

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PATOS-PB  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Avaliação da sensibilidade *in vitro* de bactérias isoladas de infecções do conduto auditivo de cães atendidos no HV-UFCG-Patos/PB frente ao óleo-resina de Copaíba (*Copaifera langsdorffii*)**

Araceli Alves Dutra

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PATOS-PB  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Avaliação da sensibilidade *in vitro* de bactérias isoladas de infecções do conduto auditivo de cães atendidos no HV-UFCG-Patos/PB frente ao óleo-resina de Copaíba (*Copaifera langsdorffii*)**

Araceli Alves Dutra

Graduanda

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Melânia Loureiro Marinho

Orientadora

Prof. Dr. Felício Garino Junior

Co-orientador

Patos, 2016

D978a Dutra, Araceli Alves

Avaliação da sensibilidade *in vitro* de bactérias isoladas de infecções do conduto auditivo de cães atendidos no HV-UFCG-Patos/PB frente ao óleo-resina de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) / Araceli Alves Dutra. – Patos, 2016.

36f.:il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

“Orientação: Prof. Dra. Melânia Loureiro Marinho.”

“Co-orientador: Prof. Dr. Felício Garido Júnior.”

Referências.

1. Óleo de copaíba. 2. Fitoterapia. 3. Otite externa. 4. Bactérias. I. Título.

CDU 616:619

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

ARACELI ALVES DUTRA  
**Graduanda**

Monografia submetida à Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para a obtenção do grau em Medicina Veterinária.

**Aprovada em:** ...../...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Melânia Loureiro Marinho  
Orientadora

Prof. Dr. Felício Garino Junior  
Co-orientador  
Examinador I

Msc. Rosileide dos Santos Carneiro  
Examinador II

*“Você nunca vai cruzar o oceano  
se não tiver coragem de perder  
a costa de vista.”*

***André Paul Guillaume Gide***

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação acadêmica e realização do presente Trabalho, em especial a:

Minha mãe, **Maria Inês**, a mulher mais admirável e espirituosa que já conheci uma inspiração de dedicação, trabalho e devoção. Agradeço pelo apoio, por vibrar a cada conquista e por sempre acreditar na minha capacidade. Se hoje sou quem sou, devo a você.

Meu pai, **Sebastião Alves**, um homem de coração grandioso, por me apoiar em minhas decisões, pelas preocupações e por se fazer presente em todos os momentos. Obrigada por segurar na minha mão nos acertos e nos tropeços.

Meu namorado, companheiro e amigo, **Ricardo Victor**, que há sete anos está comigo, me motivando a sempre melhorar e me superar. Pela paciência e longas horas de conversas, risos e conselhos. Sem você eu não teria conseguido chegar até aqui. Nunca Esqueça o Quanto eu Amo Você.

Minhas irmãs, **Aura Mazda** e **Arícia Maria**, que compartilham do amor pelos animais, em especial aos nossos gatos **Alfa**, **Velma**, **Nina** (*In memorian*) e **Remela** (*In memorian*). Apesar de distantes, estiveram presentes por toda minha jornada acadêmica, me proporcionando sorrisos e aliviando dificuldades.

A toda minha família, que demonstrou apoio e carinho, em especial a **Tia Preta**, por amar e se dedicar incondicionalmente aos animais e por ajudar na minha criação quando ainda bebê.

Minhas amigas e futuras colegas de profissão, **Sarah Caetano** e **Gabriella Sonally**, pela companhia, risadas, conselhos e estudos. Apesar de sermos muito diferentes umas das outras, conseguimos nos encaixar muito bem, formando minha segunda família em Patos.

Minha amiga **Amanda Carvalho**, que me inspirou a cursar Medicina Veterinária e há 10 anos me mostra sua amizade simples e sincera, nas horas boas e ruins.

Meus amigos e que compartilharam a casa comigo, **Brizza Rocha** e **Arthur Pedroza**, pela ótima companhia e por me ajudar em situações difíceis durante todo o curso. Certamente continuarão a ser muito felizes juntos e terão uma vida profissional e matrimonial abençoada.

