

USO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) EM OVELHAS: TOXICIDADE INTRAVAGINAL E HEPÁTICA

Carla Soares Rodrigues¹, Marcos Fernando Mattos Lopes da Costa¹, Beatriz Brasilio Vilela¹, Marco Túlio Costa Almeida¹, Larissa Marchiori Sena², Carla Braga Martins¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Campus Alegre, Alto Universitário s/n, Guararema, Alegre, Espírito Santo, Brasil, carlasr2011@live.com, marcos.f.costa@edu.ufes.br, biabvilela24@gmail.com, marco.t.almeida@ufes.br, carla.martins@ufes.br.

²Laboratório Devetis, Rua Jequitibá, 196, loja D, Horto Ipatinga, MG, larissa.sena@devetis.com.br.

Resumo

Diante do avanço da resistência bacteriana, cresce o interesse por alternativas terapêuticas aos antibióticos, como os óleos essenciais. Este estudo avaliou a toxicidade e os efeitos do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) administrado por via intravaginal em ovelhas. Foram utilizadas 12 fêmeas adultas, divididas em grupo controle e tratados com concentrações de 15% e 20%, diluídas em óleo de coco. As aplicações ocorreram a cada 24 horas, por três dias consecutivos, com avaliações da mucosa vaginal e análises bioquímicas séricas (fibrinogênio, AST, GGT e albumina) em diferentes momentos (0h, 15min, 24h e 48h). Verificou-se que a concentração de 20% não causou alterações na mucosa vaginal. Já a de 15% causou hiperemia e edema em alguns animais. Entretanto, não houve sinais persistentes de inflamação ou lesões permanentes. As variações de fibrinogênio e AST permaneceram dentro da normalidade. O aumento da GGT não foi relacionado a lesão hepática e os níveis de albumina mantiveram-se estáveis. Conclui-se que a concentração de 20% foi segura, enquanto a de 15% apresentou apenas irritação local, sem toxicidade sistêmica.

Palavras-chave: ovinos. veterinária. carvacrol. fitoterapia. orégano.

Área do Conhecimento: Medicina Veterinária.

Introdução

Os antibióticos têm sido amplamente utilizados no tratamento de infecções uterinas. Porém, a crescente preocupação com o surgimento de bactérias resistentes e com a presença de resíduos antimicrobianos nos produtos de origem animal tem impulsionado o desenvolvimento de pesquisas voltadas à busca por alternativas terapêuticas (Leblanc, 1989; Rodrigues *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2014).

Nesse contexto, a fitoterapia tem ganhado destaque, sendo foco de diversas investigações científicas. Dentre os compostos naturais estudados destacam-se os óleos essenciais, que são metabólitos secundários extraídos das plantas, caracterizados por sua complexa composição química e suas vantagens adaptativas. Ao longo do tempo, testes laboratoriais demonstraram sua eficácia antimicrobiana frente a diversas bactérias, tanto em humanos quanto em animais (Tisserand, 2017).

O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) é constituído principalmente pelo carvacrol, componente químico responsável por suas propriedades medicinais. Dentre elas destaca-se a capacidade de romper a membrana externa das bactérias (Dorman; Deans, 2000).

É fundamental destacar a importância da avaliação da função hepática, especialmente em estudos que envolvem a administração de substâncias com potencial efeito farmacológico, como os óleos essenciais. O fígado é o principal órgão responsável pela metabolização desses compostos e, em situações de toxicidade, tende a ser diretamente afetado. Na espécie ovina, aumentos na concentração sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT) são indicadores de lesão hepática (Lester *et al.*, 2015).

Além disso, a função hepática também pode ser avaliada por meio da quantificação de constituintes sanguíneos sintetizados pelo fígado, como a albumina (Thrall, 2014; Lester *et al.*, 2015).

Embora os estudos sobre o uso de óleos essenciais em animais tenham aumentado, ainda são escassas as pesquisas em ovinos, sobretudo na área reprodutiva. Há carência de informações quanto à toxicidade em mucosas e pele, vias comuns de administração desses compostos. Considerando a relevância da mucosa vaginal como via terapêutica, torna-se necessária a investigação de seus efeitos locais e sistêmicos. Destaca-se também a importância de avaliar possíveis impactos sobre a função hepática. Nesse contexto, este estudo objetivou avaliar a toxicidade e os efeitos do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) administrado por via intravaginal em ovelhas.

