

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *MELALEUCA ALTERNIFOLIA* (TEA TREE OIL) SOBRE MICRORGANISMOS ISOLADOS A PARTIR DO CONDUTO AUDITIVO DE CÃES ACOMETIDOS POR OTITE EXTERNA

GABRIELA SANDRI¹, MARIA CAROLINA ALVES DE MARTINI², GABRIELA SUTHOVSKI³, KARINA RAMIREZ STARIKOFF⁴, DALILA MOTER BENVENEGÚ⁵

1 Introdução/Justificativa

A otite externa é uma doença auditiva que acomete com muita frequência os animais de companhia e apresenta inúmeros fatores predisponente, dentre eles pode ser citado a microbiota do ouvido externo do animal (BONATES, 2003). Atualmente as formulações fitoterápicas são muito utilizadas como terapias alternativas para o tratamento de dermatopatias, visto que, apresentam principalmente propriedade bactericida. E, dentre as plantas com tal propriedade destaca-se a *Melaleuca alternifolia* (OLIVEIRA et al., 2011). Desta maneira, focando no fato de que diversos óleos extraídos de plantas possuem propriedades antimicrobiana, a utilização dos mesmos na prática veterinária pode fornecer uma alternativa às terapias convencionais em várias situações (ENIOUTINA et al., 2017). Portanto, justifica-se a necessidade de pesquisas adicionais sobre óleos vegetais, bem como o desenvolvimento de novas estratégias com o intuito de melhorar essas substâncias já produzidas pela natureza.

2 Objetivos

O objetivo geral do estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do óleo de melaleuca

1 Acadêmica do curso de Nutrição da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza-PR, participante do grupo de pesquisa “Segurança Alimentar e Nutricional” bolsista de iniciação científica do CNPq, e-mail: gabi-sandri03@hotmail.com

2 Acadêmica do Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar Animal e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza-PR.

3 Acadêmica do Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar Animal e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza-PR.

4 Docente da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza-PR, tutora do Programa de Educação Tutorial (PET) Medicina Veterinária/ Agricultura Familiar (2018).

5 Docente da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza-PR, participante do grupo de pesquisa “Segurança Alimentar e Nutricional”.



sobre microrganismos causadores de otite externa isolados a partir do conduto auditivo de cães.

3 Material e Métodos/Metodologia

A pesquisa foi realizada na Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* Realeza, sendo que os animais selecionados para a pesquisa a fim de coleta de material do conduto auditivo foram pacientes da rotina dermatológica pertencente à Superintendência Unidade Hospitalar Veterinária Universitária (SUHVU-UFFS). O óleo essencial de melaleuca foi adquirido comercialmente, visto que, possibilitou uma maior confiabilidade da natureza do produto. A coleta do material dos cães foi realizada por uma profissional médica veterinária na SUHVU-UFFS, utilizando *swabs* estéreis, os quais foram armazenados em meio de transporte isento de contaminação. Em seguida, foram confeccionadas lâminas para microscopia por coloração de Gram e o material foi semeado em ágar *Mueller Hinton* e ágar *Sabouraud* acrescido de cloranfenicol e mantidas em estufa durante 24-48 horas a 37°C. Após esse processo os microrganismos isolados foram identificados e inoculados em caldo BHI/*Sabouraud* com glicerina e mantidos a -80°C até a realização das análises posteriores. A partir disto, foi retirada uma alçada de 0,01 μL que foi transferida para um tubo com 5 mL de tal caldo e incubada a 37°C por 24 horas. Após esse período, a concentração de microrganismos foi padronizada em solução salina até atingir 0,5 na escala McFarland o que também foi confirmado através de espectrofotometria, obtendo-se uma absorbância de aproximadamente 0,093 Å, utilizando o comprimento de onda de 625 nm, o que representa 1 - 2 UFC/mL $\times 10^8$ (inóculo). A técnica utilizada para avaliar a atividade antimicrobiana foi a microdiluição em microplacas, que foi realizada em duplicata. No primeiro poço da microplaca foi pipetado 200 μL de caldo BHI/*Sabouraud* e nos demais poços foram pipetados 100 μL do mesmo caldo. Ainda, no primeiro poço foi pipetado 20 μL do óleo essencial a ser testado acrescido de 1% de polissorbato 80, iniciando-se com uma concentração de 10%. A partir desta concentração, foi realizada diluição seriada de 1:2 para os demais poços da microplaca, obtendo-se as concentrações de 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156% e 0,078%, totalizando sete diluições subsequentes. Na sequência, foi pipetado 10 μL de inóculo em cada poço da microplaca. E, as duas últimas colunas da placa foram utilizadas na seguinte



forma: somente o meio de cultura, meio de cultura mais o inóculo e meio de cultura mais o óleo a ser testado. Por fim, a microplaca foi lida em espectrofotômetro, incubada a 37 °C por 24/48 horas e após esse período realizada uma nova leitura no espectrofotômetro. Para o teste da concentração inibitória mínima (CIM) foi utilizado um revelador (Resazurina 0,01%), onde foi pipetado 20 µL em cada orifício da microplaca. Após, a microplaca foi incubada a 37°C por 1 hora e realizada nova leitura. Quando se obteve a coloração azul, indicou a ausência de crescimento microbiano e a coloração rosa/vermelha indicou metabolismo celular, ou seja, crescimento microbiano. Já a concentração bactericida mínima (CBM) foi avaliada através da semeadura do conteúdo de cada poço em placas de ágar *Mueller-Hinton*, incubadas a 37°C por 24 horas e observou-se a presença ou ausência do crescimento bacteriano.

4 Resultados e Discussão

Foi realizada a coleta de 38 bactérias do conduto auditivo dos cães, sendo que das bactérias isoladas 14 foram identificadas como Cocos Gram +, Catalase + e Coagulase +. Foi realizada análise da atividade antimicrobiana, onde observou-se que a CBM e a CIM do óleo de melaleuca nessas bactérias apresentou-se com concentrações maiores ou iguais a 5%. Um estudo realizado por Simões et al. (2002) demonstrou que a complexidade química do óleo de melaleuca favorece a sua ação antimicrobiana e bactericida, sendo associada à grande capacidade de se misturar as secreções sebáceas e penetrar na pele. Assim, vem sendo estudado seu uso como antisséptico tópico no tratamento adjuvante de dermatopatias.

5 Conclusão

Observou-se que as concentrações de óleo de melaleuca utilizadas para atingir a CBM e a CIM foram maiores do que o esperado. Assim sugerem-se novos estudos para verificar a toxicidade do óleo de melaleuca no tratamento de otite em animais de companhia, visto que, apesar de sua atividade antimicrobiana já ser comprovada, deve-se ressaltar cuidados em relação a toxicidade do mesmo.

Referências

BONATES, A. Otite: conhecimento detalhado permite diagnósticos precisos e sucesso no tratamento. *Vet. News*, v.62, p.6-8, 2003.



ENIOUTINA, E. Y. et al. Phytotherapy as an alternative to conventional antimicrobials: combating microbial resistance. **Expert Review Of Clinical Pharmacology**, p.1-12, 2017.

OLIVEIRA, A.C.M. et al. Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.4, p.492-499, 2011.

SIMÕES, R. P. et al. **Efeito do Óleo de Melaleuca Alternifolia sobre a Infecção Estafilocócica**, 2002.

Palavras-chave: Otopatia; Animais de Companhia; Melaleuca; Dermatopatia.

Financiamento

CNPq - Edital N° 490/GR/UFGS/2018.