



PESQUISA

Avaliação *in vitro* da eficácia do óleo de girassol ozonizado frente a patógenos isolados de mastite bovina

In vitro evaluation of the efficacy of ozonized sunflower oil against pathogens isolated from bovine mastitis

Evaluación *in vitro* de la eficacia del aceite de girasol ozonizado frente a patógenos aislados de mastitis bovina

José Francisco Manta Bragança¹, Anna Laura Possamai², Julcimar M. Maciel³, Samara P. da Silva⁴, Lilian K. Girardini⁵

RESUMO

A mastite é uma inflamação da glândula mamária, comumente transmitida durante a ordenha, que provoca alterações no leite e no tecido mamário, resultando em perdas econômicas significativas. Entre os prejuízos estão os custos com medicamentos, descarte de leite, queda na produção e, em alguns casos, descarte do animal. Devido ao uso excessivo de antibióticos e ao aumento de bactérias multirresistentes, torna-se fundamental buscar terapias alternativas eficazes, sem depender de altas doses de antimicrobianos. Nesse contexto, foi avaliada a eficácia do óleo de girassol ozonizado nas concentrações de 922 mEq, 490 mEq e óleo in natura, utilizando os métodos de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), contra isolados bacterianos de *Klebsiella sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp.* e *Streptococcus uberis*, provenientes de casos de mastite diagnosticados no Laboratório de Microbiologia da Unoesc, Campus Xanxerê. Os resultados mostraram que o óleo ozonizado apresentou atividade inibitória contra todas as bactérias testadas nas concentrações de 922 mEq e 490 mEq. Os valores de CIM variaram entre 0,025% e 13,1% para o óleo 922 mEq e entre 0,025% e 6,55% para o óleo 490 mEq. Além disso, os óleos ozonizados demonstraram atividade bactericida em concentrações de 0,82% a 1,64% para o óleo 922 mEq e de 0,41% a 26,19% para o óleo 490 mEq. Contudo, o óleo in natura não foi eficaz contra nenhuma das bactérias testadas. Esses resultados destacam o potencial do óleo ozonizado como terapia de suporte no tratamento da mastite, contribuindo para reduzir o uso de antimicrobianos, diminuir custos com tratamento, mitigar a resistência bacteriana e aumentar a vida produtiva dos animais, promovendo benefícios significativos para a saúde animal e a sustentabilidade na pecuária leiteira.

Palavras-chave: ozonioterapia; mastite; bactericida; bacteriostático.

ABSTRACT

Mastitis is an inflammation of the mammary gland, commonly transmitted during milking, which causes changes in milk and mammary tissue, resulting in significant economic losses. These losses include costs for medications, milk disposal, reduced production, and, in some cases, the culling of animals. Due to the excessive use of antibiotics and the rise of multi-resistant bacteria, it is crucial to seek effective alternative therapies without relying on high doses of antimicrobials. In this context, the efficacy of ozonized sunflower oil was evaluated at concentrations of 922 mEq, 490 mEq, and natural oil, using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) methods against bacterial isolates of *Klebsiella sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp.*, and *Streptococcus uberis*, originating from mastitis cases diagnosed at the Microbiology Laboratory of Unoesc, Xanxerê Campus. The results showed that ozonized oil exhibited inhibitory activity against all tested bacteria at concentrations of 922 mEq and 490 mEq. The MIC values ranged from 0.025% to 13.1% for the 922 mEq oil and from 0.025% to 6.55% for the 490 mEq oil. These results highlight the potential of ozonized oil as a supportive therapy in the treatment of mastitis, contributing to reducing the use of antimicrobials, lowering treatment costs, mitigating bacterial resistance, and increasing the productive lifespan of animals, promoting significant benefits for animal health and sustainability in dairy farming.

Keywords: ozone therapy; mastitis; bactericidal; bacteriostatic.

