

SINERGISMO FARMACODINÂMICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *R. officinalis* E ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS CONTRA *Pseudomonas sp.*

LUÃ BORGES IEPSEN¹; CAROLINA WICKBOLDT FONSECA²; KARINA AFFELDT
GUTERRES³ CRISTINE CIOATO DA SILVA⁴; SILVIA REGINA LADEIRA⁵;
MARLETE BRUM CLEFF⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – iepsen_lua@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – wickwickboldt@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – gutierrez.karina@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – criscioato@hotmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – sladeira@ufpel.edu.br

⁶ Universidade Federal de Pelotas – marletecleff@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Na clínica médica veterinária, as afecções do sistema tegumentar se fazem muito presentes, representando de 30 a 75% dos casos atendidos, incluindo queixa primária ou secundária (FEITOSA, 2008). Dentre as principais enfermidades, destacam-se as piodermites, infecções cutâneas de origem bacteriana desencadeadas principalmente por *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus intermedius* e *Pseudomonas aeruginosa* (BECO, 2013; OLIVEIRA, 2012). O tratamento das dermatopatias depende, dentre outros fatores, da profundidade da lesão e do perfil clínico do paciente e, quando necessário antibioticoterapia sistêmica, são indicados como primeira escolha na medicina veterinária as cefalosporinas, penicilinas, enrofloxacin e sulfa associada a trimetoprima (ANDRADE, 2002).

O envolvimento de *Pseudomonas sp.* em tais lesões se mostra uma grande preocupação, pois essa bactéria gram negativa, cuja prevalência é alta em infecções do sistema tegumentar (OLIVEIRA *et al.*, 2012), é capaz de produzir fatores de resistência como enzimas inibidoras de antibióticos, modificação estrutural de receptores de membrana, redução da permeabilidade de membrana citoplasmática e síntese de bombas de efluxo (BASSETTI *et al.*, 2018). Diante disso, é recomendado a solicitação de cultura e antibiograma para identificação da bactéria envolvida e definição de terapia antimicrobiana eficaz (MORRIS *et al.*, 2017, FERNÁNDEZ *et al.*, 2019). Diante da problemática da crescente resistência antimicrobiana, plantas medicinais têm sido estudadas, como as da família Lamiaceae (GUTERRES *et al.*, 2015) a fim de complementar o efeito antimicrobiano de fármacos usualmente utilizados na terapêutica da piodermite canina. Dentre as plantas com grande potencial, evidencia-se *Rosmarinus officinalis* (Alecrim), arbusto aromático e perene pertencente a esta família, devido a presença de flavonóides e terpenóides em seus extratos (SANTOYO, 2005).

Assim, o estudo teve como objetivo investigar experimentalmente *in vitro* o sinergismo do óleo essencial de *R. officinalis* em associação aos antimicrobianos utilizados rotineiramente na clínica veterinária para terapia específica do sistema tegumentar, especialmente envolvendo bactérias do gênero *Pseudomonas sp.*

2. METODOLOGIA

Utilizou-se um total de 13 isolados (n=13) de *Pseudomonas sp.* obtidos do cultivo de amostras de secreções em lesões cutâneas de cães atendidos no Ambulatório Veterinário e Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas (CEVAL e HCV – UFPEL) sob aprovação do Comitê de Ética da UFPEL, nº 4389.

As amostras foram incubadas a 37°C por 24 horas em Ágar Sangue e Ágar MacConkey e identificadas no Laboratório de Bacteriologia - UFPEL. Os isolados de *Pseudomonas sp.* foram submetidos a Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) pela metodologia de KIRBY-BAUER (1966), sendo testados os seguintes fármacos: ampicilina (AMP 10 mcg), amoxicilina com clavulanato (AMC 20/10 mcg), cefalexina (CFX 30 mcg), ceftriaxona (CRO 30 mcg), cefalotina (CFL 30 mcg) enrofloxacin (ENO 5 mcg), neomicina (NEO 30 mcg), gentamicina (GEN 10 mcg) e sulfametoxazol associado com trimetoprim (SUT 25 mcg). Realizou-se, então, a medição dos halos de inibição, expressos em milímetros (mm), do crescimento bacteriano de cepas semeadas a 0,5 na Escala de McFarland em placas contendo Ágar Mueller-Hinton. Mesmo procedimento aplicou-se na metodologia de difusão em discos, desenvolvida com as associações dos antimicrobianos com 20 µL do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* na concentração de 250 µg/mL.

