



Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Programa de Pós-graduação em Enfermagem

ANTONIO ALBERTO ELIAS

**EFEITO INIBITÓRIO DE ÓLEOS OZONIZADOS
SOBRE O CRESCIMENTO DE *Staphylococcus aureus***

São José do Rio Preto
2024

Antonio Alberto Elias

**EFEITO INIBITÓRIO DE ÓLEOS OZONIZADOS
SOBRE O CRESCIMENTO DE *Staphylococcus aureus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Enfermagem da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, para a obtenção do Título de Mestre.

Área de Concentração: Processo de Trabalho em Saúde.

Linha de Pesquisa: Gestão e Educação em Saúde.

Financiamento: Pesquisa realizada com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Orientadora: Profa. Dra. Nadia Antonia Aparecida Poletti

**São José do Rio Preto
2024**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESSE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha Catalográfica

Elias, Antonio Alberto.

Efeito inibitório de óleos ozonizados sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus*/Antonio Alberto Elias.

São José do Rio Preto; 2024.

54 p.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Enfermagem da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto.

Área de Concentração: Processo de Trabalho em Saúde.

Linha de Pesquisa: Gestão e Educação em Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Nadia Antonia Aparecida Poletti.

Descritores: Ação Antimicrobiana; Infecções Bacterianas; Plantas Medicinais; Óleo Essencial; Ozônio; *Staphylococcus aureus*.

BANCA EXAMINADORA

Profa Dra Nadia Antonia Aparecida Poletti.
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

Prof. Dr. (Nome do membro efetivo 1)
Afiliações

Prof. Dr. (Nome do membro efetivo 2)
Afiliações

Prof. Dr. (Nome do membro suplente 1)
Afiliações

Prof. Dr. (Nome do membro suplente 2)
Afiliações

São José do Rio Preto, __/__/__

AGRADECIMENTOS

EPÍGRAFE

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
RESUMEN	vi
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Plantas medicinais	13
1.2. Óleos essenciais	15
1.2.1. Óleo essencial de cravo da Índia	16
1.2.2. Óleo essencial de coco	16
1.2.3. Óleo essencial de Girassol.....	17
1.2.4. Óleo essencial de Melaleuca	17
1.2.5. Óleo essencial de Rosa Mosqueta.....	18
1.2.6. Óleo essencial de semente de uva.....	19
1.2.7. Azeite de oliva	19
1.3. Óleos ozonizados.....	20
1.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	22
2. OBJETIVOS	25
2.1. Objetivo geral	25
2.2. Objetivos específicos	25
3. MÉTODOS.....	26
3.1. Preparação da cepa <i>S. aureus</i>	26
3.2. Preparação dos óleos ozonizados.....	26
3.3. Teste de inibição de crescimento bacteriano.....	27
3.4. Teste cinética de morte – <i>Time Kill</i>	29
4. RESULTADOS	30
5. DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÃO	38
7. FINANCIAMENTO	39
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Layout placa de 96 poços para o teste de inibição de crescimento bacteriano.....28
- Figura 2.** Teste de inibição do crescimento de *S. aureus* sob ação dos óleos: Rosa Mosqueta (Ozon Blue), oliva (Ozon Blue), semente de uva (Ozon Blue), coco (Ozon Blue), girassol (Ozon Blue), Melaleuca (Ozon Blue), cravo da Índia (Ozon Blue), Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3 nanonizado), girassol (Ozontop) e Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3).....31
- Figura 3.** Teste de inibição do crescimento de *S. aureus* sob ação dos óleos: oliva (Phylozon), girassol (Phylozon), cravo da Índia (Distriol) e girassol (Mophderm).....32
- Figura 4.** Teste de cinética de morte – *Time Kill* nos tempos de 1h, 2h, 3h, 4h, 5h e 6h de exposição da bactéria *S. aureus* aos óleos ozonizados.....33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Óleos essenciais segundo fabricante e método de ozonização.....	26
Tabela 2. Efeito inibitório do crescimento da bactéria <i>S. aureus</i> segundo o óleo, fabricante e modo de ozonização.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC American Type Culture Collection

AS Ágar Saboraud dextrose

BHI Brain Heart Infusion

DMSO Dimetilsulfóxido

OMS Organização Mundial da Saúde

RPMI Rosen Park Media Institute

TTC Trifeniltetrazólio

°C Grau Celsius

h Hora

% Porcentagem

µL Microlitros

mL Mililitros

RESUMO

ELIAS, A. A. Efeito inibitório de óleos ozonizados sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* 54 f. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Enfermagem. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, 2024.

Objetivo: Avaliar, *in vitro*, a atividade antimicrobiana de óleos essenciais ozonizados contra a bactéria *Staphylococcus aureus*. **Métodos:** Estudo experimental *in vitro*, na qual através do teste de inibição em placa de 96 poços foi observado o efeito inibitório do crescimento microbiano da bactéria *S. aureus*, a partir da ação dos óleos essenciais ozonizados de Rosa Mosqueta, coco, oliva, girassol, Melaleuca, semente de uva e cravo da Índia. Os óleos foram testados mantendo seus parâmetros físico-químicos, como aparência, coloração, pureza, odor, densidade e índice de refração, descritos pelo fabricante. Dentre os óleos utilizados, apenas dois foram ozonizados artesanalmente antes dos testes, os demais foram ozonizados pelo fabricante. Adicionalmente, foi realizado o teste de cinética de morte – *Time Kill* para determinar o tempo (1h a 6h) da ação inibitória dos óleos. Para os testes foram preparados inóculos a partir de culturas em ágar Brain Heart Infusion com crescimento de 24h, sendo preparados em meio RPMI e ajustados em escala 0,5 McFarland e espectrofotômetro a 625nm (absorbância 0,11-0,15). **Resultados:** No total foram analisadas 14 variações de óleos ozonizados, destes 5 apresentaram ação inibitória da bactéria *S. aureus*, sendo eles: Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3), Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3 nanonizado), girassol (Phylozon), oliva (Phylozon) e girassol (Mophderm). Dentre os óleos ozonizados artesanalmente, apenas o óleo de girassol (Mophderm) apresentou atividade inibitória. Na avaliação da cinética de morte, apenas os óleos de Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3 e EBPM-OXI3 nanonizado) apresentaram inibição do crescimento bacteriano dentro do tempo de 6h, na qual já a partir da segunda hora de interação com os óleos não houve o crescimento de colônias. **Conclusões:** Os óleos essenciais ozonizados apresentam potencial como agentes antimicrobianos contra *S. aureus*, visto que dentre os óleos testados, cinco deles se destacaram por sua eficácia. A análise da cinética de morte revelou que os óleos de Rosa Mosqueta foram particularmente eficazes, inibindo o crescimento bacteriano em apenas duas horas de exposição. Esses achados sugerem um potencial promissor dos óleos ozonizados, especialmente os derivados de Rosa Mosqueta, como agentes antimicrobianos contra *S. aureus*. Essas descobertas são relevantes no contexto do desenvolvimento de terapias alternativas e complementares no combate às infecções bacterianas.

Descritores: Ação Antimicrobiana; Infecções Bacterianas; Plantas Medicinais; Óleo Essencial; Ozônio; *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

ELIAS, A. A. Inhibitory effect of ozonized oils on the growth of *Staphylococcus aureus* 54 p. Master Thesis – Stricto Sensu Graduate Nursing Program. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, 2024.

Objective: To evaluate, in vitro, the antimicrobial activity of ozonized essential oils against the bacteria *Staphylococcus aureus*. **Methods:** In vitro experimental study, in which, through the inhibition test in a 96-well plate, the inhibitory effect on the microbial growth of the bacteria *S. aureus* was observed, based on the action of ozonized essential oils of rosehip, coconut, olive, sunflower, Melaleuca, grape seed and clove. The oils were tested maintaining their physical-chemical parameters, such as appearance, color, purity, odor, density and refractive index, described by the manufacturer. Among the oils used, only two were ozonized by hand before testing, the others were ozonized by the manufacturer. Additionally, the death kinetics test – Time Kill was carried out to determine the time (1h to 6h) of inhibitory action of the oils. For the tests, inoculum were prepared from cultures on Brain Heart Infusion agar with 24h growth, prepared in RPMI medium and adjusted to a 0.5 McFarland scale and spectrophotometer at 625nm (absorbance 0.11-0.15). **Results:** In total, 14 variations of ozonized oils were analyzed, of which 5 showed an inhibitory action on the bacteria *S. aureus*, namely: Rosehip (EBPM-OXI3), Rosehip (nanonized EBPM-OXI3), sunflower (Phylozon), olive (Phylozon) and sunflower (Mophderm). Among the artisanal ozonized oils, only sunflower oil (Mophderm) showed inhibitory activity. In the evaluation of death kinetics, only Rosehip oils (EBPM-OXI3 and nanonized EBPM-OXI3) showed inhibition of bacterial growth within 6 hours, in which from the second hour of interaction with the oils there was no colony growth. **Conclusions:** Ozonized essential oils have potential as antimicrobial agents against *S. aureus*, since among the oils tested, five of them stood out for their effectiveness. Kill kinetics analysis revealed that rosehip oils were particularly effective, inhibiting bacterial growth in just two hours of exposure. These findings suggest a promising potential of ozonized oils, especially rosehip derivatives, as antimicrobial agents against *S. aureus*. These findings are relevant in the context of developing alternative and complementary therapies to combat bacterial infections.

Descriptors: Anti-Infective Agents; Bacterial Infections; Plants, Medicinal; Oils, Volatile; Ozone; *Staphylococcus aureus*.

RESUMEN

ELIAS, A. A Efecto inibitório de óleos ozonizados sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* 54 f. Dissertação (Mestrado) – Stricto Sensu Estudos de Posgrado en Enfermería. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, 2024.

Objetivo: Evaluar, *in vitro*, la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales ozonizados contra la bacteria *Staphylococcus aureus*. **Métodos:** Estudio experimental *in vitro*, en el que mediante la prueba de inhibición en placa de 96 pocillos se observó el efecto inhibidor sobre el crecimiento microbiano de la bacteria *S. aureus*, basado en la acción de los aceites esenciales ozonizados de rosa mosqueta, coco, olivo, girasol, Melaleuca, pepita de uva y clavo. Los aceites fueron probados manteniendo sus parámetros físico-químicos, como apariencia, color, pureza, olor, densidad e índice de refracción, descritos por el fabricante. Entre los aceites utilizados, sólo dos fueron ozonizados a mano antes de las pruebas, los demás fueron ozonizados por el fabricante. Además, se realizó la prueba de cinética de muerte – *Time Kill* para determinar el tiempo (1h a 6h) de acción inhibidora de los aceites. Para las pruebas, los inóculos se prepararon a partir de cultivos en agar Brain Heart Infusion con 24 h de crecimiento, preparados en medio RPMI y ajustados a escala McFarland 0,5 y espectrofotómetro a 625 nm (absorbancia 0,11-0,15). **Resultados:** En total se analizaron 14 variaciones de aceites ozonizados, de las cuales 5 mostraron acción inhibidora sobre la bacteria *S. aureus*, a saber: Rosa mosqueta (EBPM-OXI3), Rosa mosqueta (EBPM-OXI3 nanonizado), girasol (Phylozon), oliva (Phylozon) y girasol (Mophderm). Entre los aceites ozonizados artesanales, sólo el aceite de girasol (Mophderm) mostró actividad inhibidora. En la evaluación de la cinética de muerte, solo los aceites de Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3 y EBPM-OXI3 nanonizado) mostraron inhibición del crecimiento bacteriano dentro de las 6 horas, en las cuales a partir de la segunda hora de interacción con los aceites no hubo crecimiento de colonias. **Conclusiones:** Los aceites esenciales ozonizados tienen potencial como agentes antimicrobianos contra *S. aureus*, ya que entre los aceites probados cinco de ellos destacaron por su efectividad. El análisis de la cinética de muerte reveló que los aceites de rosa mosqueta eran particularmente efectivos, inhibiendo el crecimiento bacteriano en solo dos horas de exposición. Estos hallazgos sugieren un potencial prometedor de los aceites ozonizados, especialmente los derivados de rosa mosqueta, como agentes antimicrobianos contra *S. aureus*. Estos hallazgos son relevantes en el contexto del desarrollo de terapias alternativas y complementarias para combatir las infecciones bacterianas.

Descriptores: Antiinfecciosos; Infecciones Bacterianas; Plantas Medicinales; Aceites Volátiles; Ozono; *Staphylococcus aureus*.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Plantas medicinais

As plantas medicinais exibem um considerável potencial, devido seus recursos terapêuticos contendo princípios ativos capazes de combater os microrganismos¹. Os ingredientes ativos e as combinações nos compostos naturais têm sido utilizados ao longo dos séculos, devido à sua fácil disponibilidade, custo acessível e efeitos colaterais reduzidos. Na antiguidade, o uso de plantas medicinais desempenhou um papel vital nas práticas de cura e manutenção da saúde em diversas civilizações antigas, como a egípcia, a chinesa, a grega e a romana, na qual, culturalmente, desenvolveram um profundo conhecimento sobre as propriedades terapêuticas das plantas².