¹Docente, Dr. Médico Veterinário, Universidade do Oeste de Santa Catarina, Brasil. E-mail - jose.braganca@unoesc.edu.br

²Acadêmica Medicina Veterinária, Universidade do Oeste de Santa Catarina, Brasil. E-mail - annalauragpossamai@hotmail.com

³Biólogo, Técnico laboratorial, Universidade do Oeste de Santa Catarina, Brasil. E-mail - julcimar.maciel@unoesc.edu.br

⁴Acadêmica Medicina Veterinária, Universidade do Oeste de Santa Catarina, Brasil. E-mail - samara17p@gmail.com

⁵Docente, Dra. Médica Veterinária, Universidade do Oeste de Santa Catarina, Brasil. E-mail - lilian.kolling@unoesc.edu.br

RESUMEN

La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria, comúnmente transmitida durante el ordeño, que provoca cambios en la leche y en el tejido mamario, lo que resulta en pérdidas económicas significativas. Estas pérdidas incluyen costos por medicamentos, descarte de leche, disminución de la producción y, en algunos casos, sacrificio de los animales. Debido al uso excesivo de antibióticos y al aumento de bacterias multirresistentes, es crucial buscar terapias alternativas efectivas sin depender de altas dosis de antimicrobianos. En este contexto, se evaluó la eficacia del aceite de girasol ozonizado en concentraciones de 922 mEq, 490 mEq y aceite natural, utilizando los métodos de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) contra aislados bacterianos de *Klebsiella sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp.* y *Streptococcus uberis*, provenientes de casos de mastitis diagnosticados en el Laboratorio de Microbiología de Unoesc, Campus Xanxerê. Los resultados mostraron que el aceite ozonizado presentó actividad inhibitoria contra todas las bacterias probadas en concentraciones de 922 mEq y 490 mEq. Los valores de CIM variaron entre 0,025% y 13,1% para el aceite de 922 mEq y entre 0,025% y 6,55% para el aceite de 490 mEq. Además, los aceites ozonizados demostraron actividad bactericida en concentraciones de 0,82% a 1,64% para el aceite de 922 mEq y de 0,41% a 26,19% para el aceite de 490 mEq. Sin embargo, el aceite natural no fue efectivo contra ninguna de las bacterias probadas. Estos resultados destacan el potencial del aceite ozonizado como terapia de apoyo en el tratamiento de la mastitis, contribuyendo a reducir el uso de antimicrobianos, disminuir los costos del tratamiento, mitigar la resistencia bacteriana y aumentar la vida productiva de los animales, promoviendo beneficios significativos para la salud animal y la sostenibilidad en la ganadería lechera.

Palabras-clave: ozonoterapia; mastites; bactericida; bacteriostático.

INTRODUÇÃO

O Oeste de Santa Catarina é a principal bacia leiteira do estado. É composta por 118 municípios que abrigam 20% da população total e 34% da população rural, sendo responsável por cerca de 76% da produção de leite estadual. Nos últimos anos, a cadeia leiteira da região cresceu aproximadamente 300%, enquanto o crescimento estadual foi de cerca de 190%, ambos acima da média nacional (EMBRAPA, 2018).

Nesse contexto, uma das enfermidades mais recorrentes na pecuária leiteira é a mastite, uma inflamação da glândula mamária causada por patógenos ambientais ou contagiosos. Transmitida, frequentemente, durante a ordenha, a mastite provoca alterações no leite e no tecido mamário, sendo classificada em clínica ou subclínica e em contagiosa ou ambiental, de acordo com o patógeno.

A doença resulta em perdas econômicas significativas para o setor leiteiro e, entre os principais agentes, está a *Escherichia coli* e diferentes espécies dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* (Almeida *et al.*, 2021).

O tratamento convencional da mastite baseia-se com a aplicação de antibióticos, cuja eficácia depende do tipo de microrganismo presente, bem como do seu perfil de sensibilidade aos antimicrobianos. Contudo, o uso indiscriminado de antibióticos pode levar à seleção de bactérias multirresistentes. Paralelamente, os resíduos de antibióticos no leite representam um desafio significativo para a indústria, podendo causar hipersensibilidade e atuar como fator de risco na seleção de bactérias resistentes em humanos, dentro do contexto de saúde única (Pereira; Ribeiro; Carvalho, 2006).

Dada à gravidade desses desafios, surge a necessidade da pesquisa de terapias alternativas, que reduzam a dependência de antibióticos, mas que assegurem a eficácia terapêutica e mitiguem os riscos da resistência bacteriana. Alternativas promissoras incluem agentes antimicrobianos

Avaliação *in vitro* da eficácia do óleo de girassol... naturais, tais como os óleos essenciais e compostos ozonizados. Essas abordagens podem complementar ou substituir antibióticos tradicionais, contribuindo para a sustentabilidade da produção animal e a segurança alimentar, além de preservar a eficácia dos tratamentos futuros.

