

EFICÁCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* em *Trichomonas gallinae* e *Trichomonas vaginalis*

FILIPPE OBELAR MARTINS¹; MARJORIE DE GIACOMETI²; ALEXIA BRAUNER DE MELLO³; YAN WAHAST ISLABÃO⁴; SIBELE BORSUK⁵; CAMILA BELMONTE OLIVEIRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas1 – obelar05@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas– marjorie.giacometi@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas1 – alexibraunermello@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas1 – yanwahast06@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas1 – sibeleborsuk@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas1 – camilabelmontevet@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os protozoários do gênero *Trichomonas*. sp possuem flagelos e metabolismo anaeróbico facultativo sendo os agentes causadores da tricomoníase, infecção que afeta diversas espécies de animais como aves e mamíferos, incluindo o ser humano (MACIEL; TASCA; DE CARLI, 2023). O controle dessa doença é realizado por fármacos sintéticos, como o metronidazol (MTZ), que muitas vezes não é administrado de forma correta, resultando no surgimento da resistência ao medicamento, além disso, o nível de toxicidade desse fármaco é considerado alto podendo gerar efeitos colaterais (BACCEGA *et al*, 2019). Neste contexto, novas alternativas para o controle da tricomoníase são de grande interesse, pois podem causar sérios danos à saúde do hospedeiro. Desta forma, compostos bioativos como os óleos essenciais (OEs), podem ser uma alternativa para o combate de agentes infecciosos, visto que muitos ensaios *in vitro* e *in vivo* já foram executados com diversos agentes apresentando resultados promissores e baixos níveis de toxicidade se comparados com os fármacos utilizados para os tratamentos (BALDISSERA *et al.*, 2017). Os resultados supracitados, são atribuídos a interação destes compostos com os microrganismos podendo causar diversos efeitos com a finalidade de inviabilizá-los. O objetivo deste estudo, foi utilizado o OE de *Lippia origanoides* (alecrim-pimenta) em trofozoítos de *Trichomonas gallinae* e *Trichomonas vaginalis*.

2. METODOLOGIA

A cepa de *T. vaginalis* 30236 da American Type Culture Collection (ATCC), sensível ao metronidazol (MTZ), e um isolado clínico de *T. gallinae*, mantido no Laboratório de Protozoologia e Entomologia (LaPEN), da Universidade Federal de Pelotas, foram utilizados. Os parasitos foram cultivados em meio trypticase-yeast extract-maltose (TYM), sem ágar, com pH 6.0 para *T. vaginalis* e pH 7.2 para *T. gallinae*, com antibiótico (estreptomicina) e soro bovino inativado (SBI) estéril, incubados a 37 °C em condições anaeróbicas. Antes do ensaio antiparasitário, a motilidade e morfologia dos protozoários foram analisadas em microscópio óptico, utilizando azul de tripano (0,4%) para assegurar uma viabilidade mínima de 95% e a fase de crescimento logarítmica. O ensaio *in vitro* seguiu a metodologia de Sena-Lopes *et al.* (2017), usando placas de microtitulação de 96 poços com 150µl de meio de cultura do protozoário em densidade 2x10⁶ trofozoítos/mL e 50µl de solução contendo as concentrações do óleo a ser testado.

Após 24 horas de incubação a 37 °C em 5% CO₂, os trofozoítos foram avaliados quanto à motilidade, morfologia e viabilidade através do ensaio de azul de tripan (0,4%). Uma alíquota (1:1, v/v), contendo os trofozoítos e azul de tripan foi analisada e contabilizada na câmara de Neubauer. Para controle negativo utilizou-se somente os trofozoítos em meio TYM, o controle positivo com MTZ (0,000083 mg/mL), controle diluente com DMSO (0.6%) e os tratamentos com OE *Lippia origanoides* Kunth, nas concentrações iniciais de 0,3; 0,5; 1; 2,5 e 5 mg/mL. Foi realizado um rastreamento da concentração inibitória mínima (CIM) para ambas as espécies.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, após a realização da curva cinética de viabilidade, foi determinada a concentração inibitória mínima de 1mg/mL para ambas as espécies e o IC₅₀ para *T.gallinae* foi de 0.91/mL, e para o *T.vaginalis* valor de 0.38/mL como pode ser observado na Figura 1.

