

AVALIAÇÃO DO ÓLEO DE GIRASSOL E ÓLEO DE OLIVA OZONIZADOS SOBRE A FORMA FILAMENTOSA E LEVEDURIFORME DE *Sporothrix brasiliensis*: RESULTADOS PARCIAIS

JÉFERSON LUIZ SILVA DE SOUZA¹; CAROLINE QUINTANA BRAGA²; LUCIÉLE PEREIRA DE MELO³; ANA LOPES DE ANDRADE SARAIVA⁴; MARIA ISABEL DE AZEVEDO⁵; DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – jefersonluizsds@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carolineqbraga@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – lucielemelo.96@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – ana.lopessaraiva1999@gmail.com

⁵Universidade Federal de Minas Gerais – beelazevedo@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – danielabrayer@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea que acomete diversas espécies de animais e humanos e cuja etiologia são espécies do fungo dimórfico do gênero *Sporothrix* (GREMIÃO et al., 2021).

As espécies patogênicas do gênero *Sporothrix* são fungos dimórficos e termotolerantes que em saprofitismo e/ou em cultura à temperatura de 25°C, desenvolvem-se na fase filamentosa, evidenciando hifas hialinas e septadas, com conídios ovóides isolados ou agrupados, dispendo-se em forma de “margarida”. Por outro lado, quando em parasitismo e/ou cultivado a temperatura de 37°C, revela estruturas leveduriformes arredondadas, ovais ou em formato de “charuto” (SILVA et al., 2012).

Enquanto a esporotricose causada por *Sporothrix schenckii* é relatada em todo o mundo, a doença causada por *Sporothrix brasiliensis* é restrita à América do Sul (RODRIGUES et al., 2020). No Brasil, *S. brasiliensis* é o principal causador da esporotricose, sendo responsável por mais de 90% casos da enfermidade sistêmica em felinos, com alta virulência e resistência aos antifúngicos azólicos (BOECHAT et al., 2018).

A esporotricose felina é uma importante zoonose endêmica relatada em todo o Brasil, e, apesar desse fato, ainda é negligenciada neste país (GREMIÃO et al., 2021). O itraconazol utilizado é o fármaco de escolha para o tratamento da enfermidade, no entanto, os crescentes relatos de falhas terapêuticas (LARSSON, 2011; ROSA et al., 2017) incrementam as buscas por moléculas que apresentam maior eficácia e menor toxicidade, incluindo as terapias integrativas e naturais (KUME et al., 2021).

Diante disso, os óleos vegetais *in natura* e ozonizados são uma estratégia viável para o tratamento de patologias de pele em humanos e animais (GUIMARÃES et al., 2020). Nesse sentido, os óleos oriundos de diversas espécies de plantas têm registrado potente ação antifúngica, inibindo a viabilidade e crescimento de fungos patogênicos primários ou secundários, como os do gênero *Candida*, *Aspergillus*, dermatofitos (GONZÁLEZ, 2016; KUME et al., 2021) e *Sporothrix* (GUIMARÃES et al., 2020; ZAMBRANO et al. 2022).

O objetivo deste trabalho foi verificar a ação antifúngica *in vitro* do óleo de oliva ozonizado (OLO) e do óleo de girassol ozonizado (OGO) sobre a forma leveduriforme e filamentosa de *S. brasiliensis*.

2. METODOLOGIA

Para o teste de suscetibilidade *in vitro*, foram utilizados isolados de *S. brasiliensis* (n=8) (SISGEN – AED6C29) oriundos de gatos domésticos naturalmente infectados, da cidade de Minas Gerais. Todos os isolados foram caracterizados molecularmente.

O óleo de oliva ozonizado® (OLO) e óleo de girassol ozonizado® (OGO) foram cedidos pela empresa Philozon, a qual forneceu as especificações físico-químicas dos óleos testados.

Os isolados de *S. brasiliensis* foram previamente cultivados em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e incubados a 25°C/10 dias. Para o ensaio avaliando o crescimento do fungo na sua forma leveduriforme, placas contendo *Brain Heart Infusion* (BHI) foram divididas em duas partes iguais, sendo que em uma metade (lado A) avaliou-se o OGO e na outra metade (lado B) avaliou-se o OLO. Um bloco de cultura obtido a partir das culturas de *S. brasiliensis*, medindo aproximadamente 1cmx1cm de diâmetro, foi depositado na superfície do ágar em cada metade (A e B). Sobre a superfície do bloco com a cultura fúngica, aplicou-se 25µL de cada óleo e posteriormente 25µL por cima. Uma placa controle foi elaborada da mesma maneira, porém sem adição dos óleos. As placas foram incubadas a 37°C/10 dias. A mesma metodologia foi empregada para o ensaio de inibição do crescimento de *S. brasiliensis* na sua forma filamentosa, porém para este teste, utilizou-se placas contendo *Potato Dextrose Agar* (PDA) e incubação a 25°C/10 dias. Os ensaios foram realizados em duplicata de placas e a leitura levou em consideração o crescimento do fungo a partir do bloco de ágar.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições em que este experimento foi realizado, observou-se crescimento fúngico em todas as placas de controle. No ensaio a 25°C, tanto o OLO quanto OGO foram capazes de inibir completamente o crescimento de todos os isolados de *S. brasiliensis* avaliados. Por outro lado, no ensaio a 37°C, verificou-se que os óleos testados não inibiram completamente o crescimento do fungo a partir do bloco, contudo quando comparado ao controle, constatou-se que o crescimento fúngico foi retardado, evidenciando uma ação fungistática.