O ozônio é uma forma alotrópica do oxigênio, formado pela exposição de gás puro ou a luz UV de alta intensidade (Pereira; Ribeiro; Carvalho, 2006). Estudos mostram que a ozonioterapia melhora o tratamento de infecções bacterianas, virais e fúngicas, bem como lesões isquêmicas e outras patologias. Sua eficácia deve-se à capacidade do ozônio de aumentar a oxigenação tecidual e acelerar o metabolismo, promovendo reações positivas em infecções agudas e crônicas (Morette, 2011).

O ozônio penetra nos tecidos e atua como agente antiálgico, antisséptico e anti-inflamatório, interferindo nos mediadores da inflamação e estimulando o sistema imune (Tiwari *et al.*, 2017). É importante destacar que o ozônio possui várias vantagens significativas em tratamentos veterinários, visto que, diferente dos antibióticos, o produto não deixa resíduos no leite e na carne, não contribui para o desenvolvimento de resistência antimicrobiana, não interage com outros medicamentos ou com a microbiota gastrointestinal dos animais tratados e não provoca reações alérgicas em concentrações terapêuticas. Isso torna o ozônio uma opção promissora no controle de doenças infecciosas em animais (Duričić; Valpotić; Samardžija, 2015), destacando o potencial dos óleos ozonizados como uma alternativa sustentável e eficaz no controle de infecções na pecuária.

O óleo ozonizado é formado pelo borbulhamento contínuo de gás ozônio em óleo vegetal até que se solidifique. Quando em contato com o tecido, o ozônio é liberado (Brito *et al.*, 2021). No contexto da mastite, a ozonioterapia pode reduzir os gastos com antimicrobianos e o descarte de leite devido a resíduos de antibióticos, além de beneficiar os

animais, evitando a geração de bactérias multirresistentes (Arévalo *et al.*, 2021). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo de girassol ozonizado com diferentes índices de peróxidos (490 mEq e 922 mEq), frente a patógenos isolados de casos de mastite bovina, destacando suas potenciais aplicações clínicas e impacto na sustentabilidade da produção leiteira.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Microbiologia da Unoesc Xanxerê, SC. Para avaliar o potencial antimicrobiano do óleo de girassol ozonizado frente a patógenos causadores de mastite bovina, foram utilizadas bactérias isoladas de amostras de leite recebidas no mesmo laboratório. As amostras provieram de fêmeas bovinas com diagnóstico de mastite, oriundas de propriedades produtoras de leite da região oeste do estado. Foram selecionadas espécies bacterianas prevalentes na região e comumente isoladas de amostras de leite no laboratório.

OBTENÇÃO DO ÓLEO

Os óleos ozonizados empregados foram obtidos da empresa Ozone & Life®, de São Paulo, SP, sendo o óleo de baixo índice de peróxido 490 mEq e o de alto índice de peróxido 922 mEq. O óleo de girassol *in natura* (sem ozônio) foi obtido da mesma empresa. A escolha das concentrações do óleo ozonizado considerou as diferenças nos índices de peróxido, que refletem a quantidade de compostos reativos de oxigênio presentes e sua relação direta com a atividade antimicrobiana. Óleos com índices de peróxido mais elevados tendem a apresentar maior potencial bactericida, enquanto índices mais baixos podem proporcionar uma ação antimicrobiana progressiva e menos agressiva aos tecidos. Dessa forma, a utilização de duas concentrações distintas permitiu avaliar a eficácia do óleo ozonizado em diferentes níveis

Avaliação *in vitro* da eficácia do óleo de girassol... de atividade, auxiliando na identificação de concentrações mais adequadas para o controle de patógenos associados à mastite bovina. Os óleos foram armazenados a 4 °C.

IDENTIFICAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DOS ISOLADOS

As bactérias foram isoladas das amostras de leite, identificadas por características bioquímicas e tintoriais, conforme Markey *et al.* (2013), e preservadas por congelamento por meio do preparo de solução composta por leite e glicerol a 10%, mantidas a -80 °C.

