

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS GOVERNADOR VALADARES
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

Thaynara Alves de Freitas

Eficácia da ozonioterapia em pacientes ortodônticos: Revisão sistemática

Governador Valadares

2022

Thaynara Alves de Freitas

Eficácia da ozonioterapia em pacientes ortodônticos: Revisão sistemática

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Odontologia, do Instituto de Ciências da Vida, da Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Lacerda dos Santos

Governador Valadares

2022

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática
da Biblioteca Universitária da UFJF,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Freitas, Thaynara Alves de.

Eficácia da ozonioterapia em pacientes ortodônticos:
revisão sistemática / Thaynara Alves de Freitas. -- 2022.
47 f. : il.

Orientador: Rogério Lacerda dos Santos

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado
de Governador Valadares, Instituto de Ciências da Vida -
ICV, 2022.

1. Ortodontia. 2. Ozônio. 3. Agente antimicrobiano. 4. Inflamação.
5. Gengiva. I. Santos, Rogério Lacerda dos, orient. II. Título.

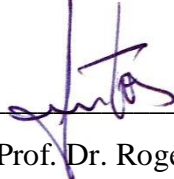
Thaynara Alves de Freitas

Eficácia da ozonioterapia em pacientes ortodônticos: Revisão sistemática

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Odontologia, do Instituto de Ciências da Vida, da Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Odontologia.

Aprovada em 02 de Agosto de 2022

BANCA EXAMINADORA



Orientador: Prof. Dr. Rogério Lacerda dos Santos

Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares



Profa. Dra Fabíola Galbiatti Carvalho

Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares



Profa. Dra Janaína Cristina Gomes

Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me amparado durante toda a trajetória na graduação e por ter colocado em minha vida pessoas especiais que compartilharam comigo os momentos bons e me apoiaram nas dificuldades.

À minha mãe, Joana Darc Alves de Freitas, e meu pai, José Carlos de Freitas, sou eternamente grata por todo amor e esforço que sempre fizeram para que eu pudesse ter um ensino de qualidade, sempre torcendo pelo meu sucesso.

Ao meu orientador, Rogério Lacerda, que aceitou me guiar nesse processo, sempre muito solícito e empenhado no propósito de realizarmos um trabalho com excelência.

Aos amigos e familiares que acreditaram e torceram para que o trabalho fosse bem sucedido.

RESUMO

O tratamento ortodôntico fixo dificulta o controle adequado do biofilme bacteriano. Tal fato predispõe o paciente a um risco adicional para a inflamação gengival e cárie. A ozonioterapia têm sido proposta como alternativa para auxiliar na saúde bucal de pacientes ortodônticos devido suas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, e sua capacidade de induzir a regeneração tecidual. Assim, o objetivo desta revisão sistemática foi avaliar a eficácia da água ozonizada na diminuição da inflamação gengival em pacientes ortodônticos. Foi realizada uma busca eletrônica em seis bases de dados [*PubMed (Medline), Scopus, Web of Science, Medline Complete (EBSCO), Cochrane (Database for Systematic Review), Cochrane (CENTRAL and Protocols)*] e literatura cinzenta, sem limitações de ano de publicação ou idioma, até junho de 2022. O desfecho primário foi a diminuição da inflamação gengival, e os secundários foram diminuição da profundidade da bolsa periodontal (PS), do índice de placa dental (IP), do índice de sangramento gengival (ISG), do índice gengival (IG) e da inflamação por biomarcadores no fluido crevicular gengival (FCG). O risco de viés foi analisado por meio da ferramenta Cochrane Risk of Bias for Non-Randomized Controlled Trials (N-RCTs) (ROBINS-I) e Cochrane Risk of Bias for Randomized Controlled Trials (RCTs) (RoB2). A certeza da evidência foi avaliada para os resultados relatados por meio de uma síntese narrativa usando a abordagem Grades of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluation (GRADE). Cinco estudos clínicos foram elegíveis para avaliação, sendo quatro ECNRs e um ECR. Os estudos reuniram um total de 133 pacientes com idade entre 13 e 30 anos. No conjunto dos parâmetros avaliados na inflamação gengival, os estudos relataram associação entre a irrigação com água ozonizada e diminuição da inflamação gengival com certeza de evidência muito baixa. Os estudos demonstraram maior experiência de controle da PS com certeza de evidência baixa. A maioria dos estudos encontraram associação entre a diminuição do IP, ISG, IG, e dos biomarcadores LDH, AST e MCP-1 no fluido crevicular gengival com certeza de evidência muito baixa.

Palavras-chave: Ortodontia, Ozônio, Agente antimicrobiano, Inflamação, Gengiva.

ABSTRACT

Fixed orthodontic treatment makes it difficult to adequately control the bacterial biofilm. This fact predisposes the patient to an additional risk for gingival inflammation and caries. Ozone therapy has been proposed as an alternative to assist in the oral health of orthodontic patients due to its antimicrobial and anti-inflammatory properties, and its ability to induce tissue regeneration. Thus, the objective of this systematic review was to evaluate the effectiveness of ozonated water in decreasing gingival inflammation in orthodontic patients. An electronic search was performed in six electronic databases [PubMed (Medline), Scopus, Web of Science, Medline Complete (EBSCO), Cochrane (Database for Systematic Review), Cochrane (CENTRAL and Protocols)] and gray literature, without limitations year of publication or language, until June 2022. The primary outcome was decreased gingival inflammation, and secondary outcomes were decreased periodontal pocket depth (PD), dental plaque index (PI), gingival bleeding index (GBI), gingival index (GI), and biomarkers of inflammation in gingival crevicular fluid (GCF). The risk of bias was analyzed using the Cochrane Risk of Bias for Non-Randomized Controlled Trials (N-RCTs) (ROBINS-I) and Cochrane Risk of Bias for Randomized Controlled Trials (RCTs) (RoB2) tool. The certainty of evidence was assessed for the reported results through a narrative synthesis using the Grades of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE) approach. Five clinical studies were eligible for evaluation, four N-RCTs and one RCT. The studies pooled a total of 133 patients aged between 13 and 30 years. In the set of parameters evaluated in gingival inflammation, studies reported an association between irrigation with ozonized water and decreased gingival inflammation with very low certainty of evidence. Studies have demonstrated greater experience of PD control with low-evidence certainty. Most studies found an association between the decrease in PI, GBI, GI, and the biomarkers LDH, AST and MCP-1 in gingival crevicular fluid with very low certainty of evidence.

Keywords: Orthodontics, Ozone, Antimicrobial agent, Inflammation, Gum.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Fluxograma evidenciando a síntese da revisão sistemática, de acordo com as diretrizes do <i>PRISMA</i>	19
Figura 2	- Resumo do risco de viés dos estudos não randomizados utilizando a ferramenta <i>Cochrane ROBINS-I</i>	22
Figura 3	- Resumo do risco de viés do estudo randomizado utilizando a ferramenta de risco de viés <i>Cochrane RoB2</i>	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Critérios (PICOS, Inclusão, Exclusão) para seleção dos estudos.....	15
Tabela 2	- Banco de dados e métodos de pesquisa	16
Tabela 3	- Características dos estudos incluídos	20
Tabela 4	- Resumo dos achados utilizando o sistema <i>Grades of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE)</i> para síntese narrativa	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ECR	Ensaio Clínico Randomizado
ECNR	Ensaio Clínico Não Randomizado
TO	Tratamento Ortodôntico
O	Ozônio
CLX	Digluconato de Clorexidina
T	Teste
C	Controle
PS	Profundidade de Sondagem
IP	Índice de Placa
ISG	Índice de Sangramento Gengival
IG	Índice Gengival
NR	Não Relatado
FCG	Fluido Crevicular Gengival
MCP-1	Proteína Quimioatraente de Monócitos
AST	Aspartato Aminotransferase
LDH	Lactato Desidrogenase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	ARTIGO CIENTÍFICO.....	13
3	CONCLUSÃO.....	32
4	REFERÊNCIAS.....	33
5	ANEXO A – Normas do periódico.....	35

1 INTRODUÇÃO

O tratamento ortodôntico tem sido o método mais adequado para o tratamento das maloclusões dentárias, em geral, é um tratamento que necessita de maior tempo de duração e atingem pacientes jovens e adultos.^{1,2} O aparelho ortodôntico fixo causa maior dificuldade no controle adequado do biofilme bacteriano, tendo em vista que as bandas e braquetes ortodônticos têm um potencial significativo no acúmulo de biofilme e tártaro por serem fatores retentivos para microrganismos.¹⁻³ Além disso, a possível redução do pH no meio bucal está associada ao fato da superfície metálica dos aparelhos favorecerem a proliferação dos microrganismos causando um aumento na microflora cariogênica.³ Estudos^{3,4} têm demonstrado um aumento nos níveis de bactérias cariogênicas como *Streptococcus mutans* na cavidade oral após a instalação do aparelho fixo, tal fato potencializa o desenvolvimento de lesões de cárie e desmineralização do esmalte, especialmente, ao redor dos braquetes.^{3,4} Somado a isto, a ortodontia fixa pode ser um fator dificultador da estabilidade periodontal devido a movimentação dentária podendo estimular o adelgaçamento da gengiva inserida, especialmente em incisivos inferiores os quais são mais vulneráveis à recessão.⁵

No conjunto, essas particularidades do tratamento potencializam problemas periodontais como gengivite e periodontite, lesões cáries, hiperplasia e recessões gengivais nos pacientes ortodônticos.^{5,6} A evolução de algumas dessas condições pode causar a perda do elemento dentário, afetando a vida do paciente de maneira sistêmica como a doença periodontal que se inicia com inflamação gengival e progride causando perda óssea marginal, perda de inserção clínica e consequente mobilidade e perda dental.⁷ Tendo em vista a necessidade de manutenção da saúde bucal, algumas estratégias devem ser adotadas para facilitar o controle do biofilme bacteriano e reduzir microrganismos patogênicos.⁷

Na premissa do controle do biofilme, além da inibição direta dos patógenos, a alteração do ambiente subgengival é uma alternativa para prevenção das doenças, uma vez que, os fatores responsáveis pela transição da microflora do biofilme de uma relação de equilíbrio para uma patológica com o hospedeiro serão alterados.⁸ O ambiente subgengival tem se mostrado altamente anaeróbio, assim, a mudança pela aplicação de agentes oxidantes é uma abordagem para prevenção das patologias através da inibição do crescimento bacteriano que predominam nesse ambiente.⁸ Nesse contexto, o ozônio (O₃) tem sido proposto como alternativa para um tratamento auxiliar na saúde oral de pacientes ortodônticos por agir diretamente na microflora bacteriana, em especial as anaeróbias, e no seu ecossistema.⁸

O ozônio é um oxidante potente formado por três átomos de oxigênio. Este, quando dissolvido em água, se torna instável e decompõe-se em uma série de reações em cadeias gerando radicais hidroxila (OH) os quais são espécies reativas de oxigênio.⁹ O ozônio apresenta atividade antibacteriana por dois mecanismos diferentes e coexistentes: morte mediada por radicais livres e reação direta com o O₃, posto que ambos podem estar envolvidos na destruição das bactérias.¹⁰ Nestas reações ocorre a ruptura da superfície bacteriana pela peroxidação dos fosfolipídios que a compõem.¹⁰ Além disso, ele atua como anti-inflamatório e analgésico, pois auxilia na síntese de citocinas e substâncias anti-inflamatórias e tem efeito inibitório no sistema NF-kappa β.^{8,10,11} Além disso, sua atividade eletromagnética estimula e modula o sistema imunológico do hospedeiro ativando células imunocompetentes como macrófagos e linfócitos.⁸

A literatura tem demonstrado que, além do efeito disruptivo sobre as bactérias cariogênicas, o ozônio descarboxila o ácido pirúvico produzido por elas, tornando esse ácido em ácido acético o qual é mais fraco, conseqüentemente menos prejudicial a cavidade oral.¹² A atividade antibacteriana desse oxidante engloba os periodontopatógenos como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis* sem resultar em resistência bacteriana, além disso possui ação antifúngica e antiviral.^{9,10,13}

