

Avaliação *In Vitro* Da Atividade Antifúngica Da Tintura Hidroalcoólica E Do Oléo Essencial Da *Lippia origanoides*, Frente A Isolados De *Sporothrix* spp.

***In Vitro* Evaluation of the Antifungal Activity of the Hydroalcoholic Tincture and Essential Oil of *Lippia origanoides* Against Isolates of *Sporothrix* spp.**

Evaluación *In Vitro* de la Actividad Antifúngica de la Tintura Hidroalcohólica y del Aceite Esencial de *Lippia origanoides* Frente a Aislados de *Sporothrix* spp.

DOI: 10.34188/bjaerv9n2-143

Submitted: Mar 20th, 2026

Approved: Apr 2nd, 2026

Leonardo Borges de Lima

Mestre em Medicina Veterinária

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Recife, PE. Brasil

E-mail: borgesmedvet@hotmail.com

Renan Felipe Silva Santos

Mestre em Medicina Veterinária

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Recife, PE. Brasil

E-mail: renanfss.vet@gmail.com

Samara Viana Rufino

Mestre em Medicina Veterinária

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Recife, PE. Brasil

E-mail: samaravianavet@gmail.com

Priscila Feijó Leite

Mestre em Medicina Veterinária

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Recife, PE. Brasil

E-mail: priscilaleitealc@gmail.com

Francine Maria de França Silva

Doutorado em Biociência Animal

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Recife, PE. Brasil

E-mail: francine.silva@ufrpe.br

Carlos Adriano de Santana Leal

Doutorado em Ciência Animal Tropical

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Recife, PE. Brasil

E-mail: c.adrianosl@gmail.com

Flaviane Maria Florencio Monteiro Silva

Doutora em Ciências Veterinárias
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
Recife, PE. Brasil
E-mail: flaviane.fmonteiro@ufrpe.br

Eulina Tereza Farias Nery

Doutora em Biociência Animal
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
Recife, PE. Brasil
E-mail: etnfarias@yahoo.com.br

Evilda Rodrigues de Lima

Doutora em Ciências Veterinárias
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
Recife, PE. Brasil
E-mail: evilda17@gmail.com

RESUMO

A esporotricose é uma micose de importância zoonótica crescente, associada principalmente à transmissão por felinos e ao aumento da resistência aos antifúngicos convencionais, o que evidencia a necessidade de novas alternativas terapêuticas. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar in vitro a atividade antifúngica da tintura hidroalcoólica e do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente a isolados de *Sporothrix* spp. provenientes de casos confirmados de esporotricose felina atendidos em hospital veterinário universitário. Os isolados fúngicos foram reativados em ágar Sabouraud e incubados a 37 °C por 24, 48 e 72 horas. A tintura foi obtida por maceração a frio de folhas secas em etanol a 70% (1:5 p/v), enquanto o óleo essencial foi adquirido comercialmente. A atividade antifúngica foi avaliada pelo método de difusão em ágar, utilizando discos impregnados com os produtos testados, sendo o itraconazol (10 µg) empregado como controle positivo. Os resultados demonstraram ausência de formação de halos de inibição para os produtos vegetais em todas as amostras, indicando ausência de atividade antifúngica nas condições testadas. Por outro lado, o itraconazol apresentou atividade variável, com halos entre 22 e 30 mm em parte dos isolados. Conclui-se que a tintura hidroalcoólica e o óleo essencial de *Lippia origanoides* não apresentaram efeito antifúngico in vitro frente a *Sporothrix* spp., sendo necessários estudos adicionais com diferentes metodologias e concentrações para melhor avaliação do potencial terapêutico da espécie.

Palavras-chave: alecrim pimenta, plantas medicinais, fitoterapia, esporotricose.

ABSTRACT

Sporotrichosis is a mycosis of increasing zoonotic importance, primarily associated with transmission by felines and the rising resistance to conventional antifungal agents, highlighting the need for the development of new therapeutic alternatives. In this context, the present study aimed to evaluate in vitro the antifungal activity of the hydroalcoholic tincture and essential oil of *Lippia origanoides* against isolates of *Sporothrix* spp., obtained from confirmed cases of feline sporotrichosis treated at a university veterinary hospital. The fungal isolates were reactivated on Sabouraud agar and incubated at 37 °C for 24, 48, and 72 hours. The tincture was prepared by cold maceration of dried leaves in 70% ethanol (1:5 w/v), while the essential oil was commercially acquired. Antifungal activity was evaluated using the agar diffusion method, with discs impregnated with the tested substances. Itraconazole (10 µg) was used as a positive control. The results demonstrated the absence of inhibition zone formation for the plant-derived products in all samples, indicating a lack of antifungal activity under the tested conditions. In contrast, itraconazole exhibited

variable activity, with inhibition zones ranging from 22 to 30 mm in some isolates. It is concluded that the hydroalcoholic tincture and essential oil of *Lippia organoides* did not show in vitro antifungal activity against *Sporothrix* spp. under the evaluated conditions. Further studies using different methodologies and concentrations are required to better assess the therapeutic potential of this species.

Keywords: pepper rosemary, medicinal plants, herbal medicine, sporotichosis.