Os microrganismos testados foram descongelados em temperatura ambiente e repassados para tubos contendo caldo Brain Heart Infusion (BHI). Foram incubados a 37° por 24 horas, sendo em seguida repassados para placas contendo Ágar BHI com o objetivo de avaliar a pureza e viabilidade das colônias. Para padronização dos inóculos, foram adicionadas colônias puras obtidas no ágar BHI, em solução salina 0,85%, estéril, até turbidez comparável a solução padrão 0.5 de McFarland, que corresponde a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Para a determinação da concentração inibitória mínima, a metodologia aplicada foi a descrita por Clinical & Laboratory Standards Institute (2017), baseada no método de micro diluição em caldo. Para isso, em microplacas de 96 poços contendo 100 µL de caldo Mueller Hinton (Merck), foram adicionados 100 µL do óleo na concentração a ser testada (922 mEq ou 490 mEq). Foram realizadas diluições seriadas 1:2, e as microplacas foram incubadas em condições aeróbicas a 37 °C por 20-24 h.

Após a incubação, foram adicionados 10 µL de 1% de cloreto de 2,3,5-trifenil-tetrazólio (CTT) (Dinâmica, São Paulo, Brasil) em todos os poços das microplacas e realizada nova incubação a 37 °C durante 40 minutos. Posteriormente, procedeu-se à leitura com base na alteração de cor para rosa, ou seja, os poços que ficaram na

cor rosa após a adição do corante indicaram crescimento bacteriano. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) é o último poço a não ser corado nesse momento. Os testes foram realizados em triplicata.

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM)

Previamente à adição do CTT para avaliação da MIC, com a ajuda de um replicador, o conteúdo de cada poço da microplaca foi inoculado em uma placa de Petri contendo Ágar Muller Hinton e incubado a 37°C por 24 horas para os isolados de *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus sp.*, e inoculado em uma placa de Petri contendo ágar MH suplementado com 5% de sangue de ovelha para o isolado de *Streptococcus sp.*, incubado nas mesmas condições anteriores. A concentração bactericida mínima foi considerada a menor concentração em que não houve crescimento de unidades formadoras de colônias (UFC) no meio de cultura quando avaliada visualmente.

RESULTADOS

Os resultados de CIM e CBM dos óleos de girassol ozonizados frente aos patógenos associados à mastite estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos de girassol ozonizados com índice de peróxido 922 e 490 mEq (%) e óleo *in natura* (óleo puro)

Bactéria	Óleo <922 mEq		Óleo <490 mEq		Óleo controle	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>Escherichia coli</i>	0,41	>100	3,27	>100	>100	>100
<i>Proteus sp.</i>	0,025	0,82	0,025	0,41	>100	>100
<i>Klebsiella sp.</i>	0,1	1,64	0,2	0,41	>100	>100
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,55	>100	6,55	>100	>100	>100
<i>Streptococcus uberis</i>	0,025	0,82	0,025	26,19	>100	>100

Fonte: Elaborada pelos autores (2023).

Avaliação *in vitro* da eficácia do óleo de girassol...

O óleo ozonizado demonstrou atividade inibitória em todas as bactérias testadas, independentemente das concentrações utilizadas. No Quadro 1, estão apresentados os valores de inibição, que variam de 0,02% a 6,55% para o óleo ozonizado em alta concentração (922 mEq), e de 0,02% a 6,55% para o óleo ozonizado em menor concentração (490 mEq), evidenciando a atividade antimicrobiana em todas as espécies analisadas.

Além disso, os óleos testados mostraram atividade bactericida nas concentrações que variam de 0,82% a 1,64% para o óleo ozonizado em alta concentração (922 mEq) e de 0,41% a 26,19% para o óleo ozonizado em menor concentração (490 mEq). Os óleos ozonizados em diferentes concentrações foram eficazes na inibição do crescimento bacteriano nas espécies dos gêneros *Klebsiella sp.*, *Streptococcus sp.* e *Proteus sp.* No entanto, é importante ressaltar que, independentemente do microrganismo considerado, o óleo de girassol *in natura* não apresentou eficácia na supressão do crescimento bacteriano.

DISCUSSÃO

Os resultados de CIM e CBM demonstraram que o óleo ozonizado apresenta atividade antimicrobiana frente aos isolados bacterianos testados, embora para alguns não tenha sido possível encontrar a CBM para os óleos testados. Observou-se boa ação dos óleos em relação aos agentes Gram-negativos testados (*Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Escherichia coli*), geralmente associados a casos clínicos de mastite. De acordo com Thanomsub *et al.* (2002), esse resultado justifica-se em função das características da parede celular dessas bactérias, rica em lipoproteínas e lipopolissacarídeos, o que torna o ozônio mais eficaz.

