

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS ÓLEOS OZONIZADOS DE GIRASSOL E OLIVA CONTRA *Sporothrix* spp.

VITÓRIA XAVIER CABRAL¹; TATIÉLEN HERNANDEZ SEVERO²; LUCIELE PEREIRA DE MELO³; CAROLINE QUINTANA BRAGA⁴; DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA⁵ SÉRGIO JORGE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas, FaVet, Laboratório ClinPet – vitoriaxc@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, FaVet, Laboratório ClinPet – tatihsvero@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas, IB, Laboratório de Micologia – lucielemelo.96@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas, IB, Laboratório de Micologia – carolineqbraga@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas, IB, Laboratório de Micologia – danielabrayer@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas, FaVet, Laboratório ClinPet – sergiojorgevet@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma doença causada pelo fungo *Sporothrix* spp., descrita em diversas espécies animais, entretanto, os felinos domésticos são os mais acometidos (RODRIGUES et al., 2020). É uma zoonose de distribuição mundial, no Brasil há um aumento exponencial de casos relatados de esporotricose felina e humana, principalmente na região Sudeste e Sul do país. No Rio Grande do Sul, as cidades de Pelotas e Rio Grande lideram a lista com maiores números de diagnóstico (RAMÍREZ-SOTO et al., 2018; MICHELON et al., 2019; GREMIÃO et al., 2020; GREMIÃO et al., 2021).

O tratamento dessa zoonose em felinos, segundo PEREIRA et al. (2009), é realizado com antifúngicos sistêmicos, sendo o de primeira escolha o itraconazol, mas também pode ser administrado cetoconazol ou terbinafina, podendo associar com anfotericina B e iodetos. De acordo com GREMIÃO et al. (2021), a criocirurgia, termoterapia e retirada cirúrgica também podem ser utilizadas. O tratamento é longo, persistindo por vários meses, portanto, o prognóstico da doença depende da adesão dos tutores à prescrição e ao tempo de uso correto. Na rotina clínica há cada vez mais casos refratários e resistentes ao tratamento com itraconazol, conforme relatado por NAKASU et al., (2020).

A ozonioterapia, de acordo com ANZOLIN, SILVEIRA-KAROSS, BERTOL (2020) é uma prática integrativa utilizada em diversas enfermidades, que consiste no uso de ozônio. O interesse nessa prática se dá devido ao alto poder oxidante existente nessa molécula. Possui várias formas de aplicação no paciente, inclusive tópica por meio de óleos ozonizados. O emprego de óleos ozonizados na medicina veterinária produz bons resultados na cicatrização de lesões, infecções fúngicas e bacterianas, entre outras utilizações.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar qualitativamente a atividade antifúngica nos óleos ozonizados de oliva e girassol frente isolados de *Sporothrix* spp.

2. METODOLOGIA

Os isolados de *Sporothrix* spp. (n=3) utilizados para os testes de suscetibilidade *in vitro* foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Micologia, IB da UFPEL e foram isolados de: felino (1), bovino (1) e canino (1) naturalmente infectados por esporotricose na região de Pelotas - RS. Os isolados clínicos foram identificados por suas características macro e micromorfológicas. Dessas, duas

amostras foram classificadas quanto à espécie por PCR, sendo *Sporothrix brasiliensis*, enquanto uma ainda não foi encaminhada para PCR até o momento desde relato.

Os óleos ozonizados de girassol (OG) e oliva (OO) foram adquiridos da empresa Philozon ®. As especificações físico-químicas de ambos os óleos foram fornecidas pela empresa fabricante.

Os ensaios foram realizados conforme descrito por SOUZA et al. (2022). Foram utilizadas placas de Petri contendo Sabouraud Dextrose Agar (Kasvi®) e cada placa foi dividida em duas partes iguais (A e B), onde A correspondeu ao óleo ozonizado de girassol e o B controle; outra placa onde A correspondeu ao óleo ozonizado de oliva e B controle; e uma terceira placa onde A correspondeu ao óleo ozonizado de girassol e B ao óleo ozonizado de oliva. Um bloco medindo aproximadamente 1cmx1cm de diâmetro foi obtido a partir das culturas previamente preparadas de *Sporothrix* spp. e imediatamente depositado na superfície do ágar na placa no local do controle. Nos locais de tratamento (tratamento com OG e OO), primeiramente foi adicionado 25µL de cada óleo a ser testado e sobre o óleo foi colocado outro bloco de cultura de *Sporothrix* spp., por fim, foi adicionado mais 25µL dos óleos por cima do bloco.

Os ensaios foram realizados em duplicata e todas as placas foram mantidas a 24°C por sete dias, para obter a forma micelial do fungo. A leitura qualitativa levou em consideração o crescimento do fungo a partir do bloco.

A fim de avaliar se a ação dos óleos foi fungicida ou fungistática, um novo ensaio foi realizado onde os blocos foram transferidos para placas de Petri contendo Sabouraud Dextrose Agar (Kasvi®) e Brain Heart Infusion Agar (Kasvi®). As placas de BHI foram incubadas em estufa a 37°C, enquanto as de Sabouraud foram mantidas em temperatura ambiente a 24°C por sete dias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o presente estudo realizado foi possível identificar que o uso dos óleos ozonizados de oliva e girassol inibiram o crescimento do fungo na forma micelial em todas as amostras testadas, não tendo diferenças observadas entre os óleos. Os controles positivos de ambos, sem nenhum tipo de tratamento, tiveram seu crescimento normal, conforme o esperado. Por outro lado, nas amostras tratadas com os óleos não foi observado o crescimento do fungo (Figura 1).

