

# OZONIOTERAPIA EM ANIMAIS DOMÉSTICOS: CONCEITOS BÁSICOS E DIRETRIZES

## *OZONE THERAPY IN DOMESTIC ANIMALS: BASIC CONCEPTS AND GUIDELINES*

**R. C. BASILE<sup>1\*</sup>; R. Y. A. BACCARIN<sup>2</sup>**

### RESUMO

Ozonioterapia é uma técnica de tratamento de diversas doenças locais e sistêmicas por meio da administração de uma mistura oxigênio-ozônio. O gás pode ser aplicado diretamente no corpo do paciente ou ainda ser diluído em soro ou sangue, a chamada auto-hemoterapia ozonizada. Seus efeitos são mediados por mecanismos de oxidação direta ou indireta de células ou patógenos. Dentre os efeitos de oxidação direta, destaca-se a microporação na superfície de microorganismos incapazes de se protegerem por antioxidantes, resultando em destruição física de suas membranas e/ou paredes celulares, o conhecido efeito antisséptico ou desinfetante da ozonioterapia local, tópica ou cavitária. Ao entrar em contato com sangue ou outros fluidos biológicos, o gás ozônio imediatamente se combina com a água resultando em radicais livres e oxida lipídeos, formando os lipoperóxidos. Os radicais livres e lipoperóxidos passam a ser os mediadores dos efeitos do ozônio em diversas células, como as hemácias, leucócitos, plaquetas, fibroblastos, entre outras. Como resultado, obtém-se os efeitos de melhora de perfusão e oxigenação tecidual, modulação da inflamação, analgesia, cicatrização e produção de antioxidantes enzimáticos. Porém, o planejamento terapêutico deve compreender a escolha das vias adequadas de tratamento, concentrações, doses de aplicações sistêmicas e frequência de aplicação para que os resultados sejam maximizados. Além disso, o profissional deve estar corretamente capacitado e conhecer todas as limitações e efeitos adversos possíveis da técnica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ozônio. Cães. Equinos. Ruminantes. Boas práticas.

### SUMMARY

Ozone therapy is a technique for treating various local and systemic diseases by administering an oxygen-ozone mixture. The gas can be applied directly to the patient's body or diluted in serum or blood, the so-called ozone auto-hemotherapy. Its effects are mediated by mechanisms of direct or indirect oxidation of cells or pathogens. Among the direct oxidation effects is microporation on the surface of microorganisms that are unable to be protected by antioxidants, resulting in physical destruction of their membranes and/or cell walls, the well-known antiseptic or disinfectant effect of local, topical or cavitating ozone therapy. When in contact with blood or other biological fluids, ozone gas immediately combines with water resulting in free radicals and oxidizes lipids, forming lipoperoxides. The free radicals and lipoperoxides become the mediators of ozone effects on various cells, such as red blood cells, leukocytes, platelets, fibroblasts, and others. As a result, we obtain the effects of improved tissue perfusion and oxygenation, modulation of inflammation, analgesia, healing, and production of enzymatic antioxidants. However, the therapeutic planning must include the choice of adequate treatment routes, concentrations, doses of systemic applications, and frequency of application so that the results are maximized. In addition, the professional must be properly trained and know all the possible limitations and adverse effects of the technique.

**KEY-WORDS:** Ozone. Dogs. Horses. Ruminants. Good practices.

---

<sup>1\*</sup> Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – Jaboticabal, SP. Email: [rcbasile@gmail.com](mailto:rcbasile@gmail.com).

<sup>2</sup> Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – São Paulo, SP.

## INTRODUÇÃO

De acordo com a última versão da Declaração de Madri para Ozonioterapia, aprovada em 2020 como um tratado internacional de recomendações para o uso médico desta técnica, ozonioterapia é definida como "tratamento que utiliza uma mistura oxigênio-ozônio (95%-99,95% de oxigênio e 0,05%-5% de ozônio), sendo um agente terapêutico capaz de tratar um amplo número de doenças" (Isco3, 2020).

O ozônio é uma molécula com o terceiro maior potencial oxidante presente na natureza, perdendo somente para o flúor e radical hidroxila (Bocci, 2006). Devido a este grande poder oxidante, seus mecanismos de ação devem ser compreendidos em função da resposta biológica ao estresse oxidativo promovido nos tecidos nos quais ele é aplicado.

Sugere-se inicialmente alguns trabalhos que explicam de forma ampla os mecanismos de ação e revisam a eficácia desta técnica nas áreas de odontologia (Tiwari et al., 2017), dermatologia (Zeng e Lu, 2018), dor (Bocci et al., 2015), ortopedia (Manoto et al., 2018) e como agente antimicrobiano (Sharma e Hudson, 2008).

Pode-se dizer que a ozonioterapia é uma técnica multifatorial em que, ao se ajustar a dose, concentração, volume e frequência de aplicação, é possível se obter resposta terapêutica quer seja antimicrobiana, antiinflamatória ou analgésica (Zanardi et al., 2016, Viebahn-Haensler e Fernández, 2021).

A primeira menção a respeito do ozônio foi feita pelo físico holandês Van Marun em 1785, durante experimentos de arcos voltaicos na transmissão de energia elétrica pelo ar. Ele relatou que, durante a transmissão elétrica, um odor muito característico ocorria no ambiente do laboratório, o qual possuía intensas propriedades oxidantes (Schwartz et al., 2011).

Em 1840, na Universidade da Basileia na Suíça, o Professor de química Friedrich Schönbein identificou a molécula do ozônio, formada por três moléculas de oxigênio (Rubin, 2001), e denominou-a de "ozein", que em grego significa "aquilo que tem cheiro". Em 1857, o físico Werner von Siemens projetou e construiu o primeiro gerador de ozônio, que captava ar ambiente e produzia o gás por meio de descargas elétricas, com o objetivo de purificação de água.