Entre os anos de 1880 e 1932 o ozônio foi bastante utilizado como medicamento alternativo nos Estados Unidos.¹³ As vias de administração do ozônio são: forma tópica, gasosa, aquosa, como azeite ozonizado ou com óleo de girassol.¹³ Contemporaneamente ele tem sido utilizado na Odontologia no tratamento de lesões de cárie precoces, para a esterilização de cavidades, canais radiculares, bolsas periodontais, cicatrização epitelial de feridas, aumento do suprimento local de oxigênio e hemostasia.^{11,13} Também, tem-se discutido seu uso como alternativa aos agentes antissépticos orais como o digluconato de clorexidina devido seus efeitos colaterais a longo prazo.^{10,12}

Complicações causadas pelo ozônio são incomuns e os efeitos colaterais mais conhecidos são: irritação das vias aéreas superiores, rinite, tosse, dor de cabeça, náusea e vômito, estes estão relacionados a inalação prolongada do ozônio a qual é prejudicial aos pulmões e outros órgãos.¹⁴ Contudo, a utilização desse composto com dosagem adequada tem apresentado efeito terapêutico sem toxicidade e efeito colateral.¹⁴

Em virtude das propriedades do ozônio como substância terapêutica, pela ausência de informações científicas convergentemente seguras e falta de revisões científicas rigorosas que aborde sua efetividade em pacientes ortodônticos; este estudo teve como objetivo, realizar uma

revisão sistêmica da literatura de estudos clínicos controlados que avaliaram a eficácia da água ozonizada no controle bacteriano e na inflamação gengival em pacientes que fazem uso de aparelho ortodôntico fixo.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo científico a ser submetido ao periódico *European Journal of Dentistry*. A estruturação do artigo baseou-se nas instruções aos autores preconizadas pelo periódico (ANEXO A).

Eficácia da ozonioterapia em pacientes ortodônticos: Revisão sistemática

Resumo

O tratamento ortodôntico fixo dificulta o controle adequado do biofilme bacteriano. Existem controvérsias se a água ozonizada seria uma terapia com eficácia para o controle da inflamação gengival e higienização em pacientes com uso de aparelho fixo. O objetivo desta revisão sistemática foi avaliar a eficácia da água ozonizada na diminuição da inflamação gengival em pacientes ortodônticos. Foi realizada uma busca eletrônica em seis bases de dados eletrônicas [*PubMed (Medline)*, *Scopus*, *Web of Science*, *Medline Complete (EBSCO)*, *Cochrane (Database for Systematic Review)*, *Cochrane (CENTRAL and Protocols)*] e literatura cinzenta, sem limitações de ano de publicação ou idioma, até junho de 2022. O desfecho primário foi a diminuição da inflamação gengival, e os secundários foram diminuição da profundidade da bolsa periodontal (PS), do índice de placa dental (IP), do índice de sangramento gengival (ISG), do índice gengival (IG), e da inflamação por biomarcadores no fluido clevicular gengival (FCG). O risco de viés foi analisado por meio da ferramenta *Cochrane Risk of Bias for Non-Randomized Controlled Trials (N-RCTs) (ROBINS-I)* e *Cochrane Risk of Bias for Randomized Controlled Trials (RCTs) (RoB2)*. A certeza da evidência foi avaliada para os resultados relatados por meio de uma síntese narrativa usando a abordagem *Grades of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE)*. Cinco estudos clínicos foram elegíveis para avaliação, sendo quatro ECNRs e um ECR. Os estudos reuniram um total de 133 pacientes com idade entre 13 e 30 anos. No conjunto dos parâmetros avaliados na inflamação gengival, os estudos relataram associação entre a irrigação com água ozonizada e diminuição da inflamação gengival com certeza de evidência muito baixa. Os estudos demonstraram maior experiência de controle da PS com certeza de evidência baixa. A maioria dos estudos encontraram associação entre a diminuição do IP, ISG, IG, e dos biomarcadores LDH, AST e MCP-1 no fluido crevicular gengival com certeza de evidência muito baixa.

Palavras-chave: Ortodontia, ozônio, Agente antimicrobiano, Inflamação, Gengiva.

Introdução

O tratamento ortodôntico fixo é mais comumente utilizado para correção de maloclusões.¹⁻^{3,5} O controle adequado do biofilme bacteriano tem sido desafiador para grande parte dos pacientes ortodônticos, tendo em vista que as bandas e braquetes desempenham um papel significativo no acúmulo de biofilme e tártaro por agirem como fatores retentivos para microrganismos. Além disso, o aparelho fixo pode influenciar a homeostasia periodontal pela movimentação dentária.^{1-3,5}

Nesse sentido, a ortodontia fixa pode influenciar na presença de problemas periodontais como gengivite e periodontite, lesões cariosas, hiperplasia e recessões gengivais nos pacientes ortodônticos.^{5,6} Para manter o equilíbrio da saúde bucal desses pacientes, estratégias adicionais à remoção mecânica do biofilme através da escovação e uso do fio dental, tem sido sugeridas visando manter o controle da higienização e reduzir os microrganismos patogênicos.

Contemporaneamente, o ozônio (O₃) que é um potente oxidante, tem sido proposto como alternativa para auxiliar na saúde bucal de pacientes ortodônticos devido as suas propriedades antimicrobianas, seu potencial anti-inflamatório, indutor de regeneração tecidual e capacidade de alterar o ambiente subgengival altamente anaeróbio.^{8,10-13}

Considerando as propriedades do ozônio como substância terapêutica e pela ausência de revisões científicas rigorosas que aborde sua efetividade em pacientes ortodônticos. Este estudo teve como objetivo, realizar uma revisão sistêmica através de estudos clínicos controlados que avaliaram a eficácia da água ozonizada no controle bacteriano e inflamação gengival em pacientes com aparelho ortodôntico fixo.

Materiais e Métodos

Questão Foco

Esta revisão sistemática foi realizada a fim de responder à seguinte pergunta clínica: Existe alguma evidência científica da eficácia da ozonioterapia na diminuição de microrganismos patogênicos em pacientes ortodônticos em comparação aos pacientes que não receberam tratamento? *PICO question* e os critérios de elegibilidade estão detalhados na Tabela 1.

Tabela 1- Critérios (PICOS, Inclusão e Exclusão) para seleção dos estudos

PICOS	
Participante (P)	Pacientes ortodônticos com idade mínima de 13 anos
Intervenção (I)	Irrigação com água ozonizada
Comparação (C)	Não submetido a terapia de ozônio
Resultado (O)	Desfecho Primário: Diminuição da inflamação gengival (PS, IP, ISG, IG, FCG)
	Desfecho Secundário: Profundidade de sondagem de bolsa periodontal (PS)
	Diminuição do Índice de placa dental (IP)
	Diminuição do Índice de sangramento gengival (ISG)
	Diminuição do índice gengival (IG)
	Avaliação bioquímica da inflamação no fluido crevicular gengival (FCG)
Estudo (S)	Ensaio Clínicos Randomizados e Não-Randomizados (ECR e ECNR)
CRITÉRIOS	
Inclusão	Relatar a condição gengival e periodontal, mínimo de 3 meses de tratamento ortodôntico fixo em ambas as arcadas, não ter recebido terapia anti-inflamatória e antimicrobiana nos últimos 30 dias
Exclusão	Pacientes com uso de medicamentos sistêmicos e doença sistêmica, não ter recebido instruções de higiene oral e limpeza dental prévia ao ensaio clínico, uso de enxaguatórios bucais nos últimos 30 dias, retratamento ortodôntico, fumar mais de 5 cigarros por dia, gestantes, dentes permanentes em erupção. Relatos de casos, série de casos, estudos em animais, estudos <i>in vitro</i> , revisão da literatura e editoriais.

Esta revisão sistemática foi realizada de acordo com os itens de referência para avaliação de artigos na revisão sistemática e meta-análise (*Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis - PRISMA*).

Estratégia de Busca

Foi realizada uma busca eletrônica nas seguintes bases de dados até Junho de 2022, sem limitação de ano ou idioma: *PubMed (Medline)*, *Scopus*, *Web of Science*, *Medline Complete (EBSCO)*, *Cochrane (Database for Systematic Review, CENTRAL and Protocols)*, e literatura cinzenta através de ensaios clínicos. Foi realizada uma busca manual em revistas da área (*American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, *European Journal of Orthodontics*) e na lista de referências dos artigos selecionados. As estratégias de busca estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Banco de dados e método de pesquisa

Banco de Dados	Estratégia de Pesquisa
Pubmed (Medline)	((orthodontics [MeSH Terms] OR orthodontic [Title/Abstract] OR "orthodontic patients" [Title/Abstract] OR "orthodontic treatment" [Title/Abstract] OR "periodontal index" [MeSH Terms] OR "periodontal diseases" [MeSH Terms] OR periodontitis [MeSH Terms] OR periodontics [MeSH Terms] OR "periodontal patients" [Title/Abstract] OR periodontal [Title/Abstract] OR "periodontal treatment" [Title/Abstract] OR gingivitis [MeSH Terms] OR gingiva [MeSH Terms] OR "periodontitis patients" [Title/Abstract]) AND (ozone [MeSH Terms] OR "ozone therapy" [Title/Abstract]) AND ("anti-infective agents" [MeSH Terms] OR antimicrobial [Title/Abstract] OR bactericidal [Title/Abstract] OR bacteriostatic [Title/Abstract] OR "anti-inflammatory agents" [MeSH Terms] OR "antiviral agents" [MeSH Terms] OR "antifungal agents" [MeSH Terms] OR apoptosis [MeSH Terms] OR efficacy [Title/Abstract] OR "side effects" [Title/Abstract] OR "adverse effects" [MeSH Terms] OR "collateral effects" [Title/Abstract]))
Medline Complete (EBSCO)	TX ((orthodontics OR orthodontic OR "orthodontic patients" OR "orthodontic treatment" OR "periodontal index" OR "periodontal diseases" OR periodontitis OR periodontics OR "periodontal patients" OR periodontal OR "periodontal treatment" OR gingivitis OR gingiva OR "periodontitis patients") AND TX (ozone OR "ozone therapy") AND TX ("anti-infective agents" OR antimicrobial OR bactericidal OR bacteriostatic OR "anti-inflammatory agents" OR "antiviral agents" OR "antifungal agents" OR apoptosis OR efficacy OR "side effects" OR "adverse effects" OR "collateral effects"))
Web of Science (Clarivate Analytics)	TS=((orthodontics OR orthodontic OR "orthodontic patients" OR "orthodontic treatment" OR "periodontal index" OR "periodontal diseases" OR periodontitis OR periodontics OR "periodontal patients" OR periodontal OR "periodontal treatment" OR gingivitis OR gingiva OR "periodontitis patients") AND (ozone OR "ozone therapy") AND ("anti-infective agents" OR antimicrobial OR bactericidal OR bacteriostatic OR "anti-inflammatory agents" OR "antiviral agents" OR "antifungal agents" OR apoptosis OR efficacy OR "side effects" OR "adverse effects" OR "collateral effects"))
Scopus (Elsevier)	TITLE-ABS-KEY ((orthodontics OR orthodontic OR "orthodontic patients" OR "orthodontic treatment" OR "periodontal index" OR "periodontal diseases" OR periodontitis OR periodontics OR "periodontal patients" OR periodontal OR "periodontal treatment" OR gingivitis OR gingiva OR "periodontitis patients") AND TITLE-ABS-KEY (ozone OR "ozone therapy") AND TITLE-ABS-KEY ("anti-infective agents" OR antimicrobial OR bactericidal OR bacteriostatic OR "anti-inflammatory agents" OR "antiviral agents" OR "antifungal agents" OR apoptosis OR efficacy OR "side effects" OR "adverse effects" OR "collateral effects"))
Cochrane (Database for Systematic Reviews, CENTRAL, Trials, Protocols)	#1 orthodontics OR #2 orthodontic OR #3 "orthodontic patients" OR #4 "orthodontic treatment" OR #5 "periodontal index" OR #6 "periodontal diseases" OR #7 periodontitis OR #8 periodontics OR #9 "periodontal patients" OR #10 periodontal OR #11 "periodontal treatment" OR #12 gingivitis OR #13 gingiva OR #14 "periodontitis patients" AND #15 ozone OR #16 "ozone therapy" AND #17 "anti-infective agents" OR #18 antimicrobial OR #19 bactericidal OR #20 bacteriostatic OR #21 "anti-inflammatory agents" OR #22 "antiviral agents" OR #23 "antifungal agents" OR #24 apoptosis OR #25 efficacy OR #26 "side effects" OR #27 "adverse effects" OR #28 "collateral effects" #1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10 OR #11 OR #12 OR #13 OR #14 AND #15 OR #16 AND #17 OR #18 OR #19 OR #20 OR #21 OR #22 OR #23 OR #24 OR #25 OR #26 OR #27 OR #28
Trials Central	periodontal diseases
Clinical Trials	orthodontics AND gingiva

Cr terios de Elegibilidade dos Artigos

Dois pesquisadores (T.A.F. e R.L.S.) fizeram as sele es de forma independente dos resumos e título e dos textos completos, de acordo com os cr terios de elegibilidade (Tabela 1). As discrepâncias foram decididas por discussão e consenso. Nas divergências entre os dois avaliadores que não se atingiu um consenso, um terceiro avaliador foi consultado (F.G.C.).

