

COMPOSTOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTI - *PYTHIUM INSIDIOSUM*: UMA REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA

WALDENIS PEREIRA DA TRINDADE JUNIOR¹; JÚLIA DE SOUZA SILVEIRA VALENTE;
CAROLINE QUINTANA BRAGA³; DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA⁴

¹Universidade Federal de Pelotas-UFPEL – waldenis.junior@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas-UFPEL - juliassilveira@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas-UFPEL –carolineqbraga@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas-UFPEL –danielabrayer@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Pythium insidiosum é um oomiceto patogênico, agente etiológico da pitiose, que acomete mamíferos, principalmente equinos no Brasil (SANTURIO et al., 2006) e humanos na Tailândia (GAASTRA et al., 2010). É um micro-organismo que habita regiões pantanosas em áreas tropicais, subtropicais e temperadas (GAASTRA et al., 2010). O acúmulo de água estagnada e temperaturas ambientais entre 30°C a 40°C favorecem a reprodução assexuada que origina zoósporos móveis que constituem a forma infectante do micro-organismo. Os hospedeiros suscetíveis se contaminam ao entrar em contato com esse ambientes (MENDOZA et al., 1996). A pitiose merece destaque pela dificuldade de tratamento e letalidade nas espécies afetadas. Embora, nos últimos anos, os estudos envolvendo protocolos terapêuticos para o tratamento da enfermidade tenham avançado significativamente, a enfermidade permanece sendo uma infecção difícil de tratar. Parte dos insucessos terapêuticos deve-se a deficiente resposta de *P. insidiosum* às terapias disponíveis, incluindo tratamento com fármacos antifúngicos, cirurgia e imunoterapia (GAASTRA et al., 2010).

A composição da parede celular e a falta de ergosterol na membrana citoplasmática dos oomicetos explica os insucessos com fármacos, uma vez que o ergosterol é o sítio alvo de ação da maioria dos antifúngicos comumente utilizados na clínica (GROOTERS et al., 2003; SANTURIO et al., 2006).

O crescente aumento do número de casos de pitiose em animais e no homem e as dificuldades encontradas para a cura da doença têm impulsionado o desenvolvimento de pesquisas avaliando opções terapêuticas com fármacos antimicrobianos, incluindo compostos antifúngicos, antibacterianos, óleos essenciais de plantas, entre outros (PEREIRA et al., 2007; VALENTE, 2016a; RIBEIRO et al., 2017; VALENTE et al., 2018; LORETO et al., 2019).

Este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica de estudos de suscetibilidade de *P. insidiosum* frente a diferentes compostos que foram realizados no Laboratório de Micologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, da Universidade Federal de Pelotas (LabMico/UFPEl).

2. METODOLOGIA

Esse trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica, elaborado a partir dos estudos desenvolvidos pelo Laboratório de Micologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, no Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (LabMico/UFPEl) a partir do ano 2009. Foram usadas as plataformas: google acadêmico, scielo e pubmed e as palavras-chaves utilizadas foram “*Pythium insidiosum*”, “anti-pythium”, “susceptibilidade”, “antifúngicos”,

“nanopartículas”, “óleos essenciais” e “*in vitro*” e suas respectivas correspondências em inglês “*Pythium insidiosum*”, “*anti-pythium*”, “susceptibility”, “antifungals”, “nanoparticles”, “essential oils”, e “*in vitro*”. Após a leitura dos títulos dos artigos, exclui-se os artigos duplicados, além daqueles não preenchiam as exigências deste estudo. Foram selecionados os artigos que preenchiam os critérios e foram usados para uma leitura íntegra e completa para resgate de dados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados nove artigos, uma dissertação, duas teses e um trabalho de conclusão de curso. Esses estudos avaliaram a suscetibilidade *in vitro* de *P. insidiosum* frente aos compostos: cetoconazol, miconazol, terbinafina, itraconazol, *Mentha piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Origanum vulgare*, *Melaleuca alternifolia* em óleo livre e nanoemulsão, *Eugenia caryophyllata*, nanopartículas biogênicas de prata (bioAgNP), óleo de girassol (*Helianthus annuus*) e óleo de girassol ozonizado (OGO). Na tabela 1 são apresentados os dados constantes nos artigos referentes ao tipo de composto avaliado, número de isolados de *P. insidiosum* e atividade dos compostos, expressa como concentração inibitória mínima (CIM).

