

OZÔNIO NO CONTROLE MICROBIANO EM PATÓGENOS CAPILARES

Camila Borges Polesso¹
Alice Verona Balbinot²
Liane Benvegnu Tonial³
Claudia Wollheim⁴
Barbara Catarina de Antoni Zoppas⁵
Luciana Bortoluzzi⁶

RESUMO

A biossegurança é extremamente importante em serviços de saúde e beleza. A Vigilância Sanitária propõe que salões de beleza utilizem um procedimento operacional padrão (POP) para higienização de escovas de cabelo, porém a falta dessa aplicação pode acarretar infecções cruzadas. Nesses estabelecimentos existem materiais termossensíveis, que não podem ser submetidos a autoclave, por isso o ozônio é uma alternativa de esterilização a baixa temperatura. Presente na nossa microbiota normal, o *Staphylococcus aureus* pode acarretar desde doenças simples até mais graves. Da mesma forma o *Microsporium* é um dermatófito zoofílico conhecido por causar tinhas do couro cabeludo. O presente estudo foi realizado em escovas de cabelo e culturas contaminadas com os microorganismos descritos acima, avaliando o efeito do ozônio no controle microbiano. Em placas na avaliação de *M. canis*, observou-se redução parcial do crescimento em 30 minutos e inibição total em 60 minutos. Já com *S. aureus*, essa inibição ocorreu em ambos os tempos. Na avaliação em escovas de cabelo, os resultados atingidos não foram satisfatórios quanto à esterilização.

Palavras-chaves: Ozônio. *Microsporium*. *Staphylococcus aureus*. Couro cabeludo.

¹Tecnóloga em Estética e Cosmética. Experiência clínica nas áreas de estética facial e corporal, além de embelezamento na área da beleza com visagismo e maquiagem. Universidade de Caxias do Sul (UCS). Rio Grande do Sul. Brasil. E-mail: cbpolesso@ucs.br

²Tecnólogo em Estética e Cosmética. Universidade de Caxias do Sul (UCS). Rio Grande do Sul. Brasil. E-mail: avbalbinot@ucs.br

³Tecnólogo em Estética e Cosmética. Universidade de Caxias do Sul (UCS). Rio Grande do Sul. Brasil. E-mail: lbtonial@ucs.br

⁴Doutorado em Biotecnologia. Universidade de Caxias do Sul (UCS). Docente da Universidade de Caxias do Sul (UCS). Rio Grande do Sul. Brasil. E-mail: cwollheim@ucs.br

⁵Doutorado em Biologia Meio ambiental. Universidade de Léon (UNILEON). Espanha. Docente da Universidade de Caxias do Sul (UCS). Rio Grande do Sul. Brasil. E-mail: bcdzoppa@ucs.br

⁶Mestrado em Saúde e Gestão do Trabalho. Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI). Docente da Universidade de Caxias do Sul (UCS). Rio Grande do Sul. Brasil. E-mail: lbortoluzzi@ucs.br

OZONE IN MICROBIAL CONTROL IN SCALP PATHOGENS

ABSTRACT

Biosafety is extremely important in health and beauty services. The Sanitary Surveillance proposes that beauty salons use a standard operating procedure (SOP) for cleaning hair brushes, but lack of such application can lead to cross-infection. In these establishments there are thermosensitive materials, which can not be autoclaved, so ozone is a low temperature sterilization alternative. Present in our normal microbiota, *Staphylococcus aureus* can lead from simple to more serious diseases. Likewise *Microsporum* is a zoophilic dermatophyte known to cause tinea capitis. The present study was carried out on hairbrushes and cultures contaminated with the microorganisms described above, evaluating the effect of ozone on microbial control. In plaques in the evaluation of *M. canis*, partial growth reduction was observed in 30 minutes and total inhibition in 60 minutes. With *S. aureus*, this inhibition occurred at both times. In the evaluation of hairbrushes, the results achieved were not satisfactory for sterilization.

Key-words: Ozone. *Microsporum*. *Staphylococcus aureus*. Scalp.

