MARIA CRISTINA ZINDEL DEBONI

**ANTISSEPZIA DE ALVÉOLOS PÓS-EXODONTIA EMPREGANDO
IRRIGAÇÕES TRANS-OPERATÓRIAS DE SOLUÇÃO DE OZÔNIO
DILUÍDO EM ÁGUA**

São Paulo

2009

Maria Cristina Zindel Deboni

**Antissepsia de alvéolos pós-exodontia empregando irrigações trans-
operatórias de solução de ozônio diluído em água**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
da Universidade de São Paulo,
para obter o título de Livre Docente
em Cirurgia Buco Maxilo Facial

São Paulo

2009

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Deboni, Maria Cristina Zindel

Antissepsia de alvéolos pós-exodontia empregando irrigações trans-operatórias de solução de ozônio diluído em água / Maria Cristina Zindel Deboni. -- São Paulo, 2009.

75p. : fig., tab, 30 cm.

Tese (Livre-Docência em Cirurgia Buco Maxilo Facial) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Procedimentos cirúrgicos odontológicos – Alvéolos – Antissepsia
2. Exodontia – Ozônio – Antissepsia 3. Cirurgia bucomaxilofacial

CDD 617.605

BLACK D76

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADA AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

DEDICATÓRIA

A minha mãe Elza

Ao meu pai José Carlos (in memoriam)

A minha avó Agatha (in memoriam)

*Não podemos acrescentar dias à nossa vida, mas podemos acrescentar vida
aos nossos dias.*

Cora Coralina

Ao meu marido Agnaldo e ao meu filho Henrique

Feliz aquele que ensina o que sabe e aprende o que ensina

Cora Coralina

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. José Basile Neto, por acreditar em mim desde o começo de minha carreira.

A Profa. Dra. Maria da Graça Naclério-Homem, pela motivação constante, pela nossa cumplicidade – acadêmica e pela amizade.

MUITO OBRIGADA!!!

Profa. Dra. Luciana Correa pelas revisões no texto, sugestões sempre pertinentes e pelo companheirismo.

Prof. Dr. Willfredo Urruchi, por todo apoio técnico e pelos ensinamentos no campo da Física.

Profa. Dra. Silvana Cai por compartilhar o Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

Dra. Andréia Traina, pelo auxílio indispensável na parte experimental deste trabalho.

Dra. Vera Regina Pereira Pozzani, pela paciência de ter me ouvido quando precisei.

Meus alunos, e ex-alunos, orientados e ex-orientados, pelo papel importante de vocês nos resultados das produções científicas, a colaboração nos trabalhos e publicações e no desenvolvimento da linha de pesquisa.

Aparecida da Conceição de Sousa e Natália Conceição Afonso pelo auxílio técnico-clínico,

Senhora Maria Cláudia Pestana pela normalização dos manuscritos.

Meus pacientes que voluntariamente participaram desta pesquisa.

Deboni MCZ. Antissepsia de alvéolos pós-exodontia empregando irrigações trans-operatórias de solução de ozônio diluído em água [Tese de Livre Docência]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

RESUMO

O emprego de irrigações trans-operatórias é um procedimento importante durante uma cirurgia e tem como finalidade a diminuição de microorganismos ou a remoção de corpos estranha que possam interferir negativamente com o processo de reparação tecidual. As feridas pós-exodontias são potencialmente infectadas pelos microorganismos que em geral se apresentam no interior dos alvéolos e no periodonto dos dentes que serão avulsionados. Em geral esta microbiota é composta por microorganismos aeróbicos e anaeróbicos normais da boca. O presente estudo teve o objetivo de avaliar diminuição da contagem bacteriana do interior de alvéolos pós exodontia após irrigações empregando de solução de ozônio diluído em água deionizada (100ml) na concentração de 4ppm comparativamente a irrigações com igual volume de água deionizada sem a presença de ozônio. Foram realizadas 93 exodontias múltiplas em 23 pacientes onde as irrigações no grupo I (com água deionizada) e no Grupo II (com água ozonizada) foram praticadas no mesmo individuo de forma aleatória e em alvéolos homólogos bilateralmente. Amostras do conteúdo bacteriano foram colhidas de forma asséptica de cada alvéolo nos momentos pré e pós-operatório em cada grupo. O cultivo bacteriano foi realizado em aerobiose e anaerobiose até 3 horas do pós-operatório e as diferenças e diminuições das

médias das Unidades formadoras de colônias bacterianas por mL (UFCs/mL) foram consideradas em cada grupo e período. Os dados foram submetidos a estudo estatístico pelo Método de Wilcoxon com nível de significância de 5%. Foi ainda realizada avaliação dos dados clínicos quanto ao processo de reparo tecidual de cada ferida pós-exodontia e a quantidade de medicação analgésica que cada paciente fez uso. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística significativa entre os grupos I e II quanto a diminuição das unidades Formadoras de Colônias entre os períodos pré e pós-irrigações tanto em aerobiose como em anaerobiose. Foi fato que as irrigações, independentes do tipo de solução empregada, foram significantes na redução das bactérias anaeróbias. Clinicamente a queixa mais freqüente dos pacientes foi o odor e ligeira ardência durante a utilização da água ozonizada. Em nenhum dos casos houve retardo no processo de reparação tecidual comparativamente entre os alvéolos do grupo I e II. O consumo de medicação analgésica foi semelhante em todos os pacientes independente do grupo. O estudo dentro dos limites metodológicos empregados permitiu concluir que o ozônio diluído em água não demonstrou efeito antibacteriano maior, mas não provocou efeito desfavorável no processo de reparo tecidual após oito dias de pós-operatório sendo, portanto seguro como antisséptico trans-operatório.

Palavras-Chave: Água ozonizada, Irrigações cirúrgicas, Exodontia, Ozônio, Antissépticos

Deboni MCZ. Antiseptic effect of surgical irrigation employing ozonated water on tooth extraction sockets [Tese de Livre Docência]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

ABSTRACT

Surgical irrigations are important procedures to reduce quantity of bacteria and other microbial or strange bodies in wounds in order to goal better wound healing process. Tooth sockets are potentially infected with anaerobes and aerobics native habitants of the oral cavity. The present study had the propose of evaluate the bacteria content reduction from inside tooth extractions sockets after irrigations employing 100ml of deionized water (Group 1) comparing to irrigations with equal volume of ozone diluted in deionized water at 4 ppm of concentration (Group 2). Ninety three teeth multiple extractions were performed in twenty three patients at whom irrigations of group 1 and 2 were performed in randomly in the same patient at homologous bilaterally teeth socket. Samples of bacterial alveolar content were collected aseptically at pre and post-operative moments in each group. Bacterial were submitted to aerobics and anaerobiosis cultures at the maximum of 3 hours after collection. Differences and diminishing means of Colony Forming Units per mL (CFUs/mL) were considered in each group and period. Data was submitted to statistical analysis by Wilcoxon Method considering the level 5% of significance. It was also evaluated observational clinical data taking into account the wound healing process and analgesic post-operative medication used by the patients. The results have

shown that there were not significant differences at the Colony Forming Units reduction between the groups independently of aerobic ($p=0.983$) or anaerobiosis cultures ($p=0.469$). Irrigation *per se*, was important to lessen preferentially anaerobes (Group 1, $p=0.001$ e Group 2, $p=0.008$). Clinically the most frequent complaint was the odor and the acridness of ozonated water. At no case wound healing was delayed. Analgesic consume was similar in all patients. The presence of ozone in water did not lead to a higher antimicrobial action. Since any unfavorable effect on healing was observed it is a safe antiseptic solution for intra-operative irrigations.

Keywords: Ozonated water, Surgical irrigations, Tooth extraction, Antiseptics, Ozone

LISTA DE FIGURAS

- Figura 4.1 - Frasco para transporte contendo VMGA e amostras bacterianas 46
- Figura 4.2 - Placa de cultivo semeada com as amostras bacterianas 46
- Figura 4.3 - Jarra para cultivo em anaerobiose contendo as placas com amostras bacterianas 47
- Figura 5.1 - Grupo I – Placas exibindo Unidades Formadoras de Colônias após cultivo em aerobiose pré (a) e pós (b) irrigações e em anaerobiose pré (c) e pós (d) irrigações em Agar Brucella Sangue 55
- Figura 5.2 - Grupo II – Placas exibindo Unidades Formadoras de Colônias pós cultivo em aerobiose pré (a) e pós (b) irrigações e em anaerobiose pré (c) e pós (d) irrigações em Agar Brucella Sangue 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 -	Resultados das médias das contagens bacterianas comparando-se os momentos 'pré' e 'pós' irrigação.....	49
Tabela 5.2 -	Resultados das médias das contagens bacterianas comparando-se aerobiose e anaerobiose.....	50
Tabela 5.3 -	Resultados das médias das contagens bacterianas comparando o Grupo I e II.....	51
Tabela 5.4 -	Resultados das diferenças entre as médias das contagens bacterianas comparando-se aerobiose e anaerobiose para o Grupo I.....	51
Tabela 5.5 -	Resultados das diferenças entre as médias das contagens bacterianas comparando-se aerobiose e anaerobiose para o Grupo II.....	52
Tabela 5.6 -	Resultados das diferenças entre as médias das contagens bacterianas comparando-se aerobiose entre Grupo I e II.....	52
Tabela 5.7 -	Resultados das diferenças entre as médias das contagens bacterianas comparando-se anaerobiose entre Grupo I e II.....	53

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISTA DE LITERATURA.....	16
2.1 OZÔNIO E SUA PRODUÇÃO.....	16
2.2 PRODUÇÃO DE ÁGUA OZONIZADA.....	18
2.3 AÇÃO ANTIMICROBIANA DO OZÔNIO.....	19
2.4 OUTRAS FORMAS DE APRESENTAÇÃO E UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA DO OZÔNIO.....	28
2.5 OS PROCEDIMENTOS DE IRRIGAÇÃO E A ANTISSEPSE DE FERIDAS.....	31
2.6 O OZÔNIO E A REPARAÇÃO TECIDUAL – ESTUDOS EXPERIMENTAIS.....	34
3 PROPOSIÇÃO.....	36
4. MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 CASUÍSTICA.....	37
4.1.1 Critérios de inclusão.....	37
4.1.2 Critérios de exclusão.....	38
4.2 MÉTODO.....	38
4.2.1 Produção da água ozonizada.....	38
4.2.2 Procedimentos cirúrgicos e coleta bacteriana.....	40
4.2.3 Avaliação clínica.....	42
4.2.4 Cultivo bacteriano.....	43
4.2.5 Avaliação dos resultados.....	45

5 RESULTADOS	48
5.1 CONTAGEM DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS	48
5.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA PÓS-OPERATÓRIA	53
6 DISCUSSÃO	57
7 CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

A exodontia é o procedimento cirúrgico mais executado em cirurgia buco maxilo facial. A necessidade da avulsão dentária se estabelece quando todos os recursos de tratamento conservador se esgotam o que geralmente envolvem quadros de cáries extensas, necrose pulpar ou doença periodontal.

A manutenção da cadeia de assepsia e antissepsia, como um dos princípios fundamentais da cirurgia, devem ser respeitadas durante todo o ato cirúrgico para que o processo de reparo dos tecidos transcorra de forma a não haver interferências desfavoráveis, como presença de corpo estranho e microorganismos, que possam retardar a cura e conseqüentemente espoliar de forma exacerbada o patrimônio biológico do indivíduo.

A desinfecção por meio de irrigações é um procedimento usual no tratamento de feridas agudas e crônicas. Soluções que possam ter efeitos antimicrobianos e que estimulem respostas reparadoras no tecido envolvido são desejáveis.

Em 1840, Schönbién descobriu uma variedade alotrópica e mais ativa do oxigênio: o **ozônio**. Muito se conhece e se pesquisa na atualidade quanto a sua toxicidade como poluente no ar atmosférico. Entretanto essa molécula triatômica tem mostrado possuir uma série de propriedades que podem ser favoráveis aos seres humanos. Devido a sua grande capacidade oxidante tem sido largamente utilizado no saneamento básico, no tratamento de água e esgoto e na preservação e conservação de alimentos industrializados.

Durante a primeira guerra mundial os riscos de infecções em ferimentos, a carência de drogas antimicrobianas potentes e a falta de recursos levaram os hospitais a utilizar o ozônio no tratamento de infecções das feridas. Surgiram a partir de então os primeiros relatos clínicos da utilização do ozônio terapêutico.

A literatura tem mostrado nos dez últimos anos que o emprego da ozonioterapia se reporta a resultados terapêuticos não apresentando efeitos adversos ou intolerância, ou ainda oferecendo contra-indicações. Aparentemente, os resultados preliminares do tratamento de diversas doenças têm sido animadores, tanto quando ao seu efeito na melhora do reparo tecidual como ao seu efeito antimicrobiano.