Avalia o da qualidade e Risco de Viés

Dois revisores independentes avaliaram o risco de viés dos estudos incluídos usando a ferramenta *Cochrane Risk of Bias for Non-Randomized Controlled Trials guidelines (ROBINS-I)* e o *Cochrane Risk of Bias for Randomized Controlled Trials (RoB2)*¹⁵⁻¹⁷. O risco de viés para os ECNR foi avaliado pelo ROBINS-I^{16,17} e os domínios analisados foram: (1) viés devido confundimento; (2) viés na sele o dos participantes do estudo; (3) viés na classifica o das interven es; (4) viés devido a desvios da interven o pretendida; (5) viés por falta de dados; (6) viés na medi o dos resultados; (7) viés na sele o do resultado relatado. O risco geral de viés dos estudos individuais foi classificado como baixo (se todos os domínios foram considerados com baixo risco de viés), moderado (se um ou mais domínios apresentaram risco moderado de viés), grave (se um ou mais domínios apresentou risco grave de viés), crítico (se um ou mais domínios apresentaram risco crítico de viés).

O ECR foi avaliado seguindo o *Cochrane RoB2* e os domínios analisados foram: viés de sele o por (1) gera o da sequência aleatória e (2) ocult o da aloca o; viés de performance por (3) cegamento dos participantes e profissionais; viés de detec o por (4) cegamento de avaliadores do desfecho; viés de atrito por (5) desfechos incompletos; viés de relato por (6) relato de desfecho seletivo e (7) outras fontes de viés.¹⁷ Cada um desses domínios foi classificado em baixo risco, risco incerto ou alto risco. Para avaliar o último item deste instrumento, os autores consideraram como fontes de viés as seguintes características: ausência de cáculo do tamanho amostral; cr terios de inclusão e exclusão incompatíveis com os objetivos do estudo; teste estatístico inadequado; ausência de desvio padrão (DP) e intervalo de confiança (IC); e grandes problemas em rela o ao efeito de fatores de confusão. Para cada item, o estudo incluído poderia ser classificado com baixo risco de viés (viés plausível que não alteraria seriamente os resultados), risco de viés incerto (viés plausível que levanta algumas d vidas sobre os resultados) ou alto risco de viés (viés plausível que impacta seriamente a confiança nos resultados).

Extração e análise de dados

Dois revisores independentes extraíram os dados. As divergências foram resolvidas pela discussão até que se chegasse a um consenso. O desfecho primário foi redução da inflamação gengival enquanto os desfechos secundários foram: diminuição da profundidade de sondagem da bolsa periodontal, diminuição do índice de placa, diminuição do índice de sangramento gengival e diminuição do índice gengival.

Devido ao alto nível de heterogeneidade dos dados e da metodologia dos estudos incluídos não foi possível reunir as informações necessárias para uma meta-análise. Assim, uma síntese narrativa foi a abordagem planejada para este trabalho. Para apresentar os desfechos, uma tabela com o resumo dos resultados de acordo com o sistema *GRADE pro. Grades of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE)* foi realizada utilizando a ferramenta *Cochrane Risk of Bias for Non-Randomized Controlled Trials guidelines (ROBINS-I)* e o *Cochrane Risk of Bias for Randomized Controlled Trials (RoB2)* para avaliação da certeza das evidências para síntese narrativa.^{16,17} A utilização dessas ferramentas são importantes para permitir uma melhor comparação das evidências e do grau de certeza para recomendação da tomada de decisão.^{16,17}

Para cada resultado examinado, o *GRADE* avalia o número de estudos incluídos, os desenhos dos estudos, risco de viés, inconsistência, evidência indireta, imprecisão e outras considerações (como viés de publicação e grande magnitude de efeito). Dependendo da gravidade da limitação em cada uma dessas categorias, a evidência pode ser rebaixada em 1 ou 2 níveis. Com base nessa avaliação, a certeza da avaliação do resultado pode ser: muito baixa, baixa, moderada ou de alta qualidade. O nível de evidência foi avaliado separadamente para ECR² e ECNRs^{1,6,12,19}, e o nível mais alto de certeza foi relatado.

Resultados

Seleção dos estudos

Após a triagem de títulos e resumos de 358 artigos, foram selecionados 17 artigos potencialmente elegíveis para a análise do texto completo, dos quais 4 ECNR^{1,6,12,19} e 1 ECR² foram incluídos (Figura 1). As características e desfechos dos estudos estão descritos na Tabela 3.

Figura 1: Fluxograma evidenciando a síntese da revisão sistemática, de acordo com as diretrizes PRISMA.