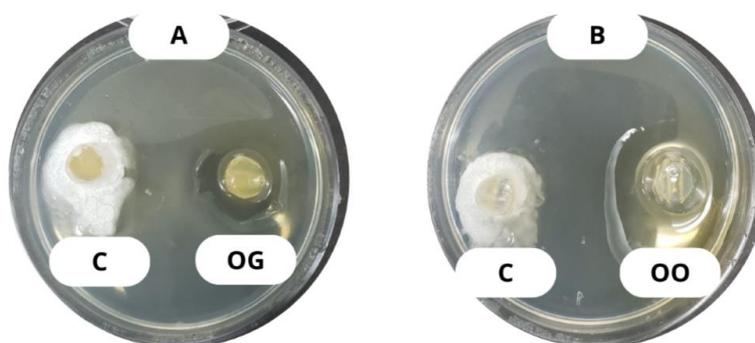


Figura 1 A e B: Ensaio de suscetibilidade *in vitro* sobre isolados *Sporothrix* spp. A: ação do óleo ozonizado de girassol; C controle positivo, com crescimento fúngico e OG tratamento com inibição do crescimento. B: ação do óleo ozonizado

de oliva; C controle positivo, com crescimento fúngico e OO tratamento com inibição do crescimento.

Os achados neste experimento estão de acordo com SOUZA et al. (2022), que demonstram uma importante atividade antifúngica *in vitro* do óleo de girassol ozonizado contra isolados de *Sporothrix* spp. Em outro experimento realizado por BRAGA et al. (2024), com *Pythium insidiosum* utilizando óleo de girassol e óleo de girassol ozonizado relatam que o óleo ozonizado produziu efeito anti-*Pythium* mais potente, comparado ao outro.

Na segunda etapa do experimento realizado com o objetivo de identificar qual a atividade dos óleos, não foi constatada a ação fungicida de nenhum dos óleos, visto que apesar do fungo não ter se desenvolvido a partir do fragmento aplicado na placa de Petri com o meio de Sabouraud e BHI, ao analisar diretamente o bloco ainda foi possível visualizar as colônias, sugerindo que não ocorreu uma atividade fungicida. A ação fungistática encontrada nesse experimento, está consoante com os dados encontrados por GUERRER et al. (2012), que demonstram em sua pesquisa que o óleo ozonizado é capaz de inibir o crescimento de diversos fungos causadores de micose de unha em humanos, possuindo efeito fungistático.

Conforme descrito por NAKASU et al. (2020), os casos em que o fungo está resistente ao tratamento medicamentoso estão cada vez mais frequentes. Isso deve-se ao fato de que as leveduras são capazes de sofrer pequenas mutações em seu componente celular, principalmente modificações nos níveis de ergosterol das membranas, o que diminui a ação terapêutica, uma vez que esse é o local alvo do medicamento (FLAIR, 2014; BLAIR et al., 2015). Nesse estudo identificamos que os óleos ozonizados possuem uma importante ação fungistática contra o *S. brasiliensis*, podendo ser associado ao tratamento convencional, entretanto, precisa-se esclarecer melhor os mecanismos de ação dos óleos ozonizados, além de utilizar microscopia eletrônica para averiguar o efeito causado na parede celular fúngica.

4. CONCLUSÕES

A atividade antifúngica dos óleos ozonizados de girassol e oliva observada neste experimento indicam que esses compostos possuem efeito fungistático frente aos isolados de *Sporothrix* spp., podendo ser aliados a uma terapia integrativa nos casos de esporotricose.

No entanto, mais estudos são necessários, utilizando maior número de isolados clínicos para avaliar a concentração inibitória e fungicida mínima desses compostos, além de avaliar a resposta do uso direto dos óleos em lesões clínicas de pacientes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANZOLIN, A.P.; SILVEIRA-KAROSS, N.L.; BERTOL, C. D. Ozonated oil in wound healing: what has already been proven? **Medical Gas Research**, v. 10, n. 1, p. 54-59, 2020.

BLAIR, J. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology** v.13, n.1, p.42–51, 2015.

BRAGA C.Q. et al. *In vitro* and *ex vivo* anti-*Pythium insidiosum* potential of ozonated sunflower oil. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 867-873, 2024

FAIR R.J.; TOR Y. Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. **Perspectives in Medicinal Chemistry**, v.6, 2014.

GREMIÃO, I. D. F. et al. Geographic expansion of sporotrichosis, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 26, n. 3, p. 621, 2020.

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.

GUERRER, L. V. et al. " *In vitro*" antifungal activity of ozonized sunflower oil on yeasts from onychomycosis. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 1315-1318, 2012.

MICHELON, L. et al. Dados epidemiológicos da esporotricose felina na região Sul Do Rio Grande do Sul: uma abordagem em saúde pública. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 6, p. 4874-4890, 2019.

RAMÍREZ-SOTO, M. C. et al. Ecological determinants of sporotrichosis etiological agents. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, p. 95, 2018.

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

NAKASU, C. C. T. et al. Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis* infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 163-171, 2021.

PEREIRA, S. A. et al. Aspectos terapêuticos da esporotricose felina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 4, p. 311-321, 2009.

SOUZA, J.; L.; S. de et al. Atividade in vitro do óleo de girassol e do óleo de girassol ozonizado sobre *Sporothrix* spp. In: **XXXI CIC CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, Pelotas, 2022. ANAIS DA 8^a SEMANA INTEGRADA UFPEL.