

COMPARAÇÃO *IN VITRO* DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORÉGANO E ALECRIM EM ISOLADOS CLÍNICOS DO COMPLEXO *SPOROTHRIX* SPP.

GABRIELA DE ALBUQUERQUE¹; STEFANIE BRESSAN WALLER²; ISABEL MARTINS MADRID³; ROSEMA SANTIN⁴; RENATA DE OSÓRIO FARIA⁵; MARLETE BRUM CLEFF⁶

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – gabialbuquerque@hotmail.com

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – waller.stefanie@yahoo.com.br

³Centro de Controle de Zoonoses de Pelotas – imadrid_rs@yahoo.com.br

⁴Instituto de Desenvolvimento Educacional do Alto Uruguai - seminhavet@yahoo.com.br

⁵Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – renataosorio@ig.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) - emebrum@bol.com.br

1. INTRODUÇÃO

Sporothrix spp. é um gênero fúngico dimórfico compreendido por um complexo de espécies, como *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. albicans*, *S. luriei*, entre outros (MARIMON et al., 2008), agentes etiológicos da esporotricose, micose subcutânea de relevante potencial zoonótico atribuído ao modo usual de contágio através da inoculação traumática por arranhaduras e/ou mordeduras de animais que carregam os conídios fúngicos, principalmente felinos domésticos (CORGOZINHO et al., 2006; MADRID et al., 2010). O tratamento dessa micose é comumente realizado com o fármaco itraconazol, porém o uso indiscriminado desse antifúngico vem acarretando falhas terapêuticas, principalmente pelo surgimento de cepas de *Sporothrix spp.* resistentes (MARIMON et al., 2008), o que reforça a busca por alternativas para o tratamento (SCHUBACH et al., 2004).

A família Lamiaceae engloba espécies de plantas que tem despertado interesse quanto a sua ação antimicrobiana, dentre elas destaca-se a *Origanum vulgare* (orégano) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim), que têm atividades antioxidantes, antifúngicas, antibacterianas e anti-inflamatórias comprovadas com estudos realizados com seus óleos essenciais (CLEFF et al., 2008; HUSSAIN et al., 2010). Considerando as boas perspectivas do uso de extratos de origem vegetal, e à escassez de estudos em alternativas terapêuticas contra a esporotricose, o presente estudo objetivou avaliar a suscetibilidade *in vitro* de isolados clínicos do Complexo *Sporothrix spp.* frente aos óleos essenciais comerciais e extraídos de orégano e alecrim comparativamente ao itraconazol.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para avaliar a atividade anti-*Sporothrix spp.*, utilizou-se óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e orégano (*Origanum vulgare*). Os óleos essenciais comerciais foram adquiridos de distribuidor com certificado de

origem (Ferquima®), ao passo que os óleos essenciais extraídos foram obtidos a partir de partes aéreas das plantas, adquiridas de distribuidor comercial (Luar Sul®) e submetidas individualmente à secagem e posterior hidrodestilação em Clevenger por 4 horas, sendo armazenados em frascos âmbar até utilização. Para fim comparativo da eficácia antifúngica foi utilizado itraconazol adquirido de farmácia de manipulação comercial.