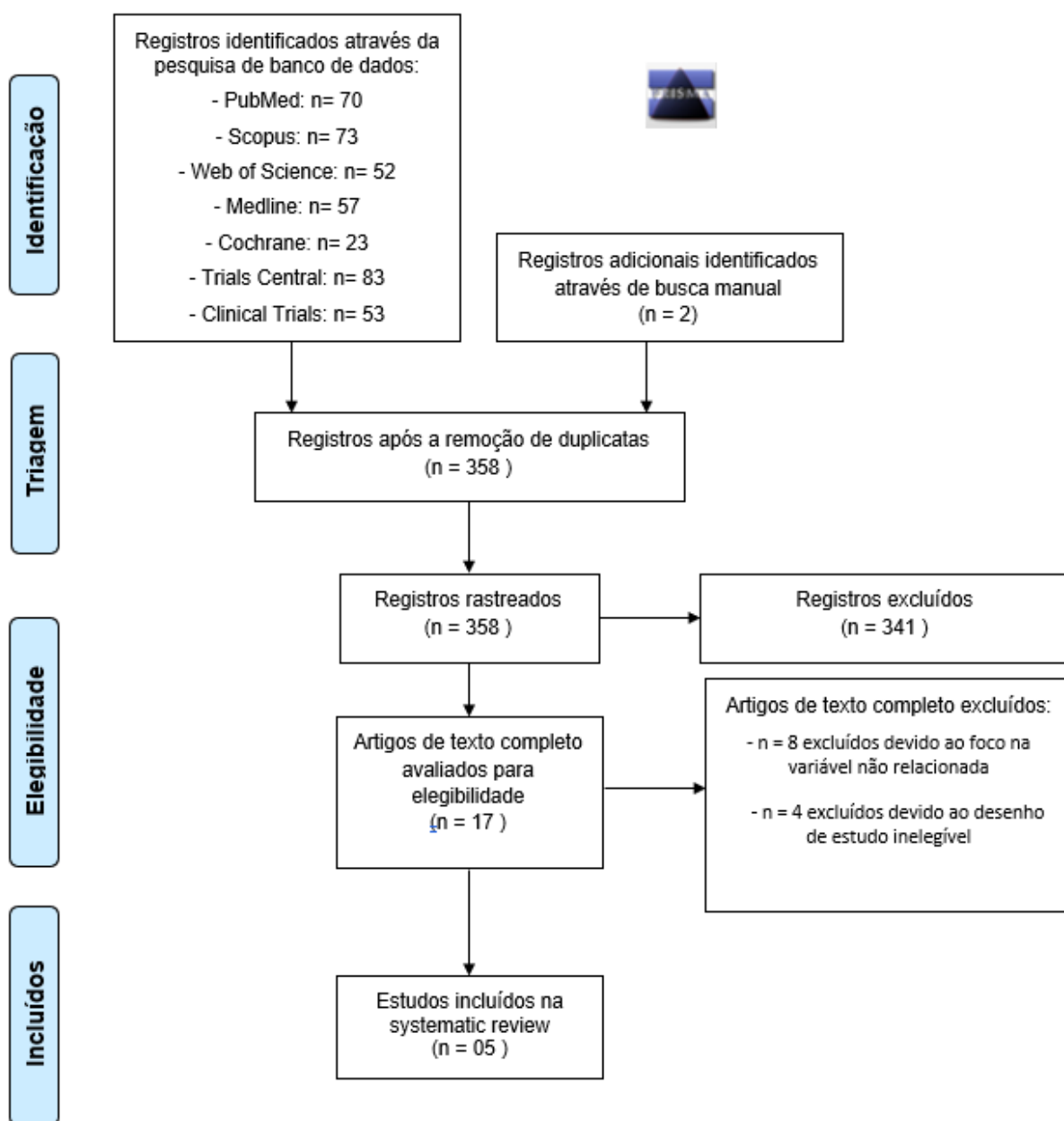


Tabela 3 - Características principais dos artigos selecionados

Autores (ano) País	Dhingra and Vandana (2011) [6] Índia	Prya et al. (2017) [12] Índia	Cosola et al. (2019) [2] Itália	Sandra et al. (2019) [19] Índia	Sandra et al. (2021) [1] Índia
Desenho do estudo Acompanhamento	ECNR (Boca inteira) 28 dias	ECNR (Boca-dividida) 120 dias	ECR (Paralelo) 4 semanas	ECNR (Boca-dividida) 28 dias	ECNR (Boca-dividida) 28 dias
Número de pacientes (P) tratados por grupo	15P (T)	28P (T) 28P (C)	15P (T) 15P (C)	30P (T) 30P (C)	30P (T) 30P (C)
Faixa de idade (média) Gênero Critério de Elegibilidade	NR (17,3) ♂7/♀8 TO ≥3m	13-22 (16,8) ♂14/♀14 TO ≥ 1 ano	15-30 (16,4) ♂14/♀16 TO ≥ 6 m	21-23 (NR) ♂ NR/♀ NR TO ≥ 3 m	15-25 (NR) NR TO ≥4m
Procedimento de Tratamento	Dia 0; 14; 28 Água-O 0,01mg/l (T) KentOzone®/Subgengival 5-10min; 1X dia 0; 14	Dia 0; 30; 60; 90; 120 Água-O NR (T) KentOzone®/Subgengival NR; 1X dia 0;30;60;90 Solução salina (C) Subgengival NR; 1X dia 0;30;60;90	Dia 0; 15; 30 Água-O 0,50mg/h (T) Aquolab®/Colutório 2x/dia CLX 0,05% (C) Colutório 2x/dia	Dia 0; 14; 28 Água-O 0,01mg/l (T) Subgengival 5-10min; 1X dia 0; 14 CLX 0,2% (C) Subgengival 5-10min; 1X dia 0; 14	Dia 0; 7; 14; 28 Laser de Diodo 100 Mw/cm(T) 18 J/cm/supragengival 1 3 min; 1X day 0; 7 Água-O 0,01mg/l (C) KentOzone®/Subgengival 3 min; 1X dia 0; 7
Conclusão	Uma única irrigação subgengival de água ozonizada 0,01 mg/l pode efetivamente reduzir a inflamação gengival em pacientes ortodônticos, isso é representado pela redução dos níveis da enzima LDH. Contudo, mais estudos clínicos controlados e randomizados são necessários para validar o uso da irrigação com ozônio em pacientes ortodônticos como medida de controle da placa.	Os pacientes em tratamento ortodôntico fixo mostraram uma melhora consistente na inflamação gengival com irrigação com jato de ozônio quando comparado com a irrigação com solução salina administrada com a mesma força de jateamento.	O dispositivo de administração oral do ozônio demonstrou melhores resultados que o uso domiciliar do colutório de clorexidina na redução da placa e sangramento a sondagem na avaliação de um mês. Outros estudos com maior amostra e maior duração são necessários para atestar os resultados do presente estudo.	A irrigação subgengival com ozônio pode ser um método efetivo para redução da inflamação gengival em pacientes ortodônticos. Mais estudos de longa duração são necessários para comprovar adequadamente a eficácia do ozônio a em termos de frequência e duração da aplicação do mesmo.	Laserterapia pode ser considerada um método mais efetivo que a irrigação subgengival com ozônio em pacientes em tratamento ortodôntico fixo como demonstrado pela melhora consistente na inflamação gengival.
Diferença média da PS entre os dias de acompanhamento inicial e final (mm) / Valor de P	0,18 ± 0,04 (T) P= 0,001	NR	0,05 ± 0,04 (T) 0,02 ± 0,03 (C) P=0,39	1,17 ± 0,05 (T) 1,17 ± 0,05 (C) P=1,000	NR
Diferença média do IP entre os dias de acompanhamento inicial e final (%) / Valor de P	1,04 ± 0,14 (T) P= 0,002	NR	44,3 ± 9,05 (T) 21,0 ± 5,18 (C) P=0,0001	1,59 ± 0,18 (T) 1,13 ± 0,94 (C) P= 0,000	1,49 ± 0,05 (T) 1,11 ± 0,05 (C) P= 0,000
Diferença média do ISG entre os dias de acompanhamento inicial e final (%) / Valor de P	56,2 ± 5,2 (T) P < 0,001	NR	28,1 ± 8,82 (T) 11,9 ± 7,21 (C) P=0,006	12,16 ± 6,06 (T) 7,40 ± 2,99 (C) P= 0,000	12,57 ± 1,45 (T) 6,83 ± 0,17 (C) P= 0,000
Diferença média do IG entre os dias de acompanhamento inicial e final (%) / Valor de P	0,71 ± 0,14 (T) P= 0,001	0,34 ± 0,08 (T) 0,10 ± 0,04 (C) P= 0,000	NR	1,59 ± 0,61 (T) 1,01 ± 0,30 (C) P= 0,002	1,57 ± 0,00 (T) 1,03 ± 0,01 (C) P= 0,000

Diferença média de biomarcadores no FCG entre os dias de acompanhamento inicial e final (%) / Valor de P	LDH: 83,80 ± 55,40 (T) 0,07 ± 0,02 (C) P= 0,001	AST: 670,13 ± 187,50 (T) 492,16 ± 373,01 (C) P= 0,000	NR	MCP-1: 265,56 ± 14,27 (T) 191,94 ± 11,05 (C) P=0,000	MCP-1: 22,08 ± 0,60 (T) 17,48 ± 0,06 (C) P=0,000
---	--	---	----	--	--

ECR - Ensaio Clínico Randomizado; ECNR - Ensaio Clínico Não Randomizado; TO - Tratamento Ortodôntico; O - Ozônio; CLX - Digluconato de Clorexidina - T - Teste; C - Controle; PS - Profundidade de Sondagem; IP - Índice de Placa; ISG - Índice de Sangramento Gengival; IG - Índice Gengival; NR - Não Relatado; FCG - Fluido Crevicular Gengival; MCP-1 - Proteína Quimioatraente de Monócitos; AST - Aspartato Aminotransferase; LDH - Lactato Desidrogenase

Características dos estudos

Os estudos avaliaram um total de 133 pacientes com idade média variando entre 13 e 30 anos. Os estudos foram realizados entre 2011 e 2021, na Índia^{1,6,12,19} e Itália².

Todos os estudos^{1,2,6,12,19} avaliaram como foco primário a diminuição da inflamação gengival, um ECR² e dois ECNRs^{6,19} avaliaram profundidade de sondagem da bolsa (PS), um ECR² e três ECNRs^{1,6,19}, avaliaram o índice de placa de boca inteira (IP) e o índice de sangramento gengival de boca inteira (ISG), três ECNRs^{1,12,19} avaliaram índice gengival (IG) e quatro ECNR^{1,6,12,19} avaliaram biomarcadores inflamatórios no fluido crevicular gengival (FCG). Na avaliação do FCG, dois ECNRs^{1,19} avaliaram o nível de proteína MCP-1 (proteína quimioatraente de monócitos), apenas um ECNR¹² avaliou o nível da enzima AST (aspartato aminotransferase), e o nível da enzima LDH (lactato desidrogenase) por outro ECNR⁶.

Como controle, três ECNR^{1,12,19} utilizaram o sistema de boca dividida para todos os indivíduos, um ECNR⁶ utilizou o sistema de boca completa para o tratamento, e um ECR² utilizou o sistema de avaliação paralela não-pareada entre os indivíduos.

Risco de Viés

Todos os ECNR^{1,6,12,19} apresentavam risco crítico de viés na medição dos resultados, sério risco de viés de confundimento e de viés geral. Um estudo¹² apresentou sério risco de viés na seleção do resultado relatado, enquanto os demais estudos^{1,6,19} apresentaram risco moderado. Um estudo¹⁹ apresentou risco moderado de viés na classificação das intervenções enquanto os demais^{1,6,12} apresentaram baixo risco para esse viés (Figura 2).

Figura 2. Resumo do risco de viés dos estudos não randomizados incluídos utilizando a ferramenta *ROBINS-I*

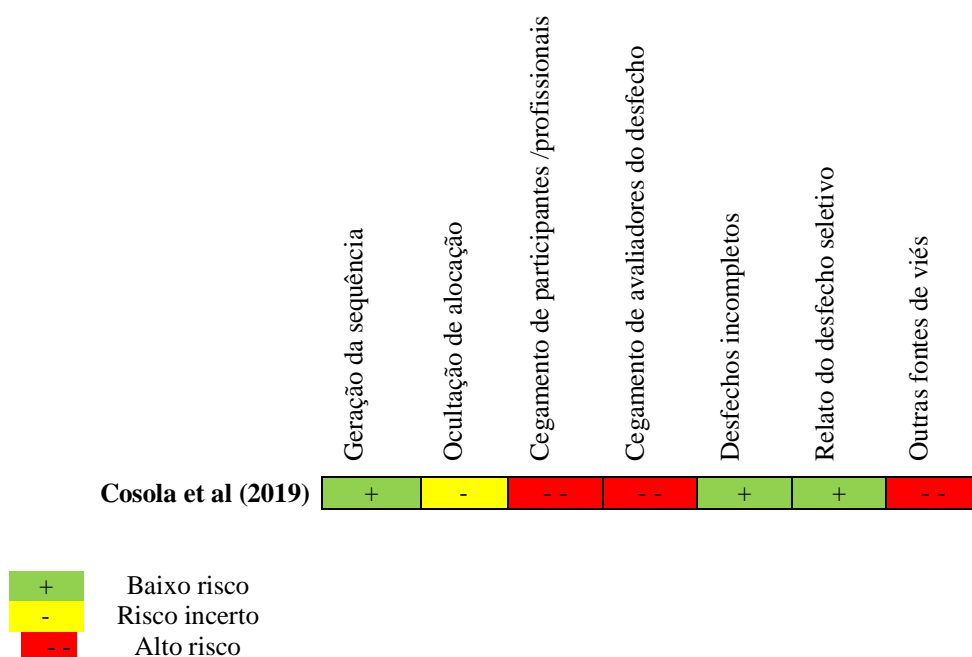
	Viés de confundimento	Viés na seleção de participantes para o estudo	Viés na classificação das intervenções	Viés por desvios das intervenções pretendidas	Viés devido à falta de dados	Viés na medição dos resultados	Viés na seleção do resultado relatado	Viés geral
Dhingra and Vandana et al (2011)	- -	+	+	+	+	- - -	-	- - -
Prya et al (2017)	- -	+	+	+	+	- - -	- -	- - -
Sandra et al (2019)	- -	+	-	+	+	- - -	-	- - -
Sandra et al (2021)	- -	+	+	+	+	- - -	-	- - -

+	Baixo
-	Moderado
- -	Sério
- - -	Crítico

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Para o ECR², o mesmo apresentou alto risco de viés de performance por cegamento dos participantes e profissionais, alto risco de viés de detecção por cegamento de avaliadores do desfecho e alto risco de viés por outras fontes. O estudo² também apresentou risco incerto de viés de seleção por ocultação da alocação (Figura 3).

Figura 3. Resumo do risco de viés de estudos clínicos randomizados utilizando a ferramenta *RoB 2*



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Resultados dos Estudos Incluídos

Redução da inflamação gengival (PS, IP, IS, ISG, FCG)

A tabela 4 descreve os resultados e a certeza da evidência usando a abordagem *GRADE* para síntese narrativa. Os ECNRs^{1,6,12,19} e o ECR² demonstraram que a irrigação com água ozonizada reduziu a inflamação gengival em pacientes ortodônticos (Tabela 3). Contudo, a certeza da evidência científica dos artigos foi muito baixa (Tabela 4). Um ECNRs¹ demonstrou que na comparação entre o uso da água ozonizada e o laser de diodo, o laser foi mais efetivo na redução da inflamação gengival (Tabela 3).

Diminuição da Profundidade de Sondagem de Bolsa Periodontal (PS)

Um ECNR¹⁹ e um ECR² relataram associação significativa entre o uso de água ozonizada e o controle/manutenção da PS, e um ECNR⁶ demonstrou que houve redução significativa na PS (Tabela 3), porém com nível de certeza da evidência baixa (Tabela 4).

Diminuição do Índice de Placa Dental (IP)

Três ECNRs^{1,6,19} e um ECR² relataram associação significativa entre a diminuição do IP e o uso da água ozonizada, embora um ECNR¹ tenha encontrado que a terapia com laser pode ser considerada mais efetiva que a água ozonizada (Tabela 3). O nível de certeza da evidência encontrada foi muito baixa (Tabela 4).

Diminuição do Índice de Sangramento Gengival (ISG)

Os ECNRs^{1,6,19} e ECR² que avaliaram o ISG demonstraram que houve redução no índice de sangramento utilizando a água ozonizada com nível de certeza da evidência muito baixa (Tabela 4). Comparado com a clorexidina 0,05%² e 0,02%¹⁹ a água ozonizada apresentou melhor resultado na redução do ISG, no entanto, quando comparada com o laser de diodo o estudo¹ apontou maior redução quando o laser foi utilizado (Tabela 3).

Diminuição do Índice Gengival (IG)

Os ECNRs^{1,6,12,19} demonstraram associação significativa entre a redução do IG e o uso da água ozonizada, com nível de certeza da evidência muito baixa (Tabela 4). Embora, quando comparado ao laser de diodo um dos estudos¹ demonstrou que a água ozonizada resultava em menor redução no IG que o laser (Tabela 3).