Metodologia

O estudo foi aprovado pelo CEUA/UFES (007/2024). Foram utilizadas 12 ovelhas adultas, múltiparas, híbridas, mestiças Dorper x Santa Inês, com peso médio de 41 kg, mantidas em sistema semi-intensivo. A sanidade foi confirmada por exame físico, coproparasitológico e hemograma.

Foram testadas as concentrações de 15% e 20% do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) diluído em óleo de coco, utilizado como carreador natural por sua rápida absorção e capacidade de favorecer a penetração dos óleos essenciais, ambos adquiridos comercialmente (Do Terra®). A concentração de 20% foi preparada com 2,5 mL de óleo essencial em 10 mL de óleo de coco, enquanto a de 15% foi obtida com 1,76 mL de óleo essencial em 10 mL do veículo.

Os animais foram distribuídos em dois grupos, controle e tratado, com seis ovelhas cada. O grupo controle recebeu aplicação intravaginal de óleo de coco, enquanto o tratado recebeu óleo essencial de orégano a 15% e 20%. As duas concentrações foram testadas nos mesmos animais, em dois períodos experimentais distintos, com intervalo de 35 dias. As aplicações foram realizadas na mucosa vaginal com swab estéril embebido em 50 µL do óleo, com intervalo de 24 horas, durante três dias consecutivos. O grupo controle seguiu o mesmo protocolo de administração.

Antes das aplicações, coletou-se sangue por venopunção jugular para hemograma e análise bioquímica (fibrinogênio, AST, GGT e albumina).

A mucosa vaginal foi avaliada antes (0h) e após a aplicação do óleo (15 min, 24 h e 48 h), considerando coloração, rubor, edema, exsudato, prurido e tipos de lesões, com registro fotográfico e em fichas individuais.

Para padronização, adotou-se uma escala de graus de 0 a 5 para classificar a coloração e as alterações da mucosa vaginal em ovelhas. O grau 0 corresponde à mucosa rósea normal, úmida e brilhante. O grau 1 indica mucosa pálida, com coloração rosa clara. O grau 2 representa mucosa levemente hiperêmica, avermelhada e brilhante, enquanto o grau 3 caracteriza-se por hiperemia intensa, com coloração vermelho-vivo. O grau 4 corresponde à mucosa levemente edemaciada, apresentando discreto aumento de volume e aspecto brilhante. Por fim, o grau 5 descreve mucosa edemaciada, com aumento significativo de volume e brilho evidente.

A presença de processos inflamatórios foi avaliada pela dosagem de fibrinogênio plasmático. Já a função hepática e possíveis efeitos hepatotóxicos foram investigados por meio da análise das enzimas AST, GGT e dos níveis de albumina.

Os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado com medidas repetidas, considerando tratamento, tempo e interação TR × TP como efeitos fixos, e o animal como efeito aleatório. As análises foram realizadas no SAS Studio usando PROC MIXED, com médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e apresentadas como média ± EPM. Dados ordinais foram avaliados pelo teste de Kruskal–Wallis, com análise descritiva detalhada em caso de tendência à significância ($p \leq 0,10$).

Resultados

A avaliação das mucosas vaginais indicou que, na maioria dos momentos observados, não houve diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), exceto por uma tendência à significância 15 minutos após a segunda ($p = 0,050$) e a terceira aplicação do óleo ($p = 0,051$). No grupo tratado com OEO 15%, apenas dois animais apresentaram alterações: um com mucosa levemente hiperêmica (grau 2) 15 minutos após a primeira aplicação e outro com alteração similar após 24 horas, sem

persistência nos momentos subsequentes. Nas demais avaliações, não foram observadas reações ou alterações inflamatórias na mucosa vaginal dos animais tratados.

No grupo controle, dois animais apresentaram grau 2 em 24 e 48 horas após a primeira aplicação, sem alterações significativas após reaplicações. Um animal apresentou sequência de alterações de grau 3 para 2. Quinze minutos após a aplicação do óleo de coco, um animal exibiu grau 3 e outro grau 4 (mucosa levemente edemaciada). Acredita-se, que tais manifestações de forma isoladas decorram da sensibilidade individual, associada às características fisiológicas do próprio animal. Riviere e Papich (2018) destacam que a resposta a fármacos ou substâncias pode variar significativamente entre indivíduos, mesmo em condições experimentais controladas, devido a fatores genéticos, fisiológicos e metabólicos.

