

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n9a412.1-14>

Potencial antimicrobiano do ozônio: aplicações e perspectivas em medicina veterinária

Eduardo de Paula Nascente^{1*}, Sarah Rodrigues Chagas¹, Andréia Vanessa Cândida Pessoa², Moema Pacheco Chediak Matos³, Maria Auxiliadora Andrade⁴, Livia Mendonça Pascoal⁵

¹Aluno(a) do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás. Goiânia – GO, Brasil.

²Aluna de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia. Goiânia – GO, Brasil.

³Professora Adjunta na Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Setor de Patologia Animal. Goiânia – GO, Brasil.

⁴Professora Titular na Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Setor de Medicina Veterinária Preventiva. Goiânia – GO, Brasil.

⁵Professora Adjunta na Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Setor de Medicina Veterinária Preventiva. Goiânia – GO, Brasil.
Autor para correspondência, E-mail: eduardodepaula100@gmail.com

Resumo. Com o surgimento de novos microrganismos resistentes à antimicrobianos e desinfetantes, intensificou-se a busca por métodos alternativos, que sejam eficientes na destruição microbiana e ambientalmente sustentáveis. O ozônio surge nesse cenário pelo seu elevado potencial oxidativo, sendo eficaz na inativação e destruição de bactérias, vírus, fungos e até mesmo em parasitos. É utilizado como desinfetante em diversos ramos industriais, no tratamento de águas residuais e, recentemente, tem sido investigado sua aplicabilidade em medicina veterinária. Atividades experimentais demonstram seu elevado potencial antibacteriano na terapêutica veterinária, como método de desinfecção de ambientes nos diferentes segmentos de produção animal, no tratamento de água na atividade aquícola e, na inocuidade de alimentos, aumentando a segurança de alimentos de origem animal.

Palavras-chave: agente oxidativo, desinfecção, inativação bacteriana, ozonioterapia, ozonização

Antimicrobial potential of ozone: perspectives and uses in veterinary medicine

Abstract. When multidrug-resistant microorganisms emerged, the search for alternative methods that are able to destroy microorganisms and are environmentally sustainable has intensified. Ozone appears in this scenario for its high oxidative potential, being effective in inactivating and destroying bacteria, viruses, fungi, and even parasites. It is used as a disinfectant in many industries and in wastewater treatment. Recently, its applicability in veterinary medicine has been investigated. Experimental activities showed its high antibacterial potential in veterinary therapy, as a method for environmental disinfection in livestock and water treatment in fish farms. In summary, ozone contributes to increasing safety of food of animal origin.

Keywords: oxidative agent, disinfection, bacterial inactivation, ozone therapy, ozonation

Potencial antimicrobiano del ozono: perspectivas y usos en la medicina veterinaria

Resumen. Con el surgimiento de los microorganismos resistentes a los antimicrobianos y desinfetantes, la búsqueda por métodos alternativos que sean eficientes en la destrucción microbiana y ambientalmente sostenibles se ha intensificado. El ozono emerge en este escenario por su alto potencial de oxidación, y por eso es efectivo para inactivar y destruir

bacterias, virus, hongos e incluso parásitos. Es utilizado como desinfectante en diversas industrias y en el tratamiento de agua. Recientemente, su aplicabilidad en la medicina veterinaria fue investigada. Las investigaciones muestran su alto potencial antibacteriano en la terapia veterinaria, siendo un método para desinfectar ambientes en diferentes segmentos de producción animal, en el tratamiento de agua de los pescados y en la inocuidad de alimentos, aumentando la seguridad de los alimentos de origen animal.

Palabras clave: agente oxidativo, desinfección, inactivación bacteriana, ozonoterapia, ozonización

Introdução

O desenvolvimento de microrganismos resistentes a ação de desinfetantes e fármacos antimicrobianos, associados ao surgimento de novos agentes patogênicos, representam uma das maiores ameaças à saúde de seres humanos e animais. A Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2017, divulgou pela primeira vez a classificação de bactérias ou famílias bacterianas resistentes a maioria das drogas utilizadas, considerando que a produção de antimicrobianos tem se restringido a uma pequena quantidade de compostos químicos (Willyard, 2017).

Apesar dos incentivos para o desenvolvimento de novas drogas e desinfetantes eficazes no controle de microrganismos, novas tecnologias ambientalmente sustentáveis vêm sendo estudadas. Dentre elas, o uso de campo elétrico pulsado, aquecimento ôhmico, técnica de plasma coloidal, processamento de alta pressão, tratamento com luz ultravioleta, luz pulsada e ozonização (Cullen et al., 2010; Djuricic et al., 2016; Pandiselvam et al., 2017; Yuan et al., 2015). Devido ao potencial oxidativo superior a maioria dos desinfetantes comerciais, o ozônio é explorado desde o século XIX, principalmente com enfoque no tratamento de águas e efluentes dos grandes centros urbanos europeus (Bocci, 2010). É um gás de coloração azul celeste, parcialmente solúvel em água e altamente instável, decompondo-se rapidamente em oxigênio, não podendo assim, ser produzido em grandes quantidades sem ser de forma contínua (Manley, 1967). As reações de ozonização com a matéria orgânica ou inorgânica podem ocorrer de forma direta, utilizando o ozônio molecular, ou de forma indireta, por meio dos radicais hidroxila formados (Manley, 1967). Devido a isso, possui a capacidade de oxidar uma série de elementos orgânicos e inorgânicos, apresentando elevado potencial de oxidação (2,07 mV), inferior somente ao flúor e superior a outros oxidantes utilizados como desinfetantes, como o peróxido de hidrogênio e cloro (HF, 1978; Souza, 2006). O ozônio tem sido estudado há décadas em medicina e ciências biológicas, tornando-se um agente terapêutico versátil, auxiliando no tratamento de diversas enfermidades (Bocci, 2010). Além disso, devido às suas propriedades germicidas, promove a destruição de espécies microbianas e é aplicado atualmente em diferentes ramos da indústria de alimentos, tanto na desinfecção de ambientes quanto na manufatura de produtos (Pandiselvam et al., 2018). Usado também em estações de tratamento de águas residuais (Chys et al., 2018), no tratamento coadjuvante na terapêutica veterinária (Constantin & Birtoiu, 2016) e nas diversas áreas de engenharias (Al jibouri et al., 2017). Porém, ainda é necessário maior elucidação sobre seu uso, pois na maioria das vezes é utilizado empiricamente, com inúmeros desafios devido às características de produção e manuseio deste gás (Bocci, 2010).

Visando sua importância em medicina veterinária, principalmente como método de desinfecção, objetiva-se com esta revisão elucidar os mecanismos de ação do ozônio contra microrganismos de importância em saúde animal e humana, bem como, as principais aplicações e perspectivas em medicina veterinária, com enfoque em sanidade animal e segurança de alimentos de origem animal.

Potencial antimicrobiano

A propriedade antimicrobiana do ozônio é reconhecida desde a década de 1890, quando foi observada sua capacidade de destruir bactérias durante o tratamento de efluentes na Europa (Foundation. et al., 1991). Desde então, a atuação do ozônio contra diversos agentes microbianos vem sendo estudada até hoje, desde bactérias, fungos e vírus (Quadro 1) e até mesmo frente a protozoários e parasitos de importância em saúde humana e animal. Com isso, as aplicações do ozônio tornaram-se diversificadas, não se restringindo somente ao tratamento de águas e efluentes industriais.