RESUMEN

La esporotricosis es una micosis de creciente importancia zoonótica, asociada principalmente a la transmisión por felinos y al aumento de la resistencia a los antifúngicos convencionales, lo que evidencia la necesidad de nuevas alternativas terapéuticas. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar in vitro la actividad antifúngica de la tintura hidroalcohólica y del aceite esencial de *Lippia organoides* frente a aislados de *Sporothrix* spp., provenientes de casos confirmados de esporotricosis felina atendidos en un hospital veterinario universitario. Los aislados fúngicos fueron reactivados en agar Sabouraud e incubados a 37 °C durante 24, 48 y 72 horas. La tintura se obtuvo mediante maceración en frío de hojas secas en etanol al 70% (1:5 p/v), mientras que el aceite esencial fue adquirido comercialmente. La actividad antifúngica se evaluó mediante el método de difusión en agar, utilizando discos impregnados con los productos evaluados, empleándose el itraconazol (10 µg) como control positivo. Los resultados demostraron ausencia de formación de halos de inhibición para los productos de origen vegetal en todas las muestras, lo que indica ausencia de actividad antifúngica bajo las condiciones evaluadas. Por otro lado, el itraconazol presentó actividad variable, con halos de inhibición entre 22 y 30 mm en parte de los aislados. Se concluye que la tintura hidroalcohólica y el aceite esencial de *Lippia organoides* no presentaron efecto antifúngico in vitro frente a *Sporothrix* spp. en las condiciones evaluadas, siendo necesarios estudios adicionales con diferentes metodologías y concentraciones para una mejor evaluación del potencial terapéutico de la especie.

Palabras clave: alecrim pimenta, plantas medicinales, fitoterapia, esporotricosis.

1 INTRODUÇÃO

O complexo *Sporothrix* é formado por quatro espécies cuja patogenicidade é vinculada ao desenvolvimento da esporotricose: *Sporothrix schenckii* sensu stricto, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei* (Orofino-Costa et al., 2017). Uma das características mais marcantes do gênero é o dimorfismo, apresentando duas fases de crescimento distintas: filamentosa e leveduriforme (Sanhotene et al., 2017). A associação de fatores abióticos ideais, temperatura média (entre 20 e 25°C), presença de matéria orgânica e alta umidade, define o desenvolvimento da fase filamentosa dos agentes etiológicos e é responsável pela via de transmissão sapronótica.

Felinos são as principais vias de transmissão da fase leveduriforme (Miranda et al., 2018). O contato direto por meio de arranhaduras e mordidas são responsáveis pelo acesso do fungo ao organismo através da lesão tecidual. As leveduras encontram-se distribuídas nas garras, cavidade oral e diretamente no exsudato das lesões cutâneas múltiplas dos gatos domésticos (Madrid et al., 2012; Macêdo-Sales et al., 2018). A capacidade de apresentar grande quantidade de agentes sob

forma leveduriformes distribuídas em diferentes regiões, tornam os gatos importantes fontes de propagação da doença por via zoonótica (Rodrigues et al., 2020).

Nesse contexto de elevada carga fúngica, transmissão eficiente e manutenção do ciclo da doença, observa-se um aumento progressivo no número de cepas refratárias ao uso dos antifúngicos tradicionais, fenômeno frequentemente associado à administração de subdosagens (Siven et al., 2017) e à susceptibilidade do agente etiológico aos fármacos disponíveis (Brilhante et al., 2016). Gupta et al. (2017) advertem ainda quanto ao uso de antifúngicos convencionais em altas concentrações, devido à possibilidade de ocorrência de efeitos adversos decorrentes do tratamento prolongado. Diante desse cenário, torna-se necessária a busca por alternativas terapêuticas eficazes e de baixa toxicidade, capazes de integrar e otimizar os protocolos terapêuticos existentes (Ebani et al., 2018).

A investigação das propriedades terapêuticas das plantas tem origem no conhecimento tradicional, transmitido entre gerações, servindo como base para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. (Brandão et al., 2021). Apesar de representar um percentual baixo dentro do mercado comercial farmacológico, o uso da fitoterapia é um dos grupos de escolha medicamentosa que mais cresce, atingindo 25% de aumento ao ano (Bruno et al., 2016).

Segundo Enioutina et al. (2017), a fitoterapia apresenta potencial como alternativa aos antimicrobianos convencionais, especialmente no contexto da resistência microbiana. Estudos posteriores reforçam esse papel no enfrentamento da resistência e na redução de efeitos adversos associados a fármacos sintéticos (Anand et al., 2020; Rodrigues et al., 2025). O uso de plantas medicinais passou a ser reconhecido pela Organização Mundial de Saúde em 1978 (Sousa, 2008) e baseia-se na presença de metabólitos secundários com comprovada atividade biológica, incluindo compostos fenólicos, flavonoides e óleos essenciais, os quais apresentam propriedades antimicrobianas, antifúngicas e anti-inflamatórias (Rates, 2001; Newman e Cragg, 2020).

Nesse contexto, a *Lippia origanoides* destaca-se por seu expressivo potencial terapêutico, especialmente devido à elevada concentração de monoterpenos como timol e carvacrol, compostos associados à atividade antifúngica contra diferentes agentes patogênicos (Oliveira et al., 2014). Estudos experimentais demonstram que extratos e óleos essenciais dessa espécie apresentam eficácia antimicrobiana relevante, aliada a perfil de toxicidade favorável, o que reforça seu potencial como alternativa promissora para integrar protocolos terapêuticos, inclusive no contexto de doenças negligenciadas e zoonóticas (Sarrazin et al., 2015; Hernandez et al., 2017; Ribeiro et al., 2021).

No Brasil, segundo a ANVISA, plantas medicinais são aquelas, inteiras ou em partes vegetativas, que contêm substâncias com ação terapêutica (BRASIL, 2021). A *Lippia origanoides* possui propriedades terapêuticas, sendo usada tradicionalmente para afecções cutâneas, distúrbios

gastrintestinais e doenças hepáticas, além de apresentar atividades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias (Oliva et al., 2023). Esta pesquisa, propõe investigar, in vitro, atividade antifúngica da tintura hidroalcóolica e do óleo essencial de *L. origanoides* frente ao fungo do gênero *Sporothrix* spp., configurando um estudo importante como tratamento complementar na clínica médica veterinária.