Minha orientadora, **Melânia Loureiro**, que me abriu as portas para a fitoterapia e que confiou e aceitou me orientar. Es um exemplo de respeito a natureza e aos animais.

Meu co-orientador, **Felício Garino**, por ter me recebido tão bem em seu laboratório, e por toda disponibilidade e ensinamentos. Admiro sua dedicação aos seus alunos e à pesquisa, es um exemplo de mentor.

Minha “passarinha”, **Ivy**, minha pequena pet e companheira que, mesmo sem saber, me deu carinho, suporte e alegria em todos os momentos.

Todos os meus professores por me proporcionarem conhecimento não apenas racional, mas de manifestação de caráter, ética e afetividade no processo de formação profissional, pela dedicação, por despertarem a curiosidade e a paixão pela Medicina Veterinária.

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1 Anatomia do Conduto auditivo externo.....	15
2.2 Epidemiologia da otite externa.....	17
2.3 Sinais clínicos, diagnóstico e tratamento da otite externa.....	19
2.4 Fitoterapia.....	19
2.5 Fitoterapia na Medicina Veterinária.....	20
2.6 Copaíba.....	22
2.6.1 A árvore .....	22
2.6.2 O óleo .....	23
2.6.3 Mecanismos de ação antibacteriana .....	23
2.6.4 Atividade antimicrobiana do Óleo de copaíba .....	24
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	26
3.1 Local do experimento .....	26
3.2 Obtenção do óleo de copaíba .....	26
3.3 Obtenção das amostras .....	26
3.4 Preparo dos meios de cultura .....	26
3.5 Cultivo microbiológico.....	27
3.6 Concentração Inibitória Mínima.....	27
3.7 Avaliação da sensibilidade <i>in vitro</i> .....	28
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	30
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	33
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	34



## LISTA DE TABELAS

	Pág.
<b>Tabela 1</b> - Sesquiterpenos mais encontrados em estudos cromatográficos. ....	24
<b>Tabela 2</b> - Diterpenos mais encontrados em estudos cromatográficos. ....	24
<b>Tabela 3</b> - Resultados da Concentração Inibitória do óleo-resina de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ), frente as bactérias Gram positivas, Patos/PB, 2016. ....	30
<b>Tabela 4</b> - Resultados da Concentração Inibitória do óleo resina de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ), frente às bactérias Gram negativas, Patos/PB, 2016. ....	30

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> - Estruturas anatômicas do ouvido.....	16
<b>Figura 2</b> - Agentes isolados do conduto auditivo de cães . .....	18
<b>Figura 3</b> - Distribuição do número de espécies de plantas citadas para uso em doenças típicas de animais no Brasil .....	21
<b>Figura 4</b> - Árvore Copaíba, <i>Copaifera langsdorffii</i> .....	22
<b>Figura 5</b> - Esquema da Macrodiluição em tubos .....	28
<b>Figura 6</b> - Tubos de ensaio mostrando ausência e presença de turbidez. ....	29

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>%</b>	Porcentagem
<b>+</b>	Positivo
<b><math>\alpha</math></b>	Alfa
<b><math>\beta</math></b>	Beta
<b><math>\delta</math></b>	Delta
<b><math>\gamma</math></b>	Gama
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>CIM</b>	Concentração Inibitória Mínima
<b>BHI</b>	<i>Brain Heart Infusion</i>
<b>mg</b>	Miligrama
<b>mL</b>	Mililitro
<b>g</b>	Grama
<b>DMSO</b>	Dimetilsufóxido
<b><math>\mu</math>L</b>	Microlitro
<b>ATCC</b>	<i>American Type Culture Collection</i>
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>Kg</b>	Quilograma