Tabela 1: Estudos de suscetibilidade *in vitro* de *Pythium insidiosum* frente a diferentes compostos realizados pelo LabMico/UFPEL no período de 2014 a 2020.

Composto avaliado	<i>P. insidiosum</i> (n)	CIM ₉₀ ¹ (µg/mL)	Referência
Compostos antifúngicos			
Cetoconazol	22	16	FONSECA et al., 2014
Miconazol	22	16	FONSECA et al., 2014
Terbinafina	22/20	16	FONSECA et al., 2014/ VALENTE et al., 2016c
Itraconazol	22/20	128	FONSECA et al., 2014/ VALENTE et al., 2016c
Óleos essenciais			
<i>Mentha piperita</i>	22/20	3500/2125	FONSECA et al., 2015/ VALENTE et al., 2016a,c
<i>Rosmarinus officinalis</i>	22	3500	FONSECA et al., 2015
<i>Origanum majorana</i>	22	3500	FONSECA et al., 2015
<i>Origanum vulgare</i>	22/20	870	FONSECA et al., 2015/ VALENTE et al., 2016a,c
<i>M. alternifolia</i>	20/26/20	2125	VALENTE et al., 2016a,b,c
<i>Eugenia caryophyllata</i>	30	7000	BRAGA, 2017
<i>Helianthus annuus</i> L.	30	28000	BRAGA, 2017
<i>H. annuus</i> ozonizado	30	28000	ZAMBRANO et al., 2019
Compostos nanoparticulados			
<i>M. alternifolia</i> nanoemulsão	26	1062,5	VALENTE et al., 2016b
BioAgNP	38	0,47	VALENTE et al., 2018

¹ Concentração inibitória mínima – inibição de 90% dos isolados.

Os estudos de Fonseca et al. (2014, 2015) foram os trabalhos pioneiros na linha de pesquisa de suscetibilidade *in vitro* com *P. insidiosum* no LabMico/UFPEL. No primeiro estudo estabeleceu-se um protocolo padrão de um inóculo preparado a partir de cultivo micelial do oomiceto. Os resultados desse estudo foram bastante relevantes, uma vez que os testes de suscetibilidade com este micro-organismo eram realizados, até então, com preparação de zoósporos, uma técnica laboriosa e que em algumas vezes, não se consegue a obtenção do número de estruturas suficientes para a realização dos testes, o que leva ao atraso no desenvolvimento dos trabalhos (FONSECA et al., 2014).

Posteriormente, as diversas pesquisas com diferentes óleos essenciais e óleo vegetal de *Helianthus annuus* evidenciaram que esses compostos apresentam boa atividade antimicrobiana frente ao oomiceto, particularmente o óleo essencial de *O. vulgare* e *M. alternifolia* (FONSECA et al., 2014; VALENTE et al., 2016 a,b, BRAGA, 2017).

No sentido de incrementar os estudos, Valente et al. (2016a,c) incluíram a avaliação de combinações com óleos essenciais entre si e combinações destes óleos com antifúngicos. Valente et al. (2016a,c) evidenciaram que a combinação dos óleos de *O. vulgare*, *M. piperitha* e *M. alternifolia* apresentaram taxas de sinergismo variando de 45% a 65% dos isolados avaliados. Estes autores ao avaliar as combinações de itraconazol com esses mesmos evidenciaram taxas de sinergismo de 60% a 95%. Todavia, quando avaliada as combinações com terbinafina, verificaram que o efeito sinérgico não ocorreu em nenhuma das combinações. Estes resultados mostram que em algumas situações pode ser vantajoso a utilização da associação de compostos com diferentes mecanismos de ação.

Simultaneamente, Valente et al. (2016b) introduziram nos testes de suscetibilidade a avaliação com nanocompostos. Estes autores evidenciaram que a nanoemulsão de *M. alternifolia* teve atividade anti-*Pythium* estatisticamente superior, quando comparada a formulação de óleo livre de *M. alternifolia*, sugerido que os nanocompostos podem ser vantajosos quando utilizados em protocolos terapêuticos. Seguindo nessa linha de pesquisa, Valente et al. (2018) demonstraram o excelente potencial de ação antimicrobiana de nanopartículas biogênicas de prata (BioAgNP) e caracterizaram as alterações celulares causadas por esse composto. Estes resultados são animadores e contribuem com as perspectivas para o desenvolvimento de novos medicamentos antimicrobianos para o controle da pitiose.