Avaliação Bioquímica da Inflamação no Fluido Crevicular Gengival (FCG)

























Quatro ECNRs^{1,6,12,19} fizeram avaliação de marcadores inflamatórios no FCG, a maioria deles encontrou associação significativa (Tabela 3) entre a diminuição do nível de biomarcadores pro-inflamatórios e o uso da água ozonizada, com nível de certeza da evidência muito baixa (Tabela 4).

Um estudo¹² analisando o biomarcador Aspartato aminotransferase (AST) demonstrou redução progressiva nos valores do marcador no lado irrigado com água ozonizada. Outro estudo⁶ analisando o biomarcador Lactato Desidrogenase (LDH) demonstrou redução significativa do marcador em 82%, após irrigação com água ozonizada. Em relação à atividade enzimática da proteína quimioatraente de monócitos (MCP-1)^{1,19}, em estudo¹ demonstrou redução maior nos valores do biomarcador no grupo que utilizou laser de diodo.

Certeza da evidência

A certeza da evidência foi muito baixa ou baixa devido a problemas de risco de viés, indireta, imprecisão e viés de publicação (Tabela 4). A evidência foi avaliada devido ao grande efeito para os ECNRs.

Tabela 4 - Resumo da tabela de desfechos de acordo com a ferramenta Grades of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluation (GRADE) para síntese narrativa

Avaliação da certeza da evidência		Risco de vieses		Evidência Indireta		Imprecisão		Viés de publicação		Outros fatores: Grande magnitude de efeito		Impacto		Certeza	
N. de estudos	Design do estudo	Risco de vieses	Inconsistência	Evidência Indireta	Imprecisão	Viés de publicação	Outros fatores: Grande magnitude de efeito	Viés de publicação	Outros fatores: Grande magnitude de efeito	Impacto	Certeza				
Diminuição da Inflamação Gingival (PS,IP,ISG,IG,FCG)															
Profundidade de sondagem de bolsa periodontal															
1 ¹	ECR ¹	Muito sério ²	Não-sério	Sério ³	Muito Sério ⁴	Fortemente suspetado ¹	-----	Fortemente suspetado ¹	-----	O estudo relatou associação significativa entre o uso de água ozonizada e o controle / manutenção da profundidade de bolsa periodontal.	  	Baixa			
2 ¹	ECNRs ^{1,6,10}	Muito sério ¹	Não-sério	Sério ³	Muito Sério ⁴	Fortemente suspetado ¹	Efeito muito grande ¹	Fortemente suspetado ¹	Efeito muito grande ¹	Todos os estudos relataram associação significativa entre o uso de água ozonizada e o controle / manutenção da profundidade de bolsa periodontal.	  	Baixa			
Diminuição do Índice de placa dental															
1 ¹	ECR ¹	Muito sério ²	Não-sério	Sério ³	Muito Sério ⁴	Fortemente suspetado ¹	-----	Fortemente suspetado ¹	-----	O estudo encontrou associação significativa entre a diminuição do índice placa dental e o uso da água ozonizada.	  	Muito baixa			
3 ¹	ECNRs ^{1,6,10}	Muito sério ¹	Não-sério	Sério ³	Muito Sério ⁴	Fortemente suspetado ¹	Efeito muito grande ¹	Fortemente suspetado ¹	Efeito muito grande ¹	A maioria dos estudos (2 de 3) encontraram associação significativa entre a diminuição do índice placa dental e o uso da água ozonizada. Um estudo encontrou que a terapia com laser pode ser considerada mais efetiva que a água ozonizada.	  	Muito baixa			
Diminuição do Índice de sangramento gengival															
1 ¹	ECR ¹	Muito sério ²	Não-sério	Sério ³	Muito Sério ⁴	Fortemente suspetado ¹	-----	Fortemente suspetado ¹	-----	O estudo encontrou associação significativa entre a diminuição do índice de sangramento gengival e o uso da água ozonizada.	  	Muito baixa			
3 ¹	ECNRs ^{1,6,10}	Muito sério ¹	Não-sério	Sério ³	Muito Sério ⁴	Fortemente suspetado ¹	Efeito muito grande ¹	Fortemente suspetado ¹	Efeito muito grande ¹	A maioria dos estudos (2 de 3) encontraram associação significativa entre a diminuição do índice de sangramento gengival e o uso da água ozonizada. Um estudo encontrou que a terapia com laser pode ser considerada mais efetiva que a água ozonizada.	  	Muito baixa			
Diminuição do índice gengival															
4 ¹	ECNRs ^{1,6,10}	Muito sério ¹	Não-sério	Sério ³	Muito Sério ⁴	Fortemente suspetado ¹	Efeito muito grande ¹	Fortemente suspetado ¹	Efeito muito grande ¹	A maioria dos estudos (3 de 4) encontraram associação significativa entre a diminuição do índice gengival e o uso da água ozonizada. Um estudo encontrou que a terapia com laser pode ser considerada mais efetiva que a água ozonizada.	  	Muito baixa			
Avaliação bioquímica da inflamação gengival no fluido crevicular gengival															
4 ¹	ECNRs ^{1,6,10}	Muito sério ¹	Não-sério	Sério ³	Muito Sério ⁴	Fortemente suspetado ¹	Efeito grande ¹	Fortemente suspetado ¹	Efeito grande ¹	A maioria dos estudos (3 de 4) encontraram associação significativa entre a diminuição do nível de biomarcadores pró-inflamatórios (enzimas: LDH e AST, e proteína: MCP-1) e o uso da água ozonizada. Um estudo encontrou que a terapia com laser pode ser considerada mais efetiva que a água ozonizada pelo nível de MCP-1.	  	Muito baixa			

¹ 1 estudo; ² 2 estudos; ³ 3 estudos; ⁴ 4 estudos; ⁵ 5 estudos; ⁶ 6 estudos; ¹⁰ 10 estudos.

¹ O estudo possui problemas de ocultação da alocação, falta de cegamento de participantes e avaliadores de resultados, e grandes problemas em relação a efeito de confundidores.

² Todos os estudos apresentaram risco de vieses, com grandes problemas em relação a efeito de confundidores, seleção dos participantes, medição dos resultados, reprodutibilidade e vieses de seleção de resultado.

³ As evidências vêm de estudos que têm aplicabilidade para indivíduos de apenas um tipo de tratamento ortodôntico, limitando a aplicabilidade de outros tratamentos.

⁴ Com base no tamanho ideal da informação (OIS), o número de eventos é inferior a 300 para a variável dicotômica.

⁵ Suspeita-se de vieses de publicação devido a possíveis estimativas não publicadas que podem não ser estatisticamente significativas.

⁶ Os desfechos demonstraram efeito de grande magnitude para as estimativas: grande RR-50%, muito grande RR-80%.

¹⁰ ECNRs: Ensaio Clínico Não Randomizado; MCP-1: Proteína quimioatraente de monócitos; AST, Aspartato aminotransferase; LDH, Lactato desidrogenase.

Discussão

Esta revisão teve por objetivo avaliar a efetividade da água ozonizada como uma substância terapêutica capaz de reduzir a inflamação gengival de pacientes que fazem uso do aparelho ortodôntico fixo. A ortodontia fixa dificulta o controle adequado do biofilme bacteriano, e favorece a agregação dos microrganismos às superfícies metálicas do aparelho por apresentarem áreas de retentividade¹⁻³.

O ozônio (O₃) têm sido indicado nos tratamentos odontológicos como um oxidante potente com alta atividade antimicrobiana, e sem gerar indução de resistência bacteriana⁹. Estudos realizados com o ozônio demonstraram ação antimicrobiana sobre bactérias como *P. gingivalis*, *Candida albicans*, *S.mutans* além de ter apresentado boa biocompatibilidade mesmo em concentrações altas, especialmente em células epiteliais orais e fibroblastos quando comparado à clorexidina a 0,12%.^{23,24}

Os resultados obtidos nos estudos demonstraram que a irrigação com água ozonizada causou redução na inflamação gengival dos pacientes ortodônticos^{1,2,6,12,19}. Contudo, os estudos elegíveis apresentaram grande variação metodológica e como viés geral um risco crítico para os ECNRs, e risco alto de viés para o ECR resultando em nível de certeza das evidências muito baixa.

A inflamação gengival foi avaliada pelos estudos através de parâmetros clínicos como: índice de placa (IP)^{1,2,6,19}, índice gengival (IG)^{1,6,12,19}, profundidade de sondagem da bolsa periodontal (PS)^{2,6,19}, e índice de sangramento gengival (ISG)^{1,2,6,19}. Além destes parâmetros, a avaliação bioquímica de biomarcadores pro-inflamatórios presentes no fluido crevicular gengival (FCG) foi realizada por quatro ECNRs^{1,6,12,19}.

A redução da inflamação gengival após uso da água ozonizada pode ter ocorrido pelo efeito antibacteriano do ozônio sobre os microrganismos, causando a morte instantânea dos mesmos, ou pelo efeito de rompimento da placa subgengival.^{1,6} Somados, a propriedade cicatrizante do ozônio pelo aumento da tensão de O₂ no local da ferida, que potencializa a formação de tecido de granulação, e aumenta a expressão de fatores de crescimento TGF-β e fator de crescimento endotelial (VEGF)²⁵, favorecem a resposta imune e estimula a circulação sanguínea na área².

Entretanto, não se pode ter certeza se os resultados de melhoria na inflamação gengival dos pacientes não foram advindos do efeito *Hawthorne*, melhorando seu comportamento em relação à higiene oral por estarem sendo monitorados.⁶

Embora a água ozonizada tenha demonstrado resultados promissores na redução dos parâmetros clínicos avaliados, e que poderia ser utilizada nas consultas mensais de manutenções ortodônticos¹⁵, foram observadas divergências sobre a indicação desta terapia no controle

gengival durante o tratamento ortodôntico. Ao ser comparado com a irradiação com laser de baixa potência, um ECNR¹ constatou que o laser produziu um melhor resultado na redução da inflamação gengival em todos os índices avaliados.

Na comparação com Clorexidina a 0,05% no ECR², a irrigação com ozônio demonstrou maior eficácia da ozonioterapia na redução do IP e ISG, sugerindo maior capacidade de manter a homeostasia gengival por mais tempo². Um ECNR comparou a irrigação do ozônio versus clorexidina 0,2% e demonstrou redução significativa no IP, IG e ISG após ozonioterapia.¹⁹

Biomarcadores expressos nos tecidos gengivais e presentes no FCG foram avaliados em quatro ECNR^{1,6,12,19}. A proteína quimioatraente de monócitos (MCP-1) é um marcador potencializador dos sinais inflamatórios e recrutador de monócitos^{1,19}, o MCP-1 foi avaliado em dois ECNRs^{1,19} os quais demonstraram redução significativa na expressão do biomarcador no FCG após irrigação com água ozonizada^{1,19}.

A enzima lactato desidrogenase (LDH) foi avaliada em um ECNR⁶ devido sua correlação significativa com inflamação gengival, além de seus níveis serem aumentados em sítios dentais sob compressão, o LDH demonstrou diminuição significativa diretamente proporcional ao tempo após o uso da água ozonizada, embora sem grupo controle e tamanho amostral adequado⁶. O biomarcador enzimático aspartato aminotransferase (AST) é liberado no fluido extracelular por células que sofreram algum dano ou foram mortas, um ECNR¹² demonstrou um volume não significativo de AST no FCG em sítios após irrigação com água ozonizada¹².

A certeza da evidência foi muito baixa. Em geral, todos os ECNRs apresentaram risco crítico de viés na medição dos resultados e sério risco de viés por confusão e de viés geral. O ECR apresentou alto risco de viés de performance por cegamento dos participantes e profissionais, de detecção por cegamento de avaliadores do desfecho e de viés por outras fontes. As evidências dos desfechos apresentavam evidência indireta séria por apresentar apenas um tipo de tratamento ortodôntico, imprecisão muito séria devido ao número limitado de estudos; conseqüentemente, pequeno tamanho da amostra. Também, havia sério risco de redução na qualidade da evidência por forte suspeita de viés de publicação embora tenha sido realizada uma vasta pesquisa nas bases de dados.

