

**EFICÁCIA DE ÓLEOS OZONIZADOS CONTRA *Staphylococcus* COAGULASE-
NEGATIVOS ISOLADAS DE MASTITE SUBCLÍNICA OVINA**

**EFFICACY OF OZONED OILS AGAINST *Staphylococcus* COAGULASE NEGATIVE
ISOLATED FROM SUBCLINICAL MASTITIS SHEEP**

Juliana Egas Rodrigues da Cunha¹; Lara Oliveira Silva¹; Heigly Eduarda Silva Ribeiro¹; Gabriel Pinheiro Pomim¹; Pedro Manoel de Souza Neves¹; Danila Fernanda Rodrigues Frias²

¹ Discente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Brasil, Fernandópolis, São Paulo

² Professora Titular, Universidade Brasil, Fernandópolis, São Paulo

1. Introdução

Dentre os principais problemas sanitários em ovinos, pode-se citar a mastite. Esta enfermidade causa grande prejuízo econômico aos produtores devido a queda da produtividade das ovelhas e também devido à redução significativa nos teores de proteína e gordura do leite, o que influencia de forma negativa no desenvolvimento da cria. Além disso, a doença também oferece riscos à saúde pública, pois a mesma pode ser causada por patógenos de caráter zoonótico (CONTRERAS, et al., 2007; MORONI, et al., 2007).

A principal forma de tratamento dos casos de mastite é por meio do uso de antimicrobianos, porém, o uso indiscriminado destas substâncias, tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária, vem promovendo, de forma acelerada, o aumento a resistência múltipla de agentes patogênicos as estas drogas. Além disso, o aumento do uso destes fármacos pode promover riscos à saúde pública devido a resíduos que os mesmos deixam nos alimentos (SOUZA et al., 2017).

Esta situação reforça a necessidade de desenvolvimento de novas pesquisas para tratamento de agentes causadores de mastite ovina, e a utilização óleos ozonizados pode se tornar uma alternativa para o tratamento, uma vez que, a ação benéfica do ozônio já foi comprovada (KINDELÁN, 2012).

Neste contexto o trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia de óleos ozonizados no controle de *Staphylococcus* coagulase negativas isoladas de mastite subclínica de ovelhas.

2. Metodologia

O projeto de pesquisa que deu origem a esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais – CEUA/Universidade Brasil, sob protocolo nº 1900004.

Foram selecionadas cinco cepas de *Staphylococcus* coagulase negativas isoladas de ovelhas com mastite subclínica que estavam armazenados no laboratório de Microbiologia da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis.

Foram utilizados óleos comerciais (Ozonebalm[®]) de oliva, girassol e coco ozonizados para a realização dos testes de susceptibilidade.

As cepas de *Staphylococcus* coagulase negativas foram semeadas em ágar TSA e levadas a incubadora (BOD) a temperatura de 37°C durante 24 horas. Em seguida, foram suspensas em solução salina (0,9%) obedecendo a escala MC Farland de diluição para se obter a turvação relacionada a 1,5 x 10⁸ unidades formadoras de colônia (UFC).

Para o teste de susceptibilidade as bactérias foram semeadas na superfície de placas de Petri contendo Ágar TSA com a utilização de *swab* estéril, e após duas horas, foram adicionados os discos de papel filtro contendo 10, 15, 20 e 25µL do óleo ozonizado. Como controle de inibição, foi adicionado no centro de cada placa um disco de antibiótico ciprofloxacina 5µg.

Como controle, placas de TSA após inoculação receberam os discos de papel filtro com 10, 15, 20 e 25µL de solução salina e o disco de antibiótico ciprofloxacina 5µg.

Todas as placas foram levadas à estufa BOD a 37° e a leitura foi realizada após 24 horas, pela medição de halos de inibição de crescimento.

Todos os resultados obtidos foram tabulados e submetidos à análise de acordo com a avaliação pela escala de Duraffourd (DURAFFOURD et al., 1987).

3. Resultados

Os resultados referentes ao teste de susceptibilidade de *Staphylococcus* coagulase negativas, frente aos óleos ozonizados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Halo de inibição médio (mm) do teste de susceptibilidade de cepas de *Staphylococcus* coagulase negativas frente a óleos ozonizados em diferentes concentrações.