1 INTRODUÇÃO

A biossegurança é importante em ambientes de saúde e beleza, no entanto é tratada como algo trivial. As infecções cruzadas podem ser frequentes em salões de beleza devido ao grande fluxo de pessoas, por isso é importante a utilização apropriada dos métodos de descontaminação dos materiais, como a desinfecção e a esterilização. A vigilância sanitária propõe que esses estabelecimentos tenham um procedimento operacional padrão (POP) para higienização de utensílios, porém ainda é um problema comum a falta da aplicação dos mesmos. Outra adversidade encontrada é que alguns instrumentos são feitos de materiais termossensíveis, onde a autoclavagem não é viável. Diante disso, instrumentos como escovas de cabelo são apenas submetidos a uma higienização simples, tornando-as ambientes favoráveis à proliferação de bactérias e fungos que por sua vez podem ser patogênicos e colocar em risco a população (RAMOS, 2009). A RDC Nº 15, de 15 de março de 2012, dispõe requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde. Nela contém normas de como realizar a limpeza de cada artigo conforme seu nível de risco (Ministério da Saúde, 2012).

A desinfecção é definida como um processo físico ou químico de destruição de microorganismos na forma vegetativa. Já a esterilização é o processo de eliminação ou destruição de todas as formas de vida microbiana, inclusive na forma de esporos, e acontece por processos físicos e químicos. Atualmente, há uma procura por tecnologias de esterilização à baixa temperatura devido a necessidade de adaptação dos agentes esterilizantes aos diferentes materiais, devido a busca de maior rapidez no processamento além, é claro, da preocupação com os resíduos produzidos em relação ao descarte. Alguns métodos de esterilização à baixa temperatura disponíveis são: óxido de etileno, plasma de peróxido de hidrogênio, vapor a baixa temperatura de

formaldeído, radiação gama, tecnologia por feixe de elétrons, esterilizantes químico-líquidos e, há pouco tempo, o ozônio (O₃) (GRAZIANO *et al.*, 2013; PAUROSÍ *et al.*, 2018; GOLVEIA, 2007).

O uso do gás ozônio (O₃) como elemento químico no controle antimicrobiano em diversas áreas já é notório. Devido ao seu alto poder oxidante se destaca como composto útil para desinfecção e/ou esterilização. O O₃ é altamente solúvel em água e oxidativo (MARTINS *et al.*, 2015; TRAVAGLI, 2010).

Presente na nossa microbiota normal, principalmente na pele e nas fossas nasais, o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é uma bactéria capaz de acarretar doenças simples, como espinhas e furúnculos, até doenças graves, como pneumonias, endocardites e septicemias. Ele também pode sobreviver por longos períodos em partículas de poeira e é considerada a bactéria mais virulenta do seu gênero. (LIMA *et al.*, 2018) O *S. aureus* também é responsável por infecções do couro cabeludo e eventualmente pode causar alopecia cicatricial por foliculite decalcante, um quadro crônico de foliculite favorecida pela presença demasiada de dermatite seborreica (STEINER, 2013).

A tinea do couro cabeludo é uma dermatomicose que acomete pele e anexos cutâneos devido infecções fúngicas geradas por dermatófitos. *Microsporum canis* é o dermatófito zoofílico mais prevalente, causando tinea corporis e tinea capitis, sendo que a maioria dos casos está associada à exposição a animais sintomáticos ou assintomáticos. A transmissão inter humana tem sido implicada, porém com menos frequência (SUBELJ *et al.*, 2012). Quem mais sofre com essas infecções são crianças em idade escolar, porém eventualmente pessoas imunocomprometidas e mulheres na pós-menopausa também podem ser atingidas (SIDRIM, 2004; OLIVEIRA, 2002). Wille *et al.* (2009), propuseram a possibilidade de contágio inter humano de *M. canis* indiferente à idade, pela presença de *Tinea Capitis* em irmãos na cidade de Araraquara- SP.

A ação fisiológica do ozônio em bactérias e fungos é observada através da oxidação das paredes celulares das membranas citoplasmáticas. O O₃ não atua como um veneno sistêmico no controle microbiano. Além disso, é impossível para um microorganismo desenvolver resistência à oxidação (DI-TANNO, 2017).

Visando salientar a importância dos métodos de higienização de escovas de cabelo em salões de beleza, possibilitando uma esterilização a baixa temperatura, evitando danos ao material e impedindo a contaminação cruzada, o presente estudo realizou um experimento *in vitro* diretamente em cepas de *S. aureus* e *M. Canis*, e em escovas de cabelo, avaliando o poder de desinfecção ou esterilização de um gerador de ozônio.