2 REFERENCIAL TEORICO

2.1 ESPOROTRICOSE

A esporotricose é uma micose causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix* spp. A infecção geralmente é adquirida pela inoculação subcutânea através de espinhos, gravetos ou farpas contaminadas (Barros; Almeida Paes; Schubach, 2011). O fungo foi identificado pela primeira vez em 1896, nos Estados Unidos, por Benjamin Schenck, em um paciente com lesões na mão e no braço (Schenck, 1898). Em 1900, Hektoen e Perkins descreveram outro caso e consolidaram o nome do fungo, que inicialmente foi classificado em gênero *Sporotrichum* (Hektoen e Perkins, 1900), sendo modificado 1962 por Carmichael (Carmichael, 1962).

A doença foi documentada pela primeira vez em ratos em 1907 no Brasil, demonstrando que animais serviam como reservatório do agente. Deste modo levantou-se a hipótese de transmissão para humanos (Lutz e Splendore, 1907). Pesquisadores trouxeram que mordidas a partir dos roedores infectados poderiam assim uma potencial via de transmissão da doença, trazendo uma maior relevância no estudo da interação homem animal e na disseminação do fungo (Pupo, 1917).

Os gatos, pelos hábitos naturais da espécie com solos arenosos e dinâmicas sociais de grupos errantes, podem ser acometidos de forma mais frequente pela doença, assim como, através de suas unhas contaminadas e boca, inocular o fungo em humanos (Gremião et al., 2017). Cães e equinos também podem ser afetados, embora de forma menos frequente (Schubach et al., 2012). Alguns relatos são trazidos em répteis e aves, mas de forma menos frequente e menor impacto na transmissão (Paiva et al., 2020).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD, 2020), a esporotricose é classificada como uma doença negligenciada e representa um desafio para a Saúde Pública, em razão da inexistência de programas ou ações de controle, da indisponibilidade de medicamentos gratuitos para o tratamento em humanos e animais, e da falta de conhecimento da população sobre as medidas preventivas. Essa doença zoonótica representa uma importante situação de interface entre saúde humana, animal, vegetal e ambiental, destacando a contribuição essencial do médico veterinário na identificação dos casos, no controle da disseminação e na comunicação às autoridades responsáveis pela vigilância em saúde (Silva et al., 2019).

2.2 CLASSIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS do *Sporothrix* spp.

No que se refere à classificação taxonômica, o *Sporothrix* pertence ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Sordariomycetes, Ordem Ophiostomatales e Gênero *Sporothrix* (Marimon et al., 2007, 2008a, 2008b; Oliveira et al., 2014). Em relação à morfologia e características microbiológicas, esses fungos são termodimórficos, apresentando forma micelial a 25 °C, com hifas finas e conídios piriformes ou hialinos, e forma leveduriforme a 37 °C, com células alongadas ou ovais que se reproduzem por brotamento (De Hoog, 1974; Barros, Paes e Schubach, 2011; Fernandes et al., 2013).

Sporothrix é considerado um complexo de espécies crípticas, que engloba *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix globosa*, *Sporothrix mexicana*, *Sporothrix luriei*, *Sporothrix pallida* (anteriormente denominada *Sporothrix albicans*) e *Sporothrix schenckii* sensu stricto. Com exceção de *Sporothrix pallida*, as demais espécies de *Sporothrix* têm sido associadas a casos de esporotricose em humanos e em diferentes espécies animais (Lopes-Bezerra et al., 2006; Marimon et al., 2007, 2008a, 2008b; Romeo e Criseo, 2013).

2.3 TRATAMENTO PARA ESPOROTRICOSE FELINA

A terapêutica realizada para esporotricose em felinos é através do itraconazol na dose de 100mg/animal. Mas, discute-se a aplicabilidade de politerapias em pacientes com quadros de resistência a substância. O iodeto de potássio foi uma das substâncias mais associadas ao longo dos anos, mas por sua alta hepatotoxicidade e variações de efeito, nem sempre se torna viável para todos os pacientes. A terbinafina também é trazida como uma alternativa para pacientes mais sensíveis, mas discute-se o uso por trazer respostas menos eficazes (Costa, 2017).

Para quadros em que os pacientes apresentam lesões nasais, pouco se observa respostas eficazes apenas com as terapêuticas sistêmicas orais ou injetáveis. Autores sugerem a associação, junto ao itraconazol oral, do clotrimazole a 1%, através da manipulação de spray intranasal. As respostas apresentam-se com uma média de 30 dias de tratamento com resultados satisfatórios, levando a uma remissão completa destas lesões (Santi et al, 2022)

Paciente multirresistentes, com lesões pouco responsivas as terapêuticas apresentadas acima, recomenda-se o uso de anfotericina b intralesional ou por via subcutânea em associação ao itraconazol, visto uma maior chance de remissão para quadros refratários e recorrentes, mesmo que seja necessário um maior acompanhamento de funções renais destes pacientes, pelo risco de injúria renal aguda (Santos, 2019; Waller, 2021).

Fitoterápicos como ainda são trazidos como de baixa eficácia no tratamento e na ação

inibidora da sobre o sporotrix, mas relatos trazidos parecem promissores. O uso do óleo de alecrim, vem sendo mencionado por alguns autores, pela sua capacidade de reduzir sintomas em animais de laboratório, mesmo que apresente in vitro menos capacidade antifúngica. Mas alguns autores mencionam que a forma de obtenção do extrato e os componentes presentes no produto final interferem diretamente no efeito esperado (Cortes e Pierre, 2024).

2.4 RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA

Podem ser identificadas duas categorias principais de resistência em fungos: a intrínseca e a adquirida. Cada uma delas envolve mecanismos próprios, apresenta repercussões clínicas particulares e exige abordagens específicas para o seu controle. A resistência intrínseca corresponde à falta de sensibilidade natural que algumas espécies fúngicas apresentam frente a determinadas classes de antifúngicos. Esse tipo de resistência resulta de características genéticas, estruturais ou bioquímicas próprias, que impedem a ação adequada do medicamento sobre seu alvo. (Sanglard, 2016).

