

Associação de óleo essencial e antibióticos no controle de *Pseudomonas* spp. resistentes isoladas de cães

Eduarda Aléxia Nunes Louzada Dias Cavalcanti¹; Karina Affeldt Guterres²;

Cristine Cioato da Silva³; Caroline Bohnen de Matos⁴; Nielle Versteg⁵;

Marlete Brum Cleff⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – nuneslouzadadias@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas– guterres.karina@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas– criscioato@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas– bohnenecarol@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas– nielle.versteg@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas– marletecleff@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas e derivados como extratos e óleos essenciais (OE), no tratamento de doenças está registrado em documentos datados de milhares de anos (MAHESH; SATISH, 2008). Propriedades medicinais de inúmeras plantas estão sendo pesquisadas em diversas áreas, tendo recebido atenção especial a atividade antimicrobiana, e neste caso, o potencial destas em microrganismos resistentes.

O OE de FITO41, provém de uma planta muito utilizada como condimento, sendo atualmente conhecido pelas suas atividades antisséptica, antifúngica, antitumoral e antimicrobiana (RIBEIRO, 2012; GUTERRES, 2015; SILVA, 2016).

Na clínica veterinária de animais de companhia destacam-se as patologias causadas por bactérias, dentre elas, as otites e piodermites, sendo o gênero *Pseudomonas*, frequentemente isolado de cães (ARAIS, 2013). A sua ocorrência é considerada alta, como descrito por OLIVEIRA et al. (2012), que cita o isolamento de 8,8% de *Pseudomonas* spp. de otite canina, sendo a bactéria Gram negativa de maior prevalência. Além disso, os isolados apresentam-se frequentemente com alta resistência a antibioticoterapia, apresentando 34,9% de resistência múltipla a três ou mais antimicrobianos e 15,5% a cinco ou mais dos antimicrobianos utilizados (OLIVEIRA et al., 2012).

Os β -lactâmicos são antibióticos caracterizados pela presença do anel β -lactâmico em sua estrutura química, responsável pela sua ação. Incluem as penicilinas e as cefalosporinas, entre outras classes, sendo o grupo de antibióticos mais utilizados na prática clínica, porém esta classe de antimicrobianos vem demonstrando progressiva ineficácia frente a

microrganismos que estão se tornando resistentes. Diante essa problemática, se faz necessário a busca por alternativas terapêuticas com ação antibacteriana.

O presente trabalho teve como objetivo verificar o possível sinergismo do OE de FITO41 quando combinado com alguns antibióticos β -lactâmicos e sua ação frente ao gênero *Pseudomonas* de importância clínica e com perfil de resistência a estes antibióticos.

2. METODOLOGIA

Para identificação dos isolados de *Pseudomonas* spp. foram realizadas coletas utilizando swab estéril de secreções de cães, atendidos no Hospital de Clínicas Veterinária e Ambulatório Ceval da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). O material foi semeado em placas de Petri com Ágar Sangue e Ágar MacConkey e incubado em estufa a 37°C, por 24 horas, no Laboratório de Bacteriologia - UFPEL.

Para avaliação microscópica, utilizou-se à técnica de coloração de Gram, observando-se sua forma e coloração. Os isolados de *Pseudomonas* spp., foram identificados quanto ao gênero e espécie através de provas bioquímicas, e alguns isolados confirmados após pelo método automatizado Vitek® 2 GN para microrganismos Gram negativos.

Após a identificação, foram realizados antibiogramas em Ágar Mueller-Hinton, na técnica de KIRBY-BAUER (1966), utilizando-se de 0,5 na Escala de McFarland de cada bactéria a ser analisada. A resistência ou suscetibilidade antimicrobiana foi analisada pela formação dos halos de inibição de crescimento e o seu diâmetro medido com auxílio de uma régua (mm). Os antibióticos utilizados para o teste de susceptibilidade *in vitro* foram cefalexina (30 mcg), ceftriaxona (30 mcg), ampicilina (10 mcg) e amoxicilina com clavulanato (20/10 mcg).

Para obtenção do óleo essencial, FITO41 foi obtido de distribuidores comerciais, com certificação de origem e qualidade. O OE foi obtido através da submissão das folhas secas a extração com arraste de vapor em aparelho Clevenger, segundo a Farmacopéia Brasileira IV, durante 4 horas. Após o óleo foi seco com sulfato de sódio anidro p.a, armazenado em frasco âmbar e mantido sob refrigeração até a utilização.

A técnica de KIRBY-BAUER (1966) ainda foi utilizada para avaliar a susceptibilidade dos isolados de *Pseudomonas* spp. ao óleo essencial e para avaliar a associação dos antimicrobianos com o óleo (OLIVEIRA et al., 2006). Os

mesmos antimicrobianos utilizados para determinação da resistência do gênero *Pseudomonas* foram utilizados nesta fase de avaliação, sendo que 20 µL do óleo essencial foram utilizados na concentração de 250 µg/mL, associados com discos de antibiótico distribuídos no meio sólido, e um disco de papel com o óleo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isoladas 13 bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas*, destas, 11 foram classificadas como *Pseudomonas aeruginosa*. Estes isolados ao serem submetidos ao teste de antibiograma apresentaram percentual de resistência de 100% frente à Amoxicilina+Clavulanato e Cefalexina, 84,6% para Ampicilina, e 15,4% para Ceftriaxona.