Pontos fortes e limitações

Este estudo teve limitações. Houve um número limitado de estudos incluídos, o que levou ao efeito de imprecisão da entrada de dados sobre os resultados. A meta-análise não foi possível devido à grande heterogeneidade dos dados relatados entre os estudos. No entanto, como um ponto forte pode-se destacar a abordagem *GRADE* para relatar a certeza das evidências para

síntese narrativa além da utilização das ferramentas *Cochrane* para risco de viés *ROBINS-I* para *ECNRs* e *RoB2* para ECR.

Implicações para pesquisa

Ensaio clínico randomizado (ECRs) com metodologias clínicas e bioquímicas como: padronização da condição gengival, cegamento dos profissionais (o avaliador do resultado não deve ser o cirurgião, e não deve ter conhecimento da história pregressa do paciente) e pacientes, realização de cálculo amostral, acompanhamento maior que 90 dias, a fim de avaliar a influência da ozonioterapia na homeostasia/melhora da condição gengival, o que ofereceria mais informações no longo prazo. Embora, particularidades como algum comprometimento periodontal, fatores como idade, expectativas do paciente, opções terapêuticas e planejamento ortodôntico poderiam dificultar a realização dos ECRs nestes pacientes; futuros ECRs de alta padronização e qualidade podem permitir a obtenção de resultados significativos quanto a frequência, duração, aplicabilidade e método de irrigação da água ozonizada.

Possíveis fontes de viés devem ser controladas, como a inserção de protocolos suficientemente claros para a ozonioterapia; itens como fumo, álcool e gravidade dos problemas periodontais e dentários devem ser exaustivamente explorados. Novos estudos também devem investigar a satisfação e qualidade de vida dos pacientes para este tratamento, além do custo-benefício da terapia para paciente-profissional.

Conclusões

Com relação a utilização da água ozonizada em pacientes ortodônticos, existe uma certeza de evidência:

- Geral, muito baixa da efetividade da irrigação com água ozonizada na redução da inflamação gengival;
- Baixa para a Profundidade de sondagem de bolsa;
- Muito baixa na redução dos parâmetros clínicos: índice de placa dental, índice de sangramento gengival, índice gengival, e biomarcadores LDH, AST e MCP-1 no fluido crevicular gengival.

Conflitos de interesse

Não existe conflito de interesse neste estudo.

Referências

- 1- Sandra, VKV, Shaik, Z., Simhadri, G., Gari, L. R. O. G., Siddamreddy, B. P., & Makem, N. Comparison of laser therapy and ozonated water on gingival inflammation in orthodontic patients with fixed appliances. *Journal of clinical and translational research.*2021;7(5):625-630.
- 2- Cosola,S, Giammarinaro, E., Genovesi, A. M., Pisante, R., Poli, G., Covani, et al. A short-term study of the effects of ozone irrigation in an orthodontic population with fixed appliances. *European Journal of Paediatric Dentistry.*2019;20(1):15-18.
- 3- Aktaş, N, Atabek, D., Gülçin, A. K. Ç. A.,Öztaş, N. Antibacterial Effectiveness of Prophylactic Ozone Application with Full-Mouth-Tray in Orthodontic Patients with High Caries Activity. *Journal of Gazi University Health Sciences Institute* 2019;1(1):10-20.
- 4- Topaloglu-Ak, A., Ertugrul, F., Eden, E., Ates, M., & Bulut, H. Effect of orthodontic appliances on oral microbiota—6 month follow-up. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry.*2011;35(4), 433-436.
- 5- Wishney, M. Potential risks of orthodontic therapy: a critical review and conceptual framework. *Australian dental jornal.*2017;62(1):86-96.
- 6- Dhingra K, Vandana KL. Management of gingival inflammation in orthodontic patients with ozonated water irrigation--a pilot study. *Int J Dent Hyg.*2011;9(4):296-302.
- 7- Moraschini, Vittorio et al. Ineffectiveness of ozone therapy in nonsurgical periodontal treatment: a systematic review and metaanalysis of randomized clinical trials. *Clinical Oral Investigations.*2020;24(6):1877-1888.
- 8- Kshitish D, Laxman VK. The use of ozonated water and 0.2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: A clinical and microbiologic study. *Indian J Dent Res.*2010;21(3):341-348.
- 9- Yilmaz, Selçuk et al. Evaluation of the Clinical and Antimicrobial Effects of the Er:YAG Laser or Topical Gaseous Ozone as Adjuncts to Initial Periodontal Therapy. *Photomedicine and laser surgery.*2013;31(6):293-298.
- 10- Shoukheba Mym, Ali Sa, The effects of subgingival application of ozonated olive oil gel in patient with localized aggressive periodontitis. A clinical and bacteriological study, *Tanta Dental Journal.*2014;11(1):63-73.
- 11- Uraz A, Karaduman, B., Isler, S. Ç., Gönen, S., & Çetiner, D. Ozone application as adjunctive therapy in chronic periodontitis: Clinical, microbiological and biochemical aspects.*Journal of Dental Sciences.*2019;14(1):27-37.
- 12- Jose P, Ramabhadran, B. K., Emmatty, R., & Paul, T. Assessment of the effect of ozonated water irrigation on gingival inflammation in patients undergoing fixed orthodontic treatment. *J Indian Soc Periodontol.*2017;21(6):484-488.
- 13- Seydanur Dengizek, E., Serkan, D., Abubekir, E., Aysun Bay, K., Onder, O., & Arife, C Evaluating clinical and laboratory effects of ozone in non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled trial. *J. Appl. Oral Sci.*2019;27(1).

- 14- Kumar, A., Bhagawati, S., Tyagi, P., & Kumar, P. Current interpretations and scientific rationale of the ozone usage in dentistry: A systematic review of literature. *European Journal of General Dentistry*.2014;3(3).
- 15- Higgins JP, Altman DG, Gøtzsche PC, Jüni P, Moher D, Oxman AD, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*.2011;343:d5928.
- 16- Sterne JA, Hernan MA, Reeves BC, Savovic J, Berkman ND, Viswanathan M et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. *BMJ*. 2016;355:i4919.
- 17- Sterne JAC, Savović J, Page MJ, Elbers RG, Blencowe NS, Boutron I, Cates CJ, Cheng H-Y, et al. RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*.2019; **366**: l4898.
- 18- Aykut-Yetkiner, A., Eden, E., Ertuğrul, F., Ergin, E., & Ateş, M. Antibacterial efficacy of prophylactic ozone treatment on patients with fixed orthodontic appliances. *Acta odontologica Scandinavica*. 2013;71(6):1620-1624.
- 19- Sandra, V. K. V., Nagireddy, R. R., Nooney, A., & Nadhamuni, M. Comparison of efficiency of ozone and chlorhexidine subgingival irrigation in orthodontic patients for controlling gingival inflammation. *S. Afr. dent. J*. 2019;74(2):82-86.
- 20- Jose, P., Ramabhadran, B. K., Emmatty, R., & Paul, T. P .Assessment of the effect of ozonated water irrigation on gingival inflammation in patients undergoing fixed orthodontic treatment. *Journal of Indian Society of Periodontology*.2017;21(6):484-488.
- 21- Sterne JA, Hernan MA, Reeves BC, Savovic J, Berkman ND, Viswanathan M et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. *BMJ*. 2016;355:i4919.
- 22- Sterne JAC, Savović J, Page MJ, Elbers RG, Blencowe NS, Boutron I, Cates CJ, Cheng H-Y, et al. RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*; 2019; **366**: l48-98.
- 23- Huth, Karin C et al. Effectiveness of ozone against periodontal pathogenic microorganisms. *European journal of oral sciences*.2011;119(3): 204-10.
- 24- Khatri, I., Moger, G., & Kumar, N. A. Evaluation of effect of topical ozone therapy on salivary Candidal carriage in oral candidiasis. *Indian Journal of Dental Research*.2015;26(2), 158.
- 25- Borges, G. Á., Elias, S. T., da Silva, S. M. M., Magalhaes, P. O., Macedo, S. B., Ribeiro, A., et al. In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*.2017;45(3), 364-370.

3 CONCLUSÃO

As evidências encontradas sugerem, com baixíssimo grau de certeza da evidência, que a irrigação com água ozonizada é efetiva na redução da inflamação gengival em pacientes ortodônticos. Assim como a redução dos seguintes parâmetros clínicos: Profundidade de sondagem de bolsa, índice de placa dental, índice gengival, e índice de sangramento gengival. Também, demonstrou experiência na redução dos biomarcadores pró-inflamatórios (LDH, AST, MCP-1) presentes no fluido crevicular gengival.

REFERÊNCIAS

- 26- SANDRA, VKV et al. Comparison of laser therapy and ozonated water on gingival inflammation in orthodontic patients with fixed appliances. **Journal of clinical and translational research**, v. 7,n.5,p.625-630, 2021.
- 27- COSOLA,S et al. A short-term study of the effects of ozone irrigation in an orthodontic population with fixed appliances. **European Journal of Paediatric Dentistry**,v.20,n.1,p 15-18,2019.
- 28- AKTAŞ, Nagehan et al. Antibacterial Effectiveness of Prophylactic Ozone Application with Full-Mouth-Tray in Orthodontic Patients with High Caries Activity. **Journal of Gazi University Health Sciences Institute**, v 1, n 1, pp. 10-20, 2019.
- 29- WISHNEY, M. Potential risks of orthodontic therapy: a critical review and conceptual framework. **Australian dental journal**, vol. 62,n.1,p.86-96, 2017.
- 30- DHINGRA K, VANDANA KL. Management of gingival inflammation in orthodontic patients with ozonated water irrigation--a pilot study. **Int J Dent Hyg**, v.9, n.4, p.296-302,2011.
- 31- MORASCHINI, Vittorio et al. Ineffectiveness of ozone therapy in nonsurgical periodontal treatment: a systematic review and metaanalysis of randomized clinical trials. **Clinical Oral Investigations**, v. 24, n. 6, p. 1877-1888, 2020.
- 32- KSHITISH D, LAXMAN VK. The use of ozonated water and 0.2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: A clinical and microbiologic study. **Indian J Dent Res** v.21,n.3,p.341-348,2010.
- 33- YILMAZ, Selçuk et al. Evaluation of the Clinical and Antimicrobial Effects of the Er:YAG Laser or Topical Gaseous Ozone as Adjuncts to Initial Periodontal Therapy. **Photomedicine and laser surgery**,v.31,n.6,p.293-298,2013.
- 34- olive oil gel in patient with localized aggressive periodontitis. A clinical and bacteriological study, **Tanta Dental Journal**,v.11,n.1,p 63-73,2014.
- 35- URAZ A, et al., Ozone application as adjunctive therapy in chronic periodontitis: Clinical, microbiological and biochemical aspects. **Journal of Dental Sciences**,v.14,n.1,p.27-37,2019.
- 36- JOSE P, et al. Assessment of the effect of ozonated water irrigation on gingival inflammation in patients undergoing fixed orthodontic treatment. **J Indian Soc Periodontol**, v.21,n.6,p.484-488, 2017.
- 37- DENGIZEK S. et al. Evaluating clinical and laboratory effects of ozone in non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled trial. **J. Appl. Oral Sci**, v.27,n.1.2019.
- 38- KUMAR, Prince *et al.* Current interpretations and scientific rationale of the ozone usage in dentistry: A systematic review of literature. **European Journal of General Dentistry**, v. 3, n. 3, 2014.
- 39- AYKUT-YETKINER et al. Antibacterial efficacy of prophylactic ozone treatment on patients with fixed orthodontic appliances. **Acta odontologica Scandinavica**, v.71,n.6, p.1620–1624,2013.

