

Elisabete da Silva Esteves

Eficácia da ozonoterapia tópica na redução da carga bacteriana e tempo de cicatrização em úlceras de etiologia venosa dos membros inferiores



Janeiro 2017

Curso de Mestrado em Enfermagem Médico-cirúrgica,
5ª Edição

Elisabete da Silva Esteves, n.º 4368

**Eficácia da ozonoterapia tópica na redução da carga
bacteriana e tempo de cicatrização em úlceras de
etiologia venosa dos membros inferiores**

Orientação: Professora Doutora Madalena Cunha



Janeiro 2017

Resumo

Contexto: A ozonoterapia é uma terapia utilizada numa vasta área de aplicações clínicas devido às suas propriedades imunológicas, antimicrobianas e capacidade de oxigenação. Dadas as suas propriedades, nas últimas décadas tem sido utilizada no tratamento de úlceras de perna de etiologia venosa.

Objetivo: Determinar a eficácia do uso tópico de ozonoterapia (*bag* de ozono e óleos ozonizados) na redução do tempo de cicatrização, na redução da carga bacteriana e no impacto na qualidade de vida dos utentes portadores de úlceras de etiologia venosa do membro inferior.

Métodos: Foi realizada uma revisão sistemática da literatura sobre estudos que avaliam o efeito da aplicação tópica de ozonoterapia em úlceras de perna de etiologia venosa, publicados entre janeiro de 2000 e novembro de 2016. Foram consultadas as bases de dados eletrónicas PubMed, Ebsco (CINAHL Complete, MedicLatina, Cochrane Database of Systematic Reviews, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Nursing & Allied Health Collection: Comprehensive), Scielo e literatura expressa nos cadernos de resumos dos Congressos Internacionais de Ozonoterapia.

A qualidade dos estudos recuperados foi avaliada por dois revisores com base na “*JBI Critical Appraisal Checklist for Quasi-Experimental Studies*” (2016) e através da “Grelha para avaliação crítica de um artigo descrevendo um ensaio clínico prospetivo, aleatorizado e controlado” de Carneiro (2008). A análise estatística foi realizada com recurso ao programa *RevMan* 5.3.

Resultados: Foram recuperados três estudos com um total de 133 portadores de úlceras venosas, distribuídos em dois grupos, em que os grupos de estudo receberam tratamento convencional combinado com ozonoterapia tópica e os grupos de controlo receberam apenas tratamento convencional. Após meta-análise verificou-se que a ozonoterapia tópica tem influência estatisticamente significativa na cicatrização das úlceras venosas comparativamente aos resultados obtidos pela terapia convencional apenas, exibindo $p < 0.00001$, com IC 95%, OR= 7.28 [3.56-14.89] e heterogeneidade moderada entre os estudos conforme se apura pelo resultado do $X^2=3.83$ ($p= 0.15$) e pelo $I^2= 48\%$.

Verificaram-se resultados relevantes na diminuição do tempo de cicatrização e maior redução dos sinais de infeção nos grupos que receberam ozonoterapia tópica em oposição aos resultados dos grupos que receberam apenas terapia convencional, contudo não foi possível realizar meta-análise destes *outcomes* por não haver dados suficientes nos estudos. A qualidade de vida não foi avaliada em nenhum dos estudos.

Conclusões: A ozonoterapia tópica revela-se pertinente para o tratamento adjuvante das úlceras de perna de etiologia venosa, sobretudo pelos seus efeitos benéficos na cicatrização e controlo da infeção que poderão conduzir à redução dos custos associados ao tratamento e à possível diminuição da morbilidade associada às úlceras de perna, com conseqüente melhoria na qualidade de vida dos utentes.

Palavras-chave: ozonoterapia, úlcera venosa, cicatrização de feridas.

Abstract

Background: The ozone therapy is a therapy used in a wide area of clinical applications due to its immunological, antimicrobial and oxygenation capacity. Given its properties, in the last decades, it has been used to treat venous leg ulcers.

Aim: To determine the efficacy of the topical use of ozone therapy (ozone bag and ozonized oils) in reducing healing time, reducing the bacterial load and the impact on quality of life of venous leg ulcer's patients.

Methods: A systematic literature review of studies evaluating the effect of topical application of ozone therapy in venous leg ulcers has been held for studies published between January 2000 and November 2016. There has been consulted the electronic databases PubMed, Ebsco (CINAHL Complete, MedicLatina, Cochrane Database of Systematic Reviews, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Nursing & Allied Health Collection: Comprehensive), Scielo and literature expressed in the abstracts of the International Ozone Therapy Congresses.

The quality of the studies found has been evaluated by two reviewers based on the "JBI Critical Appraisal Checklist for Quasi-Experimental Studies" (2016) and with the "Critical evaluation scale of a study describing a prospective, randomized and controlled trial by Carneiro (2008). Statistical analysis was performed using the RevMan 5.3 program.

Results: Three studies were retrieved with a total of 133 venous leg ulcer patients, divided into two groups, in which the study groups received conventional treatment combined with topical ozone therapy and the control groups received only conventional treatment. A meta-analysis was performed and it was verified that topical ozone therapy has a statistically significant influence on the healing of venous ulcers compared to the results obtained by conventional therapy alone, showing $p < 0.00001$, with CI 95%, OR= 7.28 [3.56-14.89] and moderate heterogeneity among the studies as shown by $X^2=3.83$ ($p= 0.15$) and $I^2= 48\%$.

Relevant results were observed in decreasing healing time and further reduction of signs of infection in the groups that received topical ozone therapy as opposed to the results of the groups receiving conventional therapy alone, however it was not possible to perform a meta-analysis of these outcomes because there are not enough data in the studies. None of the studies has evaluated the quality of life.

Conclusions: Topical ozone therapy is relevant for the adjuvant treatment of venous leg ulcers, mainly because of its beneficial effects on wound healing and infection control, which may lead to reduction of costs associated with treatment and possible reduction of morbidity associated with venous leg ulcers, with consequent improvement in the quality of life of the patients.

Keywords: ozone therapy, venous leg ulcer, wound healing.

Índice

Lista de Quadros	IX
Lista de figuras e gráficos.....	XI
Lista de siglas	XIII
Introdução	15
PARTE I – ENQUADRAMENTO TEÓRICO	17
1. Úlcera venosa - fisiopatologia	17
1.1. Tratamento da úlcera venosa	18
1.2. Infecção em feridas	19
2. Ozonoterapia.....	23
2.1. Métodos de aplicação de ozono (Tópico/sistémico)	24
2.1.1. Via sistémica	25
2.1.2. Via tópica.....	26
2.2. Contraindicações ao uso da ozonoterapia.....	28
2.3. Qual o interesse/benefícios da ozonoterapia aplicada nas feridas?.....	28
PARTE II – ESTUDO EMPÍRICO	31
3. Metodologia.....	31
3.1. Formulação do problema de investigação	32
3.2. Critérios de inclusão e exclusão	33
3.3. Estratégia de busca.....	34
3.4. Seleção dos estudos	35
3.5. Análise crítica dos estudos.....	36
4. Resultados	41
4.1. Análise dos dados	42
4.1.1. Outcome: Taxa de cicatrização e respetiva meta-análise.....	54
4.1.2. Outcome: Sinais de infeção ou carga bacteriana.....	55
4.1.3. Outcome: Tempo de cicatrização	55
4.1.4. Outcome: Qualidade de vida do utente	56
5. Discussão.....	57
6. Conclusão	63
Referências bibliográficas	65
Anexos.....	71
Anexo I – Pesquisa na base de dados PubMed.....	73

Anexo II – Avaliação crítica dos estudos incluídos no corpus desta RSL	75
Anexo III – Avaliação crítica do estudo excluído da meta-análise	79

Lista de Quadros

Quadro 1 – Resumo dos sinais de infecção localizada superficial e profunda e de infecção sistêmica_____	21
Quadro 2 – Critérios de inclusão e exclusão para a seleção dos estudos _____	33
Quadro 3 - Grelha para a avaliação crítica de um artigo descrevendo um ensaio clínico prospectivo, aleatorizado e controlado de Carneiro (2008) _____	37
Quadro 4 - “ <i>JBI Critical Appraisal Checklist for Quasi-Experimental Studies</i> ” _____	38
Quadro 5 - Níveis de evidência e graus de recomendação terapêutica _____	39
Quadro 6 – Resultados da avaliação crítica dos estudos _____	41
Quadro 7 – Quadro de evidências do estudo Hernández & González (2001) _____	43
Quadro 8 – Quadro de evidências do estudo de Gutiérrez et al. (2009)_____	45
Quadro 9 – Quadro de evidências do estudo de Solovastru et al (2015)_____	48
Quadro 10 – Quadro de evidências do estudo de Ricerca & Sviluppo-Erbagil _____	51
Quadro 11 – Resumo das evidências dos estudos que formam o corpus desta RSL	52
Quadro 12 – Outcome Taxa de cicatrização _____	54

Lista de figuras e gráficos

Figura 1 - Fluxo de informação durante o processo de seleção dos estudos _____ 35

Gráfico 1 – *Forest plot* da comparação Terapia convencional versus ozonoterapia tópica para o outcome: taxa de cicatrização _____ 55

Lista de siglas

AHTM – auto-hemoterapia major

AHTm – auto-hemoterapia minor

IC – intervalo de confiança

IIA – injeção intra-articular

IP – injeção paravertebral

IPTB – índice de pressão tornozelo-braço

IR – insuflação retal

IS – injeção subcutânea

NRCT – *Non randomized controlled trial* (estudo quasi-experimental)

O₂ – oxigênio

O₃ – ozono

OD – *odds ratio*

PI[C]OD – Participantes, Intervenção, Comparação, *Outcomes* e Desenho

RCT – *randomized controlled trial* (estudo randomizado controlado)

RevMan – *Review Manager*

RSL – Revisão sistemática da literatura

SAMR – Stafilococos Áureos Meticilino-Resistente

WAR – *wound área ratio* (ratio da área da ferida)

Introdução

A ozonoterapia consiste na aplicação tópica ou sistémica de uma mistura de oxigénio e ozono médico em baixas doses e é uma terapia utilizada numa vasta área de aplicações clínicas devido às suas propriedades imunológicas, antimicrobianas e capacidade de oxigenação. É, sobretudo uma terapia complementar às terapias convencionais das doenças de base (Schwartz et al., 2010).

O ozono médico consiste numa mistura de 95% de oxigénio medicinal puro e 1-5% de ozono obtido a partir de uma descarga elétrica através de um gerador de ozono e tem uma semivida variável desde 45 minutos até 2 anos consoante o modo de armazenamento (Duarte, 2014).

Dadas as propriedades descritas acima, tem surgido interesse na aplicação da ozonoterapia nas feridas, principalmente nas de difícil cicatrização, em que os métodos convencionais não foram eficazes (Elshenawie, Shalan & Abdelaziz, 2013).

Dentro das feridas de difícil cicatrização encontramos as úlceras venosas do membro inferior, que correspondem à complicação mais importante da evolução da insuficiência venosa crónica e consistem numa perda da integridade da pele devido à incompetência do sistema venoso do membro inferior e consequente aumento da hipertensão venosa (Gracia et al., 2012).

Estas feridas constituem atualmente um importante problema de saúde pública, na medida em que correspondem a cerca de 70% das úlceras de perna e afetam cerca de 1-1.5% da população mundial (Van Gent, Wilschut, & Wittens, 2010), com significativo impacto nas atividades de vida diária dos seus portadores, bem como um encargo financeiro importante para os sistemas de saúde dado o elevado consumo de recursos associado à longa evolução das úlceras venosas e complicações frequentes como as infeções (O'Donnell et al., 2014). Os dados de um estudo realizado em Portugal referem que a taxa de prevalência de úlceras de perna, numa amostra de 263 doentes de uma população de 186,000, foi de 1,41 por 1000 habitantes sendo semelhante no sexo masculino (1,3/1000) e feminino (1,46/1000) (Pina, Furtado, Franks, & Moffatt, 2004).

Neste sentido, considera-se importante conhecer a melhor evidência disponível sobre esta temática pelo que foi delineada a seguinte questão de investigação – “Será a

aplicação tópica de ozonoterapia mais eficaz do que a terapia convencional na redução da carga bacteriana e tempo de cicatrização de úlceras de perna de etiologia venosa?”.

Para esta investigação foram delineados como objetivos os seguintes: determinar a eficácia do uso tópico de ozonoterapia na redução do tempo de cicatrização, na redução da carga bacteriana e avaliar o impacto na qualidade de vida dos utentes portadores de úlceras de etiologia venosa do membro inferior.

Realizou-se então, uma revisão sistemática da literatura sobre a temática referida nos diversos motores de busca científica, nomeadamente, PubMed, Ebsco (CINAHL Complete, MedicLatina, Cochrane Database of Systematic Reviews, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Nursing & Allied Health Collection: Comprehensive), Scielo e literatura expressa nos cadernos de resumos dos Congressos Internacionais de Ozonoterapia.

Foram selecionados estudos randomizados controlados e estudos quasi-experimentais publicados entre janeiro de 2000 e novembro de 2016, os quais foram avaliados segundo os critérios de inclusão e exclusão definidos previamente.

A qualidade dos estudos foi avaliada por dois revisores com base na “*JBI Critical Appraisal Checklist for Quasi-Experimental Studies*” (JBI, 2016) - para os estudos quasi-experimentais - e através da “Grelha para avaliação crítica de um artigo descrevendo um ensaio clínico prospetivo, aleatorizado e controlado” de Vaz Carneiro (2008) – para os estudos randomizados controlados.

O presente relatório encontra-se dividido em duas partes, englobando na primeira o enquadramento teórico da temática, onde se descreve a fisiopatologia da úlcera de membro inferior de etiologia venosa, os critérios de infeção em feridas crónicas e a explanação do que em que consiste a ozonoterapia e a sua aplicabilidade às feridas. A segunda corresponde ao estudo empírico, reunindo a metodologia utilizada, os resultados obtidos, incluindo a meta-análise, a discussão dos resultados, terminando com as conclusões do estudo e as respetivas referências bibliográficas e anexos.

PARTE I – ENQUADRAMENTO TEÓRICO

1. Úlcera venosa - fisiopatologia

A úlcera venosa é definida como a perda da integridade da pele devido à incompetência do sistema venoso do membro inferior, sendo a complicação mais importante da evolução da insuficiência venosa crónica (Gracia et al., 2012).

A fisiopatologia da úlcera venosa não é ainda clara, contudo a teoria mais aceite é que a úlcera venosa surge como consequência da insuficiência venosa dos membros inferiores, ou seja, a presença de disfunção do sistema venoso superficial e/ou profundo e disfunção valvular induz hipertensão venosa e consequente hipoxia tecidual.

A presença de disfunção valvular e hipertensão venosa leva ao aumento da pressão hidrostática do membro inferior, com consequente dilatação venosa e considerável refluxo sanguíneo (devido à incompetência valvular). É ainda aceite que, na presença de hipertensão venosa, a água, sódio, fibrinogénio e glóbulos brancos e vermelhos podem transudar a partir do lúmen dos vasos sanguíneos induzindo danos na pele, como edema, deposição de fibrina, eczema e hiperpigmentação da pele, diminuindo a difusão de oxigénio e outros nutrientes para os tecidos, conduzindo à possibilidade das células se tornarem isquémicas e inativas, levando a uma pele extremamente frágil e suscetível a rutura com o mínimo trauma (Carvalho et al., 2016).

A úlcera de perna de etiologia venosa corresponde a cerca de 70% do total das úlceras de membros inferiores, com uma prevalência de 1-1.5% na população mundial (Van Gent, 2010), estando associadas a uma diminuída qualidade de vida, aumento da morbilidade e mortalidade e importante impacto socioeconómico (O'Donnell et al., 2014). Os dados de um estudo realizado em Portugal referem que a taxa de prevalência de úlceras de perna, numa amostra de 263 doentes de uma população de 186,000, foi de 1,41 por 1000 habitantes sendo semelhante no sexo masculino (1,3/1000) e feminino (1,46/1000) (Pina, Furtado, Franks, & Moffatt, 2004).

Encontra-se amplamente documentado na literatura que os portadores de úlcera venosa do membro inferior experienciam alterações significativas da sua qualidade de vida, sofrendo de dor associada à própria ferida e à realização de tratamento, desconforto devido

ao edema dos membros inferiores e ao odor da própria ferida, bem como diminuição da mobilidade e isolamento social e familiar (Carvalho et al., 2016).

1.1. Tratamento da úlcera venosa

O tratamento “gold-standard” das úlceras de perna de etiologia venosa continua a ser a terapia compressiva com o uso de ligaduras elásticas ou inelásticas, meias compressivas ou compressão pneumática intermitente (O'Meara, Cullum, Nelson, & Dumville, 2012), podendo ser utilizada concomitantemente uma variedade de agentes como os pensos/apósitos primários que fazem a gestão do leito da ferida, agentes desbridantes, terapia fibrinolítica, drogas vasoativas e, se houver infeção presente, terapia antimicrobiana tópica ou sistémica e agentes antissépticos (O'Donnell et al., 2014).

É frequente as úlceras venosas dos membros inferiores evoluírem para situações de cronicidade uma vez que o processo de cicatrização se encontra debilitado, sendo evidente uma fase inflamatória prolongada, defeitos na remodelação da matriz extracelular, formação de radicais livres, inibição da produção de fatores de crescimento e da migração dos queratinócitos (CONUEI, 2009). Uma ferida crónica é definida como uma ferida que não cicatriza no período expectável (usualmente seis semanas), encontrando-se estagnada em qualquer fase do processo cicatricial, geralmente na fase inflamatória (Calianno & Jakubek, 2006).

Outro dado relevante é o facto de estas feridas crónicas extremamente exsudativas constituírem um meio ideal para o crescimento bacteriano e de outros microrganismos patogénicos, o que é comprovado por alguns estudos microbiológicos que sugerem que cerca de 80% a 100% das úlceras de perna podem estar colonizadas por bactérias (O'Meara et al., 2014).

Para que ocorra a cicatrização da lesão é importante que o profissional que cuida do doente domine o conceito de preparação do leito da ferida, nomeadamente o conceito “TIME” – o modelo que sumariza os fatores críticos que influenciam a cicatrização, como a presença de tecido inviável e a necessidade do seu desbridamento, a presença de infeção/inflamação, a gestão do exsudato/ambiente húmido e bordos viáveis para a epitelização (EWMA, 2004) – assim como o conhecimento do processo cicatricial e os seus intervenientes mais relevantes nas diferentes fases de cicatrização – hemóstase, inflamação, proliferação e remodelação (Laureano & Rodrigues, 2011).

