

## Artigo Original

**AVALIAÇÃO IN VITRO DA AÇÃO DO OZÔNIO EM STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

(IN VITRO EVALUATION OF OZONE ACTION IN STAPHYLOCOCCUS AUREUS)

**Autores: Amauri Gomes<sup>1</sup>, Sheila Conceição da Silva Aguiar<sup>1</sup>, Thais da Paz Albaneja<sup>1</sup>, Armando Bega<sup>2</sup>**<sup>1</sup>Discentes da Universidade Anhembi Morumbi.<sup>2</sup>Coordenador do Curso de Graduação em Podologia da Universidade Anhembi Morumbi.

## Informações do artigo

**Palavras Chave:**Podologia, Ozônio,  
Staphylococcus Aureus,  
Inativação e Água.**Resumo**

O *Staphylococcus aureus* faz parte da microbiota da pele, é uma bactéria resistente a várias ações medicamentosa, dificultando cicatrizações de úlceras e feridas. Este trabalho foi realizado com a finalidade de avaliar o efeito do gás ozônio sobre o *S. aureus*. A metodologia empregada foi o teste de difusão em Agar, e através de análises e resultados observamos o alto efeito bactericida do gás ozônio.

## Article ID

**Keywords:**Podiatry, Ozone,  
Staphylococcus Aureus,  
Inactivation and Water.**Abstract**

*Staphylococcus aureus* is part of the skin microbiota, is a bacterium resistant to several pharmacological actions, impairing scarring of ulcers and wounds. This study was conducted to evaluate the effect of ozone gas on *S. aureus*. The methodology employed was the agar diffusion test, and through analysis and results we observe the high bactericidal effect of ozone gas.

**Introdução**

Estudos dentro da área da saúde mostram o efeito do gás ozônio sobre úlceras e feridas, percebeu-se que a atividade do mesmo é muito satisfatória. Existem vá-

rias bactérias presentes nestas úlceras e feridas, e neste trabalho vamos abordar o *Staphylococcus aureus*.

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria em formato de cocos Gram-Positivo, em forma de cachos, que provoca lesões cutâneas. Constitui uma impor-

2Autor correspondente: Coordenador do Curso de Graduação em Podologia UAM; Vice-presidente da AIP-As-sociação Ibero Americana de Podologia. - E-mail: armando.bega@gmail.com.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9820-3943>.

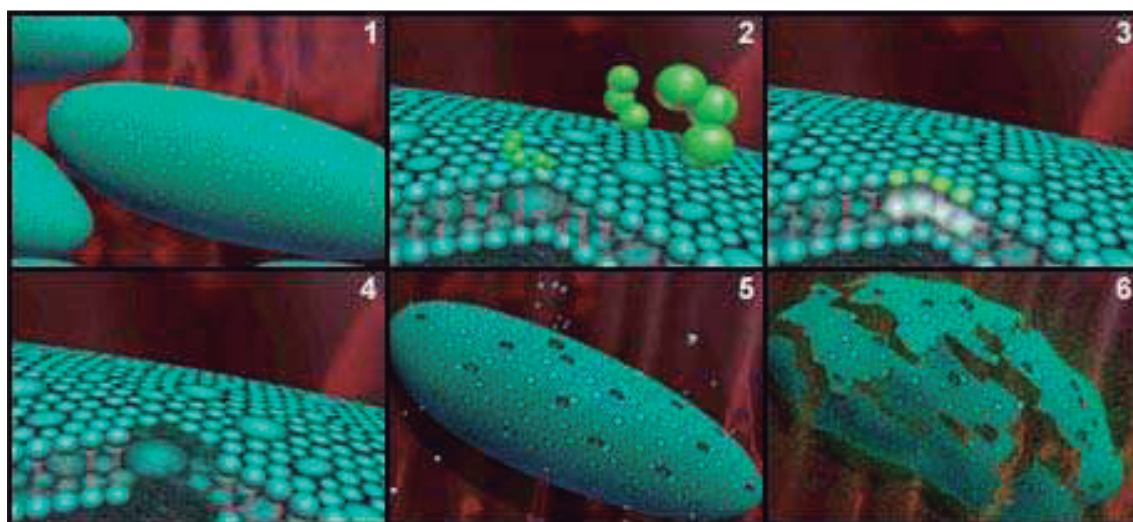
DOI: <https://doi.org/10.36271/iajp.v1i1.3> - Artigo recebido em: 05 de agosto de 2019 ; aceito em 15 de agosto de 2019 ; publicado em 20 de agosto de 2019. Revista Ibero-Americana de Podologia, Vol. 1, N.1, Agosto 2019. Disponível online a partir de 29 de Agosto de 2019, ISSN 2674-8215. <http://journal.iajp.com.br> - Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0> . Os autores declaram não haver conflito de interesse.