Em 1900, o engenheiro Nikola Tesla patenteou nos Estados Unidos da América (EUA) o primeiro gerador de ozônio para fins medicinais. Já no início do século XX, Tesla serializou a produção destes geradores e criou o óleo ozonizado, vendendo para médicos e pacientes. Mas foi na Primeira Guerra Mundial, entre os anos de 1914 e 1918, por meio do exército alemão, que o ozônio realmente se tornou uma estratégia terapêutica reconhecida pela medicina (Bocci et al., 2001). Atualmente, a ozonioterapia é reconhecida pelo sistema de saúde de países como a Alemanha, Brasil, China, Rússia, Cuba, Portugal, Espanha, Grécia, Turquia e 32 estados dos EUA (Raupp, 2017).

A ozonioterapia é utilizada em medicina veterinária há mais de 30 anos (Altman, 2007). Os estudos espécie-específicos se concentram em áreas de animais de produção e equinos e são direcionados à mastite, metrite, endometrite, retenção de membranas fetais, vaginite,

urovagina, enterite, laminite, cólica, como paliativo em neoplasias e lombalgia equina (Duricic et al., 2015; Orlandin et al., 2021). Porém, existem fortes evidências científicas comprovadas por trabalhos realizados em modelos experimentais que comprovam a eficácia do ozônio nas áreas de cicatrização, controle de infecção bacteriana, fúngica, inflamação, dor, isquemia, injúrias de reperfusão e suas síndromes associadas (Fontes et al., 2012; Borges, 2017; Azuma et al., 2014; Babaei-Ghazani et al., 2018; Al-Omiri et al., 2015).

## BIOFÍSICA DA MOLÉCULA

O ozônio é uma molécula triatômica de oxigênio, que é sintetizada naturalmente na atmosfera terrestre durante as tempestades com raios e pela energia ultravioleta (UV) dos raios solares. Sua função principal na estratosfera é formar uma camada protetora contra a mesma energia UV que o forma, impedindo que estes raios promovam alterações nos códigos genéticos e nos tecidos dos seres vivos na camada terrestre (Rubin, 2001).

O gás ozônio é o agente desinfetante ou sanitizante mais potente disponível, devido ao seu alto poder oxidante (Bocci et al., 2015). Em termos de potencial oxidativo, ele é mais agressivo que o peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio, ácido hipocloroso, gás cloro, ácido hipoclorídrico, oxigênio, hipoclorito, cloro e iodo (em ordem decrescente). Além disso, seu uso com agente germicida não deixa resíduos ao final da utilização, ou seja, se decompõe em oxigênio (McConnel, 2012).

Este alto potencial oxidante tem vantagens e desvantagens. Em termos de compatibilidade com materiais, é necessário que o profissional esteja atento que existem classes de materiais resistentes à oxidação do ozônio, os denominados materiais Classe A, e materiais que se degradam em presença de ozônio, os quais são divididos em Classes B, C e D, sendo que os materiais de Classe D se rompem instantaneamente em presença de ozônio. Dentre os materiais mais utilizados em medicina veterinária, podemos seguir a classificação apresentada na Tabela 1.

A geração do ozônio terapêutico é realizada a partir de oxigênio concentrado à 100% e estéril, por meio de equipamentos de uso medicinal capazes de fornecer as concentrações solicitadas com um erro inferior à 10%, e que seja capaz de gerar uma mistura oxigênio-ozônio sem contaminantes entre as concentrações de 5 e 80 mcg/ml (Isco3, 2014; Bocci, 2006).

Existem três formas possíveis de se gerar ozônio: por meio de plasma a frio, raios ultravioletas e descargas elétricas. Esta última forma também é denominada geração por efeito corona, sendo a forma mais utilizada nos geradores medicinais. Um cilindro de oxigênio é acoplado a uma válvula reguladora de fluxo e esta, por sua vez, é ligada à entrada do gerador de ozônio por uma mangueira de silicone. O oxigênio entra em fluxo pré-estabelecido pelo operador no gerador e passa por uma serpentina de vidro na qual recebe descargas elétricas em quantidade necessária para formação da mistura oxigênio-ozônio pré-ajustada no equipamento. O gás oxigênio-ozônio na concentração alvo sai então pelo bocal de coleta para que seja colhido em seringa ou utilizado de outra forma adequada pelo profissional (Isco3, 2014).

**Tabela 1** - Compatibilidade de materiais mais utilizados em Medicina Veterinária em presença de gás ozônio em fluxo contínuo (Fonte: Adaptado de McConnel, 2012).

<b>Material</b>	<b>Classe de Compatibilidade</b>
Plástico	B
Acrílico	B
Vidro	A
Nylon	D
Poliamida	B
Silicone	A
Aço inoxidável 304/316	A
Aço inoxidável - outras ligas	B
Titânio	A
Borracha/Latex	D
Ferro	C
Cobre	B
Poliacrilato	B
Policarbonato	A
Polipropileno	C
Polisulfido	B
Poliuretano	A

Por ser um gás altamente instável, o ozônio se decompõe em oxigênio rapidamente. Portanto, temos a Primeira Regra de Ouro da Ozonioterapia: o gerador deve estar sempre próximo ao paciente. Ou seja, todas as técnicas que envolvem ozonioterapia devem ser executadas imediatamente após a colheita do gás ou o preparo das soluções ozonizadas. Devido ao fato de o ozônio degradar os materiais ou se degradar muito rapidamente, não se deve armazenar soluções ozonizadas ou seringas, bolsas ou frascos com ozônio, em hipótese alguma. Somente óleo ozonizado pode ser armazenado, dado que este não contém especificamente moléculas de ozônio dissolvidas, mas sim, compostos de oxidação dos lipídeos (Guinesi et al., 2011).