A resistência adquirida manifesta-se quando cepas anteriormente sensíveis passam a apresentar mecanismos de escape ao antifúngico após uso prolongado ou inadequado do medicamento. Esse processo adaptativo resulta de modificações genéticas, incluindo mutações nos genes que codificam as enzimas-alvo, aumento da expressão de bombas de efluxo e mudanças nas etapas da biossíntese do ergosterol. Ambos os tipos de resistência apresentam impacto significativo na conduta terapêutica. Onde a primeira exige a exclusão antecipada de determinadas classes de antifúngicos no manejo de algumas espécies, tornando indispensável uma identificação laboratorial acurada (Pappas et al., 2018).

A segunda fala sobre sua associação a insucessos no tratamento, prolongamento do quadro infeccioso, aumento do tempo de internação e elevação da mortalidade, sobretudo em pacientes acometidos por infecções fúngicas invasivas. A identificação precoce da resistência, utilizando testes de sensibilidade e ferramentas de monitoramento genotípico, é fundamental para orientar de forma adequada a terapia antifúngica e para evitar a propagação de cepas resistentes (Rodrigues et al., 2020).

Tais fenômenos acontecem pelo uso excessivo ou inadequado desses fármacos, da manutenção de infecções crônicas, da formação de biofilmes e da elevada plasticidade genômica apresentada por muitos agentes fúngicos (Perlin et al., 2017; Pristov e Ghannoum, 2019). Entre os antifúngicos mais empregados destacam-se os azólicos, cujo a resistência a essa classe pode surgir por diferentes vias moleculares, incluindo mutações no gene ERG11, que diminuem a afinidade da enzima pelo fármaco, ou pela superexpressão desse mesmo gene (Pristov e Ghannoum, 2019; Fisher

et al., 2022).

A resistência aos polienos é considerada menos comum, podendo surgir devido à redução na produção de ergosterol, à inativação dos genes *ERG3* e *ERG6*, ou ainda pela substituição do ergosterol por outros esteróis que não interagem adequadamente com o fármaco, diminuindo sua ação (Kohler et al., 2017). Além disso, modificações na composição lipídica da membrana celular podem interferir na inserção do polieno e comprometer a formação dos poros responsáveis pelo efeito fungicida.

A resistência às equinocandinas, está amplamente relacionada a mutações nos genes *FKS1* e *FKS2*, responsáveis por codificar as subunidades catalíticas da enzima-alvo. Essas alterações modificam o sítio de ligação do antifúngico, reduzindo sua afinidade e, conseqüentemente, diminuindo a efetividade da inibição. Nas pirimidinas fluoradas, a resistência ocorre principalmente devido a mutações nos genes *FCY1* e *FUR1*, que codificam enzimas fundamentais para a ativação metabólica do fármaco. Essas alterações impedem a conversão do composto em sua forma ativa, resultando em perda de eficácia e justificando sua utilização preferencial em esquemas combinados (Lockhart, 2019).

A resistência às alilaminas ocorre pelas mutações no gene *SQLE*, que provocam alterações estruturais na enzima-alvo. A formação de biofilmes constitui um dos mecanismos mais relevantes de resistência em fungos patogênicos, desempenhando papel central na manutenção das infecções, especialmente em ambientes hospitalares e em indivíduos imunocomprometidos. O biofilme é caracterizado como uma estrutura microbiana que confere proteção tanto contra agentes antifúngicos quanto contra os mecanismos de defesa do hospedeiro. Este funciona como uma barreira tanto física quanto bioquímica ao tratamento antifúngico, não apenas dificultando a penetração dos fármacos, mas também abrigando células metabolicamente inativas, que exibem um tipo de resistência transitória e não genética a diversas classes de antifúngicos (La Farge et al., 2022). Além disso, a matriz extracelular pode atuar sequestrando moléculas dos medicamentos, como ocorre com a anfotericina B, reduzindo sua disponibilidade e dificultando que alcancem as camadas mais internas do biofilme (Silva et al., 2020).

2.5 LIPPIA ORIGANOIDES

A *Lippia origanoides*, conhecida popularmente como alecrim-pimenta, alecrim-do-nordeste ou estrepa-cavalo, pertence à família *Verbenaceae* (Lorenzi e Matos, 2002), a qual abriga 32 gêneros e aproximadamente 800 espécies distribuídas pela Europa, Ásia, África e Madagascar (Cardoso et al., 2021). Na literatura científica, a espécie é frequentemente referida sob diferentes sinônimos, como *L. sidoides*, *L. affinis*, *L. graveolens* e *L. salviifolia*. Além disso, *L. origanoides* é nativa do

semiárido brasileiro, ocorrendo com destaque na Cadeia do Espinhaço, especialmente nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás (Oliveira et al., 2017).

Do ponto de vista biogeográfico, a espécie apresenta ampla distribuição, ocorrendo em diversas regiões da América do Sul e Central, bem como em áreas tropicais da África e da Austrália. O gênero *Lippia* possui expressiva representatividade nos biomas Caatinga e Cerrado, onde se concentram 120 das 191 espécies atualmente registradas no Brasil (Gomes et al., 2011). Essa ampla adaptação ecológica reforça a relevância do gênero tanto para estudos botânicos quanto para investigações farmacológicas e etnobotânicas.