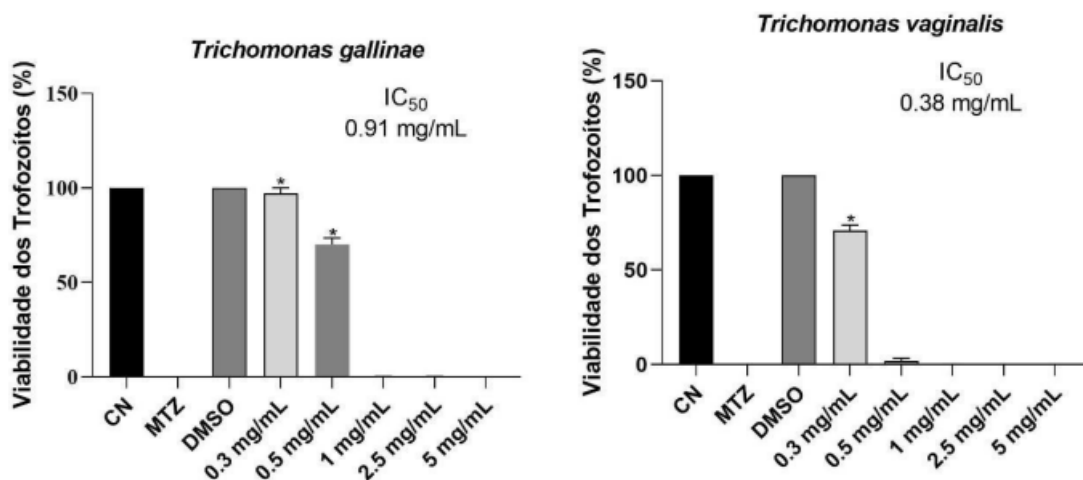


Figura 1: IC₅₀ (concentração que inibiu 50% dos trofozoítos) relativo à atividade do OE de *Lippia origanoides* para a espécie de *Trichomonas* sp. foi de (0.38mg/mL) para *T. vaginalis* e (0.91mg/mL) para *T. gallinae*, o. (*) indica que houve diferença estatística se comparado ao MTZ.

Na primeira hora após o tratamento do *T.gallinae*, houve uma inibição de cerca de 99% dos trofozoítos viáveis. Esse resultado oscilou um pouco nas leituras seguintes: 98% às 6h, 98,5% às 12h, 99,5% às 24h, 99,7% às 48h e 99% às 72h. No entanto, após 96h, houve uma queda para 89%. O OE estudado mostrou-se eficaz na redução do número de trofozoítos viáveis nas primeiras horas, e não houve aumento no crescimento dos trofozoítos ao final do teste (FIGURA 2).

Nos resultados com *T.vaginalis* (FIGURA 2), podemos observar que durante a primeira hora de leitura obtivemos um valor muito significativo cerca de 95% de inibição, contudo, ao decorrer das leituras subsequentes (6h,12h ,48h,72h e 96h) os resultados tiveram uma leve oscilação nos valores (97%, 96%, 96%, 99%, 100% e 100%), respectivamente.

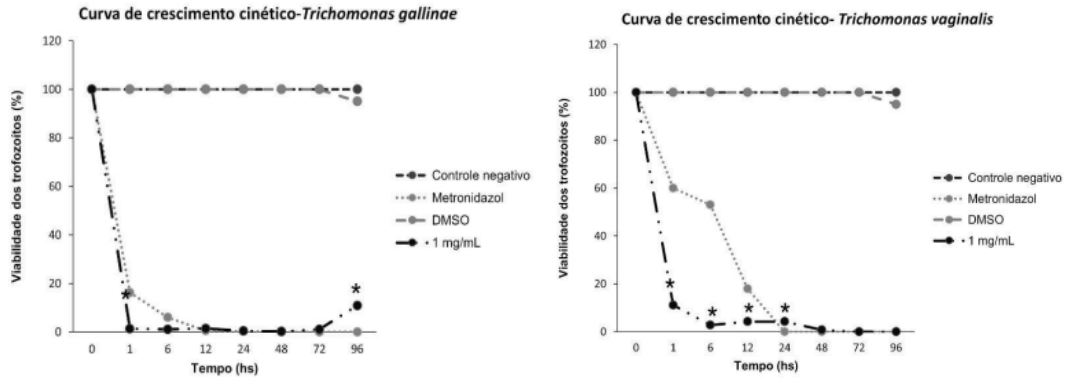


FIGURA 2: Curva de crescimento cinético do *Trichomonas gallinae* e *Trichomonas vaginalis* nas concentrações do CIM – 1mg/mL.

Durante o teste tricomonocida foi observado alterações estruturais nos protozoários (FIGURA 3), tanto do *T.gallinae* quanto no *T. vaginalis*, , como a granulação e vacuolização na membrana destes parasitos, este fato pode ter contribuído com a morte do protozoário neste estudo.