A segunda Regra de Ouro da Ozonioterapia é: esta técnica é um tratamento médico complementar aos tratamentos convencionais. Não se substitui, em hipótese alguma, os tratamentos convencionais pela ozonioterapia, e sim se adiciona. Utiliza-se a ozonioterapia como um adjuvante aos tratamentos, auxiliando na recuperação dos pacientes e na redução progressiva das doses de medicamentos conforme estes demonstrem concretamente tais possibilidades (Anzolin & Bertol, 2018).

A terceira Regra de Ouro da Ozonioterapia é: um bom resultado exige um bom planejamento terapêutico. A ozonioterapia é uma estratégia que promove oxidação controlada do paciente, com o objetivo de estimular a produção de antioxidantes endógenos e promover a modulação epigenética para ativação de mecanismos citoprotetores. Porém, para tanto exige indicação assertiva para as doenças que realmente podem ser controladas, além de profundo conhecimento sobre a técnica correta de aplicação em cada espécie (Repiciuc et al., 2016).

O tempo de meia vida do ozônio dissolvido em solução aquosa (pressão = 1 atm, pH = 7, temperatura = 25°C) é de 15 min, o tempo de meia vida do gás em seringa é em torno de 40 minutos a 25°C, degradando-se mais rapidamente conforme ocorre o aumento da

temperatura e da umidade no ambiente (Beck et al., 1998). Por ser mais denso e mais pesado que o ar, o gás tem comportamento de fluido ao ser colocado em seringas e frascos. Ou seja, ele não irá escapar pelo bocal da seringa enquanto o profissional se desloca do gerador até o paciente.

## FARMACOLOGIA

As propriedades terapêuticas do ozônio podem ser descritas por dois mecanismos básicos:

- Capacidade oxidante direta: razão pela qual apresenta alto poder antimicrobiano ao entrar em contato direto com os patógenos, explicando sua ação desinfetante e antisséptica (Sharma & Hudson, 2008; Fontes et al., 2012; McConnel, 2012; Borges et al., 2017).

- Efeitos indiretos de oxidação: em que ao oxidar biomoléculas, produz mensageiros de estresse oxidativo os quais irão desencadear respostas sistêmicas na busca do reparo de lesões e obtenção de um novo equilíbrio redox no organismo. Esses efeitos indiretos são análogos aos efeitos obtidos pelas sessões em câmaras hiperbáricas, por exemplo (Bocci, 2006; Re et al., 2014; Bocci & Valacchi, 2015; Zanardi et al., 2016).

O efeito antimicrobiano é descrito pela oxidação das membranas ou paredes celulares que, ao entrarem em contato direto com o gás ozônio, desenvolvem poros que resultam em um desequilíbrio hidroeletrólítico letal para os microrganismos. Cada patógeno possui uma resistência específica ao gás ozônio. A Tabela 2 apresenta alguns dos microrganismos mais presentes em medicina veterinária e sua respectiva concentração de ozônio necessária para sua eliminação.

Com relação aos mecanismos de ação indireta, uma vez que o ozônio entra em contato com os fluidos orgânicos (sangue, plasma, fluido extracelular, líquido cérebro-espinhal, líquido sinovial, urina, muco, saliva, sêmen, lágrima, entre outros), imediatamente se decompõe em espécies reativas de oxigênio (ERO's) e

lipoperóxidos (LOP's) (Bocci et al., 2009). Imediatamente após a aplicação do ozônio, ocorre um pico transitório de estresse oxidativo no local da aplicação (caso esta seja local, como por exemplo em uma única articulação) ou em todo o organismo do paciente (caso seja realizada uma aplicação por via sistêmica, como a via retal por exemplo) (Bocci et al., 1998). Este pico costuma ser equilibrado pelas enzimas antioxidantes do paciente em torno de 20

minutos após a aplicação do ozônio (Bocci et al., 2009). Porém, é de responsabilidade do médico veterinário avaliar de forma correta o grau de estresse oxidativo ao qual o paciente está submetido para calcular de forma precisa a dose de ozônio que este poderá ser submetido. Negligenciar o grau de estresse oxidativo e a dose correta de ozônio sistêmico pode levar o paciente ao óbito.

**Tabela 2** - Concentrações e tempos de gás ozônio necessários para eliminar microorganismos comuns em animais domésticos, utilizando-se fluxo de 0,125 l/min. (Adaptado de Fontes et al., 2012 e McConnel, 2012).

Patógeno	Concentração	Tempo mínimo
<i>Aspergillus</i>	1,5 a 2 mg/l	1 min
<i>Bacillus cereus</i>	2,3 mg/l	99% após 5 min
<i>Candida albicans</i>	4 mg/l	4 min
<i>Clostridium botulinum</i>	0,5 mg/l	1 min
<i>Escherichia coli</i>	20 mg/l	5 min
<i>Herpes virus</i>	0,8 mg/l	30 seg
<i>Mycobacterium avium</i>	0,17 mg/l	1 min
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20 mg/l	5 min
<i>Staphylococcus aureus</i>	20 mg/l	5 min
<i>Enterococcus faecalis</i>	20 mg/l	5 min
<i>Acinetobacter baumannii</i>	20 mg/l	5 min
<i>Streptococcus</i>	0,2 mg/l	30 seg

Pode-se dizer que a formação das ERO's compõe a parte "indesejável" da ozonioterapia, que pode ser facilmente gerenciada caso o paciente possua níveis adequados de enzimas e substâncias antioxidantes em seu organismo (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) ao receber a terapia. A vida do ozônio em contato com os tecidos é curta, cerca de 60 segundos, sendo rapidamente degradada em água e oxigênio por essas enzimas antioxidantes. Já a porção desejável da terapia é a formação dos lipoperóxidos, em especial o 4-hidroxinonal (4-HNE). Esta molécula é a chamada mensageira de estresse oxidativo, que possui meia-vida longa e por isso é capaz de circular por via hematogênica ou linfática por todos os sistemas do organismo, induzindo inicialmente uma produção massiva de antioxidantes enzimáticos (Biçer et al., 2018).