O potencial desinfetante do ozônio é atribuído à sua capacidade de promover a ruptura das paredes celulares, extravasamento de íons e de moléculas intracelulares, desencadeando a morte celular (Zhang et al., 2016). Estudos apontam que o ozônio influencia na polaridade global da superfície bacteriana (Feng et al., 2018), envolvendo mecanismos de peroxidação lipídica (Ersoy et al., 2019; Han et al., 2016) e degradação de proteínas transmembrana que controlam o fluxo de íons. Assim, haverá ruptura das células, extravasamento de íons entre os meios, resultando na morte do microrganismo (Zhang et al., 2011). O alto potencial oxidativo do ozônio contribui para mudanças no potencial zeta, propriedade física aplicada na avaliação do grau de eletronegatividade periférica na superfície celular quando suspensa em um fluido (Yu et al., 2017). No estudo realizado por Feng et al. (2018), à medida que a dose de ozônio aumenta, o potencial zeta tende a diminuir, tornando-se negativo e causando maior instabilidade da bactéria no meio. Assim, acredita-se que o ozônio altera a polaridade da superfície bacteriana, de forma que os íons da água ozonizada encontram afinidade com a parede celular, atuando como o primeiro mecanismo envolvido na ruptura celular (Feng et al., 2018; Halder et al., 2015).

Quadro 1. Ação do ozônio na inibição do crescimento de diferentes microrganismos (bactérias, fungos e vírus)

	Microrganismo	Meio	Concentração de Ozônio	Redução microbiana	Referência
Bactérias	<i>Salmonella Agona</i> e <i>Saintpaul</i>	Aquoso	5 mgL ⁻¹	2 log ₁₀ UFC/ml	(Mohammad et al., 2019)
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Aquoso	35 e 45 mgL ⁻¹	1,5 log ₁₀ UFC/ml	(Souza et al., 2019)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Aquoso	4000µg/mL	Redução de 99,6%	(Giuliani et al., 2018)
	<i>Escherichia coli</i>	Aquoso	0,5 e 1,0 mgL ⁻¹	Até 5 log ₁₀ UFC/ml	(Arayan et al., 2017)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Aquoso	0,5 mgL ⁻¹	3-4 log ₁₀ UFC/ml	(Kanaan, 2018)
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Aquoso	4 mgL ⁻¹	3,2 log ₁₀ UFC/ml	(Hess & Gallert, 2015)
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Aquoso	4 mgL ⁻¹	3 log ₁₀ UFC/ml	(Hess & Gallert, 2015)
	<i>Bacillus subtilis</i>	Aquoso	1.0 mgL ⁻¹	5,6 log ₁₀ UFC/ml	(Cavalcante et al., 2014a)
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Aquoso	1,4 e 1,9 mgL ⁻¹	4-6 log ₁₀ UFC/ml	(Selma et al., 2006)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gás	0,1 mgL ⁻¹	4 log ₁₀ UFC/ml	(Choudhury et al., 2018)
	<i>Streptococcus mutans</i>	Gás	≥ 20 ppm	> 3 log ₁₀	(Ximenes et al., 2017)
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Gás	3 mgL ⁻¹	Até 5 log ₁₀ UFC/ml	(Song et al., 2015)
	<i>Salmonella Tiphymurium</i>	Gás	3 mgL ⁻¹	Até 4,8 log ₁₀ UFC/ml	(Song et al., 2015)
	<i>Campylobacter jejuni</i>	Gás	2000 mg/h	1,16 log ₁₀ UFC/ml	(Faltyn et al., 2015)
	<i>Listeria inoocua</i>	Gás	10 e 50 mgL ⁻¹	> 1 log ₁₀ UFC/ml	(Wani et al., 2015)
Fungos	<i>Candida</i> spp.	Aquoso	0,9 e 0,12 mgL ⁻¹	Redução de 100%	(Livingston et al., 2018)
	<i>Penicillium</i> spp.	Gás	2,14 mgL ⁻¹	Redução de 94%	(Brito Júnior et al., 2018)
	<i>Aspergillus flavus</i>	Gás	40 e 60 µmol / mol	Redução de até 98%	(Silva et al., 2018)
	<i>Fusarium</i> spp.	Gás	40 e 60 mg/kg	Redução de 93%	(Piacentini et al., 2017)
Vírus	Norovírus murino	Gás	3 mgL ⁻¹	3,3 log ₁₀	(Brie et al., 2018)
	Adenovírus humano tipo 2	Gás	1 mgL ⁻¹	4 log ₁₀	(Sigmon et al., 2015)
	Herpesvírus Bovino tipo 1	Gás	0.02 e 0.05 ppm	Redução de 99,62%	(Petry et al., 2014)
	Vírus da Influenza	Gás	10 e 20 ppm	Redução de 99%	(Tanaka et al., 2009)
	Estomatite vesicular	Gás	0.4 - 1.6 mmol/L	6 log ₁₀	(Wagner et al., 1991)

O ozônio é um gás com capacidade de oxidar glicolipídeos, glicoproteínas e aminoácidos da parede celular, destruindo grupos sulfidrilas das enzimas para causar o colapso da atividade enzimática celular (Nagayoshi et al., 2004; Russell, 2003). Entretanto, os ácidos graxos insaturados são considerados os maiores alvos das espécies reativas de oxigênio, ocorrendo a destruição das duplas ligações dos carbonos. Com isso, haverá a produção de peróxidos, como o malondialdeído, que conseguem reagir com o conteúdo intracelular e se ligarem principalmente a algumas proteínas, resultando na degradação proteica (Bocci, 2010; Ersoy et al., 2019). Assim, a destruição de proteínas transmembrana altera a transferência de íons de potássio e, conseqüentemente, a permeabilidade da membrana celular (Ersoy et al., 2019; Zhang et al., 2011).

Quando a parede celular é danificada (Figura 1), ocorrem várias alterações bioquímicas e moleculares no microrganismo, que muitas vezes são utilizadas como parâmetros de avaliação de integridade celular, conforme demonstrado por Feng et al. (2018). Estes autores observaram o aumento da lactato desidrogenase em *Vibrio parahaemolyticus* exposto ao ozônio, ocorrendo possivelmente pelo seu extravasamento do espaço intracelular para o extracelular. Outras enzimas que têm sua concentração aumentada mesmo em baixas concentrações do ozônio, incluem a superóxido dismutase e a catalase, ambas envolvidas na decomposição de espécies reativas de oxigênio pela ação do ozônio (Feng et al., 2018; Kang, 2015).