Não menos importante do que este conceito é a adequada oxigenação do leito da ferida para que o crescimento do tecido de granulação ocorra de forma sustentada, bem como a resposta imunológica seja possível e eficaz no caso de invasão microbiana (Harriet W. Hopf, 2007).

1.2. Infecção em feridas

De acordo com o que já foi referido anteriormente, as úlceras venosas são lesões extremamente exsudativas e ricas em mediadores de inflamação como citocinas pró-inflamatórias, radicais livres e proteases, associados à presença contínua de neutrófilos e déficit de macrófagos, bem como detritos orgânicos provenientes do metabolismo celular da própria ferida, o que aliado à perda de uma das funções primordiais da pele – a função de barreira – constitui um meio ótimo para a proliferação bacteriana e de outros agentes como os fungos ou vírus. Portanto, conclui-se que a combinação da colonização bacteriana e infecção juntamente com a fase inflamatória prolongada são fatores importantes que contribuem para a cronicidade da ferida.

O diagnóstico de infecção em feridas é essencialmente clínico, realizado com base em sinais e sintomas em torno do leito da ferida ou estruturas mais profundas e da pele circundante (Sibbald, Woo, & Ayello, 2006).

Os sinais clínicos clássicos de infecção são descritos como dor localizada e tumefação, rubor da pele circundante, exsudato purulento, odor desagradável, e uma contagem de bactérias superior a 10^5 unidades formadoras de colónias por ml de tecido para as feridas agudas (Landis, 2008) e para as feridas crónicas são descritos sinais como aumento da dor e do exsudato, descoloração do tecido de granulação, cheiro fétido e deterioração da ferida (EWMA, 2005).

A infecção em feridas encontra-se amplamente estudada na literatura, importando referir que todas as feridas crónicas estão contaminadas ou colonizadas por bactérias e o que vai definir a infecção prende-se com a capacidade de resistência do hospedeiro e com a virulência do microrganismo (Sibbald et al., 2006). Apresenta-se de seguida uma clarificação dos conceitos relativos ao *continuum* da infecção nas feridas, nomeadamente:

- Contaminação – refere-se à simples existência de bactérias na ferida, geralmente bactérias da própria flora do resto da pele sem replicação bacteriana (flora endógena do paciente).

- Colonização – situação em que há proliferação bacteriana sem haver necessidade de resposta do hospedeiro. Não há evidência de invasão dos tecidos mais profundos e a ferida tem condições para cicatrizar.
- Colonização crítica – corresponde ao primeiro sinal de aumento da carga bacteriana com necessidade de resposta do hospedeiro, com presença de inflamação crônica, atrofia e deterioração da granulação, aumento do exsudado e com aumento de friabilidade do leito da ferida. Geralmente atinge apenas o compartimento superficial da ferida.
- Infecção – é definida como o ponto em que se dá a invasão bacteriana do compartimento profundo, ocorrendo quando a proliferação bacteriana ultrapassa a capacidade de resistência do hospedeiro e depende do volume bacteriano, da virulência dos microrganismos, da sinergia entre estirpes, da presença de má perfusão ou de corpos estranhos na ferida. Estando invadidos os tecidos profundos, a infecção pode facilmente aceder à corrente sanguínea e tornar-se sistêmica (Landis, 2008).

Os autores Sibbald, Woo, & Ayello (2006) defendem que a infecção em feridas não se verifica somente nos tecidos profundos do leito da ferida, podendo ser também superficial. Estes foram os instigadores do Modelo compartimental, defendendo que a infecção pode ocorrer tanto no compartimento superficial como profundo e o tratamento da infecção deve ser dirigido consoante o compartimento afetado, pelo que, com o intuito de sistematizar a abordagem da infecção nas feridas criaram duas mnemónicas para sistematizar os sinais clínicos de infecção superficial e profunda – NERDS e STONES, que serão abordadas no quadro 1.

Os mesmos autores (Sibbald, Woo, & Ayello, 2006) defendem que quando a infecção do compartimento superficial não é controlada poderá evoluir para o compartimento profundo e poderão surgir infeções mais graves dos tecidos circundantes, como celulite, osteomielite, bacteriemia ou sépsis, pelo que adicionaram ao seu modelo o conceito de infecção sistêmica (quadro 1).

Assim, como proposta de tratamento da infecção do compartimento superficial devem ser considerados antimicrobianos tópicos, na infecção do compartimento profundo e deve ser usada uma combinação de antimicrobianos tópicos e sistémicos. No caso da infecção sistêmica devem ser usados antimicrobianos tópicos e sistémicos intravenosos dirigidos ao agente agressor após a sua identificação por meio de hemoculturas (Ousey & McIntosh, 2009).

Quadro 1 – Resumo dos sinais de infecção localizada superficial e profunda e de infecção sistêmica

Sinais NERDS	Sinais STONES	Sinais Infecção Sistêmica
Não cicatrização da ferida (Nonhealing wounds)	Aumento do tamanho da ferida (S ize is bigger)	Febre
Exsudado (Exsudative wounds)	Aumento da T emperatura no leito da ferida (Temperature is increased)	Rigidez
Tecido de g Ranulação friável (R ed and bleeding wound surface granulation tissue)	O steomielite/ Extensão da ferida até ao Osso (Osteomyelitis or exposed bone)	Hipotermia
D etritos amarelos ou tecido necrótico sobre a superfície da ferida (Debris yellow or black necrotic tissue on the wound surface)	Deterioração da ferida com formação de N ovas áreas satélite (New or satellite areas of breakdown)	Hipotensão
Cheiro S ou odor desagradável (S mell or unpleasant odor from the wound)	E xsudado/ E dema/ Eritema (Exudate/Erythema/ Edema)	Falência multiorgânica
	Cheiro S (S mell)	

Fonte: Sibbald, R. G., Woo, K., & Ayello, E. A. (2006). Increased bacterial burden and infection: the story of NERDS and STONES. *Adv Skin Wound Care*, 19 (8), p. 460.

Para fazer o diagnóstico de infecção é necessário que a ferida apresente pelo menos três dos sinais num dos níveis. Ou seja, se a ferida apresentar 3 ou mais dos 5 sinais NERDS, está comprometido o compartimento superficial; se a ferida apresentar 3 ou mais dos 7 sinais STONES, está comprometido o compartimento profundo (Sibbald et al., 2006).

Os microrganismos Gram-positivos são, geralmente os primeiros a invadir uma ferida seguidos dos Gram-negativos e das espécies anaeróbias. Os Estafilococos Áureos Meticilino-Resistente (SAMR) são exemplos de bactérias Gram-positivas e as bactérias como as Pseudomonas e Klebsiella, são microrganismos Gram-negativos. Estes agentes têm merecido relevante atenção devido à sua conhecida resistência aos vários agentes antimicrobianos (El Aziz, Eweda, El-Gamil & Kholosy, 2015).

As úlceras venosas crônicas habitualmente contêm uma flora poli-microbiana aeróbica e anaeróbica complexa (Landis, 2008).

2. Ozonoterapia

Apesar de todo este conhecimento e do desenvolvimento de apósitos e materiais cada vez mais inovadores para o tratamento de feridas e para o tratamento das úlceras venosas em particular, continuam a haver úlceras de perna de etiologia venosa que não cicatrizam, pelo que, quando as terapias convencionais não estão a ser eficazes é importante explorar as alternativas às mesmas.

Nas últimas décadas tem surgido interesse em estudar a ozonoterapia e a sua aplicação no tratamento de feridas pelo que se considera importante explorar as evidências científicas disponíveis verificando a sua validade ou não.

A ozonoterapia tem sido utilizada e estudada há várias décadas, com comprovados efeitos benéficos para a saúde do ser humano e com efeitos secundários mínimos. Na verdade, o ozono médico consiste numa mistura de 95% de oxigénio medicinal puro e 1-5% de ozono obtido a partir de uma descarga elétrica através de um gerador de ozono e tem uma semivida de 45 minutos a uma temperatura de 20 °C (Duarte, 2014).

O ozono é uma forma alotrópica de oxigénio com três átomos de oxigénio ligados entre si, tendo sido registada na literatura a sua existência pela primeira vez em 1785 pelo químico holandês Mak Van Marumom e sintetizado em laboratório pela primeira vez em 1840 pelo químico alemão Christian Friedrich Schoenbein. O primeiro gerador de ozono foi patenteado em 1896 nos Estados Unidos da América pelo conhecido inventor Nikola Tesla (Elvis & Ekta, 2011).

O ozono médico é usado para desinfeção e tratamento de águas e tratamento de infeções, doenças e feridas há mais de 150 anos. Foi usado durante a 1ª Guerra Mundial (1914-1918) para desinfetar as feridas dos soldados alemães (Elvis & Ekta, 2011).

O ozono é considerado um potente oxidante contudo, assim como outros gases ou medicamentos pode ter efeito ambivalente - tóxico ou benéfico para o organismo, comportando-se como uma substância hormética, isto é, tem efeitos opostos em doses altas e em doses baixas. Portanto, se for usado em doses e concentrações baixas vai induzir uma resposta adaptativa benéfica para o organismo (Valacchi, Fortino, & Bocci, 2005). Este conceito é partilhado por outros autores, reportando que em organismos vivos, a administração de pequenas doses de uma substância potencialmente perigosa ou tóxica de

forma unitária ou repetida vai incrementar a sua capacidade de autorregulação, ou por outras palavras, a exposição a um moderado stresse oxidativo estimula os mecanismos de defesa das células e órgãos tornando-se biologicamente útil (Viebahn-Hansler, Fernandez, & Fahmy, 2012).

Reconhece-se que a ozonoterapia é capaz de exercer efeitos terapêuticos como a melhoria da oxigenação corporal, a erradicação dos produtos tóxicos do metabolismo celular e aperfeiçoamento dos mecanismos de defesa imunológica do organismo (Cepero, Moraleda, Noci, Soler, & Re, 2015).

2.1. Métodos de aplicação de ozono (Tópico/sistémico)

O ozono médico pode ser aplicado pelas vias tópica ou sistémica de forma independente ou combinadas entre si de forma a obter um efeito sinérgico. Poderá também ser utilizado como tratamento por si só ou como tratamento complementar se associado a outras terapias convencionais (Schwartz et al., 2010).

De seguida serão descritas as várias vias de aplicação terapêutica de ozono segundo as diretivas da “Declaração de Madrid sobre ozonoterapia” (Schwartz et al., 2010). Este documento de consenso internacional resume os métodos e procedimentos estandardizados pelos principais peritos internacionais em ozonoterapia. Este documento foi elaborado pela primeira vez em 2010 durante o Encontro Internacional de Escolas de Ozonoterapia em Madrid, tendo sido assinado por 26 associações nacionais e internacionais de ozonoterapia e atualmente encontra-se sob alçada do Comité Científico Internacional de Ozonoterapia (ISCO₃) que tem a tarefa de manter o documento atualizado em conformidade com os mais recentes desenvolvimentos científicos advindos da pesquisa científica sobre o uso da ozonoterapia. Atualmente este documento encontra-se assinado por 38 associações nacionais e federações internacionais de África, América, Ásia e da Europa, estando traduzido em 12 línguas (Schwartz et al., 2010). A Sociedade Portuguesa de Ozonoterapia assinou esta declaração em 2013 e a mesma encontra-se também traduzida para a língua portuguesa.

Em Portugal, o Ministério da Saúde inclui a ozonoterapia como tratamento reconhecido pelo Serviço Nacional de Saúde, encontrando-se regulamentada como terapia médica de acordo com a publicação da Portaria nº 20/2014 de 29 de janeiro.

2.1.1. Via sistêmica

- **Auto-hemoterapia major (AHTM)** – está indicada como tratamento complementar de várias doenças como distúrbios arteriais circulatórios (doença arterial periférica, status pós-acidente vascular cerebral, retinopatia, angiopatia diabética, perda aguda de audição), síndrome de fadiga crônica, fibromialgia e algumas doenças virusais. São colhidos cerca de 50-100 ml de sangue venoso do utente, sob condições assépticas rigorosas para dentro de um frasco de vácuo com citrato de sódio como anticoagulante, onde o médico faz a mistura do sangue com o ozono médico para depois ser reinfundido ao utente através de um sistema de perfusão livre de pressão. O sistema de perfusão deve ser certificado e livre de PVC ou outras substâncias conhecidas por reagir com o ozono. As concentrações médias de ozono usadas em AHTM variam entre 10 a 40 µg por mililitro (ml) de sangue e têm-se mostrado capazes de ativar o metabolismo celular e efeito imuno-modulador e regulador dos antioxidantes intracelulares (Schwartz et al 2010).
- **Auto-hemoterapia minor (AHTm)** – é usada como uma terapia estimulante imunitária não específica, apropriada para *acne vulgaris*, alergias e como terapia adjuvante nas doenças cancerígenas. Na AHTm são colhidos cerca de 2-5 ml de sangue do utente, sob condições assépticas, e colocados numa seringa de 30 ml descartável estéril contendo já uma mistura de 10 ml de ozono-oxigênio, onde é misturado intensamente agitado, sendo depois lentamente reinjetado ao utente por via intramuscular na região ventroglútea. As concentrações de ozono a usar variam de 5-20 µg/ml (Viebahn-Hansler, 2012).
- **Insuflação rectal (IR)** - Esta foi uma das primeiras formas de aplicação de ozonoterapia estando atualmente a ser usada cada vez mais frequentemente como uma forma terapêutica sistêmica, e já sendo vista como uma alternativa à AHTM. É o método de escolha em pediatria. Está indicada como tratamento local de colite ulcerosa, proctite, fístula e fissura anal e para o tratamento sistémico das mesmas situações indicadas para a AHTM, para Hepatite B e C e para imuno-modulação (método complementar em oncologia). Um conjunto para insuflação rectal engloba um recipiente para fornecimento de ozono com válvula de bloqueio, um saco de dosagem com válvulas não retorno, um tubo de ligação com encaixe Luer ou seringa descartável de 50 ml revestida a silicone e o cateter rectal. As dosagens a implementar variam entre os 10-30 µg/ml em volumes de 100-150 ml para efeitos sistémicos e altas concentrações de O₃/O₂ (30-60 µg/ml) em pequenos volumes (50 ml) para o tratamento local (Viebahn-Hansler, 2012).
- **Injeção subcutânea (IS)** – indicada para controlo da dor, usada em *trigger points* de acupuntura e Herpes zoster (Schwartz et al 2010).

- **Injeção paravertebral (IP), intrarticular (IA) e intramuscular (IM)** - representam um tratamento complementar em dor aguda e crónica, proporcionando um alívio rápido, descongestionamento, redução da inflamação e melhoria da mobilidade. Envolve principalmente o joelho, o ombro articulações que apresentam sintomas patológicos crónicos como artroses e artropatias (Schwartz et al, 2010).

2.1.2. Via tópica

A aplicação tópica de ozono é já usada desde a I Guerra Mundial pelo seu poder de desinfeção e controlo do odor. Está indicada para uma grande variedade de feridas agudas e crónicas como queimaduras, úlceras por pressão, úlceras de membro inferior venosas ou arteriais e pé diabético, assim como em lesões da cavidade oral (Viebahn-Hansler, 2012). Pode ser aplicada via:

- **Imersão transcutânea de ozono** – especialmente indicado para os membros inferiores e consiste na aplicação transcutânea de ozono gasoso através da insuflação de um saco de plástico ozono-resistente selado (conhecido com *bag* de ozono ou ensacado de ozono) ou de uma bota de baixa-pressão especialmente desenhada para o efeito (bota de Rokitansky) ou através de ventosa de ozono. As concentrações a usar variam de 60-40-30-20 ug/ml por períodos de 20 a 30 minutos, dependendo da fase e da evolução da lesão. Poderão usar-se concentrações de 60-70 ug/ml em feridas purulentas. Assim que a infeção é controlada e o tecido de granulação saudável começa a surgir, a indicação é reduzir a concentração e o tempo das sessões, a fim de apoiar a cicatrização fazendo uso da capacidade de imuno-modulação e estimulação metabólica do ozono (Schwartz et al, 2010).
- **Água ozonizada** - É aplicada em feridas, úlceras e várias lesões infetadas em concentrações diferentes: alta, média e baixa, dependendo do que se pretende alcançar (desinfetar ou regenerar) e do tipo de tecido onde a mesma será aplicada (Schwartz et al, 2010). Assim que contacta com os tecidos a água ozonizada reage imediatamente, tendo uma semivida de cerca 10 horas à temperatura ambiente e se refrigerada pode durar vários dias. Casos de sobredosagem não são possíveis dado que a dose é limitada pela solubilidade do ozono em água (cerca de 24ug/ml em água bidestilada). A água ozonizada é indicada para o alívio da dor, para desinfeção e para obter efeitos anti-inflamatórios em lesões agudas e crónicas com e sem infeção. Tem sido aplicada com sucesso crescente no intraoperatório e na medicina dentária particularmente em cirurgia oral, sobretudo para desinfeção (Viebahn-Hansler, 2012).

- **Óleo ou creme ozonizado** – O creme ou óleo ozonizado obtém-se por borbulhamento de uma mistura de ozono-oxigênio em óleo vegetal à temperatura ambiente até este solidificar, seguindo um protocolo estrito. São utilizados no tratamento de longo termo de feridas traumáticas, queimaduras, e infecções locais, tais como micoses da pele e das unhas, bem como no tratamento de feridas crônicas como úlceras por pressão, úlceras arteriais ou úlceras venosas do membro inferior. Ao contactar com os tecidos fornece uma libertação sustentada de ozono e não só previne a infeção como também estimula a reconstrução de tecidos favorecendo o processo cicatricial. Tem uma semivida de 6 meses a 1 ano à temperatura ambiente e se refrigerados podem durar vários anos (Schwartz et al., 2010).

Atualmente recomenda-se que as concentrações terapêuticas de ozono variem de 5 a 60 ug/ml. Estas dosagens aplicam-se às técnicas locais e sistêmicas. Porém não deve ser esquecido que cada via de aplicação tem uma dosagem mínima e máxima, bem como devem ser geridos a concentração e o volume a administrar (Schwartz et al., 2010).

É também relevante referir que a dose deve ser escalonada, isto é: iniciar o tratamento sempre com doses baixas e aumentá-las gradualmente. A exceção será em úlceras ou feridas infetadas, em que o inverso será mais adequado (começar com uma concentração elevada e diminuí-la de acordo com a melhoria na condição do paciente (Schwartz et al., 2010).