Sabe-se que os antioxidantes, muito mais que apenas o efeito de balanceamento do equilíbrio redox, apresentam potenciais citoprotetores, antidegenerativos e anti-inflamatórios (Pattison & Winyard, 2008). Estresse oxidativo, inflamação e degeneração são mecanismos que se relacionam entre si por meio da ativação do gene NfκB (Biswas, 2016). Da mesma forma, ao neutralizarmos o estresse oxidativo com enzimas antioxidantes, indiretamente realizamos um estímulo de "down regulation" para o gene NfκB, resultando em efeitos anti-inflamatórios por meio de síntese de citocinas imunomodulatórias como a interleucina-10 (Hao et al., 2015).

Além disso, o próprio 4-HNE estimula o fator nuclear chamado Nrf2, um fator de transcrição genética que regula toda a resposta antioxidante, mediando a expressão genética de genes que codificam enzimas antioxidantes, chaperonas, enzimas reparadoras de DNA e proteínas anti-inflamatórias (Re et al., 2014). Ao ativar os mecanismos controlados pelo Nrf2, o 4-HNE se

contrapõe diretamente à ativação gênica do NfκB promovida pela inflamação e degeneração, ativando mecanismos anti-inflamatórios, de cicatrização tecidual e analgesia (Bocci & Valacchi, 2015).

Sabemos que a dose apropriada de ozônio produz um leve estresse oxidativo e o mensageiro alcaide 4-HNE. Portanto, uma dose apropriada de ozônio pode induzir modulações genéticas que restauram atividades de produção de substâncias cicatriciais, anti-inflamatórias e analgésicas pelo próprio organismo do paciente, agindo de forma indireta na reparação da lesão. Por isso dizemos que este segundo mecanismo de ação é um mecanismo indireto, mediado pelo estresse oxidativo (Pivotto et al., 2020).

Sabe-se que, independentemente da fonte de estresse oxidativo, determinadas células apresentam respostas específicas, a citar:

Hemácias tendem a aumentar a quantidade de 2,3 difosfoglicerato (2,3-DPG), que favorece o aumento de hemoglobina, e com glicose 6 fosfato desidrogenase (G6PD), enzima que as protege do estresse oxidativo (Elvis & Ekta, 2011). Também apresentam hemoglobinas que tendem a se dissociar do oxigênio com mais facilidade, buscando equilíbrio redox (Nelson e Cox, 2004),

- Leucócitos aumentam sua atividade fagocitária e passam a secretar mais citocinas imunomodulatórias (Bocci et al.; 1998; Volkhovskaya et al., 2008; Hao et al., 2015);

- Plaquetas aumentam a taxa de degranulação e liberação de fatores de crescimento plaquetário (PGDF) e fatores de transformação plaquetária-1 (TGF-1) (Valacchi & Bocci, 1999);

- As células do endotélio aumentam a produção de óxido nítrico, o que promove vasodilatação periférica aumentando a perfusão, oxigenação, nutrição e

remoção de catabólitos dos tecidos (Valacchi e Bocci, 2000);

- Fibroblastos apresentam quimiotaxia para a região sob estresse oxidativo e iniciam a produção de fibras de colágeno, no sentido de reparar a lesão (Kim et al., 2009; Xiao et al.; 2017);

Portanto, as ações indiretas do ozônio podem ser explicadas por mecanismos de indução de estresse oxidativo leve locais ou sistêmicos induzidos ao paciente, de forma controlada e limitada, para que o organismo responda por meio de respostas celulares específicas. O somatório destas respostas celulares irá resultar nos esperados efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, circulatórios e cicatrícios da ozonioterapia (Smith et al., 2017).

### PRINCÍPIOS DE ADMINISTRAÇÃO EM ANIMAIS

A ozonioterapia engloba um conjunto de técnicas locais, tópicas, cavitárias, sistêmicas, infiltrativas e não infiltrativas. Além disso, é possível ainda utilizar soluções ozonizadas tais como água bidestilada, solução salina ou óleo poliinsaturado ozonizados (Sciorsi et al.; 2019). Ao se realizar a técnica, deve-se compreender se o objetivo terapêutico é oxidativo ou modulatório.

O primeiro parâmetro a ser definido no planejamento terapêutico é a **Via de Aplicação**.

O ozônio pode ser aplicado com objetivos de ação local ou sistêmica. Quando se pretende atuar

localmente, deve-se aplicar o gás de forma assertiva sobre a lesão, ou seja, escolher a via de forma adequada. Quanto mais próximo o gás estiver da lesão, obviamente sem expandi-la e relesioná-la, melhor e mais rápido será o resultado. Pode-se aplicar o gás oxigênio-ozônio pelas vias subcutânea, intradérmica, intramuscular, intrarticular, periarticular, peritendínea, periligamentar, perilesional, intraóssea, peridural, ótica, óptica, intramamária, intravesical, intrauterina, paravertebral, perifacetária, tópica (cutânea), respeitando os limites de concentrações adequadas para cada tecido. As vias sistêmicas permitidas em ozonioterapia são a via retal, intravaginal, solução salina ozonizada intravenosa, auto-hemoterapia maior ozonizada intravenosa e auto-hemoterapia menor ozonizada intramuscular (Isco3, 2020).

O segundo parâmetro a ser definido é a **Concentração** a ser utilizada.