O óleo essencial foi obtido através do método de arraste por vapor em aparelho Clevenger, a partir de folhas secas de *R. officinalis* adquiridas comercialmente e certificadas (Luar Sul® – Indústria e Comércio de Produtos Alimentícios Ltda. - Santa Cruz do Sul, RS, Brasil).

A análise estatística foi realizada com o programa Statistix 9.0, pela metodologia da análise de variância (ANOVA), sendo a comparação das médias dos halos de inibição feitas pelo teste de Tukey.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação do perfil de sensibilidade e resistência da média dos 13 isolados de *Pseudomonas sp.* dos quadros de piodermite canina, observou-se resultados superiores nas associações dos óleos com os antimicrobianos. Na figura 1, é evidenciada a relação dos antibióticos testados e a medida (em mm) dos halos médios de inibição, assim como a medida dos respectivos halos quando associado o fármaco ao óleo essencial de *R. officinalis*. Observou-se melhores resultados para associações com ampicilina, amoxicilina, sulfametoxazol+trimetoprima, cefalosporina e cefalexina, o que se torna um importante dado já que, segundo ANDRADE (2002), cefalosporinas, penicilinas e sulfonamidas são os grupos de fármacos antimicrobianos considerados como primeira escolha para o sistema tegumentar.

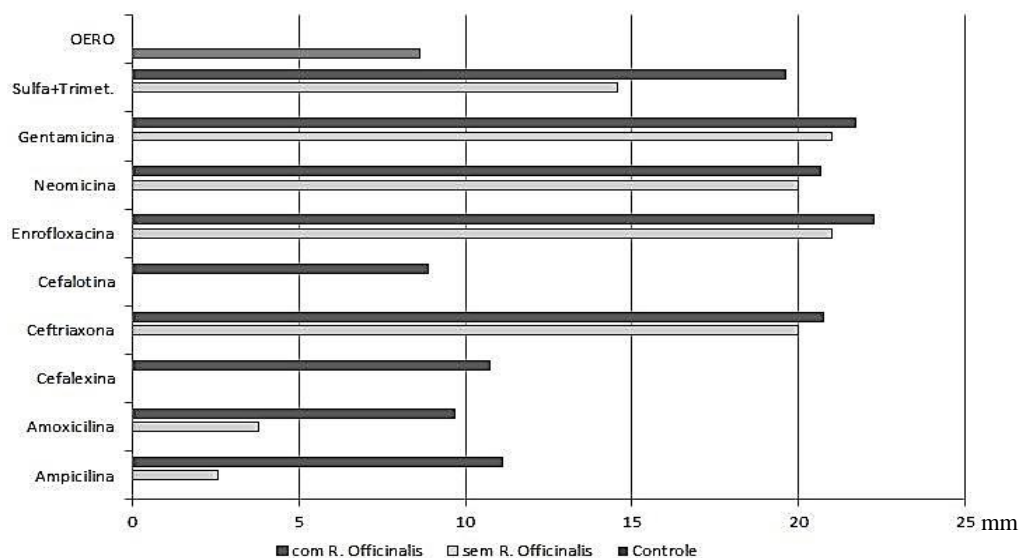


Figura 1 –Resultado do teste de Sensibilidade a Antimicrobianos de acordo com o tamanho do halo médio de inibição (mm) para *Pseudomonas sp.* frente aos fármacos e associação destes ao óleo essencial de *R. officinalis*.
OERO= Óleo Essencial de *Rosmarinus officinalis*.