Todas as dosagens terapêuticas são divididas em três tipos, de acordo com o seu mecanismo de Acção:

a) Doses baixas: têm um efeito imuno-modulador e são usadas nas doenças em que existe a suspeita de que o sistema imunológico está comprometido.

b) Doses médias: são imuno-moduladoras e estimulam o sistema enzimático de defesa antioxidante. São mais úteis em doenças degenerativas crônicas, tais como diabetes, aterosclerose, doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), doença de Parkinson, Alzheimer e demência senil.

c) Doses elevadas: São utilizadas principalmente em úlceras ou lesões infetadas através de água ou óleos ozonizados. De realçar que a ozonização de óleos não deve ser produzida com um gerador de ozono médico comum, pois existe risco de produção de várias substâncias muito tóxicas que se podem difundir nos tubos de alta tensão para o ar circundante. Apenas podem ser usados geradores com válvula de corte a saída do ozono e geralmente em ambiente industrial controlado (Schwartz et al., 2010).

2.2. Contraindicações ao uso da ozonoterapia

Ter em atenção as contraindicações ao uso da ozonoterapia é particularmente importante para a terapia sistémica pois deve ser tido em conta o estado clínico do utente e o risco associado à ozonoterapia em cada caso.

Além disso, as seguintes situações impedem ou limitam a sua utilização:

- Portadores de favismo, que é uma doença hemolítica observado em algumas pessoas com um défice significativo da enzima G-6PD. Esta enzima proporciona equivalentes redutores capazes de suprimir a oxidação excessiva e a hemólise.
- Gravidez, particularmente no primeiro trimestre, para excluir o risco mutagénico, embora, de acordo com grande número de estudos pré-clínicos em animais, é uma situação muito improvável.
- Hipertiroidismo não controlado.
- Trombocitopenia e outros distúrbios da coagulação não controlados.
- Instabilidade cardiovascular (Cepero, 2015, p.39).
- A via inalatória não é usada dado que há risco de provocar inflamação e congestão da via aérea, nomeadamente edema pulmonar e alterações estruturais das células ciliadas pulmonares (Bocci, Zanardi, & Travagli, 2011).

2.3. Qual o interesse/benefícios da ozonoterapia aplicada nas feridas?

Consoante a dose empregue, o ozono pode atuar como imuno-modulador possuindo também propriedades bactericida, virucida, fungicida e é capaz de estimular a regeneração de tecidos e promover a cicatrização de feridas e lesões da pele. Por outro lado, tem a capacidade de suplementar os tecidos com oxigénio, uma vez que o ozono ao reagir com os ácidos gordos insaturados das membranas celulares forma uma série de substâncias que atuam sobre a oxi-hemoglobina e libertam oxigénio, produzindo assim um aumento deste nos tecidos (Valacchi et al., 2005).

O grande interesse do uso da ozonoterapia para a cicatrização das úlceras de perna de etiologia venosa prende-se sobretudo com a sua capacidade em eliminar os microrganismos patogénicos frequentemente presentes neste tipo de feridas crónicas e também com a maior disponibilidade de oxigénio nos tecidos que ativa a proliferação de fibroblastos que, por sua vez vão construir a matriz extracelular proporcionando a migração

e proliferação dos queratinócitos e subsequente epitelização da ferida (Travagli, Zanardi, Valacchi, & Bocci, 2010).

Uma vez que é reconhecida a ameaça do aumento das resistências microbianas devido ao uso recorrente dos antimicrobianos sistêmicos a utilização de agentes antimicrobianos tópicos tem sido legitimada como uma alternativa viável, contudo também é reconhecido que os antibióticos tópicos podem não penetrar suficientemente na ferida infetada e os doentes estão suscetíveis a alergias ou dermatites secundárias a este tratamento (Elshenawie, 2013).

Por sua vez, já foi observado que úlceras expostas diariamente a moderadas concentrações de ozono, através da sua aplicação tópica, induz melhoria da cicatrização das feridas da maioria dos utentes precisamente pelas suas vantagens de aprimoramento da oxigenação dos tecidos e beneficiação da resposta inflamatória (Burgassi, Zanardi, Travagli, Montomoli, & Bocci, 2009).

Relativamente à sua capacidade bactericida, virucida e fungicida, ela não foi verificada a nível sistémico pois estes agentes patogénicos encontram-se protegidos pelo sistema antioxidante endógeno do plasma. Por outro lado, verifica-se que o ozono utilizado topicamente pode ser um excelente desinfetante para infeções cutâneas e mucosas desde que o tratamento seja realizado diariamente de forma a manter a exposição a concentrações moderadas de ozono por mais tempo, o que é conseguido através do uso das preparações tópicas (Burgassi et al., 2009).

Outro dado importante relativo à ozonoterapia para o tratamento de feridas é a sua ação na diminuição da concentração local dos mediadores bioquímicos que intervêm na dor como as quininas, histamina ou bradicinina, permitindo uma ação anti-inflamatória e analgésica (Gonzalez, 2012).

PARTE II – ESTUDO EMPÍRICO

3. Metodologia

Perante um tema tão abrangente como a ozonoterapia e o tratamento de úlceras de etiologia venosa do membro inferior é importante esclarecer a melhor evidência científica disponível para melhor basear a prática clínica. Neste sentido, considera-se que a revisão sistemática da literatura é o método mais adequado para esta temática dado tratar-se de um tipo de investigação focada numa questão de investigação bem definida, procurando identificar, selecionar, avaliar e sintetizar as evidências relevantes disponíveis (Galvão e Pereira, 2014).

Uma revisão sistemática da literatura deve ser abrangente e não tendenciosa, elaborada com critérios previamente estabelecidos, para que outros investigadores possam reproduzir a pesquisa e procurando dar resposta a uma questão de investigação, minimizando os vieses dos estudos de modo a obter os resultados mais fiáveis (Higgins & Green, 2011).

De modo a sistematizar a evidência científica relativa à eficácia da aplicação da ozonoterapia tópica na redução da carga bacteriana e tempo de cicatrização de úlceras de perna de etiologia venosa realizou-se um estudo com base nos princípios metodológicos de uma revisão sistemática da literatura segundo as orientações do Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (Higgins & Green, 2011). Foram seguidos os passos sugeridos pelos autores, nomeadamente: formulação do problema de investigação; localização e seleção dos estudos; avaliação crítica dos estudos; colheita de dados; análise e apresentação dos dados; interpretação dos resultados e aperfeiçoamento e atualização da revisão.

Espera-se que, seguidas estas orientações seja possível identificar os principais estudos que permitam responder à questão de investigação.

3.1. Formulação do problema de investigação

Tendo em conta os pressupostos teóricos da temática, a questão de investigação foi elaborada seguindo o método PI[C]OD sugerido por (Higgins & Green, 2011):

“Será a aplicação tópica de ozonoterapia mais eficaz do que a terapia convencional na redução da carga bacteriana e tempo de cicatrização de úlceras de perna de etiologia venosa?”

Para esta investigação foi delineado como objetivo principal determinar a eficácia do uso tópico de ozonoterapia na redução do tempo de cicatrização e na redução da carga bacteriana. Como objetivo secundário delimitou-se avaliar o seu impacto na qualidade de vida dos utentes portadores de úlceras de etiologia venosa do membro inferior.

Com base nestes objetivos foram definidos os *outcomes* a avaliar no estudo, nomeadamente:

- *Outcomes* primários - Taxa de cicatrização da úlcera venosa; sinais de infeção ou carga bacteriana;
- *Outcomes* secundários – Tempo de cicatrização e qualidade de vida do utente.

Realizou-se uma primeira pesquisa da literatura no motor de busca Google Académico procurando identificar os termos mais usados nos artigos científicos relativos a este tema, de forma a definir as palavras-chave preliminares do estudo, tendo sido identificadas as palavras *“ozone therapy”, “venous leg ulcer”, “wound healing”* e *“wound infection”*.

Posteriormente, através da base de dados eletrónica *MeSH Browser*, foi confirmado se estas palavras constituíam descritores MeSH e quais os descritores mais relevantes para a pesquisa, verificando-se os seguintes termos:

“Leg ulcer” [MeSH Terms]
"Varicose veins" [MeSH Terms]
"Varicose ulcer" [MeSH Terms]
"Ozone" [MeSH Terms]
"Therapeutic uses" [MeSH Terms]
"Wound healing" [MeSH Terms]
"Re-epithelialization" [MeSH Terms]
"Granulation tissue" [MeSH Terms]
"Bacterial load" [MeSH Terms]

"Pain" [MeSH Terms]

"Quality of Life" [MeSH Terms]

3.2. Critérios de inclusão e exclusão

De forma a limitar os estudos a considerar para esta revisão sistemática da literatura foram definidos critérios de inclusão e exclusão com base na questão PI[C]OD.

Assim, os critérios de inclusão para este estudo são: estudos randomizados controlados (RCT), estudos quasi-experimentais (NRCT) ou revisões sistemáticas da literatura (RSL) alusivos ao tema da ozonoterapia tópica em úlceras venosas, em que os participantes sejam adultos (idades acima dos 18 anos), portadores de úlceras de etiologia venosa do membro inferior que poderão ter sinais de infeção local, apenas realizados em humanos. Serão consideradas apenas publicações em português, inglês e espanhol por motivos de limitação linguística dos investigadores.

Os critérios de exclusão deste estudo foram limitados aos portadores de úlceras de membro inferior de etiologia arterial, mista ou pé diabético, com idade inferior a 18 anos, a estudos realizados em animais ou *in vitro*, à aplicação sistémica de ozono, a desenhos de investigação que não sejam RCT, NRCT ou RSL e a publicações em línguas diferentes das enunciadas anteriormente.

No quadro seguinte poder-se-á observar um resumo dos critérios de inclusão e exclusão com base na questão de investigação (PI[C]OD).

Quadro 2 – Critérios de inclusão e exclusão para a seleção dos estudos

Critérios de seleção	Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Participantes	Portadores de úlceras de etiologia venosa do membro inferior Adultos (idade > 18 anos) Sinais de infeção local Humanos	Portadores de úlceras de membro inferior de etiologia arterial, mista ou pé diabético Idade inferior a 18 anos Estudos realizados em animais ou <i>in vitro</i>
Intervenções	Ozonoterapia tópica como explicado na página 24 (<i>bag</i> de O ₃ , água ou óleo ozonizado)	Ozonoterapia sistémica conforme explicado na página 23 (AHTM, AHTm, IR, IJ, IP e IIA).
Comparações	Comparar ozonoterapia tópica com tratamento convencional (apósitos e antimicrobianos tópicos) Comparar ozonoterapia tópica com tratamento convencional ou com tratamento placebo Comparar ozonoterapia tópica com qualquer outro tratamento não convencional	Todos os estudos que não façam a comparação dos critérios de inclusão
Outcomes	Taxa de cicatrização Sinais de infeção ou carga bacteriana Tempo de cicatrização Qualidade de vida do utente	Todos os estudos que não investiguem as variáveis de inclusão

Desenho	Estudos experimentais e quasi-experimentais RSL com e sem metanálise Publicações em português, inglês e espanhol	Outros desenhos diferentes dos de inclusão Publicações em línguas diferentes das enunciadas
---------	--	--

3.3. Estratégia de busca

A estratégia de busca foi definida tendo em conta os descritores MeSH e termos livres conjugados com os operadores booleanos.

Foram aplicados limites relativamente ao idioma de publicação, sendo apenas selecionados artigos em língua portuguesa, espanhola e inglesa e foram apenas selecionados estudos realizados em humanos adultos (idade > 18 anos).

Realizou-se então, uma revisão sistemática da literatura sobre a temática referida nas diversas bases de dados científicas, nomeadamente, PubMed, Ebsco (CINAHL Complete, Cochrane Database of Systematic Reviews, Cochrane Central Register of Controlled Trials, MedicLatina, Nursing & Allied Health Collection: Comprehensive), Scielo e literatura expressa nos cadernos de resumos dos Congressos Internacionais de Ozonoterapia.

A estratégia de pesquisa foi realizada inicialmente na Pubmed e pode ser consultada no anexo I deste documento. Esta estratégia foi adaptada para as diferentes bases de dados selecionadas.

Foram selecionados estudos publicados entre janeiro de 2000 e novembro de 2016, os quais foram avaliados segundo os critérios de inclusão e exclusão previamente definidos. Optou-se pela inclusão de um período temporal mais abrangente dado não existirem outras revisões sistemáticas da literatura sobre esta temática e também porque ao definir um limite temporal mais reduzido poder-se-ia excluir estudos relevantes para esta revisão.

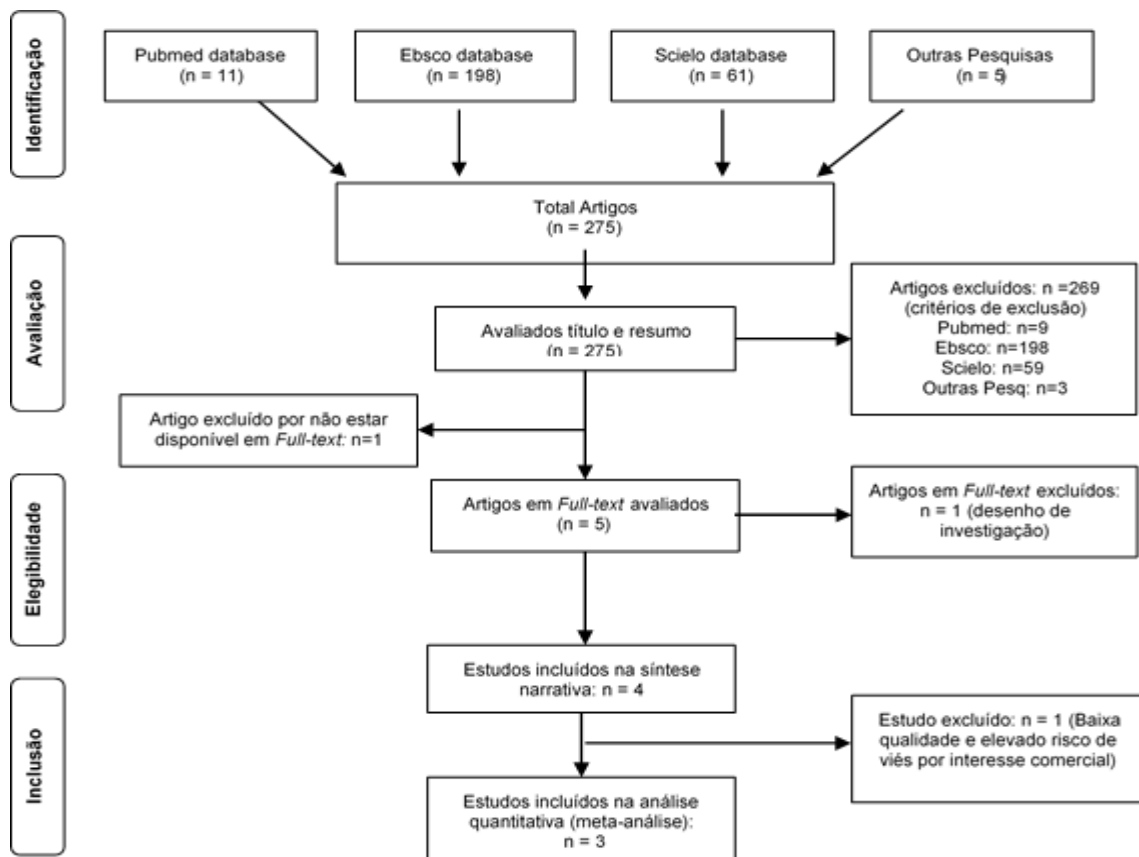
3.4. Seleção dos estudos

A seleção dos estudos foi realizada por dois investigadores que decidiram após consenso quais os estudos a incluir seguindo os critérios previamente definidos.

Por fim, foi analisada a lista das referências bibliográficas de todos os estudos identificados para extrair estudos adicionais, tendo sido recuperados mais dois artigos por esta via.

Durante o processo de pesquisa foram inicialmente obtidos 275 estudos, que após a sua avaliação com base no título e resumo e tendo em conta os critérios de inclusão e exclusão foram excluídos 269 estudos. Foram avaliados em *full-text* 5 estudos, sendo um deles excluído por não cumprir o critério do desenho de investigação. Foi excluído um artigo por não se ter consigo recuperar em *full-text* mesmo após contato com o autor do mesmo. Foram então incluídos na síntese narrativa 4 estudos sendo que um deles, após avaliação crítica foi considerado de baixa qualidade e por estar publicado apenas no *site* da empresa que comercializa o produto em estudo foi excluído da meta-análise por apresentar elevado risco de viés (baixa qualidade e interesse comercial). Foram incluídos na meta-análise três estudos conforme se pode verificar na figura 1.

Figura 1 - Fluxo de informação durante o processo de seleção dos estudos



Os estudos incluídos foram catalogados como S1, S2, S3 e S4 de forma a facilitar a sua integração nas tabelas de análise que serão elaboradas no decorrer do estudo:

- **S1** – Hernández, O. D., & González, R. C. (2001). Ozonoterapia en úlceras flebostáticas. *Revista Cubana de Cirugía*, 40, 123-129.
- **S2** – Gutiérrez, J. A. V., Díaz, N. P., Montequín, Z. F., Negrín, J. S., & Arias, A. M. (2009). Aceite ozonizado: alternativa efectiva para las úlceras varicosas de miembros inferiores en Atención Primaria. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 13, 18-24.
- **S3** – Solovastru, L. G., Stincanu, A., De Ascentii, A., Cappare, G., Mattana, P., & Vata, D. (2015). Randomized, controlled study of innovative spray formulation containing ozonated oil and alpha-bisabolol in the topical treatment of chronic venous leg ulcers. *Adv Skin Wound Care*, 28 (9), 406-409. Doi: 10.1097/01.ASW.0000470155.29821.ed.
- **S4** - Ricerca & Sviluppo-Erbagil. (?). Valutazione dell'efficacia di Rigenoma spray® e crema® a base di Ozoile® (ozono topico stabilizzato in acido oleico con vitamina e acetato) nel processo di riparazione tessutale di lesioni croniche cutanee dermo-epidermiche ad eziologia venosa. Acesso em 10/11/2016, <http://www.erbagil.com/it/ozoile-in-rigenoma-spray.php>.

