

**EFICÁCIA DE OLEOS VEGETAIS OZONIZADOS NA INATIVAÇÃO DE  
CANDIDA ALBICANS**

**EFFICACY OZONIZED VEGETABLE OILS IN THE INACTIVATION OF  
CANDIDA ALBICANS**

**EFICACIA DE LOS ACEITES VEGETALES OZONIZADOS EN LA  
INACTIVACIÓN DE CANDIDA ALBICANS**

 <https://doi.org/10.56238/arev7n9-323>

**Data de submissão:** 30/08/2025

**Data de publicação:** 30/09/2025

**Vanessa Barbosa Gimenez**  
Mestrado em Ciências Ambientais  
Instituição: Universidade Brasil  
E-mail: vanessagimenez.enf@hotmail.com  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2413-0032>

**Andressa Barbosa Gimenez**  
Especialista em Estética  
Instituição: Escola de Ultrassonografia de Ribeirão Preto  
E-mail: andressagimenez2010@hotmail.com  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9818-1510>

**Alice Ferreira de Lima**  
Graduanda do Curso de Medicina  
Instituição: Centro Universitário de Santa Fé do Sul  
E-mail: aliceferreiradelima123@gmail.com  
Orcid: <https://orcid.org/0009-0007-0647-5583>

**Elena Carla Batista Mendes**  
Doutorado em Ciências da Saúde  
Instituição: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP)  
E-mail: ecbmendes@gmail.com  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-9471-8301>

**Jussara Britto Batista Gonçalves**  
Doutorado  
Instituição: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)  
E-mail: jbgoncalves@funecsantafe.edu.br  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3136-7932>

**Emilia Batista Mourão Tiol**  
Mestrado em Ciências da Saúde  
Instituição: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP)  
E-mail: emilia.tiol@edu.famerp.br  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-8482-6018>

**Flávia Cristina Custódio**

Mestrado em Ciências da Saúde

Instituição: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP)

E-mail: fccustodio@funecsantafe.edu.br

Orcid: <https://orcid.org/0009-0006-9811-2706>

**Dora Inés Kozusny Andreani**

Professora Titular

Instituição: Universidade Brasil

E-mail: doraineska@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-1366-6525>

## **RESUMO**

Os óleos ozonizados apresentam efeitos antifúngicos, antibacterianos e antivirais. Neste contexto, objetivou-se nesta pesquisa avaliar a eficácia de óleos vegetais ozonizados na inativação *in vitro* de *Candida albicans* ATCC25923. Para analisar a atividade antifúngica foram utilizados óleos vegetais de coco, de dendê, girassol, de oliva e de pequi, todos nas formas *in natura* e ozonizados, em concentrações que variaram de 0,32% a 100%. Foi determinada a concentração inibitória mínima pelo método de microdiluição em placa, posteriormente foram avaliadas a concentração fungicida mínima e a cinética fungicida dos óleos. Os resultados evidenciaram atividade antifúngica para os óleos de coco, dendê, girassol, oliva e pequi, no entanto, os óleos *in natura* de dendê, girassol e coco apresentaram concentrações inibitórias e fungicidas mínimas superiores aos óleos ozonizados, enquanto os de oliva e de pequi não apresentaram diferenças. Pelos resultados, os óleos vegetais apontam a possibilidade de utilização na terapêutica de *Candida albicans*.

**Palavras-chave:** Cândida. Antifúngicos. Plantas Medicinais. Ozônio.

## **ABSTRACT**

Ozonized oils have antifungal, antibacterial and antiviral effects. In this context, the objective of this research was to evaluate the effectiveness of ozonized vegetable oils in the *in vitro* inactivation of *Candida albicans* ATCC 25923. To analyze the antifungal activity, vegetable oils of coconut, palm oil, sunflower, olive and pequi, all fresh and ozonized in concentrations ranging from 0.32% to 100%. The minimum inhibitory concentration was determined by the plate microdilution method, and then the minimum fungicidal concentration and the fungicidal kinetics of the oils were verified. The results showed that the vegetable oils of sunflower, coconut, palm oil, pequi and olive, *in natura* and ozonized, inactivated *Candida albicans*. However the *in natura* oils of palm, sunflower and coconut presented minimum inhibitory and fungicidal concentrations higher than those of ozonized oils, while those of olive and pequi did not show differences. Regarding the ability to reduce colony-forming units as a function of time, it was found that olive and pequi oils, ozonated and *in natura*, were more effective. Based on the results, the vegetable oils indicate the possibility of using them in the therapy of *Candida* spp.

**Keywords:** Candida. Antifungals. Medicinal Plants. Ozone.

## **RESUMEN**

Los aceites ozonizados presentan efectos antifúngicos, antibacterianos y antivirales. En este contexto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la eficacia de los aceites vegetales ozonizados en la inactivación *in vitro* de *Candida albicans* ATCC 25923. Para analizar la actividad antifúngica, se utilizaron aceites vegetales de coco, palma, girasol, oliva y pequi, tanto en su forma natural como ozonizada, en concentraciones que oscilaron entre el 0,32 % y el 100 %. La concentración mínima

inhibitoria se determinó mediante el método de microdilución en placa, y posteriormente se evaluaron la concentración mínima fungicida y la cinética fungicida de los aceites. Los resultados demostraron actividad antifúngica para los aceites de coco, palma, girasol, oliva y pequi. Sin embargo, los aceites naturales de palma, girasol y coco presentaron concentraciones mínimas inhibitorias y fungicidas más altas que los aceites ozonizados, mientras que los aceites de oliva y pequi no mostraron diferencias. Según los resultados, los aceites vegetales podrían utilizarse en el tratamiento de la *Candida albicans*.

**Palabras clave:** Candida. Antifúngicos. Plantas Medicinales. Ozono.

## 1 INTRODUÇÃO

*Candida albicans* é um patógeno de relevância clínica, responsável por infecções superficiais e invasivas, associadas a elevada morbidade e mortalidade, especialmente em indivíduos com doenças crônicas de base ou imunossupressão (JEFFERY-SMITH, 2018).