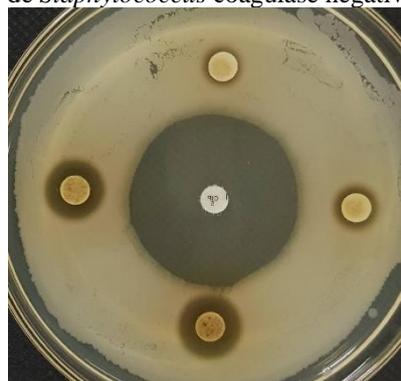
Testes	Concentrações			
	10 µL	15 µL	20 µL	25 µL
COCO	0	0	0	0
GIRASSOL	0	0	0	0
OLIVA	0	0	9	12
CIPROFLOXACINA	30	30	30	30
TESTEMUNHA	0	0	0	0

Fonte: Elaborada pelos autores

Os resultados apresentados demonstraram que o óleo ozonizado de oliva apresentou efeito inibitório frente as cinco cepas de *Staphylococcus* coagulase negativas isoladas de casos de mastite subclínica de ovinos em concentração acima de 20 µL. Os óleos ozonizados de girassol e coco não apresentaram eficácia perante o microrganismo avaliado.

Os halos de inibição encontrados na avaliação (Figura 1) das cinco cepas variaram de 8 a 10mm (média 9mm) na concentração de 20 µL, e de 10 a 14 mm (média 12 mm) na concentração de 25 µL, o que demonstrou que as cepas analisadas apresentaram sensibilidade baixa ao óleo ozonizado testado nestas concentrações de acordo com a escala de Duraffourd. Esta escala considera sensibilidade baixa, para diâmetro entre 8 e 14 mm (DURAFFOURD et al., 1987).

Figura 1. Teste de susceptibilidade de *Staphylococcus* coagulase negativas frente ao óleo ozonizado de oliva



Fonte: Arquivo pessoal

Pesquisa realizada por Diaz et al. (2006), detectou ação inibitória dos óleos de girassol e oliva ozonizados frente a cepas padrão de *Staphylococcus aureus* e *E. coli*. Montevecchi et al. (2013) relataram efeito o óleo ozonizado de oliva frente a *Staphylococcus aureus*.

4. Conclusões

Conclui-se que, as cepas *Staphylococcus* coagulase negativas isoladas de mastite subclínica de ovinos apresentaram baixa sensibilidade *in vitro* ao óleo ozonizado de oliva. Este fato demonstra a necessidade de mais estudos com relação ao uso de óleos ozonizados a microrganismos causadores de mastite ovina, principalmente para avaliar a utilização de doses mais elevadas na tentativa de viabilizar sua utilização *in vivo*, pois o óleo apresentou, mesmo que baixa, ação inibitória do patógeno.

Referências bibliográficas

CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J. C.; MARCO, J. C.; PAAPE, M.; GONZALO, C. Mastitis in small ruminants. **ELSEVIER: Small Ruminant Research**, v.68, p.145-153, 2007.

DÍAZ, M.F.; HERNÁNDEZ, R.; MARTÍNEZ, G.; VIDAL, G.; GÓMEZ, M.; FERNÁNDEZA, H.; GARCÉS, R. Comparative Study of Ozonized Olive Oil and Ozonized Sunflower Oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.17, n. 2, p.403-407, 2006.

DURAFFOURD, C.; LAPRAZ, J.; D' HERVICOURT, L. **Cuadernos de fitoterapia clínica**. 1ed. Barcelona: MASSON S.A.; 1987.

KINDELÁN, L.; CORDIES, B.; MIRANDA, M. Buenas prácticas clínicas de enfermería en la aplicación de ozonoterapia en pacientes con afecciones crónicas. **Revista Cubana de Enfermería**, v.32, n.4, p.126-136, 2016.

MONTEVECCHI, M.; DORIGO, A.; CRICCA, M.; Y CHECCHI, L. Comparison of the antibacterial activity of an ozonated oil with chlorhexidine digluconate and povidone-iodine. A disk diffusion test. **The new microbiologica**, p.289-302, 2013.

MORONI, P.; PISONI, G.; VARISCO, G.; BOETTCHER, P. Effect of intramammary infection in Bergamasca meat sheep on milk parameters and lamb growth. **Journal of Dairy Research**, v.74, p.340-344, 2007.

SOUZA, C.N.; ALMEIDA, A.C.; XAVIER, M.T.R.; COSTA, J.P.R.; SILVA, L.M.V.; MARTINS, E.R. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais do cerrado mineiro frente a bactérias isoladas de ovinos com mastite. **Revista UNIMONTES Científica**, v. 19, n.2, p.51-61, 2017.

Agradecimentos

Universidade Brasil