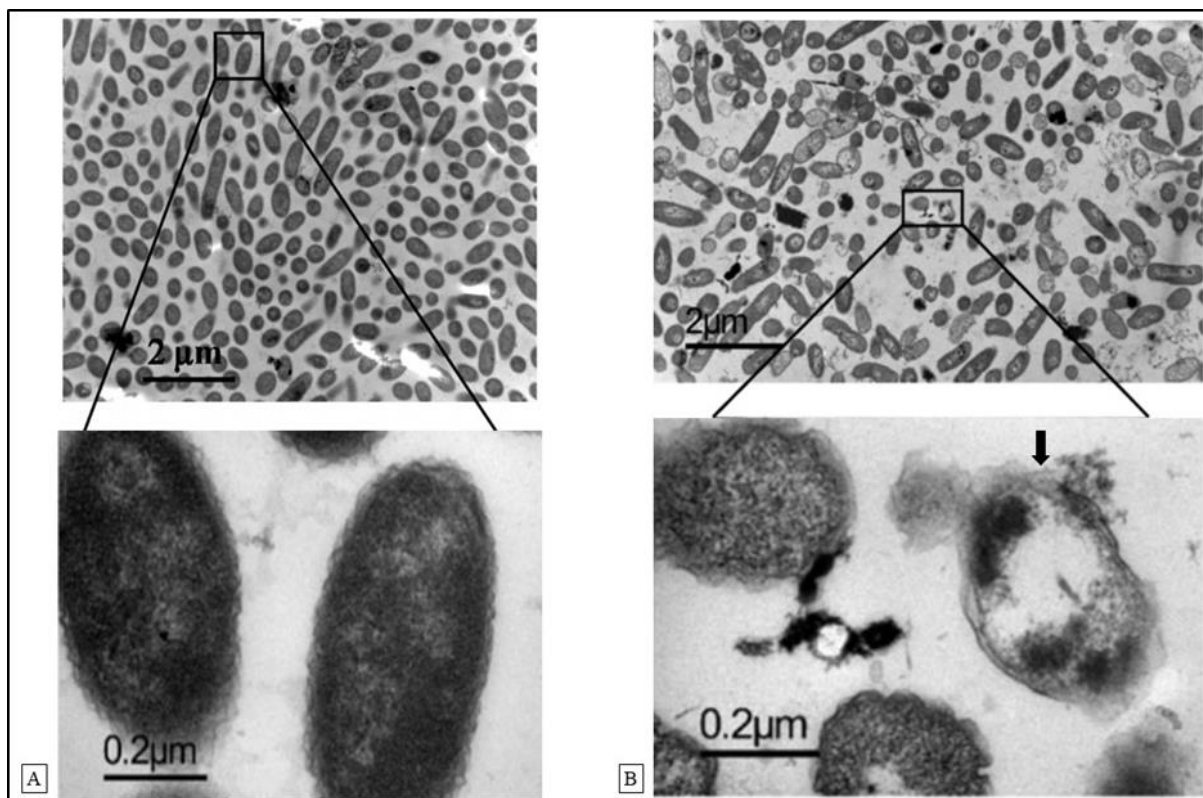


Figura 1. Micrografias de microscopia de transmissão eletrônica de *Vibrio parahaemolyticus* sem exposição ao ozônio (A) e com exposição à água ozonizada (B), evidenciando a menor densidade bacteriana e alterações da morfologia celular, como formação de vesículas e ruptura da parede celular (seta preta). Fonte: Feng et al. (2018).

O ozônio parece ter maior especificidade em bactérias gram-negativas (Tordiglione et al., 2014). Já foi demonstrado que peptidoglicanos, principalmente o N-acetil-glicosamina, apresentam resistência ao ozônio em soluções com pH ácido-neutro (Perez et al., 1995). Como essas moléculas são encontradas em maior quantidade na parede celular de bactérias gram-positivas e capsídeos virais, explica-se em parte, a menor resistência das gram-negativas, que possuem uma parede celular menos rígida e com maior quantidade de lipoproteínas e lipopolissacarídeos (Thanomsub et al., 2002).

Estudos realizados por Zhang et al. (2016) e Giuliani et al. (2018) contradizem essa hipótese. Ao avaliarem o comportamento na destruição destas duas classes de bactérias, os trabalhos relataram que a ozonização foi mais eficiente na destruição das bactérias gram-positivas. Assim, os autores apontam que novos estudos devem ser realizados para reavaliarem esse comportamento, levando em consideração as características individuais de cada microrganismo. Dentre eles, a quantidade e interação com lipídeos e lipoproteínas da parede celular das bactérias gram-negativas e o comportamento das diferentes proteínas de membrana (Ersoy et al., 2019; Komanapalli & Lau, 1998).

Recentemente, Wolf et al. (2018) demonstraram o elevado potencial de desinfecção do ozônio na inativação de uma diversidade genômica de enterovírus (Adenovírus humano, Echovírus e Coxsackievírus) presente em águas residuais. Estes autores observaram ainda efeitos positivos na inativação de bacteriófagos e que podem haver diferenças na resposta entre vírus intimamente relacionados, mesmo que sejam do mesmo grupo genético. Essas respostas são explicadas pela

coagulação proteica ocasionada pelo ozônio, visto que alteram as cadeias polipeptídicas do capsídeo proteico (Ishizaki et al., 1981). Além disso, oxida ácidos nucleicos por reações diretas com a timina, guanina e uracila, liberando íons, carboidratos e fosfatos (Ishizaki et al., 1981; Tondera et al., 2015).

Em fungos, o ozônio demonstrou ser eficaz no controle das formas de leveduras de *Candida albicans*, prevenindo ainda a formação de tubos germinativos e diminuição de biofilmes (Zargaran et al., 2017). Assim como nos vírus, o ozônio promove alterações no DNA e RNA de espécies fúngicas (Geweely, 2006), sendo uma das consequências o aumento da resistência de alguns isolados a antifúngicos (Zargaran et al., 2017). Gryzinskaa et al. (2019) demonstraram haver um aumento no nível de metilação do DNA de isolados de *C. albicans* à medida que se elevava o tempo de exposição ao ozônio gasoso. Com isso, o potencial genotóxico do ozônio em fungos pode promover alterações na regulação da expressão gênica e, consequentemente, na transferência de informação genética.

Aplicações e perspectivas em medicina veterinária

Terapêutica veterinária

Na terapêutica veterinária, a ozonização já é utilizada há algum tempo, mesmo de forma empírica na maioria das vezes. Foi aplicado no controle da dor crônica em cães com doenças neurológicas e musculoesqueléticas (Figueiredo et al., 2018a) e na analgesia pós-operatória em cadelas submetidas à ovariectomia (Teixeira et al., 2013). A administração intra-retal de ozônio em cães portadores de leishmaniose promove melhora significativa da função renal (Moda et al., 2014), resultado semelhante ao observado em cães acometidos por erliquiose que receberam a auto-hemoterapia com ozônio, havendo ainda uma resposta positiva sobre os parâmetros hematológicos (Garcia et al., 2010). Além disso, é uma ferramenta promissora no tratamento de feridas (Chagas et al., 2019), melhora a capacidade antioxidante de equinos de corrida quando usada em protocolos de auto-hemoterapia (Tsuzuki et al., 2015) e como tratamento coadjuvante em pacientes oncológicos (Avilés et al., 2016). Tais achados estão relacionados com a capacidade do ozônio em causar estresse oxidativo momentâneo, que produz espécies reativas de oxigênio e produtos lipídicos oxidantes. Essas moléculas são responsáveis por estimular a angiogênese, neovascularização, inibição da apoptose, aumento de citocinas pró-inflamatórias, alteração dos processos metabólicos e ativação do fator nuclear KB (FNKB) (Bocci, 2010).

Na aquicultura, seu uso terapêutico ainda é pouco explorado. Recentemente, testes *in vitro* realizados por Kuçukgul et al. (2019) observaram a atividade anti-apoptótica do ozônio em macrófagos de truta infectados por *Yersinia ruckeri*, agente responsável pela doença entérica *redmouth*. Em baixas concentrações, o ozônio inibiu a atividade das caspases, aumentou a viabilidade celular que, consequentemente, diminuíram a apoptose e piroptose em macrófagos. Os autores apontam o possível uso terapêutico do ozônio em doses não tóxicas em peixes, como alternativa eficaz de tratamento para aumentar as defesas do hospedeiro, eliminando a infecção nos casos de yersiniose.

Em reprodução animal, a ozonioterapia tem sido difundida no tratamento de várias alterações patológicas do sistema genital em ruminantes, como por exemplo, no tratamento intrauterino de endometrite pós-parto em vacas leiteiras de alta produção (Constantin & Birtoiu, 2016; Polat et al., 2016). Apresenta resposta terapêutica semelhante às terapias tradicionais com antibióticos no tratamento de retenção de placenta e infecções uterinas em cabras e ovelhas (Djuricic et al., 2015; Djuricic et al., 2016). Foi observado ainda que a insuflação de gás de ozônio via intramamária é eficaz no tratamento de casos de mastite clínica em vacas leiteiras, podendo ser utilizado como medicina terapêutica complementar (Enginler et al., 2015).

