

ÓLEO ESSENCIAL E NANOEMULSÃO DE CAPIM-LIMÃO (*CYMBOPOGON FLEXUOSUS*): AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E PADRÕES BIOQUÍMICOS EM CODORNAS INFECTADAS COM *TRICHOMONAS GALLINAE*

BRUNA BACCEGA¹; JULIA VICTÓRIA SANTOS DE SOUZA²; FILIPE OBELAR MARTINS³, YAN WAHAST ISLABÃO⁴, RONYSSA DOS SANTOS RIBEIRO⁵
CAMILA BELMONTE OLIVEIRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – brubaccega@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – juliavictoriabji@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – obelar05@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – yanwahast06@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – ronyssaribeiro5742@gmail.com

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

1. INTRODUÇÃO

A tricomoníase aviária, causada pelo protozoário *Trichomonas gallinae*, acomete principalmente Columbiformes, mas também Falconiformes e Psittaciformes, provocando êmese, dispneia, emagrecimento, inchaço do papo e placas caseosas na orofaringe. Casos graves evoluem para fascite periesofágica e miosite, com maior severidade em aves jovens (GÓMEZ-MUÑOZ *et al.*, 2022). A transmissão ocorre durante a alimentação dos filhotes, água e alimentos contaminados. O tratamento é feito unicamente com o grupo de medicamentos 5'-nitroimidazóis, como o metronidazol, com relatos de resistência crescente desde a década de 1990 e está associado a efeitos adversos como neuropatias e possível carcinogenicidade (HUSSEIN *et al.*, 2011). Como alternativa terapêutica, destaca-se o óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) com comprovadas atividades antimicrobianas, antiparasitárias e antioxidantes (IBRAHIM & SALEM, 2013). Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros bioquímicos e histológicos de codornas infectadas experimentalmente o protozoário *T. gallinae* e tratadas com óleo essencial convencional e a nanoemulsão de *C. flexuosus*.

2. METODOLOGIA

O estudo utilizou codornas (*Coturnix coturnix*) de seis semanas, com peso médio de 115 g, mantidas em ambiente climatizado (22 ± 1 °C) e ciclo claro/escuro de 12/12 h. As aves foram distribuídas em sete grupos (n = 5): A (controle não infectado), B (controle infectado), C (veículo – Tween 80 0,01%), D (nanoemulsão branca – 0,88 mg/kg), E (metronidazol – 25 mg/kg), F (óleo essencial de *C. flexuosus* – 0,55 mg/kg) e G (nanoemulsão do óleo – 0,44 mg/kg) e os experimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes do Comitê de

Ética e Experimentação Animal da instituição, sob protocolo número 23110.012860/2018-81. Inicialmente, as aves foram infectadas experimentalmente por inoculação oral com 4×10^4 trofozoítos. Após o sétimo dia de infecção, foram examinadas por 15 dias via montagem úmida e microscopia, para confirmação da infecção e o peso corporal foi registrado no início e no fim do experimento. Os tratamentos foram administrados por gavagem durante sete dias consecutivos (YOUSSEFI *et al.*, 2017). Posteriormente, as aves foram submetidas a eutanásia para coleta de amostras, soro para as análises bioquímicas (ureia, creatinina, ALT, AST e GGT) e fragmentos de tecido da cavidade oral, esôfago, fígado e rins para avaliação histológica. Os dados foram analisados por ANOVA ($p \leq 0,05$) seguida do teste de Tukey, utilizando GraphPad Prism 8.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo avaliou os efeitos dos tratamentos do óleo essencial convencional de *C. flexuosus* (capim-limão) e sua nanoemulsão em codornas (*C. coturnix*) infectadas experimentalmente com *T. gallinae*, analisando parâmetros bioquímicos e histológicos. Os resultados das análises bioquímicas em aves infectadas, tratadas e não tratadas, não infectadas e a comparação com o metronidazol podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros Bioquímicos Após Tratamento De *Coturnix coturnix japonica* Com Óleo Essencial Livre E Nanoestruturado De *Cymbopogon flexuosus* (média \pm SD)