Na avaliação da mucosa vaginal dos animais tratados com OEO 20%, observou-se que nem todos apresentaram reações. Porém, três animais exibiram alterações em todos os momentos de avaliação após a aplicação do óleo. As alterações variaram em intensidade e, na maioria dos casos, não se mantiveram ao longo do tempo. Alterações classificadas como grau 2, correspondentes a mucosa levemente hiperêmica, foram observadas quinze minutos após cada aplicação, possivelmente decorrentes de aumento da perfusão sanguínea local. Nas avaliações de 24 e 48 horas, três animais do grupo tratado apresentaram sinais de hiperemia e edema. A Figura 1 apresenta sequências de imagens da mucosa vaginal de um animal pertencente ao grupo tratado.

Figura 1- Alterações na mucosa vaginal de um animal do grupo tratado. Observa-se evolução de mucosa rósea (grau 0) no momento 0 horas, desenvolvimento de hiperemia (grau 3) após 24 horas e presença de edema (grau 5) em 48 horas.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Os parâmetros bioquímicos séricos de ovinos submetidos a diferentes tratamentos e tempos de avaliação estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos séricos de ovinos submetidos a diferentes tratamentos e tempos de avaliação durante o período experimental para avaliação da toxicidade do óleo essencial de orégano.

Variáveis	Tratamentos	0 horas	24 horas	48 horas
Fibrinogênio (mg/dL)	Controle	216,7 ^b	216,7 ^b	400 ^a
	OEO 15%	333,3 ^b	200 ^b	350 ^{ab}
	OEO 20%	283,3	283,3	266,7
AST (U/L)	Controle	86,3 ^B	85,2 ^B	80,2 ^B
	OEO 15%	127 ^{Aa}	116,8 ^{Ab}	108,3 ^{Ab}
	OEO 20%	131,2 ^{Aa}	127,5 ^{Aab}	120 ^{Ab}
GGT (U/L)	Controle	53,7	54	53,8
	OEO 15%	56	53,7	50,8
	OEO 20%	56,4	54,4	49,2
Albumina (g/dL)	Controle	2,78	2,75	2,77
	OEO 15%	3,3 ^a	2,85 ^b	2,85 ^b
	OEO 20%	2,88	2,97	2,82

Letras maiúsculas representam comparações na mesma coluna (entre grupos) e letras minúsculas na mesma linha (entre momentos). Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: Elaboração próprio autor.

Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de fibrinogênio (FB) entre os grupos controle, óleo essencial a 15% (OE15%) e óleo essencial a 20% (OE20%) em nenhum dos tempos analisados ($p > 0,05$). Entretanto, verificou-se aumento significativo no FB ao longo do tempo

nos grupos controle e OE15%, particularmente no momento de 48 horas, em comparação aos tempos iniciais. Em contrapartida, o grupo OE20% não apresentou variação significativa entre os diferentes tempos.

Para a albumina (ALB), não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de albumina entre os grupos controle, OE15% e OE20% nos tempos de 24h e 48h ($p > 0,05$). Na análise intragrupo, apenas os animais tratados com OE15% apresentaram variação significativa ao longo do tempo, com redução da concentração de albumina observada entre o momento inicial (0h) e os tempos subsequentes (24h e 48h). Nos grupos controle e OE20% não foram detectadas diferenças significativas entre os tempos ($p > 0,05$).

Para a gama glutamiltransferase (GGT), não houve diferenças significativas entre grupos e tempos ($p > 0,05$).

Os grupos tratados (OE15% e OE20%) apresentaram valores mais elevados de aspartato aminotransferase (AST) em relação ao controle em todos os momentos. Observou-se redução progressiva da AST no grupo OE15%, discreta diminuição no OE20% e estabilidade no controle.

Todos os ovinos mantiveram os níveis séricos de fibrinogênio dentro dos valores de referência (100 a 500 mg/dL), conforme descrito por Kaneko, 1997; Meyer e Harvey, 2004. Esses achados indicam ausência de processo inflamatório sistêmico, uma vez que as reações observadas foram leves e restritas à mucosa. Em ovinos, o fibrinogênio é um dos principais marcadores de resposta inflamatória aguda, e elevações em suas concentrações séricas estão associadas à ocorrência de processos inflamatórios (Simplício *et al.*, 2013).

Todos os animais tratados com óleo essencial de orégano (OEO) a 15% e 20% mantiveram-se dentro dos valores de referência para albumina descritos na literatura, entre 2,4 e 3,0 g/dL (Kaneko *et al.*, 2008). Esses resultados indicam que não houve comprometimento hepático significativo nos animais avaliados, em relação à dosagem de albumina.