Cada tecido possui um certo grau de resistência/sensibilidade à oxidação promovida pelo ozônio, assim como os materiais apresentam também diferentes propriedades de compatibilidade e corrosão quando expostos ao gás ou soluções ozonizadas. Existem tecidos que são muito resistentes e outros que se lesionam facilmente. Portanto, deve-se respeitar estes limites ao planejar as concentrações que serão utilizadas em cada tecido. A Tabela 3 sugere concentrações máximas a serem respeitadas (Isco3, 2020).

**Tabela 3** - Sensibilidade dos principais tecidos à oxidação do ozônio e limites de concentrações que devem ser respeitadas em ozonioterapia.

<b>Tecido</b>	<b>Concentração máxima a ser respeitada (µg/ml ou mg/l)</b> (Fonte: ISCO3, 2020)	<b>Concentração máxima sugerida em cães*</b> (µg/ml ou mg/l)	<b>Concentração máxima sugerida em equinos ou bovinos*</b> (µg/ml ou mg/l)
Auricular	20	10	20
Córnea	25	10	10
Pele	35	20	35
Ossos	40	20	40
Músculos	35	20	35
Articulações	35	20	35
Disco intervertebral	35	20	20
Mucosas	35	20	35
Meninges	20	10	20
Útero	35	10	35
Bexiga urinária	25	20	25
Retal	35	20	35
Sangue	40	35	40

\* Limites de concentrações sugeridas pelas autoras.

Ao se realizar as aplicações sistêmicas, deve-se priorizar o cálculo de **Dose** de ozônio que será realizado no paciente (Isco3, 2020).

Existem técnicas padronizadas de uso da ozonioterapia sistêmica, denominadas autohemoterapia maior (M-AHT), autohemoterapia menor (m-AHT), via retal ou infusão de soro ozonizado. As técnicas de auto-hemoterapia consistem na ozonização do sangue do próprio paciente, sendo que na M-AHT colhe-se 1ml/kg de sangue do paciente em tubos de citrato ou bolsas de transfusão, ozoniza-se utilizando-se o mesmo volume de

gás em concentração máxima de 40 mg/l e retorna-se imediatamente, por via intravenosa lenta no mesmo paciente. Note que a técnica preconiza o uso do sangue do próprio paciente, não sangue de transfusão. Na m-AHT são colhidos até 0,1 ml/kg de sangue do paciente em seringa, ozonizados em proporção 1:1 e reaplicados imediatamente por via intramuscular (Isco3, 2020).

Ao realizar a técnica de infusão intravenosa ou subcutânea de soro ozonizado, é importante saber que a concentração do gás ozônio dissolvido em solução se reduz a 25% da concentração inicial na saída do gerador

(ISCO3, 2020). No geral, se utilizam concentrações entre 10 e 20 mcg/ml para ozonização do soro a ser infundido, o que resultará em concentrações de ozônio dissolvido entre 2,5 e 5 mg/l. Para ozonizar o soro, orienta-se que seja realizado o seu borbulhamento por um período entre 5 e 10 minutos para cada litro de solução (Schwartz, 2020).

A forma mais precisa e controlada de se calcular a dose de ozônio sistêmico que será administrada em um paciente é pela via retal (Re, 2012). Adota-se como intervalo de doses terapêuticas os valores entre 0,01 e 0,1 mg/kg (Isco3, 2020), os quais nos permitem um fator de segurança de dose 14 vezes inferior à letal em ratos, que é de 1,4 mg/kg (Viebahn-Hänsler et al., 2012).

Dado que a dose de ozônio sistêmico a ser administrada deve ser calculada em função de uma faixa terapêutica (0,01 a 0,1 mg/kg), a quantidade de ozônio a ser administrada sistemicamente por via retal ou soro

ozonizado deve ser escolhida em função do grau de estresse oxidativo do paciente. Este grau de estresse oxidativo pode ser inferido qualitativamente, em função da gravidade e cronicidade de sua doença, grau de acometimento sistêmico, utilizando-se ferramentas semi-quantitativas como o teste HLB (Heitan, La Garde e Bradford) da gota de sangue fresca e coagulada (Bradford & Allen, 1995) ou pelo teste sanguíneo direto do malondialdeído (MDA), um biomarcador de oxidação lipídica plasmática (Draper & Hadley, 1990; Lorente et al., 2013).

De acordo com o grau de estresse oxidativo, os pacientes devem ser limitados em sua dose máxima de ozônio sistêmico (Isco3, 2020) ou ainda, serem primariamente corrigidos com antioxidantes antes de serem expostos à técnica (Tabela 4). É válido ressaltar que o grau de estresse oxidativo deve ser avaliado ou inferido antes de toda e qualquer aplicação sistêmica de ozônio.

**Tabela 4** – Dose máxima diária de ozônio sistêmico em função do grau de estresse oxidativo do paciente.

Grau de estresse oxidativo	Dose sistêmica (mg/kg)*
Leve	de 0,01 a 0,10
Moderada	de 0,01 a 0,05
Alta	de 0,01 a 0,03
Muito alta	Corrigir com antioxidantes

\* Sempre iniciar a terapia pelas doses mínimas e incrementar gradualmente.

Outros parâmetros relevantes são ainda o **Volume** e **Fluxo** de gás oxigênio-ozônio administrado e o **Tempo de Exposição** ao gás. Estes parâmetros são diretamente dependentes da dose a ser administrada e devem ser corretamente planejados de acordo com os procedimentos terapêuticos. Seu planejamento incorreto pode resultar em efeitos colaterais pela dilatação excessiva de estruturas anatômicas ou oxidação excessiva de tecidos.

Os estudos de ozonioterapia em animais incluem os efeitos da ozonioterapia local e sistêmica em cães (Han et al., 2007; Moda et al., 2022), bovinos (Zobel et al., 2014; Enginler et al.; 2015), equinos (Vendruscolo et al.; 2018, Ávila et al., 2022), ovinos (Duricic et al., 2016; Szponder et al., 2021) e caprinos (Duricic et al.; 2015; Skliarov et al.; 2022).