No experimento *in vivo* de Jo (2005), com 24 animais e 49 quartos mamários, foi concluído que bactérias do gênero *Escherichia sp.* são

sensíveis à ação do ozônio. Andrade (2020) demonstrou que o óleo de girassol ozonizado a 600 mEq inibe o crescimento de *Escherichia* sp. tanto na CIM como na CBM a uma concentração de 0,02%, apresentando atividade bactericida e bacteriostática. No presente experimento, *Escherichia* sp. apresentou CIM de 0,41% com óleo a 922 mEq e 3,27% com óleo a 490 mEq, entretanto não foi possível determinar a CBM nas concentrações de óleo utilizadas. Isso pode sugerir a utilização do óleo como terapia associada, mas, para determinar se essa associação reduziria as doses de antimicrobiano, são necessários outros estudos.

Andrade (2020), avaliando o agente *Proteus* sp. exposto a óleo a 600 mEq, obteve 50% de inibição na CIM e CBM, enquanto óleo a 500 mEq não inibiu o crescimento. No atual experimento, os óleos a 490 mEq e 922 mEq mostraram CIM de 0,025% para ambas as concentrações e CBM de 0,41% e 0,82%, respectivamente. A sensibilidade ao óleo ozonizado foi confirmada, embora diferenças possam ser atribuídas à patogenicidade das cepas utilizadas.

No estudo de Contrucci (2021), *Klebsiella* sp. apresentou uma CIM de 50%, com ação bacteriostática, mas não bactericida. No presente experimento, ambos os óleos (922 mEq e 490 mEq) demonstraram atividade bactericida e bacteriostática, com CIM de 0,1% e CBM de 0,05% para o óleo de maior índice de peróxido. A falta de informações sobre o índice de peróxido no trabalho de Contrucci pode explicar essas diferenças.

Quintana (2019) relatou o tratamento eficaz de mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus* com óleo ozonizado, destacando a vantagem do óleo sobre o gás ozonizado devido à sua estabilidade e prolongada ação dentro da glândula mamária. Esse achado também é consistente em experimento realizado por Couto (2014), que observou maior eficácia com maior tempo de exposição ao gás ozônio. Andrade (2020) também testou óleo de girassol

Avaliação *in vitro* da eficácia do óleo de girassol... ozonizado a 600 mEq em cepas de isolados clínicos e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, obtendo uma CIM e CBM de 2,50%. No presente experimento, a CIM foi de 6,55% para ambos os óleos, mostrando atividade bacteriostática. Já o *Streptococcus uberis* foi sensível ao ozônio, apresentando CIM de 0,025% e CBM de 0,82% com óleo a 922 mEq e CIM de 0,025% e CBM de 26,19% com óleo a 490 mEq, indicando atividade bactericida e bacteriostática.

Os óleos ozonizados mostraram importante atividade contra as seis bactérias testadas, com maior susceptibilidade das gram-negativas *Proteus* e *Klebsiella*. Contrucci (2021) observou que o óleo de girassol teve CIM de 100% para *Streptococcus* e 50% para *Escherichia* e *Klebsiella*, mas não apresentou atividade bactericida, ao contrário do presente estudo, em que houve atividade bactericida contra *Proteus*, *Klebsiella* e *Streptococcus*. Essa diferença pode ser atribuída à patogenicidade das cepas e às concentrações de ozônio no óleo utilizado. Além disso, 60% dos animais com mastite clínica tratados com ozônio não necessitaram de antimicrobianos para cura da enfermidade (Đuričić; Valpotić; Samardžija, 2015). Até o momento, não há relatos de resistência ao ozônio entre agentes associados à mastite.

Apesar dos resultados promissores, é importante reconhecer as limitações desta pesquisa, como a ausência de experimentos *in vivo*. Essa limitação impede uma avaliação mais abrangente sobre o comportamento do óleo ozonizado em condições clínicas reais, incluindo a interação do óleo com os tecidos, a regeneração tecidual e a segurança em longo prazo. A transposição dos achados *in vitro* para aplicações clínicas exige cautela, pois diferenças nos mecanismos de ação e nos resultados esperados podem surgir.