As investigações sobre os efeitos terapêuticos do ozônio são relativamente recentes, existindo poucos trabalhos em odontologia que expressem metodologias adequadas com resultados científicos experimentais e clínicos do seu uso.

Alguns países como Itália, Alemanha, Inglaterra, Cuba, Polônia, Rússia tem procurado estudar os efeitos do ozônio terapêutico e as pesquisas têm ganhado um enfoque maior principalmente na participação do ozônio no controle do estresse oxidativo e suas doenças associadas.

Diante deste contexto o ozônio tem sido proposto como um agente antisséptico alternativo para uso médico e odontológico, baseado nos seus efeitos antimicrobianos, sob a forma de gás e na forma aquosa. O fato inovador parece ser a capacidade desta molécula em estimular outras ações biológicas favoráveis ao processo de reparo tecidual, idealmente o objetivo final de qualquer procedimento cirúrgico.

2 REVISTA DE LITERATURA

2.1. OZÔNIO E SUA PRODUÇÃO

O ozônio é um gás altamente oxidante naturalmente encontrado na estratosfera. É considerado um gás controverso, pois é útil na absorção das radiações ultravioleta, mas quando na troposfera é altamente tóxico por via respiratória, particularmente quando misturado ao monóxido de carbono, ao dióxido de nitrogênio e a outros elementos ácidos como ocorre nas reações fotoquímicas da na poluição do ar (BOCCI, 2006).

Como um estado alotrópico do oxigênio, o ozônio é formado por uma molécula triatômica muito mais instável e com ação mais seletiva sobre componentes orgânicos. Possui um tempo de vida média de 40 minutos a 25°C, e a partir desse tempo se decompõem em oxigênio em uma velocidade dependente da temperatura ambiente (BOCCI, 2004; BULIÉS et al., 1997).

Em temperatura ambiente (WEAVERS; WICKRAMANAYAKE, 2001) lembram que o ozônio é um gás azulado. Essa coloração, todavia não é notada em concentrações baixas como aquelas utilizadas com o propósito de desinfecção.

Mc Donnell (2007) lembra que em concentrações muito baixas (<0,01mg/L) ele é inodoro e em concentrações acima de 0,1mg/L assumem um odor acre. Devido ao seu poder de oxidação, o ozônio é altamente corrosivo para algumas superfícies

como ferro, alumínio e látex e inerte para outros materiais como o aço inox, titânio, cerâmicas, alguns polímeros, vidro, Teflon™ e silicone.

Na atualidade muitos geradores de ozônio têm sido manufaturados por indústrias nacionais e internacionais. A Europa foi a pioneira na produção destes geradores. O primeiro gerador de ozônio foi desenvolvido por Werner von Siemens, na Alemanha por volta de 1854, e o primeiro relato do seu uso terapêutico foi feito por C. Lender em 1870, com o propósito de purificar o sangue (GROOTVELT et al., 2004).

Em 2003 um sistema portátil utilizado na Alemanha foi desenvolvido exclusivamente para uso odontológico para tratamento de cárie dental (Kavo Dental Excellence).

A produção de ozônio necessita de uma fonte de alta energia que inclua uma lâmpada ultravioleta, células eletroquímicas ou mais comumente um tubo de descarga corona. A corona é formada pela descarga elétrica entorno da passagem de oxigênio provocando ionização e produção de ozônio. A origem de oxigênio pode ser o ar atmosférico, que contem aproximadamente 20% de oxigênio, entretanto quando maiores concentrações e maior estabilidade são desejadas, uma fonte de oxigênio puro deve ser utilizada (Mc DONNELL, 2007).

Bocci (2002a) descreve que para propósitos medicinais o ar atmosférico não deve ser utilizado, pois quantidades variáveis de dióxido de nitrogênio, altamente tóxico, irão se formar. Um gerador para uso terapêutico consiste de dois a quatro tubos de alta voltagem conectados em serie ou a uma placa eletrônica programável capaz de estabelecer diferentes graduações de voltagem (4.000 a 13.000 volts). A energia elétrica de descarga distribuída por estes tubos permite que quando ocorre a passagem de um fluxo de oxigênio por este sistema as moléculas de O₂ sejam

quebradas e rearranjadas em moléculas triatômicas. Os geradores mais modernos devem ser calibrados para que a produção de ozônio seja regular e conhecida. Como parte do ozônio produzido não será utilizada o equipamento ainda deve ser provido de um destruidor de ozônio que irá catalisar reações decompondo o ozônio em oxigênio que poderá então ser liberado ao ambiente.

2.2. PRODUÇÃO DE ÁGUA OZONIZADA

O ozônio como qualquer gás dissolve-se fisicamente em água pura de acordo com a lei de Henry (BOCCI, 2002a, 2004). Essa dissolução é dependente da temperatura, pressão atmosférica e concentração de ozônio produzido. O autor comenta que somente nesta situação o ozônio se torna mais estável e que dissolvido em água pode permanecer ativo por alguns dias quando armazenado em um recipiente de vidro a baixas temperaturas.

O ozônio apresenta uma solubilidade em água 50% superior a do oxigênio (BOCCI, 2004; BULIÉS et al., 1996). Quando dissolvido em água esterilizada ou pura a meia-vida do O_3 é de 9 a 10 horas (em um pH=7 e a 20° C) e a 0°C este valor praticamente dobra (FILLIPI, 1997; TURK, 1985).

Bocci (2002b) descreve um sistema para preparação de água ozonizada constituído de um cilindro de vidro, ou qualquer material resistente ao ozônio, com diâmetro de $\frac{3}{4}$ de polegada e com 50 cm de altura, preenchido com água bidestilada. Através dessa coluna de água o ozônio produzido por um gerador calibrado deverá borbulhar continuamente por pelo menos 5 minutos. A saturação

de gás na água será proporcional a sua concentração e dependente da pureza da água (bidestilada), da manutenção de temperatura e pressão de ozônio.

O controle das concentrações de ozônio diluído em água é muito importante, pois os efeitos terapêuticos são dependentes da sua concentração. Alguns métodos estão descritos na literatura e podem incluir aparelhos de fotometria, colorimetria e titulações químicas (ARITA et al., 2005; BADER; HOIGNE, 1981; BOCCI 2004; DEBONI et al., 2008; TRAINA, 2008).

2.3 AÇÃO ANTIMICROBIANA DO OZÔNIO

O emprego do ozônio de forma terapêutica foi descrito no século 19 quando foi descoberto por Schönbein em 1840 (BOCCI, 2002a, 2004).

Weavers e Wickramanayake (2001) relatam que as primeiras utilizações para desinfecção de água foram na Holanda em 1893. Atualmente vários tipos de saneamento e tratamento de água incluem a utilização do ozônio em substituição ao cloro assim como sua utilização na preservação de alimentos (BIALKA; DEMIRCI, 2007; KIM; YOUSEF; KHADRE, 2003; MURRAY et al., 2008; SELMA et al., 2008).

Sharma e Hudson (2008) demonstraram que 25 ppm de ozônio gasoso em umidade relativa do ar de 90% é um antimicrobiano potente que promove a redução de cepas bacterianas Gram positivas e Gram negativas incluindo esporos e espécies de *Mycobacterium* relacionadas às causas mais comuns de infecções hospitalares. Salientaram que o efeito antimicrobiano é conseguido por meio de um período curto

de exposição, por volta de 20 minutos, o que torna o sistema baseado no emprego do ozônio muito prático e de baixo custo.

O ozônio sob forma de gás, em dispositivos semelhantes àqueles utilizados para controle de infecção hospitalar, é capaz de inativar alguns tipos de vírus, como os norovirus (HUDSON; SHARMA; PETRIC, 2007). Outros estudos mostraram que a exposição ao ozônio reduz a infectividade viral pela peroxidação lipídica e subsequente dano ao envelope lipídico e a camada protéica de vários tipos de vírus (MURRAY et al., 2008).

Notações clínicas realizadas por Stoker (1916 e 1917) durante a segunda guerra mundial descrevem a utilização do ozônio sob a forma gasosa e diluída em água como adjuvante no tratamento de feridas infectadas, principalmente naquelas originadas de ferimentos bélicos, nas sinusites, previamente ao tratamento cirúrgico com a finalidade de diminuir a infecção. Suas anotações incluíram comentários sobre a necessidade da remoção de corpos estranhos, seqüestros ósseos, e depósitos sépticos antes da aplicação do ozônio terapêutico.

A ação antimicrobiana do ozônio está baseada na exposição local de grandes concentrações de íons oxidantes. O primeiro a utilizar o gás ozônio em odontologia foi E.A. Fisch um dentista Suíço na Universidade de Basel, que insuflou ozônio em uma cavidade dentária para tratar cáries e infecções periodontais crônicas (FISCH¹, 1934, apud STÜBINGER; SADER; FILLIPI, 2006).

O oxigênio é essencial para a sobrevivência das células de um metabolismo aeróbico embora seja muito tóxico para bactérias microaerófilos e anaeróbicas. A respiração aeróbica envolve a geração de energia (sob a forma de adenosina trifosfato - ATP) em sítios específicos da cadeia de transporte de elétrons via

¹ Fisch EA. Die ozontherapie in der Zahn-, Mund-, Kieferheilkunde [Thesis]. Bonn, Germany: Rheinische Friedrich Wilhems Universität; 1934

fosforilação oxidativa (os receptores finais de elétrons incluem o oxigênio). Embora a bactéria aeróbica contenha uma grande variedade de enzimas que as protejam da toxicidade do oxigênio as microaerófilas e as anaeróbicas são desprovidas destes mecanismos protetores (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006b).

Na presença de oxigênio, o radical superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são formados como subprodutos das atividades das enzimas oxidativas que participam da síntese de ATP. Nas bactérias aeróbicas estritas e na maioria das anaeróbicas facultativas, o radical superóxido é convertido em oxigênio molecular (O_2) e em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela enzima superóxido dismutase. O peróxido de hidrogênio é convertido em oxigênio molecular e água pela enzima catalase (algumas espécies anaeróbicas facultativas e de aerotolerantes não possuem a catalase). As bactérias anaeróbicas estritas não sintetizam nem a catalase nem a superóxido dismutase e são mortas pelos efeitos tóxicos do superóxido e do peróxido de hidrogênio (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006a).

Traina et al. (2005) realizaram a contagem de colônias bacterianas do líquido de lesões periapicais mostrando a presença de maior número de bactérias anaeróbicas estritas e uma menor quantidade de microorganismos aeróbicos e anaeróbicos facultativos. As autoras discutem que há necessidade do uso de agentes antimicrobianos para melhorar a orientação da resposta tecidual a reparação após procedimentos cirúrgicos de exereses destas lesões.

Como o ozônio é capaz de produzir ozonólise dos ácidos graxos insaturados da parede celular bacteriana (BOCCI, 2004; BULIÉS, 1996) ele exerce seu efeito microbicida, bactericida, fungicida e parasiticida. Paralelamente a estes mecanismos de ação do ozônio, a reação com os ácidos graxos insaturados da membrana

fosfolipídica produz uma série de peróxidos hidrofílicos que estimulam a formação de substâncias desoxigenantes, as quais atuarão sobre a oxihemoglobina liberando oxigênio, e por tanto, produzindo um aumento desse suplemento nos tecidos.

Bocci (2002a) comenta que o ozônio tem um papel terapêutico importante em vários tipos de infecção já que ele é capaz de gerar espécies reativas de oxigênio (O_2 , H_2O_2 e $HOCl$). Essas mesmas espécies reativas, inclusive moléculas de ozônio, também são produzidas pela ação fagocitária de neutrófilos como parte da resposta natural de defesa contra microrganismos invasores (YAMASHITA et al., 2008). Outros autores como Wentworth et al. (2002) mostraram evidências de que a reação antígeno/anticorpo é catalisada por molécula de ozônio durante o processo inflamatório de defesa contra bactérias.

Acredita-se que estes efeitos devam ser os responsáveis pelas qualidades do ozônio como um agente antisséptico alternativo para uso médico e odontológico (Mc DONNELL, 2007) tanto sob a forma de gás como diluído em água.

Segundo Buliés (1996) o ozônio produz oxidação letal no protoplasma bacteriano, além disso, como estimulador da oxigenação tecidual, o ozônio é capaz de ativar mecanismos oxidativos celulares da glicólise ativando as vias pentose/fosfato que aumenta a transformação de glicose, por outro lado desagrega eritrócitos tornando-os mais elásticos e permeáveis.

Avaliando o efeito do gás ozônio diluído em água sobre suspensões de *Staphylococcus aureus*, Velano et al. (2001) mostraram em seus resultados que o tempo máximo para a inativação total das bactérias tratadas com água destilada previamente ozonizada (0.6mg/ml) foi de 5'25" minutos e para água não ozonizada foi de 23'45" minutos indicando um efeito mais rápido da água previamente ozonizada. Os autores discutem que a metodologia empregou culturas bacterianas

em fase de crescimento logarítmico, com muitas bactérias em divisão, assim o ozônio atuou na matriz intercelular bacteriana promovendo a dispersão desses microrganismos.