Produção animal

Na maioria dos segmentos de produção animal, o uso do ozônio ainda é pouco difundido, sendo usado na quase todas as vezes apenas em estudos experimentais. Entretanto, a aquicultura destaca-se como a cadeia produtiva com o maior número de pesquisas sobre o assunto, pois como o ozônio é usado no tratamento de efluentes industriais e urbanos, investiga-se o impacto desse gás em animais aquáticos (Pohl et al., 2018). Com isso, a técnica de ozonização começou a ser investigada e aplicada em criações comerciais. Neste ramo, a maior aplicabilidade da ozonização é na desinfecção de água em sistemas de recirculação (RAS), tornando-se alvo de muitos estudos. A primeira aplicabilidade da técnica está no

controle da qualidade de água, por diminuir a concentração de matéria orgânica, não causar a mortalidade de peixes, aumentando ainda o fluxo da água entre as caixas (Spiliotopoulou et al., 2018). Em peixes marinhos, além de aumentar o desempenho dos mesmos, promove a melhora na qualidade da água de cultivo, com diminuição significativa nas concentrações de nitrito (Powell et al., 2015).

A ozonização apresenta efeitos benéficos na criação de lagostas, como aumento no ganho de peso, maiores taxas de sobrevivência e de biomassa produzida, controlando ainda patógenos no ambiente aquático (Middlemiss et al., 2015). Em tilápias, resultados semelhantes foram identificados, inferindo sobre a aplicação da técnica para aumentar a produção dessa espécie (Putro et al., 2018). Nos peixes selvagens, estudos laboratoriais mostram que a ozonização é vista como uma técnica promissora na destruição de resíduos farmacêuticos advindos de efluentes que adentram ambientes aquáticos. Também ocorre melhora nos índices reprodutivos dos peixes, com aumento da expressão gênica de vitelogenina hepática. Porém, podem ser observadas alterações comportamentais como letargia (Pohl et al., 2018). Entretanto, mesmo com potenciais resultados, seu uso na atividade aquícola deve ser utilizado com precauções. Xian et al. (2015) observaram que o aumento do potencial oxidativo da água em sistemas de recirculação na criação de robalos, influencia negativamente no consumo de ração, taxas de conversão alimentar e de crescimento. Aumento na dose e no maior período de exposição ao ozônio podem causar efeitos genotóxicos precoces em peixes criados em RAS (Guilherme et al., 2019). O ozônio pode induzir a oxidação do DNA nas células dos peixes, principalmente nas bases pirimídicas, promovendo danos a nível cromossomal (Guilherme et al., 2019).

No setor avícola, o ozônio já foi avaliado como desinfetante nas granjas, apresentando maior eficácia quando comparado ao cloro e sais de amônia quaternária na desinfecção em galpões de frangos de corte (Jiang et al., 2018). Além da sua atividade antifúngica, também é capaz de degradar aflatoxina B₁ em rações de frangos contaminadas, sendo apontado como um método promissor no tratamento de matéria-prima (Torlak et al., 2016). Atua ainda como uma alternativa ao uso de pesticidas, como a cipermetrina, o gás é efetivo na destruição de estágio larvais e adultos do cascudinho (*Alphitobius diaperinu*), um grande problema encontrado nas granjas avícolas (Soares et al., 2018).

O grande desafio do ozônio na agropecuária está relacionado a presença de matéria orgânica, uma vez que na presença desta, tem sua atividade desinfetante reduzida devido a competição da matéria com os microrganismos para reagir com o gás (Souza et al., 2019). Estudos *in vitro* demonstraram que o ozônio é eficiente na descontaminação de diferentes tipos de superfícies contaminadas por bactérias de esterco bovino (Megahed et al., 2019). Os resultados apontam como um potencial desinfetante, superior ao hipoclorito de sódio e semelhante ao do ácido paracético, além de produzir baixa quantidade de resíduos. Assim, tornar-se uma alternativa atraente para melhorar a biossegurança e higiene na bovinocultura leiteira (Megahed et al., 2018, 2019).

Heacox (2013) patentearam um sistema de geração e distribuição de água ozonizada, indicando concentrações adequadas para a limpeza e desinfecção de ambientes em laticínios, equipamentos de ordenha, e até mesmo na lavagem de úbere e tetos das vacas antes da ordenha, com o objetivo de diminuir problemas relacionados a mastite. Ao avaliarem o uso do gás e da água ozonizada contra biofilmes bacterianos em aço inoxidável (Marino et al., 2018) verificaram que ambos os métodos destroem bactérias patogênicas, como *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, confirmando a extrapolação do uso da ozonização na desinfecção de ordenhadeiras e equipamentos de laticínios.

O ozônio também foi efetivo na descontaminação de superfícies contaminadas experimentalmente com fezes de suínos (Sato et al., 2019), permitindo assim, inferir sobre o potencial da água ozonizada no processo de limpeza e desinfecção de baias. Outras aplicações e estudos em suinocultura são voltados para a produção de biogás, processo em que o ozônio remove o sulfeto de hidrogênio, molécula poluente ao ambiente, produzindo biogás limpo (Chuichulcherm et al., 2017). Já no tratamento de água residuais da atividade suinícola, o gás foi capaz de destruir resíduos de antibióticos utilizados na rotina veterinária (Ben et al., 2012), sendo capaz de diminuir a carga bacteriana em até 3.9 log (Macauley et al., 2006).

Zanet et al. (2018) propõem a ozonização como um método ambientalmente sustentável, livre de resíduos e econômico para reduzir a viabilidade dos esporos de *Nosema ceranae*, um microsporídio formador de esporos emergente e relevante na atividade apícola. Segundo os autores, a exposição ao gás reduz em mais da metade a viabilidade dos esporos presentes em pentes de mel contaminados com o

parasita. Além disso, o uso de fumigação de ozônio poderia substituir produtos químicos para controlar ectoparasitos, como a *Varroa destructor*, conseguindo eliminar ainda resíduos de pesticidas em produtos de colmeia (Luna, 2019).

Segurança de alimentos de origem animal

Com a crescente tendência de novas tecnologias no armazenamento e processamento de alimentos e matérias-primas na indústria, as quais minimizam perdas quantitativas e qualitativas, o ozônio surge como modelo de sanitizante (Pandiselvam et al., 2017). Seu uso em frutas, legumes e hortaliças, quando em concentrações adequadas, promove a degradação de resíduos agrotóxicos em um curto período (Lozowicka et al., 2016), não interferindo na qualidade físico-química, textura, cor e qualidade sensorial (Souza et al., 2018).

A sensibilidade dos microrganismos ao tratamento com ozônio varia de acordo com a matriz alimentar, podendo associar o seu uso com métodos já utilizados, como por exemplo, os sistemas de refrigeração. Em pescados, a combinação desses dois métodos diminui a contaminação microbiana, não interferindo significativamente na qualidade química e sensorial de peixes marinhos, polvos e camarão (Aponte et al., 2018). Este mesmo tipo de sistema pode ser aplicado também para ostras, dobrando a vida de prateleira do produto (Chen et al., 2014). Entretanto, já foi demonstrado que em condições experimentais não é capaz de inativar completamente *Salmonella Typhimurium* em peixes contaminados (Luiz et al., 2017).

A ozonização foi apontada como procedimento de intervenção antibacteriana em carne de frango contaminada por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, indicando sua aplicação no resfriamento por imersão em água ozonizada de carcaças no abatedouro (Kanaan, 2018). Já o ozônio gasoso deve ser usado com cuidado no armazenamento de carne em sistemas de refrigeração, pois mesmo inibindo de forma efetiva o crescimento de coliformes, aeróbios e anaeróbios totais, causa a deterioração lipídica e modificações na coloração da carne, afetando a qualidade sensorial do produto final (Ianni et al., 2019; Muhlisin et al., 2016).

Em testes *in vitro*, a aspersão de água ozonizada foi capaz de inativar *Escherichia coli* O157:H7 em superfície de carne de cabra contaminada, de forma que o aumento do tempo de exposição influencia positivamente na redução logarítmica da bactéria (Degala et al., 2016). Na prática, em carcaças suínas ozonizadas na etapa de resfriamento no frigorífico, o ozônio conseguiu reduzir somente a contagem de aeróbios mesófilos totais, não sendo eficiente na redução de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e sorovares de *Salmonella* Agona, Typhimurium e Derby, possivelmente devido a concentração e tempo de exposição avaliados (Werlang, 2015).

