

ATIVIDADE *IN VITRO* DO ÓLEO DE GIRASSOL E DO ÓLEO DE GIRASSOL OZONIZADO SOBRE *Sporothrix* spp.

JÉFERSON LUIZ SILVA DE SOUZA¹; CAROLINE QUINTANA BRAGA²;
ISABELLA RODRIGUES DE ANDRADE³; CRISTINA GOMES ZAMBRANO⁴;
RENATA OSÓRIO DE FARIA⁵; DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – jefersonluizsds@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carolineqbraga@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – andradeisabella52@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - cris-zambrano@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas - renataosoriovet@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – danielabrayer@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma infecção micótica, subcutânea causada pelo fungo dimórfico e geofílico *Sporothrix* spp., tendo os felinos domésticos um importante papel epidemiológico e zoonótico na doença (GARCIA, 2022).

Anteriormente, a esporotricose era atribuída a espécie *Sporothrix schenckii* *sensu lato*. Todavia, os estudos filogenéticos de MARIMON et al. (2007) determinaram um complexo de seis espécies com distintas características fenotípicas e genotípicas de interesse clínico. Assim, atualmente *Sporothrix brasiliensis*, *S. schenckii* e *Sporothrix humicola* são conhecidos como agentes causadores da esporotricose felina (GREMIÃO, et al., 2021). Enquanto *S schenckii* é encontrado em todo o mundo, *S. brasiliensis* é geograficamente restrito e predominante na América do Sul (RODRIGUES, et al., 2020). O Brasil é o país com o maior número de casos de esporotricose felina, causada por *S. brasiliensis*, relatados no mundo, sendo esta enfermidade uma zoonose ainda negligenciada no país (GREMIÃO, 2021). O antifúngico mais comumente utilizado para a resolução dessa infecção é o itraconazol (LARSSON, 2011). Todavia, é crescente os relatos de falhas terapêuticas (ROSA et al., 2017). Com isso, a busca por terapias integrativas e naturais impulsiona a pesquisa por novas moléculas que apresentem maior eficácia e menor toxicidade (KUME et al., 2021).

Os recursos naturais têm significativo papel na descoberta de compostos farmacológicos. Dentre esses recursos, encontram-se as plantas medicinais, definidas como todo vegetal que apresenta substâncias com propriedades terapêuticas ou precursoras de fármacos com diferentes ações antimicrobianas, incluindo atividade antibacteriana, antifúngica e antiviral (BAKKALI et al., 2008). Neste sentido, os óleos vegetais *in natura* e ozonizados representam uma abordagem do ponto de vista farmacêutico para o tratamento de patologias em humanos e animais. Desta forma, a busca por agentes antimicrobianos, fez com que os óleos ozonizados experimentassem um aumento de interesse científico e de aplicações clínicas (GUIMARÃES et al., 2020). Sendo assim, observa-se que os óleos oriundos de plantas têm evidenciado potente ação antifúngica sobre diversos gêneros de fungos, incluindo *Candida*, *Aspergillus*, dermatofítos (GONZÁLEZ, 2016) e *Sporothrix* (GUIMARÃES et al., 2020).

A ozonioterapia agrega a utilização de 95% de O₂ e 5% de O₃, podendo ser o gás empregado na forma sistêmica e local e por via tópica quando utilizado o óleo ozonizado (RODRÍGUEZ et al., 2017). Esta terapia, tem se destacado como uma opção terapêutica integrativa de enfermidades infecciosas que acometem animais

e humanos, uma vez que apresenta baixo custo, boa ação antimicrobiana, fácil aplicação e ausência de efeitos colaterais (ZANARDI et al., 2016).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antifúngico *in vitro* do óleo de girassol e do óleo de girassol ozonizado sobre *Sporothrix* spp.

2. METODOLOGIA

Sporothrix spp. (n=6) oriundos de felinos (3) e caninos (3) naturalmente infectados foram utilizados para os testes de suscetibilidade *in vitro*. Os isolados clínicos foram identificados por suas características macro e micromorfológicas.

O óleo de girassol® (OG) foi adquirido da empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA e o óleo de girassol ozonizado® (OGO) foi gentilmente cedido pela empresa Philozon. As especificações físico-químicas de ambos os óleos foram fornecidas pelas empresas fabricantes.

Para os ensaios de suscetibilidade *in vitro* foram utilizadas duplicatas de placas de Petri contendo Potato Dextrose Agar (PDA) (Kasvi®). Cada placa foi dividida em duas partes iguais (A e B), sendo que a parte A correspondeu ao OG e a parte B ao OGO. Adicionalmente, uma placa de Petri foi utilizada como controle (sem tratamento). Um bloco medindo aproximadamente 1cmx1cm de diâmetro foi obtido a partir das culturas de *Sporothrix* spp. e imediatamente depositado na superfície do agar na placa de controle. Na placa tratamento (tratamento com OG e OGO), primeiramente foi adicionado 50µL de cada óleo a ser testado e sobre o óleo foi colocado o bloco de cultura de *Sporothrix* spp. Os ensaios foram realizados em duplicata e todas as placas foram incubadas a 37° C/ 10 dias. A leitura levou em consideração o crescimento do fungo a partir do bloco e foi realizada a cada 72 horas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições em que o presente experimento foi realizado, evidenciou-se o crescimento do fungo a partir dos blocos em todas as placas controle (Figura 1). O OG não foi capaz de inibir o crescimento de *Sporothrix* spp. Por outro lado, no tratamento com OGO o crescimento fúngico de todos os isolados avaliados foi completamente inibido (Figura 1).