Weavers e Wickramanayake (2001) descrevem que como agente antimicrobiano a inativação de microrganismos pelo ozônio pode ocorrer em média de 3 a 20 minutos de exposição ao gás.

O estudo *in vitro* de Nagayoshi et al. (2004a) mostraram que a água ozonizada na concentração de 2 a 4 mg/L aplicados por 20 segundos em culturas bacterianas foi efetiva tanto na eliminação de microorganismos bucais Gran positivos como Gran negativos. Os autores comentam que o uso de ozônio diluído em água é vantajoso para a manutenção da potência oxidante do ozônio, o manuseio é mais fácil e seguro do que sob a forma gasosa, o efeito microbicida é rápido e apresenta viabilidade de ser empregado em soluções para imersão de instrumentos médico-odontológicos.

Em outro estudo *in vitro*, Nagayoshi et al. (2004b), avaliaram a eficácia antimicrobiana, em modelos de infecção de canais radiculares, verificando o efeito em *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans* invasores de túbulos dentinários. Concluíram que comparativamente ao hipoclorito de sódio a 2,5% a água ozonizada a 4 ppm (4mg/L) mostrou a mesma atividade antimicrobiana. Paralelamente ao estudo empregando cultivo de fibroblastos mostraram que a água ozonizada exibiu baixa toxicidade celular.

O estudo de Arita et al. (2005) verificou que a imersão de próteses totais com base de resina acrílica em água ozonizada (2 ou 4mg/L) foi útil na eliminação da *Candida albicans*.

Garduño et al. (1995) já haviam relatado que água ozonizada tem potencial de ser utilizada na redução de infecções causadas por microorganismos bucais pelo seu efeito bactericida, na redução da placa bacteriana.

Embora Baysan e Beighton (2007) acreditem que a importância da ação antimicrobiana do ozônio na forma de gás em cáries de dentina exposta esteja relacionada ao efeito oxidante do ozônio eles não obtiveram bons resultados na diminuição do número total de microorganismos em lesões de cárie não cavitadas. Assim acreditam que o ozônio não seja efetivo como bactericida quando aplicado ao biofilme.

O ozônio é eficiente contra inúmeras espécies bucais, segundo Müller, Guggenheim e Schmidlin (2007). Eles verificaram que a aplicação do gás de ozônio era capaz de reduzir mais de 99% da população bacteriana de microorganismos cariogênicos incubados isoladamente. Quando biofilmes foram testados, o gás teve efeito mínimo na viabilidade microbiana, indicando que as bactérias organizadas no biofilme estavam protegidas da ação do ozônio.

Cardoso et al. (2008) avaliaram a efetividade da água ozonizada na eliminação da *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* e endotoxinas de canais radiculares. A água ozonizada (grupo experimental) foi comparada a solução fisiológica (grupo controle) como agente irrigante. A efetividade antimicrobiana foi avaliada pela redução da contagem microbiana. Os autores observaram que a água ozonizada foi eficaz na redução de microorganismos, mas não neutralizou a endotoxina. Concluíram que ela não apresentou efeito antimicrobiano residual.

O tratamento das infecções do periápice dental envolve a eliminação da infecção do canal por meio da combinação de procedimentos mecânicos e químicos. A instrumentação mecânica consegue eliminar cerca de 50% do número de

bactérias dos canais radiculares sendo assim soluções irrigantes antibacterianas devem complementar o tratamento. O hipoclorito de sódio (NaOCl) tem sido atualmente a mais utilizada. O estudo realizado por Hems et al, 2005 comparou o hipoclorito ao ozônio diluído em água e verificou que este último teve efeito antibacteriano contra *E. faecalis* isolados, mas não foi efetivo contra o *E. faecalis* envolvidos pelo biofilme.

Estrela et al. (2006) avaliando o potencial antimicrobiano, contra o *Staphylococcus aureus*, em três diferentes soluções (água destilada estéril, água destilada com detergente enzimático e vinagre) empregadas em um sistema de lavagem ultrassônico com dissolução de 7g/h de ozônio gasoso, concluíram soluções de água destilada contendo ozônio dissolvido em uma concentração de 1.2% mostrou o melhor resultado antimicrobiano.

Em um estudo *in vitro* realizado por Estrela et al. (2007) irrigações empregadas por 20 minutos com água ozonizada (4mg/L-1), hipoclorito de sódio (2,5%) e clorexidina (2%) ou a aplicação do gás ozônio foram capazes de inativar os *Enterococcus faecalis* dos canais radiculares de dentes humanos, bactéria freqüentemente associada a lesões persistentes ao tratamento endodôntico.

O efeito sobre o crescimento *in vitro* de culturas de *Streptococcus viridans* comparativamente ao uso da clorexidina 0,12% e da água ozonizada a 4,5mg/L foi estudado por Barros e Fiorini (2000). Os autores verificaram que a maior eficiência antimicrobiana ocorreu com a clorexidina.

O ozônio foi utilizado para a desinfecção da superfície dos implantes na terapia da perimplantite. Krozer, Hall e Ericson (1999) mostraram *in vitro* que a limpeza com água corrente, solução salina ou solução de peróxido de hidrogênio a 5% não remove a substância amino-alcoólica que se forma nas superfícies de

implantes osseointegráveis de titânio quando da aderência de placa bacteriana, o que favorece a perimplantite. Entretanto a exposição ao ozônio resulta na remoção total desta substância que pode melhorar a reintegração do implante *in vivo*.

A desinfecção de próteses totais por meio do ozônio foi reportada por Oizumi et al. (1998) que demonstraram a melhor ação antimicrobiana, sobre o *Streptococcus mutans*, *Staphilococcus aureus* e a *Cândida albicans*, do ozônio sob a forma gasosa do que a água ozonizada.

Murakami et al. (2002) obtiveram resultados semelhantes com soluções, de limpeza para próteses, enriquecidas com ozônio (concentração de 10 ppm) contra *Staphilococcus aureus* e *E. coli* resistentes a metilicina.

Huth et al. (2006) investigaram por um estudo *in vitro* empregando de técnicas bioquímicas se o ozônio gasoso ($4 \times 10^6 \mu\text{g m}^{-3}$) ou aquoso ($1,25\text{-}20 \mu\text{g mL}^{-1}$) exerce efeito tóxico em células epiteliais e fibroblastos gengivais humanos, comparativamente a digluconato de clorexidina (2% e 0,2%), hipoclorito de sódio (5,25% e 2,25%) e peróxido de hidrogênio (3%) e à aplicação clínica-tópica de metronidazol. Concluíram que o ozônio sob a forma de gás mostrou efeito tóxico para os dois tipos celulares, os antissépticos mais comuns foram tóxicos em maior ou menor grau para os dois tipos celulares enquanto que o ozônio aquoso mostrou o melhor nível de biocompatibilidade.

Huth et al. (2009) testaram a eficácia antimicrobiana o ozônio aquoso e gasoso em diferentes concentrações como agentes anti-sépticos alternativos contra patógenos endodônticos. As culturas de microorganismos que incluíam *Enterococcus faecalis*, *Cândida albicans*, *Peptostreptococcus micros* e *Pseudomonas aeruginosa* foram expostas por um minuto ao ozônio aquoso ($1,25 \text{ a } 20 \mu\text{g mL}^{-1}$), ao ozônio gasoso ($1 \text{ a } 53 \text{ g m}^{-3}$), ao digluconato de clorexidina (2%), ao

hipoclorito de sódio (5,25% e 2,25%), ao peróxido de hidrogênio (3%) e a solução salina tampão fosfato como controle. Dois modelos assemelhados ao canal endodôntico contendo biofilmes foram também empregados em uma exposição pelos agentes por 10 minutos. A eliminação total de microrganismos ocorreu nas concentrações de 1 g m^{-3} ozônio gasoso e de $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ aquoso e assim como para o hipoclorito e para a clorexidina. O peróxido de hidrogênio e a concentração mais baixa de ozônio aquoso foram os menos efetivos. As concentrações mais altas de ozônio sob a forma de gás e na forma aquosa assim como a clorexidina eliminaram quase que completamente o biofilme bacteriano.

No campo da odontologia, a ozonioterapia tem sido ainda explorada para alguns tratamentos, como o controle conservador de cárie primária sem cavitação de raiz e de fissura com resultados favoráveis, tanto expondo as lesões de cárie ao gás de ozônio, utilizando aparelhos apropriados que se adaptam a superfície do dente, ou por bochechos com água ozonizada juntamente com utilização de dentifrícios remineralizadores (BAYSAN; LYNCH, 2004; BAYSAN; WHILEY; LYNCH, 2000; HOLMES, 2003).

Utilizando água ozonizada em baixas concentrações entre 0.069 a 0.138 ml de ozônio, Baysan, Whiley e Lynch (2000) demonstraram que a exposição de dentina cariada ao ozônio diluído em água pôde em um período de 10 a 20 segundos reduzir os níveis totais de microrganismos a menos de 1% dos valores controle. Presumivelmente os autores acreditam que o ozônio se dissipou rapidamente pela água e por um mecanismo de ruptura das membranas citoplasmáticas exerceram seu efeito bactericida.

Knight et al. (2008) mostraram em um estudo preliminar que a infusão de ozônio gasoso em dentinas não cariadas preveniram a formação, in vitro, de biofilme

de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* por um período de 4 semanas. Aventaram a hipótese de que o ozônio pode alterar a molheabilidade da superfície da dentina por meio de reação com os componentes orgânicos como o colágeno

A água ozonizada também já foi utilizada para o controle biológico da unidade de água utilizada nos equipamentos odontológicos, cuja tubulação pode ser facilmente contaminada por biofilme de microorganismos com potencial patogênico (PANKHURST; JOHNSON; WOODS, 1998).

2.4 OUTRAS FORMAS DE APRESENTAÇÃO E UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA DO OZÔNIO

A ozonioterapia tópica pode ser empregada utilizando-se azeite de oliva ou de girassol, que quando ozonizados têm poder germicida, com ação antiviral, antibacteriano e antifúngico (CRUZ et al., 1997; LINCHETA et al., 2000). Em áreas lesionadas, podem-se utilizar também bolsas plásticas contendo ozônio em concentrações de 80 mg/L em contato direto com a região lesionada por duas horas, com sessões diárias (BATISTA et al., 2001).

Independente da forma de aplicação além de seus efeitos terapêuticos ele tem representado ser de baixo custo, fato que deve ser levado em consideração nas escolhas de tratamentos (VERANES et al., 1999).

O óleo ozonizado é um composto que mistura o gás com azeite, obtido mediante descargas elétricas em moléculas de oxigênio. Ao ozonizar o azeite de oliva, se obtêm uma série de compostos químicos chamados de ozonidos e

peróxidos que possuem ação germicida, podendo ser utilizado no tratamento de feridas infectadas, fístulas e outros processos sépticos locais (BOCCI, 2004). Além disso, esses peróxidos desempenham várias funções no organismo que incluem: estimulação a vários sistemas enzimáticos de oxido-redução, por influência possivelmente sobre o transporte de oxigênio aos tecidos e na cadeia respiratória mitocondrial; bloqueio dos receptores virais e morte de células infectadas por vírus; assim como um efeito sinérgico na capacidade fagocitária (LINCHETA et al., 2000).

As investigações sobre os efeitos terapêuticos do ozônio são recentes, existindo poucos trabalhos em odontologia que expressem os resultados clínicos e experimentais do seu uso. Aparentemente, os resultados preliminares do tratamento de diversas doenças têm sido animadores, tanto quando utiliza seu efeito na melhora tecidual como seu efeito antimicrobiano

Steinhart, Schulz e Mutters (1999) verificaram em estudo experimental que a ozonioterapia é de grande utilidade nos casos de osteomielite refratárias por atuar principalmente nas áreas de necrose, com deficiência de nutrição vascular. Nestas regiões, o tratamento convencional (remoção cirúrgica dos seqüestros teciduais e a antibioticoterapia) ou a câmara hiperbárica não teriam atuação adequada.

Sechi et al. (2001) investigaram o efeito antimicrobiano do óleo ozonizado para *Mycobacteria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli* e verificaram que todos foram sensíveis ao produto. Esses autores concluíram que o óleo ozonizado é um agente antimicrobiano competitivo e que outros estudos deveriam compará-lo a outros agentes.

O óleo ozonizado já foi testado, e existem relatados de bons resultados quando empregado na gengivo-estomatite herpética aguda (RODRÍGUES; CEPERO; PERDOMO, 1994), na estomatite protética (LÓPEZ et al., 2003; PILOTO;

URRUTIA, 2000), nas alveolites (GUERRA et al., 1997) como medicamento intracanal (PEREIRA, 2002).

Além da ação antimicrobiana tem sido reportado por diversos autores que o ozônio apresenta efeitos benéficos na reparação tecidual e como imuno - modulador.