2 METODOLOGIA

A avaliação do crescimento microbiano após exposição ao ozônio foi realizado no Laboratório de Microbiologia Clínica e no Laboratório de Parasitologia e Micologia da Universidade de Caxias do Sul - UCS, no período de março a julho de 2017.

Os experimentos envolveram a análise de uma cepa bacteriana padrão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e uma cepa de levedura *Microsporium canis* de origem clínica concedida pela Micoteca do Laboratório de Parasitologia - UCS.

Escovas de cabelo novas de cerdas mistas (naturais e artificiais), da marca Raskalo, previamente esterilizadas em autoclave, para exclusão de qualquer contaminação anterior, e placas de Petri com meios de cultura foram contaminados com as cepas microbianas e submetidos a concentração de O_3/O_2 60 μ g/ml em tempos de 30 e 60 minutos utilizando um gerador de ozônio (ver Figura 1).

Figura 1 – Ozonizador



O gás ozônio foi produzido a partir de oxigênio medicinal (oxigênio líquido com um grau de pureza de 98%). O produto final foi uma mistura gasosa de O_3/O_2 , em que a concentração foi regulada por variação de fluxo de oxigênio e a tensão aplicada aos eletrodos. O equipamento utilizado foi o OxyLumen da empresa Tonederm (Figura 1).

Aplicação do ozônio nas escovas contaminadas com *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Após o cultivo do *S. aureus* em cerca de 400mL de caldo TSB por 18 a 24h a 35 \pm 2 $^{\circ}$ C, três escovas de cabelo (um para controle e duas submetidas 30 e 60 minutos de ozônio, respectivamente) foram contaminadas por submersão no caldo durante 5 minutos em agitação e após dispostas em estufa a 35 \pm 2 $^{\circ}$ C por 30 minutos para secagem, invertendo sua posição na metade de tempo.

As escovas foram colocadas em um saco plástico (*plastic bag*) duplo e submetidas ao ozônio nos tempos de 30 e 60 minutos, respectivamente, uma escova para cada tempo. Após a aplicação do ozônio, com o auxílio de um suabe estéril, foi coletado material de toda a escova por 2 minutos. O suabe foi transferido para 1mL de solução salina estéril para o preparo de diluições seriadas de 1:10 e 1:100 e posterior semeadura em superfície de meio de cultura Ágar manitol hipertônico, incubação a 35 \pm 2 $^{\circ}$ C por 48h e posterior avaliação de crescimento microbiano em Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

Aplicação do ozônio nas placas contaminadas com *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Paralelamente ao experimento das escovas, placas de Ágar manitol hipertônico contaminadas com o cultivo inicial do *S. aureus* foram submetidas ao ozônio nas mesmas condições de concentração e nos dois tempos de exposição de

30 e 60 minutos. As placas foram dispostas em estufa a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h por 48h e posterior avaliação de crescimento microbiano em Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

Aplicação do ozônio nas escovas contaminadas com *Microsporium canis* (Micoteca do Laboratório de Parasitologia da UCS)

Após o cultivo de *Microsporium canis* em meio de cultura ágar-Sabouraud-dextrose e incubação a 25°C por sete dias para seu desenvolvimento, duas escovas de cabelo foram contaminadas com *Microsporium canis*, passando sobre a cultura e pressionando levemente em sentido rotatório. Para obtenção de placa controle, a mesma escova foi pressionada, também com movimentos rotatórios, sobre novas placas contendo ágar-Sabouraud-dextrose, a fim de inocular esporos no meio de cultura e confirmar a contaminação das escovas. Estas placas também foram incubada a 25°C por sete dias.

As escovas contaminadas foram colocadas em um saco plástico (*plastic bag*) duplo e foram submetidas ao ozônio nos tempos de 30 e 60 minutos, respectivamente, uma escova para cada tempo. Após a aplicação pressionou-se as escovas levemente em sentido rotatório sobre placas, também contendo ágar-Sabouraud-dextrose, a fim de inocular esporos no meio. Esta placa foi incubada a 25°C por sete dias.