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional, que inclui o uso de fitoterápicos, adicionalmente, 40% das formulações farmacêuticas aprovadas para uso são baseadas em produtos naturais³. Os medicamentos derivados de plantas são vistos como alternativas seguras e cada vez mais pesquisados como novas opções terapêuticas. A pesquisa sobre a atividade medicinal das plantas abrange diversas áreas, com maior destaque para a atividade antimicrobiana⁴. Tal fato está relacionado a grande preocupação mundial, a resistência dos microrganismos aos medicamentos, resultado do uso extenso, irregular e indiscriminado dos antibióticos. Decorrendo, assim, em uma demanda crescente pelo desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos¹.

Os compostos antimicrobianos presentes em plantas medicinais têm a capacidade de inibir o crescimento de bactérias, fungos e vírus através de mecanismos distintos dos antimicrobianos convencionais^{5,6}. Alguns desses compostos ativos demonstram uma atividade antibacteriana intrínseca, ou ainda, possuem propriedades modificadoras da resistência aos antibióticos, podendo ser utilizados em combinação com esses fármacos para desvencilhar da resistência apresentada pelas bactérias. Além do mais, compostos naturais quimicamente

complexos apresentam menos efeitos colaterais em comparação às drogas sintéticas e baixas chances do desenvolvimento de resistência^{1, 7}.

As plantas medicinais são ricas em uma ampla variedade de compostos químicos, na qual foram estudados como tendo atividades antimicrobianas. Tal ação antimicrobiana está atribuída a vários compostos, especialmente, os alcaloides, flavonoides e terpenóides⁵. Os terpenoides, com destaque para cinamaldeído, carvacrol, timol, eugenol e ácido oleanólico, apresentam características lipofílicas que promove sua interação com a bicamada fosfolipídica, assim, sua ação antimicrobiana está associada à destruição da membrana celular. Além disso, alguns terpenoides apresentam ação anti-quorum sensing⁸⁻¹¹.

Os flavonoides possuem uma abundante diversidade de estruturas químicas e, conseqüentemente, apresentam atividades biológicas de amplo espectro, contudo, se destacam a hesperidina, morin, catequina, baicalina, floretina, silibina, apigenina, galangina e quercetina^{5,12}. Sendo descritos como mecanismos antimicrobianos: inibição do metabolismo energético¹³, interferência na estabilidade da parede celular¹⁴, danos a integridade da membrana celular por aumento da permeabilidade^{14, 15}, inibição das bombas de efluxo¹⁶, inibição do metabolismo dos ácidos nucleicos bacterianos¹⁷, inibição da mobilidade bacteriana e biofilme¹⁸ e redução da expressão de fatores de virulência^{19, 20}.

Alcaloides são uma classe de compostos orgânicos que inclui mais de 20.000 moléculas diferentes, na qual apresentam um átomo de nitrogênio que aceita prótons e um ou mais átomos de hidrogênio doadores de prótons, além de grupos funcionais, assim podem facilmente formar ligações de hidrogênio com proteínas, enzimas e receptores, decorrendo em uma variedade de propriedades farmacológicas²¹. Dentre os alcaloides com atividade antimicrobiana se destacam a piperina, reserpina, berberina, isoquinolina, protoberberina, quinolina, indol e monoterpene indol que atuam, principalmente, como inibidores da bomba de efluxo em bactérias e fungos²¹.

²⁵. Alguns alcaloides desempenham ações de inibição da síntese e do reparo de ácidos nucleicos, ao atuarem como intercaladores de DNA, em bactérias e vírus^{26, 27}.

1.2. Óleos essenciais

Diversas propriedades farmacêuticas das plantas medicinais são atribuídas aos óleos, sendo as características relacionadas à espécie vegetal de origem. Mesmo quando os óleos compartilham compostos qualitativamente semelhantes, as diferenças quantitativas entre eles conferem propriedades químicas e biológicas específicas²⁸. Dessa forma, a singularidade de cada óleo, determinada pela composição, desempenha um papel crucial nas propriedades terapêuticas e farmacológicas associadas às plantas medicinais²⁹.

As plantas têm a capacidade de sintetizar dois tipos distintos de óleos: óleos fixos e óleos essenciais. Os óleos fixos são compostos por ésteres de uma molécula de glicerol ligada a três ácidos graxos, sendo também denominados triacilgliceróis ou triglicerídeos. Por outro lado, os óleos essenciais, conhecidos também como essências, óleos voláteis e óleos etéricos, são complexas misturas naturais de substâncias voláteis, lipofílicas e odoríferas, comumente encontradas em plantas aromáticas^{29, 30}.

Os óleos essenciais são considerados líquidos oleosos com aroma forte e quase sempre agradável, derivam do metabolismo secundário de diferentes partes das plantas, como flores, botões, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeira, frutas e raízes. São conhecidos por estarem envolvidos na resistência das plantas contra pragas, herbívoros, fungos e bactérias^{31, 32}. Adicionalmente, são biodegradáveis, apresentam baixa toxicidade aos mamíferos e devido à grande diversidade estrutural de seus componentes, são fontes potenciais de moléculas bioativas multialvo³³. Podem ser obtidos por métodos de extração como hidrodestilação, destilação a vapor, destilação a seco ou pelo uso de processos mecânicos de compressão,

podendo a composição química do óleo variar significativamente conforme o método de extração³⁴.

Há milhares de anos, os seres humanos têm empregado os óleos essenciais, não apenas como ingredientes em perfumes e cosméticos ou para aromatizar alimentos, mas também na medicina popular³⁴. Essa prática ancestral está fundamentada nas diversas propriedades biológicas dos óleos essenciais, tais como, antibacteriana, antifúngica, analgésica, anti-inflamatória, antitumoral, antioxidante, espasmolítica, caminativa, hepatoprotetora e repelente contra insetos³⁵⁻³⁷. Atualmente, há uma variedade de óleos essenciais estudados e reconhecidos como potentes antimicrobianos por promoverem a inibição e inativação de diferentes microrganismos³⁸⁻⁴⁴.

1.2.1. Óleo essencial de cravo da Índia

A matéria prima a partir da qual o óleo essencial de cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) é obtido são botões florais não desenvolvidos que são submetidos à destilação a vapor após maceração⁴⁵. A composição química deste óleo inclui cerca de 100 compostos já identificados, contudo, o componente dominante é o eugenol⁴⁶.

Assim, as propriedades biológicas do óleo do cravo da Índia podem ser atribuídas ao eugenol, que é um forte agente bactericida, fungicida, antiviral, antiparasitário, anti-inflamatório, antimutagênico, antisséptico e antialérgico⁴⁷⁻⁵². A mistura de outros componentes ao eugenol, como o cariofileno e o copaeno, atribuem propriedades cicatrizantes, diurético e anti-inflamatório, aumentando o poder de ação deste óleo⁵³.

1.2.2. Óleo essencial de coco

O óleo de coco (*Cocos nucifera*), altamente saturado, é uma das fontes mais ricas de ácidos graxos de cadeia média, sendo muito utilizado em dietas e preparação de alimentos por seus efeitos na saúde cardíaca e no perfil lipídico sérico⁵⁴. Além do mais, o óleo de coco tem

chamado a atenção por suas propriedades hipocolesterolêmicas, anticancerígenas, anti-hepatoesteatóticas, antidiabéticas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e hidratantes para a pele⁵⁵.

As propriedades biológicas do óleo de coco estão relacionadas a monolaurina, um monoglicerídeo composto de ácido láurico esterificado com glicerol⁵⁶. Foi demonstrado que a monolaurina possui ampla bioatividade, atuando como antiviral, antibacteriano, antifúngico e contra a ação de parasitas⁵⁷⁻⁶¹. Além de ser reconhecida como um potente anti-inflamatório, antitrombótico e inibe a peroxidação lipídica, agindo como antioxidante, devido a sua alta concentração de vitamina E e ácido gálico⁶².

1.2.3. Óleo essencial de Girassol

O óleo de girassol (*Helianthus annuus*) é composto por ácido cáprico, ácido caprílico, ácido capróico, ácido láurico, ácido linoleico, lecitina, palmitato de retinol, acetato de tocoferol e alfa-tocoferol, sendo amplamente utilizado no tratamento de feridas em vários cenários de cuidados de saúde⁶³. O óleo de semente de girassol, composto em grande parte por ácidos linoleicos e linolênicos, têm sido utilizado como alternativa para o tratamento de feridas, por apresentar composição lipídica semelhante ao estrato córneo, além de estimular a síntese de colágeno e prevenir a perda de água transepidermica⁶⁴. Adicionalmente, apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos⁶⁵⁻⁶⁷, tendo essa ação atribuída, principalmente, ao ácido linoleico que é capaz de alterar as sínteses de proteínas, parede celular, ácidos nucleicos e membranas celulares durante o processo de divisão dos microrganismos, além de inibir a formação de biofilme^{65, 68}.

1.2.4. Óleo essencial de Melaleuca

A planta *Melaleuca* sp., originária da Austrália, a partir de suas folhas, gera a produção de óleo essencial utilizando-se a destilação a vapor. O óleo essencial possui um distintivo odor

medicinal canforado e é composto por mais de 100 substâncias, mas com maior predomínio dos monoterpenos (terpinoleno, α -pineno, 1,8-cineol, p-cimeno, γ -terpineno e terpinen-4-ol)⁶⁹.

Encontra aplicação em uma variedade de produtos, incluindo domésticos, cosméticos, farmacêuticos e de aromaterapia⁶⁹. Observa-se um crescente emprego desse óleo em produtos farmacêuticos e cosméticos, como xampus, sabonetes e enxaguantes bucais, bem como em preparações manipuladas para tratamentos de herpes labial, acne, queimaduras, picadas de insetos e onicomicoses⁷⁰. Essa ampla gama de aplicações destaca a versatilidade e eficácia do óleo essencial de *Melaleuca*, principalmente, relacionadas às suas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e analgésicas^{71, 72}.

1.2.5. Óleo essencial de Rosa Mosqueta

A Rosa Mosqueta pertence ao gênero *Rosa*, presente na família *Rosaceae*, na qual possui aproximadamente 100 espécies diferentes em todo o mundo, sendo este gênero originário do Mediterrâneo e da Europa Central⁷³. Os frutos da Rosa Mosqueta apresentam alto valor nutritivo devido as elevadas concentrações de vitamina C e carotenoides (licopeno, β -criptoxantina, β -caroteno e rubixantina)^{74, 75}. O óleo extraído da semente da planta é rico em ácidos graxos insaturados, com destaque para o ácido linoleico, ácido linolênico, ácido oleico, bem como, em menores quantidades, ácidos graxos saturados como ácido palmítico, ácido palmitoleico e ácido esteárico^{76, 77}.

Dermatologicamente, o óleo de Rosa Mosqueta é utilizado no tratamento de cicatrizes, quelóideas hipertróficas, hiperpigmentação e cicatrizes acneiformes. Além de atenuar os efeitos do envelhecimento em rugas de expressão, e ser indicado, em uso tópico, em regiões da pele submetidas a radioterapia⁷⁸. Devido suas propriedades biológicas relacionadas aos seus ácidos graxos, dentre seus benefícios estão a atividade anticarcinogênica, antiaterosclerose, inibição de radicais livres, alteração na composição e no metabolismo do tecido adiposo, imunomodulação e ação antibacteriana^{77, 79}.

1.2.6. Óleo essencial de semente de uva

O óleo de semente de uva é rico em ácidos graxos, principalmente ácido linoleico e ácido oleico, e vitamina E, decorrendo em propriedades potenciais para aplicação nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica⁸⁰. A vitamina E possui conhecidamente ação protetora aos radicais livres e propriedade antitumoral devido seu potencial antioxidante, já o ácido linoleico é um conhecido protetor para doenças cardiovasculares⁸¹⁻⁸³.

O óleo de semente de uva é conhecido por ser uma notável fonte de antioxidantes naturais e componentes antienvhecimento^{84, 85}. Além disso, seus benefícios foram descritos na cicatrização de feridas por auxiliar a regeneração dos vasos sanguíneos danificados e por eliminar bactérias patogênicas e endotoxinas no local da ferida⁸⁶. Aliás, a atividade antimicrobiana do óleo de semente de uva é outra propriedade relatada, tendo o resveratrol como o componente mais associado a inibição de bactérias^{87, 88}.

1.2.7. Azeite de oliva

O azeite de oliva (*Olea europaea*), assim como outros óleos e gorduras, contribui para a qualidade de determinados alimentos, apresenta valor nutricional como boa fonte de energia metabólica. A qualidade do azeite de oliva é influenciada, principalmente, pelas características dos frutos da azeitona, época de colheita, variedade da oliveira, condições climáticas, solo e práticas de cultivo. Sendo, os principais componentes responsáveis pelos benefícios à saúde contidos no azeite de oliva extravirgem⁸⁹.

