dentistry*, 36(8), 104–116. doi: 10.1016/j.jdent.2007.11.008
- Baysan, A., & Lynch, E. (2005). The use of ozone in medicine, *Primary Dental Care*, 12(2) 47-52. doi: 10.1308/1355761053695158
- Bocci, V. (2006). Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 216(6), 493–504. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2006.06.009>
- Bocci, V. A. (2006). Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Archives of Medical Research*, 37(2006), 425-435. doi: 10.1016/j.arcmed.2005.08.006
- Bocci, V. A. (2007). Tropospheric Ozone Toxicity vs. Usefulness of Ozone Therapy. *Archives of Medical Research*, 38(2007), 265–267. doi: 10.1016/j.arcmed.2006.09.011
- Caton G., Armitage G., Berglundh T., Chapple I., Jepsen S., Kornman S., Mealey, L., Papananou P., Sanz M., & Tonetti S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of Clinical Periodontology*, 89(1), 1–8. doi: 10.1111/jcpe.12935
- Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., & Van Dyke, T. E. (2013). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 64(2014), 57–80. doi: 10.1111/prd.12002
- Dentino, A., Lee, S., Mailhot, J., & Hefti, A. F. (2013). Principles of periodontology 2013, *Periodontology 2000*, 61(357), 16–53. doi: 10.1111/j.1600-0757.2011.00397.x
- Dhingra, K., & Vandana, K. L. (2011). Management of gingival inflammation in orthodontic patients with ozonated water irrigation - a pilot study. *International Journal of Dental Hygiene*, 9(4), 296–302. doi: 10.1111/j.1601-5037.2011.00506.x

- Domb, W. C. (2014). Ozone Therapy in Dentistry A Brief Review for Physicians. *Interventional Neuroradiology*, 20(5), 632–636. doi:10.15274/INR-2014-10083
- Ebensberger, U., Pohl, Y. & Filippi, A. (2002). PCNA-expression of cementoblasts and fibroblasts on the root surface after extraoral rinsing for decontamination. *Dental Traumatology*, 18 (21), 262–266. doi: 10.1034/j.1600-9657.2002.00087.x
- Eick, S., Tigan, M., & Sculean, A. (2012). Effect of ozone on periodontopathogenic species — an in vitro study. *Clinical Oral Investigation*, 16(2), 537–544. doi: 10.1007/s00784-011-0515-1
- Fleisher, W., & Reimer, K. (1997). Povidone-Iodine in Antisepsis – State of Art. *Dermatology*, 195(2), 3-9.
- Garg, R., & Tandon, S. (2008). Ozone: A new face of dentistry. *The Internet Journal of Dental Science*, 7(2), 1–5. doi: 10.5580/c75
- German, I. J. S., Rodrigues, A. C., Andreo, J. C., Pomini, K. T., Ahmed, F. J., Buchaim, D. V., Júnior, G. M. R., Gonçalves, J. B. O., & Buchaim, R. L. (2013). Ozone Therapy in Dentistry: A Systematic Review. *International Journal of Odontostomatology*, 7(2), 267–278. doi: 10.4067/S0718-381X2013000200017
- Gibson, D., Cullen, B., Legerstee, R., Harding, K. G., & Schultz, G. (2009). MMPs Made Easy. *Wounds International*, 1(1), 1-6.
- Goodson, J.M. (1989). Pharmacokinetic Principles Controlling Efficacy of Oral Therapy. *Journal of Dental Research*, 68, 1625–1632.
- Gopalakrishnan, S., Parthiban, S. (2012) Ozone – A New Revolution In Dentistry. *Journal of Bio Innovation*, 1(3), 215-226.
- Graziani, Karapetsa, Alonso, & Herrera. (2017). Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: how many options for one disease?. *Periodontology 2000*, 75, 152-188.