3.5. Análise crítica dos estudos

Carneiro (2008, p.31), explica que o processo de

“...Avaliação crítica da evidência científica consiste em analisar e classificar os estudos em termos da sua validade, da sua importância e da sua aplicabilidade clínica, para a inclusão (ou exclusão) da informação assim obtida como complemento na decisão final sobre o doente (dependendo do grau de confiança que se deposita na estrutura metodológica dos estudos).”

Após a seleção dos estudos a incluir no *corpus* desta revisão, foi realizada a avaliação crítica dos mesmos com base em dois instrumentos, nomeadamente a grelha para a avaliação crítica de um artigo descrevendo um ensaio clínico prospetivo, aleatorizado e controlado de Carneiro (2008) e para os ensaios clínicos não aleatorizados a “*JBI Critical Appraisal Checklist for Quasi-Experimental Studies*” (The Joanna Briggs Institute [JBI], 2016).

Para a avaliação crítica dos RCT's e, de acordo com Carneiro (2008), a cada de uma das questões metodológicas das grelhas de análise deve ser atribuída um dos quatro tipos de respostas possíveis, nomeadamente: sim, pouco claro/possivelmente, não ou não aplicável e a cada uma destas respostas é atribuído um valor numérico de 2, 1 ou 0.

No final, cada estudo é classificado através de um score, composto pela soma de todos os scores atribuídos às questões individuais, regularizado para o número de questões aplicáveis ao estudo específico, sendo a classificação final a razão entre o score total e o score máximo aplicável

Quadro 3 - Grelha para a avaliação crítica de um artigo descrevendo um ensaio clínico prospetivo, aleatorizado e controlado de Carneiro (2008)

VALIDADE DOS RESULTADOS	S	?	N	n/a
1. A gama de doentes foi bem definida?	2	1	0	n/a
2. O diagnóstico da doença estava bem caracterizado?	2	1	0	n/a
3. Os critérios de inclusão e exclusão são lógicos e claros?	2	1	0	n/a
4. Os doentes foram aleatorizados?	2	1	0	n/a
5. A aleatorização foi ocultada?	2	1	0	n/a
6. Os doentes foram analisados nos grupos para os quais tinham sido aleatorizados inicialmente (intenção de tratar)?	2	1	0	n/a
7. O método de aleatorização foi explicado?	2	1	0	n/a
8. A dimensão da amostra foi estatisticamente calculada?	2	1	0	n/a
9. Os doentes nos grupos em comparação eram semelhantes em termos dos seus fatores de prognóstico conhecidos?	2	1	0	n/a
10. Com exceção do tratamento em estudo, todos os doentes foram tratados da mesma maneira?	2	1	0	n/a
11. Foi ocultado aos doentes o grupo a que pertenciam?	2	1	0	n/a
12. Foram ocultados aos investigadores os grupos em estudo?	2	1	0	n/a
13. Foram ocultados aos analisadores dos dados os grupos em estudo?	2	1	0	n/a
14. O seguimento (<i>follow-up</i>) final superior a 80%?	2	1	0	n/a
IMPORTÂNCIA DOS RESULTADOS				
15. A dimensão do efeito terapêutico (RRR, RRA, NNT) foi importante?	2	1	0	n/a
16. A estimativa do efeito é suficientemente precisa (IC)?	2	1	0	n/a
17. Esse efeito tem importância clínica?	2	1	0	n/a
APLICABILIDADE DOS RESULTADOS				
18. Os doentes do estudo são semelhantes aos da prática clínica do método individual?	2	1	0	n/a
19. Foram considerados todos os resultados clínicos importantes?	2	1	0	n/a
20. Os benefícios do tratamento sobrepõem-se aos potenciais riscos e custos da sua implementação?	2	1	0	n/a
Marcar o código apropriado: 2 – Resposta afirmativa = sim; 1 – Pouco claro/ possivelmente; 0 – Resposta negativa = não; n/a – Não aplicável.				
Score total (soma dos scores atribuídos) ----- [A]				
Nº de questões aplicáveis (máx. 20) ----- [B]				
Score máximo possível (2 x B) ----- [C]				
CLASSIFICAÇÃO FINAL (A/C em %) ----- %				

Fonte: Carneiro, A. V. (2008). Como avaliar a investigação clínica: o exemplo da avaliação crítica de um ensaio clínico *GE - Jornal Português de Gastrenterologia*, 15, p.32.

Mantendo as indicações de Carneiro (2008), os estudos classificados com uma pontuação de 75% ou mais são considerados de boa qualidade e os estudos com pontuação inferior devem ser excluídos por não terem qualidade para serem considerados para a prática clínica.

Relativamente à qualidade dos estudos quasi-experimentais avaliada pelo instrumento de avaliação do JBI (2016) apenas são considerados estudos de qualidade aqueles que obtiverem no máximo duas respostas negativas. O instrumento de avaliação dos estudos quase-experimentais do JBI (2016) pode ser consultado de seguida, no quadro 4.

Quadro 4 - “JBI Critical Appraisal Checklist for Quasi-Experimental Studies”

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Is it clear in the study what is the 'cause' and what is the 'effect' (i.e. there is no confusion about which variable comes first)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were the participants included in any comparisons similar?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Were the participants included in any comparisons receiving similar treatment/care, other than the exposure or intervention of interest?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Was there a control group?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Were there multiple measurements of the outcome both pre and post the intervention/exposure?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Was follow-up complete, and if not, was follow-up adequately reported and strategies to deal with loss to follow-up employed?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Were the outcomes of participants included in any comparisons measured in the same way?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Were outcomes measured in a reliable way?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was appropriate statistical analysis used?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Fonte: Institute, T. J. B. [JBI], (2016). Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual: 2016 edition. Australia: The Joanna Briggs Institute, p.1- 6. Acesso em <http://joannabriggs.org/research/critical-appraisal-tools.html>

No que concerne à hierarquização da evidência científica utilizada nesta RSL, esta foi baseada numa adaptação das recomendações do *Centre for Evidence Based Medicine, de Oxford*, Reino Unido, adaptada por Roque, Bugalho, & Carneiro (2007). Este sistema classifica as recomendações segundo os graus de qualidade decrescente de A a D (em que o grau A corresponde a evidência de alta qualidade, e o grau D a evidência de baixa

qualidade) e níveis de evidência correspondentes, podendo ser consultado no quadro abaixo (Roque, Bugalho, & Carneiro, 2007).

Quadro 5 - Níveis de evidência e graus de recomendação terapêutica

Grau de recomendação	Nível de evidência	Análise metodológica
A	1 a	RS* (com homogeneidade [†] interna) de EACs [§]
	1 b	EAC individuais (com IC [#] curtos)
	1 c	Todos ou nenhuns [¶]
B	2 a	RS* (com homogeneidade [†] interna) de estudos de coorte
	2 b	Estudos de coorte individuais (incluindo EACs [§] de baixa qualidade, por ex. <80% de follow-up)
	2 c	Investigação sobre resultados ("outcomes research") ^{§§}
	3 a	RS* (com homogeneidade [†] interna) de estudos casos-controle
	3 b	Estudos casos-controle individuais
C	4	Estudos de séries de casos (e também estudos coorte e casos-controle de baixa qualidade ^{**})
D	5	Opinião de peritos sem explicitação prévia da metodologia de avaliação crítica da evidência, ou baseada em investigação básica (extrapolação), ou em "princípios primários" ^{††}

Notas referentes ao quadro:

*RS: revisões sistematizadas

§EACs: ensaios aleatorizados e controlados (RCTs: *randomized controlled trials*)

† Homogeneidade: é uma RS com um baixo grau de heterogeneidade na direção e magnitude dos resultados dos estudos individuais nela incluídos

IC: intervalos de confiança

¶ Quando todos os doentes faleciam antes do tratamento estar disponível, mas alguns agora sobrevivem; ou quando alguns doentes faleciam antes do tratamento estar disponível mas nenhum agora morre quando o faz

** Os estudos de coorte de baixa qualidade são os que não definiram claramente os grupos em comparação; e/ou não mediram as exposições e resultados (*outcomes*) de maneira objetiva (de preferência em ocultação) em ambos os grupos (expostos e não-expostos); e/ou não identificaram ou controlaram apropriadamente os fatores de confusão (*confounders*); e/ou não levaram a cabo um seguimento (follow-up) suficientemente longo e completo. Os estudos casos-controle de baixa qualidade são aqueles que não definiram claramente os grupos em comparação; e/ou não mediram as exposições e resultados (*outcomes*) de maneira objetiva (de preferência em ocultação) em ambos os grupos (casos e controles); e/ou não identificaram ou controlaram apropriadamente os fatores de confusão (*confounders*).

§§ A investigação sobre resultados ("*outcomes research*") consiste - segundo a definição americana dos PORT - nos estudos de coorte de doentes com idêntico diagnóstico (AVC, EAM, etc.) que relacionam os seus resultados clínicos (*clinical outcomes*), sejam eles a mortalidade, morbidade, eventos, etc., com os cuidados médicos recebidos (aspirina, cirurgia, reabilitação); este tipo de investigação não utiliza EACs pelo que se torna impossível a atribuição de efetividade a uma determinada manobra terapêutica. A vantagem desta abordagem é que permite reconhecer se os *outcomes* esperados correspondem aos encontrados na clínica diária.

†† Por princípios primários entendem-se os conceitos fisiopatológicos que presidem à prática médica (controle da tensão arterial em doentes com dissecção da aorta, por exemplo); como é óbvio, estes princípios, se não testados em estudos rigorosos, podem conduzir, por vezes, a práticas erradas.

Fonte: Roque, A., Bugalho, A., & Carneiro, A. V. (2007). Manual de Elaboração, Disseminação e Implementação de Normas de Orientação Clínica. Lisboa: Centro de Estudos de Medicina Baseada na Evidência - Faculdade de Medicina de Lisboa. p. 50. Acesso em <http://www.cembe.org/avc/pt/docs/Manual%20de%20NOCs%20CEMBE%202007.pdf>.

4. Resultados

Neste capítulo apresenta-se o resultado da análise crítica dos estudos incluídos e posteriormente a análise dos dados recolhidos.

De acordo com o que já foi referido anteriormente, apenas quatro dos estudos recuperados através da revisão sistemática da literatura cumpriam os critérios de inclusão neste estudo, tendo sido então avaliada a sua qualidade.

Os resultados da avaliação crítica dos estudos recuperados podem observar-se no quadro seguinte (quadro 6):

Quadro 6 – Resultados da avaliação crítica dos estudos

	S1	S2	S3	S4
Avaliação crítica	Boa qualidade	Boa qualidade	78%	Má qualidade
Grau/ Nível de evidência	B/ 3b	B/ 3b	A/ 1 b	B/3b

Pode afirmar-se que três estudos recuperados nesta RSL correspondem a nível de evidência 3 b, seguindo as sugestões de Roque, Bugalho, & Carneiro (2007, p. 50), uma vez que se tratam de estudos casos-controle individuais e um estudo corresponde ao nível 1b, pois trata-se um de RCT. O estudo S4 teve resultado negativo na sua avaliação crítica pelo que não poderá ser incluído na meta-análise.

Para analisar em pormenor a avaliação crítica realizada a cada um dos estudos pode ser consultado o anexo II.

4.1. Análise dos dados

Para facilitar a leitura e análise dos dados, foi realizada uma síntese descritiva de cada estudo e, posteriormente, elaborado um quadro-síntese descrevendo os pontos-chave de cada um, bem como o resultado das suas avaliações críticas (quadros 7, 8, 9 e 10).

Iniciando com o estudo de Hernández & González (2001), catalogado como S1, verifica-se que se tratou de um ensaio clínico não aleatorizado com a participação de 44 pacientes, divididos em dois grupos: 22 para o grupo de estudo (GE) e 22 para o grupo de controlo (GC). Foram incluídos no estudo utentes com úlceras venosas de um ou ambos os membros inferiores, de ambos os sexos e com idade máxima de 70 anos. Foram excluídos utentes diabéticos, portadores de insuficiência cardíaca, insuficiência renal, insuficiência arterial e linfedema crónico.

Ambos os grupos foram submetidos a tratamento convencional para úlceras de perna de etiologia venosa e no GE acrescia a intervenção da ozonoterapia tópica por *bag* de ozono, seguida da aplicação de óleo ozonizado, num número máximo de 70 sessões de tratamento. As variáveis estudadas foram o número de sessões de tratamento, a cicatrização das úlceras e a negativização das culturas bacterianas das úlceras. Como *outcomes* primários foram definidos o número de sessões de tratamento, a cicatrização total das úlceras e a negativização das culturas. Como *outcome* secundário foi definido a negativização das culturas sem a cicatrização total das úlceras. Foi definido o resultado não satisfatório a não-negativização das culturas e não-cicatrização das úlceras. Os pacientes em estudo foram avaliados semanalmente com culturas seriadas das lesões.

Os resultados obtidos referem que a maior percentagem dos pacientes do GE (63.6%) obtiveram negativização das suas culturas em menos de 20 sessões, ao passo que no GC, a maior percentagem dos pacientes (45.4%) necessitaram de 20 a 30 sessões para negativizarem as suas culturas bacterianas. Do GE apenas 2 pacientes (9.1%) não negativizaram as culturas e no GC 5 pacientes (22.7%) também não negativizaram culturas, o que, após aplicação do teste Chi-quadrado (X^2) se verificou $X^2= 8.54$, $p < 0.04$, $gL= 3$, podendo-se afirmar que a relação entre a aplicação tópica de ozono e a negativização das culturas é estatisticamente significativa.

Relativamente à relação entre a cicatrização e o número de sessões de tratamento com ozono verificou-se que a maior percentagem dos pacientes do GE (86.4%) conseguiram a cicatrização das suas lesões em 20-30 sessões, ao contrário dos pacientes

de GC, em que apenas 45.5% cicatrizaram as suas lesões e necessitaram de mais de 30 sessões para tal. Não conseguiram a cicatrização das suas úlceras 2 dos pacientes do GE (0.9%) e 9 dos pacientes do GC (40.9%) pelo que se comprova que a relação entre a cicatrização e a ozonoterapia é altamente significativa, com $X^2=27.1$, $p < 0.000005$ $gL= 3$.

Neste estudo foi ainda avaliado o efeito bactericida do ozono perante as diferentes estirpes bacterianas isoladas nas culturas prévias ao início do tratamento do GE. Dos pacientes que necessitaram apenas de 20 sessões para conseguir a negativização ($n=14$), 7 (50%) tinham isolado *Estafilococos coagulase negativa*, 6 (42.9%) tinham *Estafilococos aureus* e 1 paciente tinha *Citrobacter*. Dos 6 pacientes que negativizaram em 20-30 sessões, 3 (50%) tinham *Pseudomonas aeruginosa*, 2 (33%) tinham *Proteus mirabilis* e apenas 1 tinha *Estafilococos aureus*. No GE, os dois utentes que não conseguiram a negativização das culturas durante o estudo (70 sessões) tinham isolados *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*.

Como conclusões ao estudo foram apontadas que a negativização das culturas bacterianas se pode conseguir em apenas 20 sessões de tratamento com ozonoterapia tópica, que a cicatrização de úlceras venosas se pode conseguir com 20 a 30 sessões de ozonoterapia e que cerca de 90.9% dos pacientes do GE apresentaram resultados satisfatórios quanto à negativização das culturas e cicatrização das úlceras. A ozonoterapia tópica foi eficaz contra todos os tipos de bactérias isoladas nas culturas do GE.

Quadro 7 – Quadro de evidências do estudo Hernández & González (2001)

S1 – Hernández, O. D, & González, R. C. (2001). Ozonoterapia en úlceras flebostáticas. <i>Revista Cubana de Cirugía</i> , 40, 123-129.	
Métodos	Ensaio clínico não aleatorizado com 2 grupos: 1 grupo de estudo (GE) e 1 grupo de controlo (GC).
Participantes	N=44; GE – $n=22$ e GC – $n=22$. Critérios de inclusão: utentes com úlceras venosas de um ou ambos os membros inferiores, de ambos os sexos e com idade máxima de 70 anos. Critérios de exclusão: utentes diabéticos, portadores de insuficiência cardíaca, insuficiência renal, insuficiência arterial e linfedema crónico.
Intervenções	GE – Ozonoterapia tópica (<i>bag</i> + óleo ozonizado) + tratamento convencional GC – Tratamento convencional apenas Controlos semanais das culturas bacterianas das úlceras.

Resultados	<p>No GE a maior percentagem dos pacientes (63.6%) obtiveram negativização das suas culturas em menos de 20 sessões e no GC a maior percentagem de pacientes (45.4%) necessitaram de 20 a 30 sessões para negativizarem as suas culturas bacterianas. Do GE apenas 2 pacientes (9.1%) não negativizaram as culturas, ao passo que do GC 5 pacientes (22.7%) também não negativizaram culturas, o que, após aplicação do teste Chi-quadrado (X^2) se verificou $X^2= 8.54$, $p <0.04$, $gL= 3$, podendo-se afirmar que a relação entre a aplicação tópica de ozono e a negativização das culturas é altamente significativa.</p> <p>A maior percentagem dos pacientes do GE (86.4%) conseguiram a cicatrização das suas lesões em 20-30 sessões, ao contrário dos pacientes de GC, em que apenas 45.5% cicatrizaram as suas lesões e necessitaram de mais de 30 sessões para tal. Não conseguiram a cicatrização das suas úlceras 2 dos pacientes do GE (0.9%) e 9 dos pacientes do GC (40.9%) pelo que se comprova que a relação entre a cicatrização e a ozonoterapia é altamente significativa, com $X^2=27.1$, $p <0.000005$ $gL= 3$.</p>
Conclusões	<p>A negativização das culturas bacterianas pode-se conseguir em apenas 20 sessões de tratamento com ozonoterapia tópica.</p> <p>A cicatrização de úlceras venosas pode-se conseguir com 20 a 30 sessões de ozonoterapia.</p> <p>90.9% dos pacientes do GE apresentaram resultados satisfatórios quanto à negativização das culturas e cicatrização das úlceras.</p> <p>A ozonoterapia tópica foi eficaz contra todos os tipos de bactérias isoladas nas culturas do GE.</p>
Avaliação crítica	Boa qualidade

O segundo estudo recuperado na RSL e catalogado como S2 – Gutiérrez et al. (2009), é também um estudo experimental não aleatorizado e engloba uma amostra de 60 pacientes portadores de úlceras venosas dos membros inferiores, divididos em dois grupos: 30 pacientes no GE em que as úlceras foram tratadas com óleo ozonizado e 30 pacientes no GC cujas úlceras foram tratadas com terapia convencional, em regime de ambulatório, num total de 45 sessões de tratamento. Foram incluídos no estudo os utentes portadores de úlceras varicosas dos membros inferiores, com um só membro afetado e que dessem o seu consentimento para participar no estudo. Foram excluídos utentes portadores de dermatites ou reações alérgicas generalizadas, utentes que não aceitassem participar no estudo ou que abandonassem o tratamento por qualquer razão (por decisão do próprio, por agravamento dos sintomas, por internamento hospitalar ou falecimento).