A *Lippia origanoides* é uma planta bastante utilizada na medicina popular para tratamento de diversas enfermidades (Oliveira et al., 2014), e devido seu potencial terapêutico foi inserida como planta medicinal de interesse do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2018). Sua ação farmacológica na maioria das vezes é atribuída a seu óleo essencial, contudo, várias substâncias bioativas como: carvacrol e timaol, presentes na planta são de importância medicinal (Pascual et al., 2001; Stashenko et al., 2008; Oliveira et al., 2014).

3 METODOLOGIA

Este estudo não envolveu a utilização direta de animais vivos, sendo realizado exclusivamente com materiais biológicos já disponíveis em banco de amostras provenientes de rotina clínica veterinária. Dessa forma, conforme previsto na Resolução Normativa nº 30/2016 do CONCEA, não é exigida a submissão deste projeto ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA). Recebendo a Decisão do número 150/2025 do Conselho Técnico Administrativo (CTA), do Departamento de Medicina Veterinária (DMV), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). 2.1 TÍTULO DAS FIGURAS (QUADROS, TABELAS, ETC.)

Deste modo inicialmente foram coletadas amostra da planta para identificação. A exsiccata da planta encontra-se devidamente incorporada ao acervo do Herbário Dárdano de Andrade Lima, pertencente à Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), sendo registrada sob o número 92547 (Figura 4).

Posteriormente foram coletadas amostras da planta para produção da tintura hidroalcolica. Após a secagem do material em estufa a 40 °C por 48 horas, procedeu-se à pesagem de 20 g da amostra, que foram transferidos para um erlenmeyer. Em seguida, adicionaram-se 100 mL de álcool etílico a 70% na proporção de 1:5 (p/v), conforme as recomendações do Formulário Nacional de Fitoterapia (ANVISA, 2021). Todas as etapas do procedimento foram realizadas no Laboratório de Práticas Integrativas e Fitoterapia (LAPIFI) do Centro Universitário UNIFACOL.

A obtenção do óleo essencial de *L. origanoide* ocorreu por meio de compra em um estabelecimento voltado à venda de produtos naturais, denominado comercialmente Mundo Verde. Situado na rua Dom Vital, bairro Sto. Antônio/ Recife.

Após a produção da tintura e aquisição do óleo essencial, procedeu o início dos testes de atividade antifúngica. Para isso, foram utilizados isolados fúngicos ($n=10$), a partir de amostras padrão, provenientes de casos confirmados de esporotricose felina, diagnosticados e atendidos no ambulatório do Hospital Veterinário Universitário (HUV), vinculado ao Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizado na cidade do Recife, estado de Pernambuco.

As amostras fúngicas foram reativadas em Ágar Sabouraud, utilizando-se alças descartáveis estéreis. A identificação morfológica do fungo foi realizada por meio do teste da fita adesiva (imprint), no qual a fita foi aplicada sobre a colônia cultivada e posteriormente analisada em microscopia óptica, permitindo a visualização das estruturas micromorfológicas características.

A susceptibilidade aos antifúngicos convencionais foi avaliada pelo método de disco-difusão, conforme os protocolos estabelecidos pelo CLSI (CLSI, 2018). O itraconazol ($10 \mu\text{g}$) foi utilizado como controle antifúngico. Após o período de incubação, a leitura das placas foi realizada com o auxílio de um halômetro, considerando-se a presença ou ausência de halos de inibição ao redor dos discos, os quais foram mensurados em milímetros. As amostras foram classificadas como sensíveis quando apresentaram halos de inibição superiores a 12 mm, conforme descrito por Bezerra et al. (2009). Para a avaliação da atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico de *Lippia origanoides*., foram aplicados $50 \mu\text{L}$ do extrato em discos de papel filtro estéreis, o mesmo foi realizado com o óleo essencial.

Em seguida, as culturas foram incubadas sob condições adequadas, à temperatura de 37°C , por períodos de 24, 48 e 72 horas. Após o período de incubação, procedeu-se à avaliação dos halos de inibição formados ao redor dos discos, os quais foram medidos em milímetros.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antifúngica da tintura hidroalcoólica de *Lippia origanoides* frente aos isolados de *Sporothrix spp.* estão descritos na Tabela 1. A tintura da *Lippia origanoides* e do itraconazol não apresentaram atividades antifúngicas frente aos isolados em todas as amostras analisadas.

Tabela 1 - Resultados da avaliação da atividade antifúngica da tintura hidroalcoólica de *Lippia origanoides* frente aos isolados de *Sporothrix* spp. no Laboratório de Doenças Infecciosas do Departamento de Medicina Veterinária

Amostra	Periodicidade da análise					
	24 horas		48 horas		72 horas	
	Lippia	Itraconazol	Lippia	Itraconazol	Lippia	Itraconazol
1	NV	NV	NV	1,0 mm	NV	1,0 mm
2	NV	NV	NV	1,7 cm	NV	1,7 cm
3	NV	NV	NV	NV	NV	NV
4	NV	NV	NV	1,6 cm	NV	1,6 cm
5	NV	NV	NV	1,5 cm	NV	1,5 cm
6	NV	NV	NV	NV	NV	NV
7	NV	NV	NV	NV	NV	NV
8	NV	NV	NV	1,0 cm	NV	1,0 cm
9	NV	NV	NV	NV	NV	NV
10	NV	NV	NV	1,2 cm	NV	1,2 cm

Todos os resultados evidenciaram a ausência de atividade antifúngica da tintura hidroalcoólica de *Lippia origanoides* e do itraconazol frente aos isolados avaliados. A resistência adquirida, por sua vez, caracteriza-se pelo surgimento de cepas previamente sensíveis que desenvolvem mecanismos adaptativos de evasão frente ao agente antifúngico, após exposição prolongada ou inadequada. Esses resultados concordam com Coste et al. (2006) quando afirmam que a adaptação decorre de alterações genéticas, incluindo mutações nos genes que codificam proteínas-alvo, superexpressão de transportadores de efluxo e modificações nas vias biossintéticas do ergosterol, culminando em uma redução da suscetibilidade e aumento da persistência celular diante da pressão seletiva do tratamento.