O gênero *Candida* compreende aproximadamente 200 espécies de leveduras, das quais as de maior interesse clínico incluem *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. viswanathii* e *C. glabrata*, sendo *C. albicans* a responsável pela maioria das infecções. Essas leveduras coexistem como comensais no organismo humano, principalmente nos tratos gastrointestinal, geniturinário, na pele e em mucosas de indivíduos saudáveis. Entretanto, alterações na flora normal, ruptura das barreiras epiteliais ou disfunções do sistema imunológico podem favorecer a transição de *Candida*, de comensal a um patógeno (ALVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007; SARDI et al., 2013).

Os fatores de risco para infecções por *C. albicans* são semelhantes aos de outras espécies, acometendo principalmente indivíduos imunocomprometidos, tais como, idosos, pacientes com diabetes mellitus, submetidos a cirurgias recentes ou portadores de dispositivos médicos permanentes. Tal cenário é compatível com os avanços na medicina, que prolongam a sobrevida de pacientes, embora o uso prolongado de dispositivos invasivos ofereça nichos ecológicos propícios à formação de biofilmes em diferentes sítios anatômicos. Ademais, o uso indiscriminado de antimicrobianos tem favorecido a emergência de cepas resistentes (LARKIN et al., 2017; WANG et al., 2018).

Nesse contexto, os óleos vegetais tratados com ozônio ( $O_3$ ) têm ganhado relevância na medicina, devido ao seu reconhecido potencial antimicrobiano e à crescente disseminação de microrganismos resistentes aos tratamentos convencionais (BELTRAN et al., 2021; CARSOSO et al., 2021).

Os compostos formados pela reação do  $O_3$  com ácidos graxos e outros substratos podem exercer ação germicida, imunoestimulante e reparadora tecidual. A estabilidade e as propriedades biológicas dos óleos tratados com  $O_3$  permitem o desenvolvimento de formulações padronizadas que preservam e liberam os benefícios do  $O_3$ , além de possibilitar armazenamento prolongado dos princípios ativos (MARTINEZ SANCHEZ, 2021).

Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de óleos vegetais, nas formas *in natura* e tratados com  $O_3$ , na inativação *in vitro* de *Candida albicans* ATCC 2592.

## 2 MATERIAL E MÉTODO

A seleção dos óleos vegetais utilizados neste estudo baseou-se em sua ampla produção e uso pela população em diferentes regiões do país, bem como nas propriedades terapêuticas reconhecidas desses compostos. Os óleos vegetais representam uma alternativa menos agressiva aos tecidos biológicos, apresentam baixa probabilidade de induzir resistência microbiana e possuem a vantagem de serem facilmente obtidos.

Os óleos foram adquiridos no comércio local, em suas embalagens originais de fábrica. Não houve acesso às informações referentes ao método de extração empregado na produção nem à origem dos frutos utilizados para sua obtenção.

### 2.1 MEIOS DE CULTIVO

Os meios de cultura empregados para a manutenção das cepas e para a realização dos ensaios de atividade biológica foram o meio sólido Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) e o meio líquido Caldo Sabouraud Dextrose (CSD), ambos adquiridos da marca Kasvi®. Os meios foram preparados de acordo com as instruções do fabricante, sob condições assépticas rigorosas, a fim de garantir a esterilidade e a confiabilidade dos experimentos.

### 2.2 MICRORGANISMO

Foi utilizada, neste estudo, a cepa padrão *Candida albicans* ATCC 25923. As cepas foram inoculadas em placas de Petri estéreis contendo o meio de cultura ASD e, posteriormente, incubadas a 35 °C por um período de 24 horas, sob condições controladas, a fim de garantir o crescimento adequado e a viabilidade das colônias para os ensaios subsequentes.

### 2.3 INÓCULO

O inóculo foi obtido a partir de colônias previamente cultivadas em meio líquido CSD, mantidas sob agitação orbital constante (225 rpm) e temperatura controlada de 28 °C, durante 24 horas. Em seguida, foram preparadas suspensões celulares em solução fisiológica estéril (NaCl 0,5%), ajustadas de acordo com o padrão 0,5 da escala de McFarland, correspondendo a uma concentração aproximada de  $10^6$  UFC·mL<sup>-1</sup> (Unidades Formadoras de Colônia), segundo recomendações do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015).

### 2.4 ÓLEOS VEGETAIS OZONIZADOS

Foram utilizados, na presente pesquisa, cinco tipos de óleos vegetais, a saber: óleo de coco extra virgem (Copra®), óleo de dendê (Kidendê®), óleo de girassol (Liza®), azeite de oliva

(Borges®) e óleo de pequi (Aroma D'Minas®). O O<sub>3</sub> foi produzido por meio de um gerador baseado no princípio de descarga por efeito corona (Ozon & Life), sendo o oxigênio puro fornecido a partir de cilindro pressurizado. O O<sub>3</sub> gerado de forma contínua pelo equipamento foi conduzido através de um tubo de silicone até o difusor, composto por uma pedra porosa, resultando em uma concentração de 35 µg·mL<sup>-1</sup>.

Todo o processo de exposição dos óleos ao O<sub>3</sub> foi realizado em capela de exaustão da marca Quimis, modelo 216.11, com o propósito de reduzir os riscos de inalação do gás O<sub>3</sub>, em conformidade com as normas internacionais de biossegurança.

Cada óleo foi submetido ao tratamento com O<sub>3</sub> de forma direta, utilizando o difusor mencionado, durante um período de duas horas, sob temperatura controlada de 25 °C.

Após o processo de ozonização, os óleos foram avaliados quanto à esterilidade. Para tal, alíquotas de 0,1 mL de cada amostra foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar triptecaseína de soja (TSA, Oxoid®), sendo posteriormente incubadas a 37 °C por um período de 24 a 48 horas. A ausência de crescimento microbiano indicou esterilidade, sendo considerado estéril o óleo que não apresentou nenhuma colônia visível após o período de incubação.

Os óleos tratados com O<sub>3</sub> foram devidamente identificados e armazenados sob refrigeração (8 °C) até o momento de sua utilização.