As variáveis avaliadas incluíram o aparecimento de tecido de granulação viável, diminuição dos sinais de infeção (rubor, dor, exsudato e cheiro fétido) e cicatrização de 50% ou mais da lesão inicial.

Os critérios de efetividade foram definidos consoante o cumprimento de todos os parâmetros (remissão total), ou o cumprimento de apenas 2 parâmetros (remissão parcial) ou o cumprimento de apenas 1 ou nenhum parâmetro (não remissão). Foi considerada a

remissão total ou parcial aos 45 dias de tratamento como resultado positivo do estudo e foi considerado resultado negativo quando não houve remissão.

Foi avaliada a distribuição de frequências dos sintomas dos pacientes de ambos os grupos com um intervalo de confiança (IC) de 95%, e foi verificado que no GE os pacientes tinham mais sintomas ou estes eram mais significativos para eles. Os sintomas dor e rubor foram identificados como mais significativos no GE com $X^2= 11.4$; $p= 0.0007$ e $X^2= 5.4$; $p= 0.02$ respetivamente.

Quanto à remissão dos sintomas foi comprovada uma diferença significativa para o grupo tratado com ozonoterapia tópica, com $X^2= 7.22$; $p= 0.027$; $gL= 2$, verificando-se uma maior percentagem de remissões totais no GE (66.7%) contra 33.3% no GC, contudo, relativamente às remissões parciais não se verificou diferença significativa, com $X^2= 3.75$; $p=0.052$; $gL=1$, pois o GC apresenta um número de remissões parciais ligeiramente superior, o que tende a equilibrar os resultados. Não apresentaram remissão dos sintomas 3 pacientes do GE (10%) e 9 pacientes do GC (30%).

Perante estes resultados, os autores concluíram que se demonstrou a efetividade do ozono tópico no tratamento das úlceras venosas de membros inferiores quando comparado com o tratamento convencional em ambulatório.

Quadro 8 – Quadro de evidências do estudo de Gutiérrez et al. (2009)

S2 – Gutiérrez, J. A. V., Díaz, N. P., Montequín, Z. F., Negrín, J. S., & Arias, A. M. (2009). Aceite ozonizado: alternativa efectiva para las úlceras varicosas de miembros inferiores en Atención Primaria. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 13, 18-24.

Métodos	Ensaio clínico não aleatorizado com 2 grupos: 1 grupo de estudo (GE) e 1 grupo de controlo (GC).
Participantes	N= 60; GE – n= 30 e GC – n= 30. Critérios de inclusão: Utentes portadores de úlceras varicosas dos membros inferiores com um só membro afetado, em regime de ambulatório e que dessem o seu consentimento para participar no estudo. Critérios de exclusão: Utentes portadores de dermatites ou reações alérgicas generalizadas, utentes que não aceitassem participar no estudo ou que abandonassem o tratamento por qualquer razão (por decisão do próprio, por agravamento dos sintomas, por internamento hospitalar ou falecimento).
Intervenções	GE: Foi realizada limpeza com soro fisiológico e depois aplicado óleo ozonizado nas úlceras. GC: As úlceras foram tratadas com terapia convencional.
Resultados	As variáveis avaliadas incluíram o aparecimento de tecido de granulação viável, diminuição dos sinais de infeção (rubor, dor, exsudato e cheiro fétido) e cicatrização de 50% ou mais da lesão inicial.

	<p>Os critérios de efetividade foram definidos em termos de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Remissão total - cumprimento de todos os parâmetros • Remissão parcial - cumprimento de apenas 2 parâmetros • Não remissão - cumprimento de apenas 1 ou nenhum parâmetro <p>Foi considerada a remissão total ou parcial aos 45 dias de tratamento como resultado positivo do estudo e foi considerado resultado negativo quando não houve remissão.</p> <p>Os sintomas dor e rubor foram identificados como mais significativos no GE com $X^2= 11.4$; $p= 0.0007$ e $X^2= 5.4$; $p= 0.02$ respetivamente, logo os grupos de estudo e controlo não eram homogêneos.</p> <p>Quanto à remissão dos sintomas foi comprovada uma diferença significativa para o grupo tratado com ozonoterapia tópica, com $X^2= 7.22$; $p= 0.027$; $gI= 2$, verificando-se uma maior percentagem de remissões totais no GE (66.7%) contra 33.3% no GC, contudo, relativamente às remissões parciais não se verificou diferença significativa, com $X^2= 3.75$; $p=0.052$; $gI=1$, pois o GC apresenta um número de remissões parciais ligeiramente superior, o que tende a equilibrar os resultados.</p> <p>Não apresentaram remissão dos sintomas 3 pacientes do GE (10%) e 9 pacientes do GC (30%).</p>
Conclusões	Os autores do estudo concluíram que se demonstrou a efetividade do ozono tópico no tratamento das úlceras venosas de membros inferiores quando comparado com o tratamento convencional em ambulatório.
Avaliação crítica	Boa qualidade

Relativamente ao terceiro estudo analisado, catalogado como S3 – Solovastru et al. (2015), foi realizado um estudo randomizado controlado com uma amostra de 29 pacientes divididos em dois grupos.

Foram incluídos no estudo pacientes com mais de 18 anos de idade, portadores de úlceras venosas com menos de dois anos de evolução. Foram excluídos do estudo os pacientes confinados ao leito 24 horas por dia, úlceras totalmente cobertas por necrose ou fibrina, úlceras infetadas com germes multirresistentes isolados na avaliação laboratorial microbiológica, doentes diabéticos tipo 1 ou 2 mal controlados, utentes em diálise, utentes com doença arterial periférica avançada com índice de pressão tornozelo-braço (IPTB) <0.8 com pulso distal, pacientes com imunodeficiência, doentes com linfopenia (linfócitos $<1000/\mu\text{L}$), doentes com insuficiência hepática ou renal, anemia ou doenças autoimunes, doentes com índice de massa corporal (IMC) $> 30\text{Kg}/\text{m}^2$, com hipersensibilidade documentada a algum dos produtos em estudos, com contagem de leucócitos $<3500/\mu\text{L}$ e plaquetas $<100000/\mu\text{L}$.

O GE foi submetido a tratamento de feridas convencional seguido de aplicação diária de óleo ozonizado em *spray*, finalizando com uma gaze de proteção sobre a úlcera. Por sua vez, o GC foi submetido ao mesmo tratamento convencional seguido de aplicação diária de um creme epitelizante rico em vitaminas A e E e óxido de zinco, terminando com uma gaze

de proteção sobre a úlcera. Ambos os tratamentos foram realizados durante 30 dias e foi assegurado que nenhum dos pacientes do GE ou GC receberam qualquer tratamento tópico nas duas semanas anteriores ao início do estudo.

Todos os pacientes foram avaliados em quatro visitas diferentes, nomeadamente aos dias 0, 7, 14 e 30. Em cada visita foi realizado desbridamento mecânico das úlceras e foram medidas as suas dimensões com uma régua. O rácio da área de ferida (*wound area ratio* - WAR) foi calculado segundo a fórmula: $WAR = [\text{área da úlcera no dia da medição} / \text{área da úlcera no dia 0}] \times 100$ e a velocidade (*speed*) de cicatrização foi calculada segundo a fórmula: $speed (cm^2/dia) = [\text{área da úlcera no dia da medição} - \text{área da úlcera na medição anterior}] / \text{dia em que a área da úlcera mudou}$.

Foi definida como outcome primário a cicatrização total da úlcera em 30 dias de tratamento e como outcome secundário a redução do rácio da área de lesão (WAR) e a velocidade de cicatrização (*speed*). A úlcera considerou-se totalmente cicatrizada quando ocorria total re-epitelização da mesma.

Foi usada estatística descritiva com média e desvio padrão e avaliada a significância com o teste *t-student* para comparar os grupos, sendo considerados valores estatisticamente significativos $p < 0.05$.

No início do estudo, a comparação das características dos GE e GC revelou serem grupos homogéneos uma vez que não foi verificada diferença significativa quanto à idade, sexo, demografia e características das úlceras. A média da área das úlceras do GE foi de 4.36 cm^2 (desvio padrão 5.61) e do GC foi de 4.59 cm^2 (desvio padrão 3.46). O tempo de evolução das úlceras de 13 e 16 meses respetivamente para o GE e GC e o grau de granulação, fibrina e exsudato era comparável nos dois grupos.

No final dos 30 dias de tratamento, 5 pacientes do GE (25%) apresentaram cicatrização completa das úlceras ao passo que no GC nenhum paciente apresentou cicatrização das lesões.

Relativamente à redução do WAR podemos verificar que esta foi estatisticamente significativa no GE com $p < 0.05$ a partir do dia 7, com redução da área média da úlcera de 4.36 cm^2 (no dia 0) para 3.14 cm^2 (no dia 7), 2.19 cm^2 (no dia 14) e 1.85 cm^2 (no dia 30).

Esta redução média da área da úlcera corresponde à redução do WAR no GE e foi de 34%, 59% e 73%, nos dias 7, 14 e 30 respetivamente. Por seu lado, no GC não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na redução do WAR, verificando-se

5%, 8% e 13% nos dias 7, 14 e 30 respetivamente. A diferença entre os dois tratamentos tópicos foi assim confirmada com diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) observada no WAR a favor do tratamento com o óleo ozonizado.

A velocidade de cicatrização (*speed*) também foi avaliada e verificou-se ser superior no GE, nomeadamente de $0.17\text{cm}^2/\text{dia}$ nos primeiros sete dias, de $0.14\text{cm}^2/\text{dia}$ entre o sétimo ao décimo quarto dia e de $0.04\text{cm}^2/\text{dia}$ nos últimos 16 dias de tratamento.

Ambos os tratamentos foram bem tolerados pelos grupos em estudo e não se verificaram sinais de dor ou irritação em nenhum dos grupos.

Os autores consideram que o óleo ozonizado em estudo se revela como uma importante e promissora terapêutica para o tratamento de úlceras venosas, pois demonstrou resultados significativamente superiores no GE em comparação com os resultados do GC, tanto na re-epitelização total das úlceras (25% no GE contra 0% no GC) como na redução significativa e progressiva da área da úlcera desde o 7º ao 30º dia no GE, o que não se verificou no GC. Para além dos dados apresentados referem que a formulação em *spray* utilizada foi bem tolerada pelos pacientes e fácil de usar.

Quadro 9 – Quadro de evidências do estudo de Solovastru et al (2015)

S3 – Solovastru, L. G., Stincanu, A., De Ascentii, A., Cappare, G., Mattana, P., & Vata, D. (2015). Randomized, controlled study of innovative spray formulation containing ozonated oil and alpha-bisabolol in the topical treatment of chronic venous leg ulcers. *Adv Skin Wound Care*, 28 (9), 406-409. Doi: 10.1097/01.ASW.0000470155.29821.ed

Métodos	Ensaio clínico randomizado com 2 grupos: 1 grupo de estudo (GE) e 1 grupo de controlo (GC).
Participantes	N= 29; GE – n= 15 e GC – n=14. <u>Critérios de inclusão:</u> pacientes com mais de 18 anos de idade, portadores de úlceras venosas com menos de dois anos de evolução. <u>Critérios de exclusão:</u> pacientes confinados ao leito 24 horas por dia, úlceras totalmente cobertas por necrose ou fibrina, úlceras infetadas com germes multirresistentes isolados na avaliação laboratorial microbiológica, doentes diabéticos tipo 1 ou 2 mal controlados, utentes em diálise, utentes com doença arterial periférica avançada com IPTB <0.8 com pulso distal, pacientes com imunodeficiência, doentes com linfopenia (linfócitos <1000/ μL), doentes com insuficiência hepática ou renal, anemia ou doenças autoimunes, doentes com IMC > 30Kg/m ² , com hipersensibilidade documentada a algum dos produtos em estudos, com contagem de leucócitos <3500/ μL e plaquetas <100000/ μL .
Intervenções	O GE foi submetido a tratamento de feridas convencional seguido de aplicação diária de óleo ozonizado em <i>spray</i> , finalizando com uma gaze de proteção sobre a úlcera. O GC foi submetido ao mesmo tratamento convencional seguido de aplicação diária de um creme epitelizante rico em vitaminas A e E e óxido de zinco, terminando com uma gaze de

	<p>proteção sobre a úlcera.</p> <p>Ambos os tratamentos foram realizados durante 30 dias e foi assegurado que nenhum dos pacientes do GE ou GC receberam qualquer tratamento tópico nas duas semanas anteriores ao início do estudo.</p> <p>Todos os pacientes foram avaliados em quatro visitas diferentes, nomeadamente aos dias 0, 7, 14 e 30. Em cada visita foi realizado desbridamento mecânico das úlceras e foram medidas as suas dimensões com uma régua. Foram calculados o WAR em % e o <i>speed</i> em cm²/dia.</p> <p><u>Outcome primário</u>: cicatrização total da úlcera em 30 dias de tratamento. A úlcera considerou-se totalmente cicatrizada quando ocorria total re-epitelização da mesma.</p> <p><u>Outcome secundário</u>: redução do rácio da área de lesão (WAR) e a velocidade de cicatrização (<i>speed</i>).</p>
Resultados	<p>A comparação inicial das características dos GE e GC revelou serem grupos homogéneos uma vez que não foi verificada diferença significativa quanto à idade, sexo, demografia e características das úlceras.</p> <p>A média inicial da área das úlceras do GE foi de 4.36 cm² (desvio padrão 5.61) e do GC foi de 4.59 cm² (desvio padrão 3.46). O tempo de evolução das úlceras de 13 e 16 meses respetivamente para o GE e GC e o grau de granulação, fibrina e exsudato era comparável nos dois grupos no início do estudo.</p> <p>No final dos 30 dias de tratamento, 5 pacientes do GE (25%) apresentaram cicatrização completa das úlceras ao passo que no GC nenhum paciente apresentou cicatrização das lesões.</p> <p>Redução do WAR foi estatisticamente significativo no GE com $p < 0.05$ a partir do dia 7, com redução da área média da úlcera de 4.36 cm² (no dia 0) para 3.14 cm² (no dia 7), 2.19 cm² (no dia 14) e 1.85 cm² (no dia 30). Esta redução média da área da úlcera corresponde à redução do WAR no GE e foi de 34%, 59% e 73%, nos dias 7, 14 e 30 respetivamente.</p> <p>No GC não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na redução do WAR, verificando-se 5%, 8% e 13% nos dias 7, 14 e 30 respetivamente.</p> <p>A diferença entre os dois tratamentos tópicos foi assim confirmada com diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) observada na redução do WAR a favor do tratamento com o óleo ozonizado.</p> <p>O tempo médio de cicatrização (<i>speed</i>) também foi avaliado e verificou-se ser superior no GE, nomeadamente de 0.17cm²/dia nos primeiros sete dias, de 0.14cm²/dia entre o sétimo ao décimo quarto dia e de 0.04cm²/dia nos últimos 16 dias de tratamento.</p>
Conclusões	<p>Os autores consideram que o óleo ozonizado em estudo se revela como uma importante e promissora terapêutica para o tratamento de úlceras venosas, pois demonstrou resultados significativamente superiores no GE em comparação com os resultados do GC, tanto na re-epitelização total das úlceras (25% no GE contra 0% no GC) como na redução significativa e progressiva da área da úlcera desde o 7^o ao 30^o dia no GE, o que não se verificou no GC. Para além dos dados apresentados referem que a formulação em <i>spray</i> utilizada foi bem tolerada pelos pacientes e fácil de usar.</p>
Score avaliação crítica	78 %

Foi incluído um quarto estudo nesta RSL que apesar de não cumprir à partida um dos critérios de inclusão, nomeadamente o idioma de publicação, pois encontra-se publicado apenas em língua italiana, decidiu-se fazer a sua tradução para a língua portuguesa de forma a não excluir evidência científica que pudesse ser válida.

Assim, o quarto e último estudo incluído nesta RSL, o estudo S4 – Ricerca & Svillupo-Erbagil, cujo ano de publicação não foi identificado, verificamos que se trata de um ensaio clínico não aleatorizado com uma amostra de 20 pacientes divididos em dois grupos com características semelhantes entre si: 10 pacientes para o GE e 10 pacientes para o GC. Os autores procuraram avaliar a aplicação clínica de um *spray* e um creme à base de ozono em úlceras venosas durante um período de 21 dias.

Foram incluídos pacientes de ambos os sexos que sofriam de lesões ulcerativas dos membros inferiores com insuficiência venosa crônica. A úlcera deveria ter as seguintes características: lesão dermo-epidérmica, área lesional <20 cm², ferida limpa. Como critérios de exclusão foram definidos: doença hepática com albumina <3.5 mg/dl, doença renal crônica (DRC) com creatinina aumentada; terapia de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) com esteróides e/ ou broncodilatadores; IBTP <0.9; Doenças autoimunes tratadas com esteróides ou imunossupressores; lesões de pele infetadas ou lesões ulcerativas de outra natureza.

O tratamento das lesões era igual para os dois grupos em estudo, diferindo apenas na aplicação de óleo e creme ozonizado no GE.

A área das lesões foi medida em cm² e para realizar essa medição foi usada uma câmara fotográfica digital com um *software* de medição dedicado. A avaliação foi realizada pelo cálculo do “índice diário re-epitelização”. Este índice foi calculado com base na fórmula: $(EstT0 - EstX) / EstT0$, em que EstT0 corresponde à área da lesão no início do tratamento, EstTX a área da lesão no dia da avaliação e X ao dia da avaliação.

Os autores obtiveram um índice diário de re-epitelização superior no GE, nomeadamente 0.018cm²/dia no GE contra 0.007cm² no GC. Acrescentaram que o produto em estudo foi bem tolerado e não se registaram reações adversas no GE.

Concluíram que o fármaco em estudo, à base de ozono é uma alternativa válida para o tratamento tópico de úlceras venosas, contudo não foram apresentados quaisquer dados estatísticos que o comprovassem. Foram apenas apresentadas as medições das lesões de ambos os grupos e os respetivos cálculos do índice diário de re-epitelização.