Discussão

Por serem produtos altamente concentrados extraídos de plantas, os óleos essenciais tendem apresentar toxicidade superior do que a espécie vegetal original. Entretanto, o grau de toxicidade apresentada por essas substâncias depende de vários fatores, entre eles a frequência de aplicação, dose utilizada e via de administração (Oliveira; Lucena, 2015). Baseado nesse aspecto, concentrações mais altas podem induzir efeitos adversos. No presente estudo o OEO 15% apresentou menos alterações, enquanto o OEO 20% causou mais reações, embora ainda leves e transitórias.

Cho *et al.* (2015) observaram que, no tratamento intramamário de mastite bovina causada por *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, a aplicação de uma pomada contendo 0,9 mL de OEO promoveu melhora nas condições físicas do úbere após o tratamento.

Oyarzabal *et al.* (2011) avaliaram a toxicidade do OEO a 3% em formulação para aplicação intramamária em vacas. A análise histológica dos tetos mostrou ausência de diferenças significativas entre os grupos tratados com fitoterápico e com antibióticos.

Machado e Junior (2011), relataram baixa irritabilidade do óleo de orégano em testes de toxicidade dérmica em modelos animais, indicando seu potencial de segurança para uso tópico. De acordo com Tisserand e Young (2014), concentrações moderadas do óleo essencial não provocam irritação cutânea significativa. Embora realizados na pele, esses estudos sugerem que o óleo apresenta perfil promissor para aplicação em mucosas, devido à sua baixa irritabilidade.

De forma semelhante ao presente estudo, a literatura descreve reações como hiperemia e edema após a aplicação de óleos essenciais em ratos e coelhos. Schunc (2011) observou que a instilação de óleo essencial de orégano (OEO) em ratos provocou hiperemia em todos os animais uma hora após a aplicação, revertendo-se em 24 horas, sem sinais de irritação ocular até 72 horas.

Oliveira *et al.* (2016) avaliaram o efeito do óleo essencial de Orégano sobre a mucosa ocular de coelhos. Na concentração de 3%, foi observado hiperemia conjuntival após 1 hora da instilação do produto, no qual diminuiu após 24 horas e esteve ausente em todos os outros tempos de avaliação.

Em ruminantes, a redução da albumina ocorre apenas em casos de comprometimento hepático grave, sendo um marcador pouco sensível para toxicidade hepática precoce. Em contrapartida, seu aumento geralmente reflete condições nutricionais favoráveis, como dietas ricas em proteínas (Radostits *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2023).

É importante ressaltar que um animal do grupo tratado com OEO a 20% apresentou valores discrepantes para GGT em todos os momentos avaliados (555, 530 e 554 U/L), sendo retirado da análise estatística. Todavia, em ruminantes, o aumento isolado da enzima GGT não constitui evidência suficiente de lesão hepatocelular, a menos que esteja associado ao aumento de AST ou sorbitol desidrogenase (SDH) (Radostits *et al.*, 2016).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos com 20% e 15% de óleo essencial de orégano em relação ao grupo controle, entretanto a média de todos os tratamentos permaneceu acima dos valores de referência, estabelecidos entre 20 e 52 U/L (Kaneko *et al.*, 2008). O aumento da GGT pode estar relacionado à ação de compostos fenólicos, como carvacrol e timol, que podem interferir na excreção biliar, provocando acúmulo de bile nos hepatócitos e consequente colestase (Bešlo *et al.*, 2023; Redan *et al.*, 2016).

Gendy *et al.* (2021), ao avaliarem o efeito do carvacrol em ratos com fibrose hepática, observaram que o composto reduziu os níveis séricos elevados das enzimas alanina aminotransferase (ALT), AST e GGT. Resultados semelhantes foram descritos por Aristatile *et al.* (2009), que relataram diminuição das enzimas hepáticas em casos de hepatotoxicidade induzida por D-galactosamina.

Nos grupos tratados com OEO, a atividade sérica de AST permaneceu dentro dos valores de referência (60–280 U/L) descritos por Kaneko *et al.* (2008), sem evidências de lesão hepática. De forma semelhante, Jia *et al.* (2018) não observaram alterações significativas de ALT em ratos submetidos à administração de óleos essenciais.