GRUPOS	URE	CREA	ALT/GPT	AST/GOT	GGT
Controle não infectado	13,2 \pm 3,83	0,86 \pm 0,03	2 \pm 0	8 \pm 0	15,5 \pm 13,08
Controle infectado	14,6 \pm 4,92	0,20 \pm 0,09	1,6 \pm 0,54	4,2 \pm 1,09*	30 \pm 0
Tween	6,8 \pm 2,16	0,68 \pm 0,60	2,8 \pm 2,04	8,4 \pm 0,54*	14,4 \pm 12,07
Metronidazol	12 \pm 2,16	0,68 \pm 0,14	1,04 \pm 0,54	9,6 \pm 0,54*	12,6 \pm 4,92
Nanoemulsão branca	6,8 \pm 1,30	1,04 \pm 0,56*	0,6 \pm 0,54	7,6 \pm 0,89*	10,8 \pm 0,83
Óleo essencial	9,6 \pm 1,51	0,77 \pm 0,59	2,8 \pm 1,095	4,6 \pm 2,19*	20,4 \pm 15,27
Nanoemulsão	8,2 \pm 4,14	0,71 \pm 0,05	10,6 \pm 3,20*	9,4 \pm 1,14*	13,2 \pm 12,65

*diferença estatística quando comparado ao controle não infectado

Fonte: Os autores.

O grupo infectado sem tratamento não apresentou alterações significativas nos marcadores de função renal (URE e CREA) nem hepáticos (ALT e AST), exceto por uma queda inexplicada na AST, diferindo dos achados descritos por SEDDIEK *et al.*, 2014 que relataram níveis aumentados de AST e ALT devido a invasão e dano hepático causados pelas cepas mais patogênicas de *T. gallinae* em pombos domésticos (*Columba livia*). A formulação nanocapsulada sem o princípio ativo já demonstra indícios de potencial toxicidade, causando algum

estresse renal e hepático, observado nos valores de CREA ($1.04 \pm 0.56^*$) e AST/GOT ($7.6 \pm 0.89^*$), o que é uma importante observação para o estudo. Nos animais infectados e tratados com o óleo essencial, foi observado que os parâmetros estão relativamente próximos da normalidade, sem alterações significativas marcadas. Este fato sugere que o óleo essencial convencional apresenta um perfil de segurança favorável nas doses avaliadas. Os animais infectados e tratados com o óleo essencial na forma nanocapsulada apresentaram alteração nos valores nas enzimas ALT/TGP ($10.6 \pm 3.20^*$) e AST/GOT ($9.4 \pm 1.41^*$) significativamente elevados. Estes dados poderiam indicar um efeito tóxico para o fígado quando o óleo é administrado na forma nanocapsulada.

A histologia corroborou parcialmente com os dados das análises bioquímicas. Nos fragmentos de fígado e rim não foram detectadas alterações morfológicas, embora a elevação de ALT/AST no grupo tratado com nanoemulsão sugira danos subclínicos ou funcionais ainda não visíveis. THRALL *et al.*, 2015 evidenciaram maior sensibilidade da bioquímica para detectar injúria celular inicial. No esôfago, as alterações inflamatórias foram atribuídas à infecção por *T. gallinae*, ocorreram tanto em aves infectadas não tratadas quanto nas tratadas. COLE E FRIEND (1999) relatam que cepas de virulência moderada frequentemente causam abscessos caseosos na região orofaríngea, sem lesões visíveis em outros órgãos. GIRARD *et al.*, (2014) observaram aves com lesões caseonecróticas na orofaringe e esôfago, estendendo-se pelo trato digestório superior. No presente estudo, identificaram-se apenas alterações microscópicas no esôfago dos grupos tratados com óleo essencial e nanoemulsão de *C. flexuosus*. A tricomoniase é classicamente caracterizada por placas diftéricas branco-amareladas, caseosas, localizadas na orofaringe, esôfago, glúteo e traqueia. Formas sistêmicas atingindo fígado e pulmão são incomuns (FORRESTER; FOSTER, 2008).