Nas 4 associações dos antibióticos com o OE de FITO41 houve aumento de halo ≥ 2 mm, sendo as maiores diferenças observadas utilizando os antibióticos Ampicilina e Amoxicilina + Clavulanato. Sendo que o sinergismo entre os antibióticos e o óleo essencial de FITO41 promoveu aumento dos halos de 0mm para 10,6mm no caso de Cefalexina; 2,5mm para 11,3mm no uso de Ampicilina; 3,9mm para 9,7mm em Amoxicilina + Clavulanato e, 19,8mm para 22,3mm para Ceftriaxona (Figura 1).

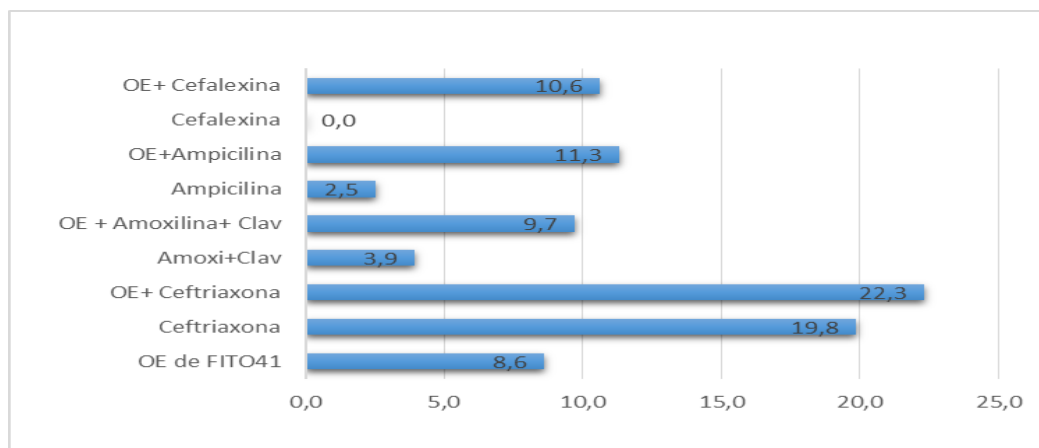


Figura 1. Média dos halos de inibição (mm) dos antimicrobianos testados isolados e em associação com óleo essencial de FITO41 frente a *Pseudomonas* spp.

Os β -lactâmicos são rotineiramente utilizados na medicina veterinária, indicados para uma gama de infecções bacterianas do trato respiratório, pele, trato urinário, tecidos moles e ossos. Possui amplo espectro de ação, agindo assim sobre diversos microrganismos, incluindo os Gram negativos, como o gênero *Pseudomonas* (PEREIRA, 2009), porém a crescente resistência apresentada a diferentes antibióticos, e a sensibilidade frente aos óleos

essenciais (GUTERRES, 2015), permitem que associações sejam testadas a fim de se possibilitar um tratamento eficaz.

O uso concomitante de extratos vegetais e os medicamentos utilizados na prática clínica merece atenção, pelo potencial sinérgico que esta associação pode trazer para o tratamento de doenças de etiologia bacteriana, necessitando, entretanto, do investimento em estudos inicialmente *in vitro*, *ex vivo* e posteriormente *in vivo*.

4. CONCLUSÕES

A associação do OE de FITO41 e antibióticos do grupo dos β -lactâmicos apresentaram sinergismo, potencializando suas ações, sendo observado pelo aumento dos halos inibitórios frente ao gênero *Pseudomonas*, servindo como uma possível alternativa futura nos casos de microrganismos resistentes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAI, L. R. **Resistência aos antimicrobianos, pesquisa de exotoxinas e relação genética de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de otite externa e piodermite canina.** 2013. Tese (Doutorado em Clínica e Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense.
- GUTERRES, K. A. **Microrganismos de lesões cutâneas de pequenos animais: Resistência a antimicrobianos e bioprospecção de extratos de plantas da família Lamiaceae e Fabaceae.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.
- MAHESH, B; SATISH, S. Antimicrobial activity of some important medicinal plants against plant and human pathogens. **World J Agric Sci.** 2008; 4: 839-843.
- OLIVEIRA, V. B. et al. Etiologia, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e aspectos epidemiológicos na otite canina: estudo retrospectivo de 616 casos **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2367-2374, nov./dez. 2012.
- OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R L.; TRAJANO, V. N.; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. 2006. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy.** 16(1): 77-82.
- PEREIRA, D.M.; CLIMENI, B. S.O.; DELLALIBERA, F.L.; MONTEIRO, M.V.; BAZAN, C.T. Cefalosporinas: Sua origem, uso e função em animais de grande e pequeno porte. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária.** 2009 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça. Graça/ SP. n.12.
- D.S.; MELO, D.B.; GUIMARÃES, A.G.; VELOZO, E.S. Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana. 2012. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 687-696.
- SILVA, C. C. **Estudo retrospectivo de melanomas cutâneos caninos e determinação da atividade citotóxica de produtos vegetais frente a células neoplásicas (B16F10) e não neoplásicas (MDBK).** 2016. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.