## 2.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) E CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM)

Todas as avaliações foram realizadas em CSD suplementado com detergente Tween 20 (concentração final de 0,5% (v/v). As linhagens dos microrganismos foram suspensas em caldo CSD para dar uma densidade final de 10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup>, e estas foram confirmadas por contagens de células viáveis. Os ensaios foram realizados conforme os protocolos estabelecidos pelo CLSI (2015). A determinação da CIM e CFM dos óleos vegetais *in natura* e ozonizados foi realizada através da técnica de microdiluição em placa de 96 poços.

O experimento foi conduzido empregando-se concentrações que variaram de 0,00 a 100% e os controles negativo e positivo. Todos os poços, receberam 0,05 mL de CSD, cada poço da segunda e quarta coluna recebeu 0,05mL do óleo vegetal. O conteúdo da quarta coluna, de forma a representar diluição 100%, foi homogeneizado e 0,05 mL foram transferidos para os poços da coluna seguinte, representando a diluição 50%. O procedimento foi repetido até a última coluna, representando as diluições 25%, 12,50%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78% e 0,39%.

Por último foram acrescentados 0,05mL do inóculo ( $10^6$  células viáveis  $\text{mL}^{-1}$ ) de cada linhagem, com exceção dos controles negativos. A coluna 1 e 2 foram destinadas aos controles negativos e a coluna 3 para controle positivo.

Após incubação a 37°C por 24h, foi adicionado 50  $\mu\text{L}$  em todos os poços do corante 2,3,5 - *Triphenyltetrazolium Chloride*, o que tornou possível visualizar as amostras vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas que mantiveram a sua cor. A CIM foi considerada como a menor concentração de óleo vegetal capaz de inibir o desenvolvimento microbiano (SYLVESTER, 2011).

Para determinar a CFM, após a leitura da CIM, alíquotas de 20  $\mu\text{l}$  de amostras de todos os poços com inibição total do crescimento e do último poço com crescimento foram inoculados na superfície de placas de Petri com ASD.

As placas foram incubadas a 28 °C por 24/48 horas ou até que o crescimento do fungo fosse observado nas amostras controle. Os valores de CFM foram determinados como a concentração mais baixa de óleos vegetais, sem crescimento visível (AIEMSAARD et al. 2017).

## 2.6 CINÉTICA FUNGICIDA DOS ÓLEOS VEGETAIS

Em tubos de 4000  $\mu\text{L}$  foram adicionados de cada óleo vegetal *in natura* e ozonizado e CSD na diluição determinada pela CFM representando 1000  $\mu\text{L}$ , foi então acrescentado a suspensão fúngica de  $10^6$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ , em seguida incubados a 37°C. Alíquotas de 0,05 mL foram retiradas nos tempos: 0, 5', 10', 20', 60', 120', 240', 480' minutos e após 24horas. As amostras foram inoculadas em ASD, incubadas durante 24/48 h a 37°C.

Todas as avaliações foram realizadas em triplicata. As colônias microbianas foram contadas após o período de incubação. Foi realizada uma avaliação sobre a variação da carga microbiana a fim de observar qual óleo vegetal apresentou a maior variação negativa (queda) na contagem microbiana.

Para a avaliação da eficácia do efeito antimicrobiano de cada um dos óleos vegetais, um estudo sobre a variação da carga microbiana foi realizado a fim de observar qual óleo vegetal apresentou a maior variação negativa (queda) na contagem microbiana. Nesse contexto, a variação percentual da contagem microbiana consistiu da seguinte relação:

$$\text{Contagem microbiana}_{\text{óleo vegetais}}(\%) = \frac{(\text{Contagem}_{10\text{min}} - \text{Contagem}_{0\text{min}})}{\text{Contagem}_{0\text{min}}} \times 100$$

De acordo com a expressão, as variações negativas mostram diminuição na contagem microbiana e variações positivas mostram aumento da contagem microbiana à medida que o tempo

de exposição aumenta. A variação percentual da contagem microbiana foi determinada por meio de estatísticas descritivas a fim de observar quais óleos apresentaram maior eficácia na redução da contagem microbiana.

## 2.7 AVALIAÇÃO DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram tabulados e foi realizada a análise descritiva das concentrações inibitória mínima e fungicida mínima de cada um dos óleos vegetais de acordo com os tratamentos (*in natura* e ozonizado).

O Teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar a contagem microbiana referente aos óleos avaliados de acordo com o tipo de tratamento (*in natura* x ozonizado) e para comparar a variação da contagem microbiana referente aos óleos avaliados de acordo com o tipo de tratamento (*in natura* x ozonizado).

O Teste de Kruskal-Wallis foi empregado para comparar a variação da contagem microbiana dos óleos avaliados restringindo o tipo de tratamento.

Foram realizados gráficos de linha para a visualização da evolução da contagem microbiana em relação ao tempo de exposição do microrganismo ao óleo vegetal de acordo com o tratamento empregado.

Todos os testes estatísticos foram aplicados com nível de significância de 5% ( $P<0,05$ ).

Na realização das análises foi empregado o Software Minitab 17 (Minitab Inc.)

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial fungicida de diferentes óleos vegetais frente à *Candida albicans*. Os resultados demonstraram que os óleos *in natura* apresentaram CIM e CFM superiores aos tratados com  $O_3$ , indicando que os óleos ozonizados possuem maior eficácia antifúngica, uma vez que menores concentrações foram suficientes para inibir o crescimento do microrganismo.

No entanto, a análise estatística dos resultados revelou ausência de diferença significativa na contagem microbiana entre as duas formas de óleo avaliadas, visto que todos os valores de  $p$  obtidos foram superiores ao nível de significância adotado, conforme apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Média±desvio padrão (Mediana) de *Candida albicans* submetida aos óleos vegetais ozonizados e *in natura*.