A composição do azeite de oliva é caracterizada por alto teor de ácidos graxos como ácido linoleico, ácido linolênico e, principalmente, o ácido oleico, associado a altos teores de compostos bioativos como tocoferóis, compostos fenólicos, fitoesterol, β -sitosterol e pigmentos como clorofilas e carotenoides, que contribuem para suas características sensoriais, bem como para a estabilidade oxidativa^{90, 91}. No entanto, o azeite é suscetível à oxidação lipídica, que é

espontânea e inevitável, impactando no valor comercial dos azeites, quer sejam azeites puros, ou produtos que contenham óleo na sua formulação⁹².

Desta forma, o azeite de oliva possui boa ação antioxidante por ser uma fonte de antioxidantes naturais, caracterizando-se, portanto, como alimento que pode trazer benefícios a saúde⁹¹. É um importante componente da dieta do mediterrâneo, e estudos demonstram que o azeite de oliva extravirgem atua como um protetor na redução do risco de vários tipos de câncer, risco cardiometabólico, diabetes tipo 2 e doenças neurodegenerativas⁹³⁻⁹⁷. Os compostos fenólicos do azeite apresentam capacidade antioxidante através de sua ação como quebradores de cadeia, doando hidrogênio aos radicais alquilperoxil, produzidos pela oxigenação lipídica, formando derivados estáveis. Além do mais, os compostos fenólicos exercem importante atividade antibacteriana, especialmente contra bactérias^{98, 99}.

1.3. Óleos ozonizados

O ozônio é um gás altamente oxidante e possui a capacidade de clivar ligações duplas entre carbonos, sendo um potente agente oxidante que afeta diretamente as células microbianas de bactérias, fungos e protozoários, além de danificar a estrutura dos vírus, podendo ser utilizado em baixas concentrações e com pouco tempo de ação¹⁰⁰. Já as células do corpo humano apresentam maior tolerância ao ozônio por apresentarem boa capacidade antioxidante, contudo, este não deve ser inalado devido a sensibilidade da rede brônquica ou administrado por via intravenosa pelos riscos de embolia gasosa¹⁰¹.

O ozônio é uma forma alotrópica triatômica do oxigênio (O_3), na qual os três átomos estão organizados em uma estrutura cíclica. Possui um odor único, com característica oxidante e instável, sendo até 10 vezes mais solúvel em água do que o oxigênio, apesar de ser obtido a partir deste. Por essa propriedade possui maior facilidade de penetração tecidual e difusão, fortalecendo ainda mais como um agente oxidante¹⁰².

O ozônio quando em contato com os tecidos reage instantaneamente por meio de biomoléculas, formando sistemas de tamponamento antioxidante. Esses sistemas conferem propriedades biológicas que incluem imuno estimulação, reparação, alívio da dor, redução da inflamação, desintoxicação, estimulação bioenergética e biossíntese¹⁰³. Atualmente, o ozônio pode ser empregado em diferentes maneiras como em solução salina ozonizada, água ozonizada, óleo ozonizado e na forma gasosa^{101, 104}. Há uma variedade de óleos essenciais que podem ser usados como veículos do ozônio e são reconhecidos como potentes bactericidas, antivirais e antifúngicos, bem como empregados para tratar feridas crônicas, como úlceras tróficas, úlceras isquêmicas e feridas diabéticas¹⁰⁵⁻¹¹⁰.

Uma das propriedades do ozônio é a capacidade de inibir a proliferação bacteriana, sendo a sua ação, em termos de eficácia, comparada ao cloro¹⁰². Isso se deve à sua alta capacidade oxidativa, que atua diretamente nos ácidos graxos presentes na membrana celular bacteriana, aumentando sua permeabilidade e comprometendo suas funções. Adicionalmente, a oxidação de enzimas, proteínas, DNA e RNA resulta na morte das bactérias¹¹¹.

A ação antioxidante do ozônio resulta na produção de oxigênio como subproduto, levando a um aumento na taxa de oxigenação dos tecidos. Essa capacidade de melhorar a disponibilidade local de oxigênio estimula a reparação tecidual, um fator crucial para o processo de cicatrização. Outra propriedade atribuída ao ozônio é sua capacidade de eliminar os mediadores inflamatórios, o que reduz a sensação de dor^{112,113}. Além disso, também está associado ao potencial do ozônio, estabilizar e reverter a osteonecrose induzida por bisfosfonatos e radiação¹⁰³.

O óleo ozonizado é um composto derivado da mistura de óleo com o gás ozônio. A terapia tópica com óleo ozonizado atinge um potencial efetivo devido a presença de ligações duplas de ácidos graxos que são ozonizados, o que permite que a molécula fique reservada em uma forma mais estável^{114, 115}. Após a reação do ozônio com o óleo, os óxidos duplos de ozônio

ligam-se a um átomo de oxigênio, caracterizando o processo de borbulhamento do ozônio, isso ocorre devido a produção de peróxidos, sendo o grau de ozonização do óleo determinado pela quantidade de peróxidos¹¹⁶.

Os peróxidos possuem característica germicida, o que o torna útil no tratamento de feridas infectadas, fistulas e outros processos sépticos locais. Além do mais, os hidrocarbonetos acíclicos e insaturados presentes nos óleos vegetais, levam a formação do trioxolano. A presença do anel de trioxolano em matrizes vegetais tem o papel de gerar compostos que agem no processo de regeneração tecidual, onde o ozônio atua de forma ativa, quando aplicado em lesões^{114, 117}.

A ozonioterapia é uma técnica, que devido suas vantagens como baixo custo, baixa invasividade, fácil aplicação local, minimização dos efeitos colaterais e intolerância, vem se destacando como uma opção para o tratamento de diferentes enfermidades^{118, 119}. Os óleos essenciais ozonizados são utilizados como uma alternativa antimicrobiana em uma ampla variedade de organismos patogênicos. Ainda há eficácia contra bactérias multirresistentes, visto que esses microrganismos não possuem ferramentas para impedir a ação oxidativa do ozônio¹²⁰⁻¹²³.

1.4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma bactéria zoonótica comensal oportunista presente na mucosa nasal e na pele e, eventualmente, pode ser encontrada na cavidade oral¹²⁴. Cerca de 30% dos humanos saudáveis vivem em relação de comensalismo com essa bactéria¹²⁵. A incidência de bacteremia por *S. aureus* é estimada de 20 a 50 casos por 100.000 pessoas por ano, com uma taxa de mortalidade de 10% a 30%¹²⁶. Estudos apontam que a bacteremia causada por essa bactéria é responsável por mais mortes do que a síndrome da imunodeficiência adquirida, tuberculose e hepatite viral^{126, 127}.

S. aureus é reconhecida mundialmente como causa de diversas infecções em humanos e animais, estando relacionada a casos de osteomielite, pneumonia, endocardite, bacteremia, abscessos epidural, artrite séptica, mastite, fasciíte, entre outras infecções¹²⁸. Também é conhecida como o principal agente microbiano relacionado às úlceras do pé diabético e como causa de intoxicação alimentar em humanos^{129, 130}. Na odontologia, *S. aureus* se destaca por sua habilidade em formar agregados com *Fusobacterium nucleatum*, que exerce um importante papel no biofilme oral por apresentar relação de sinergismo com outras bactérias. Além de interagir com *Porphyromonas gingivalis*, que é considerado um dos principais agentes patogênicos da periodontite^{124, 131}.

O surgimento de cepas de *S. aureus* resistentes à alguns agentes antimicrobianos, como a vancomicina e metilicina, desperta uma preocupação mundial, pois está problemática torna difícil o controle das infecções causadas por esta bactéria¹³². A OMS priorizou a busca por novos agentes antibacterianos contra patógenos multirresistentes, em especial *S. aureus*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e espécies *Enterobacter*¹³³.

As infecções bacterianas de pele e mucosa são um problema significativo em termos de morbidade e esforço econômico. As infecções por *S. aureus* apresentam alta incidência em indivíduos com HIV, pacientes em hemodiálise, idosos com uso de próteses dentárias e pacientes em tratamento de câncer com radioterapia^{134, 135}. A descoberta de produtos terapêuticos, principalmente os naturais, tendo como propriedade a atividade antibacteriana, pode auxiliar no combate aos agentes infecciosos com menores efeitos adversos. No caso dos óleos essenciais, esses possuem características que permite a combinação com outras formas de tratamento como é o caso do ozônio.

Dessa forma, a busca de novos produtos terapêuticos é necessária para a garantia de tratamentos eficazes, que refletem no controle da resistência aos antimicrobianos e na

diminuição dos casos de infecções e recidivas. Neste contexto, há necessidade de avaliações quanto às adequações para uso clínico, para isso os testes *in vitro* auxiliam na avaliação da atividade antimicrobiana dos produtos, como os óleos ozonizados, contra bactérias patogênicas. Além disso, os resultados obtidos fornecem evidências científicas fundamentais para validar a eficácia desses produtos, contribuindo para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas no tratamento de infecções bacterianas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar, *in vitro*, a atividade antimicrobiana de óleos essenciais ozonizados contra a bactéria *Staphylococcus aureus*.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a inibição da bactéria *S. aureus* a partir do emprego dos óleos essenciais ozonizados: cravo da Índia, Melaleuca, Rosa Mosqueta, coco, girassol, semente de uva e azeite de oliva.
- Determinar o tempo de inibição a partir da técnica de cinética de morte – Time Kill.

3. MÉTODOS

3.1. Preparação da cepa *S. aureus*

Nos testes *in vitro* foi utilizada a cepa padrão *S. aureus* (ATCC 25923) pertencente à coleção do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP. Primeiramente, a cepa foi reativada em ágar Brain Heart Infusion (BHI) (Oxoid, Basingstoke, Hants, UK) e incubada a 35 °C por 24h para os testes.

Todos os testes *in vitro* foram realizados no Laboratório de Microbiologia/FAMERP.

3.2. Preparação dos óleos ozonizados

Foram utilizados os óleos essenciais ozonizados de cravo da Índia, coco, oliva, Rosa Mosqueta, girassol, Melaleuca e semente de uva, mantendo os parâmetros físico-químicos, como aparência, coloração, pureza, odor, densidade e índice de refração, descritos pelo fabricante. Foram utilizados quatro fabricantes de óleos ozonizados comercialmente e dois fabricantes de óleos essenciais *in natura*, que foram posteriormente ozonizados artesanalmente, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Óleos essenciais segundo fabricante e método de ozonização.

Óleo	Fabricante	Ozonização
Cravo da Índia	Ozon Blue	Comercialmente
	Distriol	Artesanalmente
Rosa Mosqueta	Ozon Blue	Comercialmente
	EBPM-OXI3	Comercialmente
	EBPM-OXI3	Comercialmente (Nanonizado)
Girassol	Ozon Blue	Comercialmente
	Phylozon	Comercialmente
	Ozontop	Comercialmente
	Mophderm	Artesanalmente
Oliva	Phylozon	Comercialmente

	Ozon Blue	Comercialmente
Melaleuca	Ozon Blue	Comercialmente
Coco	Ozon Blue	Comercialmente
Semente de Uva	Ozon Blue	Comercialmente

Os óleos de cravo da Índia (Distriol) e de girassol (Mophderm) foram ozonizados artesanalmente utilizando o aparelho gerador de gás ozônio NewOzon (RM Tecnologia e Serviços, São Paulo, Brasil). No equipamento o ozônio é produzido de forma constante e conduzido por uma mangueira de silicone de 1,5m para o difusor, pelo qual 500mL do óleo foram expostos ao ozônio de forma direta por 30 minutos (vazão de 0,125 L/m, concentração de 60Mc/L de O₃). O procedimento foi realizado em capela de exaustão, visando minimizar os riscos de aspiração do gás ozônio e de contaminação.

Para avaliar a esterilidade dos óleos ozonizados, uma alíquota de 0,1mL de cada óleo foi semeada em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose (AS) (Oxoid, Basingstoke, Hants, UK) e ágar BHI, com incubação a 37 °C por 24h para a observação de crescimento microbiano, sendo considerado estéril a ausência de colônias. Os óleos foram armazenados em frasco âmbar, mantidos sob refrigeração.

3.3. Teste de inibição de crescimento bacteriano

Os inóculos de *S. aureus* foram preparados a partir de uma cultura de 24h em ágar BHI, na qual a colônia bacteriana foi adicionada em frasco estéril contendo meio RPMI (Rosen Park Media Institute) (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemanha). Os inóculos foram preparados em escala de turbidez 0,5 de McFarland e ajustados em espectrofotômetro a 625 nm e absorbância de 0,11 – 0,15 em meio RPMI.

