

UTILIZAÇÃO *in vitro* DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Rosmarinus officinalis* CONTRA *Pseudomonas sp.* RESISTENTES: RESULTADOS PARCIAIS

CAROLINA WICKBOLDT FONSECA¹; LUÃ BORGES IEPSEN²; EDUARDA ALÉXIA
NUNES LOUZADA CAVALCANTI³; CRISTINE CIOATO⁴; KARINA AFFELDT
GUTERRES⁵; MARLETE BRUM CLEFF⁶

¹Universidade Federal de Pelotas - wickwickboldt@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - iepsen.lua@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - nuneslouzadadias@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - criscioato@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas - gutermes.karina@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas - marletecleff@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As piodermites causadas por *Pseudomonas sp.* são frequentes na clínica veterinária, especialmente quando se refere a infecção por bactérias Gram negativas no sistema tegumentar de animais de companhia (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Na medicina humana, representa também grande preocupação em pacientes debilitados e/ou imunocomprometidos. Por apresentar expressão de fatores de resistência, como produção de enzimas inibidoras de antibióticos, modificação estrutural de receptores de membrana, diminuição de permeabilidade citoplasmática e síntese de bombas de efluxo, o combate com antimicrobianos se torna dificultado (BASSETTI *et al.*, 2018). Consequentemente, torna-se um assunto de grande importância na saúde pública, sendo necessária a investigação de meios complementares para incrementar na terapêutica de combate à *Pseudomonas sp.*, como o uso de óleos essenciais de plantas medicinais (GUTERRES *et al.*, 2015). A terapia a essas infecções se torna dificultada por esses fatores, justamente por esse perfil de resistência apresentado, inclusive aos antibióticos padronizados como primeira escolha ao sistema tegumentar na medicina veterinária, como cefalosporinas, penicilinas, enrofloxacin e sulfatrimetoprima (ANDRADE, 2002), justificando, portanto, uma maior preocupação quando *Pseudomonas sp.* está envolvida.

Rosmarinus officinalis, pertencente à família *Lamiaceae* é popularmente conhecido como alecrim, sendo uma planta com utilização culinária cujas propriedades terapêuticas vêm sendo exploradas pelo potencial medicinal. Seu uso medicinal deriva de sua composição de flavonóides e triterpenóides (SANTOYO, 2005). Vários estudos utilizando extratos vegetais descrevem propriedades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e antineoplásica atribuídas às plantas pertencentes a esta família (WANG *et al.*, 2012; SANTOYO *et al.*, 2005; GUTERRES *et al.*, 2015; LANGEVELD *et al.*, 2014).

Assim, o estudo teve como objetivo demonstrar a capacidade antimicrobiana do óleo vegetal de *Rosmarinus officinalis* sobre *Pseudomonas sp.* resistentes, tendo em vista a importância desta bactéria na rotina clínica e hospitalar.

2. METODOLOGIA

Foram coletadas 40 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 UFPEL, nº 4389. Estas foram semeadas em meio não seletivo (Ágar Sangue e Ágar MacConkey) a 37°C por 24hs e identificadas no Laboratório de Bacteriologia - UFPEL. A partir daí, os isolados de *Pseudomonas sp.* foram selecionados e, então, submetidos a Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) pela metodologia de KIRBY-BAUER (1966), onde foram medidos os 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.

A fim de caracterizar resistência/sensibilidade dos isolados, utilizou-se como controle negativo cefalexina (CFX 30 mcg) e, para o controle positivo, foi utilizado imipenem (IMI 10 mcg). Ao TSA, foram utilizados 20 µL do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (OERO) na concentração de 250 µg/mL, distribuído em discos no meio sólido, conforme discos de antibiótico.

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

Foram obtidos 13 isolados positivos para *Pseudomonas sp.*, observando-se 100% de resistência frente ao fármaco β -lactâmico utilizado, não havendo formação de halo de inibição para cefalexina em nenhum dos isolados e, como esperado, foi constatado 100% de susceptibilidade dos isolados para o imipenem. Mesmo que seja relatada a presença de resistência a carbapenêmicos (BASSETTI *et al.*, 2018), estes isolados foram obtidos de pacientes durante consultas clínicas onde, a princípio, os pacientes não apresentavam fatores de risco predisponentes a multirresistência, como internação hospitalar e procedimentos invasivos intermitentes durante período de imunossupressão.

O óleo essencial de *R. officinalis* testado resultou em um halo de inibição médio com 8,6 mm, com diferença estatística do controle negativo e, assim, comprovando-se sua eficiência antimicrobiana. SANTOYO *et al.*, em 2005, obteve resultados maiores em seu experimento (17 - 24 mm), justificando-se que sua metodologia difere da utilizada no presente estudo, tanto em relação ao método de extração quanto às frações testadas.

Em geral, *Pseudomonas sp.* possui grande habilidade de resistência, incluindo expressão de β -lactamases (HANCOCK, 1998), o que corrobora com o resultado obtido do TSA à cefalexina. O potencial antimicrobiano atribuído ao OERO frente *Pseudomonas* resistentes, comprovado neste trabalho e também previamente explorado (WANG *et al.*, 2012), o elenca como uma possibilidade adicional à terapia

antimicrobiana aplicada a infecções cutâneas, ressaltando-se ainda que seu uso associado a antimicrobianos de rotina podem levar a uma potencialização devido ao possível sinergismo deste com os fármacos (LANGEVELD *et. al.*, 2014).

4. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo indicam atividade do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* frente a isolados resistentes de *Pseudomonas sp.* em piodermites em cães. O resultado positivo justifica estudos futuros para avaliar propriedades farmacológicas do OERO e a associação deste a fármacos antimicrobianos utilizados para piodermites envolvendo *Pseudomonas sp.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BASSETTI, M.; et al. **How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections**. Itália: Drugs in context, v.7, 2018, p. 01-18.

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.

HANCOCK, R. E. W. **Resistance Mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and Other Nonfermentative Gram-Negative Bacteria**. Clinical Infectious Diseases, Canadá, v. 27, 1998, p 93 – 99.

LANGEVELD, W. T.; VELDHUIZEN, E. J. A.; BURT, S. A. **Synergy between essential oil components and antibiotics: a review**. Critical Reviews in Microbiology, Holanda, n. 40, 2014, p. 76-94.

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, 2012, p. 2367-2374.

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, 2005, p. 790–795.

WANG, W.; LI, N.; LUO, M.; ZU, Y.; EFFERTH, T. **Antibacterial Activity and Anticancer Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Compared to That of Its Main Components**. Molecules, Alemanha, v. 17, 2012, p. 2704-2713.