- 40- SANDRA, VKV et al . Comparison of efficiency of ozone and chlorhexidine subgingival irrigation in orthodontic patients for controlling gingival inflammation. **S. Afr. dent. j.** v. 74, n. 2, p. 82-86, 2019.
- 41- PRIYA, J. et al. Assessment of the effect of ozonated water irrigation on gingival inflammation in patients undergoing fixed orthodontic treatment. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 21,n.6,p.484-488,2017.

ANEXO A – Normas do Periódico**European Journal of Dentistry****Author Instructions**

Thank you for contributing to *European Journal of Dentistry*. Please read the instructions carefully and observe all the directions given. Failure to do so may result in unnecessary delays in publishing your article.

Find out more about Open Access at Thieme at <http://open.thieme.com>

SUBMISSION CHECKLIST

All manuscripts must be submitted at the following link:

<https://www.manuscriptmanager.net/ejd>

- AUTHOR INFORMATION**
 - All authors: full name, degrees, department, affiliation, e-mail address
 - Corresponding author: mailing address, telephone number
- MANUSCRIPT FILE**
 - Must be digital - hard copy submissions are not accepted
- ABSTRACT AND KEYWORDS**
 - See the section Article Types for word limit
- CONFLICT OF INTEREST**
 - Every named author must disclose their conflicts or lack thereof
- REFERENCES**
 - Cited sequentially in AMA style
- FIGURES AND TABLES**
 - Cited sequentially and included in the main document
- ART FILES**
 - Must be saved separately from the main document
- PERMISSIONS**
 - Required if you plan to reproduce content from a published source or include a photograph of a patient
 - Patient permission form forms available at www.thieme.com/journal-authors

CONTENTS

MANUSCRIPT FORMAT	3-8
Article Types	3
General Guidelines	5
Title Page	6
Abstract and Keywords	6
Main Document	6
Acknowledgments	6
Conflict of Interest	6
References	7
Figure Captions	8
Tables	8
DIGITAL ARTWORK PREPARATION	9
General Guidelines	9
Black and White Art	9
Color Art	9
Art Labels	9
SUBMISSION PROCEDURE	10
Submission Procedure	10
Revision Procedure Peer	10
Reviewing process	10
Appointment of Reviewer Team for journal	10
PRODUCTION PROCEDURE	10
Page Proofs	10
POLICY STATEMENTS	11-13
Statement on Liability	11
Definition of Authorship	11
Copyright Statement	11
Conflict of Interest Resolution	11
Statement of Ethics Patient	12
Permission Policy Article	12
Withdrawal Policy	13
EDITORIAL CONTACTS	14

Article Types

The following graph shows what types of articles are accepted for publication, and what requirement they may have.

Article Type	Abstract Limit	Keywords Limit	Title Limit	Tables/Figures Limit	References Limit
Original Article (up to 3,500 words)	Up to 350 words (Structured: Objectives, Materials and Methods, Statistical analysis, Results, Conclusions)	3 to 7 keywords	Up to 35 words	Approximately 5 tables/figures	Up to 40 references
Brief Report (up to 1,800 words)	Up to 250 words (Structured: Objectives, Materials and Methods, Statistical analysis, Results, Conclusions)	3 to 7 keywords	Up to 35 words	Approximately 5 tables/figures	Up to 20 references
Review Article (up to 4,000 words)	Up to 400 words (Unstructured abstract)	3 to 7 keywords	Up to 35 words	Approximately 5 tables/figures	Up to 75 references
Case Report (up to 2,500 words)	Up to 350 words (Unstructured abstract)	3 to 7 keywords	Up to 35 words	Approximately 7 tables/figures	Up to 25 references
Editorial (up to 1,500 words)	n/a	n/a	n/a	n/a	Up to 15 references
Letter to Editor (up to 300 words)	n/a	n/a	n/a	n/a	Up to 5 references
In Response (up to 300 words)	n/a	n/a	n/a	n/a	Up to 5 references

- Original Article:** These include randomized controlled trials, intervention studies, studies of screening and diagnostic test, outcome studies, cost effectiveness analyses, case-control series, and surveys with high response rate. The text of original articles amounting to up to **3,500** words (excluding Abstract, References and Tables) should be divided into sections with the headings: Abstract (**Structured format: Objectives, Materials and Methods, Statistical analysis, Results, Conclusions**) up to **350** words, Key-words (**3–7** MeSH words), **Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, References** (up to **40** references), **Tables** and **Figure legends**.
- Brief Report:** These are similar to original research in that they follow the same format and guidelines, but are designed for small-scale research or research that is in early stages of development. These may include preliminary studies that utilize a simple research design or a small sample size and that have produced limited pilot data and initial findings that indicate need for further investigation. Brief reports are much shorter than manuscripts associated with a more advanced, larger-scale research project. The text of original articles amounting to up to **1,800** words (excluding Abstract, References and Tables) should be divided into sections with the headings: Abstract (**Structured: Objectives, Materials and Methods, Statistical analysis, Results, Conclusions**; up to **200** words), Key-words (**3–7** MeSH words), **Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, References** (up to **20** references), **Tables** and **Figure legends**.

Review Article: It is expected that these articles would be written preferably by individuals who have done substantial work on the subject or are considered experts in the field. The prescribed word count is up to **4,000** words excluding tables, references and abstract. The manuscript may have about **75** references. The manuscript should have an unstructured abstract (up to **400** words) representing an accurate summary of the article. The section titles would depend upon the topic reviewed. Authors submitting review article should include a section describing the methods used for locating, selecting, extracting, and synthesizing data. These methods should also be summarized in the abstract. The journal expects the contributors to give post-publication updates on the subject of review. The update should be brief, covering the advances in the field after the publication of the article and should be sent as a letter to editor, as and when major development occurs in the field.

- **Case Reports/Case Series:** New, interesting and rare cases can be reported. They should be unique, describing a great diagnostic or therapeutic challenge and providing a learning point for the readers. Cases with clinical significance or implications will be given priority. These manuscripts could be of up to **2,500** words (excluding Abstract and references) and manuscript should have an unstructured abstract (up to **350** words), Key-words, Introduction, Case report, Discussion, Conclusion, Reference, Tables and Legends in that order. The case reports could be supported with up to **25** references. The number of images/figures/tables/graphs is to be limited to **7** only.
- **Editorial:** Editorials are solicited by the editorial board or Editor-in-Chief; should be up to **1,500** words and with no more than **15** references.
- **Letter to the Editor (LTE):** These should be short and decisive observations. They should preferably be related to articles previously published in the Journal or views expressed in the journal. They should not be preliminary observations that need a later paper for validation. The letter could have up to **300** words and **5** references. It could be generally authored by not more than four authors. It should follow the response of authors with similar word count and references with the reading ‘In response.’

General Guidelines

- You must submit a digital copy of your manuscript. Hard copy submissions are not accepted.
- Keep the format of your manuscript simple and clear. We will set your manuscript according to our style—do not try to “design” the document.
- The manuscript, including the title page, abstract and keywords, text, references, figure captions, and tables should be typewritten, double-spaced in 12-point font with 1-inch margins all around and saved as one file.
- Each figure should be saved as its own separate file. Do not embed figures within the manuscript file.
This requires special handling by Thieme’s Production Department.
- Keep abbreviations to a minimum and be sure to explain all of them the first time they are used in the text.
- The manuscripts should be written in American English.
- The authors should use Système International (SI) measurements. For clarity, nonmetric equivalents may be included in parentheses following the SI measurements.
- Use generic names for drugs. You may cite proprietary names in parentheses along with the name and location of the manufacturer.
- Credit suppliers and manufacturers of equipment, drugs, and other brand-name material

mentioned in the manuscript within parentheses, giving the company name and primary location.

- Additional material, which is not pivotal, but supporting in nature to the theme of the manuscript, can be submitted as “Supplementary Material” and will be published only online (not in print).

Title Page

- This journal adheres to a **double-blinded peer-review policy**. The title page should **NOT** be included in the main document.
- The title page should list the article title and the corresponding author’s full name, degree, title, department, affiliation, mailing address, e-mail address, and telephone and fax numbers. It should also list the full name, degree, title, department, and affiliation of every co-author.

Abstract and Keywords

See the section Article Types for word limits. The abstract should briefly outline the content of the article and any conclusions it may reach. The keywords should be words a reader would be likely to use in searching for the content of the article.

Main Document

- Please clearly distinguish the hierarchy of headings within the manuscript by using capital letters, underline, italic, and bold styles as necessary.
- As needed, use italic, superscripts, subscripts, and boldface, but otherwise do not use multiple fonts and font sizes.
- Do not insert page or section breaks except where noted in the Author Instructions.
- Use hard returns (the Enter key) only at the end of a paragraph, not at the end of a line. Allow lines of text to break automatically in your word-processing software. Do not justify your text.
- Use only one space, not two, after periods.
- Create tables using the Table function in Microsoft Word.

Acknowledgments

The source of any financial support received and recognition of personal assistance for the work being published should be indicated at the end of the article, just before the Reference section, under the heading Acknowledgments.

Conflict of Interest

All authors (including corresponding and co-authors associated with the manuscript) must make a formal statement at the time of submission indicating any potential conflict of interest that might constitute an embarrassment to any of the authors if it were not to be declared and were to emerge after publication. Such conflicts might include, but are not limited to, shareholding in or receipt of a grant or consultancy fee from a company whose product features in the submitted manuscript or which manufactures a competing product. Should the article be accepted for publication, this information will be published with the paper.

Types of conflicts include: Consulting, Royalties, Research Support, Institutional Support, Ownership, Stock/Options, Speakers Bureau, and Fellowship Support. Any commercial entity whose products are described, reviewed, evaluated, or compared in the manuscript, except for those disclosed in the Acknowledgments section, are potential conflicts.

This journal follows the guidelines of the [International Committee of Medical Journal Editors](#) and an [ICMJE disclosure of potential conflicts of interest \(COI\) form](#) must be submitted for each author

at the time of manuscript submission. Forms must be submitted even if there is no conflict of interest. It is the responsibility of the corresponding author to ensure that all authors adhere to this policy prior to submission.

A conflict of interest statement must also be included in the manuscript after any "Acknowledgements" and "Funding" sections and should summarize all aspects of any conflicts of interest included on the ICMJE form. If there is no conflict of interest, authors must include 'Conflict of Interest: none declared'.

Please click <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest> to download a Conflict of Interest form. The disclosure information is important in article processing. If the provided forms are incomplete or missing, it can cause delays in publishing of article.

References

References should be the most recent and pertinent literature available. It is essential that they are complete and thoroughly checked. If the reference information is incomplete, good online sites to search for full details are the National Library of Medicine: www.nlm.nih.gov; Books in Print: www.booksinprint.com; PubMed: www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/; or individual publisher Web sites.