Os óleos ozonizados foram solubilizados DMSO (dimetilsulfóxido) na proporção 90% de óleo e 10% de DMSO. Posteriormente, as placas de 96 poços foram preparadas, para isso

0,1mL do óleo ozonizado foi adicionado a um poço juntamente com 0,1mL de meio RPMI. Por fim, foi adicionado 0,1mL do inóculo de *S. aureus*. Os óleos foram testados individualmente, sendo incluídas repetições. A coluna 1 das placas foi destinada para o controle de crescimento, sendo adicionado aos poços 0,1mL de RPMI e 0,1mL do inóculo; já a coluna 12 foram adicionados aos poços 0,2mL de RPMI para o controle de esterilidade do teste. Na linha H das placas foi realizado o controle de esterilidade dos óleos, na qual não foi introduzido o inóculo. Nas placas ainda foi incluído um controle de DMSO a 10%, para confirmar que esta substância não apresenta ação antimicrobiana (Figura 1).

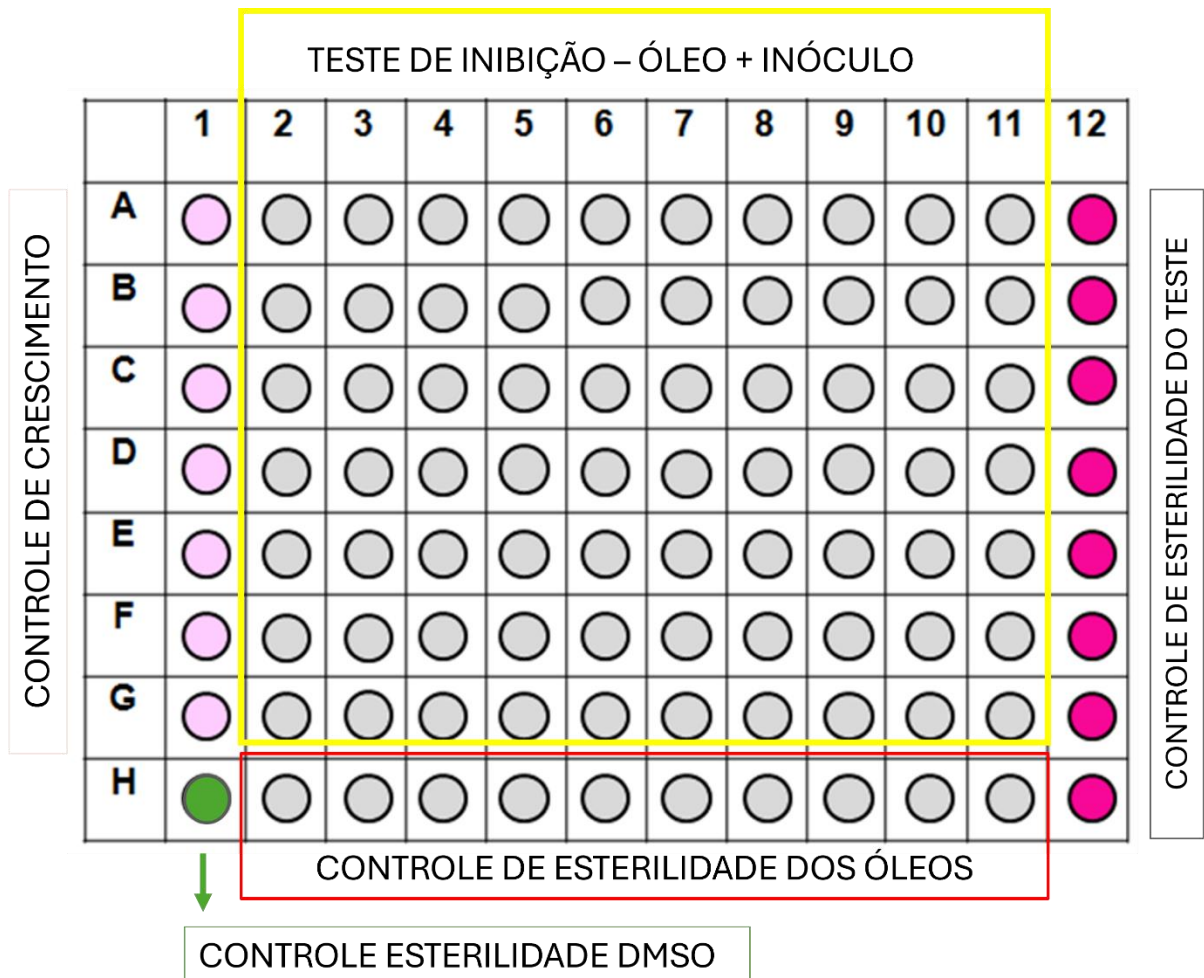


Figura1. Layout placa de 96 poços para o teste de inibição de crescimento bacteriano.

As placas foram incubadas a 35 °C por 24h, e após este período foram adicionados aos poços 20µL do revelador TTC (2,3,5-trifeniltetrazólio) (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemanha) a 2% e aguardado mais 24h para leitura. O crescimento bacteriano é evidenciado pela cor avermelhada do revelador, assim, para leitura, foi considerada inibição do crescimento da bactéria *S. aureus* a ausência do pigmento avermelhado e de turbidez nos poços.

3.4. Teste cinética de morte – *Time Kill*

Ensaio da cinética de morte foi conduzido de acordo com método descrito por Klepser et al. (1998)¹³⁷ com adaptações. Em tempos predeterminados: 1h, 2h, 3h, 4h, 5h e 6h, uma alíquota de 30 µL foi retirada de cada preparação teste (poço da placa de 96 poços, contendo o óleo, RPMI e inóculo) e semeada em placas de Petri contendo ágar BHI com auxílio de alça Drigalski. Posteriormente, as placas foram incubadas a 35 °C por 24h. As culturas foram analisadas, para observação de colônias, após o período de incubação.

4. RESULTADOS

No total foram analisadas 14 variações de óleos ozonizados, destes, 5 apresentaram ação inibitória da bactéria *S. aureus*, sendo eles: Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3), Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3 nanonizado), girassol (Phylozon), oliva (Phylozon) e girassol (Mophderm). Todos, óleos ozonizados pelo fabricante, sendo a única exceção o óleo de girassol (Mophderm), na qual foi ozonizado artesanalmente antes do teste (Tabela 2).

Tabela 2. Ação inibitória do crescimento da bactéria *S. aureus* segundo o óleo, fabricante e modo de ozonização.

Óleo	Fabricante	Ozonização	Inibição ou crescimento - <i>S. aureus</i>
Cravo da Índia	Ozon Blue	Comercialmente	Crescimento
	Distriol	Artesanalmente	Crescimento
Rosa Mosqueta	Ozon Blue	Comercialmente	Crescimento
	EBPM-OXI3	Comercialmente	Inibição
	EBPM-OXI3	Comercialmente (nano)	Inibição
Girassol	Ozon Blue	Comercialmente	Crescimento
	Phylozon	Comercialmente	Inibição
	Ozontop	Comercialmente	Crescimento
	Mophderm	Artesanalmente	Inibição
Oliva	Phylozon	Comercialmente	Inibição
	Ozon Blue	Comercialmente	Crescimento
Melaleuca	Ozon Blue	Comercialmente	Crescimento
Coco	Ozon Blue	Comercialmente	Crescimento
Semente de Uva	Ozon Blue	Comercialmente	Crescimento

Nas Figuras 2 e 3, a leitura do teste de inibição é demonstrada, na qual é possível observar o crescimento bacteriano (cor avermelhada) e a inibição do crescimento (levemente rosado, devido a cor natural do meio de cultura líquido RPMI, ou ainda levemente amarelado,



Figura 2. Teste de inibição do crescimento de *S. aureus* sob ação dos óleos: Rosa Mosqueta (Ozon Blue), oliva (Ozon Blue), semente de uva (Ozon Blue), coco (Ozon Blue), girassol (Ozon Blue), Melaleuca (Ozon Blue), cravo da Índia (Ozon Blue), Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3 nanonizado), girassol (Ozontop) e Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3).

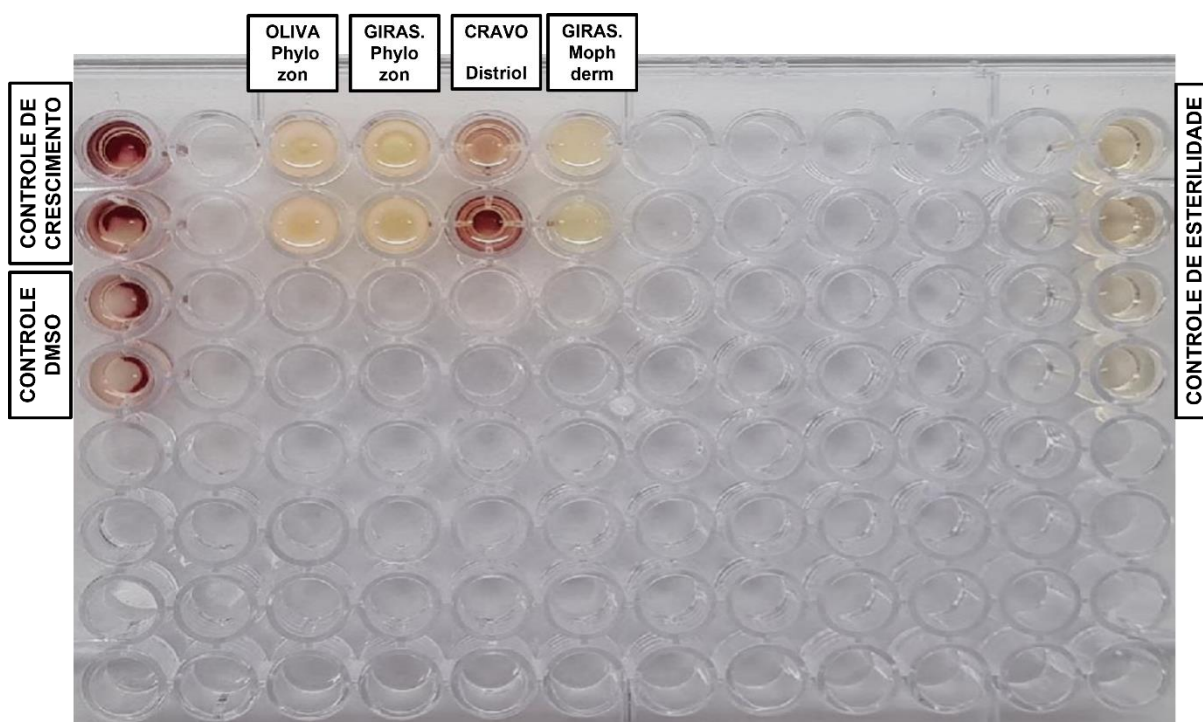


Figura 3. Teste de inibição do crescimento de *S. aureus* sob ação dos óleos: oliva (Phylozon), girassol (Phylozon), cravo da Índia (Distriol) e girassol (Mophderm).

Em relação ao teste de cinética de morte – *Time Kill* foi observado que apenas os óleos ozonizados de Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3 e EBPM-OXI3 nanonizado) obteve efeito inibitório da bactéria *S. aureus* dentro do tempo testado, ou seja, em até 6h. A ação inibitória destes óleos foi extremamente eficaz, na qual duas horas de exposição já foram suficientes para a inibição total da bactéria (Figura 4).

