

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS OZONIZADOS FRENTE *Escherichia coli*  
ISOLADAS DE MASTITE CLÍNICA OVINA**

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF OZONED OILS FRONT *Escherichia coli* ISOLATED  
FROM CLINICAL MASTITIS SHEEP**

Lara Oliveira Silva<sup>1</sup>; Juliana Egas Rodrigues da Cunha<sup>1</sup>; Heigly Eduarda Silva Ribeiro<sup>1</sup>; Gabriel Pinheiro Pomim<sup>1</sup>; Pedro Manoel de Souza Neves<sup>1</sup>; Danila Fernanda Rodrigues Frias<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Discente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Brasil, Fernandópolis, São Paulo

<sup>2</sup> Professora Titular, Universidade Brasil, Fernandópolis, São Paulo

## 1. Introdução

A ovinocultura no Brasil está em constante ascensão, e as doenças infecciosas, dentre elas a mastite, vêm provocando cada vez mais impacto econômico negativo a atividade (PEIXOTO; MOTA; COSTA, 2010).

A mastite pode ser causada por agentes contagiosos e ambientais. Os contagiosos são transmitidos durante a realização da ordenha ou no momento da mamada da cria (DRESCHER et al., 2010). Já os agentes ambientais são estes facilmente isolados do solo, água contaminada e camas, sendo os mais comuns as enterobactérias como *Escherichia coli*, *Klesbsiella pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes*, agentes (COUTINHO et al., 2006).

Conhecer o agente etiológico da mastite é fundamental para o controle da doença, pois os métodos de prevenção e tratamento diferem de acordo com o microrganismo envolvido. A antibioticoterapia é a principal forma de tratamento dos casos de mastite, porém, o uso indiscriminado destas substâncias, tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária, promove o aumento a resistência múltipla dos agentes patogênicos (SOUZA et al., 2017).

Para evitar a seleção de patógenos resistentes, a descoberta de produtos alternativos é fundamental, dentre eles podemos citar o uso de extratos e óleos de plantas e o ozônio. Estas substâncias não são malélicas a saúde e nem ao meio ambiente (BORGES et al., 2016). Por isso, o óleo ozonizado pode se tornar uma alternativa para o tratamento da mastite clínica em ovinos. Neste contexto o trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia de óleos ozonizados no controle de *Escherichia coli* isoladas de mastite clínica 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 *E. coli* isoladas de ovelhas com mastite clínica que estavam armazenados no laboratório de Microbiologia da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis.

Para a pesquisa, foram utilizados óleos comerciais (Ozonebalm<sup>®</sup>) de oliva, girassol e coco ozonizados nos testes de susceptibilidade.

As cepas de *E. coli* foram semeadas em ágar EMB 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  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colônia (UFC).

Para o teste de susceptibilidade as bactérias foram semeadas, com a utilização de *swab* estéril, na superfície de placas de Petri contendo Ágar MacConkey, e após duas horas, adicionou-se discos de papel filtro contendo 10, 15, 20 e 25µL do óleo ozonizado a ser testado. Como

controle de inibição do crescimento bacteriano, foi adicionado no centro da placa um disco de antibiótico ciprofloxacina 5µg. As placas foram preparadas em triplicata.

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

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 halos de inibição encontrados na avaliação das cinco cepas de *E. coli* isoladas de casos de mastite clínica de ovinos variaram de acordo com o óleo utilizado e a sua concentração, e os valores médios estão expressos na Tabela 1.

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

Testes	Concentrações			
	10 µL	15 µL	20 µL	25 µL
<b>COCO</b>	9	9	9	9
<b>GIRASSOL</b>	8	9	10	10
<b>OLIVA</b>	8	9	10	15
<b>CIPROFLOXACINA</b>	30	30	30	30
<b>TESTEMUNHA</b>	0	0	0	0

Fonte: Elaborada pelos autores

Os resultados apresentados demonstraram que todos os óleos ozonizados utilizados apresentaram efeito inibitório frente as cinco cepas de *E. coli* isoladas de casos de mastite clínica de ovinos variadas concentrações (Figura 1).

Figura 1. Teste de susceptibilidade de *E. coli* frente ao óleo ozonizado de oliva



Fonte: Arquivo pessoal

Analisando os resultados de acordo com a escala de Duraffourd, onde considera-se efeito Nulo, quando o diâmetro do halo for menor que 8mm; Sensibilidade baixa, para diâmetro entre 8 e 14 mm; sensibilidade média, para diâmetro entre 14 e 20 mm; e extremamente sensível para diâmetro maior que 20 mm (DURAFFOURD et al., 1987), constatou-se que as cepas analisadas apresentaram baixa sensibilidade ao óleo de coco e de girassol a partir da concentração de 10 µL.

Já o óleo de oliva apresentou-se mais eficaz, pois com 15 e 20 µL, a bactéria apresentou sensibilidade baixa, mas a partir de 25 µL, a sensibilidade já se tornou média, o que sugere que o aumento da concentração pode promover a eliminação do patógeno.

Outras pesquisas já relataram a eficácia do óleo de girassol e oliva no controle de *E. coli* e *Staphylococcus aureus* (DIAZ et al., 2006; MONTEVECCHI et al., 2013).

#### 4. Conclusões

Conclui-se que, as cepas *E coli* isoladas de mastite subclínica de ovinos apresentaram sensibilidade *in vitro* aos óleos ozonizados de oliva, coco e girassol, destacando-se a média sensibilidade ao óleo ozonizado de oliva na concentração de 25 µL. Porém torna-se necessário a realização de novas pesquisas para analisar outras concentrações assim como executar testes *in vivo* para adequar formas de utilização do produto para o tratamento da mastite clínica em ovinos.

#### Referências bibliográficas

BORGES, I. V.; CAVALCANTI, L.S.; FIGUEIREDO-NETO, A.; ALMEIDA, J.R.E.S.; ROLIM, L.A.; LIMA, M.A.G. Aplicação de revestimento com extratos de jurema preta no controle de antracnose em frutos de manga. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v.17, n. 2, p.205-216, 2016.

COUTINHO, D. A.; COSTA, J. N.; RIBEIRO, M. G.; TORRES, J. A. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.7, n.2, p.139-151, 2006.

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.

DRESCHER, G.; MATTIELLO, S. P.; PEIXOTO, R. M.; VARGAS, A. C.; MACIEL, M. N.; COSTA, M. M. Caracterização bioquímica e perfil de sensibilidade de agentes bacterianos isolados de mastite subclínica ovina na região oeste de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.1, p.188-193, 2010.

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

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.

PEIXOTO, R.M.; FRANÇA, C.A.D.; SOUZA JÚNIOR, A.F.; VESCHI, J.L.A.; COSTA, M.M.D. Etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados bacterianos da mastite em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, p.735-740, 2010.

#### Agradecimentos

Universidade Brasil