Figura 5 e 6 - Placa de Petri com discos impregnados de tintura hidroalcoólica e itraconazol, sem formação de halo de inibição, indicando ausência de atividade antifúngica. Fonte: arquivo pessoal, 2026



A eficácia dos antifúngicos disponíveis tem apresentado declínio progressivo devido ao surgimento de resistência em fungos patogênicos, resultante de mecanismos tanto intrínsecos quanto adquiridos. Esse fenômeno tem se intensificado em razão do uso inadequado ou prolongado de fármacos, da persistência de infecções crônicas, da formação de biofilmes e da elevada plasticidade genômica característica de diversos agentes fúngicos (Perlin et al., 2017; Pristov & Ghannoum, 2019).

O itraconazol é o fármaco de eleição no tratamento da esporotricose em cães e gatos (Gremião et al., 2017). Sua eficácia terapêutica está associada à afinidade pelas enzimas do sistema P-450 das leveduras, à rápida absorção sistêmica, à ampla distribuição tecidual e à baixa hepatotoxicidade (Jaham, 2000). Entretanto, relatos de falhas terapêuticas têm sido descritos, indicando que cepas de *S. brasiliensis* podem apresentar resistência ao fármaco, independentemente do laboratório produtor (Waller et al., 2021).

Apesar do número limitado de antifúngicos orais disponíveis para o tratamento em felinos, o itraconazol apresenta boa atividade *in vitro* frente a isolados de *S. brasiliensis*. Contudo, deve-se interpretar com cautela a correlação entre os resultados laboratoriais de suscetibilidade e a resposta clínica *in vivo* (Espinell-Ingroff et al., 2017). Assim, embora o itraconazol continue sendo a primeira escolha terapêutica, é fundamental considerar possíveis variações na resposta ao tratamento, reforçando a necessidade de monitoramento clínico e estudo contínuo sobre resistência adquirida (Nobre et al., 2002; De Souza et al., 2018).

As amostras de *Sporothrix* spp. avaliadas, utilizando antifúngicos de uso clínico consolidado, itraconazol e anfotericina B, bem como produtos de origem vegetal, representados pela tintura e pelo óleo essencial da *Lippia origanoides* (Tabela 2). Os resultados evidenciaram comportamento heterogêneo dos isolados frente aos antifúngicos convencionais, ao passo que os compostos vegetais avaliados não demonstraram atividade antifúngica detectável nas condições experimentais estabelecidas, corroborando com as afirmações de Perlin et al. (2017) Pristov e Ghannoum. (2019) quando afirmam que a resistência tem se intensificado em razão do uso inadequado ou prolongado de fármacos, da persistência de infecções crônicas, da formação de biofilmes e da elevada plasticidade genômica característica de diversos agentes fúngicos.

Tabela 2 - Resultados da avaliação da atividade antifúngica em 72 horas da tintura hidroalcoólica de *Lippia origanoides* e do óleo essencial frente a isolados de *Sporothrix* spp, no Laboratório Microcult Vet, situado na Avenida Afonso Olindense, 216, Várzea, Recife – PE.

Amostra	Itraconazol (mm)	Anfotericina B (mm)	Tintura da <i>Lippia origanoides</i>	Óleo essencial da <i>Lippia origanoides</i>
1	30 mm	Não visível	Não visível	Não visível
2	Não visível	Não visível	Não visível	Não visível
3	Não visível	Não visível	Não visível	Não visível
4	Não visível	Não visível	Não visível	Não visível
5	22 mm	Não visível	Não visível	Não visível
6	22 mm	40 mm	Não visível	Não visível
7	30 mm	40 mm	Não visível	Não visível
8	22 mm	Não visível	Não visível	Não visível
9	28 mm	Não visível	Não visível	Não visível
10	Não visível	Não visível	Não visível	Não visível

O itraconazol apresentou atividade antifúngica em seis das 10 amostras analisadas (60%), com diâmetros dos halos de inibição variando entre 22 e 30 mm. A análise estatística descritiva revelou média de 25,7 mm, mediana de 25 mm e desvio-padrão aproximado de 3,9 mm, indicando uma distribuição relativamente homogênea da resposta entre os isolados considerados sensíveis.

Esses resultados corroboram o papel do itraconazol como fármaco de primeira escolha no tratamento da esporotricose (De Lima Barros et al., 2011). Entretanto, a ausência de inibição observada em parte das amostras sugere a ocorrência de fenótipos com sensibilidade reduzida ou resistência ao fármaco, fenômeno progressivamente descrito em isolados clínicos de *Sporothrix* spp. e que representa um desafio crescente no manejo terapêutico da enfermidade (Waller et al., 2021).

De forma semelhante, a avaliação da anfotericina B evidenciou atividade antifúngica restrita, sendo observada em apenas duas das dez amostras avaliadas (20%). Em ambos os isolados sensíveis, os halos de inibição atingiram 40 mm, caracterizando elevada potência antifúngica.

Contudo, a baixa frequência de resposta reforça a expressiva variabilidade fenotípica entre as cepas testadas. Tal variabilidade pode estar associada a mecanismos de resistência fúngica, como alterações na composição da membrana celular e redução da afinidade do fármaco pelo ergosterol, fatores que potencialmente comprometem a eficácia clínica da anfotericina B, especialmente em tratamentos prolongados ou em casos refratários (Rodrigues et al., 2014).