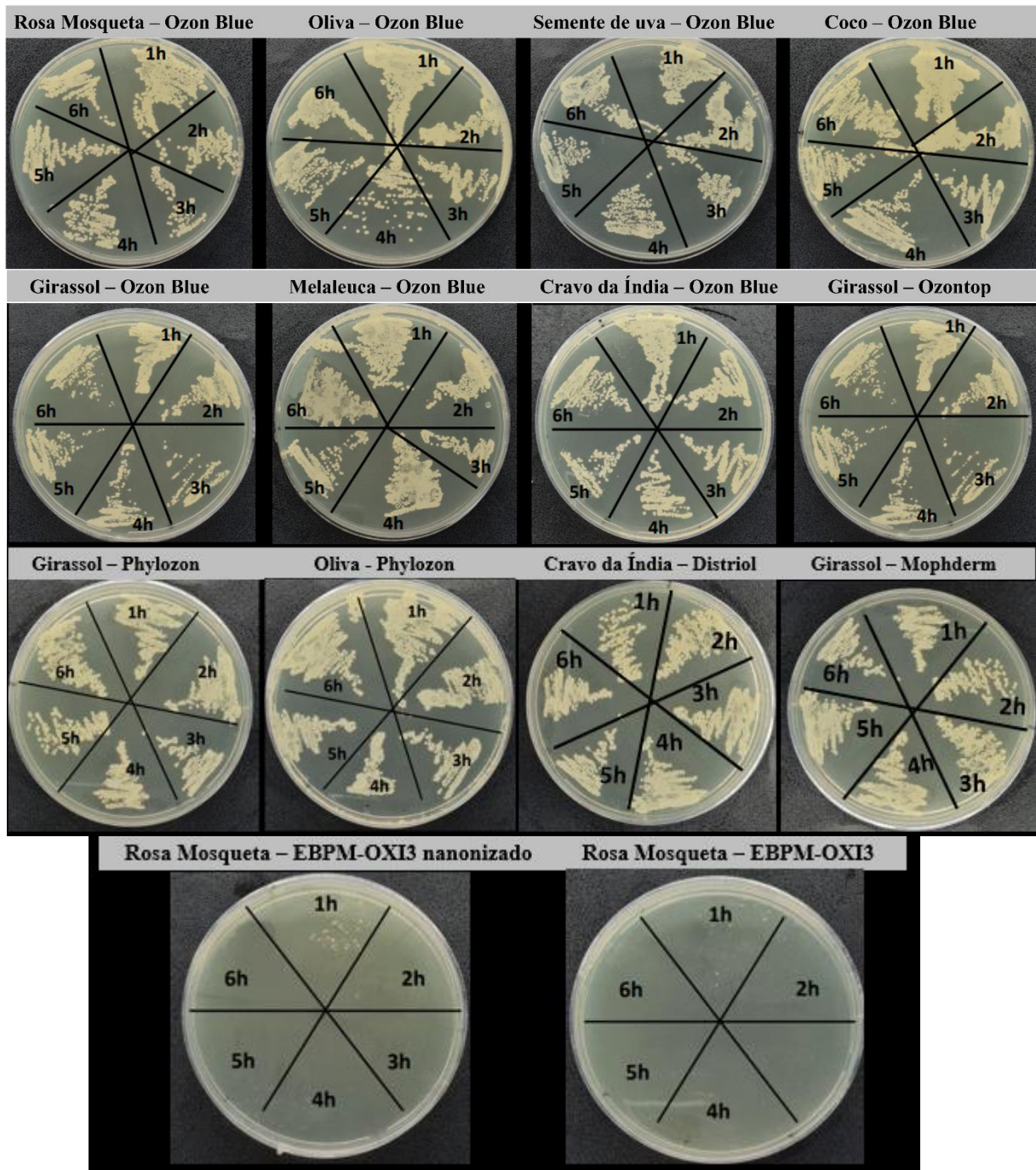


Figura 4. Teste de cinética de morte – *Time Kill* nos tempos de 1h, 2h, 3h, 4h, 5h e 6h de exposição da bactéria *S. aureus* aos óleos ozonizados.

5. DISCUSSÃO

Os óleos vegetais são compostos por moléculas ricas em insaturações, caracterizadas por ligações duplas entre carbonos. Quando esses óleos são expostos à ozonização, a formação de novos compostos é favorecida devido à quebra das ligações duplas. O ozônio reage com essas ligações e originam os ozonídeos terapeuticamente ativos. Além disso, há formação de compostos como os aldeídos, peróxidos e ácidos carboxílicos, que são as principais moléculas responsáveis pela ação antimicrobiana desses óleos¹¹⁵. Desta forma, a atividade farmacológica dos óleos ozonizados é influenciada pelo nível de ozonização e pela composição natural do óleo¹³⁸.

A atividade antimicrobiana dos óleos ozonizados é constantemente estudada, na qual esta propriedade é explicada, principalmente, pela formação de moléculas oxidativas após a ozonização dos óleos¹¹⁵. Estes compostos, quando em contato com bactérias, podem acarretar a morte microbiana ao interagirem com a parede celular e membrana plasmática, causando alterações na permeabilidade da célula e consequentemente danos citoplasmáticos irreversíveis que impedem a síntese proteica e o crescimento celular¹³⁹⁻¹⁴¹.

No presente estudo sete óleos essenciais ozonizados foram testados, quanto a ação antimicrobiana, contra a bactéria *S. aureus*. Tais óleos são conhecidos pela composição rica em compostos fenólicos, carotenoides, monoterpenos e ácidos graxos insaturados, especialmente: ácido gálico, ácido láurico, ácido linoleico, ácido cáprico, ácido capróico, ácido linolênico e ácido oleico^{62, 63, 69, 74, 75, 76, 77}. A propriedade antimicrobiana dos óleos *in natura* e ozonizados estão presentes na literatura, especialmente em relação aos óleos de girassol e oliva^{139, 140, 142-144}, na qual neste estudo, esses óleos também se destacaram pela maior eficácia.

Contudo, além dos óleos de girassol e oliva, observou-se a excelente atuação inibitória do óleo de Rosa Mosqueta contra a *S. aureus*, com destaque para o tempo de ação de até 2h para a inibição total do crescimento bacteriano. O óleo de Rosa Mosqueta é frequentemente

estudado na prevenção de disfunções hepáticas, como esteatose hepática, devido sua ação antilipogênica e antioxidante, bem como, na área da dermatologia para o tratamento de cicatrizes e rugas de expressão^{78, 145, 146}. Desta forma, a atividade antimicrobiana desse óleo não é o principal alvo de pesquisas, na qual os presentes resultados possam contribuir para maior evidência do óleo de Rosa Mosqueta como agente antimicrobiano e promover maiores estudos neste âmbito.

O óleo de Rosa Mosqueta extraída da semente é rico em flavonoides, carotenoides e polifenóis que fornecem uma intensa atividade antioxidante, o que justifica seu uso na alimentação e na fitoterapia¹⁴⁷. Szentmihályi e colaboradores¹⁴⁸, estudaram diferentes métodos de extração do óleo de Rosa Mosqueta, encontrando uma associação de ácidos graxos insaturados (ácido oleico, ácido linoleico e ácido linolênico) e ácidos graxos poli-insaturados. Esses ácidos graxos aumentam permeabilidade da membrana celular das células, facilitando a entrada de fatores de crescimento, o que promove maior proliferação, migração celular e neoangiogênese, atuando diretamente na fase proliferativa da cicatrização¹⁴⁹. Além disso, os polifenóis, carotenoides, vitaminas E e C presentes possuem efeito protetor sobre as novas células formadas na regeneração de tecidos lesionados, além de serem redutores de oxigênio inibindo a formação de radicais livres¹⁴⁷.

Acerca do óleo de girassol, sua atividade antimicrobiana é relatada em diversos estudos *in vitro* e *in vivo*, assim como, com óleo *in natura* e ozonizado. As pesquisas realizadas por Silva et al.⁶⁵, Adetunji, et al.⁶⁶, Fatrcová-Šramková et al.⁶⁷ e Aziz et al.¹⁵⁰ em avaliação antimicrobiana *in vitro* pelo método de disco difusão do óleo de girassol, demonstraram a inibição do crescimento microbiano dos microrganismos: *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Fuserium oxisporium* e *Candida albicans*.

Estudos clínicos também destacam a eficácia antimicrobiana do óleo de girassol, *in vivo*, como demonstrado em uma pesquisa conduzida no Egito. Neste estudo, realizado com bebês prematuros nascidos com menos de trinta e quatro semanas de gestação e hospitalizados na unidade de terapia intensiva neonatal, houve a aplicação tópica do óleo de girassol três vezes ao dia. Como resultado, foi observado uma notável redução das infecções de pele e da mortalidade em comparação aos bebês que não receberam essa profilaxia tópica. Tal achado foi associado a absorção do óleo pela pele, e ao proporcionar nutrição profunda e hidratação, criou uma barreira protetora eficaz contra infecções em prematuros. Além disso, não foram observados efeitos adversos decorrentes dessa terapia tópica¹⁵¹.

A atividade antimicrobiana do óleo de girassol também foi relatada em sua forma ozonizada, sendo efetivo contra cepas bacterianas de *S. aureus*, *E. coli* e *Streptococcus uberis*¹⁴². Otero et al.¹⁵² relatou a eficácia do óleo de girassol ozonizado em pacientes acometidos com gengivite fibroedematosa crônica, principalmente após o uso entre 7 e 15 dias, sendo a eficácia associada às propriedades germicidas e ao poder de oxigenação que estimula a regeneração tecidual. Ainda na área da Odontologia, o óleo de girassol ozonizado foi testado *in vitro* em dentes unirradiculares esterilizados e posteriormente contaminados com *E. faecalis*, demonstrando resultados intermediários de inibição em comparação ao hipoclorito de sódio e a Clorexidina¹⁵³.

Atualmente, o óleo de girassol é um dos produtos mais utilizados na prática clínica para o tratamento e prevenção de feridas, visto que o óleo é rico em ácidos graxos essenciais e foi aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como composto de uso em curativo⁶⁵. O principal ácido graxo do óleo de girassol é o ácido linoleico, na qual é apontando por muitos estudos como um agente antimicrobiano, especialmente contra bactérias e leveduras, inclusive, inibindo a formação de biofilme^{68, 154}.

Em um estudo comparativo entre óleos ozonizados de girassol e oliva foi observado uma atividade antimicrobiana semelhante contra as bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *B. subtilis*, contudo, o óleo ozonizado de oliva apenas apresentou atividade antimicrobiana contra *P. aeruginosa* em alto índice de peróxidos. Tal achado reforça que valores mais elevados de peróxido apresentam maior ação antimicrobiana. Ainda neste estudo, durante o processo de ozonização dos óleos foi identificado um aumento nos valores de peróxido e ácido em ambos os óleos, mas a formação foi maior no óleo de girassol¹⁵⁵.

A atividade antimicrobiana do azeite de oliva foi relatada por Elshinawy e colaboradores¹³⁹, em uma investigação contra biofilme de patógenos endodônticos, tendo o azeite de oliva uma ação antimicrobiana inferior a nanopartículas de quitosana e prata, contudo, o óleo obteve menores efeitos citotóxicos. Adicionalmente, a interação do óleo de oliva com nanopartículas de quitosana mostrou resultados sinérgicos, na qual reduziu o biofilme maduro com uma taxa de morte rápida, indicando um potencial uso no tratamento de canais radiculares. Pietrocola et al.¹⁴⁰, por sua vez, descreve uma melhor performance do azeite de oliva ozonizado em bactérias gram-negativas, visto que, em seu estudo, o halo de inibição das bactérias gram-positivas foi de aproximadamente 1,3 vezes menor.

Com base nas atuais evidências científicas, os óleos ozonizados têm se destacado por sua notável ação antimicrobiana contra uma variedade de bactérias patogênicas. A ação oxidativa dos próprios metabólicos naturais dos óleos e do ozônio, associada a formação de compostos com propriedades antimicrobianas, após a ozonização, tornam esses produtos uma opção promissora no combate a infecções bacterianas, tanto em contextos médicos e aplicações terapêuticas quanto a métodos antissépticos.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste estudo *in vitro*, na qual diferentes óleos essenciais ozonizados foram testados quanto à sua atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, destacou-se a eficácia inibitória de cinco destes: Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3), Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3 nanonizado), girassol (Phylozon), oliva (Phylozon) e girassol (Mophderm). Notavelmente, o óleo de girassol (Mophderm) com ozonização artesanalmente apresentou atividade inibitória, ressaltando a eficácia dos diferentes métodos de ozonização.

Além disso, os óleos de Rosa Mosqueta (EBPM-OXI3 e EBPM-OXI3 nanonizado) demonstraram rápida inibição do crescimento bacteriano, evidenciando o eficaz potencial como agentes antimicrobianos. Os resultados sugerem uma promissora aplicabilidade dos óleos essenciais ozonizados no combate a infecções por *S. aureus*, destacando a necessidade de investigações adicionais para melhor compreensão da ação antimicrobiana, das substâncias envolvidas no processo de inibição e do potencial clínico para o uso terapêutico em humanos.