- References must be listed in AMA style, using Index Medicus journal title abbreviations.
- References follow the article text. Insert a page break between the end of text and the start of references.
- References must be cited sequentially (NOT alphabetically) in the text using superscript numbers.
- By way of exception to AMA style, do not italicize book titles or journal title abbreviations and do not put a period at the end of a reference.
- List all author names, up to and including six names. For more than six authors, list the first three followed by et al.
- References should be styled per the following examples:

1. Citing a journal article:
Newburger JW, Takahashi M, Burns JC, et al. The treatment of Kawasaki syndrome with intravenous gamma-globulin. *N Engl J Med* 1986;315:341–347
2. Citing a chapter in a book:
Toma H. Takayasu's arteritis. In: Novick A, Scoble J, Hamilton G, eds. *Renal Vascular Disease*. Philadelphia: WB Saunders; 1995:47–62
3. Citing a book:
Stryer L. *Biochemistry*. 2nd ed. San Francisco: WH Freeman; 1981:559–596
4. Citing a thesis: Stern I. Hemorrhagic Complications of Anticoagulant Therapy [Ph.D. dissertation]. Evanston, IL: Northwestern University; 1994
5. Citing a government publication: Food and Drug Administration. *Jin Bu Huan Herbal Tablets*. Rockville, MD: National Press Office; April 15, 1994. Talk Paper T94-22
6. Citing an online article:
Rosenthal S, Chen R, Hadler S. The safety of acellular pertussis vaccine vs whole-cell pertussis vaccine [abstract]. *Arch Pediatr Adolesc Med* [serial online]. 1996;150:457–460. Available at: http://www.ama-assn.org/sci-pubs/journals/archive/ajdc/vol_150/no_5/abstract/htm. Accessed November 10, 1996

7. Citing a symposium article:

Eisenberg J. Market forces and physician workforce reform: why they may not work. Paper presented at: Annual Meeting of the Association of American Medical Colleges; October 28,1995; Washington, DC

Figure Captions

- Figures include photographs or radiographs, drawings, graphs, bar charts, flow charts, and pathways, but NOT lists or tables.
- Figures must be cited sequentially in the text. Number all figures (and corresponding figure captions) sequentially in the order they are cited in the text.
- Figure captions should be written after the reference list. Insert a page break between the end of references and the start of figure captions.
- Figure captions should include a description of the figure and/or each lettered part (A, B, etc.) and of any portions of the figure highlighted by arrows, arrowheads, asterisks, etc.
- For a figure borrowed or adapted from another publication (used with permission), add a credit line in parentheses at the end of each figure legend. This credit line should be a complete bibliographic listing of the source publication (as a reference), or other credit line as supplied by the copyright holder. For example (Reprinted with permission from Calfee DR, Wispelwey B. Brain abscess. *Semin Neurol* 2000;20:357.)

Tables

- Data given in tables should be commented on but not repeated in the text. Be sure that lists or columns of related data are composed in a word-processing program like the rest of the text.
- Do not intersperse tables in the text. Tables should appear after the figure captions. Insert a page break between the end of the figure captions and the start of the tables.
- Tables must be double-spaced and numbered in the same sequence they are cited in the text. A short descriptive title should be provided for each table.
- If a table contains artwork, supply the artwork separately as a digital file.
- For tables borrowed or adapted from another publication (used with permission), add a credit line as the first footnote beneath each table. This credit line should be a complete bibliographical listing of the source publication (as a reference), or other credit line as supplied by the copyright holder. For example, “Reprinted with permission from Calfee DR, Wispelwey B. Brain abscess. *Semin Neurol* 2000;20:357.” (“Data from . . .” or “Adapted from . . .” may also be used, as appropriate.)
- Other footnotes for tables should be indicated in the table using superscript letters in alphabetical order.
- Any abbreviations used in the table should be explained at the end of the table in a footnote.

DIGITAL ARTWORK PREPARATION

General Guidelines

- It is best to use Adobe Photoshop to create and save images, and Adobe Illustrator for line art and labels.
- Do not submit art created in Microsoft Excel, Word, or PowerPoint. These files cannot be used by the typesetter.
- Save each figure in a separate file.
- Do not compress files.
- All black-and-white and color artwork should be at a resolution of 300 dpi (dots per inch) in TIFF format. Line art should be 1,200 dpi in EPS or TIFF format. Contact the Production Editor at Thieme if you are unsure of the final size.

- It is preferable for figures to be cropped to their final size (approximately 3½ inches for a single column and up to 7 inches for a double column), or larger, and in the correct orientation. If art is submitted smaller and then has to be enlarged, its resolution (dpi) and clarity will decrease.

Note: Lower resolutions (less than 300 dpi) and JPEG format (.jpg extension) for grayscale and color artwork are strongly discouraged due to the poor quality they yield in printing, which requires 300 dpi resolution for sharp, clear, detailed images. JPEG format, by definition, is a lower resolution (compressed) format designed for quick upload on computer screens.

Black-and-White Art

- Black-and-white artwork can be halftone (or grayscale) photographs, radiographs, drawings, line art, graphs, and flowcharts. Thieme will only accept digital artwork.
- If possible, do not send color art for conversion to black-and-white. Do the conversion yourself so that you can check the results and confirm in advance that no critical details are lost or obscured by the change to black-and-white.
- For best results, line art should be black on a white background. Lines and type should be clean and evenly dark. Avoid screens or cross-hatching, as they can darken or be uneven in printing and lead to unacceptable printing quality.

Color Art

- All color artwork should be saved in CMYK, not RGB.

Art Labels

- Arrows, asterisks, and arrowheads (or other markers) should be white in dark or black areas and black in light or white areas, and large in size. If not, these highlighting marks may become difficult to see when figures are reduced in size during the typesetting process.
- Use 1-point (or thicker) rules and leader lines.
- Capitalize the first word of each label and all proper nouns. Consider using all capitals if you need a higher level of labels.
- Where there are alternate terms or spellings for a named structure, use the most common one and make sure it is consistent with what is used in the text.
- Avoid using multiple fonts and font sizes for the labels; use only one or two sizes of a serif font.

SUBMISSION PROCEDURE

Submission Procedure

- Consult the checklist on the first page of this document to ensure that you are ready to submit your manuscript.
- Please note: **There are no submission charges to submit your manuscript to this journal.**
- Manuscripts must be submitted electronically at the following: <https://www.manuscriptmanager.net/ejd>
- Always review your manuscript before submitting it. You may stop a submission at any phase and save it to submit later. After submission, you will receive a confirmation email. You can also check the status of your manuscript by logging in to the submission system. The Editor in Chief will inform you via email once a decision has been made.

Revision Procedure

- Should the editors decide that your article requires a revision, you will need to make the

changes via a word-processing program and resubmit it electronically.

- Log In to the submission system and find your article, which will be marked for revision.
- The best way to make revisions to your manuscript is by enabling the Track Changes mode in Microsoft Word, which will automatically highlight and mark up revised text. Please submit both a marked up copy and a clean copy of your revised manuscript to the submission system.
- Your original files will still be available after you upload your revised manuscript, so you should delete any redundant files before completing the submission.
- You will also be provided space in which to respond to the reviewers' and editors' comments. Please be as specific as possible in your response.

Peer Reviewing Process

The journal follows **double blind** peer-review process where neither the author nor the reviewer gets to know the identity of each other. This is ensured by masking the separate front-page file to the reviewers having author details.

At least three random reviewers based on their technical and clinical expertise are assigned by the Chief Editor on each manuscript and the decision is taken based on the comparative reviews which the manuscript receives during the review process.

Appointment of Reviewer Team for the journal

The reviewer team is being appointed based on the individual expertise and experience in publishing in the subject category. Individual publishing history as first and last authors is being taken into consideration before sending the invite to the individual. A mix of experienced and young researchers are being chosen to construct the reviewer panel.

PRODUCTION PROCEDURE

Page Proofs

Page proofs will be sent to you via email. The proofs will be in a PDF file format, which should be opened using Acrobat Reader software. You will receive further instructions with your proofs. Take this opportunity to check the typeset text for typographic and related errors. Elective alterations are difficult to accommodate owing to the associated time and expense of introducing them. Therefore, please be sure that when you submit your manuscript, it is accurate, complete, and final.

POLICY STATEMENTS

Statement on Liability

The legislation on product liability makes increased demands on the duty of care to be exercised by authors of scientific research and medical publications. This applies in particular to papers and publications containing therapeutic directions or instructions and doses or dosage schedules. We therefore request you to examine with particular care, also in your own interest, the factual correctness of the contents of your manuscript once it has been copyedited and returned to you in the form of galley proofs. The responsibility for the correctness of data and statements made in the manuscript rests entirely with the author.

Definition of Authorship

Authorship credit should be based on criteria established by the [International Committee of Medical Journal Editors](#). Each author should have made the following contributions towards the completion of the manuscript:

1. Substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data
2. Drafting the article or revising it critically for important intellectual content
3. Final approval of the version to be published

Copyright Statement

Submitted manuscripts must represent original research not previously published nor being considered for publication elsewhere. The editors and Thieme combat plagiarism, double publication, and scientific misconduct with the software [CrossCheck](#) powered by [iThenticate](#). Your manuscript may be subject to an investigation and retraction if plagiarism is suspected.

If you plan to reproduce text, tables, or figures from a published source, you must first obtain written permission from the copyright holder (usually the society). This is required even if the material is from your own published work. For material never before published and given to you by another person, you must obtain permission from that person. Serious delays to publication can be incurred if permissions are not obtained.

As the author, it is your responsibility to obtain all permissions, pay any permission fees, furnish copies of permissions to Thieme with your manuscript, and include a credit line at the end of the figure caption, beneath the table, or in a text footnote.

Upon publication of an article, all rights are held by the society, including the rights to reproduce all or part of any publication. The reproduction of articles or illustrations without prior consent from the society is prohibited.

Conflict of Interest Resolution

Conflict of any form which arises related to the content published is being resolved with an unbiased approach by letting both the whistleblower and the author to present due facts in support of their side of the argument and a decision to retain the content or reject/retract is being taken.

Statement of Ethics

This journal adheres to the ethical standards described by the [Committee on Publication Ethics](#) and the [International Committee of Medical Journal Editors](#). Authors are expected to adhere to these standards.

For all manuscripts reporting data from studies involving human or animal participants, formal review and approval, or formal review and waiver (exemption), by an appropriate institutional review board (IRB) or ethics committee is required, as well as any necessary HIPAA consent, and should be described in the Methods section with the full name of the reviewing entity. All clinical trials must be registered in a public trials registry. Denote the registry and registry number.

Please follow the standard Levels of Evidence for Primary Research and the reporting guidelines specified by this table:

Type of Study	Guidelines
Randomized controlled trials	CONSORT
Studies of diagnostic accuracy	STARD
Systematic reviews and meta-analyses	QUOROM/PRISMA
Observational studies in epidemiology	STROBE
Meta-analyses of observational studies in epidemiology	MOOSE

Patient Permission Policy and Thieme GDPR Policy

You must obtain a signed patient permission form for every patient whose recognizable photograph will be used. If you do not supply this, the identity of the patient must be obscured before the image is published; this could interfere with the instructive value of the photograph.

The personal rights of people who are recognizable on images must be protected. Please provide a written consent form for publication signed by every recognizable person. For persons under 18 years of age / persons supervised, please provide the signature of both parents / the legal guardian / supervisor. A suitable declaration of consent form can be obtained in our authors' lounge. Patient permission forms are available at www.thieme.com/journal-authors

We cannot accept or store illustrations in which personal data of third parties are included. Please submit images in completely anonymous form, free of personal data only! Such data may not only be directly visible in the image (e.g., a patient name or a date of birth in an X-ray image); they can also be included in the metadata of the image, which is accessible with the appropriate software. They may also be obscured by a cropping feature (such as PowerPoint or Word), but can be made visible underneath. If you have questions about data protection regulations, please contact us before submitting your manuscript.

Article Withdrawal Policy

We want to avoid the unwarranted withdrawal of submitted articles in order to avoid wasting the time of editors, section editors, referees, and editorial staff. Therefore, before submitting the article, all authors should carefully read the author instruction and check the manuscripts are accurate and error-free. In addition, all authors should follow the publication ethics.

It is unacceptable to withdraw an article from the EJD because it is being accepted or published by another journal.

Withdrawal process during editorial workflow as described below;

Article withdrawal before acceptance;

- The corresponding author may request an article withdrawal within seven (7) days before initiating the peer-review process by providing a compelling reason.
- Once the review process has been initiated, the corresponding author may request to withdraw the article by providing a letter with an in-depth explanation signed by all authors as to why the manuscript needs to be withdrawn. In this instance, the editor's decision must be

considered as final after thorough consideration and analysis on a case-by-case basis.

Article withdrawal after acceptance;

- Manuscript withdrawn will not be allowed for the accepted article regardless of its stage (author proof, editorial proof, eFirst online publishing, etc.). However, an article in press that has been accepted for publication, regardless of its stage, the EJD maintains the right to withdraw an article due to the presence of plagiarism, multiple submission, fraudulent use of data, or violations of other ethical codes.
- The Article Processing Charge (APC) if paid by the author, will not be refunded.