O ozônio gasoso pode ser indicado também na higienização de ovos, com o objetivo de estender sua vida útil de prateleira. É capaz de diminuir a carga microbiana durante o armazenamento dos ovos em temperatura ambiente, reduzindo principalmente enterobactérias, além de não interferir nas características físico químicas (Yuceer & Caner, 2016). Entretanto, elevadas concentrações e tempo de exposição ao gás não são indicadas, causando efeitos deletérios ao ovo, como diminuição da força de quebra da casca, tornando-o mais frágil (Yuceer et al., 2016).

Nos laticínios o ozônio é usado como desinfetante de ambientes, principalmente na descontaminação de câmaras frias de armazenamento, capaz de melhorar a qualidade microbiológica do ar de circulação e das superfícies das instalações (Cavalcante et al., 2014b). A ozonização da água utilizada na indústria pode ser aplicada no sistema de produção de queijos para aumentar a qualidade microbiológica e seu tempo de prateleira, como no queijo *mozzarella* (Segat et al., 2014). Este tipo de procedimento reduz drasticamente a contaminação por bactérias deteriorantes, como espécies de *Pseudomonas* (Segat et al., 2014).

Em substituição aos procedimentos de tratamentos térmicos usados no leite, estudos recentes buscaram avaliar a possível aplicabilidade do gás na redução de microrganismos vinculados a esta matriz alimentar. Seu uso foi capaz de degradar aflatoxina M₁, redução das contagens iniciais de bactérias mesofílicas e psicotróficas, sem efeitos significativos na oxidação de lipídeos e no pH do leite (Mohammadi et al., 2017). Entretanto, a redução de bactérias como *Escherichia coli* (Souza et al., 2019) depende da concentração do gás, tempo de exposição e composição do produto, sendo mais eficiente

em leite desnatado sem lactose. Mesmo não sendo eficaz na redução de *Staphylococcus aureus* em leite fluido, Couto et al. (2016) afirmam que o uso do ozônio ainda deve ser mais explorado em laticínios.

Parasitologia

Em parasitologia, seu uso apresentou resultados promissores contra ovos de helmintos, principalmente devido a capacidade do ozônio de reagir com quinona, substância presente na parede externa e interna dos ovos desses parasitos (Velásquez et al., 2004). A aplicação do gás resulta também em elevadas taxas de mortalidade (até 100%) de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* (Figueiredo et al., 2018b; Moreira et al., 2017). O efeito acaricida do ozônio é dose-dependente, promovendo a formação de crateras na cutícula e no espiráculo respiratório do parasitos que, consequentemente, culminam na morte das fêmeas antes da realização da oviposição.

A utilização desse gás contra protozoários tem sido estudada recentemente devido ao potencial zoonótico de muitas espécies. O uso do óleo ozonizado in vitro apresentou efeito contra formas promastigotas de *Leishmania* spp., com resposta superior e sinérgica ao Glucantime, medicamento usado no tratamento da doença em seres humanos. O mecanismo que explica como o ozônio diminui o número de parasitos de *Leishmania* não foi estudado ainda, porém, acredita-se que o mecanismo de destruição desse protozoário seja semelhante ao processo descrito para bactérias e fungos (Aghaei et al., 2019; Rajabi et al., 2015).

Conclusão

Apesar de ser uma molécula altamente instável, os estudos realizados demonstram o elevado potencial do ozônio frente a uma vasta diversidade de microrganismos. Mesmo sendo estudado há muitos anos, apresenta na prática algumas limitações que devem ser exploradas de forma mais abrangente, principalmente tratando-se da aplicação de água ozonizada, em que diversos fatores extrínsecos interferem nas reações químicas de ozonização. Na área de ciência e tecnologia de alimentos e engenharias, seu uso é sustentado por pesquisas científicas mais sólidas, diferentemente do observado em medicina veterinária. Assim, é necessário a realização de estudos que elucidem de forma mais clara tanto suas aplicações na terapêutica veterinária, quanto na área de produção e sanidade animal, buscando sanar as dúvidas ainda existentes quanto ao seu uso como desinfetante e antimicrobiano.

Referências bibliográficas

- Aghaei, M., Aghaei, S., Sokhanvari, F., Ansari, N., Hosseini, S. M., Mohaghegh, M. A. & Hejazi, S. H. (2019). The therapeutic effect of ozonated olive oil plus glucantime on human cutaneous leishmaniasis. *Iran Journal Basic Medical Science*, 22(1):25-30.
- Al jibouri, A. K. H., Wu, J. & Upreti, S. R. (2017). Application of mass balance models in the process of ozone removal of naphthenic acids from water. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 9539-9545.
- Aponte, M., Anastasio, A., Marrone, R., Mercogliano, R., Peruzzyb, M. F. & Murrub, N. (2018). Impact of gaseous ozone coupled to passive refrigeration system to maximize shelf-life and quality of four different fresh fish products. *Food Science and Technology*, 93412–93419.
- Arayan, L. T., Reyes, A. W. B., Hop, H. T., Xuan, H. T., Baek, E. J., Yang, H. S., . . . Kim, S. (2017). Antimicrobial effect of different concentrations of ozonated water in the sanitation of water experimentally inoculated with *Escherichia coli*. *Journal of Preventive Veterinary Medical*. 41(2):84-87.
- Avilés, M. H., Malpica Rojo, A. M. & Rosario, A. G. (2016). Ozone Therapy as a coadjuvant treatment in veterinary oncology - Case reports. *Revista Española de Ozonoterapia*, 6(1):231-236.
- Ben, W., Qiang, W., Pan, X. & Nie, Y. (2012). Degradation of Veterinary Antibiotics by Ozone in Swine Wastewater Pretreated with Sequencing Batch Reactor. *Journal Environmental Engineering*. 138(3):272-277.
- Bocci, V. (2010). *Ozone: a new medical drug* (2 ed.): Springer.