7. FINANCIAMENTO

Pesquisa realizada com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), código do financiamento 001.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vaou N, Stavropoulou E, Voidarou C, Tsigalou C, Bezirtzoglou E. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*. 2021; 9(10):2041. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041>
2. Petrovska BB. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacogn Rev*. 2012; 6(11):1-5. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849>
3. World Health Organization [Internet]. Maximizing potential of traditional medicines through modern science and technology. Geneva: WHO; 25 March 2022. Available from: <https://www.who.int/news/item/25-03-2022-who-establishes-the-global-centre-for-traditional-medicine-in-india>
4. Talib WH. Anticancer and Antimicrobial Potential of Plant-Derived Natural Products. *Phytochemicals—Bioactivities and Impact on Health*. IntechOpen: London. 2011:141–158.
5. Huang W, Wang Y, Tian W, Cui X, Tu P, Li J, Shi S, Liu X. Biosynthesis Investigations of Terpenoid, Alkaloid, and Flavonoid Antimicrobial Agents Derived from Medicinal Plants. *Antibiotics (Basel)*. 2022; 11(10):1380. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101380>
6. Keita K, Darkoh C, Okafor F. Secondary plant metabolites as potent drug candidates against antimicrobial-resistant pathogens. *SN Appl Sci*. 2022; 4(8):209. <https://doi.org/10.1007/s42452-022-05084-y>
7. Ruddaraju LK, Pammi SVN, Guntuku GS, Padavala VS, Kolapalli VRM. A Review on Anti-Bacterials to Combat Resistance: From Ancient Era of Plants and Metals to Present and Future Perspectives of Green Nano Technological Combinations. *Asian J Pharm Sci*. 2020; 15:42–59. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2019.03.002>
8. Mulyaningsih S, Sporer F, Zimmermann S, Reichling J, Wink M. Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*. 2010; 17:1061–1066. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.06.018>
9. Naz F, Kumar M, Koley T, Sharma P, Haque MA, Kapil A, Kumar M, Kaur P, Ethayathulla AS. Screening of plant-based natural compounds as an inhibitor of FtsZ from *Salmonella typhi* using the computational, biochemical and in vitro cell-based studies. *Int. J. Biol. Macromol*. 2022; 219:428–437. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.07.241>
10. Khan I, Bahuguna A, Shukla S, Aziz F, Chauhan AK, Ansari MB, Bajpai VK, Huh YS, Kang SC. Antimicrobial potential of the food-grade additive carvacrol against uropathogenic *E. coli* based on membrane depolarization, reactive oxygen species generation, and molecular docking analysis. *Microb. Pathog*. 2020; 142:104046. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104046>

11. Di Pasqua R, Betts G, Hoskins N, Edwards M, Ercolini D, Mauriello G. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from Essential oils. J Agric Food Chem. 2007; 55:4863–4870. <https://doi.org/10.1021/jf0636465>
12. Xie YX, Yang WJ, Tang F, Chen XQ, Ren LC. Antibacterial activities of flavonoids: Structure-activity relationship and mechanism. Curr Med Chem. 2015; 22:132–149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>
13. Chinnam N, Dadi PK, Sabri SA, Ahmad M, Kabir MA, Ahmad Z. Dietary bioflavonoids inhibit *Escherichia coli* ATP synthase in a differential manner. Int J Biol Macromol. 2010; 46:478–486. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.03.009>
14. Liu R, Zhao B, Wang DE, Yao TY, Pang L, Tu Q, Ahmed SM, Liu JJ, Wang JY. Nitrogen-containing apigenin analogs: Preparation and biological activity. Molecules. 2012; 17:14748–14764. <https://doi.org/10.3390/molecules171214748>
15. Cushnie TP, Lamb AJ. Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. J Ethnopharmacol. 2005; 101:243–248. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.014>
16. Wang D, Xie K, Zou D, Meng M, Xie M. Inhibitory effects of silybin on the efflux pump of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Mol Med Rep. 2018; 18:827–833. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9021>
17. Fathima A, Rao JR. Selective toxicity of Catechin-a natural flavonoid towards bacteria. Appl Microbiol Biotechnol. 2016; 100:6395–6402. <https://doi.org/1007/s00253-016-7492-x>
18. Wang J, Zhu J, Meng J, Qiu T, Wang W, Wang R, Liu J. Baicalin inhibits biofilm formation by influencing primary adhesion and aggregation phases in *Staphylococcus saprophyticus*. Vet Microbiol. 2021; 262:109242. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109242>
19. Liu N, Zhang N, Zhang S, Zhang L, Liu Q. Phloretin inhibited the pathogenicity and virulence factors against *Candida albicans*. Bioengineered. 2021; 12:2420–2431. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1933824>
20. Pyrzynska K. Hesperidin: A Review on Extraction Methods, Stability and Biological Activities. Nutrients. 2022; 14:2387. <https://doi.org/10.3390/nu14122387>
21. Othman L, Sleiman A, Abdel-Massih RM. Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in middle eastern plants. Front Microbiol. 2019; 10:911. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00911>
22. Wink M, Ashour ML, El-Readi MZ. Secondary metabolites from plants inhibiting ABC transporters and reversing resistance of cancer cells and microbes to cytotoxic and antimicrobial agents. Front Microbiol. 2012; 3:130. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00130>

23. Mittal RP, Jaitak V. Plant-derived natural alkaloids as new antimicrobial and adjuvant agents in existing antimicrobial therapy. *Curr Drug Targets*. 2019; 20:1409–1433. <https://doi.org/10.2174/1389450120666190618124224>
24. Hikal DM. Antibacterial Activity of Piperine and Black Pepper Oil. *Biosci Biotechnol Res Asia*. 2018; 15:877–880. <https://doi.org/10.13005/bbra/2697>
25. Su F, Wang J. Berberine inhibits the MexXY-OprM efflux pump to reverse imipenem resistance in a clinical carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate in a planktonic state. *Exp Ther Med*. 2018; 15:467–472. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.5431>
26. Wei WY, Du HX, Shao CY, Zhou HF, Lu YY, Yu L, Wan HT, He Y. Screening of antiviral components of ma huang tang and investigation on the ephedra alkaloids efficacy on influenza virus type A. *Front Pharmacol*. 2019; 10:961. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00961>
27. He N, Wang P, Wang P, Ma C, Kang W. Antibacterial mechanism of chelerythrine isolated from root of *Toddalia asiatica* (Linn) Lam. *BMC Complement Altern Med*. 2018; 18:261. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2317-3>
28. Bunse M, Daniels R, Gründemann C, Heilmann J, Kammerer DR, Keusgen M, Lindequist U, Melzig MF, Morlock GE, Schulz H, Schweiggert R, Simon M, Stintzing FC, Wink M. Essential Oils as Multicomponent Mixtures and Their Potential for Human Health and Well-Being. *Front Pharmacol*. 2022; 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.956541>
29. De Sousa DP, Damasceno ROS, Amorati R, Elshabrawy HA, de Castro RD, Bezerra DP, Nunes VRV, Gomes RC, Lima TC. Essential Oils: Chemistry and Pharmacological Activities. *Biomolecules*. 2023; 13(7):1144. <https://doi.org/10.3390/biom13071144>
30. Dhifi W, Bellili S, Jazi S, Bahloul N, Mnif W. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*. 2016; 3(4):25. <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>
31. HarkatMadouri L, Asma B, Madani K, Said ZBOS, Rigou P, Grenier D, Allalou H, Remini H, Adjaoud A, Boulekbache-Makhlouf L. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Ind. Crops Prod*. 2015; 78:148-153. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.015>
32. Behnaz T, Mehdi R, Helena T. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of *Thymus* species in Iran. *Ind Cr Prod*. 2019; 134:89-99. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.038>
33. Corrêa EJA, Carvalho FC, de Castro Oliveira JA, Bertolucci SKV, Scotti MT, Silveira CH, Guedes FC, Melo JOF, Melo-Minardi RC, de Lima LHF. Elucidating the molecular mechanisms of essential oils' insecticidal action using a novel cheminformatics protocol. *Sci Rep*. 2023; 13(4598). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29981-3>

34. Wińska K, Mączka W, Łyczko J, Grabarczyk M, Czubaszek A, Szumny A. Essential Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative? *Molecules*. 2019; 24(11):2130. <https://doi.org/10.3390/molecules24112130>
35. Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M, Tundis R, Sharifi-Rad M, Loizzo MR, Ademiluyi AO, Sharifi-Rad R, Ayatollahi SA, Iriti M. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. *Molecules*. 2017; 22(1):70. <https://doi.org/10.3390/molecules22010070>
36. Pandini JA, Pinto FGS, Scur MC, Santana CB, Costa WF, Temponi LG. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant potential of the essential oil of *Guarea kunthiana* A Juss Braz J Biol [Internet]. 2018; 78(1):53–60. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.04116>
37. Carneiro NS, Alves CCF, Alves JM, Egea MB, Martins CHG, Silva TS, Bretanha LC, Ballestre MP, Micke GA, Silveira EV, Miranda MLD. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from leaves and flowers of *Eugenia klotzschiana* Berg (*Myrtaceae*). *An Acad Bras Ciênc* [Internet]. 2017; 89(3):1907–15. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160652>
38. Astani A, Reichling J, Schnitzler P. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytother Res*. 2010; 24:673–679. <https://doi.org/10.1002/ptr.2955>
39. Safaei-Ghomi J, Ahd AA. Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. *Pharmacogn Mag*. 2010; 6:172–175. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.66930>
40. Stefanakis MK, Touloupakis E, Anastasopoulos E, Ghanotakis D, Katerinopoulos HE, Makridis P. Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. *Food Control*. 2013; 34:539–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.05.024>
41. Teixeira RF, Filho CAB, Borges CD. Essential oils as natural antimicrobials for application in edible coatings for minimally processed apple and melon: a review on antimicrobial activity and characteristics of food models. *Food Packag Shelf Life*. 2022; 31(3). <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100781>
42. García-Salinas S, Elizondo-Castillo H, Arruebo M, Mendoza G, Irusta S. Evaluation of the antimicrobial activity and cytotoxicity of different components of natural origin present in essential oils. *Molecules*. 2018; 23(6):1399. <https://doi.org/10.3390/molecules23061399>
43. Marotta SM, Giarratana F, Parco A, Neri D, Ziino G, Giuffrida A, Panebianco A. Evaluation of the antibacterial activity of bergamo essential oils on different *Listeria monocytogenes* strains. *Int J Food Saf*. 2016; 5(4):6176. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2016.6176>
44. Valková V, Dúranová H, Galovičová L, Vukovic NL, Vukic M, Kačániová M. In vitro antimicrobial activity of lavender, mint, and rosemary essential oils and the effect of their

vapours on growth of *Penicillium* spp. in a bread model system. *Molecules*. 2021; 26(13):3859. <https://doi.org/10.3390/molecules26133859>

45. Kaur K, Kaushal S. Phytochemistry and pharmacological aspects of *Syzygium aromaticum*: A review. *J. Pharmacogn. Phytochem*. 2019; 8:398–406.

46. Nowak K, Ogonowski J, Jaworska M, Grzesik K. Óleo de cravo – Propriedades e aplicações. *Química*. 2012; 66 :145–152.

47. Marchese A, Barbieri R, Coppo E, Orhan IE, Daglia M, Nabavi SF, Izadi M, Abdollahi M, Nabavi SM, Ajami M. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Crit Rev Microbiol*. 2017; 43:668–689. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1295225>

48. Batiha GE, Alkazmi LM, Wasef LG, Beshbishy AM, Nadwa EH, Rashwan EK. *Syzygium aromaticum* L. (*Myrtaceae*): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*. 2020; 10:202. <https://doi.org/10.3390/biom10020202>

49. Daniel AN, Sartoretto SM, Schmidt G, Caparroz-Assef SM, Bersani-Amado CA, Cuman RKN. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in experimental animal models. *Rev Bras Farmacogn*. 2009; 19:212–217. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200006>

50. Da Silva FFM, Monte FJQ, de Lemos TLG, Garcia do Nascimento PG, de Medeiros Costa AK, de Paiva LMM. Eugenol derivatives: Synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and antioxidant activities. *Chem Cent J*. 2018; 12:34–42. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0407-4>

51. Fangjun L, Zhijia Y. Tumor suppressive roles of eugenol in human lung cancer cells. *Thorac. Cancer*. 2018; 9:25–29. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.12508>

52. Mohammadi NS, Özgüneş H, Başaran N. Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol. *Turk J Pharm Sci*. 2017; 14:201–206. <https://doi.org/10.4274/tjps.62207>

53. Gomes BPR, Mouchrek Filho VE, Rabelo FW, Nascimento AA, Louzeiro HC, Lyra WS, Fontenele MA. Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). *Rev colomb cienc quim farm [Internet]*. 2018; 47(1):37. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v47n1.70657>

54. Chandran J, Nayana N, Roshini N, Nisha P. Oxidative stability, thermal stability and acceptability of coconut oil flavored with essential oils from black pepper and ginger. *J Food Sci Technol*. 2017; 54(1):144-152. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2446-y>

55. Deen A, Visvanathan R, Wickramarachchi D, Marikkar N, Nammi S, Jayawardana BC, Liyanage R. Chemical composition and health benefits of coconut oil: an overview. *J Sci Food Agric*. 2021; 101(6):2182-2193. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10870>