## RESUMO

**DUTRA, ARACELI ALVES. Avaliação da sensibilidade *in vitro* de bactérias isoladas de infecções do conduto auditivo de cães atendidos no HV-UFCG-Patos/PB frente ao óleo-resina de Copaíba (*Copaifera langsdorffii*). Patos. 2016. 36f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2016.**

A otite externa é uma doença de caráter inflamatório agudo ou crônico que acomete o ouvido externo de cães e gatos, causando além da inflamação, placa eritematosa, desconforto, agitação da cabeça, dor, secreção, odor desagradável e dermatite úmida, podendo sua ocorrência representar até 20% dos cães e até 7% dos gatos da rotina clínica. As principais bactérias isoladas são *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli* e *Corynebacterium*. O óleo de copaíba é um líquido transparente obtido através da árvore Copaíba e que possui diversos usos na medicina popular, tendo alguns deles já sido comprovados em estudos. Tendo em vista a abundância de resistência dos microrganismos aos diferentes antimicrobianos, faz-se necessário a constante busca por novas terapias. Testou-se o óleo de copaíba frente a 16 amostras de bactérias isoladas de animais com otite externa, entre elas *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Enterobacter*, empregando-se o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) em Macrodiluição em tubos. Para as bactérias *Staphylococcus spp.* o óleo mostrou eficácia entre as concentrações de 10% a 0,3% em 90% das cepas testadas. Para as outras bactérias, as Gram negativas, o óleo não mostrou nenhuma eficácia, em nenhuma das amostras testadas. Concluindo que o óleo mostra eficácia contra as bactérias Gram positivas testadas, porém, ineficácia para as Gram negativas, necessitando ser realizados mais estudos *in vivo*, com a finalidade de se obter produtos como ferramentas de apoio para tratamentos de infecções em animais.

**Palavras-chave:** Óleo de copaíba, fitoterapia, otite externa, bactérias, CIM.

## ABSTRACT

**DUTRA, ARACELI ALVES.** Evaluation of the *in vitro* sensitivity of bacteria isolated from auditory canal infections of dogs treated at HV-UFCG-Patos/PB against Copaiba oil-resin (*Copaifera langsdorffii*). Patos. 2016. 36p. Term paper (Graduation) – Veterinary Medicine, Preventive Veterinary Medicine and Animal Health, Federal University of Campina Grande, Patos, 2016.

External otitis is an acute or chronic inflammatory disease that affects the outer ear of dogs and cats, causing inflammation, erythematous plaque, discomfort, head agitation, pain, secretion, unpleasant odor and moist dermatitis, representing up to 20% of dogs and 7% of cats in the clinical routine. The main bacterias isolated are *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomona aeruginosa*, *Proteus spp.*, *Streptococcus spp*, *Escherichia coli* and *Corynebacterium spp*. Copaiba oil is a clear liquid obtained through the Copaiba tree and has several uses in popular medicine, some of which have already been proven in several studies. Considering the abundance of resistance of the microorganisms to the different antimicrobials, it is necessary the constant search for new therapies. Copaiba oil was tested against 16 bacterial samples isolated from animals with external otitis, including *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Enterobacter.*, using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) in Macrodilution in tubes. For the *Staphylococcus spp.* bacteria, the oil showed efficacy between 10% to 0.3% concentrations in 90% of the strains tested. For the other bacterias, Gram negative, oil showed no efficacy in any of the samples tested. Concluding that the oil shows efficacy against the Gram positive bacteria tested, but ineffective for the Gram negative, requiring further *in vivo* studies, in order to obtain products as support tools for treatments of infections in animals.

**Key words:** Copaiba oil, phytotherapy, otitis externa, bacteria, MIC.

## 1 INTRODUÇÃO

A otite externa é uma doença de caráter inflamatório do epitélio dos canais auditivos horizontais e verticais e estruturas adjacentes, sendo provocado pela proliferação patogênica de microrganismos comensais da flora cutânea do ouvido externo sob condições ambientais anormais.

Os microrganismos mais comumente associados são *Staphylococcus intermedius*, *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp, *Echerichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomona aeruginosa*.