Óleos vegetais (CFM <i>in natura</i> /CFM ozonizado)	<b>In natura</b>	<b>Ozonizado</b>	Valor p <sup>1</sup>
Coco (100%/25%)	$8,8 \cdot 10^5 \pm 1,2 \cdot 10^6$ ( $1,8 \cdot 10^4$ )	$4,5 \cdot 10^5 \pm 8,0 \cdot 10^5$ ( $4,0 \cdot 10^3$ )	0,133
Dendê (100%/3,1%)	$2,8 \cdot 10^5 \pm 8,2 \cdot 10^5$ (0,0)	$2,5 \cdot 10^5 \pm 7,4 \cdot 10^5$ (0,0)	0,937
Girassol (25%/6,2%)	$1,0 \cdot 10^6 \pm 1,4 \cdot 10^6$ ( $2,1 \cdot 10^3$ )	$6,1 \cdot 10^5 \pm 1,1 \cdot 10^6$ ( $1,4 \cdot 10^2$ )	0,168
Oliva (100%/3,1%)	$7,1 \cdot 10^5 \pm 1,3 \cdot 10^6$ ( $3,0 \cdot 10^4$ )	$3,8 \cdot 10^5 \pm 9,2 \cdot 10^5$ ( $3,1 \cdot 10^2$ )	0,229
Pequi (6,2%/3,1%)	$8,1 \cdot 10^5 \pm 1,4 \cdot 10^6$ ( $3,4 \cdot 10^3$ )	$4,1 \cdot 10^5 \pm 1,1 \cdot 10^6$ ( $1,3 \cdot 10^2$ )	0,113

**Tabela 1:** <sup>1</sup> Valor P referente ao teste de Mann-Whitney a P<0,05. <sup>2</sup> Valor P referente ao teste de Kruskal-Wallis a P<0,05.

Em todos os óleos vegetais avaliados, observou-se que a contagem microbiana atingiu valores nulos em tempos menores quando submetida ao tratamento com óleo ozonizado, indicando que a carga microbiana foi eliminada mais rapidamente em comparação aos óleos *in natura*. Apenas o óleo de dendê apresentou contagem nula no mesmo intervalo para ambos os tratamentos (20 minutos de exposição).

Embora a comparação entre os óleos *in natura* e ozonizados não tenha revelado diferenças estatisticamente significativas, os resultados sugerem maior eficácia dos óleos ozonizados, uma vez que o tempo necessário para eliminar completamente a carga microbiana foi inferior ao dos óleos *in natura*. Assim, o uso de óleo tratado com O<sub>3</sub> proporcionou uma redução microbiana mais rápida.

A análise da variação da contagem microbiana entre os tratamentos (abordagem longitudinal, em linha) não evidenciou diferenças significativas, pois todos os valores de *p* foram superiores a 0,05. Esse resultado indica que o comportamento da redução microbiana foi semelhante entre os tratamentos *in natura* e ozonizado para todos os óleos avaliados.

Na comparação entre os diferentes óleos vegetais (abordagem transversal, em coluna), também não foram observadas diferenças significativas, visto que todos os valores de *p* permaneceram acima de 0,05. Dessa forma, nenhum óleo se destacou na redução microbiana, apresentando comportamentos semelhantes tanto no tratamento *in natura* quanto no ozonizado.

Apesar da ausência de diferenças significativas, o óleo de pequi apresentou a maior média de redução microbiana no tratamento *in natura* (73,3%), seguido pelo óleo de oliva (68,8%). Nesse mesmo tratamento, o óleo de dendê demonstrou menor eficácia contra *Candida albicans*.

No tratamento ozonizado, o óleo de dendê apresentou a maior média de redução microbiana (98,4%), seguido pelo óleo de pequi (93%). O óleo de coco ozonizado foi o menos eficaz entre os avaliados (Tabela 1).

**Tabela 2.** Média±desvio padrão (Mediana) de *Candida albicans* submetida aos óleos vegetais ozonizados e *in natura*.

Óleos vegetais (CFM <i>in natura</i> /CFM ozonizado)	<i>In natura</i>	Ozonizado	Valor p <sup>1</sup>
Coco (100%/25%)	$8,8.10^5 \pm 1,2.10^6$ ( $1,8.10^4$ )	$4,5.10^5 \pm 8,0.10^5$ ( $4,0.10^3$ )	0,133
Dendê (100%/3,1%)	$2,8.10^5 \pm 8,2.10^5$ (0,0)	$2,5.10^5 \pm 7,4.10^5$ (0,0)	0,937
Girassol (25%/6,2%)	$1,0.10^6 \pm 1,4.10^6$ ( $2,1.10^3$ )	$6,1.10^5 \pm 1,1.10^6$ ( $1,4.10^2$ )	0,168
Oliva (100%/3,1%)	$7,1.10^5 \pm 1,3.10^6$ ( $3,0.10^4$ )	$3,8.10^5 \pm 9,2.10^5$ ( $3,1.10^2$ )	0,229
Pequi (6,2%/3,1%)	$8,1.10^5 \pm 1,4.10^6$ ( $3,4.10^3$ )	$4,1.10^5 \pm 1,1.10^6$ ( $1,3.10^2$ )	0,113

Valor P<sup>2</sup> referente ao teste de Mann-Whitney a P<0,05

Os resultados apresentados na Tabela 2 indicam que não houve diferenças estatisticamente significativas na contagem microbiana entre os óleos vegetais avaliados quando comparadas as formas *in natura* e ozonizada, uma vez que todos os valores de *p* obtidos foram superiores ao nível de significância adotado.

Nas figuras 01, 02, 03, 04 e 05, são apresentados os gráficos de intervalos de confiança para cada um dos óleos analisados de acordo com os tratamentos.

Figura 01. Contagem microbiana de *Candida albicans* para o óleo de coco *in natura* e ozonizado de acordo com os tempos de exposição.