56. Barker LA, Bakkum BW, Chapman C. The Clinical Use of Monolaurin as a Dietary Supplement: A Review of the Literature. *J Chiropr Med*. 2019 Dec;18(4):305-310. <https://doi.org/10.1016/j.jcm.2019.02.004>
57. Carpo BG, Verallo-Rowell VM, Kabara J. Novel antibacterial activity of monolaurin compared with conventional antibiotics against organisms from skin infections: An in vitro study. *J Drugs Dermatol*. 2007; 6:991–998.
58. Seleem D, Freitas-Blanco VS, Noguti J, Zancoppe BR., Pardi V, Murata RM. In Vivo Antifungal Activity of Monolaurin against *Candida albicans* Biofilms. *Biol Pharm Bull*. 2018; 41:1299–1302. <https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00256>
59. Schlievert PM, Peterson ML. Glycerol monolaurate antibacterial activity in broth and biofilm cultures. *PLOS ONE*. 2012; 7:e40350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040350>
60. Seleem D, Chen E, Benso B, Pardi V, Murata RM. In vitro evaluation of antifungal activity of monolaurin against *Candida albicans* biofilms. *Peer J*. 2016; 4:e2148. <https://doi.org/10.7717/peerj.2148>
61. Mueller EA, Schlievert PM. Non-aqueous glycerol monolaurate gel exhibits antibacterial and anti-biofilm activity against gram-positive and gram-negative pathogens. *PLOS ONE*. 2015; 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120280>
62. Ribeiro LGT. The scientific truth about a super functional food denominated coconut oil. *Braz J Surg Clin Res [periódico na Internet]*. 2017; 18(3):109-17.
63. Ferreira AM, Souza BMV, Rigotti MA, Loureiro MRD. The use of fatty acids in wound care: an integrative review of the Brazilian literature. *Rev esc enferm USP*. 2012; 46(3):752–60. <https://doi.org/10.1590/S0080-62342012000300030>
64. Lania BG, Morari J, Almeida AR, Silva MND, Vieira-Damiani G, Lins KA, César CL, Velloso LA, Maia NB, Cintra ML, Velho PENF. Topical essential fatty acid oil on wounds: Local and systemic effects. *PLOS ONE*. 2019; 14(1):e0210059. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210059>
65. Silva JS, Zilly A, da Silva RMM, Librelotto CS, Ferreira H. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo de girassol: Respaldo para a enfermagem. *Research, Society and Development*. 2021; 10(9):e8710917941. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i9.17941>
66. Adetunji CO, Olatunji OM, Ogunkunle ATJ, Adetunji JB, Ogundare MO. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Helianthus annuus* stem. *SMU Medical Journal*. 2014;1(1), 79-88.
67. Fatrcová-Šramková K, Nôžková J, Máriássyová, M, Kačániová M. Biologically active antimicrobial and antioxidant substances in the *Helianthus annuus* L. bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health*. 2016; 51(3): 176-81. <https://doi.org/10.1080/03601234.2015.1108811>

68. Kim YG, Lee JH, Park JG, Lee J. Inhibition of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* biofilms by centipede oil and linoleic acid. *Biofouling*. 2020; 36(2):126-137. <https://doi.org/10.1080/08927014.2020.1730333>
69. Yasin M, Younis A, Javed T, Akram A, Ahsan M, Shabbir R, Ali MM, Tahir A, El-Ballat EM, Sheteiwy MS, Sammour RH, Hano C, Alhumaydhi FA, El-Esawi MA. River Tea Tree Oil: Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities, and Potential Applications in Agriculture. *Plants (Basel)*. 2021; 10(10):2105. <https://doi.org/10.3390/plants10102105>
70. Kairey L, Agnew T, Bowles EJ, Barkla BJ, Wardle J, Lauche R. Efficacy and safety of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil for human health-A systematic review of randomized controlled trials. *Front Pharmacol*. 2023; 14:1116077. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1116077>
71. Yasin M, Younis A, Ramzan F, Javed T, Shabbir R, Noushahi HA, Skalicky M, Ondrisik P, Brestic M, Hassan S, Sabagh AEL. Extraction of essential oil from river tea tree (*Melaleuca bracteata* F. Muell.): Antioxidant and antimicrobial properties. *Sustainability*. 2021; 13:4827. <https://doi.org/10.3390/su13094827>
72. Nogueira MNM, Aquino SG, Junior CR, Spolidorio DMP. Terpinen-4-ol and alpha-terpineol (tea tree oil components) inhibit the production of IL-1 β , IL-6 and IL-10 on human macrophages. *Inflamm Res*. 2014; 63:769–778. <https://doi.org/10.1007/s00011-014-0749-x>
73. Ilyasoğlu H. Characterization of Rosehip (*Rosa canina* L.) Seed and Seed Oil. *Int J Food Prop*. 2014; 17:1591–1598. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.777075>
74. Soare R, Bonea D, Iancu P, Niculescu M. Biochemical and Technological Properties of *Rosa canina* L. Fruits from Spontaneous Flora of Oltenia, Romania. *Bull. Univ Agric Sci Vet Med Cluj-Napoca Hortic*. 2015; 72:182–186. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:10598>
75. Demir N, Yildiz O, Alpaslan M, Hayaloglu AA. Evaluation of Volatiles, Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Rose Hip (*Rosa L.*) Fruits in Turkey. *LWT-Food Sci Technol*. 2014; 57:126–133. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.038>
76. Santos JS, Barreto LCLS, Kamada I, Rosa mosqueta como potencial agente cicatrizante. *Revista cubana de enfermeria*, 2018; 34(1):1235-33. <http://www.revenfermeria.sld.cu/index.php/enf/article/view/1235/333>
77. Araujo AM, Bastos ERB, Romagnolo GA, Mota IH, Bertoluci RS, Gonzaga RV. Avaliação da atividade e eficácia do óleo vegetal de rosa mosqueta como agente despigmentante: um estudo de revisão. *Research, Society and Development*. 2022; 11(14):e385111436674. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36674>
78. Silva JS, Lira LCSB; Kamada I. Rosehip as a potential healing agente. *Rev cuba. Enferm*. 2018; 34(1):e1235.

79. Espinoza T, Valencia E, Quevedo R, Díaz O. Importancia y propiedades físico química de la Rosa mosqueta (*R. canina*, *R. rubiginosa*): una revisión. Scientia Agropecuaria. 2016; 7(1):67-78.
80. Shinagawa FB, Santana FC de, Mancini-Filho J. Efeito do óleo de semente de uva prensado a frio nos marcadores bioquímicos e perfil inflamatório de ratos. Rev Nutr [Internet]. 2015; 28(1):65–76. <https://doi.org/10.1590/1415-52732015000100006>
81. Rizvi S, Raza ST, Ahmed F, Ahmad A, Abbas S, Mahdi F. The role of vitamin e in human health and some diseases. Sultan Qaboos Univ Med J. 2014; 14(2):e157-65.
82. Shinagawa FB, de Santana FC, Torres LRO, Mancini-Filho J. Grape seed oil: a potential functional food? Food Sci Technol. 2015; 35(3):399–406. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6826>
83. Huang S, Yang N, Liu Y, Gao J, Huang T, Hu L, Zhao J, Li Y, Zhang X. Grape seed proanthocyanidins inhibit colon cancer-induced angiogenesis through suppressing the expression of VEGF and Ang1. Int J Mol Med. 2012;30(6):1410–1416. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2012.1147>
84. Sevindik O, Kelebek H, Rombolà AD, Selli S. Grape seed oil volatiles and odour activity values: a comparison with Turkish and Italian cultivars and extraction methods. J Food Sci Technol. 2022; 59(5):1968-1981. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05212-3>
85. Gupta M, Dey S, Marbaniang D, Pal P, Ray S, Mazumder B. Grape seed extract: having a potential health benefits. J Food Sci Technol. 2020; 57:1205–1215. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04113-w>
86. Nayak BS, Ramdath DD, Marshall JR, Isitor G, Xue S, Shi J. Wound healing properties of the oils of *Vitis vinifera* and *Vaccinium macrocarpon*. Phytother Res. 2011; 25(8):1201–1208. <https://doi.org/10.1002/ptr.3363>
87. Subramanian M, Goswami M, Chakraborty S, Jawali N. Resveratrol induced inhibition of *Escherichia coli* proceeds via membrane oxidation and independent of diffusible reactive oxygen species generation. Redox Biol. 2014; 2:865–872. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.06.007>
88. Paulo L, Ferreira S, Gallardo E, Queiroz JA, Domingues F. Antimicrobial activity and effects of resveratrol on human pathogenic bacteria. World J Microbiol Biotechnol. 2010; 26(8):1533–1538. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0325-7>
89. Aued-Pimentel S, Separovic L, Silvestre LGGR, Kus-Yamashita MMM, Takemoto E. Fraude em azeites de oliva do comércio brasileiro: avaliação pelo perfil de ácidos graxos, diferença do ECN 42 e parâmetros de qualidade. Vigilância Sanitária em Debate. 2017; 5(3):84-91.
90. Khaleghi E, Arzani K, Moallemi N Barzegar M. The efficacy of kaolin particle film on oil quality indices of olive trees (*Olea europaea* L.) cv ‘Zard’ grown under warm and

semi-arid region of Iran. *Food Chemistry*. 2015; 166:35-41.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.006>

91. Olmedo RH, Asensio CM, Grosso NR. Thermal stability and antioxidant activity of essential oils from aromatic plants farmed in Argentina. *Ind Cr Prod*. 2015; 69:21–28.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.005>

92. Ramos AA, de Oliveira TJ, Nicoletto BB, Chilanti G, dos Santos BC, Facco EMP. São os azeites de oliva mais instáveis que os óleos vegetais frente ao aquecimento? Um estudo comparativo. *Revista Eletrônica Científica da UERGS*. 2021; 7(2):165-175.

93. Rees K, Hartley L, Flowers N, Clarke A, Hooper L, Thorogood M, Stranges S. 'Mediterranean' dietary pattern for the primary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; 12(8):CD009825.

<https://doi.org/10.1002/14651858.CD009825.pub2>

94. Scoditti E, Capurso C, Capurso A, Massaro M. Vascular effects of the Mediterranean diet-part II: role of omega-3 fatty acids and olive oil polyphenols. *Vascul Pharmacol*. 2014; 63(3):127-34. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2014.07.001>

95. Trapani G, Vagliano L, Giribaldi M, Cavallarin L, Coscia A. Olive oil: maternal and pediatric health. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine*. 2017; 6:1-7.

<https://doi.org/10.7363/060133>

96. Di Daniele N, Noce A, Vidiri MF, Moriconi E, Marrone G, Annicchiarico-Petruzzelli M, D'Urso G, Tesaro M, Rovella V, De Lorenzo A. Impact of Mediterranean diet on metabolic syndrome, cancer and longevity. *Oncotarget*. 2017; 8(5):8947-8979.

<https://doi.org/10.18632/oncotarget.13553>

97. Salis C, Papageorgiou L, Papakonstantinou E, Hagidimitriou M, Vlachakis D. Olive Oil Polyphenols in Neurodegenerative Pathologies. *Adv Exp Med Biol*. 2020; 1195:77-91.

https://doi.org/10.1007/978-3-030-32633-3_12

98. Melguizo-Rodríguez L, Illescas-Montes R, Costela-Ruiz VJ, Ramos-Torrecillas J, de Luna-Bertos E, García-Martínez O, Ruiz C. Antimicrobial properties of olive oil phenolic compounds and their regenerative capacity towards fibroblast cells. *J Tissue Viability*. 2021; 30(3):372-378. <https://doi.org/10.1016/j.jtv.2021.03.003>

99. Cicerale S, Lucas LJ, Keast RS. Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Curr Opin Biotechnol*. 2012; 23(2):129-35.

<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.09.006>

100. Wysok B, Uradziński J, Gomółka-Pawlicka M. Ozone as an alternative disinfectant - A review. *Pol J Food Nutr. Sci*. 2006; 15:3–8.

101. Reddy S, Reddy N, Dinapadu S, Reddy M, Pasari S. Role of ozone therapy in minimal intervention dentistry and endodontics – a review. *J Int Oral Health*. 2013; 5:102–108.