A ozonioterapia local e sistêmica tem sido aplicada empiricamente em seres humanos desde a sua descoberta em uma variedade de enfermidades, com bons resultados. O ozônio pode ser administrado de forma muito variável, mas nunca injetado de forma endovenosa pelo risco de provocar embolia ou alguma outra atividade ainda desconhecida (BATISTA et al., 2001; BOCCI, 2006).

O tratamento sistêmico mais utilizado citado na literatura consiste da administração via retal (por insuflação) de quantidade variada de ozônio (200 mL) e em concentrações também variados de 50 a 80 mg/L, sendo o gás passado lentamente através de um cateter plástico colocado em um orifício anal com profundidade de 15 a 20 cm. Além dessa forma de utilização, há a auto-hemoterapia (BOCCI, 2004; VERANES et al., 1998, 1999) e a via intramuscular, na aplicação por injeção em forma de gás, de 20 a 40 cc de ozônio com concentração de 13 mg/L, geralmente semanal, na área lesionada ou em cavidades articulares (BULIÉS, 1996; BULIÉS et al., 1997).

Bons resultados têm sido observados após a utilização da ozonioterapia no tratamento de pacientes com doenças circulatórias periféricas, neuropatia diabética (BATISTA et al., 2001), doenças oftálmicas (MENÉNDICES et al., 2002; VERANES et al., 1998, 1999), epidermofitoses dos pés (LINCHETA et al., 2000), em exposições ósseas pós-trauma (BULIÉS, 1996), artropatias degenerativas (BULIÉS et al., 1997), doenças respiratórias (GENT et al., 2003), entre muitas outras.

2.5 OS PROCEDIMENTOS DE IRRIGAÇÃO E A ANTISSEPSIA DE FERIDAS

A irrigação é um processo auxiliar terapêutico eficiente de grande aplicação em cirurgias que promovem a limpeza de feridas superficiais e se constitui em um dos procedimentos de tratamento de feridas traumáticas e infectadas. Bahrs et al. (2003) salientam que os objetivos de uma irrigação são a redução da população microbiana, a remoção de corpos estranhos e de tecido não viável da ferida. Alguns tipos de dispositivos próprios para irrigação de feridas cirúrgicas maiores ou traumáticas têm sido questionados pela possibilidade de provocarem a inoculação na profundidade de tecidos dos microorganismos.

O objetivo das irrigações é a limpeza mecânica para remoção de detritos e além a redução do número de bactérias em um tecido contaminado. Alguns autores (KALTEIS et al., 2005) comprovaram por um estudo *in vitro* que dispositivos de irrigação que empregam alta pressão, que são utilizados para antissepsia de feridas amplas realizam uma desinfecção muito maior do que procedimentos de irrigação manual por meio de seringas. Desmontaram também que a alta pressão pode inocular microrganismos na profundidade dos tecidos em até 3 cm, levando ao risco aumentado de infecções agudas e crônicas.

Siegel e von Fraunhofer (1999) estudaram os tipos de solução e o efeito da pressão de irrigação durante a realização de odontosecção *in vitro* e concluíram que em média a velocidade de irrigação para um procedimento de odontosecção cirúrgico é de 15 ml/min para irrigações intermitentes e de 24 ml/min para fluxo contínuo. Recomendaram a utilização de solução salina ou de Ringer que segundo

eles facilitam os procedimentos de corte porque modificações químicas provocadas pelos íons da substância poderiam alterar o potencial de corte da brocas.

Fillipi (1997) e Stübinger, Sader e Fillipi (2006) discutiam o emprego promissor da água ozonizada em concentrações iguais a 4 µm/mL como antimicrobiano em cirurgias odontológicas, para o resfriamento de instrumentos cortantes rotatórios, para a antissepsia de feridas, para a estimulação de vascularização e para a hemostasia trans-operatória sem explicitar a metodologia empregada.

Erdösi, Fillipi e Meyer (2005) e Kürkçü et al., (2005) pesquisaram a possibilidade de utilizar água ozonizada na desinfecção do osso coletado em sugador apropriado durante cirurgias bucais, visando a utilização deste procedimento antes de enxertos autógenos na implantodontia. Os autores verificaram que a água ozonizada não atingiu o efeito antimicrobiano (concentração aproximadamente de 12 mgO₃/L). Os autores justificaram que a ação antimicrobiana da água ozonizada foi impossibilitada pela presença de proteínas orgânicas na mistura coletada, composta de fragmentos ósseos, sangue, saliva e bactérias. Sugeriram que pesquisas viabilizassem a coleta isolada dos fragmentos ósseos, nos quais a água ozonizada poderia ter melhor efeito antimicrobiano.

Existem diversos estudos que comprovam os benefícios das irrigações na prevenção de infecção das feridas (DURANI; LEAPER, 2008). Após uma metanálise os autores mostraram evidências de que a irrigações por meio de soluções antissépticas especialmente contendo povidone diminuem a incidência de infecções profundas e o número total de infecções em feridas agudas.

Estudos em modelos animais (OWENS; WENKE, 2007; OWENS; WHITE; WENKE, 2009) comprovam que irrigações por meio de soluções antissépticas

diminuem a quantidade de bactérias de feridas complexas e o risco de infecção pós-operatória e que a diminuição da carga bacteriana foi tão maior quanto mais precoce foi a irrigação.

O conteúdo bacteriano concentrado intra-alveolar pós-exodontia e irrigações trans-operatórias inadequadas segundo Al-Belasy (2004) pode contribuir para a ocorrência de quadro de alveolite seca pós exodontia.

Owens, White e Wenke (2009) lembram que a quantidade de bactéria não é o único fator que possibilita a infecção de uma ferida. Outros fatores determinantes devem ser considerados como a extensão e a gravidade da ferida bem como o estado de saúde do indivíduo portador. O estudo apresentado pelos autores, comparando solução salina, o cloreto de benzaconio e a bacitracina mostraram que a solução salina empregada por um dispositivo de baixa pressão foi a que apresentou melhores resultados na redução do número de bactérias feridas em modelos experimentais.

Rosling et al. (2001) estudando o efeito tópico do PVP-iodine aplicado durante procedimentos de instrumentação periodontal subgingival concluíram que a adição de um agente antibacteriano, como o PVP-I pode representar uma medida viável para a diminuição da progressão da doença durante a terapia básica não cirúrgica e a manutenção do tratamento periodontal.

Avaliando diferentes soluções: salina, clorexidina e aquosa de PVPI, para irrigação de feridas cirúrgicas em derme de ratos, d' Acampora et al. (2006) concluíram que o principal é manter uma boa irrigação com volume e pressão adequados para provocar a remoção de detritos, bactérias da superfície da ferida. O PVPI foi a solução menos interferiu com a evolução normal do processo inflamatório da ferida.

2.6. O OZÔNIO E A REPARAÇÃO TECIDUAL – ESTUDOS EXPERIMENTAIS

A reparação tecidual é considerada um fenômeno complexo que envolve uma seqüência análoga de estágios bioquímicos celulares modulados por reações de oxidação e redução de um organismo (SEN et al., 2002; SEN; ROY, 2008). Enfatiza-se que a mesma é essencial para qualquer processo de recuperação frente a um traumatismo ou a uma doença.

O ozônio tem sido reportado possuir uma série de propriedades biológicas como o aumento da capacidade de absorção do oxigênio pelos eritrócitos e sua transferência para os tecidos, a estimulação do processo de metabolização do oxigênio, a ativação do sistema de defesa antioxidante e a modulação dos ésteres oxidativos (BATISTA et al., 2001; VERANES et al., 1999).

A reparação da mucosa lingual de ratos sofreu interferência após a realização de feridas padronizadas e a irrigação imediata por meio de água com 4ppm de ozônio dissolvido principalmente no processo de formação de matriz extracelular na fase final do reparo tecidual, 7 dias do pós-operatório (DEBONI et al., 2008).

Traina et al. (2007) em um estudo *in vivo* em ratos, concluíram que o ozônio diluído em água, aplicado por meio de irrigações cirúrgicas: não apresentou efeito tóxico ou prejudicial à reparação tecidual. Traina (2008) demonstrou que o ozônio foi capaz de interferir no processo de reparação tecidual, de forma dependente da sua concentração de diluição em água. O ozônio em água possibilitou maior redução da área da ferida mesmo quando uma concentração de 1ppm foi utilizada. Uma contração tecidual mais regular ocorreu quando a concentração empregada de

ozônio foi de 4ppm. Apesar de a resposta inflamatória inicial ter sido maior nos grupos teste do que nos controle a posterior diminuição da mesma favoreceu a formação tecidual, principalmente quando a concentração de 4 ppm foi empregada.

Com o propósito de se estudar a ativação do sistema NF-kappaB pelo ozônio aquoso como agente terapêutico na doença periodontal e na periodontite apical, Huth et al. (2007) descrevem a preparação de ozônio aquoso, empregando meio de cultivo celular sem soro fetal em sua composição que será submetido a infusão por ozônio gasoso na concentração de 75 g/ml por 15 minutos. Os autores verificaram por meio da biologia molecular que o ozônio aquoso exerce um efeito inibitório no sistema NF-kappaB sugerido capacidade antiinflamatórias e imuno - moduladoras.

Os resultados desta pesquisas levaram Huth e Korbinian (2008) a requerer junto ao Escritório de Patentes Europeu o registro de uma preparação farmacêutica de ozônio aquoso indicada para tratamento de doenças inflamatórias, infecções e como imuno - modulador. Segundo a descrição na patente o ozônio aquoso é mais efetivo na inibição do NF-kappaB quando preparado pela ozonização de meios contendo aminoácidos do grupo sulfidril como a cisteína ou o anel aromático triptofano.

Após revisão sistemática da literatura Azarpazhooh e Limeback (2008) comentam que há a necessidade de mais pesquisas com desenhos metodológicos adequados, experimentos clínicos randomizados e com tamanho de amostras e métodos padronizados que fundamentem a utilização do ozônio em odontologia.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito antisséptico e a resposta clínica no reparo tecidual de alvéolos pós-exodontias submetidos a irrigações trans-operatórias empregando solução de ozônio diluído em água (4ppm).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP sob Protocolo nº148/05 (Anexo A). Todos os sujeitos da pesquisa foram orientados quanto à metodologia da pesquisa e convidados voluntariamente a assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B).

4.1 CASUÍSTICA

Pacientes, matriculados junto a Clínica odontológica da FOUSP, maiores de 18 anos normoreativos com necessidade de exodontias de pré-molares e caninos erupcionados inferiores bilaterais foram selecionados seguindo os critérios descritos a seguir:

4.1.1 Critérios de inclusão

Pacientes normoreativos, sem história médica pregressa de doenças sistêmicas, com necessidade de exodontia bilateral de caninos, 1ºs e/ou 2ºs pré-molares inferiores erupcionados com características clínicas, radiográficas e de

planejamento cirúrgico semelhante e que não apresentassem possibilidade de tratamento odontológico conservador.

4.1.2 Critérios de exclusão

Não foram considerados para a amostra experimental pacientes:

- Portadores de distúrbios endócrino-metabólicos
- Em estado de imunodepressão ou em uso de drogas imunossupressoras
- Em uso de drogas antiinflamatórias e/ou antibióticas pelos últimos 15 dias pré-operatórios.

Os pacientes foram selecionados e os dentes a serem avulsionados foram incluídos nos Grupo I (controle) e Grupo II (teste) aleatoriamente.

4.2 MÉTODO

4.2.1 PRODUÇÃO DA ÁGUA OZONIZADA

A água ozonizada foi produzida por meio do gerador de ozônio (Ozone & Life® 3.0 - São José dos Campos São Paulo –Brasil), utilizado na potência 10. A fonte de oxigênio empregado foi proveniente de cilindro de oxigênio medicinal com fluxo de 1L/min ajustado e regulado por fluxômetro de precisão (Rotarex® USA). Nestas

condições, a quantidade de ozônio produzida pelo gerador era de 47,7mgO₃/L. O ozônio gerado era transportado por mangueira de silicone para 2 litros de água Milli-Q® (Millipore), contida em um lavador de gás em vidro com 1,58m de altura. O tempo de ozonização foi cronometrado e padronizado em 10 minutos. A concentração final de O₃ na água foi monitorada (seguindo método Índigo – BADER; HOIGNE, 1981) imediatamente após sua produção e previamente à sua utilização, empregando o analisador colorimétrico pelo kit Chemets™ (Chemetrics™ Inc. - USA) garantindo uma dose precisa e conhecida. A concentração aferida correspondia a 4,0 ppm (quando o gerador foi utilizado em 10 de potência com produção de 47,7mgO₃/L).

Previamente a cada produção da água ozonizada que seria utilizada na pesquisa, o lavador de vidro empregado era submetido à ozonização de 2 litros de água Milli-Q® em potência máxima do gerador com fluxo de oxigênio de 1L/min por 5 minutos, para proporcionar a esterilização daquele vidro. A temperatura ambiente e a umidade relativa do ar foram monitoradas em todos os dias durante a produção da água ozonizada, e correspondiam aproximadamente a 26°C e 66% de umidade.