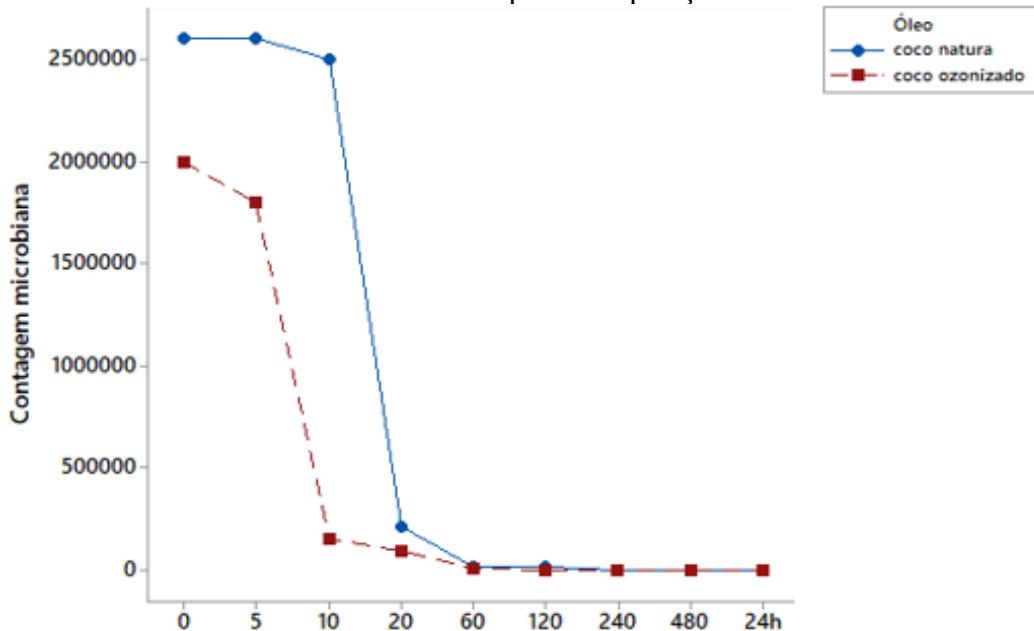


Figura 02. Contagem microbiana de *Candida albicans* para o óleo de dendê *in natura* e ozonizado de acordo com os tempos de exposição.

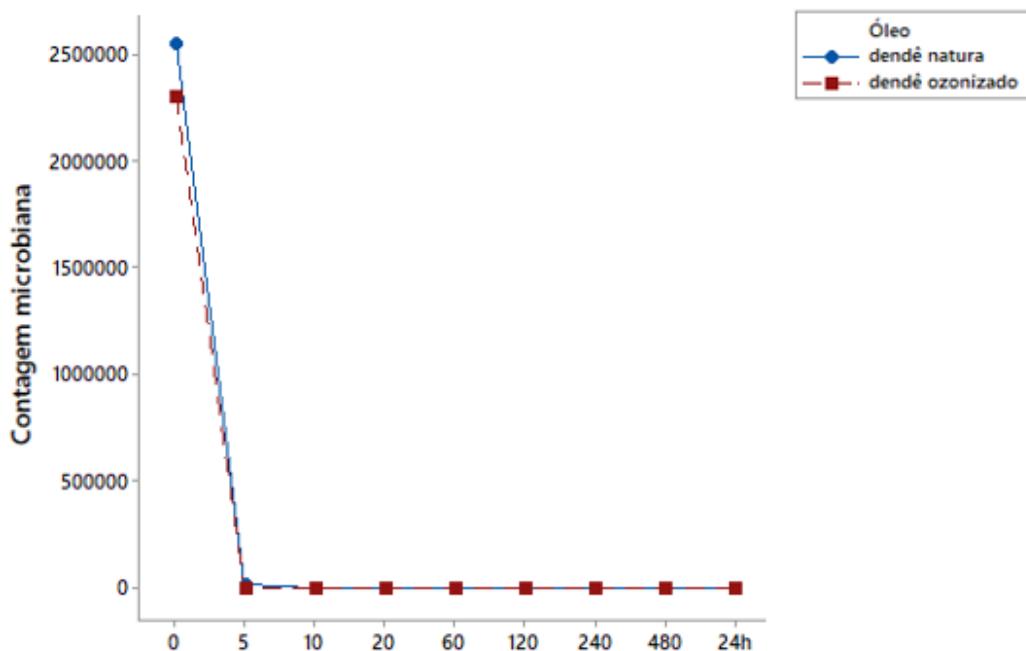


Figura 03. Contagem microbiana de *Candida albicans* para o óleo de girassol *in natura* e ozonizado de acordo com os tempos de exposição.

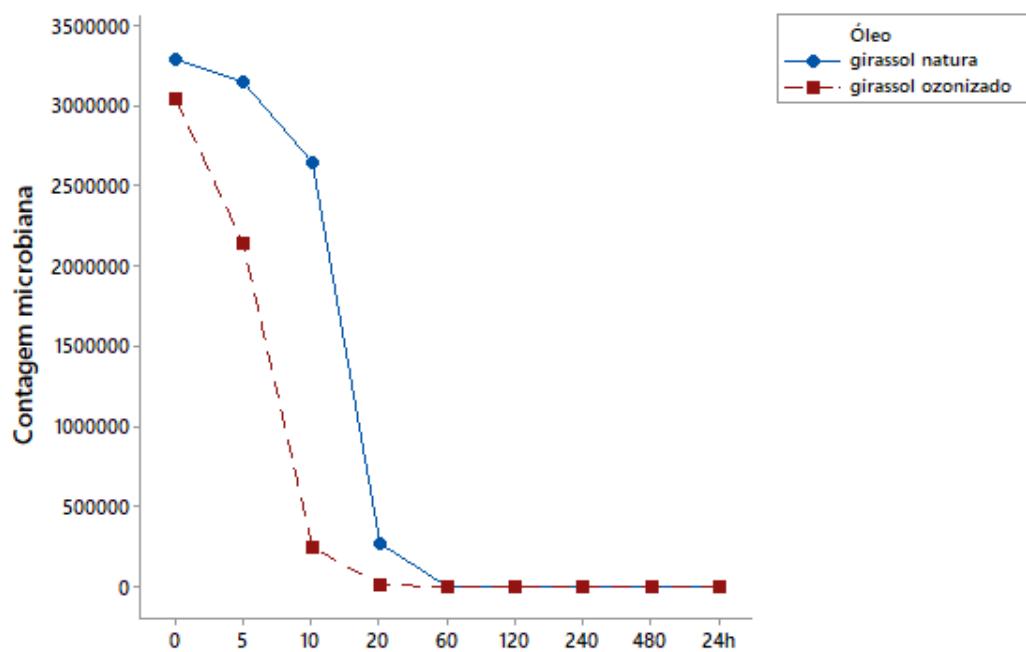


Figura 04. Contagem microbiana de *Candida albicans* para o óleo de oliva *in natura* e ozonizado de acordo com os tempos de exposição.