Existem fatores que podem desencadear ou predispor a enfermidade, como raças que possuem presença de pelo excessivo nos ouvidos e que possuem orelhas longas e penduladas, como o Poodle ou Cocker Spaniel. Além da raça ainda existem condições como estresse, atopias, mudanças de temperatura e umidade, doença metabólica, má condições de higiene, entre outros. Quando isso acontecer o animal poderá apresentar otite externa, com sinais clínicos agudos ou crônicos. Sendo os principais sinais agudos o balançar da cabeça e prurido intenso e os principais sinais crônicos a secreção purulenta odorífera e o pender da cabeça para o lado do ouvido mais afetado.

A otite canina é um dos principais motivos para consulta veterinária, representando um alto índice dos casos atendidos na clínica, e, destes, 76% constituem a otite externa crônica. Esta é muito comum e seu tratamento vem se tornando cada vez mais difícil devido à alta incidência de recidivas (REOLON et al., 2011).

O tratamento para otite bacteriana, em geral, precisa ser realizado durante um longo período de tempo para obter-se resultados positivos, podendo, muitas vezes, acarretar na resistência do microrganismo ao quimioterápico. Além disso, a terapêutica estendida faz com que o proprietário necessite realizar altos investimentos, correndo muitas vezes o risco de não se obter os resultados desejados.

Tendo em vista a rotina clínica elevada e as constantes recidivas faz-se necessário a busca constante por alternativas terapêuticas, principalmente aquelas de baixo custo, de alta eficiência em um curto período de tempo, que diminua ou cesse as recidivas, de fácil obtenção e de baixa toxicidade. Levando esses pontos em consideração, o presente estudo visa à utilização do óleo-resina de *Copaifera langsdorffii* como uma possibilidade no tratamento de bactérias causadoras da Otite, sendo inicialmente testado *in vitro*, realizando diversos testes seriados em laboratório para testar a sua eficácia, como a Concentração Inibitória Mínima,

realizado em macrodiluição em tubos.

A opção pelo uso do Óleo de copaíba foi feita com base em seu vasto emprego na medicina popular, além de vários estudos já realizados comprovando sua efetividade contra outros tipos de bactérias e microrganismos.

Levando em conta as propriedades do Óleo de copaíba e a sua efetiva ação contra outros patógenos, a probabilidade de se obterem resultados positivos é bastante significativa.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Anatomia do Conduto auditivo externo

A orelha possui três subdivisões, a orelha externa, orelha média e orelha interna. O ouvido externo é dividido em pavilhão auricular, canal auditivo externo e membrana timpânica. É usada entre os animais para comunicação. É uma estrutura cartilaginosa revestida por pele, folículos pilosos e glândulas sebáceas e apócrinas modificadas (ceruminosa). A produção do cerúmen ocorre através das secreções glandulares e o acúmulo de células descamativas, sendo transportados para cima e para fora do canal auditivo pelo processo de limpeza da migração das células epiteliais (PATEL; FORSYTHE, 2010).

#### 2.1.1 Pavilhão auricular

Também chamada de Aurícula ou Pina (Figura 1), é a parte visível externamente, que pode diferenciar em conformação e orientação de acordo com a raça do cão. Consiste de uma estrutura afunilada assimétrica, que capta e direciona as vibrações das ondas sonoras para o canal auditivo externo (COLVILLE, 2010).

Caracteriza-se na maioria das raças por uma grande mobilidade. Essa característica se dá a partir dos músculos auriculares quando há movimentação a partir de um estímulo sonoro. A função desses músculos é permitir a rotação lateral, dorsal e ventral do ouvido externo. Sua inervação é realizada a partir do nervo intermediofacial (LIEBICH; KÖNIG, 2011).