tante causa de infecção em indivíduos com queimaduras graves e feridas cirúrgicas ocupando o segundo lugar depois da *E.Coli* como causa de infecções hospitalares; independentemente da localização da lesão na pele, *S.aureaus* causa uma inflamação piogênica, que é notável pela sua natureza destrutiva.

A descoberta do ozônio se fez em 1785 por Van Marum que notou um odor diferente durante uma descarga elétrica, mas foi Schonbein que em 1840 percebeu que este odor acontecia por conta de um gás específico batizado por ele de *Ozone* (do grego *Ozein*) [1]. Tem sido utilizado como uma alternativa de baixo custo, confiável e prático que possui poucos ou quase nada de efeito colateral,

desde que obedeça a dosagem correta para cada tratamento descrito [1]. Pode ser utilizado na desinfecção de instrumentais cirúrgicos, lavanderias de hospitais, por apresentar muita eficácia na inativação de bactérias, vírus, fungos e protozoários [2].

A princípio os glicolípídeos presentes na membrana celular da bactéria, bem como os aminoácidos, tendo como exemplo o triptofano e componentes enzimáticos, sofrem a ação do ozônio, proporcionando a quebra da atividade enzimática fisiológica da célula, desencadeando a lise da bactéria de forma rápida, estimulada pelo aumento da permeabilidade celular. **Figura1.**



**Figura 1:** Mecanismo de ação do ozônio nos microrganismos: 1- Bactéria; 2- Parede celular em contato com ozônio; 3- Oxidação da parede celular da bactéria; 4, 5 e 6- Ruptura e destruição da bactéria. Fonte: Chiattonne, Torres e Zambiazzi, 2008 (QUARESMA et al., 2013)

O gás ozônio se torna perceptível ao olfato em concentrações inferiores a 1ppm no ar. É um gás que está presente na estratosfera como resultado da radiação ultravioleta. Ele oxida ferro, chumbo e arsênio. É 10 vezes mais solúvel em água que o oxigênio por ter uma molécula a mais [3].

Tem maior densidade que o oxigênio, cerca de 50%, sua massa molecular é igual a 48, e se liquefaz a menos 112°C, possui ponto de congelamento à menos 251,4°C e se decompõe rapidamente com características de explosão em temperaturas acima de 100°C [3].

Células saudáveis não reagem com ozônio, porque possuem carga elétrica equilibrada. Possui um terceiro átomo de oxigênio que é eletrolítico, que resultam em uma pequena carga elétrica de radicais livres no terceiro átomo de oxigênio, visando assim o equilíbrio elétrico

próprio, com diferentes materiais com carga desequilibrada [4].

O ozônio tem sido pesquisado pelos profissionais da saúde com o interesse de saber seu funcionamento e benefícios. O número de ozono terapeutas vem crescendo em vários lugares do mundo ajudando inúmeros pacientes. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito do gás ozônio sobre o *S.aureus* e apresentar seus benefícios.

## Material e Métodos

O conjunto elaborado para obter-se ozônio nas concentrações necessárias, são: cilindro de oxigênio com regulador de fluxo adaptável com 10 fluxos (0 até 1L/min); gerador de ozônio (Ozone & Life, mod. O&L1.5RM), com capacidade de produção de 1,5 g/h; Bag para feridas.



Aparado de ozônio e  
Cilindro de oxigênio.



Bag para Ferida.



Cepa com cultura de  
*S.aureus*.

Em placa de Petri Agar TSA aplicou-se 1 ml de solução salina 0,9% contaminada com *S.aureus* em diluições de 6x, 12x, 18x e 24x, preparadas em erlenmeyer de 100 ml com solução salina 0,9%.

Para produção da água ozonizada, foi colocado o volume de 100 ml de solução salina 0,9% em tubo Erlenmeyer, onde se borbulhava a mistura O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> por 10 minutos a concentrações de: 17, 29, 45 e 61µg/ml.