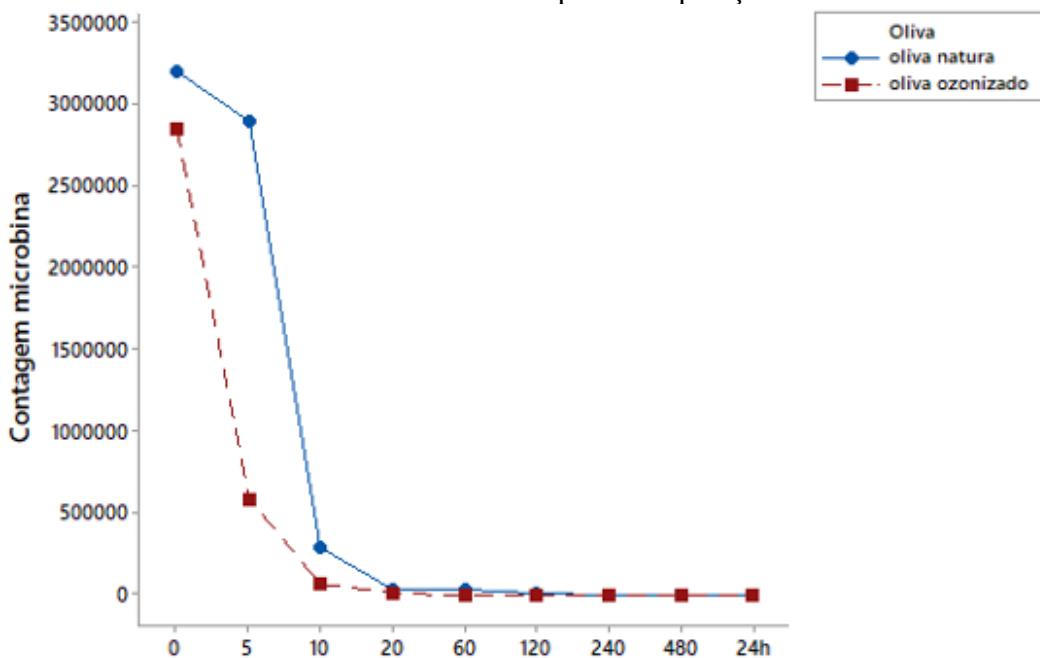


Figura 05. Contagem microbiana de *Candida albicans* para o óleo de pequi *in natura* e ozonizado de acordo com os tempos de exposição.

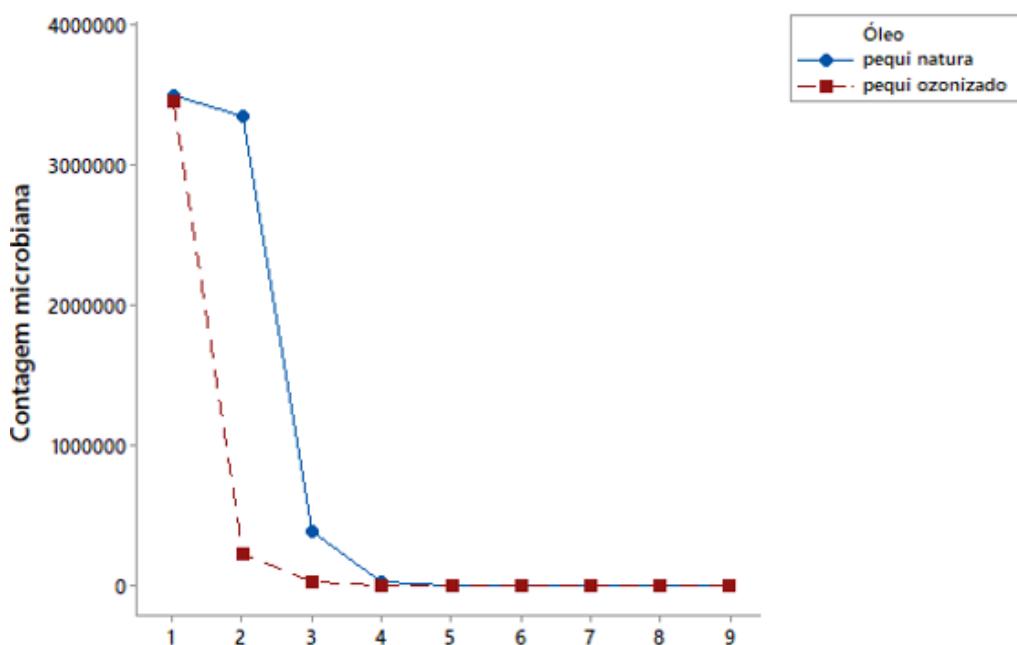


Figura 06. Intervalos de confiança da média para variação percentual da contagem microbiana dos óleos *essenciais in natura*. Círculos e quadrados indicam as médias e as medianas da variação da contagem microbiana, respectivamente.

