

AVALIAÇÃO QUALITATIVA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis L.*) CONTRA ISOLADOS LOCAIS DE *Sporothrix spp.*

NATALIA FERREIRA DIAZ¹; VITÓRIA XAVIER CABRAL²; LUCIELE PEREIRA DE MELO³; CAROLINE QUINTANA BRAGA⁴; DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA⁵; SERGIO JORGE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – nataliafdiaz@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – vitoriaxc@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – lucielemelo.96@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – carolineqbraga@hotmail.com

⁵UFPel - IB – Laboratório de Micologia - danielabrayer@gmail.com

⁶UFPel - FaVet - Laboratório ClinPet – sergiojorgevet@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose trata-se de uma micose zoonótica, causada pelo complexo *Sporothrix schenckii* sensu *latu*, a qual pode levar a lesões cutâneas, subcutâneas, e com menos frequência, infecções sistêmicas (BRIZENO et al., 2020). É uma doença de distribuição mundial, porém com maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais. Diversas espécies de animais são acometidas como caninos, equinos, bovinos, suínos, camelos, primatas e até mesmo o homem (ARAUJO et al., 2022).

O felino infectado tem grande relevância no papel epidemiológico da esporotricose, pois são altamente suscetíveis à infecção e suas lesões cutâneas têm elevada carga fúngica, também sendo comum transmissão do agente através de mordeduras e arranhaduras destes animais (SILVA et al., 2023). Portanto, quando criados com acesso à rua, machos e não castrados, apresentam maior suscetibilidade à infecção fúngica, a castração pode contribuir para diminuição de comportamentos errantes e de risco inerentes a esses felinos, como as brigas que favorecem a infecção (PINTO et al., 2022).

No Brasil, o *Sporothrix brasiliensis* é a espécie mais comumente encontrada e isolada, caracterizando-se por sua elevada virulência em relação às demais. Já o *Sporothrix schenckii* é a espécie com maior distribuição mundial (SORDI, 2023). Em temperaturas por volta de 25° C, o fungo encontra-se na sua forma saprófita, de micélio, em localidades como o solo, vegetais e matérias orgânicas em decomposição, por sua vez, quando em temperaturas de 35 a 37° C o agente configura-se na forma de parasita, leveduriforme (REZNIK, 2022).

O tratamento de escolha para a esporotricose é o itraconazol. Nos casos resistentes, pode-se combinar com iodeto de potássio. As alternativas terapêuticas são limitadas e incluem anfotericina B e criocirurgia (BEDRIKOW; NOVAIS-MENCALHA, 2022). As dificuldades no tratamento de esporotricose em gatos e cães relatadas tanto por veterinários como responsáveis, têm motivado pesquisas com plantas da família Lamiaceae como adjuvante ao tratamento convencional da esporotricose. As Lamiaceae são consideradas fontes promissoras por apresentarem reconhecida atividade antifúngica. Entre essas plantas, o alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) destaca-se por sua atividade antifúngica e baixa citotoxicidade (WALLER, 2019).

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica *in vitro* do óleo essencial de alecrim sobre isolado local *S. brasiliensis* a fim de desenvolver um tratamento tópico adjuvante ao tratamento convencional contra a esporotricose.

2. METODOLOGIA

Cepas locais de *Sporothrix spp.* foram isoladas de animais domésticos com diagnóstico confirmado de esporotricose, sendo eles: 1 isolado de felino, um de canino e um de bovino. Os isolados foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Micologia, I.B., UFPel, onde foram avaliadas suas características macro e micromorfológicas.

Para os testes de suscetibilidade *in vitro*, o óleo essencial de alecrim utilizado foi o da empresa BioEssência, o qual tem extração realizada a partir da destilação por arraste à vapor das plantas. Entre os componentes mais abundantes do óleo, destacavam-se Alfa Pineno (23,03%), Cânfora (22,58%) e 1.8 Cineol (18,73%).

Para os ensaios, 12 placas de Petri foram utilizadas, considerando que seis delas continham meio Ágar Infusão Cérebro e Coração (BHI), e seis delas continham Ágar Sabouraud Dextrose (ASD). Foram utilizadas seis destas placas, três de BHI e três de ASD, para controle positivo de cada um dos isolados. Para tal, foram utilizados blocos medindo aproximadamente 1cmx1cm de diâmetro retirados das culturas de *Sporothrix spp.* por corte do meio de cultivo previamente preparados e imediatamente alocados na superfície das placas de controle. O mesmo foi realizado com as placas de tratamento, porém nestas os blocos foram acrescentados 50µL do óleo essencial de alecrim, sendo que 25µL foram depositados abaixo do bloco e 25µL acima. Estas placas foram identificadas como LM24 (felino), LM87 (canino) e LM40 (bovino), dado que os controles eram identificados com C e as amostras de tratamento com A.

Todas as placas de BHI foram incubadas a 37°C por sete dias, enquanto que as de ASD foram mantidas a 25°C por sete dias, para observação de crescimento leveduriforme em estufa e crescimento micelar em temperatura ambiente, respectivamente. Após este período, as culturas foram avaliadas por macro e microscopia.