Aplicação do ozônio nas placas contaminadas com *Microsporium canis* (Micoteca do Laboratório de Parasitologia da UCS)

Paralelamente ao experimento das escovas, para obtenção de placa controle, foi retirada uma alçada do fungo e inoculada em placa com ágar-Sabouraud-dextrose incubada a 25°C por sete dias, com observação diária, para acompanhar o desenvolvimento do fungo. As placas foram submetidas ao ozônio nas mesmas condições de concentração e nos dois tempos de exposição de 30 e 60 minutos. Após a aplicação foram dispostas em estufa a 25°C por sete dias, com observação diária, para acompanhar o desenvolvimento ou não do fungo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

S. aureus

As placas controle contaminadas com *S. aureus* estão dispostas em três concentrações: total, 1/10 e 1/100, respectivamente (**figura 2**). As placas contaminadas com as mesmas concentrações, total, 1/10 e 1/100 respectivamente,

submetidas ao ozônio por 30 (**figura 3**) e 60 minutos (**figura 4**) não mostraram crescimento bacteriano em nenhuma das concentrações testadas.

Figura 2 – Placas controle.

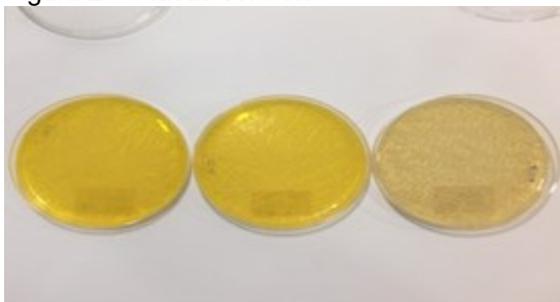


Figura 3 – Placas com aplicação de ozônio 30 minutos.



Figura 4 – Placas com aplicação de ozônio 60 minutos.



As placas controle das escovas contaminadas estão dispostas em três concentrações: total, 1/10 e 1/100, respectivamente (**Figura 5**). As placas das escovas contaminadas com as mesmas concentrações, total, 1/10 e 1/100 respectivamente, submetidas ao ozônio por 30 minutos (**Figura 6**) mostraram significativa diminuição no crescimento de *S. aureus* nas escovas de cabelos contaminadas.

Figura 5 – Controle escovas

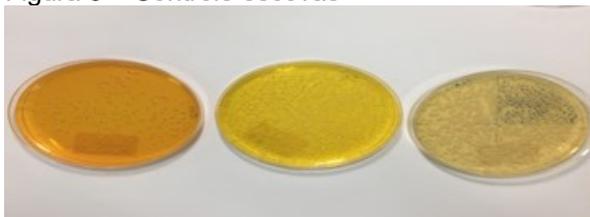
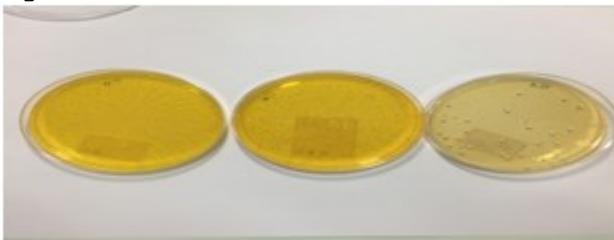


Figura 6 – Escovas com ozônio 30 minutos.



M. canis

A placa controle contaminada com *M. canis*, mostrando o desenvolvimento efetivo do fungo (**Figura 7**). A placa contaminada com o repique submetida ao ozônio por 30 minutos (**Figura 8**) mostrou moderada diminuição do crescimento do fungo quando comparado ao controle. Entretanto, ao ser submetida ao tempo de 60 minutos (**Figura 9**) não mostra crescimento de *M. canis* na placa com o repique.

Figura 7 – Placa controle

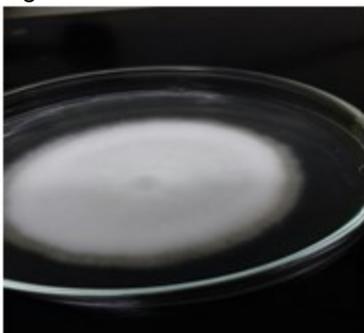
Figura 8 – Placa com repique de *M. canis* com aplicação de ozônio por 30 min.

Figura 9 – Placa com repique de *M. canis* com aplicação de ozônio por 60 min.

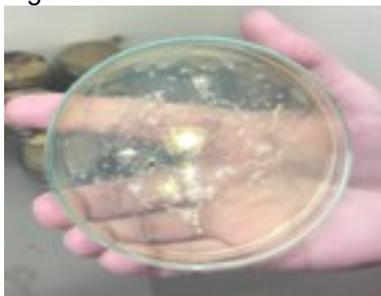


A placa controle da escova contaminada com *M. canis*, mostrando o desenvolvimento efetivo do fungo (**Figura 10**). A placa da escova contaminada submetida ao ozônio por 30 minutos (**Figura 11**) mostrou significativa diminuição do crescimento do fungo, sendo quase total, quando comparado ao controle.