Pode-se observar aumento ≥ 2 mm em todas as associações dos antimicrobianos com o óleo essencial de *R. officinalis*, sendo as maiores diferenças observadas nas associações deste com Ampicilina (aumento de 4,45 vezes), Amoxicilina + Clavulanato (aumento de 2,47 vezes) e Sulfametoxazol + Trimetoprim (aumento de 1,38 vezes). É necessária uma atenção especial ao uso indiscriminado de antimicrobianos na medicina veterinária, sendo que esta prática pode induzir multirresistência nos microrganismos e sendo, portanto, necessário uma vigilância quanto ao uso de antibioticoterapia (FERNÁNDEZ *et al.*, 2019). As cefalosporinas de primeira geração testadas, cefalexina e cefalotina, não foram eficazes contra as cepas testadas quando utilizadas em terapia isolada, porém, após associação com o óleo essencial de *R. officinalis*, houve um incremento positivo na ação antimicrobiana. Esse resultado se mostra de grande relevância ao panorama observado atualmente na medicina veterinária, pois essa efetividade em associação com tais fármacos, que primeiramente se mostravam ineficazes, demonstra o potencial do *R. officinalis* como adjuvante de grande importância ao considerar o caráter de resistência expresso por *Pseudomonas sp.* (BASSETTI *et al.*, 2018). Em relação à sua composição química, estima-se que a ação antimicrobiana observada se deve a seus compostos flavonóides e terpenóides, sendo tais compostos lipossolúveis, o que facilita sua interação com a estrutura externa da bactéria e agindo no aumento de sua permeabilidade (BASSOLÉ & JULIANI, 2012), além de exibir interação com proteínas externas da bactéria, as quais são importantes para a expressão dos mecanismos de resistência desta (OLUWATUYI *et al.*, 2004), podendo facilitar a penetração dos compostos antimicrobianos utilizados, com relatos de ação inclusive em outros microrganismos, como fungos e leveduras (SANTOYO *et al.*, 2005).

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, evidencia-se o sinergismo entre o óleo essencial de *R. officinalis* e antimicrobianos utilizados na terapêutica do sistema tegumentar de animais de companhia. Infere-se, portanto, a necessidade de estudos *in vivo* a fim de testar o comportamento biológico de tais associações em relação à sua farmacocinética e toxicidade, uma vez já comprovada ação potencializadora dos efeitos bactericidas e bacteriostáticos dos fármacos testados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. São Paulo: Rocco, 2002.

BASSETTI, M.; VENA, A.; CROXATTO, A.; RIGHI, E.; GUERY, B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. Itália: Drugs in context, v.7, p. 01-18, 2018.

BASSOLÉ, I. H. N.; JULIANI, H. R. Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. **Molecules**, v.17, n. 1, p. 3989-4006, 2012.

BECO, L.; GUAGUÈRE, E.; LORENTE MÉNDEZ, C.; NOLI, C.; NUTTALL, T.; VROOM, M. Suggested guidelines for using systemic antimicrobials in bacterial skin infections (2): antimicrobial choice, treatment regimens and compliance. **Veterinary Record**, Europa, v. 172, n. 1, p. 156 – 160, 2013.

GUTERRES, K. A.; GIORDANI, C.; MATOS, C. B.; CIOATO, C.; LADEIRA, S. R. L.; CLEFF, M.B. Perfil de resistência de *Pseudomonas* sp. Isoladas de lesões cutâneas de cães do HCV-UFPEL e atividade in vitro da família Lamiaceae. **ANAIS DO XVII ENCONTRO DE PÓS GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**, Brasil, 2015.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária - A Arte do Diagnóstico**. Brasil: Roca, 2008.

FERNÁNDEZ L.; ARCE J.; LARA M. Análisis del tratamiento antimicrobiano administrado a la especie canina y el uso del cultivo y antibiograma en clínicas veterinarias asociadas a una agremiación de veterinários. **Compendio de Ciencias Veterinarias**. v. 09, n. 01, p. 22 – 29, 2019.

MORRIS D. O.; LOEFFLER A.; DAVIS M. F.; GUARDABASSI L.; WEESE J.S. Recommendations for approaches to methicillin-resistant staphylococcal infections of small animals: diagnosis, therapeutic considerations and preventative measures. Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. **Veterinary Dermatology**, Europa, v. 28, n.3, p. 304- 330, 2017.

OLIVEIRA, V. B.; RIBEIRO, M. G.; ALMEIDA, A. C. S.; PAES, A. C.; CONDAS, L. A. Z.; LARA, G. H. B.; FRANCO, M. M. J.; FERNANDES, M. C.; LISTONI, F. J. P.. Etiologia, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e aspectos epidemiológicos na otite canina: estudo retrospectivo de 616 casos **Semina: Ciências Agrárias**, Brasil, v. 33, n. 6, p. 2367-2374, 2012.

OLUWATUYI, M.; KAATZ, G. W.; GIBBONS, S. Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 1, p. 3249–3254, 2004.

SANTOYO, S.; CAVERO, S.; JAIME, L.; IBAÑEZ, E.; SEÑORÁNS, F. J.; REGLERO, G. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Obtained via Supercritical Fluid Extraction. **Journal of Food Protection**, Espanha, v. 68, n. 4, p. 790–795, 2005.