- Brie, A., Boudaud, N., Mssihid, A., Loutreul, J., Bertrand, I. & Gantzer, C. (2018). Inactivation of murine norovirus and hepatitis A virus on fresh raspberries by gaseous ozone treatment. *Food Microbiology*, 701-706.
- Brito Júnior, J. G., Faroni, L. R. D., Cecon, P. R., Benevenuto, W. C. A. N., Benevenuto Júnior, A. A. & Heleno, F. F. (2018). Efficacy of ozone in the microbiological disinfection of maize grains. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11-18.
- Cavalcante, D. A., Leite Júnior, B. R., Tribst, A. A. & Cristianini, M. (2014a). Inativação de *Escherichia coli* O157:H7 e *Bacillus subtilis* por água ozonizada. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 32105–32112.
- Cavalcante, D. A., Leite Júnior, B. R. C., Tribst, A. A. L. & Cristianini, M. (2014b). Uso de ozônio gasoso na sanitização de câmaras frigoríficas. *Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes*, 69(2):121-128.
- Chagas, N. T. C., Rocha, C. L. R., Silva, R. B. T., Santos, K. M. M. & Hirano, L. Q. L. (2019). Tratamento de ferida em *Coendou prehensilis* (Rodentia: Erethizontidae) com laserterapia e ozonioterapia: relato de caso. 71(3):953-958.
- Chen, H., Wang, M., Chen, S., Chen, T. & Huang, N. (2014). Effects of Ozonated Water Treatment on the Microbial Population, Quality, and Shelf Life of Shucked Oysters (*Crassostrea plicatula*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 23175–185.
- Choudhury, B., Portugal, S., Mastanaiah, N., Johnson, J. A. & Roy, S. (2018). Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an open water system with ozone generated by a compact, atmospheric DBD plasma reactor, *Science Reports*, 8(1):17573-17584.
- Chuichulcherm, S., Kasichan, N., Srinophakun, P., Saisriyoot, M. & Thanapimmetha, A. (2017). The use of ozone in a continuous cyclical swing mode regeneration of Fe-EDTA for a clean biogas process from a swine farm waste, *Journal of Cleaner Production*, 149(3):1267-1273.
- Chys, M., Demeestere, K., Nopens, I., Audenaert, W. T. M. & Van Hulle, S. W. H. (2018). Municipal wastewater effluent characterization and variability analysis in view of an ozone dose control strategy during tertiary treatment: The status in Belgium. *Science Total Environmental*, 6251198-1207.
- Constantin, T. & Birtoiu, I. A. (2016). Preliminary study on ozone therapy in postpartum endometritis of dairy cows. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 10384-389.
- Couto, E. P., Alencar, E. R., Gonçalves, V. S. P., Santos, A. J. P., Ribeiro, J. L. & Ferreira, M. A. (2016). Effect of ozonation on the *Staphylococcus Aureus* inoculated in milk. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(4):1911-1917.
- Cullen, P. J., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Patil, S., Bourke, P. & O'Donnell, C. P. (2010). Ozone Processing for Food Preservation: An Overview on Fruit Juice Treatments. *Ozone: Science & Engineering*, 32(3):166-179.
- Degala, H. L., Scott, J. R. & Nakkiran, P. (2016). *Inactivation of E. coli O157:H7 on Goat Meat Surface Using Ozonated Water Alone and in Combination with Electrolyzed Oxidizing Water*. Paper presented at the ASABE Annual International Meeting, Boston, Massachusetts, EUA.
- Djuricic, D., Valpotic, H. & Samardzija, M. (2015). The intrauterine treatment of the retained foetal membrane in dairy goats by ozone: novel alternative to antibiotic therapy. *Reproduction Domestic Animals*, 50(2):236-239.
- Djuricic, D., Valpotic, H., Zura Zaja, I. & Samardzija, M. (2016). Comparison of Intrauterine Antibiotics versus Ozone Medical Use in Sheep with Retained Placenta and Following Obstetric Assistance. *Reproduction Domestic Animals*, 51(4):538-540.
- Enginler, S. O., Sabuncu, A., Kahraman, B. B., Koçak, O., Yıldar, E. & Güzel, O. (2015). Comparison of Intramammary Ozone Administration Doses in Dairy Cows with Clinical Mastitis. *Acta Scientiae Veterinariae*, 43(1260):1-7.
- Ersoy, Z. G., Barisci, S. & Turkay, O. (2019). Mechanisms of the *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* inactivation by ozone. *Food Science and Technology*, 100306-313.
- Faltyn, A. N., Bartodziejaska, B., Krolasik, J. & Domanska, B. P. (2015). Zastosowanie przyjaznych

- dla środowiska technik dezynfekcji do inaktywacji *Campylobacter* sp. Wmięsie drobiowym. *Żywnosc Nauka Technologia*, 6(103):87 – 95.
- Feng, L., Zhang, K., Gao, M., Shi, C., Ge, C., Qu, D., . . . Han, J. (2018). Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* by Aqueous Ozone. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(8):1233-1246.
- Figueiredo, N. E. O., Luna, S. P. L., Joaquim, J. G. F. & Coutinho, H. D. (2018a). Avaliação do efeito da acupuntura e técnicas afins e perfil clínico e epidemiológico de cães com doenças neurológicas e osteomusculares atendidos em serviço de reabilitação veterinária. *Ciência Animal Brasileira*, 191-198.
- Figueiredo, T. F. B., Lima, C. J., Fernandes, A. B., Zângaro, R. A., Mendes, A. L. S. & Moreira, L. H. (2018b). Effect of Ozone on Engorged *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) Females During the Pre-Laying Period. *Ozone: Science & Engineering*, 41(3):286-293.
- Foundation., A. R., Langlais, B., Reckhow, D. A. & Brink, D. R. (1991). *Ozone in Water Treatment: Application and Engineering* (1st Edition ed.). Paris, França: Lewis Publishers.
- Garcia, C. A., Berbert, R. P., Rodrigues, G. M., Nascimento, F. G. O., Cipriano, L. F. & Violatti, I. C. A. (2010). The use of ozonated major autohemotherapy in canine ehrlichiosis treatment: case report. *Revista del Centro Nacional de Investigaciones Científicas*, 411-10.
- Geweely, N. S. I. (2006). Antifungal Activity of Ozonized Olive Oil (Oleozone). *International Journal of Agriculture & Biology*, 8(5):670-675.
- Giuliani, G., Ricevuti, G., Galoforo, A. & Franzini, M. (2018). Microbiological aspects of ozone: bactericidal activity and antibiotic/antimicrobial resistance in bacterial strains treated with ozone. *Ozone Therapy*, 3(3):48-51.
- Gryzinskaa, M., Wlazlob, L., Nowakowicz-Debekb, B., Jezewska-Witkowskaa, G. & Jakubczaka, A. (2019). DNA Methylation in Yeast-Like Fungi of the Species *Candida albicans* Induced by Different Lengths of Exposure to Ozone. *Russian Journal of Genetics*, 55(3):396–398.
- Guilherme, S., Crespo, R., Azevedo, D., Marques, A., Santos, M. A., Serradeiro, R. & Pacheco, M. (2019). DNA and chromosomal damage in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) as side effects of ozone-based water treatment - Contribution to optimization of fish-farming practices. *Comp Biochemistry Physiology C Toxicol Pharmacology*, 21968-21976.
- Halder, S., Yadav, K. K., Sarkar, R., Mukherjee, S., Saha, P., Haldar, S., . . . Sen, T. (2015). Alteration of Zeta potential and membrane permeability in bacteria: a study with cationic agents. *Springerplus*, 4(1):672-686.
- Han, L., Patil, S., Boehm, D., Milosavljevic, V., Cullen, P. J. & Bourke, P. (2016). Mechanisms of Inactivation by High-Voltage Atmospheric Cold Plasma Differ for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Applied Environmental Microbiology*, 82(2):450-458.
- Heacox, D. (2013). United States Patent No.
- Hess, S. & Gallert, C. (2015). Sensitivity of antibiotic resistant and antibiotic susceptible *Escherichia coli*, *Enterococcus* and *Staphylococcus* strains against ozone. *Journal of Water Health*, 13(4):1020-1028.
- HF, O. (1978). Reactions of ozone with organic compounds. In C. A. Rice RG (Ed.), *Ozone/chlorine dioxide oxidation products of organic material*. (1 ed. ed., pp. p.20-37.). Cleveland: Ozone Press International.
- Ianni, A., Grotta, L. & Martino, G. (2019). Feeding influences the oxidative stability of poultry meat treated with ozone. *Asian-Australas Journal of Animal Science*, 32(6):874-880.
- Ishizaki, K., Shinriki, N., Ikehata, A. & Ueda, T. (1981). Degradation of nucleic acids with ozone. I. Degradation of nucleobases, ribonucleosides and ribonucleoside-5'-monophosphates. *Chemoical Pharmacology Bull (Tokyo)*, 29(3):868-872.
- Jiang, L., Li, M., Tang, J., Zhao, X., Zhang, J., Zhu, H., . . . Zhang, X. (2018). Effect of Different Disinfectants on Bacterial Aerosol Diversity in Poultry Houses. *Frontiers Microbiology*, 9(2113):1-10.