Após a produção da água ozonizada, esta era coletada por meio de mangueiras de silicone estéreis e acondicionada em recipientes de vidros com tampa de Teflon® também estéreis, que foram mantidos sob refrigeração, entre 8 a 10°C, até o momento do seu uso, que ocorreu no máximo em até uma hora da sua ozonização. Para o preenchimento das seringas utilizadas para a irrigação, a água era acondicionada em recipientes de vidros estéreis.

4.2.2. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS E COLETA BACTERIANA

Os pacientes foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos pelo mesmo cirurgião na Clínica Odontológica da FOUSP junto ao ambulatório de da Disciplina de Cirurgia Odontológica.

Todas as cirurgias foram realizadas seguindo os princípios básicos e fundamentais da cirurgia e sob rigoroso controle de assepsia e anti-sepsia. Cada lado foi operado (direito ou esquerdo) e se consistiu em um dos grupos do estudo aleatoriamente.

A anti-sepsia extra-bucal foi realizada por ação mecânica local de gaze embebida em solução de digluconato de clorexidine aquosa 2% e a antisepsia intra-bucal pelo uso de solução de digluconato de clorexidine aquosa 0,12% sob a forma de bochecho por 1 minuto.

A anestesia local mental e/ou infiltrativa terminal lingual e/ou vestibular foi realizada utilizando-se lidocaína a 2% com epinefrina 1:100.000 (DFL). Imediatamente após as exodontias, foram colhidas amostras (pré-irrigação) do conteúdo orgânico (amostras bacterianas) do interior do alvéolo dental em três pontos por meio da aplicação de dois cones de papel absorvente estéril nº 80 (Papel Cell Pack TANARI®). Cada alvéolo foi submetido a duas coletas tomando-se o cuidado de se trocar a pinça por outra estéril em cada coleta. Para não haver contaminação por saliva foi realizado isolamento do alvéolo por compressa de gaze e aspiração concomitante utilizando-se ponta de sucção à vácuo adjacente ao alvéolo. Os cones foram, após a coleta, imersos imediatamente em frascos (Figura

4.1) contendo 3ml de meio de transporte pré-reduzido, o Viability Medium of Göteborg Anaerobically Prepared – VMGA, e esferas de vidro (MÖLLER, 1966).

O meio VMGA apresenta a seguinte composição:

Triptose_____	0,5g
Thiotose_____	0,5g
Ágar_____	2g
Gelatina_____	50g
Ácido trioglicólico_____	0,5ml
L-cisteína HCl_____	0,5g
Azul de metileno_____	0,002g
Solução de sais_____	100ml
Água destilada_____	qsq1.000ml

A solução de sais tem a seguinte composição:

Acetato de fenil mercúrio_____	0,03g
Glicerofosfato de sódio_____	100g
Cloreto de cálcio (2H ₂ O)_____	1,6g
Cloreto de potássio_____	4,2g
Cloreto de sódio_____	10,0g
Sulfato de magnésio (7H ₂ O)_____	1,0g

A semeadura para cultivo em aerobiose e anaerobiose foi realizada no período máximo de 3 horas após sua coleta.

O grupo I foi constituído pelos alvéolos que foram submetidos à irrigação durante 5 minutos por meio de água MilliQ® autoclavada (100ml) depositada em cubetas de vidro estéreis utilizando-se seringas hipodérmicas descartáveis.

O Grupo II foi constituído pelas cirurgias praticadas no lado oposto do mesmo paciente do grupo I empregando-se 100ml de água MilliQ® autoclavada ozonizada também seguindo os mesmos critérios anteriores.

Após as irrigações, em ambos os grupos, foram coletadas novas amostras (pós-irrigação) do interior do alvéolo seguindo a mesma metodologia anterior. Em seguida, os alvéolos foram curetados e a sutura, realizada por meio de fio de seda 3-0 (Ethicon Johnson&Johnson®) .

Foi administrado por via oral a todos os pacientes um comprimido de paracetamol 750 mg (Tylenol ® Janssen-Cilag Farmacêutica) no pós-operatório imediato. Outros oito comprimidos foram entregues para cada paciente para que fizessem uso a cada 6 horas para controle da dor pós-operatória, durante 2 dias, se necessário. Foi ainda prescrito Cetoprofeno 50 mg (Genérico Medley®) a cada 8 horas por 3 dias para os casos que envolveram procedimentos complementares como alveoloplastias corretoras. Todos os pacientes foram orientados a procurar o pesquisador se houvesse necessidade, a qualquer tempo, durante o pós-operatório. Foi solicitado ainda que retornarem as medicações que por ventura não tivessem sido utilizadas a título de contagem no pós-operatório.

4.2.3 Avaliação clínica

No pós-operatório imediato cada paciente foi questionado quanto a queixas ou desconfortos experimentados durante e após a cirurgia e os dados foram anotados (Anexo C).

No pós-operatório de oito dias foram anotados os dados relativos a possíveis queixas e a quantidade de analgésico utilizada pelo paciente. As medicações que o paciente não fez uso foram então contadas. A avaliação clínica foi realizada por um observador que não conhecia a distribuições dos grupos e foi calibrado previamente quanto aos sinais de inflamação do reparo do alvéolo dental considerando-se: 0= **normal** (era considerado aquele alvéolo com tecido de granulação sem hiperemia, sem edema local e sem presença de exsudato espontâneo) 1= com **inflamação moderada** (aquele alvéolo com tecido de granulação hiperêmico, sem edema local e sem exsudato espontâneo), 2= com **inflamação intensa** (aquele que não apresentava tecido de granulação ou hiperemia e exibia edema local e exsudato espontâneo).

4.2.4 Cultivo bacteriano

As amostras foram submetidas à cultura em aerobiose e anaerobiose para a contagem do número de colônias bacterianas (UFC - Unidade Formadoras de Colônias) nos dois grupos nos dois momentos pré e pós-operatório e foi verificada a variação quantitativa das colônias nos dois grupos nos dois tempos operatórios comparativamente ao emprego da água ozonizada e da água não ozonizada.

As culturas microbianas foram processadas junto ao Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP (ICB-USP) seguindo método padrão:

Os frascos contendo as amostras bacterianas e o meio de transporte foram homogeneizados em agitador de tubos durante 30 segundos, e a seguir foram realizadas diluições seriadas em água peptonada esterilizada.

A água peptonada apresenta a seguinte composição:

Triptone_____	2,5g
Thiotone E peptone_____	2,5g
NaCl_____	5,0g
Água destilada_____	qsq 1.000ml

Foram então semeadas três de alíquotas 25µl, de cada diluição, em placas (Figura 4.2) contendo Ágar Brucella Sangue (Difco Laboratories Inc. USA). O Ágar Brucella Sangue foi preparado conforme instruções do fabricante, utilizando como base o Ágar Brucella, esterilizado em autoclave a 121°C durante 15 minutos e resfriado a 45°C. Foram adicionados 10ml de solução de hemina (Sigma Chemical Com., USA), para concentração final de 10µl/ml, 0,1 ml de solução de menadione (Sigma Chemical Com., USA) para concentração final de 2,5µl/ml, e 5% de sangue destilado de carneiro (LE GOFF et al., 1997).

As placas de cultivo foram incubadas a 37° C durante 5 dias, sob atmosfera em aerobiose para contagem de bactérias facultativas e sob anaerobiose para contagem total de bactérias anaeróbias estritas e facultativas utilizando incubador Anaerogen (Oxoid Ltd. Basingstoke, Hants., England), em jarras de anaerobiose (Figura 4.3), que reduzem a quantidade de O₂ a menos de 1% e fornecem de 9% a 13% de CO₂. Após esse período foi realizada a contagem de colônias bacterianas considerando os valores médios do número total de unidades formadoras de colônias (UFCs) por mL nas 3 alíquotas semeadas de cada diluição (TRAINA et al., 2005).

4.2.5 Avaliação dos resultados

A contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) foram realizadas, de forma cega, para os dois grupos (1 e 2) comparativamente entre os períodos pré e pós-irrigação considerando os cultivos em aerobiose e anaerobiose. Os valores obtidos permitiram observar se houve redução no número de bactérias totais entre as Culturas do Grupo 1 e do Grupo 2.

Os dados obtidos foram submetidos a estudo estatístico empregando o Teste dos Postos Sinalizados de Wilcoxon pelo programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences), em sua versão 13.0.

Foi adotado o nível de significância de 5% (0,050).

Os resultados das avaliações clínicas e os relatos pós-operatórios dos pacientes foram interpretados de forma quantitativa descritiva.

Figura 4.1 - Frasco para transporte contendo VMGA e amostras bacterianas

Figura 4.2 - Placa de cultivo semeada com as amostras bacterianas

Figura 4.3 - Jarra para cultivo em anaerobiose contendo as placas com amostras bacterianas

5 RESULTADOS

Foram realizadas 93 exodontias em 23 pacientes (14 do sexo feminino e 9 do sexo masculino). Os grupos foram formados pelas avulsões de vinte e seis 1º s e 2º s pré-molares e vinte caninos inferiores bilateralmente. Foi necessária alveoloplastia corretora em oito casos.

As Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) após cultivo em aerobiose e anaerobiose no Grupo I estão ilustradas na figura 5.1 (a, b, c, d) e no Grupo II na figura 5.2 (a, b, c, d). Os valores totais de Unidades Formadoras de Colônias Bacterianas por mL (UFCs/mL) em aerobiose e anaerobiose considerando as médias das diluições em cada grupo e período estão expressos no Anexo D.

A aplicação do *Teste não-paramétrico dos Postos Sinalizados de Wilcoxon* verificou possíveis diferenças entre os pares de variáveis formados, em cada caso estudado.

5.1 CONTAGEM DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS

As médias das contagens de unidades formadoras de colônias (UFCs) comparando-se o momento pré e pós-irrigação no cultivo em aerobiose e anaerobiose para os Grupo I (irrigação com água não-ozonizada) e Grupo II

(irrigação com água ozonizada), considerando o desvio padrão e o valor de **p** estão expressas na tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Resultados das médias das contagens bacterianas comparando-se os momentos 'pré' e 'pós' irrigação

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
Grupo I aero_pre	23	2696,09	4161,16	6,00	13066,00	< 0,001
Grupo I aero_pos	23	413,70	1158,44	0,00	5466,00	
Grupo I anaero_pre	23	12671,91	21838,25	47,00	98266,00	< 0,001
Grupo I anaero_pos	23	1929,87	3366,21	2,00	11066,00	
Grupo II aero_pre	23	3049,91	7793,81	0,00	36933,00	0,001
Grupo II aero_pos	23	367,13	907,56	0,00	3866,00	
Grupo II anaero_pre	23	10166,09	29186,39	118,00	142660,00	0,001
Grupo II _anaero_pos	23	1052,83	1868,21	3,00	8000,00	

Valor significativo de $p < 0,050$

Em todos os grupos houve diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,001$) considerando-se os momentos pré e pós-irrigação, havendo menores valores no período pós-irrigação para ambos os grupos.

A contagem bacteriana em aerobiose e anaerobiose para os Grupos I e II, o desvio-padrão e o valor de **p** estão expressos na tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Resultados das médias das contagens bacterianas comparando-se aerobiose e anaerobiose

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
Grupo I aero_pre	23	2696,09	4161,16	6,00	13066,00	< 0,001
Grupo I anaero_pre	23	12671,91	21838,25	47,00	98266,00	
Grupo I aero_pos	23	413,70	1158,44	0,00	5466,00	0,001
Grupo I anaero_pos	23	1929,87	3366,21	2,00	11066,00	
Grupo II aero_pre	23	3049,91	7793,81	0,00	36933,00	0,001
Grupo II _anaero_pre	23	10166,09	29186,39	118,00	142660,00	
Grupo II aero_pos	23	367,13	907,56	0,00	3866,00	0,004
Grupo II _anaero_pos	23	1052,83	1868,21	3,00	8000,00	

Valor significante de $p < 0,050$

O número de colônias em anaerobiose mostrou-se significativamente maior ($p \leq 0,001$ a $p = 0,004$) do que as colônias em aerobiose, tanto no período pré como no pós-irrigação, independentemente do grupo.

A comparação do tipo de irrigação sem ozônio (Grupo I) e com água ozonizada (Grupo II), as médias das contagens, o desvio padrão e o valor de **p** estão expressos na tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Resultados das médias das contagens bacterianas comparando-se os Grupos I e II

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
Grupo I _aero_pre	23	2696,09	4161,16	6,00	13066,00	0,927
Grupo II _aero_pre	23	3049,91	7793,81	0,00	36933,00	
Grupo I _aero_pos	23	413,70	1158,44	0,00	5466,00	0,951
Grupo II _aero_pos	23	367,13	907,56	0,00	3866,00	
Grupo I _anaero_pre	23	12671,91	21838,25	47,00	98266,00	0,248
Grupo II _anaero_pre	23	10166,09	29186,39	118,00	142660,00	
Grupo I _anaero_pos	23	1929,87	3366,21	2,00	11066,00	0,503
Grupo II _anaero_pos	23	1052,83	1868,21	3,00	8000,00	

Valor significante de $p < 0,050$

Na comparação entre os grupos, não houve diferenças estatisticamente significantes ao se considerar os tipos de colônias bacterianas e o momento da coleta em relação à irrigação.