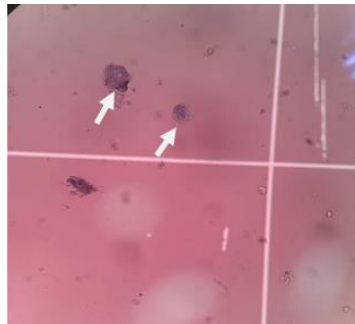


FIGURA 3: Diferenças morfológicas em trofozoítos de *Trichomonas.sp.*, (setas indicam alteração na membrana dos protozoários. Fonte: próprio autor

Ao final do estudo foi observado que o OE de *L.origanoides* apresentou atividade tricomonocida em ambas espécies do parasito, seu efeito foi caracterizado como dose-dependente. Também foi observado maior atividade em *T. vaginalis* tendo 100% de mortalidade a partir de 48h. Em *T. gallinae*, o OE não foi capaz de inibir esses trofozoítos até o final do experimento, foi observado uma redução da sua multiplicação *in vitro* principalmente em 24 horas, esta diferença sugere maior capacidade de reprodução do *T.gallinae* por ser um isolado clínico, e o *T. vaginalis* ser uma cepa ATCC, sensível ao MTZ.

No entanto, se compararmos com o MTZ sua ação foi mais lenta, pois o princípio ativo foi eficaz em até 24h, sendo metabolizado pelos parasitos resultando na produção de radicais livres, causando danos a estrutura celular (LOFMARK *et al.* 2010). A ação do OE *L. origanoides* utilizado em nosso estudo também pode ser atribuída a alta concentração do composto majoritário Carvacrol, visto que essa molécula interage com a membrana plasmática de diversos organismos, alterando sua permeabilidade, fato esse, que pode prejudicar as funções fisiológicas e locomotoras, o que resultaria na morte do parasito (QUEIROZ *et al.*, 2014).

Em estudo *in vitro* utilizando o OE de *Lippia origanoides*, em tripomastigotas de *Trypanosoma evansi* (BALDISSERA *et al.* 2017) obteve-se resultados promissores em 24 horas com concentrações de 0,5%, 1% e 2%. Borges *et al.*, 2012, avaliaram diferentes concentrações do OE de *L. origanoides* em

Trypanosoma. cruzi, e obtiveram resultados promissores, na maior concentração após 48h. No presente estudo foi observado uma mortalidade de 99% do trofozoítos de *T.gallinae* e 100% para *T.vaginalis*. Em nosso estudo, foi observado que OE de alecrim-pimenta foi eficaz em poucas horas, com mortalidade dos trofozoítos de *T. gallinae* e *T. vaginalis*, demonstrando a atividade tricomonocida deste óleo essencial *in vitro*.

4. CONCLUSÕES

Em virtude dos dados e fatos mencionados embasados em estudos científicos, concluímos que o óleo essencial de *Lippia organoides*, Kunth apresentou atividade em nossos testes contra *Trichomonas gallinae* e *Trichomonas vaginalis*. Nossos resultados demonstram que o OE apresenta potencial tricomonocida, contudo mais estudos *in vivo* devem ser realizados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACCEGA, B., ALVES, M. S. D., NEVES, R. N., VELHO, M. C., GODOI, S. N. de OURIQUE, A. F., VILLELA, M. M., VIANNA, E. E. S., FARIAS, N. A. da R. e OLIVEIRA, C. B. **Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas**, v. 20, n. 3, p. 337-354, 2019.

BALDISSERA, M, D.; SOUZA, C, F.; SANTOS, R, C. V.; BALDISSEROTTO, M, C.; SILVA, A, G. da; SILVA, G, L. da; ZANETTE, Régis; SILVA, B, S. da; MOREIRA, A, S.; ALVES, S, H. Ação tripanocida dos óleos essenciais de *Lippia alba* e *Lippia organoides* contra *Trypanosoma evansi* *in vitro* e *in vivo* usando camundongos como modelo experimental. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 41, p. 345-351, 2017.

BORGES, A. R., AIRES, J. R. de A., HIGINO, T. M. M., MEDEIROS, M. das G. F. de CITÓ, A. M. das G. L., LOPES, J. A. D. e FIGUEIREDO, R. C. B. Q. de. and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 132, n. 2, p. 123-128, 2012.

LÖFMARK, S; EDLUND, C; NORD, C. E. O metronidazol ainda é a droga de escolha para o tratamento de infecções anaeróbias. **Doenças infecciosas clínicas**, v. 50, n. Suplemento 1, pág. S16-S23, 2010.

MACIEL, G de Paiva; TASCA, T; DE CARLI, G, A. Aspectos clínicos, patogênese e diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n. 3, Jun 2004. Disponível em: Acesso em: 09 set. 2023.

QUEIROZ, M.R.A.; ALMEIDA, A.C.; ANDRADE, V.A.; LIMA, T.S.; MARTINS, E.R.; FIGUEIREDO, L.S.; CARELI, R.T. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia organoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 737-743, 2014.