Para a avaliação da suscetibilidade *in vitro* de *Sporothrix* spp., foram utilizadas 15 cepas provenientes de casos clínicos confirmados de esporotricose em humanos ($n=3$), caninos ($n=3$) e felinos ($n=8$) e de isolado ambiental do solo ($n=1$), na forma leveduriforme, e testadas através da técnica de Microdiluição em Caldo de acordo com o documento M27A2 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) com modificações para os produtos químico e fitoterápicos. Os óleos essenciais das plantas foram testados em seis concentrações de 72 a 2,25 mg mL⁻¹. O itraconazol foi testado conforme o protocolo recomendado, sendo nas concentrações de 16 a 0,03 µg mL⁻¹.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas cepas utilizadas no estudo, pôde ser constatada sensibilidade aos extratos, demonstrando que ambos os óleos essenciais extraídos e comerciais de alecrim e orégano apresentaram atividade fungistática e fungicida contra todos os isolados testados de *Sporothrix* spp. Observou-se que os óleos essenciais extraídos de orégano e alecrim apresentaram resultados similares, os quais conferiram melhor atividade anti-*Sporothrix* spp. em relação aos óleos comerciais de ambas as plantas, pois exigiram menores concentrações inibitórias e fungicidas. Entretanto, três isolados de felinos foram melhor inibidos e eliminados pelos óleos comerciais, sendo três isolados pelo alecrim (Felinos 2, 3 e 4) e dois pelo óleo de orégano (Felinos 2 e 3). Os isolados também foram suscetíveis ao itraconazol, entretanto um isolado felino não foi suscetível nas concentrações testadas (Felino 4), pois apresentou valores de CIM e CFM >16 µg mL⁻¹, isto é, este isolado foi resistente, e ainda, quatro isolados felinos foram inibidos, mas não foram eliminados (Felinos 1, 2, 4 e 6), pois sua CFM foi >16 µg mL⁻¹, sendo também considerado resistente. Contudo, observou-se que, esses mesmos isolados foram suscetíveis aos óleos de orégano e alecrim, demonstrando que esses produtos naturais possam vir a se tornar potenciais alternativas anti-*Sporothrix* spp. (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e orégano (*Origanum vulgare*) extraído e comercial (mg mL⁻¹) e do medicamento Itraconazol (µg mL⁻¹) contra 15 leveduras do Complexo *Sporothrix* spp. isoladas de humanos, caninos e felinos com esporotricose e de ambiente.

Origem do Isolado Fúngico	Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>)				Orégano (<i>Origanum vulgare</i>)				Itraconazol	
	Extraído		Comercial		Extraído		Comercial		CIM	CFM
	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM		
Humano 1	≤2,25	≤2,25	≤2,25	≤2,25	≤2,25	4,5	18	18	5	1
Humano 2	≤2,25	≤2,25	4,5	9	≤2,25	≤2,25	18	18	0,5	0,5
Humano 3	4,5	4,5	9	18	≤2,25	4,5	18	18	0,5	2
Canino 1	≤2,25	4,5	4,5	9	≤2,25	≤2,25	4,5	4,5	1	2
Canino 2	≤2,25	≤2,25	≤2,25	9	≤2,25	≤2,25	9	18	0,5	1
Canino 3	≤2,25	≤2,25	18	36	≤2,25	4,5	36	36	2	2
Felino 1	≤2,25	≤2,25	≤2,25	≤2,25	≤2,25	≤2,25	4,5	4,5	16	>16
Felino 2	18	18	4,5	18	4,5	9	≤2,25	≤2,25	2	>16
Felino 3	18	>72	≤2,25	≤2,25	9	9	≤2,25	4,5	2	2
Felino 4	9	18	4,5	4,5	≤2,25	4,5	4,5	4,5	>16	>16
Felino 5	≤2,25	≤2,25	4,5	4,5	≤2,25	4,5	18	36	2	2
Felino 6	≤2,25	≤2,25	≤2,25	4,5	≤2,25	≤2,25	18	18	16	>16
Felino 7	≤2,25	≤2,25	4,5	4,5	≤2,25	4,5	18	18	2	16
Felino 8	≤2,25	4,5	9	9	≤2,25	≤2,25	9	18	1	2
Ambiente 1	≤2,25	≤2,25	9	18	≤2,25	≤2,25	18	18	0,5	0,5

Poucos estudos foram descritos sobre a eficácia dos óleos essenciais de orégano e alecrim frente às micoses ocasionadas por fungos do Complexo *S. schenckii*. Como no presente estudo, também foram encontrados resultados satisfatórios com a utilização desses óleos frente a esse fungo, conferindo maior valor aos resultados obtidos. Em estudos realizados por Cleff et al., (2010), o resultado do teste de microdiluição em caldo obtido do óleo essencial extraído de orégano demonstrou uma CIM de 0,3%, assim como o estudo de Cleff et al. (2008), cuja CIM do óleo essencial do orégano para *S. schenckii* foi de 0,25%. Embora não seja possível a comparação exata desses resultados com o presente estudo, por se tratar de unidades diferentes, o resultado corroborou com nossos estudos, devido à comprovação da eficácia *in vitro* do óleo essencial extraído de orégano.