No que se refere aos produtos de origem vegetal, tanto a tintura quanto o óleo de alecrim-pimenta não apresentaram formação de halos de inibição em nenhuma das amostras analisadas. A ausência de atividade antifúngica *in vitro* sugere que, nas condições metodológicas empregadas, esses derivados não foram capazes de exercer efeito inibitório sobre *Sporothrix* spp. Esse resultado pode estar relacionado a diferentes fatores, incluindo concentração insuficiente dos metabólitos bioativos, limitações inerentes ao método de difusão em ágar, especialmente para substâncias hidrofóbicas, ou ainda à resistência intrínseca das cepas avaliadas (Berkow, Lockhart e Ostrosky-Zeichner 2020).

Embora a atividade farmacológica da espécie vegetal seja frequentemente atribuída ao seu óleo essencial, diversos outros compostos bioativos presentes na planta possuem reconhecida relevância medicinal (Pascual et al., 2001; Stashenko et al., 2008; Oliveira et al., 2014).

No contexto desta pesquisa a ausência de efeito antifúngico sugere que a forma hidroalcoólica utilizada pode não ter sido capaz de expressar adequadamente essa atividade frente aos isolados testados. Dessa forma, os achados indicam a necessidade de investigações adicionais, especialmente quanto às condições de extração, padronização de concentrações e identificação dos compostos responsáveis pela atividade biológica.

De maneira integrada, os resultados obtidos evidenciam a resistência fúngica como um problema emergente na clínica veterinária e humana, com impacto direto sobre a eficácia dos antifúngicos atualmente disponíveis (Perlin, Rautemaa-Richardson e Alastruey-Izquierdo 2017). A presença de isolados com sensibilidade reduzida aos fármacos de escolha compromete o sucesso terapêutico, prolonga o tempo de tratamento, eleva os custos assistenciais e favorece a persistência e disseminação da infecção, particularmente em regiões endêmicas.

A análise conjunta dos halos de inibição e da contagem de UFC/mL reforça que o óleo essencial apresenta uma atividade antifúngica observável nas condições observadas contra diferentes espécies de *Candida*. Esses achados corroboram estudos prévios que relatam a eficácia do óleo essencial de *L. origanoides* contra leveduras patogênicas, atribuindo seu efeito principalmente à presença de timol e carvacrol, compostos que atuam na desestabilização da membrana celular e na inibição de enzimas essenciais ao metabolismo fúngico (Arcoverde, 2025).

A esporotricose assume relevância ainda maior por se tratar de uma zoonose de importância crescente, resultante da interação entre animais, seres humanos e o ambiente. A emergência de cepas resistentes de *Sporothrix* spp. em animais, especialmente em gatos, representa um risco significativo não apenas para a clínica veterinária, mas também para a Saúde Pública, uma vez que esses animais atuam como importantes reservatórios e fontes de infecção para humanos (Mashcio-Lima et al., 2021). Assim, o monitoramento contínuo da sensibilidade antifúngica, aliado à investigação de alternativas terapêuticas eficazes, constitui estratégia fundamental para o controle da doença e para a mitigação dos impactos clínicos e epidemiológicos associados à resistência fúngica (Gurajala et al., 2026).

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que, nas condições experimentais utilizadas, a tintura hidroalcoólica e o óleo essencial de *Lippia origanoides* não apresentaram atividade antifúngica *in vitro* frente aos isolados de *Sporothrix* spp. avaliados. A ausência de halos de inibição para ambos os produtos vegetais sugere que os metabólitos bioativos presentes não foram capazes de exercer efeito inibitório detectável pelo método de difusão em ágar, possivelmente em razão de limitações relacionadas à concentração utilizada, à natureza hidrofóbica do óleo essencial ou à baixa difusão dessas substâncias no meio sólido. Esses achados indicam que, embora a espécie vegetal apresente reconhecido potencial antimicrobiano descrito na literatura, tal atividade não se confirmou frente aos isolados analisados neste estudo.

A avaliação dos antifúngicos convencionais evidenciou comportamento heterogêneo dos isolados, com atividade antifúngica do itraconazol observada em parte das amostras e ausência de

resposta em outras, reforçando a existência de perfis de sensibilidade reduzida ou resistência. Esses resultados destacam a relevância do monitoramento contínuo da susceptibilidade antifúngica de *Sporothrix* spp., especialmente diante do impacto clínico e epidemiológico da esporotricose como zoonose emergente. Assim, os dados obtidos contribuem para o entendimento das limitações terapêuticas atuais e reforçam a necessidade de estudos adicionais envolvendo diferentes métodos de extração, concentrações, ensaios complementares e abordagens alternativas, visando à identificação de estratégias eficazes no controle da esporotricose na clínica veterinária.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro da CAPES e CNPq