Al-Saeed *et al.* (2024) demonstraram que a administração de 100 mg/kg de óleos essenciais de tomilho e orégano em ratos com toxicidade hepática induzida por malatão normalizou significativamente as enzimas ALT, AST e fosfatase alcalina. De forma semelhante, Zhão *et al.* (2021) demonstraram que o carvacrol reduziu os níveis séricos de ALT e AST em camundongos com diabetes mellitus tipo 2, evidenciando efeito protetor hepático.

Conclusão

O tratamento com óleo essencial de orégano na concentração de 15% foi considerado seguro e não irritante para a mucosa vaginal. Enquanto na concentração de 20% promoveu hiperemia na maioria dos animais, sendo considerado irritativo. Em ambas as concentrações (15 e 20%) não foram identificados sinais de toxicidade hepática.

Referências

AL-SAEED, F.; ABD-ELGHAFAR, S.; ALI, M. Eficiência dos óleos essenciais de tomilho e orégano no combate aos efeitos nocivos do malatão em ratos. **Animals: um periódico de acesso aberto do MDPI**, 2024.

BEŠLO, D. *et al.* Antioxidant activity, metabolism, and bioavailability of polyphenols in the diet of animals. **Antioxidants (Basel)**, v. 12, n. 6, p. 1141, 2023.

CHO, B. W. *et al.* Therapeutic effect of oregano essential oil on subclinical bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Korean Journal of Veterinary Research**, v. 55, n. 4, p. 253-257, 2015.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Agente antimicrobianos de plantas: atividade antimicrobiana do óleo volátil vegetal. **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, p. 308-316, 2000.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997.

LEBLANC, S. J. Infecções uterinas na égua. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 8., 1989, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte: [s.n.], 1989. p. 102.

LESTER, S. J.; MOLLAT, W. H.; BRYANT, J. E. Overview of clinical pathology and the horse. **The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 31, n. 2, p. 247-268, 2015.

MACHADO, B. F. M. T.; JUNIOR, A. F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Medicina Veterinária Laboratorial: Patologia Clínica**. 3. ed. Saint Louis: WB Saunders Company, 2004.

NOGUEIRA, D. M. et al. Enzimologia clínica. In: MOURA, R. A. **Técnicas de laboratório**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, cap. 8, p. 56-211, 1982.

OLIVEIRA, D. M. S.; LUCENA, E. M. P. O uso de plantas medicinais por moradores de Quixadá-Ceará. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 3, p. 17-25, 2015.

OLIVEIRA, T. C. et al. Avaliação da irritação ocular aguda de dose única do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. em coelhos. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 75, n. 1, p. 17-21, 2016.

OYARZABAL, M. E. B. **Aplicação do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) no tratamento da mastite bovina e presença de fungos no leite bovino in natura**. 2011. 129 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

RADOSTITS, O. M. et al. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 11. ed. London: Saunders Elsevier, 2016.

REDAN, B. W. et al. Altered transport and metabolism of phenolic compounds in obesity and diabetes: implications for functional food development and assessment. **Advances in Nutrition**, v. 7, n. 6, p. 1090-1104, 2016.

RIVIERE, J. E.; PAPICH, M. G. **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 10. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2018.

RODRIGUES, A. M. C. et al. Dosagem de albumina: importância clínica e laboratorial. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 42, n. 1, p. 45–51, 2010.

RODRIGUES, M. T. et al. Detecção de resíduos de antibióticos em leite UHT e leite pasteurizado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 2, p. 82–90, 2012.

SILVA, V. F. et al. Potencial antimicrobiano de extratos etanólicos de plantas frente a bacilos gram negativos isolados da mucosa cervico-vaginal de ovelhas criadas na região de Petrolina-PE. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 883- 890, 2014.

SIMPLÍCIO, K. M. M. G. et al. Proteinograma sérico, com ênfase em proteínas de fase aguda, de bovinos saudáveis e bovinos portadores de enfermidade aguda de ocorrência natural. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 5, p. 1339-1347, 2013.

THRALL, A. M. et al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2014.

TISSERAND, R. Aromaterapia para todos. Belo Horizonte: Laszlo, 2017. Disponível em: <https://www.laszlo.com.br/livro-aromaterapia-para-todos.html>.

VIEIRA, K. M. et al. Influência do óleo de *Copaifera langsdorffii* no reparo de ferida cirúrgica em presença de corpo estranho. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 613-620, 2019.

ZHAO, F.; LI, X.; LI, Y. Effects of graded levels of dietary protein supplementation on lactating ewes. **Journal of Animal Science**, v. 101, n. 5, p. 1–10, 2023.