- Greenstein, G. (2000). Nonsurgical periodontal therapy in 2000:A literature review. *Journal of the American Dental Association*, 131(11), 1580–1592. doi: 10.14219/jada.archive.2000.0087
- Gupta, G., & Mansi, B. (2012). Ozone therapy in periodontics. *Journal of Medicine and Life*, 5(1), 59–67. Retrieved from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3307081&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Habashneh, R. A., Alsaman, W., & Khader, Y. (2015). Ozone as an adjunct to conventional nonsurgical therapy in chronic periodontitis : a randomized controlled

- clinical trial. *Journal of Periodontal Reserch*, 50(1), 37-43. doi: 10.1111/jre.12177
- Hayakumo, S., Arakawa, S., Izumi, Y., & Mano, Y. (2013). Clinical and microbiological effects of ozone nano-bubble water irrigation as an adjunct to mechanical subgingival debridement in periodontitis patients in a randomized controlled trial. *Clinical Oral Investigation*, 17(2), 379–388. doi:10.1007/s00784-012-0711-7
- Huth, K. C., Jakob, F. M., Saugel, B., Cappello, C., Paschos, E., Hollweck, R., Hickel, R., & Brand, K. (2006). Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *European Journal of Oral Sciences* 114(1), 435–440. doi: 10.1111/j.1600-0722.2006.00390.x
- Huth, K. C., Quirling, M., Lenzke, S., Paschos, E., Kamereck, K., Brand, K., Hickel, R., & Ilie, N. (2011). Effectiveness of ozone against periodontal pathogenic microorganisms. *European Journal of Oral Sciences*, 119(1), 204–210. doi: 10.1111/j.1600-0722.2011.00825.x
- Huth, K. C., Saugel, B., Jakob, F. M., Cappello, C., Quirling, M., Paschos, E., Ern, K., Hickel, R., & Brand, K. (2007). Effect of aqueous ozone on the NF-kappaB system. *Journal of Dental Research*, 86(5), 451–456. doi: 10.1177/154405910708600512
- Iliadis, D., & Millar, B. J. (2013). Ozone and its use in periodontal treatment, *Open Journal of Stomatology*, 3(1), 197–202. doi: 10.4236/ojst.2013.32034
- Issac, A. V., Mathew, J. J., Ambooken, M., Kachappilly, A. J., Ajithkumar, P. K., Johny, T., Linith, V. K., & Samuel, A. (2015). Management of chronic periodontitis using subgingival irrigation of ozonized water: A clinical and microbiological study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(8), 29-33. doi: 10.7860/JCDR/2015/14464.6303
- Krautheim, A. B., Jermann, T. H. M., & Bircher, A. J. (2004). Chlorhexidine anaphylaxis : case report and review of the literature, *Contact Dermatitis* 50(3)113–116. doi: 10.1111/j.0105-1873.2004.00308.x
- Kshitish, D., & Laxman, V. (2010). The use of ozonated water and 0.2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: a clinical and microbiologic study. *Indian Journal of Dental Research*, 21(3), 341-348.
- Kumar, M., Haldia, A., Gupta, R., & Meena, D. (2015). Ozone Therapy in Dentistry- a review. *Gcc Journal of Science and Technology*, 1(5), 181-185. doi: 10.15200/winn.143464.44998
- Lang, N. P., & Bartold, P. M. (2018). Periodontal health. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(20), 9–16. doi:10.1111/jcpe.12936

- Makkar S., & Makkar, M. (2011). Ozone- Treating Dental Infections. *Indian J Stomatol*, 2(4), 256–259.
- Murakami, S., Mealey, B. L., Mariotti, A., & Chapple, I. L. C. (2018). Dental plaque–induced gingival conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(20), 17–27. doi: 10.1111/jcpe.12937
- Nagarakanti, S., & Athuluru, D. (2011). Ozone : A New Revolution in Dentistry. *WebmedCentral DENTISTRY*, 2(12), 3–7.
- Nagayoshi, M., Fukuizumi, T., Kitamura, C., Yano, J., Terashita, M., & Nishihara, T. (2004). Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiology Immunology*, 19(4), 240–246. doi: 10.1111/j.1399-302X.2004.00146.x
- Nagayoshi, M., Kitamura, C., Fukuizumi, T., Nishihara, T., & Terashita, M. (2004). Antimicrobial Effect of Ozonated Water on Bacteria Invading Dentinal Tubules. *Journal of Endodontics*, 30(11), 778-781. doi: 10.1097/00004770-200411000-00007
- Nogales, C. G., Ferrari, P. H., Kantorovich, E. O., & Lage-Marques, J. L. (2008) Ozone Therapy in Medicine and Dentistry. *The Journal of contemporary Dental Practice*, 9(4), 1–9.