Luqman et al., (2007) testou o óleo essencial de alecrim, o qual obteve como resultado os valores da CIM e CFM de 11 a >11 mg mL⁻¹, demonstrando atividade fungistática somente. No presente estudo, observou-se atividade fungistática e fungicida em concentrações variáveis de ≤2,25 a 36 mg mL⁻¹, para ambos óleos de alecrim, embora somente um isolado tenha demonstrado resistência fungicida (CFM > 72 mg mL⁻¹). A diferença de valores observada pode estar relacionada ao fato do autor realizar seus testes para somente uma cepa de *S. schenckii* na concentração máxima de 11 mg mL⁻¹, ao passo que o presente estudo testou para 15 cepas de fungos do Complexo *Sporothrix*.

Estudos comparativos de óleos essenciais não foram encontrados na literatura citada, porém, o presente trabalho demonstrou que os óleos essenciais extraídos e comerciais de uma mesma planta apresentaram resultados similares contra os isolados fúngicos testados.

4. CONCLUSÃO

Os resultados satisfatórios *in vitro* dos óleos essenciais comerciais e extraídos de orégano e alecrim demonstraram que estes podem vir a ser uma alternativa no tratamento da esporotricose. Entretanto, maiores estudos devem ser realizados para conferir segurança no uso *in vivo* destas plantas.

5.REFERÊNCIAS

CLEFF, M.B; MEINERZ, A.R.M; SCHUCH, L.F.D; RODRIGUES, M.R.A; MEIRELES, M.C.A; MELLO, J.R.B. Atividade *in vitro* do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente à *Sporothrix Schenckii*. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.60, n.2, p.513-516, 2008.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R.; FARIA, R.O.; XAVIER, M. O.; SANTIN, R.; NASCENTE, P. S.; RODRIGUES, M. R.; MEIRELES, M. C. A. Atividade inibitória do óleo essencial de orégano em fungos de importância médica e veterinária. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v.62, n.5, p.1291-1294, 2010.

CORGOZINHO K.B., SOUZA H.J.M., NEVES A., FUSCO M.A. & BELCHIOR C. Um caso atípico de esporotricose felina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p. 167-170, 2006.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; CHATHA, S. A. S.; JABBAR, A.; MAHBOOB; NIGAM, P. S. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.41, n.4, 2010.

LUQMAN, S.; DWIVEDI, G. R.; DAROKAR, M. R.; KAIRA, A.; KHANUJA, S. P. S. **Potential of rosemary oil to be used in Drug-resistant infections.** *Alternative Therapies*, St. Paul, v.13, n.5, p. 54 – 58, 2007.

MADRID, M; MATTEI, A; MARTINS, A; NOBRE, M; MEIRELES, M. Feline Sporotrichosis in the Southern Region of Rio Grande Do Sul, Brazil: Clinical, Zoonotic and Therapeutic Aspects. **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v.57, p. 151-154, 2010.

MARIMON, R; SERENA, C; GENE, J; CANO, J; GUARRO, J. In Vitro Antifungal Susceptibilities of Five Species of *Sporothrix*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v.52, n.2, p. 732–734, 2008.

SCHUBACH, T. M. P.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; BARROS, M. B. L.; FIGUEIREDO, F. B.; CUZZI, FIALHO-MONTEIRO; REIS, R. S.; A. PEREZ, M. A.; WANKE, B. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.224, p.1623-1629, 2004.