102. Anzolin AP, da Silveira-Kaross NL, Bertol CD. Ozonated oil in wound healing: what has already been proven? *Med Gas Res.* 2020; 10(1):54-59. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.279985>
103. Cesar ALM, Abreu CCS, Gomes EAC, Barki MC, Fontes KBF. Ozonioterapia: suas propriedades e aplicações na Estomatologia. *Rev Bras Odontol.* 2019; 76(2):55.
104. Guo D, Li Z, Jia B, Che X, Song T, Huang W. Comparison of the effects of formaldehyde and gaseous ozone on HBV-contaminated hospital quilts. *Int J Clin Exp Med.* 2015; 8(10):19454-19459.
105. Izadi M, Kheirjou R, Mohammadpour R, Aliyoldashi MH, Moghadam SJ, Khorvash F, Jafari NJ, Shirvani S, Khalili N. Efficacy of comprehensive ozone therapy in diabetic foot ulcer healing. *Diabetes Metab Syndr.* 2019;13(1):822-825. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.11.060>
106. Kadir K, Syam Y, Yusuf S, Zainuddin M. Ozone therapy in reducing bacterial colonies and accelerating healing of diabetic foot ulcers. *Home health care now.* 2020; 38(4), 215-220. <https://doi.org/10.1097/NHH.0000000000000889>
107. Hassanien M, Rashad S, Mohamed N, Elawamy A, Ghaly MS. Non-invasive Oxygen-Ozone therapy in treating digital ulcers of patients with systemic sclerosis. *Acta Reumatologica Portuguesa.* 2018; 43(3):210-216.
108. Borrelli E, De Monte A, Bocci, V. Oxygen ozone therapy in the integrated treatment of chronic ulcer: a case series report. *Int J Recent Sci Res.* 2015; 6(5): 4132-4136.
109. Giuliani G, Ricevuti G, Galoforo A, Franzini M. Microbiological aspects of ozone: bactericidal activity and antibiotic/antimicrobial resistance in bacterial strains treated with ozone. *Ozone therapy.* 2018; 3(3). <https://doi.org/10.4081/ozone.2018.7971>
110. Anthony M, Satyalakshmi M, Satyanath D, Paul P.Y, Muralidharan S. Efficacy of Ozone therapy as an Antibacterial agent: A Narrative Review. *Res J Med Sci.* 2023; 17:455-462. <https://doi.org/10.59218/makrjms.2023.455.462>
111. Prestes LV, Picinato Turci RF, dos Santos Grunow AC, Peressin HM, Tecilla K, Faglioni C, Boleta-Ceranto DD. Aplicabilidade da ozonioterapia na odontologia: uma revisão de literatura. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR.* 2020; 24(3).
112. Di Fede O, Del Gaizo C, Panzarella V, La Mantia G, Tozzo P, Di Grigoli A, Lo Casto A, Mauceri R, Campisi G. Ozone Infiltration for Osteonecrosis of the Jaw Therapy: A Case Series. *J Clin Med.* 2022; 11(18):5307. <https://doi.org/10.3390/jcm11185307>
113. Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sci Biol Med.* 2011; 2(1):66-70. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.82319>
114. Zeng J, Lu J. Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases. *International Immunopharmacology.* 2018; 56 (138), 235-24. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.040>

115. Cardoso ICC, Santos AC, Cardoso LCC, Almeida MB. El potencial antimicrobiano de los aceites vegetales ozonizados contra las especies bacterianas: una revisión integrativa. *Research, Society and Development*. 2021; 10(2):e22410212451. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12451>
116. Segal A, Zanardi I, Chiasserini L, Gabbriellini A, Bocci V, Travagli V. Properties of sesame oil by detailed ¹H and ¹³C NMR assignments before and after ozonation and their correlation with iodine value, peroxide value, and viscosity measurements. *Chem. Phys. Lipids*. 2010; 163:148–156. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2009.10.010>
117. Tanaka RY, Pheula LYT, da Rosa Monteiro D, de Cavatá Souza T. O uso da terapia com ozônio no tratamento de pé diabético: revisão integrativa. *Research, Society and Development*. 2020; 9(12):e44791211319-e44791211319.
118. Feliciano de Lima AE, Natali Zaghi A, de Oliveira G, Maria Espíndola C, Gonsales Spindola D, Silva Maia J, Prado Figueredo L. Ozonioterapia como opção ao tratamento de lesões cutâneas em humanos: revisão integrativa da literatura. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*. 2022; 26(3).
119. De Sousa MNA, Lopes FL, Toledo MCA, de Medeiros NMH, Toledo MA, Macedo MB, Bezerra ALD. Uso de ozonioterapia em pacientes ateroscleróticos: uma revisão integrativa. *Observatório de La Economía Latinoamericana*. 2023; 21(10):17887-17902.
120. Beltran MS, Jiménez M, Amézquita-López BA, Martínez-Rodriguez C, Chaidez. Antibacterial activity of ozonized olive (*Olea europaea* L.) And Venadillo (*Swietenia humilis* zucc.) Oils against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2016; 6(3):947.
121. Varol K, Birdane, FM, Keles I. Effect of ozonated olive oil on experimentally induced skin infection by *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2018; 56 (9), 657-664.
122. Oliveira P, Almeida N, Conda-Sheridan M, Aparecido RP, Micheletti AC, Carvalho NC, Beatriz A. Ozonolysis of neem oil: preparation and characterization of potent antibacterial agents against multidrug resistant bacterial strains. *RSC Advances*, 2017; 7 (55), 34356-34365. <https://doi.org/10.1039/C7RA00574A>
123. Logan KL. Extended-Spectrum Beta-lactamases (ESBL-EC) producing *Escherichia coli* Urinary Tract Infection treated with Ozone Therapy. *Ozone Therapy Global Journal*. 2018; 8(1):145-152.
124. Lima WG, Brito JCM, Cardoso VN, Fernandes SOA. In-depth characterization of antibacterial activity of melittin against *Staphylococcus aureus* and use in a model of non-surgical MRSA-infected skin wounds. *Eur J Pharm Sci* [periódico na Internet]. 2021; 156:105592. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105592>
125. Silva V, Capelo JL, Igrejas G, Poeta P. Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Lineages in Wild Animals in Europe: A Review Antibiotics. 2020; 9:122. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9030122>

126. Van Hal SJ, Jensen SO, Vaska VL, et al. Predictors of mortality in *Staphylococcus aureus* Bacteremia. Clin Microbiol Rev. 2012; 25(2):362–386.
<https://doi.org/10.1128/CMR.05022-11>
127. Cheung GYC, Bae JS, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. Virulence. 2021; 12(1):547-569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
128. David MZ, Daum RS. Treatment of *Staphylococcus aureus* Infections. Curr Top Microbiol Immunol. 2017; 409:325-383. https://doi.org/10.1007/82_2017_42
129. Silva V, Peirone C, Amaral JS, Capita R, Alonso-Calleja C, Marques-Magallanes JA, Martins Â, Carvalho Á, Maltez L, Pereira JE, Capelo JL, Igrejas G, Poeta P. High Efficacy of Ozonated Oils on the Removal of Biofilms Produced by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Infected Diabetic Foot Ulcers. Molecules. 2020; 25(16):3601. <https://doi.org/10.3390/molecules25163601>
130. Omoe K., Ishikawa M., Shimoda Y., Hu D., Ueda S, Shinagawa K. Detection of seg, she, and sei genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *Staphylococcus aureus* isolates harborin seg, seh, or sei genes. J Clin Microbiol. 2022; 40(3):857-862. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.3.857-862.2002>
131. Mohanty S, Behera B, Sahu S, Praharaj AK. Recent pattern of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Eastern India and the emergence of reduced susceptibility to vancomycin. J Lab Physicians [periódico na Internet]. 2019; 11(4):340-5. <https://doi.org/10.4103/JLP.JLP3919>
132. Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. Front Cell Infect Microbiol [periódico na Internet]. 2020; 10:107. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00107>
133. Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS, Pardesi KR. Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: a review. Front Microbiol. 2019; 10:539. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>
134. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev. 2015; 28(3):603-61. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
135. Blomqvist S, Leonhardt Å, Arirachakaran P, Carlen A, Dahlén G. Phenotype, genotype, and antibiotic susceptibility of Swedish and Thai oral isolates of *Staphylococcus aureus*. J Oral Microbiol. 2015; 7:26250. <https://doi.org/10.3402/jom.v7.26250>
136. Jensen KH, Vogelius I, Moser CE, Andersen E, Eriksen JG, Johansen J, Farhadi M, Andersen M, Overgaard J, Friberg J. Bloodstream infections in head and neck cancer patients after curative-intent radiotherapy: a population-based study from the Danish Head and Neck Cancer Group database. Br J Cancer. 2021; 125(3):458-464.
<https://doi.org/10.1038/s41416-021-01430-w>

137. Klepser ME, Ernst EJ, Lewis RE, Ernst ME, Pfaller MA. Influence of test conditions on antifungal time-kill curve results: proposal for standardized methods. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998; 42(5). <https://doi.org/10.1128/AAC.42.5.1207>
138. Díaz MF, Hernández R, Martínez G, Vidal G, Gómez M, Fernández H, Garcés R. Comparative study of ozonized olive oil and ozonized sunflower oil. *J Braz Chem Soc*. 2006; 17(2):403-407. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000200026>
139. Elshinawy MI, Al-Madboly L, Ghoneim WM, El-Deeb NM. Synergistic effect of newly introduced root canal medicaments; ozonated olive oil and chitosan nanoparticles, against persistent endodontic pathogens. *Front Microbiol*. 2018; 9:e1371. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01371>
140. Pietrocola G, Ceci M, Preda F, Poggio C, Colombo M. Evaluation of the antibacterial activity of a new ozonized olive oil against oral and periodontal pathogens. *J Clin Exp Dent*. 2018; 10(11):e1103. <https://doi.org/10.4317/jced.54929>
141. Xiang Y, Lu J, Li F, Huang J, Yang C, Fu Z, Gao L. Bactericidal effect of ozonated camellia oil on *Staphylococcus aureus* in vitro. *J Cent South Univ (Med Sci)*. 2018; 43(2):139-142. <https://doi.org/10.11817/j.issn.1672-7347.2018.02.005>
142. Moureu S, Violleau F, Ali Haimoud-Lekhal D, Calmon A. Ozonation of sunflower oils: impact of experimental conditions on the composition and the antibacterial activity of ozonized oils. *Chem Phys Lipids*. 2015; 186:79-85. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2015.01.004>
143. Braga CQ, Zambrano CG, Dos Santos Bermann C, Milech A, Ianiski LB, Soares MP, Pötter L, de Avila Botton S, Pereira DIB. In vitro and ex vivo anti-*Pythium insidiosum* potential of ozonated sunflower oil. *Braz J Microbiol*. 2023 Nov 24. <https://doi.org/10.1007/s42770-023-01173-1>
144. Guerrer LV, Cunha KC, Nogueira MC, Cardoso CC, Soares MM, Almeida MT. "In vitro" antifungal activity of ozonized sunflower oil on yeasts from onychomycosis. *Braz J Microbiol*. 2012;43(4):1315-8. <https://doi.org/10.1590/S1517-838220120004000011>
145. Dossi CG, Cadagan C, San Martín M, Espinosa A, González-Mañán D, Silva D, Mancilla RA, Tapia GS. Effects of rosa mosqueta oil supplementation in lipogenic markers associated with prevention of liver steatosis. *Food Funct*. 2017; 8(2):832-841. <https://doi.org/10.1039/c6fo01762b>
146. Rincón-Cervera MÁ, Valenzuela R, Hernandez-Rodas MC, Barrera C, Espinosa A, Marambio M, Valenzuela A. Vegetable oils rich in alpha linolenic acid increment hepatic n-3 LCPUFA, modulating the fatty acid metabolism and antioxidant response in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2016; 111:25-35. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2016.02.002>
147. Santos JS, Vieira ABD, Kamada, I. A Rosa Mosqueta no tratamento de feridas abertas: uma revisão. *Revista Brasileira De Enfermagem*. 2009; 62(3):457-462. <https://doi.org/10.1590/S0034-71672009000300020>

148. Szentmihályi K, Vinkler P, Lakatos B, Illés V, Then M. Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods. *Bioresour Technol.* 2002; 82(2): 195-201. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00161-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00161-4)
149. Mandelbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHSA. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte II. *An Bras Dermatol.* 2003; 78(5): 521-2.
150. Aziz FM, Darweesh MJ, Rahi FA, Saeed RT. In vivo and in vitro studies of a polar extract of *Helianthus annuus* [Sunflower] seeds in treatment of Napkin dermatitis. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2014; 24(2):1-3.
151. Darmstadt GL, Badrawi N, Law PA, Ahmed S, Bashir M, Iskander I, Al Said D, El Kholy A, Husein MH, Alam A, Winch PJ, Gipson R, Santosham M. Topically applied sunflower seed oil prevents invasive bacterial infections in preterm infants in Egypt: a randomized, controlled clinical trial. *Pediatr Infect Dis J.* 2004; 23(8):719-25. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000133047.50836.6f>
152. Otero JAS, Otero D, Martínez MR, Sánchez HNS, Labrada OB. Aplicación del aceite de girasol ozonizado en pacientes afectados con gingivitis crónica fibroedematosa. *Multimed [Internet].* 2020; 24(3): 645-658.
153. Santa-Rosa CC, Araújo CV, Carvalho MFF, Araújo PV. Estudo piloto da análise comparativa da atividade antimicrobiana da PDT e agentes irrigantes em canais radiculares inoculados com *Enterococcus faecalis* “in vitro”. *Arquivos em Odontologia [Internet].* 2019; 55:e02. <https://doi.org/10.7308/aodontol/2019.55.e02>
154. Jumina J, Lavendi W, Singgih T, Triono S, Steven Kurniawan Y, Koketsu M. Preparation of Monoacylglycerol Derivatives from Indonesian Edible Oil and Their Antimicrobial Assay against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Sci Rep.* 2019 Jul 29;9(1):10941 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47373-4>
155. Díaz MF, Hernández R, Martínez G, Vidal G, Gómez M, Fernández H, Garcés R. Comparative study of ozonized olive oil and ozonized sunflower oil. *J Braz Chem Soc [Internet].* 2006; 17(2):403–7. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000200026>