Resultados diferentes foram relatados por Zambrano et al. (2022) ao avaliarem a ação de OLO e OGO sobre 16 isolados de *S. brasiliensis*. Todavia, estes autores realizaram seu experimento empregando o meio de cultura PDA incubado a 37°C, o que pode ter interferido no dimorfismo do fungo para a sua forma leveduriforme (GREMIÃO et al., 2020). Contudo, no presente estudo, observou-se uma ação fungistática dos óleos quando testados sobre a forma leveduriforme. Adicionalmente, a ação antifúngica do óleo de girassol, oliva e dendê ozonizados foi previamente demonstrada por Guimarães et al. (2020) sobre uma cepa padrão de *Sporothrix schenckii* e Kume et al. (2021) demonstraram que os óleos essenciais ozonizados de canela, cravo, citronela, eucalipto e menta também foram capazes de causar a inibição de *S. schenckii*.

A ação antimicrobiana dos óleos ozonizados pode ser explicada pela maior concentração de peróxidos formados durante o processo de ozonização. A atividade antimicrobiana, somada a estabilidade das preparações ozonizadas tornam essas formulações futuros alvos para o desenvolvimento de produtos de

uso clínico (MARTÍNEZ-SANCHEZ et al., 2012; RODRIGUEZ et al., 2017). Como evidenciado por Martínez-Sanchez et al. (2012), diversos compostos naturais podem ser ozonizados, contudo, o OLO e OGO são mais utilizados devido ao maior número de estudos com estes compostos. Assim, a aplicação clínica dos óleos ozonizados pode trazer inúmeras vantagens, indo desde fácil aplicação e baixo custo à amplo espectro e podendo substituir terapias tradicionais (RICCO, 2022).

4. CONCLUSÕES

No presente estudo demonstrou-se que os óleos de girassol e oliva ozonizados evidenciaram atividade fungicida sobre a forma filamentosa e ação fungistática sobre a forma leveduriforme de *S. brasiliensis*. Os óleos testados apresentam potencial terapêutico integrativo na esporotricose humana e animal. Todavia, a utilização tópica dos óleos em lesões clínicas da enfermidade, bem como a avaliação *in vitro* sobre um maior número de isolados, são necessários para comprovar a ação dessas formulações.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOECHAT, J.S. et al. Feline sporotrichosis: associations between clinical-epidemiological profiles and phenotypic-genotypic characteristics of the etiological agents in the Rio de Janeiro epizootic area. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, p.185-196, 2018.

GREMIÃO, I.D.F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.52, p.107-124, 2021.

GUIMARÃES, N.M. et al. Eficácia de óleos vegetais in natura e ozonizados no controle de *Sporothrix schenckii*. **International Journal of Development Research**, v.10, n.11, p.41970-41974, 2020.

GONZÁLEZ, K. **Actividad Antifúngica in vitro de Aceite de Girasol Ozonizado en Hongos Causales de Micosis Superficiales**. 2016. 86f. Tese (Trabajo Especial de Grado Presentado como Requisito para la Obtención del Grado de Especialista en Micología Médica) – Especialización en Micología Médica, República Bolivariana de Venezuela.

KUME, J.E.P. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais in natura e ozonizados sobre o agente etiológico da esporotricose. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.12, n.3, p.126-135, 2021.

KUME, J. E. P. et al. Uso de óleos essenciais in natura e ozonizados no controle *in vitro* de *Trichophyton mentagrophytes*. **Research, Society and Development**, v.10, n.1, p.e4710111233, 2021.

LARSSON, C.E. Esporotricose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 3, p. 250-259, 2011.

MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, G. et al. Las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización. **Revista Española de Ozonoterapia**, v.2, n.1, p.121-139, 2012.

RICCO, F. Uso de óleo ozonizado em feridas: Relato de caso. **Pubvet**, v.16, n.1, 2022.

RODRIGUES, A.M. et al. The threat of emerging and reemerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, v.185, n.5, p.813-842, 2020.

RODRÍGUEZ, Z.B.Z. et al. **Ozonioterapia em Medicina Veterinária**. São Paulo: Multimidia Editora, 2017, 1.ed., p.282.

ROSA, C. S. et al. Terapêutica da Esporotricose: Revisão. **Science and Animal Health**, Pelotas, v.5, n.3, p.212-228, 2017.

SILVA, D.T. et al. Esporotricose zoonótica: procedimentos de biossegurança. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, n.4, p.1067, 2012.

ZAMBRANO, C.G. et al. Suscetibilidade *in vitro* de *Sporothrix brasiliensis* aos óleos ozonizados de oliva® e girassol®. In: **Encontro Científico Internacional de Ozonioterapia**, 4.; **Simpósio Internacional de Ozonioterapia na Medicina Veterinária**, 6., São José dos Campos, 2022. **Anais...**São José dos Campos: Inst. Brasil. Ozon. Aplic.