Patógenos Gram-negativos, como *Klebsiella* sp. e *Proteus* sp., apresentaram maior sensibilidade ao óleo ozonizado, enquanto *Staphylococcus aureus* demonstrou maior resistência, provavelmente devido a mecanismos

de defesa contra o estresse oxidativo. Essas diferenças reforçam a necessidade de direcionar estudos futuros para compreender melhor essas variações e ajustar as estratégias de uso do óleo conforme o agente etiológico.

Estudos futuros devem incluir experimentos em animais, avaliando a aplicação do óleo diretamente em casos clínicos e analisando sua viabilidade como alternativa aos tratamentos convencionais. Também será essencial explorar possíveis associações entre o óleo ozonizado e antimicrobianos tradicionais, visando reduzir as doses necessárias e o risco de resistência bacteriana. Avaliações econômicas do uso do óleo em propriedades leiteiras serão fundamentais para validar sua aplicação em larga escala.

Apesar das limitações, os resultados reforçam o potencial do óleo como uma alternativa sustentável e eficaz no manejo da mastite bovina, contribuindo para a redução do uso de antimicrobianos e para a sustentabilidade da cadeia produtiva.

CONCLUSÃO

Nas condições deste estudo, o óleo de girassol ozonizado, com índices de peróxido de 490 mEq e 922 mEq, demonstrou eficácia antimicrobiana contra os principais patógenos associados à mastite bovina. Esses resultados destacam o potencial do óleo ozonizado como uma alternativa ao uso convencional de antibióticos, oferecendo uma abordagem inovadora para o manejo da mastite na pecuária leiteira.

O uso do ozônio em formulações estáveis, como o óleo ozonizado, traz contribuições significativas para a área de saúde animal. Além de sua ação antimicrobiana, o produto apresenta vantagens como a ausência de resíduos no leite e a capacidade de reduzir o uso de antibióticos, contribuindo para a mitigação da resistência bacteriana. No contexto da pecuária, isso

Avaliação *in vitro* da eficácia do óleo de girassol... representa não apenas benefícios à saúde animal, mas também um impacto econômico positivo, ao reduzir os custos de tratamento e o descarte de leite contaminado.

Embora promissores, os resultados obtidos *in vitro* ainda precisam ser validados por estudos *in vivo* para determinar a segurança e a eficácia clínica do óleo ozonizado, bem como sua aplicabilidade em propriedades leiteiras. Ainda, sugere-se, para estudos futuros, a introdução de testes utilizando antimicrobianos de uso rotineiro na pecuária leiteira em comparação ao uso do óleo ozonizado. Esses estudos também poderão estabelecer protocolos de uso mais precisos, considerando as diferenças entre os agentes patogênicos e as condições específicas do ambiente de produção. Ainda assim, os achados deste trabalho reforçam o potencial do óleo ozonizado como uma alternativa viável e sustentável para o controle de mastite, contribuindo para a saúde dos animais e a sustentabilidade da produção leiteira.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Marintia *et al.* Principais agentes causadores de mastite clínica e subclínica em vacas leiteiras da região Oeste de Santa Catarina. **Pubvet**, v. 15, n. 11, p. 1-9, nov. 2021. Disponível em: <https://l1nq.com/io5ik>. Acesso em: 16 jul. 2023.
- ANDRADE, Valéria Maria Pires de. Atividade bactericida do óleo de girassol ozonizado diante de patógenos associados à mastite. *In*: CONIC SEMESP, 20., 2020, São Paulo. **Anais [...]**. São Paulo: Semesp, 2020. p. 1-9. Disponível em: <https://ury1.com/q2vMC>. Acesso em: 10 jun. 2023.
- ARÉVALO, Esther Abihail Fuentes *et al.* Ozonotherapy in the prevention and therapeutic of mastitis in dairy cows: Literature review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e35510212707, 2021. DOI 10.33448/rsd-v10i2.12707. Disponível em: <https://l1nq.com/lbMOI>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BRITO, Bianca de *et al.* Aplicação da ozonioterapia na clínica de pequenos animais: vias de administração, indicações e efeitos adversos. **Pubvet**, v. 15, n. 7, p. 1-8, jul. 2021. DOI <http://dx.doi.org/10.31533/pubvet.v15n07a8>

Possamai *et al.* (2024)

59.1-8. Disponível em:

<http://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/490>. Acesso em: 12 jul. 2023.