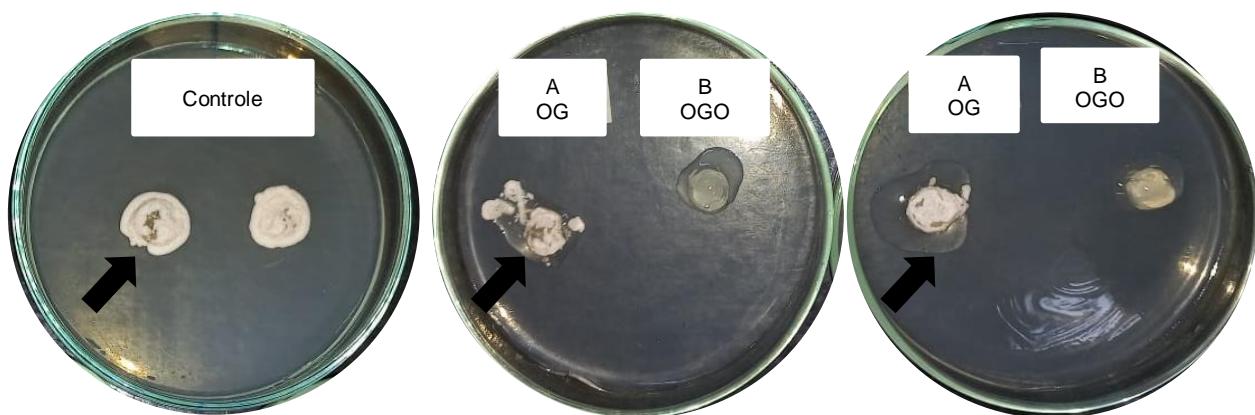


Figura 1: Ensaio de suscetibilidade *in vitro* avaliando a ação antifúngica dos óleos de girassol® (OG) e girassol ozonizado® (OGO) sobre *Sporothrix* spp.: Observa-se abundante crescimento de *Sporothrix* spp. (seta) no controle (sem tratamento). Nota-se no lado A (tratamento com OG), o crescimento fúngico (seta) a partir do

bloco de *Sporothrix* spp.; no lado B (tratamento com OGO) evidencia-se a ausência de crescimento fúngico. PDA/ 10 dias de incubação/37º C.

Os resultados deste trabalho evidenciaram que o OGO apresentou potente ação antifúngica sobre *Sporothrix* spp., o que não foi observado com o óleo de girassol (OG). Previamente, Guimarães et al. (2020) também demonstraram que o óleo de girassol e de dendê ozonizados foram capazes de inibir o crescimento de *S. schenckii* *in vitro*. Similarmente, Kume et al. (2021) comprovaram que os óleos essenciais *in natura* e ozonizados de canela, cravo, citronela, eucalipto e menta apresentaram atividade antifúngica sobre uma cepa padrão de *S. schenckii*.

A melhor ação antifúngica observada com o óleo ozonizado pode ser explicada porque o ozônio reage com os triglicerídeos insaturados presentes no óleo dando origem a uma série de espécies de peróxidos, os quais são responsáveis pela ampla atividade antimicrobiana, imunomoduladora e reparação tecidual do óleo ozonizado. Além disso, a estabilidade das preparações ozonizadas permite o desenvolvimento de formulações para uso clínico (MARTÍNEZ-SANCHEZ et al., 2012; RODRIGUEZ et al., 2017). Martínez-Sánchez et al. (2012) afirmam que diferentes substratos são passíveis de ozonização incluindo os óleos vegetais, óleos essenciais ou seus componentes. Destes, o óleo de girassol e o de oliva ozonizados, são os mais utilizados por terem um maior número de estudos que suportam suas aplicações médicas, como exemplo em infecções de pele. Desta forma, o emprego de óleos ozonizados em doenças infecciosas pode apresentar numerosas vantagens como baixo custo, amplo espectro, efeitos semelhantes ou superiores aos antimicrobianos tradicionais e baixa taxa de efeitos adversos.

4. CONCLUSÕES

A atividade antifúngica do óleo de girassol ozonizado sobre isolados de *Sporothrix* spp., sugere que este composto tem potencial terapêutico integrativo na esporotricose. Contudo, outros estudos avaliando um maior número de isolados de *Sporothrix* spp., bem como o uso do óleo ozonizado em lesões clínicas de esporotricose, são requeridos para comprovar a ação do óleo de girassol ozonizado nesta importante enfermidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKKALI, F. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p.446–475, 2008.

GARCIA, M. T. P.; LIMA, E. DE F. A.; LEITE, F. M. C. Elaboration and evaluation of a compulsory notification form for human sporotrichosis. **Escola Anna Nery**, v. 26, 9 mar. 2022.

GREMIÃO, I.D.F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Braz. J. Microbiol.**, v.52, p. 107–124. 2021.

GUIMARÃES, N.M. et al. Eficácia de óleos vegetais *in natura* e ozonizados no controle de *Sporothrix schenckii*. **Int. J. Dev. Res.**, v.10, 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. **Rev Ibero Amer. Cienc. Amb.**, v.12, p.126-135, 2021.

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

MARIMON, R. et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. **J Clin Microbiol** v.45, p. 3198–3206, 2007.

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

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

RODRÍGUEZ, Z.B.Z.; GONZALEZ, E.F.; LOZANO, O.L.; URRUCHI, W.I. **Ozonioterapia em Medicina Veterinária**. São Paulo: Multimidia Editora, 2017, 1.ed., p.282.

ROSA, C. S.; MEINERZ, A. R. M.; OSÓRIO, L. G.; CLEFF, M. B.; MEIRELES, M. C. A. Terapêutica da Esporotricose: Revisão. **Science and Animal Health**, Pelotas, v.5, n.3, p.212-228, 2017.

ZANARDI, I. et al. Ozone: A Multifaceted Molecule with Unexpected Therapeutic Activity. **Cur. Med. Chem.**, v.23, p.304-314, 2016.