

EXTRATO AQUOSO DE *Rosmarinus officinalis* L. 25% NO TRATAMENTO DA OTITE EXTERNA INFECCIOSA EXPERIMENTAL – RESULTADOS PARCIAIS

MACHADO, Camila¹; FONTOURA, Eduardo Garcia²; ALVES, Gabriela Hörnke³; MUELLER, Eduardo Negri⁴; NOBRE, Márcia de Oliveira⁵

¹ Bolsista de Iniciação Científica PROBIC – UFPel

² Universidade Federal de Pelotas - Mestrando PPGV

³ Universidade Federal de Pelotas - Mestranda do Programa em Bioquímica e Bioprospecção

⁴ Universidade Federal de Pelotas – PNPD Institucional CAPES/UFPel

⁵ Universidade Federal de Pelotas - Departamento de Clínicas Veterinária FV/UFPel

kmilamach@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

A otite externa caracteriza-se pela inflamação aguda ou crônica do epitélio do conduto auditivo externo (OLIVEIRA, 2004). É uma enfermidade de etiologia multifatorial, com numerosos fatores predisponentes e perpetuantes relacionados à infecção (OLIVEIRA, et al., 2006) que dificultam a resolução clínica. A busca por terapias alternativas que diminuam os efeitos adversos e a resistência microbiana aos fármacos alopatícos existentes vem impulsionando as pesquisas com fitoterápicos (NOGUEIRA, et al., 2008).

O *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), planta pertencente à família Lamiaceae (LORENZI; MATOS, 2002) possui compostos com propriedades antiinflamatórias, antissépticas, cicatrizantes e antioxidantes comprovadas (AFONSO et al., 2010). Também foi relatada atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos de alecrim frente algumas bactérias e leveduras (PACKER; LUZ, 2007). Neste contexto, objetivou-se avaliar o uso de extrato aquoso de alecrim 25% em propilenoglicol no tratamento da otite externa infecciosa experimental.

2 METODOLOGIA

O alecrim foi adquirido de fornecedor comercial com certificação de referência. Já seco e triturado foi encaminhado ao Laboratório de Oleoquímica e Biodiesel do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da UFPel para obtenção do extrato aquoso através da técnica de ultrassom, utilizando como solvente água destilada. O extrato aquoso foi diluído em propilenoglicol até atingir a concentração de 25%, baseado na concentração bactericida mínima realizada *in vitro*.

Foram utilizados 12 ratos Wistar fêmeas, com 60 dias de idade, pesando aproximadamente 180g, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, onde foram mantidos em condições de bem-estar animal durante todo o período experimental. O experimento recebeu parecer favorável da Comissão de Ética e Experimentação Animal da UFPel (CEEA 7866). Para o desenvolvimento da otite externa, os animais foram pré- anestesiados com sulfato de atropina (5mg/kg) por via subcutânea, seguido de anestesia com cetamina (100mg/kg) associada à xilasina (10mg/kg) por via intramuscular. Ambas as orelhas (n=24) foram inoculadas com 80µL de solução de óleo de cróton 5% em acetona, e após um minuto com 100µL de suspensão bacteriana contendo 1X10⁶ UFC/mL de *Staphylococcus aureus*. Em 24 horas, as orelhas avaliadas por videoscopia seguindo o escore de Emgard

& Hellström (1997), com modificações. Este inclui graduação para coloração, diâmetro luminal e efusão, sendo que, maior escore representa maior gravidade. Quanto à coloração as orelhas foram classificadas em normal (0), vermelho (1) e vermelho intenso (2). Para avaliação do diâmetro luminal foram utilizadas sondas uretrais. A passagem da sonda nº 8 correspondia a ausência de edema (escore 0), enquanto a passagem das sondas nº 6 e 4, aos escores 1 e 2 respectivamente. Quando da impossibilidade de passagem da sonda nº 4, devido ao maior nível de edema, o escore correspondente era o 3. O canal auditivo foi classificado quanto à efusão em 0 (sem efusão), 1 (úmido) e 2 (otorréia), obstruindo dessa forma o meato acústico externo. Foram submetidas ao tratamento somente as orelhas que obtiveram somatório de escores igual ou superior a 3,0 na avaliação 24h após a inoculação.

Para o tratamento tópico realizado uma vez ao dia por cinco dias, os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos totalizando oito orelhas em cada. O grupo I foi tratado com 100µL de extrato aquoso de alecrim 25% em propilenoglicol, o grupo II com 100µL de propilenoglicol (controle I), e o grupo III com 100µL de solução fisiológica 0,9% (NaCl 0,9%) (controle II).

No sexto dia, todos os animais foram reavaliados conforme descrito anteriormente. A avaliação foi feita por três avaliadores independentes. Foi obtida média de escore dos avaliadores para cada orelha e a média por grupo. Posteriormente a avaliações os animais foram eutanasiados seguindo as recomendações da Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira avaliação, dia “0”, todos os grupos apresentaram somatório médio de escores igual a 3,0. Após cinco dias de tratamento o escore médio diminuiu apenas no GI (2,4) e aumentou nos grupos GII (4,22) e GIII (4,75), conforme Fig. 1.