Os tratamentos testados não foram totalmente eficazes em prevenir a lesão parasitária. O óleo essencial livre demonstrou segurança bioquímica, sem alterações relevantes, mas também não impediu a inflamação esofágica. A nanoemulsão, por sua vez, levantou preocupações quanto à segurança hepática, pela elevação de enzimas séricas, embora sem confirmação histológica de dano. Oliveira *et al.*, observaram que fígados de ratos tratados com lipossomas,

sofreram as alterações histológicas na estrutura do órgão, sugerindo a capacidade das nanoestruturas de ativar macrófagos e aumentar o metabolismo e a excreção de vesículas lipídicas. O metronidazol não apresentou alterações bioquímicas significativas, sugerindo segurança, mas a histologia desse grupo não foi detalhada.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que os tratamentos com óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* e sua nanoemulsão não previnem prevenção das lesões esofágicas por *T. gallinae*. A nanoemulsão do óleo essencial mostrou uma possível toxicidade hepática exigindo ajustes de dose e formulação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COLE R.A. Trichomoniasis. In: Friend M.; Franson J.C. **Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds**. U.S. Department of Interior, U.S. Geographical Survey; Washington, D.C.; USA: 1999. pp. 201–206.
- FORRESTER, D.J.; FOSTER, G.W. Trichomonosis. In: Atkinson, C.T., Thomas, N.J., Hunter, D.B. (Eds.), **Parasitic Diseases of Wild Birds**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, p.120-153, 2009.
- GIRARD, Yvette A. et al. *Trichomonas stableri* n. sp., an agent of trichomonosis in Pacific Coast band-tailed pigeons (*Patagioenas fasciata monilis*). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 3, n. 1, p. 32-40, 2014.
- Gómez-Muñoz MT, Gómez-Molinero MÁ, González F, Azami-Conesa I, Bailén M, García Piqueras M, Sansano-Maestre J. Avian Oropharyngeal Trichomonosis: Treatment, Failures and Alternatives, a Systematic Review. **Microorganisms**. 2022 Nov 19;10(11):2297.
- HUSSEIN R, EL-HALABI M, GHAITH O, JURDI N, AZAR C, MANSOUR N, SHARARA AI. 2011. Severe hepatotoxicity associated with the combination of spiramycin plus metronidazole. **Arab J Gastroenterol**, 12:44– 47.
- IBRAHIM, A. N.; SALEM, D. A. Comparison of in vitro activity of metronidazole and garlic-based product (Tomex®) on *Trichomonas vaginalis*. **Parasitology Research**, v. 112, n. 5, p. 2063-2067, 2013.
- SANTOS, P.M. de S. et al. Parasitos de aves e mamíferos silvestres em cativeiro no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, p. 788-794, 2015.
- SCHMIDT, E.M.S.; PAULILLO, A.C.; SANTIN, E.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; OLIVEIRA, E.G. Hematological and serum chemistry values for the ring-necked pheasant (*Phasianus colchicus*): variation with sex and age. **International Journal Poultry Science**, v. 6, n.2, p. 137-139, 2007.
- SEDDIEK, Sh A. et al. The antitrichomonal efficacy of garlic and metronidazole against *Trichomonas gallinae* infecting domestic pigeons. **Parasitology Research**, v. 113, n. 4, p. 1319-1329, 2014.
- THRALL M.A., BACKER D.C., CAMPBELL T.W., DENICOLA D., FETTMAN M.J., LASSEN E.D., Rebar A. & Weiser G. 2015. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Roca, São Paulo. 592p.
- YOUSSEFI, M. R.; TABARI, M. Abouhosseini; MOGHADAMNIA, A. A. *In vitro* and *in vivo* activity of *Artemisia sieberi* against *Trichomonas gallinae*. Iranian journal of veterinary research, v. 18, n. 1, p. 25, 2017.