Após avaliação crítica através da “*JBI Critical Appraisal Checklist for Quasi-Experimental Studies*” conclui-se que este estudo não apresenta qualidade suficiente para ser incluído na meta-análise. O quadro (quadro 10) seguinte sumariza os dados extraídos deste estudo.

Quadro 10 – Quadro de evidências do estudo de Ricerca & Sviluppo-Erbagil

<p>S4 – Ricerca & Sviluppo-Erbagil. (?). Valutazione dell'efficacia di Rigenoma spray® e crema® a base di Ozoile® (ozono topico stabilizzato in acido oleico con vitamina e acetato) nel processo di riparazione tessutale di lesioni croniche cutanee dermo-epidermiche ad eziologia venosa. Acesso em 10/11/2016, http://www.erbagil.com/it/ozoile-in-rigenoma-spray.php.</p>	
Métodos	Ensaio clínico não aleatorizado com 2 grupos: 1 grupo de estudo (GE) e 1 grupo de controlo (GC).
Participantes	N= 20; GE – n= 10 e GC – n=10. <u>Critérios de inclusão:</u> pacientes de ambos os sexos portadores de insuficiência venosa crónica e lesões ulcerativas dos membros inferiores; as lesões tinham que ser dermo-epidérmicas, com área lesional <20 cm ² e limpas. <u>Critérios de exclusão:</u> doença hepática com albumina <3.5 mg/dl, DRC com creatinina aumentada; terapia de DPOC com esteróides e/ ou broncodilatadores; IBTP <0.9; doenças autoimunes tratadas com esteróides ou imunossupressores; lesões de pele infetadas ou lesões ulcerativas de outra natureza.
Intervenções	O GE foi submetido a tratamento convencional, seguido de aplicação do <i>spray</i> e creme Rigenoma® à base de ozono. O GC foi submetido ao mesmo tratamento convencional seguido de aplicação de um <i>spray</i> e creme convencional. <u>Outcome primário:</u> índice diário de re-epitelização.
Resultados	Índice diário de re-epitelização superior no GE, nomeadamente 0.018cm ² /dia no GE contra 0.007cm ² no GC.
Conclusões	O <i>spray</i> e creme à base de ozono é uma alternativa valida para o tratamento tópico de úlceras venosas.
Avaliação crítica	Má qualidade

Na página seguinte apresenta-se um quadro de evidências resumindo o tipo de estudo, população, intervenções, principais resultados e conclusões dos estudos incluídos para a meta-análise, de forma a facilitar a sua compreensão e comparação (quadro 11).

Quadro 11 – Resumo das evidências dos estudos que formam o *corpus* desta RSL

Estudo – Autor (Ano) País	Participantes	Intervenção/ procedimento	Outcomes	Desenho	Resultados	Conclusões
S1 - Hernández, & González, (2001), Cuba	N=44 (portadores de úlceras venosas dos membros inferiores); GE – n=22 GC – n=22	GE – Ozonoterapia tópica (<i>bag</i> O ³ + óleo ozonizado) + tratamento convencional GC – Tratamento convencional Controlos semanais das culturas bacterianas das úlceras do GE. Duração do protocolo: 70 sessões	<u>Primários:</u> - Número de sessões - Cicatrização total das úlceras - Negativização das culturas microbiológicas <u>Secundários:</u> - Negativização das culturas sem a cicatrização total das úlceras	NRCT	No GE, com a aplicação de ozonoterapia verificou-se a maior percentagem de negativização das culturas num menor número de sessões relativamente ao GC, observando-se $X^2= 8.54$, $p < 0.04$, $gL= 3$ (confirma que a relação entre a aplicação tópica de ozono e a negativização das culturas é altamente significativa). No GE verificou-se maior percentagem de úlceras cicatrizadas e num menor número de sessões comparando com o GC, com $X^2=27.1$, $p < 0.000005$ $gL= 3$ (relação entre cicatrização e ozonoterapia é altamente significativa) 90.9% dos pacientes do GE apresentaram resultados satisfatórios quanto à negativização das culturas e cicatrização das úlceras.	A negativização das culturas bacterianas pode-se conseguir em apenas 20 sessões de tratamento com ozonoterapia tópica. A cicatrização de úlceras venosas pode-se conseguir com 20 a 30 sessões de ozonoterapia. A ozonoterapia tópica foi eficaz contra todos os tipos de bactérias isoladas nas culturas do GE.
S2 - Gutiérrez et al. (2009), Cuba	N= 60 (portadores de úlceras venosas dos membros inferiores); GE – n= 30 GC – n= 30.	GE: Tratamento convencional + óleo ozonizado. GC: Tratamento convencional. Duração do protocolo: 45 sessões	<u>Primário:</u> - Tecido de granulação viável; - Diminuição dos sinais de infeção (rubor, dor, exsudato e cheiro fétido); - Cicatrização de 50% ou mais da lesão inicial. <u>Secundários:</u> - Remissão total - cumprimento de todos os parâmetros - Remissão parcial - cumprimento de apenas 2 parâmetros - Não remissão - cumprimento de apenas 1 ou nenhum parâmetro	NRCT	Verificou-se maior percentagem de remissões totais no GE (66.7%) contra 33.3% no GC e foi comprovada uma diferença significativa para o grupo tratado com ozonoterapia tópica, com $X^2= 7.22$; $p= 0.027$; $gL= 2$. Relativamente às remissões parciais não se verificou diferença significativa, com $X^2= 3.75$; $p=0.052$; $gL=1$, pois o GC apresenta um número de remissões parciais ligeiramente superior, o que tende a equilibrar os resultados. No GE apenas 3 pacientes (10%) não apresentaram remissão dos sintomas contra 9 pacientes do GC (30%).	Demonstrou-se a efetividade do ozono tópico no tratamento das úlceras venosas de membros inferiores quando comparado com o tratamento convencional em ambulatório.

<p>S3 – Solovastru et al. (2015), EUA</p>	<p>N= 29 (portadores de úlceras venosas de membros inferiores); GE – n= 15 GC – n=14.</p>	<p>GE - Tratamento convencional + óleo ozonizado em <i>spray</i>. GC - Tratamento convencional + creme epitelizante <i>standard</i>. Duração do protocolo: 30 sessões.</p>	<p><u>Outcomes primários:</u> - Cicatrização total da úlcera</p> <p><u>Outcome secundário:</u> - Redução do rácio da área de lesão (WAR); - Velocidade de cicatrização (<i>speed</i>) em cm²/dia.</p>	<p>RCT</p>	<p>No final dos 30 dias de tratamento houve cicatrização total de 25% dos pacientes no GE contra nenhuma cicatrização no GC.</p> <p>A redução do WAR foi estatisticamente significativa no GE com p <0.05 a partir do dia 7, com redução de 34%, 59% e 73%, nos dias 7, 14 e 30 respetivamente, contra uma redução não significativa no GC, com WAR de 5%, 8% e 13% nos dias 7, 14 e 30 respetivamente.</p> <p>O tempo médio de cicatrização (<i>speed</i>) também foi superior no GE, nomeadamente de 0.17cm²/dia nos primeiros sete dias, de 0.14cm²/dia entre o sétimo ao décimo quarto dia e de 0.04cm²/dia nos últimos 16 dias de tratamento.</p>	<p>O óleo ozonizado em estudo demonstrou resultados significativamente superiores em comparação com os resultados do GC, tanto na re-epitelização total das úlceras como na redução significativa e progressiva da área da úlcera desde o 7º ao 30º dia no GE, o que não se verificou no GC, apresentando-se como uma terapêutica promissora no tratamento de úlceras venosas.</p>
---	---	--	--	------------	--	--

4.1.1. Outcome: Taxa de cicatrização e respetiva meta-análise

No que concerne ao primeiro *outcome* avaliado, podemos verificar que a taxa cicatricial foi avaliada em todos os estudos selecionados nesta revisão e que esta foi estatisticamente significativa, observando-se maiores percentagens de cicatrização total das úlceras venosas nos grupos de estudo em oposição às percentagens de cicatrização total das úlceras dos grupos de controlo.

Quadro 12 – Outcome Taxa de cicatrização

Estudos	S1		S2		S3	
	GE N= 22	GC N= 22	GE N= 30	GC N= 30	GE N= 15	GC N= 14
Outcomes						
Cicatrização total	86.4% N= 19	13.6% N= 3	66.7% N= 20	33.3% N= 10	25% N= 4	0% N= 0

Para a realização da meta-análise utilizou-se o método de Peto com recurso ao modelo de efeitos fixos e os resultados expressos em *Odds Ratio* (OR) com intervalo de confiança (IC) de 95%. A escolha do método de Peto prende-se com o facto de um dos grupos em estudo apresentar o valor zero pois, segundo Santos & Cunha (2013, p. 90) o método de Peto destaca-se “quando um ou mais estudos apresentam zero eventos em pelo menos um dos grupos comparados, o que causaria uma indeterminação no cálculo dos efeitos, já que um zero ficaria no denominador da fórmula”.

Para as medidas de heterogeneidade foram usados os testes χ^2 e I^2 .

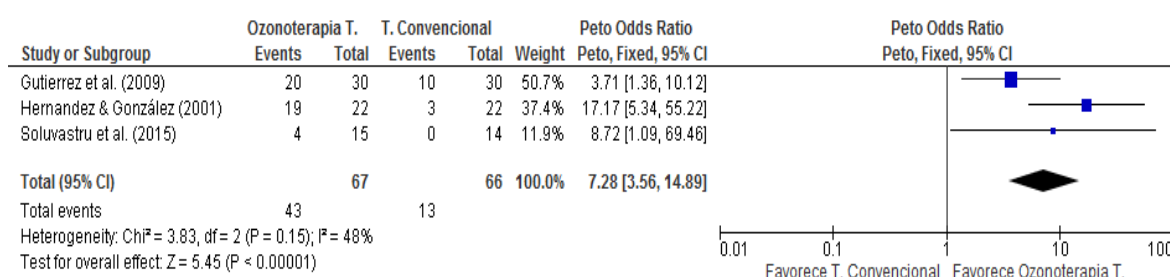
De acordo com os resultados observados (gráfico 1), verifica-se que o efeito metanalítico favorece a ozonoterapia tópica, havendo significância estatística entre as intervenções estudadas para o grupo da ozonoterapia tópica quando comparado com o grupo da terapia convencional no *outcome* taxa de cicatrização (IC 95%, OR= 7.28 [3.56-14.89]; $p < 0.00001$).

Os estudos apresentam heterogeneidade moderada conforme se apura pelo resultado do $\chi^2=3.83$ ($p= 0.15$) e pelo $I^2= 48\%$, seguindo as indicações de Higgins & Thompson, 2002; Higgins et al. 2003 e Rodrigues & Ziegelmann, 2010 como citado por Santos & Cunha (2013, p. 94) que referem que “uma escala com um valor de I^2 próximo a

0% indica não heterogeneidade entre os estudos, próximo a 25% indica baixa heterogeneidade, próximo a 50% indica heterogeneidade moderada e próximo a 75% indica alta heterogeneidade entre os estudos”.

Conclui-se que a ozonoterapia tópica tem influência estatisticamente significativa na cicatrização das úlceras venosas comparativamente aos resultados obtidos pela terapia convencional apenas.

Gráfico 1 – Forest plot da comparação Terapia convencional versus ozonoterapia tópica para o outcome: taxa de cicatrização



4.1.2. Outcome: Sinais de infecção ou carga bacteriana

Relativamente à redução dos sinais de infecção, estes foram apenas avaliados nos estudos S1 (através de culturas) e S2 (através dos sinais clínicos de infecção mas aqui avaliado em conjunto com a cicatrização reportando a remissão total), verificando-se maiores reduções de sinais de infecção em ambos os grupos de estudo em oposição às terapias convencionais.

A metanálise não foi possível dado os estudos não reportarem os resultados da mesma forma.

4.1.3. Outcome: Tempo de cicatrização

O tempo de cicatrização foi apenas calculado no estudo S3 através da fórmula: $speed (cm^2/dia) = [área da úlcera no dia da medição - área da úlcera na medição anterior] / dia em que a área da úlcera foi observada$.

Verificou-se maior velocidade de cicatrização no grupo de estudo, mais evidente logo ao sétimo dia de tratamento, ao passo que no grupo de controlo não se verificou alteração

na área das úlceras, inclusivamente ela aumentou no final da intervenção, pelo que a velocidade de cicatrização não foi significativa no GC.

Dado que apenas este estudo avaliou o tempo de cicatrização não foi possível realizar meta-análise.

Poder-se-á depreender do estudo S1, igualmente resultados significativos na diminuição do tempo de cicatrização para a ozonoterapia uma vez que os autores reportam uma maior percentagem de úlceras cicatrizadas num menor número de sessões (20-30 sessões) para o grupo que recebeu ozonoterapia tópica em oposição ao grupo de controlo, o qual no mesmo número de sessões teve um reduzido número de úlceras cicatrizadas, reportando neste ponto uma diferença estatisticamente significativa.

4.1.4. Outcome: Qualidade de vida do utente

A qualidade de vida não foi avaliada em nenhum dos estudos.

Apenas no estudo S2 os investigadores referem o alívio da dor e dos outros sinais de infeção, os quais estão associados à diminuição da qualidade de vida dos portadores de feridas crónicas, e verificam maior redução dos mesmos no grupo que recebeu ozonoterapia, pelo que se infere que a qualidade de vida dos portadores de úlcera venosa poderá ser melhorada com a aplicação de ozonoterapia tópica.

No estudo S3, os investigadores referem que o tratamento foi bem aceite e tolerado pelos participantes do GE e acrescentam que não se registaram quaisquer reações adversas à ozonoterapia tópica.

5. Discussão

Depois de apresentados e analisados os resultados obtidos importa refletir sobre eles e apresentar as considerações importantes para a prática clínica.

De realçar que se considera que foi adotada uma metodologia de estudo científico rigorosa e que por se terem limitado os estudos a incluir nesta revisão sistemática da literatura a apenas RCT, NRCT ou RSL estamos perante resultados fiáveis e válidos. A escolha de apenas RCT, NRCT ou RSL prende-se sobretudo com a sua aplicabilidade na prática clínica e com o seu elevado nível de evidência científica.

Foram recuperados apenas três estudos nesta revisão sistemática com meta-análise, sendo dois deles NRCT's correspondendo a um grau de recomendação B e nível de evidência 3b e um terceiro estudo cujo desenho de investigação foi o RCT, correspondendo a um grau de recomendação A e nível de evidência 1b (Roque, Bugalho, & Carneiro, 2007). Foi excluído da meta-análise um quarto estudo (NRCT) por não apresentar qualidade suficiente após avaliação crítica. Não foram encontradas quaisquer RSL sobre a temática estudada. A qualidade dos estudos analisados foi considerada como boa, uma vez que foi avaliada segundo uma grelha de avaliação específica para ensaios clínicos controlados e os resultados da sua avaliação foram superiores a 75%, revelando portanto uma qualidade suficiente para que os resultados dos estudos possam ser considerados na prática clínica (Carneiro, 2008). Também os dois estudos NRCT foram sujeitos a apreciação da sua qualidade segundo o instrumento de avaliação dos estudos quase-experimentais do JBI (2016), a qual se revelou de boa qualidade.

Nesta pesquisa procurou-se dar resposta à pergunta de partida:

“Será a aplicação tópica de ozonoterapia mais eficaz do que a terapia convencional na redução da carga bacteriana e tempo de cicatrização de úlceras de perna de etiologia venosa?”

Considerou-se importante avaliar o controlo da carga bacteriana nas úlceras venosas uma vez que esta está diretamente relacionada com o tempo de cicatrização das feridas. Por outro lado, os antimicrobianos tópicos foram considerados como o tratamento convencional que melhor se adequa ao controlo da carga bacteriana, contudo não foram excluídos outros tratamentos convencionais como os apósitos com capacidade de absorção

de exsudato ou cremes granulantes e epitelizantes uma vez que estes têm também relevância estudada na cicatrização de feridas crônicas.

Nos três estudos analisados foram incluídos um total de 133 participantes, os quais foram distribuídos por um grupo de estudo e um grupo de controlo, verificando-se um total de 67 participantes no grupo de estudo e 66 participantes no grupo de controlo. Todos os estudos analisaram o efeito da ozonoterapia tópica (*bag* de O³ + óleo ozonizado em S1 e óleo ozonizado em S2 e S3) em comparação com a terapia convencional na cicatrização de úlceras de membro inferior de etiologia venosa.

Os dados estudados na meta-análise indicaram resultados estatisticamente significativos ($p < 0.00001$) na taxa de cicatrização dos grupos que receberam ozonoterapia tópica em comparação com os grupos que receberam terapia convencional apenas, com IC 95%, OR= 7.28 [3.56-14.89].

Verificaram-se maiores reduções dos sinais de infeção nos grupos de estudo em oposição às terapias convencionais.

Foram igualmente observados menores tempos de cicatrização nos grupos de estudo em oposição aos resultados dos grupos de controlo, ou seja, para se conseguir a cicatrização total das lesões foram necessárias menos sessões de tratamento para os pacientes tratados com ozonoterapia.

A influência da ozonoterapia tópica na melhoria da qualidade de vida dos portadores de úlceras venosas não foi avaliada diretamente em nenhum dos estudos incluídos nesta RSL.

O efeito antimicrobiano do ozono tem sido largamente estudado literatura, sendo referido por diversos autores que este efeito se deve à reação do ozono com os ácidos gordos insaturados da membrana fosfolipídica da célula bacteriana, dando origem a uma série de peróxidos hidrófilos de cadeia curta aos quais a célula infetada não é capaz de tolerar pelo que é destruída por ozonólise, assim como acontece com os fungos ou vírus (Sechi, 2001; Rodrigues, 2004; Bocci, 2009; Burgassi, 2009; Skalska, 2009; Martínez-Sánchez, 2013).

Por outro lado, foi reportada a importância do ozono na cicatrização de feridas dadas as suas capacidades de ativação celular decorrentes das reações de oxidação que induz (Gonzalez, E. R., 2012).

Foi excluído desta RSL um estudo sobre o tratamento local de úlceras venosas com ozonoterapia, que embora se considerasse importante acabou por ser excluído por não ser possível obter o artigo em *full-text*. Todavia consideram-se importantes os resultados apresentados pelos autores, no resumo. Trata-se de um estudo de casos-controlos realizado por Colombo, R. et al (2002), em que 30 pacientes foram distribuídos por dois grupos – 15 para o GE e 15 para o GC – e foi aplicada ozonoterapia tópica por *bag* de O₃ + terapia convencional no GE e no GC foi usado um antisséptico de base aquosa + terapia convencional. Os autores verificaram melhoria da cicatrização em ambos os grupos, contudo esta melhoria deu-se mais rapidamente (com menor número de sessões) no GE. Paralelamente foram também realizadas culturas microbiológicas das úlceras e observaram a negatização das culturas em 10 dos 15 pacientes do GE e redução da carga bacteriana nos restantes cinco pacientes do GE.