- Kanaan, M. H. G. (2018). Antibacterial effect of ozonated water against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contaminating chicken meat in Wasit Province, *Iraqe Veterinary World*, 11(10):1445-1453.
- Kang, S. W. (2015). Superoxide dismutase 2 gene and cancer risk: evidence from an updated meta-analysis. *Internatiol Journal Clinic Exp Medical*, 8(9):14647-14655.
- Komanapalli, I. R. & Lau, H. S. (1998). Inactivation of bacteriophage k, *Escherichia coli*, and *Candida albicans* by ozone. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49(6):766–769.
- Kuçukgul, A., Küçükgül, A., Gönenci, R., Özsoy, S. Y., Kutlu, B. & İşgör, M. M. (2019). Investigation of the anti-apoptotic activity of ozone therapy in rainbow trout macrophages infected with *Yersinia ruckeri*. *Aquaculture International*, 27(3):771–783.
- Livingston, S., Cadnum, J. L., Gestrich, S., Jencson, A. L. & Donskey, C. J. (2018). Efficacy of automated disinfection with ozonated water in reducing sink drainage system colonization with *Pseudomonas* species and *Candida auris*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 39(12):1497-1498.
- Lozowicka, B., Jankowska, M., Hrynko, I. & Kaczynski, P. (2016). Removal of 16 pesticide residues from strawberries by washing with tap and ozone water, ultrasonic cleaning and boiling. *Environ Monit Assess*, 188(1):51.
- Luiz, D. B., Silva, C. D. F., Campelo, S. R., Santos, V. R. V., Lima, L. K. F., Chicrala, P. C. M. S. & Iwashita, M. K. P. (2017). Evaluation of the effectiveness of ozone as a sanitizer for fish experimentally contaminated with *Salmonella* sp. *Brazilian Journal of Food Technology*, 201-207.
- Luna, R. M. L. (2019). Heat and Ozone Use in Beekeeping Practices. *Bee World*, 96(1):19-23.
- Macauley, J. J., Qiang, Z., Adams, C. D., Surampalli, R. & Mormile, M. R. (2006). Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone. *Water Research*, 40(10):2017-2026.
- Manley TC, N. S. M. T., Niegowski SJ. (1967). Ozone. In O. K (Ed.), *Encyclopedia of Chemical Technology* (2nd ed., pp. 410–432). New York: Wiley.
- Marino, M., Maifreni, M., Baggio, A. & Innocente, N. (2018). Inactivation of Foodborne Bacteria Biofilms by Aqueous and Gaseous Ozone. *Frontiers Microbiology*, 9(2024):1-12.
- Megahed, A., Aldridge, B. & Lowe, J. (2018). The microbial killing capacity of aqueous and gaseous ozone on different surfaces contaminated with dairy cattle manure. *PLoS One*, 13(5):1-22.
- Megahed, A., Aldridge, B. & Lowe, J. (2019). Comparative study on the efficacy of sodium hypochlorite, aqueous ozone, and peracetic acid in the elimination of *Salmonella* from cattle manure contaminated various surfaces supported by Bayesian analysis. *PLoS One*, 14(5):1-15.
- Middlemiss, K. L., Daniels, C. L., Urbina, M. A. & Wilson, R. W. (2015). Combined effects of UV irradiation, ozonation, and the probiotic *Bacillus* spp. on growth, survival, and general fitness in European lobster (*Homarus gammarus*). *Aquaculture*, 44499–107.
- Moda, T. F., Lima, C. J., Fernandes, A. B., Zângaro, R. A. & Moreira, L. H. (2014). *Efeitos da ozonização intra-abdominal e intra-retal sobre uma avaliação renal de cães acometidos por Leishmaniose Visceral*. Paper presented at the XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica -CBEB Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.
- Mohammad, Z., Kalbasi-Ashtari, A., Riskowski, G. & Castillo, A. (2019). Reduction of *Salmonella* and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* on alfalfa seeds and sprouts using an ozone generating system. *Internatiol Journal of Food Microbiology*, 28957-28963.
- Mohammadi, H., Mazloomi, S. M., Eskandari, M. H., Aminlari, M. & Niakousari, M. (2017). The Effect of Ozone on Aflatoxin M1, Oxidative Stability, Carotenoid Content and the Microbial Count of Milk. *Ozone: Science & Engineering*, 39(6):447-453.
- Moreira, L. H., Figueiredo, T. F. B., Alves, L. P., Fernandes, A. B., Zângaro, R. A., Mendes, A. L. S., . . . Lima, C. J. (2017). Effect of Ozone as Acaricide: Action of the Ozone on the Cuticle and Respiratory Spiracle of Tick *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato. *Ozone: Science & Engineering*, 40(3):183-190.
- Muhlisin, M., Utama, D. T., Lee, J. H., Choi, J. H. & Lee, S. K. (2016). Effects of Gaseous Ozone Exposure on Bacterial Counts and Oxidative Properties in Chicken and Duck Breast Meat. *Korean Journal of Food Science Animal Resources*, 36:405-411.

- Nagayoshi, M., Kitamura, C., Fukuizumi, T., Nishihara, T. & Terashita, M. (2004). Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *Journal of Endod*, 30(11):778-781.
- Pandiselvam, P., Subhashinib, S., Banuu Priyac, E. P., Kothakotad, A., Ramesha, S. V. & Shahire, S. (2018). Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. *Ozone: Science & Engineering*, 41(1):17-34.
- Pandiselvam, R., Sunoj, S., Manikantan, M., Kothakota, A. & Hebbar, K. (2017). Application and kinetics of ozone in food preservation. *Ozone: Science & Engineering*, 39(2):1-11.
- Perez, R. R., Nunez, S. A., Baluja, C. & Otero, M. L. (1995). Ozonation kinetics of glucosamine and N-acetyl glucosamine in aqueous medium. *Ozone: Science & Engineering*, 17463-467.
- Petry, G., Rossato, L. G., Nespolo, J., Kreutz, L. C. & Bertol, C. D. (2014). In Vitro Inactivation of Herpes Virus by Ozone. *Ozone: Science & Engineering*, 36249–36252.
- Piacentini, K. C., Savi, G. D., Scussel, V. M. & information, R. (2017). The effect of ozone treatment on species of *Fusarium* growth in malting barley (*Hordeum vulgare* L.) grains. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 4(9):383 - 389.
- Pohl, J., Bjorlenius, B., Brodin, T., Carlsson, G., Fick, J., Larsson, D. G. J., . . . Orn, S. (2018). Effects of ozonated sewage effluent on reproduction and behavioral endpoints in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 20093-200101.
- Polat, B., Cengiz, M., Colak, A. & Cannazik, O. (2016). *Comparison of intrauterine ozone and rifaximin treatment in cows with subclinical endometritis*. Paper presented at the 6th Global Veterinary Summit, Atlanta, USA.
- Powell, A., Chingombe, P., Lupatsch, I., Shields, R. J. & Lloyd, R. (2015). The effect of ozone on water quality and survival of turbot (*Psetta maxima*) maintained in a recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, 64,20-24.
- Putro, S., Adityarini, D. & Chiang, R. T. (2018). The impact of ozonated water on growth rate of "Srikandi" tilapia (*Oreochromis aureus* x *Niloticus*). *Journal of Physics: Conference. Series*, 1025(1):1-8.
- Rajabi, O., Sazgarnia, A., Abbasi, F. & Layegh, P. (2015). The activity of ozonated olive oil against *Leishmania major* promastigotes *Iran Journal Basic Medical Science*, 18:915-919.
- Russell, A. D. (2003). Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. *Journal Antimicrobiology Chemother*, 52(5):750-763.
- Sato, J. P. H., Simão, G. M. R., Pigozzo, R., Brandalise, L., Moreira, R. J., Telles, F. G. & Rodrigues, L., C.A. (2019). *Avaliação do gás ozônio para descontaminação de superfícies contaminadas com fezes de suínos*. Paper presented at the III Simpósio Internacional de Produção e Sanidade de Suínos, Jaboticabal, São Paulo.
- Segat, A., Biasutti, M., Iacumin, L., Comi, G., Baruzzi, F., Carboni, C. & Innocente, N. (2014). Use of ozone in production chain of high moisture Mozzarella cheese. *Food Science and Technology*, 55513-520.
- Selma, M. V., Beltran, D., Chacon-Vera, E. & Gil, M. I. (2006). Effect of ozone on the inactivation of *Yersinia enterocolitica* and the reduction of natural flora on potatoes. *Journal Food Prot*, 69(10):2357-2363.
- Sigmon, C., Shin, G. A., Mieog, J. & Linden, K. G. (2015). Establishing Surrogate–Virus Relationships for Ozone Disinfection of Wastewater. *Environmental Engineering Science*, 32(6):451-460.
- Silva, J., Pereira, M. N. & Scussel, V. M. (2018). Ozone Gas Antifungal Effect on Extruded Dog Food Contaminated with *Aspergillus flavus*. *Ozone: Science & Engineering*, 40(6):487-493.
- Soares, C. E. S., Weberb, A., Moeckec, E. H. S., Souza, C. K., Reiterd, M. G. R. & Scussela, V. M. (2018). Use of Ozone Gas as a Green Control Alternative to Beetles *Alphitobius diaperinus* (Panzer) Infestation in Aviary Bed Utilized in the Poultry Industry. *Chemical Engineering Transactions*, 64589-64594.
- Song, W. J., Shin, J. Y., Ryu, S. & Kang, D. H. (2015). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* in apple juice at different pH levels by gaseous ozone treatment. *Journal Applied of Microbiology*, 119(2):465-474.