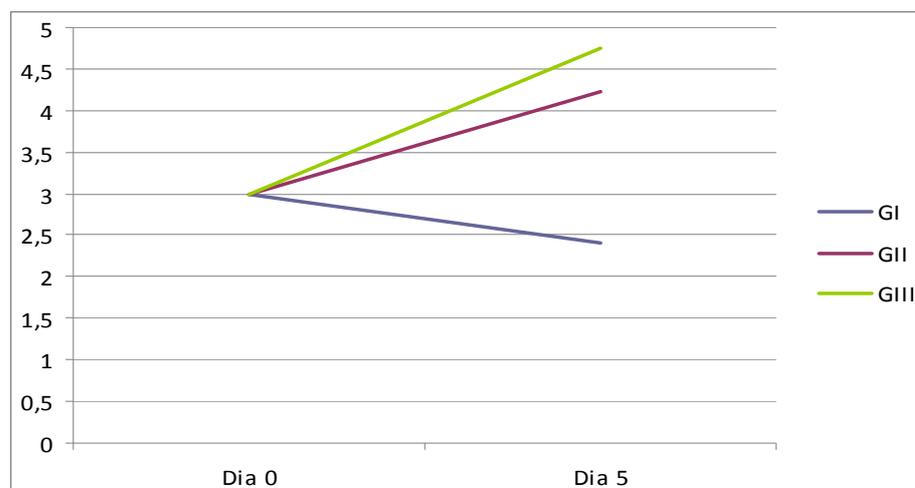


Figura 1- Média do somatório dos sinais clínicos em orelhas de ratos com otite externa infecciosa experimental tratadas com extrato aquoso de alecrim 25% em propilenoglicol (GI), com propilenoglicol (GII) e com solução fisiológica 0,9% (GIII), nos dias zero e aos cinco de avaliação.

O menor escore observado nas orelhas do GI, tratadas com extrato aquoso de alecrim 25% em propilenoglicol, possivelmente seja em consequência dos compostos taninos e flavonóides encontrados no alecrim, que conferem propriedades antiinflamatórias, antissépticas, cicatrizantes e antioxidantes (AFONSO et al., 2010). Além disso, compostos como o carnasol, ácido betulínico e ácido ursólico também conferem ao alecrim propriedade antiinflamatória (BENINCÁ, et al., 2011). Este estudo reforça a atividade antimicrobiana do *R. officinalis* L., conforme já demonstrada em estudos *in vitro* frente bactérias e leveduras como *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Listeria monocitogenes*, *Streptococcus mitis*; *S. mutans*, *C. albicans*, entre outros (PACKER; LUZ, 2007), destacando-se o agente infeccioso utilizado no experimento, *S. aureus*.

O propilenoglicol é um fluído utilizado em formulações otológicas tópicas com a finalidade de fluidificar e dissolver o cerúmen auditivo (NUTTALL; COLE, 2004) e apresenta propriedade higroscópica, reduzindo assim a umidade do ambiente (GELLER et al., 2010), justificando dessa forma o escore clínico menor (4,22) que o NaCl 0,9% (4,75). Esperava-se que a solução fisiológica não causasse alteração no canal auditivo, por isto sendo utilizada como controle (BENINCÁ et al., 2011; TAKAKI et al., 2008), por aproximar-se da composição do líquido extracelular. Contudo possivelmente em decorrência do excesso de umidade no canal, o que promove a maceração do epitélio auditivo (SANDER, 2001), o grupo tratado com NaCl 0,9% foi o que apresentou somatório de escore maior dentre os três grupos avaliados.

4 CONCLUSÃO

A utilização do extrato aquoso de alecrim 25% em propilenoglicol reduz os sinais clínicos de otite externa experimental.

5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo financiamento do projeto (nº 481605/2010-0), a CAPES pelas bolsas de mestrado e pós-doutorado. Trabalho beneficiário de auxílio financeiro da CAPES – Brasil. Ao Laboratório de Oleoquímica e Biodiesel do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da UFPel pela obtenção do extrato aquoso de alecrim e ao Biotério Central da UFPel.

6 REFERÊNCIAS

AFONSO, M. S.; SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). **Nutrire: revista Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**. São Paulo, SP, v.35, n.1, p129-148, 2010.

BENINCÁ, J. P.; DALMARCO, J. B.; PIZZOLATTI, M. G.; FRÖDE, T. S. Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice. **Food Chemistry**, v. 124, p.468-475, 2011.

EMGARD, P.; HELLSTRÖM, S. An animal model for external otitis. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 254, p115-119, 1997.

GELLER, M.; FILHO, A. B.; CUNHA, K. S. G.; SLAIBI, E. B.; ABREU, C. S.; BARBOSA J. S. S. Avaliação imunodermatológica da resposta ao propilenoglicol e ao butilenoglicol – revisão bibliográfica sistemática. **RBM: Revista Brasileira de Medicina**, v. 67, n.7, p234-239, 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de estudos da Flora LTDA, 2002. 512p.

NOGUEIRA, J. C. R.; DINIZ, M. F. M.; LIMA E. O. Atividade antimicrobiana *in vitro* de produtos vegetais em otite externa aguda. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.74, n.1, p.118-124, 2008.

NUTTALL, T.; COLE, L. K. Ear cleaning: the UK and US perspective. **Veterinary Dermatology**, v.15, n.2, p.127-136, 2004.

OLIVEIRA, L. C. **Otite média e externa bilateral em cães. Estudo comparativo do perfil microbiológico e susceptibilidade a antimicrobianos das espécies prevalentes**. 2004. Mestrado em Microbiologia Médica – Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2004.

OLIVEIRA, L. C.; BRILHANTE R. S. N.; CUNHA A. M. S.; CARVALHO C. B. M. Perfil de isolamento microbiano em cães com otite média e externas associadas. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.6, p.1009-1017, 2006.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.102-107, 2007.

SANDER, R. Otitis externa: a practical guide to treatment and prevention. **American Family Physician**, v.63, n.5, p.927-936, 2001.

TAKAKI, I.; BERSANI-AMADO, L. E.; VENDRUSCOLO, A.; SARTORETTO, S. M.; DINIZ, S. P.; BERSANI-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. N. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in experimental animal models. **Journal of Medicinal Food**, v.11, n.4, p.741-746, 2008.