As diferenças entre as médias que representaram diminuição no número de colônias bacterianas (Grupo I– $n = 21$ e Grupo II– $n = 18$) comparando-se os períodos pré e pós-irrigação para cada grupo estão expressas nas tabelas 5.4, 5.5, 5.6 e 5.7.

Tabela 5.4 - Resultados das diferenças entre as médias das contagens bacterianas comparando-se aerobiose e anaerobiose para o Grupo I

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
DIF_Grupo I aero_pre_pos	21	2508,29	4032,14	2,00	12600,00	< 0,001
DIF_Grupo I anareo_pre_pos	21	11735,05	21023,04	43,00	92000,00	

Valor significante de $p < 0,050$

Tabela 5.5 - Resultados das diferenças entre as médias das contagens bacterianas comparando-se aerobiose e anaerobiose para o Grupo II

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
DIF Grupo II aero_pre_pos	18	3473,61	8630,54	4,00	36890,00	0,008
DIF Grupo II anareo_pre_pos	18	11960,94	32639,50	50,00	141714,00	

Valor significativo de $p < 0,050$

Na comparação entre as bactérias aeróbicas e anaeróbicas, pode-se afirmar que houve uma maior diminuição estatisticamente significativa das anaeróbicas.

Na condição do Grupo II em que a irrigação foi realizada com água ozonizada, também houve uma diminuição significativamente maior de anaeróbicos comparativamente às aeróbias.

Quando comparamos os dois tipos de irrigações considerando o número de colônias em aerobiose não houve diferença estatisticamente significativa (Tabela 5.6). A variação entre sem e com ozônio foi semelhante.

Tabela 5.6 - Resultados das diferenças entre as médias das contagens bacterianas comparando-se aerobiose entre Grupo I e II

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
DIF Grupo I _aero_pre_pos	18	2921,44	4227,26	6,00	12600,00	0,983
DIF Grupo II _aero_pre_pos	18	3473,61	8630,54	4,00	36890,00	

Valor significativo de $p < 0,050$

Quando comparamos os dois tipos de irrigações considerando o número de colônias em anaerobiose também não houve diferença estatisticamente significativa (Tabela 5.7).

A variação entre irrigações empregando água ozonizada e água não ozonizada também foi semelhante.

Tabela 5.7 - Resultados das diferenças entre as médias das contagens bacterianas comparando-se anaerobiose entre Grupo I e II

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
DIF_Grupo I anareo_pre_pos	19	12578,74	21979,36	43,00	92000,00	0,469
DIF_Grupo II _anareo_pre_pos	19	10622,16	31929,67	50,00	141714,00	

Valor significativo de $p < 0,050$

5.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA PÓS-OPERATÓRIA

No pós-operatório imediato **sete** pacientes se queixaram de ardor durante o processo de irrigação (Grupo II) e **nove** relataram odor desagradável durante a irrigação (Grupo II).

No pós-operatório de oito dias **quatro** pacientes fizeram uso da totalidade dos analgésicos fornecidos e **um** paciente fez uso de apenas dois comprimidos no primeiro dia pós-operatório. Não houve necessidade de uso dos analgésicos além da dose imediata pela maioria dos pacientes e **dez** pacientes devolveram a medicação analgésica. Dos oito casos que envolveram alveoloplastias corretoras complementares **quatro** fizeram uso da medicação antiinflamatória e dos oito comprimidos de analgésico, **três** fizeram uso apenas do antiinflamatório, mas não do analgésico. **Um** paciente relatou não ter feito uso nem do analgésico nem do antiinflamatório.

A avaliação clínica mostrou **quatro** casos (três que envolveram alveoloplastia e um de exodontia de caninos bilaterais) apresentando inflamação moderada

(índice=1) exibindo uma mucosa hiperêmica em região de gengiva inserida anterior, mas sem a presença de edema local e exsudato espontâneo nos alvéolos. Dos quatro casos **três** apresentaram a uma inflamação moderada no lado correspondente ao Grupo I (irrigação por meio de água não-ozonizada).

Dezenove casos, para ambos os lados direito e esquerdo, foram considerados normais (índice=0) exibindo alvéolo, com tecido de granulação sem hiperemia, sem edema local e sem presença de exsudato espontâneo. Não foi possível identificar diferenças entre os lados (Grupo I e II) e não houve nenhum caso que apresentasse inflamação intensa (índice=2).

Figura 5.1 – *Grupo I* - Unidades Formadoras de Colônia em aerobiose pré (a) e pós (b) irrigação e anerobiose (c) pré e pós (d) em Agar Brucella Sangue

Figura 5.2 *Grupo II* - Unidades Formadoras de Colônia em aerobiose pré (a) e pós (b) irrigação e anerobiose (c) pré e pós (d) em Agar Brucella Sangue

6 DISCUSSÃO

Todos os princípios fundamentais da cirurgia: necessidade, oportunidade, medidas de assepsia e antissepsia, medidas pré, trans e pós-operatórias, técnica cirúrgica atraumática, planejamento cirúrgico e reavaliação do quadro clínico estão fundamentados no objetivo final da terapêutica cirúrgica, qual seja - a reparação do dano.

O processo de reparo tecidual é caracterizado por uma série complexa de eventos concatenados que envolvem de forma geral inflamação, granulação e remodelação dos tecidos lesados.

Após uma exodontia o alvéolo é preenchimento por sangue e o subsequente processo de hemostasia toma lugar no interior da ferida e todas as etapas do processo de reparação deveriam se seguir, idealmente, em um meio desinfetado minimizado de riscos para uma infecção.

A boca pode ser considerada um local potencialmente infectado e a colonização por bactérias e outros microrganismos é um fato real. O respeito ao processo contínuo de manutenção da cadeia de antissepsia durante qualquer ato cruento deve ser mandatório para que o processo de reparo dos tecidos transcorra de forma a não haver interferências desfavoráveis que possam retardar a cura.

Estratégias, procedimentos e pesquisas em inovações terapêuticas que visem reduzir os riscos de infecção pós-operatória são desejáveis. Neste contexto é que podemos inserir a utilização do **ozônio**.

O ozônio pode ser considerado uma “velha-inovação” que tem ganhado espaço nas pesquisas mais recentes em sanificação, no controle de contaminações e infecções hospitalares (BOCCI, 2002a; KIM; YOUSEF; KHADRE, 2003; SELMA et al., 2008; SHARMA; HUDSON, 2008), e em especial no controle e tratamento de diversas doenças (BATISTA et al., 2001; BOCCI, 2004; CRUZ et al., 1997; LINCHETA et al., 2000; VERANES et al., 1998, 1999). Desde o século 19 ele já havia sido descrito como agente antimicrobiano, antiinflamatório e com efeitos benéficos na reparação dos tecidos.

Há quatro anos, quando tomamos contato com pesquisadores nacionais e internacionais na área da ozonioterapia descobrimos que muito dos aspectos da terapêutica empregando ozônio, tanto em medicina como em odontologia, permaneciam não explorados.

Apesar de algumas controvérsias a literatura tem referendado desde o início das aplicações terapêuticas do ozônio a sua ação antimicrobiana segura (BULIÉS, 1996; BULIÉS et al., 1997; GROOTVELT et al., 2004; STÜBINGER; SADER; FILLIPI, 2006). Tanto sob a forma gasosa como diluído em água o ozônio apresenta ação efetiva comprovada contra muitas bactérias bucais (ESTRELA et al., 2006; GARDUÑO et al., 1995; NAGAYOSHI et al., 2004a; VELANO et al., 2001). Essa ação, porém, ainda é questionável em bactérias organizadas no biofilme (HEMS et al., 2005; MÜLLER; GUGGENHEIM; SCHMIDLIN, 2007).

O ozônio, como todo agente terapêutico deve ser estudado com cuidado de forma a estabelecer parâmetros seguros que facilitem a sua aplicação. Em cirurgia buco-maxilo facial, acreditamos ser inviável a sua utilização sob a forma de gás, pois o efeito tóxico ao sistema respiratório torna difícil se estabelecer uma metodologia aplicável na prática.

Quando o ozônio é diluído em água sua estabilidade pode ser estendida, a concentração pode ser mantida por alguns dias sob refrigeração (BOCCI, 2004) além de que sob a forma aquosa ele não representa risco de intoxicação ao paciente.

A produção do ozônio não é complicada e representa baixo custo. Alguns geradores nacionais já estão sendo produzidos dentro de padrões adequados de qualidade, e calibração que podem garantir a segurança do operador e as condições ideais de produção de um ozônio puro.

Procedimentos de irrigação cirúrgica fazem parte das manobras de desbridamento possíveis para a redução do conteúdo bacteriano de feridas de uma maneira geral (BAHRS et al., 2003; KALTEIS et al., 2005; SIEGEL; von FRAUNHOFER, 1999). No caso dos alvéolos pós-exodontias essa manobra deve ser realizada desde que os mecanismos empregados não resultem em altas pressões que possam inocular microrganismos para o interior dos tecidos ou para outras regiões anatômicas.

As irrigações neste estudo foram executadas de forma manual por meio de seringa hipodérmica descartável. A duração média do processo de irrigação ocorreu em 5 minutos assim cada 20 ml das soluções era dispensada na ferida do alvéolo em velocidade que não excedeu 4 ml/min.

A escolha da concentração de ozônio na água (4ppm) foi baseada na concentração máxima que o gerador pode produzir, objetivando um desempenho otimizado, considerando a dissociação do oxigênio a mais alta possível e a maior formação de ozônio.

É muito importante a manutenção da concentração do ozônio diluído em água, pois os efeitos terapêuticos estão diretamente relacionados à sua concentração (TRAINA, 2008; TRAINA et al., 2007).

Algumas publicações especificaram a utilização de testes fotométricos ou colorimétricos para determinação da concentração do ozônio na água (ARITA et al., 2005; HEMS et al., 2005; HUTH et al., 2006; NAGAYOSHI et al., 2004). Embora os autores tenham apresentado estas concentrações por unidades de medidas diferentes, essas variaram entre 0,5 e 5 ppm. O teste colorimétrico que utilizamos é de fácil execução, apresenta boa precisão e revelou ser fundamental para o controle da concentração, uma vez que somente parte da quantidade do gás produzido é mantido e incorporado à substância que está sendo ozonizada.

Presumíamos inicialmente que a solução de ozônio diluído em água teria um efeito antimicrobiano melhor do que o soro fisiológico. Em estudo piloto anterior (dados não mostrados) comparando irrigações de alvéolo com soro e com água ozonizada a redução do conteúdo bacteriano foi semelhante. Como o grupo controle (Grupo I) da solução de água ozonizada (Grupo II) não poderia ser o soro, pela quantidade de sais que ele possui e pela falta de garantia da estabilidade da concentração de ozônio, optamos pela água deionizada estéril como controle. A variável a ser testada então seria a presença do ozônio.

A pesquisa revelou que as irrigações, empregando soluções estéreis, imediatamente após a exodontia, foram capazes de reduzir sensivelmente a colonização bacteriana intra-alveolar.

Os resultados mostraram que, quanto à diminuição das Unidades Formadoras de Colônias, não houve diferença estatística significativa entre os Grupos I e II nos períodos pré e pós-operatórios, tanto em aerobiose como em anaerobiose. Foi fato

que irrigações, independentes do tipo de solução empregada, foram significantes na redução das bactérias anaeróbias. O microambiente intra-alveolar está sujeito a colonização por vários tipos de microrganismos. Como é um sítio onde o gradiente de oxigênio é muito reduzido, as bactérias anaeróbias são as mais freqüentes e são as que muitas vezes apresentam os maiores riscos de infecções graves pós-operatórias (Traina et al., 2005).

O paradigma de que irrigações possam facilitar a desorganização do coágulo no alvéolo só pode ser concebível no pós-operatório **mediato** uma vez que no pós-operatório **imediatto** um microambiente menos colonizado favorecerá a formação de um coágulo de melhor qualidade sob o ponto de vista do risco de infecção.

Quantificar as Unidades Formadoras de Colônias em outros momentos do pós-operatório mediato (24/48 ou 72 horas) após a utilização de soluções contendo ozônio ou outros antissépticos poderia avaliar o quanto e em que nível as irrigações e soluções afetam o potencial de recolonização das feridas.

Outra pesquisa com metodologia semelhante poderia ter esse último objetivo e verificar um real efeito antimicrobiano maior variando as concentrações e o tempo de exposição à solução de ozônio diluído.