CONTRUCCI, Bruno Antunes *et al.* Avaliação in vitro da suscetibilidade de bactérias gram positivas e negativas quando expostas a óleos vegetais ozonizados. **Brazilian Journal Of Health Review**, v. 4, n. 5, p. 19662-19672, 21 set. 2021. DOI <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv4n5-097>. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/36231> Acesso em: 14 ago. 2023.

COUTO, Emanuel Pereira. **Efeito da ozonização na contagem de Staphylococcus aureus em leite**. 2014. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2014. Disponível em: <https://ury1.com/mnNUb>. Acesso em: 18 jul. 2023.

ĐURIČIĆ, Dražen; VALPOTIĆ, Hrvoje; SAMARDŽIJA, Marko. Prophylaxis and therapeutic potential of ozone in buiatrics: current knowledge. **Animal Reproduction Science**, v. 159, p. 1-7, ago. 2015. Elsevier BV. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.05.017>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26059777/>. Acesso em: 17 ago. 2023.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Brasileira. **Anuário leite 2018**. Disponível em: <https://urx1.com/8Ghub>. Acesso em: 25 jul. 2023.

FRANZINI, M.; VALDENASSI, L.; IONITA, G. First evaluations of oxygen-ozone therapy in antibiotic-resistant infections. **Journal of Dairy Research**, Cambridge Core, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022029923000808>. Acesso em: 13 dez. 2024.

JO, Sung-Nam *et al.* A Therapeutic Effect of Ozonated Oil on Bovine Mastitis. **Journal Of Veterinary Clinics**, v. 4, n. 22, p. 318-321, abr. 2005. Disponível em: <https://l1nq.com/xl2cF>. Acesso em: 23 ago. 2022.

MARTINS, C. V. *et al.* **Tratamento de mastite clínica e subclínica em vacas leiteiras com gás ozônio intra-mamário**. A Pesquisa Nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária, Atena Editora, v. 3, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.47593/978-65-994154-00-9>. Acesso em: 13 dez. 2024.

MARKEY, Bryan *et al.* **Clinical Veterinary Microbiology**. 2nd ed. Maryland Heights: Mosby, 2013.

MORETTE, Daniela Affonso. **Principais aplicações terapêuticas da ozonioterapia**. 2011. 19 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da

Avaliação in vitro da eficácia do óleo de girassol...

Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2011. Disponível em: <https://urx1.com/TLPds>. Acesso em: 28 jun. 2023.

PEREIRA, Marco Tulio Carrijo; RIBEIRO, Sueli Cristina de Almeida; CARVALHO, Saulo Fernandes Mano de. Revisão sobre o uso do ozônio no tratamento da mastite bovina e melhoria da qualidade do leite. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 19, n. 2, 2006. Disponível em: <https://urx1.com/BRpXb>. Acesso em: 12 jul. 2023.

QUINTANA, Marina Cristini Fernandes; DOMINGUES, Isadora Monteiro; RIBEIRO, Andrea Rentz. Uso de óleo ozonizado no tratamento de mastite Subclínica em Vaca Jersey: relato de caso. **Pubvet**, v. 13, n. 5, p. 1-4, maio 2019. DOI <http://dx.doi.org/10.31533/pubvet.v13n5a336.1-4>. Disponível em: <https://ury1.com/nn7BF>. Acesso em: 18 jun. 2023.

RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT. Ozonotherapy in the prevention and therapeutic of mastitis in dairy cows: Literature review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e35510212707, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12707>. Acesso em: 13 dez. 2024.

THANOMSUB, Benjamas *et al.* Effects of ozone treatment on cell growth and ultrastructural changes in bacteria. **The Journal Of General And Applied Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 193-199, 2002. Microbiology Research Foundation. DOI <http://dx.doi.org/10.2323/jgam.48.193>. Disponível em: <https://urx1.com/OxLL6>. Acesso em: 21 jun. 2023.

TIWARI, Sansriti *et al.* Dental applications of ozone therapy: a review of literature. **The Saudi Journal For Dental Research**, v. 8, n. 1-2, p. 105-111, jan. 2017. Elsevier BV. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjdr.2016.06.005>. Disponível em: <https://urx1.com/8epLX>. Acesso em: 27 jun. 2023.