Figura 10 – Controle escova.



Figura 11 – Placa da escova com aplicação de ozônio por 30min.



No conceito de inovações na eliminação de microorganismos, um estudo utilizando o equipamento de ozônio TSO₃ (modelo 125L), testou a efetividade na eliminação de microorganismos em materiais de confecção de agulhas hospitalares e em um uretroscópio. Apenas um de todos os materiais expostos ao ozônio apresentou crescimento bacteriano, mostrando a eficácia do ozônio na esterilização de utensílios hospitalares, apontando resultados positivos em materiais onde a esterilização é difícil e, ainda, negando crescimento de microorganismos mesmo após 14 dias de incubação posterior a aplicação do ozônio (DUFRESNE *et al.*, 2008). Materiais odontológicos também foram submetidos aos efeitos do ozônio, seguindo a ideia de esterilização em baixa temperatura. Um estudo testou materiais infectados com *B. subtilis* em diferentes concentrações, tempos, temperaturas e com o material seco ou molhado. A esterilização

foi obtida na concentração de 20.000-30.000 ppm de O₃ a 50°C com 3-5 minutos de exposição e umidade relativa a 80%, o que demonstra uma alteração na umidade pode trazer mais efetividade ao processo (MASUDA, 1990). Com isso, notamos que em escovas de cabelo poderia ter sido mais eficaz se houvesse um aumento da umidade no local de ação do tratamento com ozônio.

Um experimento com ozonização de óleos testou em cinco espécies de dermatófitos diferentes, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* e *T. interdigitales*, o possível efeito do O₃ e foi constatado que os dois microorganismos de classificação superior *microsporum* foram os mais suscetíveis ao gás, enquanto os outros mostram maior resistência. Desta forma *M. gypseum* e *M. canis* apresentaram declínio na formação de esporos, afirmando que o ozônio possui ação no controle dos mesmos (OUF, 2016). Os dermatófitos *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* foram testados na avaliação da eficácia do ozônio na desinfecção de calçados em pacientes contaminados com onicomicose, o gás ozônio foi eficaz na higienização desses calçados e representa um novo método para tratar pacientes com onicomicose e tinea pedis (GUPTA; BRINTNELL, 2013). Foi visto que bactérias patogênicas humanas, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhimurium* e *Klebsiella pneumoniae* expostas ao ozônio mostraram elevada sensibilidade, sendo que a *E. coli* foi a mais afetada (PRABAKARAM et al., 2012).

O potencial antifúngico de óleos ozonizados foi testado em coelhos infectados com o patógeno, *M. canis*, em diversas regiões do corpo. Foi utilizada uma pomada de Terbinafina, normalmente utilizada em fungos e dermatófitos, em comparação com 0,12g de óleo ozonizado. A Terbinafina demonstrou maior eficácia em relação ao ozônio, porém o O₃ causou menor agressão a epiderme do animal (DAUD, 2011). Sendo de conhecimento que o tratamento sistêmico com antifúngicos, principalmente com o uso a longo prazo, possui efeitos colaterais, alternativas como o uso do ozônio vem sendo estudadas por sua forte propriedade germicida contra vírus, bactérias, parasitas e fungos. Fisiologicamente, a interação do O₃ com esses microorganismos gera a oxidação dos fosfolípidios da membrana citoplasmática tornando alvos as enzimas intracelulares e os materiais genéticos, resultando na morte dos microorganismos por lise celular (ARANA, 1999; GONÇALVES, 2009).

Outro estudo avaliou a eficácia de óleo e água ozonizados no combate a *S. aureus* e *S. aureus* resistente a meticilina. Os resultados obtidos com o óleo mostraram uma taxa de eliminação de quase 100% em 5 minutos para a *S. aureus* e 15 minutos para a cepa resistente. Além disso, a água ozonizada demonstrou esterilização total em um minuto de contato com ambas bactérias. Isso comprova a ação eficaz do ozônio no combate destes microorganismos (SONG, 2018).