E para Ozônio de forma direta foi aplicado em placa de Petri 1 ml de solução salina 0,9% contaminada com *S.aureus* em diluições de 6x, 12x, 18x e 24x e em seguida colocadas em bag para ferida aplicando ozônio em concentrações variadas que iniciava de 17 a 61µg/ml.

### Obtenção das suspensões bacterianas

Foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* cedidas pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Anhembi Morumbi. Com estas bactérias foram preparadas suspensões, em solução salina 0,9%, cujas concentrações variavam de 6x a 24x microrganismos/ml. Para a obtenção desta contagem inicial de microrganismos, as suspensões foram submetidas a diluições seriadas.

### Metodologias aplicadas

Foram realizados três grupos:

Grupo I (Controle) – 100 ml de salina 0,9% contaminada com *S.aureus* em diluições de: 6x, 12x, 18x e 24x em Erlenmeyer.

Grupo II (Água ozonizada) – 100 ml de salina 0,9% ozonizadas a concentrações de: 17, 29, 45 e 61µg/ml por 10 minutos em Erlenmeyer e aplicado 1 ml desta solução já com concentrações seriadas da bactéria em

placa de petri;

Grupo III (Ozônio direto) – 1 ml de salina 0,9% contaminada com *S.aureus* em diluições seriadas de 6x, 12x, 18x e 24x inoculadas em Tryptic Soy Agar (TSA,BBL), e após colocadas em Bag para feridas, foi aplicado o ozônio de forma direta em concentrações seriadas de 17, 29, 45 e 61µg/ml.

No experimento do grupo I foram diluídos somente a bactéria e aplicado 1 ml da suspensão em placas de Petri gerando o controle;

O grupo II foi realizado a ozonização da água com presença de bactérias por 10 minutos em Erlenmeyer com 100 ml de suspensão e retirou-se 1 ml de cada Erlenmeyer que foi aplicado em placa de Petri;

O grupo III ozonizou-se as placas já preparadas com a suspensão em bags de feridas por 10 minutos com ozônio direto ligado e mais 20 minutos com ele desligado mantendo só em oclusão durante todo o processo que se totalizou em 30 minutos em oclusão.

As cepas foram inoculadas em estufa á 37°C e após 24 horas foram realizadas as contagens de colônias e retirados os resultados obtidos.

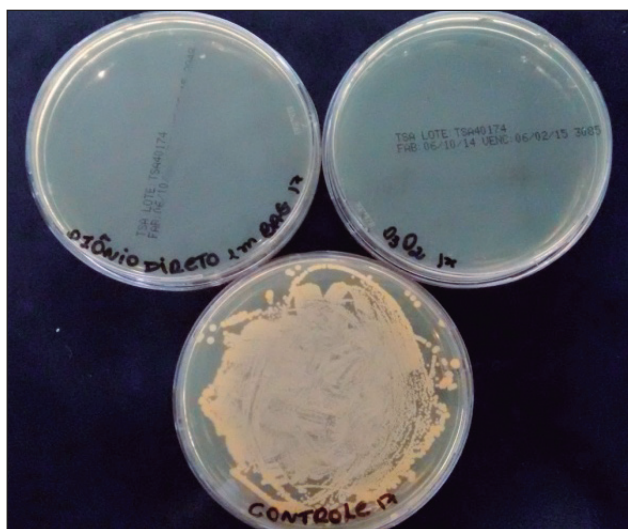
### Resultados

Na foto (A) onde aplicamos 17µg/ml de ozônio, em uma concentração bacteriana de 6x, observamos que tanto a placa onde foi aplicado o ozônio de forma direta (gás) como a com água ozonizada apresentaram resultados satisfatórios para morte bacteriana.

Na foto (B) onde aplicamos 29µg/ml de ozônio, em uma concentração bacteriana de 12x, observamos que tanto a placa onde foi aplicado o ozônio de forma direta (gás) como a com água ozonizada apresentaram resultados satisfatórios para morte bacteriana.