Zambrano et al. (2019) demonstraram a atividade anti-*Pythium* do óleo de girassol ozonizado (OGO), bem como evidenciaram a total inibição do crescimento do micro-organismo a partir de lesões (*kunkers*) oriundas de equinos com pitiose clínica. Esse primeiro estudo sugere que OGO pode ser um potente aliado da medicina integrativa a ser empregado na terapia da pitiose em animais.

4. CONCLUSÕES

Com esses dados verifica-se que o emprego de óleos essenciais, compostos inorgânicos tanto em nanoemulsões ou em óleo livre como uma terapia aditiva e/ou alternativa para o tratamento da pitiose, uma vez que apresentam baixa toxicidade para células de mamíferos, menor impacto ambiental e boa aceitação pelos consumidores.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, C.Q. **In vitro Susceptibility of *Pythium insidiosum* In front of OIL *Helianthus annuus* L., *Eugenia caryophyllata* their combinations.** Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Curso de Ciências Biológicas Licenciatura, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

FONSECA, A. O. S. et al. In vitro susceptibility of zoospores and hyphae of *Pythium insidiosum* to antifungals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 6, p. 1564-1567, 2014.



FONSECA, A. O. S. et al. In vitro susceptibility of Brazilian *Pythium insidiosum* isolates to essential oils of some Lamiaceae family species. **Mycopathologia**, v. 179, n. 3-4, p. 253-258, 2015.

GAASTRA, W. et al. *Pythium insidiosum*: An overview. **Veterinary Microbiology, Amsterdam**, v. 146, n. 1-2, p. 1-16, 2010.

Grooters A.M. Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**. 33: 695–720. 2003.

LORETO, E.S. et al. Efficacy of azithromycin and miltefosine in experimental systemic pythiosis in immunosuppressed mice. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 63, n. 1, 2019.

MARQUES, S.A. et al. *Pythium insidiosum*: relato do primeiro caso de infecção humana no Brasil. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 5, p. 483-485, Oct. 2006.

MENDOZA, L.; AJELLO, L.; MCGINNIS, M. R. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. **Journal Medical and Veterinary Micology**, Oxfordshire, v. 6, n.4, p. 151-164, 1996

PEREIRA, D.I.B., et al. Caspofungin in vitro and in vivo activity against Brazilian *Pythium insidiosum* strains isolated from animals. **J. Antimicrobial. Chemotherapy**, v.60, p. 1168–1171, 2007.

RIBEIRO, T.C. et al. Microevolutionary analyses of *Pythium insidiosum* isolates of Brazil and Thailand based on *exo-1*, 3- β -glucanase gene. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 48, p. 58-63, 2017.

SANTURIO, J.M. et al. Pitiose: uma micose emergente. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. 1, p. 1-14, 2006.

VALENTE, J.S.S. et al. In Vitro Susceptibility of *Pythium insidiosum* to *Melaleuca alternifolia*, *Mentha piperita* and *Origanum vulgare* Essential Oils Combinations. **Mycopathologia**. 181:617–622. 2016a.

VALENTE, J.S.S. et al. In Vitro Activity of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) in Its Free Oil and Nanoemulsion Formulations Against *Pythium insidiosum*. **Mycopathologia**. 2016b.

VALENTE, J.S. et al. In vitro activity of antifungals in combination with essential oils against the oomycete *Pythium insidiosum*. **Journal of applied microbiology**, v. 121, n. 4, p. 998-1003, 2016c.

VALENTE, J.S.S et al. In vitro anti-*Pythium insidiosum* activity of biogenic silver nanoparticles. **Medical mycology**, v. 57, n. 7, p. 858-863, 2018.

VALENTE, J.S.S. et al. Biogenic silver nanoparticles in the treatment of experimental pythiosis Bio-AgNP in pythiosis therapy. **Medical Mycology**, 2020.

ZAMBRANO, C.G. et al. Óleo de girassol ozonizado: atividade anti-*Pythium insidiosum*. **R. bras. Med. equina**, p. 18-20, 2019.