Deve-se compreender que a ozonioterapia precisa ser planejada em termos de concentrações e doses escalonadas ao longo do tempo (Isco3, 2020). Deve-se respeitar as orientações da ISCO3 sobre vias não recomendadas (SOP ISCO3/LEG/00/10, 2017). Deve-se dominar as indicações e contraindicações da ozonioterapia (Isco3, 2020). Deve-se estar preparado em seu ambiente de trabalho para a ocorrência de efeitos adversos à técnica e procedimentos de primeiros socorros (SOP ISCO3/CLI/00/01, 2015; Isco3, 2020). Deve-se evitar aplicar a técnica em espécies animais cujos efeitos e toxicidade ainda não foram comprovados cientificamente. E, finalmente, deve-se lembrar que a ozonioterapia deve ser utilizada em doses e concentrações graduais, iniciando-se o tratamento sempre pelas doses mínimas previstas (Isco3, 2020).

## BOAS PRÁTICAS EM OZONIOTERAPIA

Todo profissional que pretende realizar a técnica em animais deve ser devidamente treinado em curso teórico-prático com carga horária e ementa adequadas para permitirem uma formação segura e consistente (SOP ISCO3/HUM/00/01, 2016). O tratamento de animais no Brasil é atividade exclusiva de médicos veterinários. Deve-se adquirir geradores de ozônio que respeitem as diretrizes recomendadas pela ISCO3 (Konrad, 2014). Deve-se dominar as técnicas de preparo e acessos para realização da terapia nas diversas espécies animais (Isco3, 2020). Deve-se compreender que, como qualquer outra técnica com efeitos farmacológicos, seu mecanismo de ação é baseado no efeito hormético (Bocci et al, 2009), portanto esta possui seus limites de ineficácia (placebo) e toxicidade (González et al., 2004; Menendez-Cepero et al., 2018).

## PERSPECTIVAS PARA O FUTURO

A ozonioterapia é uma técnica valiosa e ampla no tratamento de muitas enfermidades em animais, porém ainda necessita de estudos de segurança e eficácia espécie específicos. Com o crescimento, embasamento e fortalecimento da técnica, muitos grupos de estudo têm conduzido pesquisas para consolidação e comprovação dos resultados que são observados pela medicina baseada em evidências. A comunidade clínica e científica aguarda ansiosamente por estes resultados.

## REFERÊNCIAS

AL-OMIRI, M. K.; ALHIJAWI, M.; ALZAREA, B. K.; ABUL HASSAN, R. S.; LYNCH, E. Ozone treatment of recurrent aphthous stomatitis: a double blinded study. *Nature Scientific Reports*: 15(6), 2016.

- ANZOLIN, A.P.; BERTOL, C.D. Ozone therapy as an integrating therapeutic in osteoarthritis treatment: a systematic review. **Brazilian Journal of Pain** 1(2): 171-175, 2018.
- ÁVILA, A.C.A.; DINIZ, N.C.; SERPA, R.T.; CHAVES, M.M.B.C.; VIU, M.A.O.; OLIVEIRA, R.A.O. Effectiveness of ozone therapy in the treatment of endometritis in mares. **Journal of Equine Veterinary Science** 112, 2022.
- AZUMA, K.; MORI, T.; KAWAMOTO, K.; KURODA, K.; TSUKA, T.; IMAGAWA, T.; OSAKI, T.; ITOH, F.; MINAMI, S.; OKAMOTO, Y. Anti-inflammatory effects of ozonated water in an experimental mouse model. **Biomedical Reports**: 2, 671-674, 2014.
- BABAEI-GHAZANI, A.; NAJARZADEH, S.; MASOORI, K.; FOROGH, B.; MADANI, S.P.; EBADI, S.; FADAVI, H.R.; EFTEKHARSADT, B. The effects of ultrasound-guided corticosteroid injection compared to oxygen-ozone (O<sub>2</sub>-O<sub>3</sub>) injection in patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. **Clinical Rheumatology**:37(9), 2517-2527, 2018.
- BECK, E.G.; WASSER, G.; VIEBAHN-HÄNSLER, R. The current status of ozone therapy: empirical development and basic research. **Forsch Komplementärmed**:5, 61-75, 2018.
- BIÇER, S.; GÜRSUL, C.; SAYAR, I.; AKMAN, O.; ÇAKARLI, S.; AYDIN, M. Role of ozone therapy in preventing testicular damage in an experimental cryptorchid rat model. **Medical Science Monitor**: 24, 5832-5839, 2018.
- BISWAS, S.K. Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**: 6, 2016.
- BOCCI, V.; VALACCHI, G.; CORRADESCHI, F.; FANETTI, G. Studies on the biological effects of ozone: 8. Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production. **Mediators of Inflammation**:7, 313-317, 1998.
- BOCCI, V. ALDINUCCI, C. BORRELLI, E. CORRADESCHI, F. DIADORI, A. FANETTI, G. VALACCHI, G. Ozone in Medicine. **Ozone Science & Engineering**: 23, 207-217, 2001.
- BOCCI, V. A. Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of The Art. **Archives of Medical Research**: 37, 425-435, 2006.
- BOCCI, V.; BORRELLI, E.; TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I. The ozone paradox: Ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. **Medical Research Reviews**: 29(4), 646-682, 2009.
- BOCCI, V.; VALACCHI, G. Nrf2 activation as target to implement therapeutic treatments. **Frontiers in Chemistry**: 3, 1 – 6, 2015.
- BOCCI, V.; BORELLI, E.; ZANARDI, I.; TRAVAGLI, V. The usefulness of ozone treatment in spinal pain. **Drugs, Design and Therapy**: 9, 2677-2685, 2015.
- BORGES, G. A.; ELIAS, S. T.; SILVA, S. M. M.; MAGALHÃES, P. O.; MACEDO, S. B.; RIBEIRO, A. P. D. GJERRA, E. N. *In vitro* evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. **Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery**: 45(3), 364-370, 2017.
- BRADFORD, R.W.; ALLEN, H.W. The HLB blood test as an indicator of oxidative injury & disseminated intravascular coagulation. **Townsend Letter for Doctors**, 30-89, 1995.
- DRAPER, H.H., HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology** 186: 421-431, 1990.
- DURICIC, D.; VALPOTIC, H.; SAMARDZIJA, M. The intrauterine treatment of the retained foetal membrane in dairy goats by ozone: novel alternative to antibiotic therapy. *Reproduction in Domestic Animals* <https://doi.org/10.1111/rda.12475>, 2015.
- DURICIC, D.; VALPOTIC, H.; ZAJA, Z.; SAMARDZIJA, M. Comparison of intrauterine antibiotics versus ozone medical use in sheep with retained placenta and following obstetric assistance. **Reproduction in Domestic Animals** <https://doi.org/10.1111/rda.12715>, 2016.
- ELVIS, A. M.; EKTA, J. S. Ozone therapy: A clinical review. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**:2(1), 66-70, 2011.
- ENGINLER, S.Ö.; SABUNCU, A.; KAHRAMAN, B.B.; KOCAK, Ö.; YILDAR, E.; GÜZEL, Ö. Comparison of intramammary ozone administrations doses in dairy cows with clinical mastitis. **Acta Scientiae Veterinariae** 43: 1260, 2015.
- FONTES, B. HEIMBECKER, A. M. C.; BRITO, G. S.; COSTA, S. F.; HEIJDEN, I. M.; LEVIN, A. S.; RASSLAN, S. Effect of low-dose gaseous ozone on pathogenic bacteria. **BMC Infectious Diseases** 12: 358, 6, 2012.
- GONZALEZ, R., ROMAY, C., DIAZ-LIERA, S. Estudios de genotoxicidade del ozono. **Revista Cubana de Investigacion Biomedica** 23(3): 177-183, 2004.
- GUINESI, A.S.; ANDOLFATO, C.; BONETTI FILHO, I.; CARDOSO, A.A.; PASSARETTI FILHO, J.; FARAC, R.V. Ozonized oils: a qualitative and quantitative analysis. **Brazilian Dental Journal** 22(1), 2011.