Foi também consultado um estudo de casos realizado por Dupláa, G. & Planas, N. (1991) em que foram estudados 34 pacientes de ambos os sexos, portadores de úlceras venosas do membro inferior que foram submetidos a tratamento com ozonoterapia tópica por *bag* O₃ + terapia convencional. Os autores reportam cicatrização total de todas as úlceras exceto as de um paciente de 70 anos, com úlceras venosas bilaterais, com mais de 2 anos de evolução e diâmetro superior a 14 centímetros. Referem que o número médio de sessões necessárias para obter a cicatrização total das úlceras foi 14 sessões e que este número varia de acordo com a dimensão das úlceras, com o seu tempo de evolução e com o estado geral do paciente. Dupláa, G. & Planas, N. (1991) reportam ainda que o tratamento foi bem aceite pela maioria dos participantes e que não foram observadas alergias ao ozono, apenas alguns pacientes apresentaram ligeiro eczema cutâneo que desapareceu depois de se reduzir a concentração de ozono. Concluem que a ozonoterapia tópica é uma alternativa válida à terapia convencional no tratamento das úlceras venosas.

No decorrer da pesquisa nas bases de dados foram encontrados alguns estudos que embora não examinassem o efeito da ozonoterapia tópica em úlceras venosas fizeram-no com outros tipos de feridas complexas como as úlceras de pé diabético, queimaduras ou úlceras de membro inferior de etiologia arterial, os quais serão analisados de seguida contrapondo com os resultados obtidos nesta RSL.

Num estudo realizado por Rosales (2008) foi comparada a ozonoterapia tópica associada a tratamento convencional (grupo de estudo) com o tratamento convencional apenas (grupo de controlo) em úlceras de pé diabético com classificação Wagner II e foi observada erradicação de infeção em 45% do GE contra apenas 16.6% no GC e foi conseguida a cicatrização total de 53.4% das úlceras do GE contrapondo 23.6% do GC,

estando de acordo com os resultados verificados nos estudos que compõem o *corpus* desta RSL.

Elshenawie et al (2013) estudaram o efeito de um óleo ozonizado em pacientes portadores de úlceras de pé diabético nos vários graus de classificação Wagner e verificaram resultados superiores no grupo de estudo (ozono) com cicatrização completa de 60% das úlceras e cicatrização parcial de 40% das úlceras ao fim do tempo de aplicação do protocolo, nomeadamente, cinco semanas. Os resultados avaliados no grupo de controlo mostraram que não houve cicatrização completa de nenhuma das úlceras, houve 66.7% de cicatrização parcial e 33.3% não tiveram qualquer evolução, revelando uma diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos com o óleo ozonizado em oposição à terapia convencional com *p value* <0.05, resultados estes que reforçam os obtidos nos estudos analisados nesta RSL que revelam resultados idênticos no que concerne à melhoria da evolução cicatricial.

No ano de 2014 foi publicado um estudo randomizado controlado realizado por Zhang et al., que descrevia o efeito da ozonoterapia tópica na cicatrização de úlceras de pé diabético através da expressão de fatores de crescimento endógenos. Foram randomizados 50 pacientes diabéticos tipo 2 com úlceras diabéticas em estádios Wagner 2-4 em dois grupos. O grupo de estudo recebeu ozonoterapia combinada com terapia convencional e o grupo de controlo recebeu apenas terapia convencional. Os efeitos terapêuticos foram classificados em 4 níveis, desde o grau 0 (sem alteração) até o grau 3 (cicatrização da ferida). Foram medidas as feridas e realizadas biópsias tecidulares no início do protocolo e no 11º dia. As expressões do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), do fator de crescimento transformante- β (TGF- β) e do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) foram determinadas por exames imuno-histoquímicos. A taxa de cicatrização no grupo de estudo foi significativamente superior à do grupo de controlo (92% versus 64%, *p value* <0.05) e a redução do tamanho da úlcera foi também superior no GE (*p value* <0.001). As expressões dos fatores de crescimento VEGF, TGF- β e PDGF foram significativamente superiores no grupo estudo quando comparadas com o grupo de controlo pelo que os autores concluíram que a ozonoterapia promove a cicatrização de úlceras de pé diabético via potencial indução da libertação dos fatores de crescimento endógenos VEGF, TGF-p e PDGF na fase inicial do tratamento. Estes achados poderão ter importância também para o tratamento das úlceras de perna de etiologia venosa dado o papel primordial dos fatores de crescimento endógenos nas várias fases do processo cicatricial.

Num estudo recente sobre o efeito da ozonoterapia tópica na cicatrização de queimaduras de segundo grau realizado por El Aziz et al. (2015) foram verificadas

diferenças significativas a favor da ozonoterapia no que concerne à redução da dor na ferida, tempo de cicatrização mais rápido com conseqüente menor custo de tratamento e menos dias de hospitalização. Analisando particularmente, atenta-se que, na redução da dor associada à ferida, os investigadores observaram uma redução de 80% dos casos no grupo de estudo contra apenas 33.3% no grupo de controlo, com *p value* <0.041 no momento da alta; quanto à cicatrização das feridas, os autores verificaram no momento da alta hospitalar a cicatrização completa de 80% das feridas e cicatrização parcial de 20% das feridas do GE contra a cicatrização completa de apenas 26.7% de queimaduras, cicatrização parcial de 40% e não cicatrização de 33.3% das queimaduras do GC, com *p value* <0.05. Relativamente às culturas microbiológicas das feridas não verificaram diferenças estatisticamente significativas, com negativização de 100% das culturas do GE contra 81.8% no GC e *p value* = 1, ao contrário do estudo S1 incluído nesta RSL em esta diferença foi significativa.

Foi analisada uma RSL sobre o uso de ozonoterapia em úlceras de pé diabético de Liu et al. (2015), em que os autores concluíram que a ozonoterapia quando comparada com antibióticos pode reduzir o tamanho da úlcera diabética e diminuir também o tempo de hospitalização a curto prazo, contudo não encontraram evidência que sugira que a ozonoterapia promove a cicatrização geral ou que reduz o número de eventos adversos. Concluíram que, com base nos estudos primários que analisaram não poderiam afirmar se a ozonoterapia é eficaz ou não para cicatrizar úlceras de pé diabético pois estes estudos tinham amostras reduzidas (o que dificultou a deteção de diferenças significativas) e consideráveis falhas metodológicas.

O tratamento das úlceras de perna de etiologia venosa requer uma abordagem multidisciplinar, que pode incluir cirurgia, cuidados nutricionais, intervenção social e intervenções tópicas e sistémicas como a antibioterapia. Sabe-se contudo que os antimicrobianos podem não penetrar profundamente nos tecidos infetados, estão associados a reações alérgicas frequentes e que cada vez mais é reconhecida a resistência de várias espécies de bactérias a múltiplos antibióticos.

Até ao momento não foi verificado registo de resistências bacterianas ao ozono e a ozonoterapia tópica não tem na literatura registos de efeitos adversos importantes sendo maioritariamente bem tolerada pelos pacientes pelo que, perante os resultados discutidos se afirma que a ozonoterapia tópica poderá ser utilizada como terapia adjuvante ao tratamento convencional das úlceras de etiologia venosa.

É importante que o enfermeiro cuidador destes doentes tenha sempre presente o conceito de preparação do leito da ferida recomendado pela EWMA (2004) bem como o conhecimento consolidado do processo cicatricial para que seja capaz de sustentar a sua prática em conhecimentos científicos sólidos e melhor adaptar as opções terapêuticas disponíveis ao seu doente e à sua ferida mais concretamente.

Como foi referido, a ozonoterapia tópica pode ser usada como terapia adjuvante à terapia convencional do tratamento de úlceras venosas sendo relevante salientar que o seu uso pode resultar não só em ganhos para a saúde do utente como também em ganhos económicos, na medida em que as taxas de cicatrização mais rápida e controlo de infeção da ferida se traduzem em menores custos com o tratamento (menor número de tratamentos, menos complicações, menos deslocações aos serviços de saúde, etc.) e menor absentismo ao trabalho e portanto maior produtividade do utente.

Não menos importante será o seguimento rigoroso dos protocolos de ozonoterapia recomendados no documento de consenso internacional de ozonoterapia, nomeadamente a “Declaração de Madrid sobre ozonoterapia” (Schwartz et al., 2010), de forma que estejam asseguradas as condições de segurança tanto para os profissionais como para os utentes.

6. Conclusão

O enfermeiro que cuida do utente portador de úlceras de etiologia venosa deve possuir a habilidade de avaliar o doente na sua totalidade e deve, por outro lado ser detentor de conhecimentos sólidos, baseados na evidência científica que lhe permitam oferecer ao seu cliente o melhor plano de cuidados de acordo com as suas necessidades e com as características da sua ferida.

Sendo a enfermagem uma ciência que procura constantemente a atualização do conhecimento com vista à prática baseada na evidência e cuidados de enfermagem de excelência, considera-se que a pesquisa científica sobre novas abordagens ao tratamento de feridas como é o caso da ozonoterapia tópica se revela pertinente, sobretudo pelos seus efeitos benéficos na cicatrização, controlo da infeção, redução dos custos associados ao tratamento e à possível diminuição da morbilidade associada às feridas crónicas, com conseqüente melhoria na qualidade de vida dos utentes.

Depois da análise do presente estudo, considera-se que se conseguiu dar resposta à questão de investigação com base nos *outcomes* dos estudos avaliados tendo sido verificado após meta-análise que a ozonoterapia tópica tem influência estatisticamente significativa na cicatrização das úlceras venosas comparativamente aos resultados obtidos pela terapia convencional apenas, apresentando $p < 0.00001$, com IC 95% e OR= 7.28 [3.56-14.89], com heterogeneidade moderada entre os estudos, conforme se verificou pelo resultado do $X^2=3.83$ ($p= 0.15$) e pelo $I^2= 48\%$. Observaram-se ainda resultados relevantes na diminuição do tempo de cicatrização e maior redução dos sinais de infeção nos grupos que receberam ozonoterapia tópica em oposição aos resultados dos grupos que receberam apenas terapia convencional, contudo não foi possível realizar meta-análise destes *outcomes* por não haver dados suficientes nos estudos.

Como limitações para a realização desta RSL enumeram-se o baixo número de estudos primários de qualidade sobre o efeito da ozonoterapia tópica usada em úlceras de etiologia venosa, o baixo número de participantes incluídos nas amostras dos três estudos recuperados nesta RSL, a fraca uniformização das intervenções e a impossibilidade da realização de meta-análise de todos os *outcomes* analisados.

Os pontos fortes que se podem enumerar incluem a utilização da metodologia científica rigorosa, seguindo o protocolo estabelecido no início do estudo, a avaliação crítica

dos estudos recuperados: um RCT com avaliação superior a 75% (boa qualidade), com nível de evidência 1 b e grau de recomendação A e dois NRCT avaliados com boa qualidade e nível de evidência 3 b/ grau de recomendação B. Também as implicações para a prática clínica que resultaram deste estudo são consideradas relevantes pois melhores taxas de cicatrização e controlo de infeção são de extrema importância para os ganhos em saúde e ganhos económicos, como já foi referido.

Deixa-se como sugestão a realização de investigações futuras sobre esta temática, com estudos randomizados controlados compostos por amostras de maiores dimensões, com *double-blinding* dos participantes e investigadores e multicêntricos para que se possam generalizar os resultados obtidos com maior fiabilidade.

Uma vez que a qualidade de vida não foi avaliada de forma evidente e específica em nenhum dos estudos apresentados, sugere-se igualmente o seu estudo através da aplicação de uma escala validada para o efeito como é o exemplo do “Esquema Cardiff de impacto da ferida”, que se trata de uma escala que pretende avaliar a qualidade de vida de doentes com feridas crónicas e que se encontra validada para a população portuguesa pelo Centro de Estudos e Investigação em Saúde da Universidade de Coimbra (Ferreira, Miguéns, Gouveia, & Furtado, 2007).

Referências bibliográficas

- Bocci, V., Borrelli, E., Travagli, V., & Zanardi, I. (2009). The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev*, 29(4), 646-682. doi: 10.1002/med.20150
- Bocci, V., Zanardi, I., & Travagli, V. (2011). Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. *Med Gas Res*, 1(1), 6. doi: 10.1186/2045-9912-1-6
- Burgassi, S., Zanardi, I., Travagli, V., Montomoli, E., & Bocci, V. (2009). How much ozone bactericidal activity is compromised by plasma components? *J Appl Microbiol*, 106(5), 1715-1721. doi: 10.1111/j.1365-2672.2008.04141.x
- Calianno, C., & Jakubek, P. (2006). Wound bed preparation: laying the foundation for treating chronic wounds, part I. *Nursing*, 36(2), 70-71.
- Carneiro, A. V. (2008). Como avaliar a investigação clínica o exemplo da avaliação crítica de um ensaio clínico *GE - Jornal Português de Gastrenterologia*, 15, 30-36.
- Carvalho, M. R., Andrade, I. S., Abreu, A. M., Leite Ribeiro, A. P., Peixoto, B. U., & Oliveira, B. G. (2016). All about compression: A literature review. *J Vasc Nurs*, 34(2), 47-53. doi: 10.1016/j.jvn.2015.12.005
- Cepero, S., Moraleda, M., Noci, J., Soler, J., & Re, L. (2015). World Federation of Ozone Therapy's Review on Evidence Based Ozone Therapy. *WFOT Scientific Advisory Committee 2015*, 1, 1-117.
- Colombo, R., D'Angelo, F., Vaghi, M., Callini, E. & Zorzoli, C. (2002). Local treatment of chronic venous ulcers with ozone therapy. Acesso em: https://www.researchgate.net/publication/289262129_Local_treatment_of_chronic_venous_ulcers_with_ozone_therapy.

- CONUEI. (2009). *Documento de Consenso Conferencia Nacional de Consenso sobre Úlceras de Extremidad Inferior*. Paper presented at the CONUEI, Barcelona.
- Duarte, H. Á. (2014). Beneficios de la intervención con ozonoterapia en pacientes con pie diabético neuroinfeccioso. *Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vasculat*, 15(1), 12-21.
- Dupláa, G., & Planas, N. (1991). La Ozonoterapia en el tratamiento de las úlceras crónicas de las extremidades inferiores. *Angiología*, 43(2), 47-50.
- El Aziz, A. S. A., Eweda, S.M.M., El-Gamil, A.S., Kholosy, M.K. (2015). Effect of Ozone Therapy Dressing Technique on the Healing Process of Recent 2nd Degree Burns. *IOSR Journal of Nursing and Health Science*, 4(4), 26-49. doi: DOI: 10.9790/1959-04412649
- Elshenawie, H. A., Shalan, W.E.A., Abdelaziz, A.E. (2013). Effect of Ozone Olive Oil Ointment Dressing Technique on the Healing of Superficial and Deep Diabetic Foot Ulcers *Journal of American Science*, 9(11), 235-250.
- Elvis, A. M., & Ekta, J. S. (2011). Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sci Biol Med*, 2(1), 66-70. doi: 10.4103/0976-9668.82319
- EWMA. (2004). European Wound Management Association - Position Document: Wound Bed Preparation in Practice *MEP Ltd, London*.
- EWMA. (2005). European Wound Management Association - Position Document: Identifying criteria for wound infection. *London: MEP Ltd*.
- Ferreira, P. L., Miguéns, C., Gouveia, J., & Furtado, K. (maio de 2007). Medição da qualidade de vida de doentes com feridas crónicas:a Escala de Cicatrização da Ulcera de Pressão e o Esquema Cardiff de Impacto da Ferida. *Nursing*, pp. 32-41.
- Galvão, T. F., & Pereira, M. G. (2014). Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 23, 183-184.

- Gonzalez, E. R. (2012). Ozonoterapia en flebología. *Flebología y Linfología - lecturas vasculares*, 7(17), 1029-1033.
- Gracia, M. A. A., Escuer, M. S. B., Sierra, M. C., Domeque, L. G., Espot, A. G., & Porté, M. T. M. (2012). *Heridas crónicas: un abordaje integral* (C. O. d. E. d. Huesca Ed.): Colegio Oficial de Enfermería de Huesca.
- Gutiérrez, J. A. V., Diaz, N. P., Montequín, Z. F., Negrín, J. S., & Arias, A. S. (2009). Aceite ozonizado: alternativa efectiva para las úlceras varicosas de miembros inferiores en Atención Primaria. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 13, 18-24.
- Harriet W. Hopf, M. D. R. (2007). Wounds: An Overview of the Role of Oxygen. *Antioxidants & Redox signaling*, 9(8), 1183-1192. doi: 10.1089/ars.2007.1641
- Hernández, O. D., & González, R. C. (2001). Ozonoterapia en úlceras flebostáticas. *Revista Cubana de Cirugía*, 40, 123-129.
- Higgins, J., & Green, S. (2011). Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [updated March 2011]. *The Cochrane Collaboration*.
www.handbook.cochrane.org.
- Institute, T. J. B. [JBI], (2016). Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual: 2016 edition. Australia: The Joanna Briggs Institute, p.1- 6. Acesso em <http://joannabriggs.org/research/critical-appraisal-tools.html>
- Landis, S. J. (2008). Chronic wound infection and antimicrobial use. *Adv Skin Wound Care*, 21(11), 531-540; quiz 541-532. doi: 10.1097/01.ASW.0000323578.87700.a5
- Laureano, A., & Rodrigues, A. M. (2011). Cicatrização de feridas. *Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia*; v. 69, n. 3 (2011): Julho - Setembro.
- Liu, J., Zhang, P., Tian, J., Li, L., Li, J., Tian, J.H., & Yang, K. (2015). Ozone therapy for treating foot ulcers in people with diabetes. *Cochrane Database Syst Rev*(10), Cd008474. doi: 10.1002/14651858.CD008474.pub2

- Martínez-Sánchez, G. (2013). La ozonoterapia gana evidencias científicas en el campo clínico. *Revista Cubana de Farmacia*, 47, 1-4.
- O'Donnell, T. F., Jr., Passman, M. A., Marston, W. A., Ennis, W. J., Dalsing, M., Kistner, R. L., . . . Gloviczki, P. (2014). Management of venous leg ulcers: clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery (R) and the American Venous Forum. *J Vasc Surg*, 60(2 Suppl), 3s-59s. doi: 10.1016/j.jvs.2014.04.049
- O'Meara, S., Al-Kurdi, D., Ologun, Y., Ovington, L. G., Martyn-St James, M., & Richardson, R. (2014). Antibiotics and antiseptics for venous leg ulcers. *Cochrane Database Syst Rev*(1), Cd003557. doi: 10.1002/14651858.CD003557.pub5
- O'Meara, S., Cullum, N., Nelson, E. A., & Dumville, J. C. (2012). Compression for venous leg ulcers. *Cochrane Database Syst Rev*, 11, Cd000265. doi: 10.1002/14651858.CD000265.pub3
- Ousey, K., & McIntosh, C. (2009). Topical antimicrobial agents for the treatment of chronic wounds. *Br J Community Nurs*, 14(9), p. 6-15. doi: 10.12968/bjcn.2009.14.Sup4.43909
- Pina, E., Furtado, K., Frank, P. J., & Moffat, C. J. (2004). Úlceras de perna em Portugal: Um problema de saúde subestimado. *Revista Portuguesa de Cirurgia Cardio-Torácica e Vascular*, XI(4), 217-221.
- Portaria nº 20/2014 de 29 de janeiro, Diário da República, 1.ª série - n.º 20 - 29 de janeiro de 2014. Ministério da Saúde. Lisboa.
- Ricerca & Sviluppo-Erbagil. (??). Valutazione dell'efficacia di Rigenoma spray® e crema® a base di Ozoile® (ozono topico stabilizzato in acido oleico con vitamina e acetato) nel processo di riparazione tessutale di lesioni croniche cutanee dermo-epidermiche ad eziologia venosa. Acesso em 10/11/2016, <http://www.erbagil.com/it/ozoile-in-rigenoma-spray.php>.