Após a leitura, foi realizada a transferência dos blocos para novas placas de Petri contendo Ágar Sabouraud (Kasvi®) e Ágar Infusão Cérebro e Coração (BHI). As placas de BHI foram incubadas em estufa a 37°C, enquanto as de Sabouraud foram mantidas em temperatura ambiente a 24°C a fim de avaliar se a ação dos óleos foi fungicida ou fungistática. A leitura dos ensaios foi qualitativa.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com óleo essencial de alecrim inibiu o crescimento de todos os isolados fúngicos de *Sporothrix* testados, como mostrado na Figura 1. Em relação à ação do óleo, foi visualizado um efeito fungistático, e não fungicida. Isso foi evidenciado pela ausência de crescimento da cultura fúngica, enquanto que também não foi observado redução dessa cultura. Dessa forma, o óleo conseguiu inibir o crescimento, mas sem eliminar os fungos existentes.



Figura 1 – Ensaio de suscetibilidade *in vitro* avaliando a ação antifúngica do óleo de alecrim sobre *Sporothrix spp.*; visualiza-se na placa de Petri com BHI crescimento fúngico exuberante no controle (A) enquanto que no tratamento com o óleo (B) há ausência de crescimento fúngico.

Os achados deste estudo mostraram que o óleo essencial de alecrim demonstrou atividade antifúngica contra *Sporothrix spp.*, atuando como um fungistático. WALLER et al. (2016), por sua vez, também relatou resultados positivos *in vitro* na utilização do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis L.* (alecrim), a partir de isolados de *Sporothrix schenckii* coletados de humanos, cães, felinos. Além de, ação antifúngica sobre isolados clínicos de *S. brasiliensis*, tanto os sensíveis quanto os resistentes ao itraconazol.

Além disso, WALLER et al. (2021) ressaltou a relevância dos compostos cineol 1.8, cânfora e alfa pineno, que se destacam como os mais abundantes também no presente estudo, na ação antifúngica do óleo essencial de alecrim. Baseada em um estudo *in vivo* com ratos infectados por *S. brasiliensis* resistentes ao itraconazol. O tratamento foi administrado por via oral, resultando na diminuição dos sinais clínicos e na prevenção da propagação do fungo para órgãos como o fígado e o baço. Contudo, o óleo de alecrim utilizado continha quantidades maiores de cineol 1.8 (47,91%), enquanto que a cânfora representava (17,92%) da sua composição e o alfa pineno apenas (11,52%).

Contudo, é relevante destacar que WALLER et al. (2016), constatou ação fungistática sobre cepas de *Sporothrix* em doses que variam de 0,07 e 4,5 mg/mL, com baixa toxicidade do O.E de alecrim em concentrações pequenas (0,07 mg/mL), esta por sua vez eleva-se consideravelmente em concentrações acima de 5mg/mL, sendo este, fator que pode restringir sua aplicação terapêutica. Sobretudo, a via de administração é crucial nas intoxicações por óleos essenciais, sendo a dérmica menos tóxica que a oral, ademais o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* pode afetar a gestação e o sistema reprodutor, devendo ser evitado por via oral, retal ou vaginal durante a gravidez (SANTOS, 2017).

4. CONCLUSÕES

Em ensaios qualitativos *in vitro*, o óleo essencial de alecrim possui atividade fungistática contra isolados de *Sporothrix spp.* indicando que seu uso pode representar uma opção viável para o tratamento integrativo da esporotricose. Contudo, são necessários mais estudos para validar esses achados e compreender melhor os mecanismos de ação e a citotoxicidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO, A. K. L.; GONDIM, A. L. de C. L.; ARAUJO, I.E.A. de. Esporotricose felina e humana – relato de um caso zoonótico. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Fortaleza, v. 14, n. 2, p. 237-247, 2020.
- BEDRIKOW, S. L.; NOVAIS-MENCALHA, R. Esporotricose felina responsiva ao tratamento com itraconazol em São Paulo: relato de caso. **Pubvet**, v.16, n.11, 2022
- BRIZENO, M. C.; SILVA, E. C.; BASSOLI, A. C. D. G. O problema de saúde pública da esporotricose felina no estado de Pernambuco, Brasil: uma revisão narrativa. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 93845–93855, 2020.
- PINTO, P. N. et al. Fármacos utilizados no tratamento da esporotricose felina. **Open Science Research VI**, São Paulo, v.6, p. 123-135, 2022.
- REZNIK, A. U. **Esporotricose felina**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP.
- SANTOS, L. D. A. **Avaliação da toxicidade reprodutiva do óleo essencial de Rosmarinus officinalis L. em ratos Wistar**. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- SILVA, T. da G.; MACHADO, T. C.; MENDES JUNIOR, A. F. Impact of the zoonotic potential of feline sporotrichosis on veterinary medicine and society: Literature review. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 7, p. 1-13, 2023.
- SORDI, P. da S. B. R. **Esporotricose felina: relato de caso**. 2023. Monografia (Especialização em Patologia Clínica Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- WALLER, S. B.; MADRID, I. M.; SILVA, A. L. et al. *In vitro* susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* to essential oils of Lamiaceae family. **Mycopathologia**, v. 181, n. 5, p. 857–863, 2016.
- WALLER, S. B.; et al. Can the essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) protect rats infected with itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis* from fungal spread? **Journal of Medical Mycology**, v. 31, n. 4, p. 101199, 2021.
- WALLER, S. B. **Uso promissor do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. e *Origanum majorana* L. na esporotricose cutânea experimental por *Sporothrix brasiliensis* resistente ao itraconazol, e susceptibilidade de isolados aos óleos vegetais**. 2019. Tese (Doutorado em Ciências, área de concentração: Sanidade Animal) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.