Um mecanismo de desinfecção ou antisepsia durante o ato cirúrgico deveria ser incluído em protocolos de medidas trans operatórias nas exodontias, mesmo naquelas por via alveolar, em casos onde os indivíduos sejam portadores de distúrbios sistêmicos que possam retardar o processo de reparo ou que localmente apresentem fatores potenciais para o desenvolvimento de um processo infeccioso.

É importante lembrar ainda que a ruptura da vascularização em uma ferida limita o suprimento de oxigênio no local. A oxigenação comprometida pode ser vista como mais um dos fatores impeditivos ao processo de reparo e desinfecção da

ferida (SEN et al., 2002; SEN; ROY, 2008). A utilização de ozônio em pequenas concentrações pode além de a capacidade antimicrobiana ser uma estratégia segura de melhoria da oxigenação local pelo maior aporte de íons de oxigênio.

Não foram observadas grandes diferenças clinicamente detectáveis que pudessem sugerir algum efeito estimulador no processo de reparo nas feridas exodônticas. Acreditamos baseados em resultados anteriores (DEBONI et al., 2008; TRAINA, 2008; TRAINA et al., 2007) e de outros autores (BATISTA et al., 2001; VERANES et al., 1999) que o ozônio diluído em água poderia ser uma fonte de suplemento de oxigênio que iria interferir na indução de alguns oxidantes, e em sinalizadores para eventos oxigênio-dependente, sensíveis ao estado redox, representando um componente fundamental para todos os fatores relacionados à reparação.

Como os pacientes não apresentavam comprometimento sistêmico que pudesse sugerir qualquer desequilíbrio oxidativo os efeitos do ozônio podem não ter sido totalmente evidenciados.

O aumento na quantidade de oxigênio disponível no tecido superficial pode ter grande utilidade em situações que apresentem déficit daquele composto, como tecido com hipoxia, em feridas crônicas, osteomielite (STEINHART; SCHULZ; MUTTERS, 1999) e em paciente diabético. Talvez, estas e outras situações apresentem algum prejuízo da função celular que possam interagir com o ozônio e conduzir a resultados mais favoráveis ao reparo tecidual. Essas são hipóteses a serem testadas experimentalmente em especial em cirurgia buco maxilo facial.

Clinicamente as queixas mais freqüentes dos pacientes foram o odor e ligeira ardência durante a utilização da água ozonizada fatos inerentes à próprias

características do ozônio (BOCCI, 2004) e que dificultariam uma metodologia para estudo cego.

Em nenhum dos casos houve retardo no processo de reparação tecidual comparativamente entre os alvéolos do grupo I e II não tendo ocorrido quadro de exacerbação do processo inflamatório (índice=2) ou quadro clínico que pudesse ser caracterizado por alveolite. A presença do ozônio diluído na água não provocou efeito desfavorável no processo de reparo tecidual após 8 dias de pós-operatório.

O consumo de drogas analgésicas e antiinflamatórias também foram considerados como parâmetro clínico de avaliação de que a água ozonizada pudesse exacerbar sintomas ou quadros algícos pós-operatórios, porém a utilização dos fármacos foi semelhante em todos os pacientes. As cirurgias foram realizadas pelo mesmo cirurgião e a técnica foi executada com o menor trauma possível, assim as queixas, sintomas foram dentro das expectativas para os traumatismos inerentes aos procedimentos cirúrgicos executados.

A amostra deste estudo não permite emitir afirmações quanto ao efeito antiinflamatório que a água ozonizada possa ter exercido no pós-operatório, mas como a maioria dos casos foi considerada com quadro de inflamação normal (índice=0) a água ozonizada na concentração de 4ppm não provocou efeito processo inflamatório nem tóxico clinicamente detectável podendo ser considerada segura.

Dentro dos limites metodológicos deste estudo não encontramos um efeito antimicrobiano estatisticamente significativo para o ozônio diluído em água empregado nas irrigações, mas enfatizamos que uma solução de água estéril e ozônio dissolvido possa ser uma alternativa segura a outras soluções antissépticas ou desinfetantes de alto nível para o tratamento de feridas.

7 CONCLUSÕES

O estudo, dentro de seus limites metodológicos, permitiu concluir que:

- Ambas as soluções utilizadas mostraram redução na contagem bacteriana dos alvéolos pós-irrigação.
- A redução da contagem de bactérias anaeróbias foi estatisticamente maior do que as aeróbicas.
- A água ozonizada não provocou retardo clínico no processo de reparação alveolar e não mostrou efeito tóxico.

REFERÊNCIAS

Al-Belasy FA. The relationship of Shisha (Water Pipe) smoking to postextraction dry socket. J Oral Maxillofac Surg 2004;62:10-4.

Arita M, Nagayoshi M, Fukuizumi T, Okinaga T, Masumi S, Morikawa M, et al. Microbicidal efficacy of ozonated water against *Cândida albicans* adhering to acrylic denture plates. Oral Microbiol Immunol 2005;20:206-10.

Azarpazhooh A, Limeback, H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. J Dent 2008;36:104-16.

Bader H, Hoigne J. Determination of ozone in water by the Indigo Method. Water Res 1981;15:449-56.

Bahrs C, Schnabel M, Frank T, Zapf C, Mutters R, von Garrel T. Lavage of contaminated surfaces: an in vitro evaluation of the effectiveness of different systems. J Surg Res 2003;112:26-30.

Barros LM, Fiorini JE. Efeito da clorexidina e da água ozonizada sobre os *S.viridans* da placa bacteriana supragengival. Rev Assoc Paul Cir Dent 2000;54(1):47-52.

Batista AD, Mesa MG, Manresa CP, Cepero SM. Efecto del ozono sobre la activación plaquetaria en pacientes diabéticos tratados con ozonoterapia: informe preliminar. Rev Cubana Invest Biomed 2001;20(1):45-7.

Baysan A, Beighton, D. Assessment of the ozone –mediated killing of bacteria in infected dentine associated with non-cavitated occlusal carious lesions. Caries Res 2007;41:337-41.

Baysan A, Lynch E. Effect of ozone on the oral microbiota and clinical severity of primary root caries. Am J Dent 2004;17(1):56-60.

Baysan A, Whiley RA, Lynch E. Antimicrobial effect of a novel ozone- generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro. Caries Res 2000;34(6):498-50.

Bialka KL, Demirci A. Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on blueberries using ozone and pulsed UV-light. J Food Sci 2007;72(9):391-6.

Bocci V. A brief historical review. In: Bocci V. Oxygen-ozone therapy- a critical evaluation. 1st ed. Dordrecht Netherlands: Kluwer Academic; 2002a. p. 1-3.

Bocci V. Solubility of ozone in water and preparation of ozonized water and oil In: Bocci V. Oxygen-ozone therapy- a critical evaluation. 1st ed. Dordrecht Netherlands: Kluwer Academic.; 2002b. p. 51-53.

Bocci VA. How Ozone acts and how it exerts therapeutic effects In: Lynch E. Ozone: the revolution in Dentistry. 1st ed. Surrey: Quintessence; 2004. p. 15-22.

Bocci, VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the Art. Arc Med Res 2006;37:425-35.

Buliés JC. Una solución para exposiciones óseas postraumáticas: asociación de injerto de epiplon mayor con ozonoterapia. Rev Cubana Invest Biomed 1996;15(2):1-9.

Buliés JC, Díaz OV, Rauder RS, Valdés YL, García CL. Resultados terapéuticos en la osteoartritis de la rodilla con infiltraciones de ozono. Rev Cubana Invest Biomed 1997;16(2):124-32.

Cardoso MG, Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AOC Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and endotoxins in root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;105:e85-e91.

Cruz OG, Menéndez SC, Jordán M, Jordán ME, Vázquez T. Aplicación de la ozonoterapia en el tratamiento de la alveolitis. Rev Cuba Estomato 1997;34(1):214.

d' Acampora AJ, Vieira DSC, Silva MT, Farias DC, Tramonte R. Morphological nalysis of three wound cleaning processes on potentially contaminated wounds in rats. Acta Cir Bras 2006;21:332-40.

Deboni MCZ, Nogueira RS, Urruchi WI, Traina AA, Correa L. Ozonized water in wound healing – anhitomorphometric study in rats. [abstract] In: Abstract Book and Documentation of 3rd Congress Union Wound Healing Societies; 2008 June 4-8; Toronto. 2008. p. 347.

Durani P, Leaper D. Povidone-iodine:use in hand disinfection, skin preparation and antiseptic irrigation. Int Wound J 2008;5:376-87.

Erdösi R, Fillipi A, Meyer J. Application of ozone to local bone augmentation procedures in dental implantology. In: IOA 17th World Ozone Congress; 2005 Strasbourg; 2005.

Estrela C, Estrela CRA, Decurcio DA, Hollanda ACB, Silva JA. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. Int Endod J 2007;40:85-93.

Estrela C, Estrela CRA, Decurcio DA, Silva JA, Bammann LL. Antimicrobial potential of ozone in an ultrasonic cleaning system against *Staphylococcus aureus*. Braz Dent J 2006;17:134-38.

Fillipi, A. Ozone in oral surgery. Current status and prospects Ozone. Sci and Engineer 1997;19:387-93

Garduño MPG, Quijano GIJ, Lara VGL, García NS, Muñoz EH. Efectos del agua ozonificada en la placa dentobacteriana. Rev ADM 1995;52(6):305-8.

Gent JF, Triche EW, Holford TR, Belanger K, Bracken MB, Beckett W, et al. Association of low-level ozone and fine particles with respiratory symptoms in children with asthma. JAMA 2003;290(14):1859-67.

Grootvelt M, Silwood C, Sim J, Siddiqui N, Claxson A, Lynch E. Safety aspects regarding the therapeutic applications of ozone and ozonated culinary oils in medicine and dentistry. In: Lynch E. Ozone: the revolution in dentistry. United Kingdom: Quintessence; 2004. cap. 1.3, p. 31-8.

Guerra OC, Cepero SM, Jordán MEM, Vázquez TC. Aplicación de la ozonoterapia em el tratamiento de la alveolitis. Rev Cuba Estomato 1997;34(1):21-4.

Hems RS, Gulabivala K. Ng Y-L, Ready D, Spratt DA. An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. Int End J 2005;38:22-9.

Holmes J. Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomised, controlled 18-month trial. Gerodontology 2003;20(2): 106-14.

Hudson JB, Sharma M, Petric M. Inactivation of norovirus by ozone gás in conditions relevant to health care. J Hosp Infect 2007;66:40-5.

Huth KC, Jakob FM, Saugel B, Cappello C, Paschos E, Hollweck R, et al. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. Eur J Oral Sci 2006;114(5):435-40.

Huth KC, Korbinian B. Pharmaceutical preparations for treating inflammatory diseases – Ozonized amino acid. European Patent application. Eur Pat Off Bull 2008;25 (EP 1932524 A1).

Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, Alkhayer M, Paschos E, et al. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. Int Endod J 2009;42(1):3-13.

Huth KC, Saugel B, Jakob FM, Cappello C, Quirling M, Paschos E, et al. Effect of aqueous ozone on the NF-κB System. J Dent Res 2007;86:451-456.

Kalteis T, Lehn N, Schröder H-J, Schubert T, Zysk S, Handel M, et al. Contaminant seeding in bone by different irrigation methods. An experimental study. J Orthop Trauma 2005;19:591-6.

Kavo Dental Excellence Products Catalog. Disponível em: URL:<http://www.kavo.com> [2009 Feb. 20].

Kim JG, Yousef AE, Khadre MA. Ozone and its current and future application in the food industry. *Adv Food Nutr Res* 2003;45:167-218.

Knight GM, McIntyre JM, Craig GG, Mulyani, T, Zilm PS. The inability of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* to form a biofilm in vitro on dentine pretreated with ozone. *Aust Dent J* 2008;53(4):349-53.

Krozer A, Hall J, Ericsson I. Chemical treatment of machined titanium surfaces: an in vitro study. *Clin Oral Impl Res* 1999;10:204-11.

Kürkçü M, Oz LA, Köksal F, Benlidayi ME, Güneşli A. Microbial analysis of the autogenous bone collected by bone filter during oral surgery: a clinical study. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63(11):1593-8.

Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol Immunol* 1997;12:318-22.

Lincheta LF, Simón RD, Cepero SM, Díaz NL, Duque SM. Solución para la epidermofitosis de los pies en integrantes de las Fuerzas Armadas Revolucionarias. *Rev Cubana Med Milit* 2000;29(2):98-102.

López EG, Martínez AR, Ruiz AOB, García LOR. La ozonoterapia en el tratamiento de la estomatitis subprótesis. *Rev Cubana Estomatol* 2003;40(2). Disponible em: URL: <http://scielo.pueba.sld.cu/scielo> [2007 dez. 18].

Mc Donnell GE. Chemical disinfection In: Mc Donnell GE. Antisepsis, disinfection and sterilization. Washington: ASM Press; 2007. p. 115.