O ozônio também pode ser associado com outros componentes para potencializar a inibição de microrganismos, já que todo processo de esterilização requer uma higienização ou desinfecção prévia. Este é o caso de um estudo que testou a associação de ozônio com clorexidina 0,2% em cepas de *S. aureus* e *Candida albicans*, demonstrando que o efeito foi potencializado pela associação e diminuído quando utilizados separadamente. Foi avaliado também se haveria citotoxicidade em fibroblastos e queratinócitos, obtendo resultado negativo e atestando a segurança do uso do ozônio (BORGES, 2017).

Um estudo comparou a eficácia de outros gases com o ozônio (concentração 0,4% e restante O₂), o dióxido de carbono (concentração 99,99%), ar comprimido (21% oxigênio e 79% nitrogênio) e gás hélio (concentração 99,99%). Neste estudo, somente o O₃ conseguiu ser efetivo na destruição completa dos microorganismos testados, desta forma o ozônio mostrou-se superior aos outros gases testados no controle microbiano (PEREIRA,2005).

Outro estudo concluiu que o ozônio é eficiente no controle de microorganismos isolados de resíduos de serviços de saúde (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus* sp, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* e *Clostridium* sp.) evidenciando a possibilidade de o gás ser utilizado como método de tratamento desses resíduos (MARTINS *et al.*, 2015). Além disso, alternativas estão sendo testadas, embora ainda sejam pouco utilizadas, para o uso do ozônio. Exemplos são os métodos de descontaminação que têm sido aplicados com eficácia na indústria, na higienização de alimentos (TRINDADE *et al.*, 2012), na odontologia, no tratamento alternativo de cáries (BURKE, 2012), na medicina (MARTÍNEZ-SANCHES *et al.*, 2012), no tratamento de água e efluentes (PISARENKO *et al.*, 2012; WU *et al.*, 2012) e na desinfecção de máquinas de hemodiálise (CANADA *et al.*, 2014).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista a importância da higienização de escovas de cabelo em salões de beleza, os resultados obtidos foram importantes. Entretanto, sugere-se que a metodologia aplicada para futuros estudos possa ser modificada a fim de otimizar os resultados, visto que na esterilização por autoclave recomenda-se a higienização prévia do material para remoção de resíduos biológicos, o que não foi realizado no presente estudo a fim de obter o resultado legítimo da ação do O₃ nas escovas de cabelo. Já a metodologia aplicada nas placas, que consistiu na aplicação do O₃ diretamente em culturas, corroborou com a literatura existente pela destruição dos microorganismos, na avaliação com o *M. canis* parcial em 30 minutos e total em 60 minutos e total em 30 e 60 minutos com o *S. aureus*, mostrando que o ozônio pode ter ação sobre o controle microbiano de possíveis patógenos do couro cabeludo.

REFERÊNCIAS

Arana I. *et al.* Chlorination and ozonation of waste-water: comparative analysis of efficacy through the effect on *Escherichia coli* membranes. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 1999; 86(5):883-883. [Acesso em 4 abr. 2018]. Disponível em <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2672.1999.00772.x>>

Bannerman TL. Staphylococcus, Micrococcus and other catalase-positive cocci that aerobically. Murray PR et al. (editores). Man Clin Microbiol. 8. ed. Washington, DC: ASM Press; 2003.

Bocci V. Ozone: a new medical drug. 1.ed. Springer; 2005.

Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. Archives of medical research [online]. 2006; 37(4): 425-435. [Acesso em 04 abr. 2018]. Disponível em <[http://www.arcmedres.com/article/S0188-4409\(05\)00342-5/abstract](http://www.arcmedres.com/article/S0188-4409(05)00342-5/abstract)>.

Borges GA et al. In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery. 2017; 45(3): 364-370.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC Nº 15, de 15 de março de 2012. Dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências. Brasília, DF: Diário Oficial da União; 2012

Buranov SN et al. Sterilizing Effect of Ozone on Live Spores of Anthrax Bacillus. Pulsed Power Conference, 2005 IEEE [online]. IEEE; 2005. p. 1415-1416. [Acesso em 4 abr 2018]. Disponível em <<http://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/4084496/>>.

Burke TFJ. Ozone and caries: a review of the literature. Dent Update. 2012; 39(271-272): 275-278.

Canada MLM et al. Effectiveness of ozonated water in the reprocessing of blood dialyzers. Rev. bras. eng. bioméd. 2014; 30(3): 215-219.