- Rodrigues, K. L., Cardoso, C. C., Caputo, L. R., Carvalho, J. C., Fiorini, J. E., & Schneedorf, J. M. (2004). Cicatrizing and antimicrobial properties of an ozonised oil from sunflower seeds. *Inflammopharmacology*, 12(3), 261-270. doi: 10.1163/1568560042342275
- Roque, A., Bugalho, A., & Carneiro, A. V. (2007). Manual de Elaboração, Disseminação e Implementação de Normas de Orientação Clínica. Lisboa: Centro de Estudos de Medicina Baseada na Evidência - Faculdade de Medicina de Lisboa. Acesso em <http://www.cembe.org/avc/pt/docs/Manual%20de%20NOCs%20CEMBE%202007.pdf>
- Rosales, F. J. M. (2008). *Ozono en el tratamiento de la infección y cicatrización de úlceras en pie diabético*. (Maestría en ciencias médicas), Universidad de Colima, Colima, Mexico. Acesso em <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4828957.pdf> (R 2005-0601-19)
- Santos, E., Cunha, M. (2013). Interpretação Crítica dos Resultados Estatísticos de uma Meta-Análise: Estratégias Metodológicas. *Millenium*, 44(janeiro/junho), 85-98.
- Schwartz, A., Güémez, F.A., Nazarov, S.E.I., Viebahn-Haensler, R., Rieck, A.E., Stefan, T. (2010). *Madrid declaration on ozone therapy* (2nd ed.). Madrid: ISCO³.
- Sechi, L. A., Lezcano, I., Nunez, N., Espim, M., Dupre, I., Pinna, A., Zanetti, S. (2001). Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozone). *J Appl Microbiol*, 90(2), 279-284.
- Sibbald, R. G., Woo, K., & Ayello, E. A. (2006). Increased bacterial burden and infection: the story of NERDS and STONES. *Adv Skin Wound Care*, 19(8), 447-461; quiz 461-443.
- Skalska, K., Ledakowicz, Stanisaw, Perkowski, Jan and Sencio, Barbara. (2009). Germicidal Properties of Ozonated Sunflower Oil. *Ozone: Science & Engineering*, 31(3), 232-237. doi: 10.1080/01919510902838669

- Solovastru, L. G., Stincanu, A., De Ascentii, A., Cappare, G., Mattana, P., & Vata, D. (2015). Randomized, controlled study of innovative spray formulation containing ozonated oil and alpha-bisabolol in the topical treatment of chronic venous leg ulcers. *Adv Skin Wound Care*, 28 (9), 406-409. doi: 10.1097/01.ASW.0000470155.29821.ed.
- Travagli, V., Zanardi, I., Valacchi, G., & Bocci, V. (2010). Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. *Mediators Inflamm*, 2010, 610418. doi: 10.1155/2010/610418
- Valacchi, G., Fortino, V., & Bocci, V. (2005). The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol*, 153(6), 1096-1100. doi: 10.1111/j.1365-2133.2005.06939.x
- Van Gent, W. B., Wilschut, E. D., & Wittens, C. (2010). Management of venous ulcer disease. *Bmj*, 341, c6045. doi: 10.1136/bmj.c6045
- Viebahn-Hansler, R., Fernandez, O. S. L., & Fahmy, Z. (2012). Ozone in Medicine: The Low-Dose Ozone Concept-Guidelines and Treatment Strategies. *Ozone-Science & Engineering*, 34(6), 408-424. doi: 10.1080/01919512.2012.717847.
- Zhang, J., Guan, M., Xie, C., Luo, X., Zhang, Q., & Xue, Y. (2014). Increased growth factors play a role in wound healing promoted by noninvasive oxygen-ozone therapy in diabetic patients with foot ulcers. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 273475. doi: 10.1155/2014/273475.

Anexos

Anexo I – Pesquisa na base de dados PubMed

Component	MeSH terms	Results
<p>P</p> <p>Portadores de úlcera de perna etiologia venosa</p>	<p>"Leg Ulcer" [MeSH Terms] OR "varicose veins"[MeSH Terms] OR varicose vein[Text Word] OR "varicose ulcer" [MeSH Terms]</p> <p>String:</p> <p>((("Leg Ulcer" [MeSH Terms] AND Humans[Mesh])) OR ((("Leg Ulcer" [MeSH Terms] OR "varicose veins"[MeSH Terms] OR varicose vein[Text Word] OR "varicose ulcer" [MeSH Terms])) AND Humans[Mesh])) OR (("venous leg ulcer" OR "Varicose Ulcer" OR "hypertension leg ulcer" OR "venous stasis ulcer" OR "varicose veins"))) OR (("Leg ulcer" OR "varicose ulcer"))</p>	<p><u>33096</u></p>
<p>I</p> <p>Ozonoterapia tópica</p>	<p>"ozone"[MeSH Terms] OR ozone[Text Word]</p> <p>"therapeutic uses"[MeSH Terms]</p> <p>String:</p> <p>((ozone) OR (("ozone therapy" OR "ozonotherapy" OR "ozone" OR "ozone oil" OR "oxygen-ozone mixture" OR "gaseous ozone" OR "ozonide" OR "topical ozone" OR "ozone bag" OR "ozone water" OR "ozone saline" OR "ozone water"))) OR "ozone"[MeSH Terms]</p>	<p><u>18843</u></p>
<p>C</p>	<p>"wounds and injuries"[MeSH Terms] OR wound[Text Word] AND closure[All Fields]</p> <p>"negative-pressure wound therapy"[MeSH Terms] OR negative pressure wound therapies[Text Word]</p> <p>"occlusive dressings"[MeSH Terms] OR occlusive dressing[Text Word]</p> <p>"compression bandages"[MeSH Terms] OR compression bandages[Text Word]</p> <p>"anti-infective agents, local"[All Fields] OR "anti-infective agents, local"[MeSH Terms]</p> <p>"anti-infective agents"[All Fields] OR "anti-infective agents"[MeSH Terms] OR anti-infective agents[Text Word]</p>	<p>Não foi utilizado o comparador.</p>
<p>O</p>	<p>"wound healing"[MeSH Terms] OR wound healing[Text Word]</p> <p>"re-epithelialization"[MeSH Terms] OR epithelialization[Text Word]</p> <p>"granulation tissue"[MeSH Terms] OR granulation tissue[Text Word]</p> <p>"bacterial load"[MeSH Terms] OR bacterial load[Text Word]</p> <p>"pain"[MeSH Terms] OR pain[Text Word]</p>	

	<p>"life"[MeSH Terms] OR life[Text Word]</p> <p>"Quality of Life"</p> <p>String:</p> <p>(((((("wound healing"[MeSH Terms] OR "re-epithelialization"[MeSH Terms] OR "granulation tissue"[MeSH Terms] OR ("wound size" OR "wound healing rate" OR "cicatrizacion" OR "cicatrizacion rate")) OR ("Healing, Wound" OR "Healings, Wound" OR "Wound Healings" OR "Re-Epithelialization" OR "Wound Epithelialization" OR "Epithelialization, Wound Granulation Tissues" OR "Tissue, Granulation" OR "Tissues, Granulation")) OR "bacterial load"[MeSH Terms] OR "wound infection"[MeSH Terms] OR ("wound infection" OR "infection rate" OR "bacterial load")) OR ("bacterial biofilm" OR "biofilm"))</p>	<u>230546</u>
D	<p>"randomized controlled trial"[Publication Type] OR "randomized controlled trials as topic"[MeSH Terms] OR "randomized controlled trial"[All Fields]</p> <p>"clinical trial"[Publication Type] OR "clinical trials as topic"[MeSH Terms] OR "clinical trial"[All Fields]</p> <p>"review"[Publication Type] OR "review literature as topic"[MeSH Terms] OR "systematic review"[All Fields]</p>	

String final:

(((((("Leg Ulcer"[MeSH Terms] AND Humans[Mesh])) OR ((("Leg Ulcer"[MeSH Terms] OR "varicose veins"[MeSH Terms] OR varicose vein[Text Word] OR "varicose ulcer"[MeSH Terms]) AND Humans[Mesh])) OR ((("venous leg ulcer" OR "Varicose Ulcer" OR "hypertension leg ulcer" OR "venous stasis ulcer" OR "varicose veins")) OR ((("Leg ulcer" OR "varicose ulcer")) AND (((ozone) OR ((("ozone therapy" OR "ozonotherapy" OR "ozone" OR "ozonized oil" OR "oxygen-ozone mixture" OR "gaseous ozone" OR "ozonide" OR "topical ozone" OR "ozone bag" OR "ozone water" OR "ozonized saline" OR "ozonized water")) OR "ozone"[MeSH Terms]) AND ((((((("wound healing"[MeSH Terms] OR "re-epithelialization"[MeSH Terms] OR "granulation tissue"[MeSH Terms] OR ("wound size" OR "wound healing rate" OR "cicatrizacion" OR "cicatrizacion rate")) OR ((("Healing, Wound" OR "Healing, Wound" OR "Wound Healing" OR "Re-Epithelialization" OR "Wound Epithelialization" OR "Epithelialization, Wound Granulation Tissues" OR "Tissue, Granulation" OR "Tissues, Granulation")) OR "bacterial load"[MeSH Terms] OR "wound infection"[MeSH Terms] OR ((("wound infection" OR "infection rate" OR "bacterial load")) OR ((("bacterial biofilm" OR "biofilm"))

Results = 11

Anexo II – Avaliação crítica dos estudos incluídos no corpus desta RSL

**Avaliação crítica do estudo S1 - Hernández, O. D., & González, R. C. (2001).
Ozonoterapia en úlceras flebostáticas. *Revista Cubana de Cirugía*, 40, 123-129.**

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Is it clear in the study what is the 'cause' and what is the 'effect' (i.e. there is no confusion about which variable comes first)?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were the participants included in any comparisons similar?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Were the participants included in any comparisons receiving similar treatment/care, other than the exposure or intervention of interest?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Was there a control group?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Were there multiple measurements of the outcome both pre and post the intervention/exposure?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Was follow-up complete, and if not, was follow-up adequately reported and strategies to deal with loss to follow-up employed?	<input type="checkbox"/>	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Were the outcomes of participants included in any comparisons measured in the same way?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Were outcomes measured in a reliable way?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was appropriate statistical analysis used?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Overall appraisal: Include Exclude Seek further info

Comments (Including reason for exclusion): Estudo considerado de boa qualidade por apresentar apenas 1 avaliação negativa.

Fonte: Institute, T. J. B. [JBI], (2016). Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual: 2016 edition. Australia: The Joanna Briggs Institute, p.1- 6. Acesso em <http://joannabriggs.org/research/critical-appraisal-tools.html>

Avaliação crítica do estudo S2 - Gutiérrez, J. A. V., Diaz, N. P., Montequín, Z. F., Negrín, J. S., & Arias, A. M. (2009). Aceite ozonizado: alternativa efectiva para las úlceras varicosas de miembros inferiores en Atención Primaria. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 13, 18-24.

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Is it clear in the study what is the 'cause' and what is the 'effect' (i.e. there is no confusion about which variable comes first)?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were the participants included in any comparisons similar?	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Were the participants included in any comparisons receiving similar treatment/care, other than the exposure or intervention of interest?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Was there a control group?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Were there multiple measurements of the outcome both pre and post the intervention/exposure?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Was follow-up complete, and if not, was follow-up adequately reported and strategies to deal with loss to follow-up employed?	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Were the outcomes of participants included in any comparisons measured in the same way?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Were outcomes measured in a reliable way?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was appropriate statistical analysis used?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Overall appraisal: Include Exclude Seek further info

Comments (Including reason for exclusion): Estudo considerado de boa qualidade por apresentar apenas 2 avaliações negativas.

Fonte: Institute, T. J. B. [JBI], (2016). Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual: 2016 edition. Australia: The Joanna Briggs Institute, p.1- 6. Acesso em <http://joannabriggs.org/research/critical-appraisal-tools.html>

Avaliação crítica do estudo S3 - Solovastru, L. G., Stincanu, A., De Ascentii, A., Cappare, G., Mattana, P., & Vata, D. (2015). Randomized, controlled study of innovative spray formulation containing ozonated oil and alpha-bisabolol in the topical treatment of chronic venous leg ulcers. *Adv Skin Wound Care*, 28 (9), 406-409. Doi: 10.1097/01.ASW.0000470155.29821.ed.

VALIDADE DOS RESULTADOS	S	?	N	n/a
1. A gama de doentes foi bem definida?	②	1	0	n/a
2. O diagnóstico da doença estava bem caracterizado?	②	1	0	n/a
3. Os critérios de inclusão e exclusão são lógicos e claros?	②	1	0	n/a
4. Os doentes foram aleatorizados?	②	1	0	n/a
5. A aleatorização foi ocultada?	2	①	0	n/a
6. Os doentes foram analisados nos grupos para os quais tinham sido aleatorizados inicialmente (intenção de tratar)?	②	1	0	n/a
7. O método de aleatorização foi explicado?	2	1	①	n/a
8. A dimensão da amostra foi estatisticamente calculada?	2	1	①	n/a
9. Os doentes nos grupos em comparação eram semelhantes em termos dos seus fatores de prognóstico conhecidos?	②	1	0	n/a
10. Com exceção do tratamento em estudo, todos os doentes foram tratados da mesma maneira?	②	1	0	n/a
11. Foi ocultado aos doentes o grupo a que pertenciam?	2	①	0	n/a
12. Foram ocultados aos investigadores os grupos em estudo?	2	①	0	n/a
13. Foram ocultados aos analisadores dos dados os grupos em estudo?	2	①	0	n/a
14. O seguimento (<i>follow-up</i>) final superior a 80%?	②	1	0	n/a
IMPORTÂNCIA DOS RESULTADOS				
15. A dimensão do efeito terapêutico (RRR, RRA, NNT) foi importante?	2	①	0	n/a
16. A estimativa do efeito é suficientemente precisa (IC)?	②	1	0	n/a
17. Esse efeito tem importância clínica?	②	1	0	n/a
APLICABILIDADE DOS RESULTADOS				
18. Os doentes do estudo são semelhantes aos da prática clínica do método individual?	②	1	0	n/a
19. Foram considerados todos os resultados clínicos importantes?	②	1	0	n/a
20. Os benefícios do tratamento sobrepõem-se aos potenciais riscos e custos da sua implementação?	②	1	0	n/a
Marcar o código apropriado: 2 – Resposta afirmativa = sim; 1 – Pouco claro/ possivelmente; 0 – Resposta negativa = não; n/a – Não aplicável.				
Score total (soma dos scores atribuídos) ----- [A]				
Nº de questões aplicáveis (máx. 20) ----- [B]				
Score máximo possível (2 x B) ----- [C]				
CLASSIFICAÇÃO FINAL (A/C em %) -----%				

Fonte: Carneiro, A. V. (2008). Como avaliar a investigação clínica: o exemplo da avaliação crítica de um ensaio clínico *GE - Jornal Português de Gastreenterologia*, 15, 30-36.

$$[A] = 31$$

$$[B] = 40$$

$$[C] = 2 \times 20 = 40$$

$$\text{Classificação} = \frac{31}{40} = 78\%$$

Anexo III – Avaliação crítica do estudo excluído da meta-análise

S4 – Ricerca & Sviluppo-Erbagil. (?). Valutazione dell'efficacia di Rigenoma spray® e crema® a base di Ozoile® (ozono topico stabilizzato in acido oleico con vitamina e acetato) nel processo di riparazione tessutale di lesioni croniche cutanee dermo-epidermiche ad eziologia venosa.

Acesso em 10/11/2016, <http://www.erbagil.com/it/ozoile-in-rigenoma-spray.php>.

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Is it clear in the study what is the 'cause' and what is the 'effect' (i.e. there is no confusion about which variable comes first)?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were the participants included in any comparisons similar?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Were the participants included in any comparisons receiving similar treatment/care, other than the exposure or intervention of interest?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Was there a control group?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Were there multiple measurements of the outcome both pre and post the intervention/exposure?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Was follow-up complete, and if not, was follow-up adequately reported and strategies to deal with loss to follow-up employed?	<input type="checkbox"/>	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Were the outcomes of participants included in any comparisons measured in the same way?	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Were outcomes measured in a reliable way?	<input type="checkbox"/>	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was appropriate statistical analysis used?	<input type="checkbox"/>	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Overall appraisal: Include Exclude **X** Seek further info

Comments (Including reason for exclusion): Estudo excluído por apresentar mais de duas avaliações negativas, logo não apresenta boa qualidade.

Fonte: Institute, T. J. B. [JBI], (2016). Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual: 2016 edition. Australia: The Joanna Briggs Institute, p.1- 6. Acesso em <http://joannabriggs.org/research/critical-appraisal-tools.html>