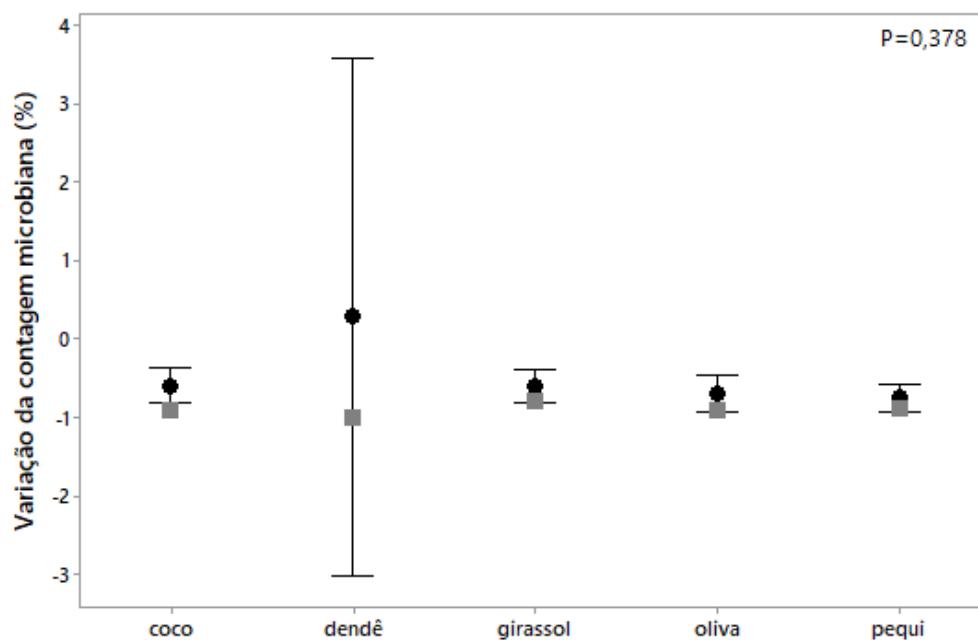
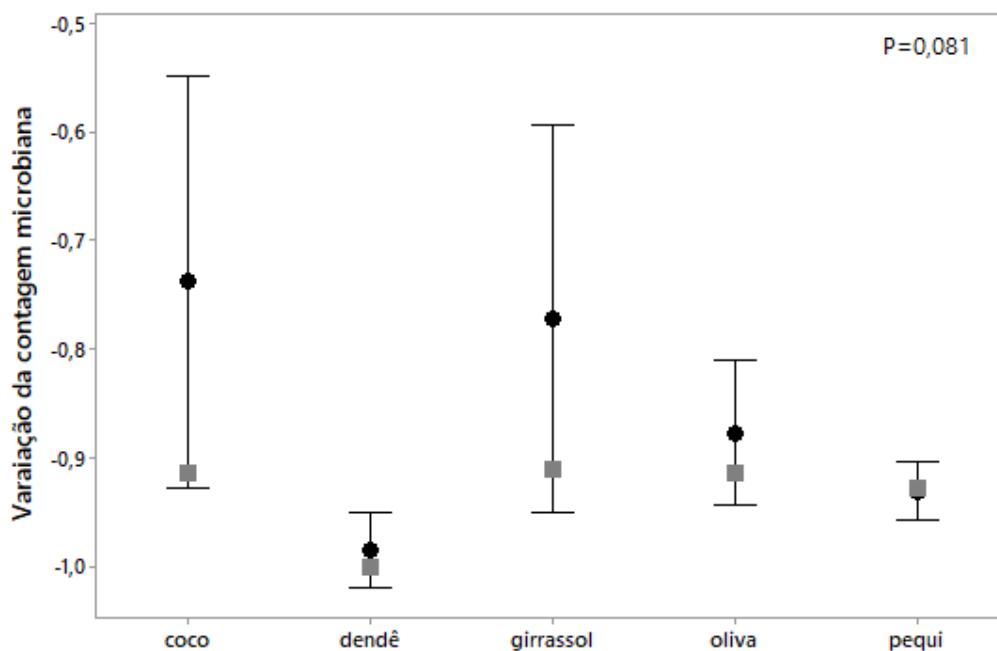


Figura 07. Intervalos de confiança da média para variação percentual da contagem microbiana dos óleos vegetais ozonizados. Círculos e quadrados indicam as médias e as medianas da variação da contagem microbiana, respectivamente.



O uso de óleos ozonizados na medicina tem ganhado destaque nos últimos anos, principalmente devido ao seu comprovado potencial antimicrobiano. Os compostos formados pela

reação do O<sub>3</sub> com ácidos graxos e outros substratos apresentam ação germicida, imunoestimulante e regeneradora tecidual (BOCCI, 2006).

A estabilidade química e as propriedades biológicas dos óleos ozonizados favorecem o desenvolvimento de formulações padronizadas capazes de conservar e liberar os benefícios do O<sub>3</sub> de forma controlada. Além disso, os óleos vegetais atuam como veículos eficientes, permitindo o armazenamento prolongado dos princípios ativos. Todavia a qualidade do óleo ozonizado é fator determinante para seu uso clínico seguro e eficaz. A caracterização físico-química, bem como a determinação precisa dos índices de peróxidos — utilizados como parâmetro de dosagem —, constituem critérios fundamentais para garantir a padronização e a segurança de preparações medicinais à base de óleo tratado com O<sub>3</sub> (SILVA, 2020).

Além disso, mesmo quando o mecanismo de ação exato do óleo ozonizado não é descrito, há muitas evidências pré-clínicas e clínicas de sua eficácia, tais como, ação contra bactérias, vírus e fungos, além de efeitos antiinflamatórios, cicatrização e regeneração tecidual (GUIMARÃES et al., 2020; TARA et al., 2016).

Ainda nesse contexto, o óleo ozonizado apresenta atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*. Em geral, o efeito letal do óleo ozonizado é evidente quando aplicado a cepas multirresistentes de *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, também quando aplicado a fungos do gênero *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum*, leveduras como *Candida* sp e protozoários como *Giardia lamblia* (BOCCI, ZANARDI, TRAVAGLI, 2011; KUME et al. 2021).

Diversos estudos têm demonstrado a eficácia do uso de óleos tratados com O<sub>3</sub> na inativação de diferentes micro-organismos. Rensi et al., (2014), em estudo *in vitro*, confirmaram o efeito antimicrobiano dos óleos de coco e girassol tratados com O<sub>3</sub> sobre cepas de *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*), evidenciando seu potencial para uso terapêutico no tratamento da acne.

Guimarães et al., (2020) também comprovaram a eficácia dos óleos de girassol e dendê tratados com O<sub>3</sub> na inibição do crescimento *in vitro* de *Sporothrix schenckii*.

Em modelo experimental, Cabral (2022), avaliou o efeito do óleo tratado com O<sub>3</sub> sobre *Leishmania amazonensis* inoculada em patas de camundongos, demonstrando sua potente ação leishmanicida *in vitro*. Na concentração de 160 µg/mL, não foram observadas formas promastigotas no sobrenadante. Além disso, quando o óleo tratado com O<sub>3</sub> foi administrado em associação ao medicamento de referência, houve melhora significativa no aspecto das lesões dos animais infectados, indicando sua eficácia como agente adjuvante e promovendo recuperação superior à obtida com o uso isolado do fármaco convencional.