Daud FV et al. The use of ozonized oil in the treatment of dermatophytosis caused by *Microsporum canis* in rabbits. Brazilian Journal of Microbiology [online]. 2011; 42(1): 274-281, 2011. [Acesso em 04 abr 2018]. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151783822011000100035&script=sci_arttext&tlng=pt>

Di-Tanno MFP. Ozônio como sanificante de cana de açúcar para obtenção de maior pureza, visando a promoção da saúde. [Tese de Doutorado em Engenharia Biomédica online]. Fernandópolis, SP: Universidade Brasil; 2017. [Acesso em: 10 jul. 2018]. Disponível em: <<http://universidadebrasil.edu.br/portal/wp-content/uploads/2018/04/Marilisa-FI%C3%A1via-Pereira-Di-Tanno-TESE.pdf>>

Santos AL et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [online]. 2007; 43(6): 413-423. [Acesso em 04 abr 2018]. Disponível em <<http://www.redalyc.org/pdf/3935/393541938005.pdf>>

Dufresne S, Leblond H, Chaunet, Marc. Relationship between lumen diameter and length sterilized in the 125L ozone sterilizer. American journal of infection control [online]. 2008; 36(4): 291-297. [Acesso em 4 abr 2018]. Disponível em <[http://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553\(07\)00720-1/abstract](http://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553(07)00720-1/abstract)>

Gonçalves, AA. Ozone: an emerging technology for the seafood industry. *Brazilian archives of Biology and Technology* [online]. 2009; 52(6): 1527-1539. [Acesso em 4 abr 2018]. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-89132009000600025&script=sci_arttext&tlng=pt>.

Golveia VR, Pinheiro SMC, Graziano KU. Métodos de esterilização por baixa-temperatura e novas tecnologias. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. 2007; 15(3): 373-376.

Graziano MU et al. Effectiveness of disinfection with alcohol 70%(w/v) of contaminated surfaces not previously cleaned. *Revista latino-americana de enfermagem* [online]. 2013; 21(2): 618-623. [Acesso em 15 jul 2018]. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010411692013000200618&script=sci_arttext&tlng=es>.

Gupta A K, Brintnell WC. Sanitization of contaminated footwear from onychomycosis patients using ozone gas: a novel adjunct therapy for treating onychomycosis and tinea pedis? *J. cutan. med. surg.*, Hanover [online]. 2013; 17(4): 243-249. [Acesso em 13 jul 2018]. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23815956>>.

Paurosi DR et al. Diretrizes operacionais para uma central de Material e esterilização odontológica: Uma proposta da enfermagem. *Revista UNINGÁ Review* [online]. 2018; 17(2). Acesso em 10 jul. 2018. Disponível em <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1495/1110>>.

Lima, MFP et al. Staphylococcus aureus e as infecções hospitalares: revisão de literatura. *Revista Uningá review* [online]. 2018; 21(1). [Acesso em 10 jul 2018]. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1616>>.

Martínez-Sanches G et al. Effects of ozone therapy on haemostatic and oxidative stress index in coronary artery disease. *Eur. J. pharmacol.*[online]. 2012; 691:165-162. [Acesso em 14 jul 2018]. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22796450>>.

Martins CC, Kozusny-Andreani DI, Mendes ECB. Ozônio no controle de micro-organismos em resíduos de serviços de saúde. *Rev. Baiana Enf.* [online]. 2015; 29(4): 318-327. [Acesso em: 15 jul. 2018]. Disponível em <https://portalseer.ufba.br/index.php/enfermagem/article/view/13678/pdf_13>.

Masuda S et al. Ceramic-based ozonizer for high-speed sterilization. *IEEE Transactions on Industry Applications* [online]. 1990; 26(1): 36-41. [Acesso em 04 abr 2018]. Disponível em <<http://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/52671/?reload=true>>

Murphy L. Ozone: the latest advance in sterilization of medical devices. *Canadian operating room nursing journal* [online]. 2006; 24(2): 28, 30-2, 37-8. [Acesso em 04 abr 2018]. Disponível em <<http://europepmc.org/abstract/med/16869464>>

Nogales CG et al. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract* [online]. 2008; 9(4): 75-84. [Acesso em 4 abr 2018]. Disponível em <http://www.jaypeejournals.com/eJournals/ShowText.aspx?ID=1886&Type=FREE&TY=TOP&IN=_eJournals/images/JPLOGO.gif&IID=160&Value=24&isPDF=YES>

Oliveira ACP, Guilhermetti E, Kioshima ES, Pedra MR, Svidzinski TIE. Tinea capitis em Maringá, Paraná. Um estudo de 11 anos. *An Bras Dermatol*; 77: 321-8, 2002.