- Souza, J. (2006). *Avaliação de métodos para desinfecção de água, empregando cloro, ácido peracético, ozônio e o processo de desinfecção combinado ozônio/cloro*. Doutorado, Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo.
- Souza, L. P., Faroni, L. R. D. A., Heleno, F. F., Cecon, P. R., Gonçalves, T. D. C., Silva, G. J. & Prates, L. H. F. (2018). Effects of ozone treatment on postharvest carrot quality. *Food Science and Technology*, 9053-60.
- Souza, S. M. O., de Alencar, E. R., Ribeiro, J. L. & de Aguiar Ferreira, M. (2019). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by ozone in different substrates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(1):247-253.
- Spiliotopoulou, A., Rojas-Tirado, P., Chhetri, R. K., Kaarsholm, K. M. S., Martin, R., Pedersen, P. B. & Andersen, H. R. (2018). Ozonation control and effects of ozone on water quality in recirculating aquaculture systems. *Water Research*, 133289-133298.
- Tanaka, H., Sakurai, M., Ishii, K. & Matsuzawa, Y. (2009). Inactivation of Influenza Virus by Ozone Gas. *Engineering Review*, 42(9):108-1011.
- Teixeira, L. R., Luna, S. P., Taffarel, M. O., Lima, A. F., Sousa, N. R., Joaquim, J. G. & Freitas, P. M. (2013). Comparison of intrarectal ozone, ozone administered in acupoints and meloxicam for postoperative analgesia in bitches undergoing ovariohysterectomy. *Veterinary Journal*, 197(3):794-799.
- Thanomsub, B., Anupunpisit, V., Chanphetch, S., Watcharachaipong, T., Poonkhum, R. & Srisukonth, C. (2002). Effects of ozone treatment on cell growth and ultrastructural changes in bacteria. *Journal General Applied Microbiology*, 48(4):193-199.
- Tondera, K., Klaer, K., Gebhardt, J., Wingender, J., Koch, C., Horstkott, M. & Pinnekamp, J. (2015). Reducing pathogens in combined sewer overflows using ozonation or UV irradiation. *International Journal Hygiene Environmental Health*, 218(8):731-741.
- Tordiglione, P., Morselli, F. A., Scarpa, I., Puggioni, G., Mancini, C. & Giordano, A. (2014). In Vitro Evaluation of Ozone Activity on Recent Clinically Isolated Bacterial Strains. *Advances in Microbiology*, 4(2):106-115.
- Torlak, E., Akata, I., Erci, F. & Uncu, A. T. (2016). Use of gaseous ozone to reduce aflatoxin B1 and microorganisms in poultry feed. *Journal of Stored Products Research*, 6844-6849.
- Tsuzuki, N., Endo, Y., Kikkawa, L., Korosue, K., Kaneko, Y., Kitauchi, A., . . . Torisu, S. (2015). Effects of ozonated autohemotherapy on the antioxidant capacity of Thoroughbred horses. *Journal of Veterinary Medical Science*, 77:1647-1650.
- Velásquez, M. T. O., Martínez, J. L., Monje-Ramírez, I. & Rojas-Valencia, M. N. (2004). Destruction of Helminth (*Ascaris suum*) Eggs by Ozone. *Ozone: Science and Engineering*, 26359–26366.
- Wagner, S. J., Wagner, K. F., Friedman, L. I. & Benade, L. F. (1991). Virucidal levels of ozone induce hemolysis and hemoglobin degradation. *Transfusion*, 31(8):748-751.
- Wani, S., Maker, J. K., Thompson, J. R., Barnes, J. & Singleton, I. (2015). Effect of Ozone Treatment on Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria* sp. on Spinach. *Agriculture*, 5155-5169.
- Werlang, G. O. (2015). *Eficácia da aplicação de ozônio gasoso em carcaças suínas na etapa de resfriamento para o controle de bactérias indicadoras e causadoras de doenças transmitidas por alimentos*. Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Willyard, C. (2017). The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. *Nature*, 543, 15.
- Wolf, C., von Gunten, U. & Kohn, T. (2018). Kinetics of Inactivation of Waterborne Enteric Viruses by Ozone. *Environ Science Technology*, 52(4):2170-2177.
- Xian, L., Cyrille, P., Sebastien, T., Ying, L. & Jean-Paul, B. (2015). Long-term effects of moderate elevation of oxidation– reduction potential on European seabass (*Dicentrarchus labrax*) in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 6415-6419.
- Ximenes, M., Cardoso, M., Astorga, F., Arnold, R., Pimenta, L. A. & Viera, R. S. (2017). Antimicrobial activity of ozone and NaF-chlorhexidine on early childhood caries. *Brazilian Oral Research*, 311-10.

- Yu, W., Zhang, D. & Graham, N. J. D. (2017). Membrane fouling by extracellular polymeric substances after ozone pre-treatment: Variation of nano-particles size. *Water Research*, 120146-155.
- Yuan, X., Lacorte, S., Cristale, J., Dantas, R. F., Sans, C., Esplugas, S. & Qiang, Z. (2015). Removal of organophosphate esters from municipal secondary effluent by ozone and UV/H₂O₂ treatments. *Separation and Purification Technology*, 1561028-1561034.
- Yuceer, M., Aday, M. S. & Caner, C. (2016). Ozone treatment of shell eggs to preserve functional quality and enhance shelf life during storage. *Journal Science Food Agriculture*, 96(8):2755-2763.
- Yuceer, M. & Caner, C. (2016). Effects of gaseous ozone treatment on microbial quality of fresh eggs during storage. *The Journal of Food*, 41(1):15-22.
- Zanet, S., Battisti, E., Alciati, R., Trisciuglio, A., Cauda, C. & Ferroglio, E. (2018). Nosema ceranae contamination in bee keeping material: the use of ozone as disinfection method. *Journal of Apicultural Research*, 58(1):62-66.
- Zargaran, M., Fatahinia, M. & Zarei Mahmoudabadi, A. (2017). The efficacy of gaseous ozone against different forms of Candida albicans. *Current Medical Mycology*, 3(2):26-32.
- Zhang, Y., Wu, Q., Zhang, J. & Yang, X. (2016). Alteration in Escherichia coli and Streptococcus faecalis cells induced by ozone. *Journal of Food Science & Technology*, 1(3):106-112.
- Zhang, Y. Q., Wu, Q. P., Zhang, J. M. & Yang, X. H. (2011). Effects of ozone on membrane permeability and ultrastructure in Pseudomonas aeruginosa. *Journal Applied Microbiology*, 111(4):1006-1015.

Recebido: 4 de setembro, 2019.

Aprovado: 25 de setembro, 2019.

Publicado: 21 de outubro, 2019.

Licenciamento: Este artigo é publicado na modalidade acesso aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.