REFERÊNCIAS

- ANAND, U. et al. A review on antimicrobial botanicals, phytochemicals and natural resistance modifying agents from Apocynaceae family. *Drug Resistance Updates*, Amsterdam, v. 51, p. 100695, 2020.
- ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Formulário Fitoterápico – FFFB2. Brasília, 2021.
- ARCOVERDE, A. S. W. de B. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial e da tintura hidroalcoólica de *Lippia origanoides* frente a amostras fúngicas do gênero *Candida*. 2025. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Centro Universitário FACOL (UNIFACOL), Vitória de Santo Antão, 2025.
- BERKOW, E. L.; LOCKHART, S. R.; OSTROSKY-ZEICHNER, L. Antifungal susceptibility testing: current approaches. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 33, n. 3, e00069-19, 2020.
- BEZERRA, D. A. C. et al. Atividade biológica da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* Willd.) sobre *Staphylococcus aureus* isolados de casos de mastite bovina. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 4, p. 814–817, 2009.
- BRANDÃO, M. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais contra fungos filamentosos patogênicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 57, n. 3, p. 1–10, 2021.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. 6. ed. Brasília: ANVISA, 2021.
- BRILHANTE, R. S. N. et al. In vitro susceptibility of antifungal drugs against *Sporothrix brasiliensis* recovered from cats with sporotrichosis. *Medical Mycology*, v. 54, n. 3, p. 275–279, 2016.
- BRUNO, L. O.; MARQUES, L. C.; CARDOSO, C. M. Z. Análise das normas vigentes para registro de fitoterápicos veterinários no Brasil. *Science and Animal Health*, v. 4, n. 3, p. 209–227, 2016.
- CLSI. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. 11th ed. Wayne: CLSI, 2018.
- COSTA, G. C. S. Uso da terbinafina comparado ao iodeto de potássio e itraconazol no tratamento da esporotricose felina. 2017, 61 f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) – UFRRJ, Rio de Janeiro, 2017.
- COSTE, A. T. et al. Miconazole-induced ERG11 mutations and increased efflux pump activity in *Candida albicans* clinical isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, v. 50, n. 10, p. 3254–3258, 2006.
- CORTES, G. F.; PIERRE, M. B. R. Potenciais antifúngicos de origem natural para o tratamento da esporotricose felina. *Research, society na development*, v. 13, n.5, e6513545782, Rio de Janeiro, 2024. DOI: 10.33448/rsd-v13i5.45782, 2024.
- DE LIMA BARROS, M. B. et al. Treatment of cutaneous sporotrichosis with itraconazole--study of 645 patients. *Clinical Infectious Diseases*, v. 52, n. 12, p. e200–e206, 2011.

EBANI, V. V. et al. Antimicrobial activity of five essential oils against bacteria and fungi responsible for urinary tract infections. *Molecules*, v. 23, n. 7, p. 1668, 2018.

ENIOUTINA, E. Y. et al. Phytotherapy as an alternative to conventional antimicrobials: combating microbial resistance. *Phytotherapy Research*, Hoboken, v. 31, n. 11, p. 1203–1214, 2017.

ESPINEL-INGROFF, A. et al. Antifungal susceptibility testing in *Sporothrix* spp. 2017.

GREMIÃO, I. D. F. et al. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. *PLoS Pathogens*, v. 13, n. 1, 2017.

GUPTA, A. K.; VERSTEEG, S. G.; SHEAR, N. H. Onychomycosis in the 21st century. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, v. 21, n. 6, p. 525–539, 2017.

GURAJALA, S.; CHALLAPILLA, M. A quiet but growing threat: global perspectives on antifungal resistance and future therapeutic approaches. *Indian Journal of Pharmacology*, v. 58, n. 1, p. 35–45, 2026.

HERNANDES, C. et al. *Lippia origanoides* essential oil: an efficient and safe alternative to preserve food, cosmetic and pharmaceutical products. *Journal of Applied Microbiology*, v. 122, n. 4, p. 900–910, 2017.

MACÊDO-SALES, P. A. et al. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil. *BMC Veterinary Research*, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2018.

MADRID, I. M. et al. Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis. *Mycopathologia*, v. 173, n. 4, p. 265–273, 2012.

MIRANDA, L. H. M. et al. Monitoring fungal burden and viability of *Sporothrix* spp. in skin lesions of cats. *Journal of Fungi*, v. 4, n. 3, p. 1–11, 2018.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades. *Journal of Natural Products*, Washington, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.

OLIVA, M. L. et al. *Lippia origanoides* derivatives in vitro evaluation on polymicrobial biofilms. *Archives of Oral Biology*, v. 148, p. 105656, 2023.

OLIVEIRA, D. R. et al. Ethnopharmacological studies of *Lippia origanoides*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 24, n. 2, p. 206–214, 2014.

OROFINO-COSTA, R. et al. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 92, n. 5, p. 606–620, 2017.

PASCUAL, M. E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 76, n. 3, p. 201–214, 2001.

PERLIN, D. S.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A. The global problem of antifungal resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 17, n. 12, p. e383–e392, 2017.

PRISTOV, K. E.; GHANNOUM, M. A. Resistance to antifungal agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 2019.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, Oxford, v. 39, n. 5, p. 603–613, 2001.

RIBEIRO, F. P. et al. Chemical composition and antibacterial activity of the *Lippia origanoides*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2021, 9930336, 2021.

RODRIGUES, A. M. et al. Genetic diversity and antifungal susceptibility profiles of *Sporothrix schenckii* sensu lato isolated in Brazil. *BMC Infectious Diseases*, v. 14, p. 219, 2014.

RODRIGUES, A. M. et al. The threat of emerging and reemerging pathogenic *Sporothrix* species. *Mycopathologia*, 2020.

RODRIGUES, J. S. S. P. et al. Effects of herbal medicines in combating antimicrobial resistance. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 85, e291632, 2025.

SANCHOTENE, K. O. et al. In vitro susceptibility of *Sporothrix brasiliensis*. *Medical Mycology*, v. 55, n. 8, p. 869–876, 2017.

SANTI, J. P. Et al. Intranasal clotrimazole spray 1% associated with oral itraconazole for nasal feline sporotrichosis: a case series. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, v. 44, e004821, Rio de Janeiro, 2022. DOI: 10.29374/2527-2179.bjvm004821

SANTOS, C. R. G. R. Uso da anfotecina b intralesional ou subcutânea associada ao itraconazol oral para o tratamento da esporotricose felina. 2019, 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – UFRRJ, Rio de Janeiro, 2019.

SARRAZIN, S. L. et al. Antimicrobial and seasonal evaluation of the carvacrol-chemotype oil from *Lippia origanoides*. *Molecules*, v. 20, n. 2, p. 1860–1871, 2015.

STASHENKO, E. E. et al. Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia origanoides*. *Natural Product Communications*, v. 3, n. 4, 2008.

WALLER, S. B. et al. Susceptibility and resistance of *Sporothrix brasiliensis* to itraconazole formulations. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 52, n. 1, p. 155–162, 2021.