Oizumi, M et al. In vitro testing of a denture cleaning method using ozone. *Journal of medical and dental sciences*. 1998; 45: 135-140. Disponível em <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jmds/45/2/45_450209/_article/-char/ja/>

Ouf SA et al. Anti-fungal potential of ozone against some dermatophytes. *Brazilian journal of microbiology* [online]. 2016; 47(3): 697-702. [Acesso em 4 abr 2018]. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822016000300697&script=sci_arttext>

Pereira MMS et al. Efeito de diferentes gases sobre o crescimento bacteriano: estudo experimental. *Rev. Col. Bras. Cir* [online]. 2005; 32(1): 12-14. [Acesso em 4 abr 2018]. Disponível em <<http://www.ingentaconnect.com/content/doaj/01006991/2018/00000032/00000001/art00004>>

Prabakaran M et al. Effect of ozonation on pathogenic bacteria. *Adv. appl. sci. res.*, Coden, USA. 2012; 3(1): 299-302.

Pisarenko AN. et al. Effects of ozone and ozone/peroxide on trace organic contaminants and NDMA in drinking water and water reuse applications. *Water Res.* [online]. 2012;46: 316-326. [Acesso em 14 jul 2018]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22137292>>

Ramos JMP. *Biossegurança em estabelecimentos de beleza e afins*. São Paulo: Atheneu; 2009.

Recio Del Pino, E et al. Aspectos de la ozonoterapia en pacientes con neuropatía periférica epidémica. *Revista Cubana de Enfermería*. 1999; 15 (2): 114-118.

Del Río MT, García B, Serrano JM. Retinitis pigmentosa: Estudio familiar. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 1994; 66.

Sidrim JJC, Rocha MFG. *Micologia médica: à luz de autores contemporâneos*. 2.ed. Rio de Janeiro; 2004.

Song M et al. The antibacterial effect of topical ozone on the treatment of MRSA skin infection. *Molecular medicine reports* [online]. 2018; 17 (2): 2449-2455. [Acesso em: 15 jul 2018]. Disponível em: <<https://www.spandidos-publications.com/mmr/17/2/2449?text=abstract>>

Steiner D, Bartholomei S. Alopecia na mulher. *Rev Bras Med.* [online]. 2013; 70 (10). [Acesso em 04 abr 2018]. Disponível em <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id_materia=5514&fase=imprime>

Subelj M, Marinko JS, Učakar V. An outbreak of *Microsporium canis* in two elementary schools in a rural area around the capital city of Slovenia, 2012. *Epidemiology & Infection*. 2014; 142(12): 2662-2666.

Travagli, V. et al. Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. *Mediators of inflammation* [online]. 2010; 2010. [Acesso em 04 abr 2018]. Disponível em <<https://www.hindawi.com/journals/mi/2010/610418/abs/>>

Trindade MA et al. Comparison of ozone and chlorine in low concentrations as sanitizing agents of chicken carcasses in the water immersion chiller. *J. Food Prot., USA* [online]. 2012; 75:1139-1143. [Acesso em 15 jul 2018]. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22691485>>.

Tuncay Ö et al. Effects of ozone and photo activated disinfection against *Enterococcus faecalis* biofilms in vitro. *Nigerian journal of clinical practice* [online]. 2015; 18(6): 814-818. [Acesso em 4 abr 2018]. Disponível em <<https://www.ajol.info/index.php/njcp/article/view/122187>>

Wille MP, Arantes TD, Silva JLM. Epidemiologia das dermatomicoses em população da periferia de Araraquara-SP. *Rev Bras Clin Med.* [online]. 2009; 7: 295-8, 2009. [Acesso em 04 abr 2018]. Disponível em <<http://www.sbcm.org.br/revistas/RBCM/RBCM-2009-05.pdf#page=20>>

Wu D et al. Ozonation as an advanced oxidant in treatment of bamboo industry wastewater. *Chemosphere*. 2012; 88:1108-1113.

Artigo recebido em: 04/04/2018

Artigo aprovado em: 13/10/2018

Artigo publicado em: 25/02/2019