Na foto (C) onde aplicamos 45µg/ml de ozônio,





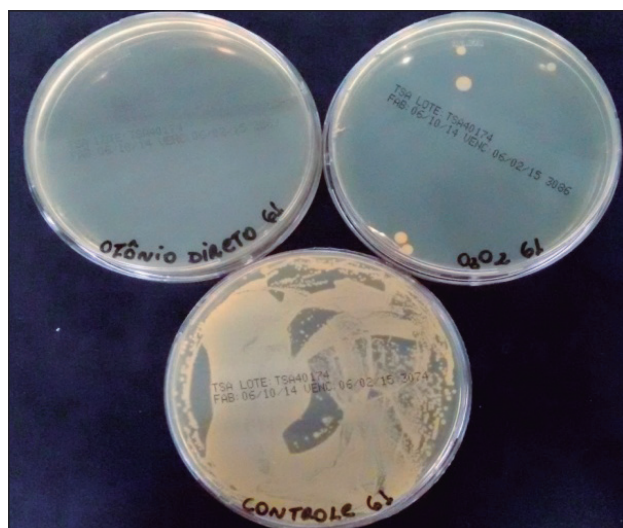
A



B



B



C

em uma concentração bacteriana 18x, e observamos que tanto a placa onde foi aplicado o ozônio de forma direta (gás) como a com água ozonizada apresentaram resultados satisfatórios para morte bacteriana.

Na foto (D) onde aplicamos 61µg/ml de ozônio, em uma concentração bacteriana 24x, e observamos que a placa onde foi aplicado o ozônio direto (gás) não houve crescimento bacteriano, demonstrando a eficácia do ozônio direto. Já a placa onde foi aplicada a solução fisiológica ozonizada mostrou o crescimento de 5 colônias, demonstrando também a eficácia do ozônio em comparação com a placa controle, sendo assim obtivemos o resultado esperado.

Em análise, métodos obtiveram resultados parecidos, ou seja, houve a destruição bacteriana como apresentado nas imagens A,B,C e D.

## Discussão e Conclusão

Vimos que a atividade antibacteriana do ozônio foi satisfatória e compreendemos que pode ser um meio de controle de infecções, ou até mesmo de cicatrizações.

Sabe-se que a aplicação “in vitro” não tem as mesmas variáveis que as aplicações “in vivo”, porém ao desenvolver esta pesquisa se procurou demonstrar a eficácia do ozônio em destruir bactérias do tipo *S.aureus* que são comuns em úlceras e feridas, assim como toda a microbiota da pele.

Ressalta-se que a exposição bacteriana ao ozônio foi aumentada exponencialmente, simulando nas placas o que a literatura apresenta sobre a concentração de ozônio e a dose aplicada, de acordo com a gravi-

dade do caso “in vivo”. Por exemplo, uma lesão com infecção bacteriana grave se utiliza a dose em torno de 60µg/ml e uma lesão granulando se aplica em torno de 20µg/mL [5].

Entendemos que o ozônio “in vitro”, dentro deste estudo e de outros analisados teve um ótimo desempenho bactericida, atendendo as expectativas desejadas, porém, seria interessante a análise do mesmo “in vivo” onde encontramos um meio bem mais propício e rico em bactérias e presença de outras variáveis de células e tecidos vivos, e a amplitude de seu efeito e tempo de resposta seria analisados de forma mais aprofundada.

### Referências Bibliográficas

1. QUARESMA, T. C. Aplicação de ozônio e ultrassom na desinfecção das mãos de profissionais da saúde. São José dos Campos, SP: UNICASTELO. 2013. p. 32-38. 2014.
2. MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PFALLER, M. A.; Microbiologia Médica. Rio de Janeiro,RJ: GUANABARA. 2000. 3ªed, p. 129.
4. MARTINS, A.; SILVA, J.T.; GRACIOLA, L.; FRÉZ, A. R.; RUARO, J. A.; MARQUETTI, M. G. K; et al. Efeito bactericida do gerador de alta frequência na cultura de Staphylococcus aureus. Foz do Iguaçu, PR: Rev. Fisioter. Pesq. 2012; 19 (2): 153-7.
3. Ozone & Life; Disponível em: [www.ozonelife.com.br](http://www.ozonelife.com.br). Acesso em 15 de agosto de 2019.
5. VELANO, H. E.; NASCIMENTO, L. C.; BARROS, L. M.; PANZERI, H. et al. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao Staphylococcus aureus. Rev. Odont. Bras. 15(1): 18-22, 2001.
6. BORK, K; BRAÜNINGER, W. Dermatologia Clínica Diagnóstico e Terapia. São Paulo,SP: Manole. 1998 1º ed. p. 151.