- HAN, H.; KIM, J.; JANG, H.; LEE, B.; YOON, J.; JANG, S.; CHOI, S.H.; JEONG, S. Fluoroscopic guided intradiscal oxygen-ozone injection therapy for thoracolumbar intervertebral disc herniations in dogs. **In Vivo** 21: 609-614, 2007.
- HAO, H.; LI, Y.; FENG, J.; ZHANG, W.; ZHANG, Y.; MA, N.; ZENG, Q.; PANG, H.; WANG, C.; XIAO, L.; HE, X. Ozone promotes regeneration by regulating the inflammatory response in zebrafish. **International Immunopharmacology** 28(1): 369-375, 2015.
- ISCO3 INTERNATIONAL SCIENTIFIC COMMITTEE OF OZONE THERAPY. **Guidelines and recommendations for medical professional planning to acquire a medical ozone generator** 2014, 33p.
- ISCO3 - INTERNATIONAL SCIENTIFIC COMMITTEE OF OZONE THERAPY. **Madrid Declaration of Ozone Therapy**, 3. ed, Madri, Espanha, 2020. 108 p.
- KONRAD, H. Guidelines and Recommendations for medical professional planning to acquire a medical ozone generator. **ISCO3 Standard Procedures**, 2014, 11p.
- KIM, H. S.; NOH, S. U.; HAN, Y. W.; KIM, K. M.; KANG, H.; KIM, H.; PARK, Y. M. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. **Journal of Korean Medical Science**: 24, 368- 374, 2009.
- LORENTE, L., MARTIN, MM, ABREU-GONZALEZ, P.A., DOMINGUES-RODRIGUEZ, A., LABARTA, L., DIAZ, C., FERRERES, J. JIMENEZ, A., MORERA-FUMERO, A. Prognostic Value of Malondialdehyde Serum Levels in Severe Sepsis: A Multicenter Study **Plos One** 8(1): e53741, 2013.
- MANOTO, S. L.; MAEPA, M. J.; MOTAUNG, S.; KEOLEBOGILE. Medical ozone therapy as a potential treatment modality for regeneration of damaged articular cartilage in osteoarthritis. **Saudi Journal of Biological Sciences**: 25, 672-679, 2018.
- MCCONNELL, T. The Definitive Guide to Understanding Ozone. **Ozone Solutions**. 2012. 24 p.
- MENENDEZ-CEPERO, S., ZAMORA, Z., HERNANDEZ, F. Importance of the toxicological tests in the application and safety of ozone therapy. **Journal of Ozone Therapy** 2(3), 2018.
- MODA, T. F.; LIMA, C. J. de; CARVALHO, H. C.; SALGADO, M. A. C.; FERNANDES, A. B.; ZÂNGARO, R. A.; MOREIRA, L. H. Effects of ozone therapy on hematological and serum biochemical parameters in dogs affected by visceral leishmaniasis. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 7, p. e16711729886, 2022.
- NELSON, D. L.; COX, M. M.; **Lehninger Principios de Bioquímica**. Ed. Sarvier, 2004. 1202 p.
- ORLANDIN, J.R.; MACHADO, L.C.; AMBROSIO, C.E.; TRAVAGLI, V. Ozone and its derivatives in veterinary medicine: a careful appraisal. **Veterinary and Animal Science** 13: 100191, 2021.
- PATTISON, D.J.; WINYARD, P. G. Dietary antioxidants in inflammatory arthritis: do they have any role in etiology or therapy. **Nature Clinical Practice Rheumatology**: 4(11), 590-596, 2008.
- PIVOTTO, A.P., BANHUK, F.W., STEFFEN, I.V., DAGA, M.A., AYALA, T.S., MENOLLI, R.A. Clinical uses and molecular aspects of ozone therapy: a review. **Online Journal of Biological Sciences**, 2020.
- RAUPP, V. Projeto de Lei N. 227 de 2017. Autoriza a prescrição da ozonioterapia em todo território nacional. Senado Federal, 2017. 7 p.
- RE, L. Rectal administration and its application in ozone therapy. **International Journal of Ozone Therapy**:11, 41-49, 2012.
- RE, L.; MARTINEZ-SANCHEZ, G.; BORDICCHIA, M., MALCANGI, G.; POCOGNOLI, A.; MORALES-SEGURA, M. A.; ROTHCHILD, J.; ROJAS, A. Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway *in vivo*? A preliminary result. **European Journal of Pharmacology**: 742, 158-162, 2014.
- REPCIUC, C.C.; CRECAN, C.M.; OANA, L.I. Ozone therapy in veterinary medicine. **Revista Romana de Medicina Veterinara** 26(3): 49-53, 2016.
- RUBIN, M. The history of ozone. The Schönbein period, 1839-1868. **Bulletin of History Chemistry**: 26, 40-50, 2001.
- SCIORSCI, R.L.; LILLO, E.; RIZZO, A. Ozone therapy in veterinary medicine: A review. **Research in Veterinary Science**, 2019.
- SCHWARTZ, A.. KONTORCHNIKOVA, K. MALESNIKOV, O. Guía para el uso médico del ozono. Fundamentos terapéuticos e indicaciones. **AEPRIMO**. Madrid, Espanha. 2011. 338 p.
- SCHWARTZ, A. **Clinical Ozone Therapy Manual**. Medizeus Soluciones Medicas, 2020, 658 p.
- SHARMA, M.; HUDSON, J. Ozone gas is an effective and practical antibacterial agent. **American Journal of Infection Control**: 36, 559-563, 2008.SKLIROV, P.M.; FEDORENKO, S.Y.; ONYSCHENKO, O.V.; PASTERNAK, A.M. The effectiveness of ozone therapy in goats with mastitis. **Theoretical and Applied Veterinary Medicine** 9(1), 2021.
- SMITH, N. L.; WILSON, A. L.; GANDHI, J.; VATSIA, S.; KHAN, S. A. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. **Medical Gas Research**: 7(3) , 212-219, 2017.