- Papapanou, P., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D., Flemmig, T., Garcia, R., Giannobile, W., Graziani, F., Greenwell, H., Herrera, D., Kao, R., Kebschull, M., Kinane, D., Kirkwood, K., Kocher, T., Kornman, K., Kumar, P., Loos, B., Machtei, E., Meng, H., Mombelli, A., Needleman, I., Offenbacher, S., Seymour, G., Teles, R & Tonetti, M. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(20), 162-170.
- Pattanaik, B., Pattanaik, S., Naitam, D., Jetwa, D., Manglekar, S., & Dani, A. (2011). Ozone therapy in dentistry: A literature review. *Journal of Interdisciplinary Dentistry*, 1(2), 87-92. doi: 10.4103/2229-5194.85024
- Rams, T. E., & Slots, J. (1996). Local delivery of antimicrobial agents in the periodontal pocket. *Periodontology* 2000, 10(1), 139–159. doi: 10.1111/j.1600-0757.1996.tb00072.x
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2015). *Harper's Illustrated Biochemistry* (30^a ed). New York: The McGraw-Hill Global Education Holdings.
- Roy, D., Wong, P. K. Y., Engelbrecht, R. S., & Chian, E. S. K. (1981). Mechanism of

- enteroviral inactivation by ozone. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(3), 718–723.
- Rubin, M. (2001). The History Of Ozone. The Schönbein Period, 1839-1868. *Bulletin for the History of Chemistry*, 26(1), 40-56.
- Sacco, G., & Campus, G. (2016). The treatment of periodontal disease using local oxygen-ozone. *Ozone Therapy*, 1(3), 45-52. doi: 10.4081/ozone.2016.6498
- Saini, R. (2011). Ozone therapy in dentistry: A strategic review. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 2(2), 151-153. doi: 10.4103/0976-9668.92318
- Seidler, V., Linetskiy, I., Hubálková, H., Stanková, H., Smucler, R., & Mazánek, J. (2008). Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article. *Prague Medical Report*, 109(1), 5–13.
- Skurska, A., Pietruska, M. D., Paniczko-D, A., Dolinska, E., Zelazowska-Rutkowska, B., Żak, J., Pietruski, J., Milewski, R., & Wysocka, J. (2010). Evaluation of the influence of ozonotherapy on the clinical parameters and MMP levels in patients with chronic and aggressive periodontitis, *Advances in Medical Sciences* 55(2), 297–307. doi: 10.2478/v10039-010-0048-x
- Srikanth, A., Sathish, M., & Sri Harsha, A. V. (2013). Application of ozone in the treatment of periodontal disease. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 5(5), 89-94. doi: 10.4103/0975-7406.113304
- Sujatha, B., Kumar, M. M. G., Gowd, P. M. J. S., & Vardhan, R. (2013). Ozone therapy – a paradigm shift in dentistry. *An Open Access Peer Reviewed E-Journal*, 2(3), 1–10. Retrieved from <http://healthsciences.ac.in/jul-sep-13/downloads/3.APerspective.pdf>
- Sunnen, G. V. (1988). Ozone in Medicine: Overview and Future Directions. *Journal of Advancement in Medicine*, 1(3), 159–174. Retrieved from <http://www.triroc.com/sunnen/topics/ozonemed.htm>
- Tiwari, S., Avinash, A., Katiyar, S., Aarthi Iyer, A., & Jain, S. (2017). Dental applications of ozone therapy: A review of literature. *Saudi Journal for Dental Research*, 8(1–2), 105–111. doi: 10.1016/j.sjdr.2016.06.005
- Yılmaz, S., Algan, S., Gursoy, H., Noyan, U., Kuru, B., & Kadir, T. (2013). Evaluation of the Clinical and Antimicrobial Effects of the Er:YAG Laser or Topical Gaseous Ozone as Adjuncts to Initial Periodontal Therapy. *Photomedicine and Laser Surgery*, 31(6), 293-298.