Menéndez S, Falcón L, Simón DR, Landa N. Efficacy of ozonized sunflower oil in the treatment of tinea pedis. *Mycoses* 2002;45(8):329-32.

Möller AJR. Microbial examination of root canals and periapical tissue of human teeth. *Odontol Tidskr* 1966;74(Suppl)1-380.

Müller P, Guggenheim B, Schmidlin PR. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *Eur J Oral Sci* 2007;115(1):77- 80.

Murakami H, Mizuguchi M, Hattori M, Ito Y, Kawai T, Hasegawa J. Effect of denture cleaner using ozone against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *E. coli* T1 phage. *Dent Mater J* 2002;21(1):53-60.

Murray BK, Ohmine S, Tomer DP, Jensen KJ, Johnson FB, Kirsi JJ, et al. Virion disruption by ozone-mediated reactive oxygen species. *J Virol Methods* 2008;153:74-7.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Esterilização, Desinfecção e Antissepsia In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiologia médica. Trad. de Claudia Adelino Espanha et al. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006a. p. 85.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Metabolismo e crescimento bacteriano In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiologia médica. Trad. de Claudia Adelino Espanha et al. 5^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006b. p. 25.

Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol* 2004a;19(4):240-6.

Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial Effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod* 2004b;30:778-81.

Oizumi M, Suzuki T, Uchida M, Furuya J, Okamoto Y. In vitro testing of a denture cleaning method using ozone. *J Med Dent Sci* 1998;45(2):135-9.

Owens BD, Wenke JC. Early wound irrigation improves the ability to remove bacteria. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:1723-6.

Owens BD, White DW, Wenke JC. Comparison of irrigation solutions and devices in a contaminated musculoskeletal wound survival model. *J Bone Joint Surg Am* 2009;91:92-8.

Pankhurst CL, Johnson NW, Woods RG. Microbial contamination of dental unit waterlines: the scientific argument. *Int Dent J* 1998;48(4):359-68.

Pereira AMVS. Comparação do efeito da medicação intracanal com pasta HPG e com óleos ozonizado, no tratamento endodôntico de dentes despulpados com lesão periradicular associadas: estudo radiográfico, histológico e histobacteriológico em cães [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro: Faculdade de Odontologia da UFRS; 2002.

Piloto VC, Urrutia ZEA. Efectividade del oleozón en el tratamiento de la estomatitis subprótesis. *Rev Cubana Estomatol* 2000;37(3):140-5.

Rodríguez ML, Cepero MS, Perdomo EO. Efectos del ozono en el tratamiento de la gengivoestomatitis herpética aguda. *Rev Cubana Estomatol* 1994;31(1):14-7.

Rosling B, Hellström M-K, Ramberg P, Socransky SS, Lindhe J. The use of PVP-iodine as an adjunct to non-surgical treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:1023-31.

Sechi LA, Lezcano I, Nunez N, Espim M, Duprè I, Pinna A, et al. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozon). *J Appl Microbiol* 2001;90(2):279-84.

Selma MV, Allende A, López-Gálvez F, Conesa MA, Gil MI. Disinfection potential of ozone, ultraviolet-C and their combination in wash water for the fresh-cut vegetable industry. *Food Microbiol* 2008;25:809-14.

Sen CK, Khanna S, Babior BM, Hunt TK, Ellison EC, Roy S. Oxidant-induced vascular endothelial growth factor expression in human keratinocytes and cutaneous wound healing. *J Biol Chem* 2002;277(36):33284-90.

Sen CK, Roy S. Redox signals in wound healing. *Biochim Biophys Acta* 2008;1780(1):1348-61.

Sharma M, Hudson JB. Ozone gas is an effective practical antibacterial agent. *Am J Infect Control* 2008;36:559-63.

Siegel SC, von Fraunhofer A. Irrigation solution and pressure effects on tooth sectioning with surgical burs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;87:552-6.

Steinhart H, Schulz S, Mutters R. Evaluation of ozonated oxygen in an experimental animal model of osteomyelitis as a further treatment option for skull-base osteomyelitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1999;256:153-7.

Stoker G. The surgical uses of ozone. *Clinical Notes. Lancet* 1916;21:712.

Stoker G. The surgical uses of ozone. *Lancet* 1917;26:797.

Stübinger, Sader R, Fillipi A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: A review. *Quintessence Int* 2006;37:353-9.

Traina AA. Efeitos biológicos do ozônio diluído em água. Estudo histológico, histomorfométrico e imunoistoquímico [Tese Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

Traina AA, Correa L, Nogueira RS, Urruchi WMI, Deboni MCZ. Effects of ozonized water in wound healing of rats - morphological analysis In: *Proceedings of the 24th Annual Meeting Braz Oral Res*; 2007; São Paulo. Atibaia: SBPqO; 2007. p.162-222. 21 (Suppl.1).

Traina AA, Deboni MCZ, Naclério-Homem MG, Cai S. Action of antimicrobial agents on infected odontogenic cysts *Quintessence Int* 2005;36:805-11.

Turk R. Ozone in dental medicine. *Ozonachrichten* 1985;4:61-5.

Velano, HE, Nascimento LC, Barros LM, Panzeri H. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. *Pesq Odontol Bras* 2001;15:18-22.

Veranes XG, Nápoles YN, Contrera H, Luque RF, Blanco CM. Labor de enfermeira em la aplicación de la azonoterapia em retinosis pigmentaria. *Rev Cubana Enfermer* 1998;14(2):99-102.

Veranes XG, Nápoles YN, Hechavarría IC, Luque RF, Pellocer AR. Resultados de los costos en azonoterapia. *Rev Cubana Enfermer* 1999;15(2):104-8.

Yamashita K, Miyoshi T, Raí T, Endo N, Itoh H, Makino K, et al. Ozone production by amino acids contributes to killing of bacteria. PNAS 2008;105:16912-7.

Weavers LK, Wickramanayake GB. Disinfection and sterilization using ozone In: SS Block. Disinfection, sterilization and preservation. 5th ed. Philadelphia: Lippincot; 2001. p. 205.

Wentworth P Jr, McDunn JE, Wentworth AD, Takeuchi C, Nieva J, Jones T, et al. Evidence for antibody-catalyzed ozone formation in bacterial killing and inflammation. Science 2002;298:2195-9.

ANEXO A - Parecer de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**PARECER DE APROVAÇÃO**
Protocolo 148/05

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa *"Efeito terapêutico da água ozonizada empregada no trans-operatório de cirurgias odontológicas"*, de responsabilidade da pesquisadora Prof^a Dr^a **Maria Cristina Zindel Deboni**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 03 de novembro de 2005

Prof. Dr. Rogério Nogueira de Oliveira
Coordenador do CEP-FOUSP

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

*Efeito terapêutico da água ozonizada empregada no trans-operatório de cirurgias odontológicas***Objetivos**

As informações abaixo são para esclarecer e pedir sua participação **voluntária** neste estudo que tem por finalidade avaliar melhores métodos para controle de infecção pós-operatória de extrações dentárias, por meio de irrigação da ferida bucal pós-extração com soro, água destilada estéril ou água destilada estéril ozonizada (rica em oxigênio). Será solicitado a você que compareça as consultas previamente marcadas e que preencha uma tabela avaliando os seus sintomas pós-operatórios no 8º dia após a cirurgia quando removeremos os pontos da ferida.

Riscos e Benefícios:

Você poderá apresentar algum tipo de desconforto como: ligeiro inchaço no rosto (que poderá ser controlado por compressas geladas nas três primeiras horas após a cirurgia e por compressas úmidas aquecidas após 48 horas) sangramento leve (que deverá ser controlada por compressão com gaze por 30 minutos no local) poderá também apresentar dor leve ou moderada (que deverá ser controlada por medicamento que será receitado para você logo após a cirurgia).

Toda e qualquer intercorrência que por acaso ocorrer deverá ser comunicada a pesquisadora e você será prontamente atendido.

O benefício direto será o tratamento cirúrgico que você necessita e acreditamos que possa haver uma menor chance de desenvolver quadro de infecção pós-operatória com o emprego das irrigações.

As informações obtidas neste estudo não serão utilizadas para divulgar a sua identidade.

Você terá garantido que todas as dúvidas que você tiver a qualquer momento durante o andamento da pesquisa poderão ser esclarecidas pela pesquisadora **Profa. Dra. Maria Cristina Zindel Deboni** que poderá ser encontrada na Disciplina de Cirurgia da FOU SP pelos telefones **3091-7832 ou 30917911**.

Você tem garantia de poder retirar esse consentimento em qualquer tempo no decorrer desta pesquisa e este fato não levará a qualquer prejuízo ao atendimento que você estiver recebendo.

A pesquisadora se compromete a utilizar os dados obtidos somente para este estudo

Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia (Av. Lineu Prestes 2227, 05508-000 São Paulo).

Após ler estas informações e de ter minhas dúvidas suficientemente esclarecidas pelo pesquisador concordo em participar de forma voluntária neste estudo.

São Paulo, _____ de _____ de 200__.

Nome do Paciente

Assinatura do paciente

Endereço: _____

Telefone _____ Documento número: _____

ANEXO C - FICHA DE EVOLUÇÃO E AVALIAÇÃO CLÍNICA PÓS-OPERATÓRIA

Identificação do paciente

Nome: _____ Idade: _____ (M) ou (F)

Endereço: _____

Telefone: _____

Necessidade de exodontia dos dentes: _____

Trans-operatório (resumo): _____

Pós-operatório imediato:

Queixas:

Medicação entregue:

Paracetamol (750mg) () 1 comprimido P.O. imediato

Paracetamol (750mg) () 8 comprimidos P.O. imediato

Cetoprofeno (50mg) () 9 comprimidos P.O. imediato

Pós-operatório 8 dias:

Queixas:

Medicação retornada:

Paracetamol (750mg) _____ comprimidos.

Cetoprofeno (50mg) _____ comprimidos.

Avaliação clínica:

Grupo	Tecido de granulação	Hiperemia	Edema	Exsudato espontâneo	Índice
Lado Direito					
Lado Esquerdo					

(P) presente, (A) ausente

Índice: Quadro inflamatório (0) normal (1) moderado (2) intenso

Anexo D - Totais de Unidades Formadoras de Colônias Bacterianas/mL (UFCs/mL) em aerobiose e anaerobiose considerando as médias das diluições em cada grupo e período

		<i>aerobiose</i>		<i>anaerobiose</i>	
		<i>pré</i>	<i>pós</i>	<i>pre</i>	<i>pós</i>
Caso 1	Grupo I	733	112	10666	11066
	Grupoll	373	N/D	13866	42
Caso 2	Grupo I	13066	466	98266	6266
	Grupoll	36933	43	142660	946
Caso 3	Grupo I	80	8	373	120
	Grupoll	600	186	9866	877
Caso 4	Grupo I	6	N/D	50	6
	Grupoll	338	88	920	453
Caso 5	Grupo I	3866	3	8266	866
	Grupoll	66	27	13200	1720
Caso 6	Grupo I	12400	1640	27600	1200
	Grupoll	1920	152	2800	56
Caso 7	Grupo I	146	24	8133	344
	Grupoll	8666	29	746	680
Caso 8	Grupo I	4666	5466	10133	9102
	Grupoll	346	360	1066	1226
Caso 9	Grupo I	506	48	52400	9066
	Grupoll	9200	3866	4133	2933
Caso 10	Grupo I	168	32	3066	266
	Grupoll	24	24	386	666
Caso 11	Grupo I	60	11	1233	2
	Grupoll	508	1	3008	108

		<i>aerobiose</i>		<i>anaerobiose</i>	
		<i>pré</i>	<i>pós</i>	<i>pre</i>	<i>pós</i>
Caso 12	Grupo I	6	4	133	19
	Grupoll	3	10	208	28
Caso 13	Grupo I	9266	300	9825	866
	Grupoll	391	291	1508	100
Caso 14	Grupo I	1658	2	10258	8
	Grupoll	4	N/D	208	3
Caso 15	Grupo I	800	320	5200	560
	Grupoll	1600	2400	2400	8000
Caso 16	Grupo I	1866	77	6666	186
	Grupoll	2000	8	4933	21
Caso 17	Grupo I	347	160	453	58
	Grupoll	3200	373	5733	573
Caso 18	Grupo I	375	3	47	4
	Grupoll	7	2	118	68
Caso 19	Grupo I	437	8	9600	560
	Grupoll	1330	200	9300	182
Caso 20	Grupo I	9466	650	12800	970
	Grupoll	189	134	5600	610
Caso 21	Grupo I	1800	94	10700	1290
	Grupoll	1030	160	2140	220
Caso 22	Grupo I	152	38	2920	1310
	Grupoll	1420	90	8800	4650
Caso 23	Grupo I	140	49	2666	252
	Grupoll	N/D	N/D	221	53

N/D= colônia não detectada