Nesse sentido, Tara et al., (2016) destacam que a candidíase vulvovaginal constitui a infecção mais frequente do trato genital feminino. Considerando a necessidade de terapias prolongadas e a crescente resistência de *Candida* sp. aos tratamentos convencionais, os óleos vegetais tratados com O<sub>3</sub> surgem como alternativa promissora na cicatrização dessas infecções, apresentando vantagens como baixo custo, ausência de efeitos adversos e benefícios significativos à saúde humana.

Celenza et al., (2020) avaliaram a atividade antifúngica de um óleo vegetal tratado com O<sub>3</sub> (Ozodrop, FB Vision) frente a *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. orthopsilosis*, utilizando o método de microdiluição. Todos os isolados de *Candida* foram considerados suscetíveis, com valores de CIM variando entre 0,195% e 6,25% de óleo tratado com O<sub>3</sub> diluído em solução salina 0,9%. Após uma hora de exposição, observou-se inativação de até 70% das células fúngicas.

De forma semelhante, Silva (2021), comprovou a eficácia dos óleos de girassol, coco, pequi, oliva e dendê, tanto *in natura* quanto tratados com O<sub>3</sub>, no controle de *Acinetobacter baumannii*. Dentro os óleos avaliados, o de dendê apresentou as menores CIM — 25% para a *in natura* e 6,25% para o tratado com O<sub>3</sub> —, indicando maior potencial antimicrobiano.

Corroborando esses achados, os resultados obtidos na presente pesquisa também evidenciaram atividade antifúngica dos óleos de coco, pequi, oliva, dendê e girassol frente a *Candida albicans*. O óleo de dendê destacou-se por apresentar as menores CIM (12,5% e 1,6%, para as formas *in natura* e tratada com O<sub>3</sub>, respectivamente), sugerindo um efeito sinérgico do O<sub>3</sub> na potencialização da ação antifúngica.

#### 4 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e com os resultados obtidos, pode-se concluir que:

Os óleos vegetais de girassol, coco, dendê, pequi e oliva, tanto *in natura* quanto ozonizados, apresentaram capacidade de inativar *Candida albicans*.

Observou-se que os óleos de dendê, girassol e coco *in natura* exibiram concentrações inibitórias e fungicidas mínimas superiores às dos respectivos óleos ozonizados, enquanto os óleos de oliva e de pequi não demonstraram diferenças significativas entre as duas formas.

Quanto à capacidade de redução das UFC ao longo do tempo, verificou-se que os óleos de oliva e de pequi, tanto ozonizados quanto *in natura*, foram os mais eficazes.

Pelos resultados obtidos, os óleos vegetais demonstram potencial para utilização na terapêutica contra *Candida albicans*.

## REFERÊNCIAS

ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L. Vulvovaginal candidiasis: susceptibility factors of the host and virulence of the yeasts. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, p. 319-327, 2007.

AIEMSAARD, J. et al. Antifungal activities of essential oils of Syzygium aromaticum, Piper betle, and Ocimum sanctum against clinical isolates of canine dermatophytes. **Sci. Asia**, v. 43, p. 223, 2017.

BELTRAN, M. S. et al. Antibacterial activity of ozonized olive (olea europaea l.) And venadillo (swietenia humilis zucc.) Oils against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 2021, p. 947-949, 2021.

Bocci V. Scentific and medical aspects of ozone therapy. **State of the Art. Arc Med Res** 2006; 37:425-35.

BOCCI V, ZANARDI I, TRAVAGLI V. Ozonation of human HIV-infected plasmas for producing a global vaccine. **Virulence**. 2010; 1:215-217.

CABRAL, I. L. et al. AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO ÓLEO OZONIZADO COMO COMPLEMENTO À TERAPIA MEDICAMENTOSA EM INFECÇÕES CUTÂNEAS CAUSADAS PELA LEISHMANIOSE. 2022.

CARDOSO, I. C. C. et al. **Potencial antimicrobiano de óleos vegetais ozonizados frente a espécies bacterianas: uma revisão integrativa.** Research, Society and Development, v. 10, n. 2, p. e22410212451-e22410212451, 2021.

CELENZA, G. et al. Antimycotic Activity of Ozonized Oil in Liposome Eye Drops against Candida spp. **Translational vision science & technology**, v. 9, n. 8, p. 4-4, 2020.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.** Approved standard M07-A10. Pennsylvania, United States of America: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2015.

CONTRUCCI, B. A. et al. Avaliação in vitro da suscetibilidade de bactérias gram positivas e negativas quando expostas a óleos vegetais ozonizados in vitro evaluation of the susceptibility of gram positive and negative bacteria when exposed to ozonized plant oils. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 5, p. 19662-19672, 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.

JEFFERY-SMITH, A. et al. *Candida auris*: a review of the literature. **Clinical microbiology reviews**, v. 31, n. 1, p. e00029-17, 2018.

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-e4710111233, 2021.

LARKIN, E. et al. The emerging pathogen *Candida auris*: growth phenotype, virulence factors, activity of antifungals, and effect of SCY-078, a novel glucan synthesis inhibitor, on growth morphology and biofilm formation. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 5, p. e02396-16, 2017.

MARTÍNEZ-SANCHEZ, G. Scientific rational for the medical application of ozonized oils, an update. **Ozone Therapy Global Journal**, 2021, 11.1: 239-272.

RENSI, A. M; et al. Avaliação do efeito de óleos ozonizados de girassol e coco no controle proponibacteriumacnes, **XXIV. Congresso brasileiro de engenharia Biomédica**. São Jose dos Campos. 2014.

SARDI, J. C. O. et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of medical microbiology**, v. 62, n. 1, p. 10-24, 2013.

SILVA, W. R da. **Composição química e atividade antimicrobiana de óleos vegetais in natura e ozonizados em *Acinetobacter baumannii***. 2021.

SYLVESTER, P. W. Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability. In: Drug Design and Discovery. **Humana Press**, 2011. p. 157-168.

TARA, F. et al. The effects of ozonated olive oil and Clotrimazole cream for treatment of vulvovaginal candidiasis.

WANG, X. et al. The first isolate of *Candida auris* in China: clinical and biological aspects. **Emerging microbes & infections**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2018.