SOP ISCO3/CLI/00/01. **First aids in ozone therapy**, 2015, 16p.

SOP ISCO3/LEG/00/10 v2. **Non-recommended routes of application in ozone therapy**, 2017, 13p.

SOP ISCO3/HUM/00/01. ISCO3 **Recomendaciones metodológicas para la formación profesional en ozono terapia**, 2016, 24p.

SZPONDER, T.; ZDIENNICKA, J.; NOWAKIEWICS, A.; SWIECA, M.; PATKOWSKI, K. WESSELY-SZPONDER, J. Effects of topical treatment of foot rot in sheep using ozonated olive ointment. **Journal of Veterinary Research** 65(3): 369-374, 2021.

TIWARI, S.; AVINASH, A.; KATIYAR, S.; IYER, A.; JAIN, S. Dental applications of ozone therapy: A review of literature. **The Saudi Journal for Dental Research** 8, 105-111, 2017.

VALACCHI, G.; BOCCI, V. Studies on the biological effects of the ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets. **Mediators of Inflammation** 8, 205-209, 1999.

VALACCHI, G.; BOCCI, V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. **Mediators of Inflammation** 9, 271-276, 2000.

VENDRUSCOLO, C.P.; MOREIRA, J.J.; SEIDEL, S.R.T; FÜLBER, J.; NEUENSHWANDER, H.M.; BONAGURA, G.; AGRESTE, F.R.; BACCARIN, R.Y.A. Effects of medical ozone upon healthy equine joints: Clinical and laboratorial aspects. **Plos One**, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197736>, 2018.

VIEBAHN-HÄNSLER, R.; FERNANDEZ, O. S. L.; FAHMY. Ozone in Medicine: The low-dose ozone concept - guidelines and treatment strategies. **Ozone: Science & Engineering** 34, 408-424, 2012.

VIEBAHN-HAENSLER, R.; FERNANDEZ, O.S.L. Ozone in Medicine: The low-dose concept and its basic biochemical mechanisms of action in chronic inflammatory diseases. **International Journal of Molecular Sciences** 22, 7890, 2021.

VOLKHOVSKAYA, N.B.; TKACHENKO, S.B.; BELOPOLSKY, A. A. Modulation of phagocytic activity of blood polynuclear leukocytes with ozonized physiological saline. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine** 146(5), 559-562, 2008.

ZANARDI, I. BORRELI, E.; VALACHI, G.; TRAVAGLI, V.; BOCCI, V. Ozone: A multifaceted molecule with unexpected therapeutic activity. **Current Medicinal Chemistry** 23, 304-314, 2016.

ZENG, J.; LU, J. Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases. **International Immunopharmacology** 56, 235-241, 2018.

ZOBEL, R.; MARTINEC, R.; IVANOVIC, D.; ROSIC, N.; STANCIC, Z.; FLAJSIG, B.; PLAVEC, H.; SMOLEC, O. Intrauterine ozone administration for improving fertility rate in Simmental cattle. **Veterinarski Arhiv** 84(1): 1-8, 2014.

XIAO, W.; TANG, H.; WU, MENG, LIAO, Y.; LI, K.; LI, K.; XU, X. Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. **Bioscience Reports** 37, 1-11, 2017.