A Pina é constituída por uma lâmina de cartilagem fibroelástica (cartilagem auricular) coberta por tecido subcutâneo e pele (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

#### 2.1.2 Canal auditivo externo

Também chamado de Meato acústico externo tem seu início na base do pavilhão auricular, possuindo formato de “L”, com uma parte vertical mais dorsal e uma parte horizontal mais ventral, desembocando na membrana timpânica (COLVILLE, 2010).

A parte ventral é formada pela cartilagem auricular, enquanto que a parte horizontal é formada pela cartilagem auricular e anular. Ao chegar à parte horizontal o diâmetro estreita rapidamente (DYCE; SACK; WENSING, 2010).



É revestida por um epitélio escamoso estratificado, produtoras do cerúmen, situando-se por toda sua extensão (LIEBICH; KÖNIG, 2011).

Possui, ainda, uma parte óssea proximal, sendo curta e fixando-se a através da cartilagem anular. Inicia-se na parte estreita da cartilagem auricular e terminando na membrana timpânica (LIEBICH; KÖNIG, 2011).

### 2.1.3 Membrana timpânica

Também denominado Tímpano, é a estrutura que divide o Conduto auditivo externo do Ouvido médio. Sua função é transmitir as vibrações sonoras para os ossículos da audição. Caracteriza-se por ser uma lâmina semitranslúcida e delgada amparada pelo anel timpânico. É inclinada e tem formato oval nos cães (ELLENPORT, 1981).

É composta por três camadas específicas, a epiderme escamosa estratificada externa, o tecido conjuntivo fibroso central e a mucosa interna. É intensamente inervada por fibras nervosas e sensoriais. Estribo, martelo e bigorna conectam a membrana timpânica ao ouvido interno (PATEL; FORSYTHE 2010).

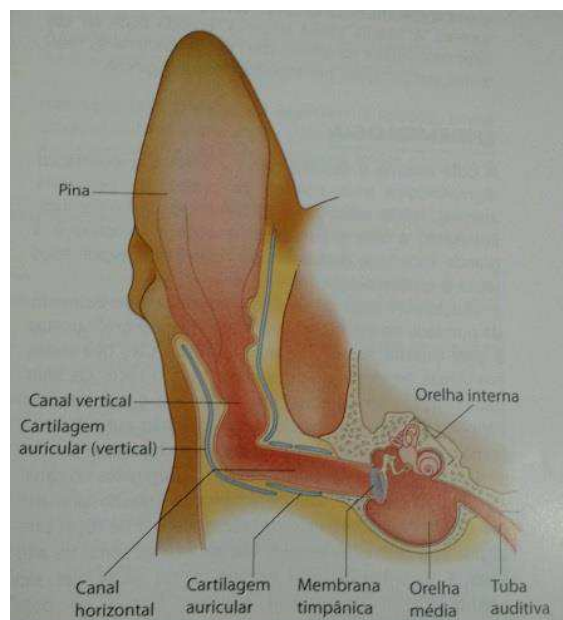


Figura 1 - Estruturas anômicas do ouvido (Fonte: PATEL; FORSYTHE 2010).

## 2.2 Epidemiologia da otite externa

A otite externa é uma apresentação clínica comum. Fossum et al (2014) define otite externa como “Inflamação do epitélio dos canais auditivos horizontais e verticais e estruturas adjacentes (conduto auditivo externo e pavilhão auricular)”.

A otite apresenta-se mais comumente em cães, podendo atingir até 12% desses e com menos frequência os felinos, com até 2% dos atendimentos da rotina (GERARDI, 2014). Outros autores citam que a sua ocorrência pode chegar a atingir até 20% dos cães e até 7% dos gatos da rotina (FOSSUM, 2014; ROSYCHUK; LUTTGEN, 2014).

A doença pode ser causada por fatores primários, predisponentes e perpetuantes. Os fatores primários incluem hipersensibilidade (atopia, sensibilidade alimentar e à picada de pulgas), reações a fármacos (aplicados de forma sistêmica, ocorrendo graus variados de tumefação), corpos estranhos (ex.: poeira), ectoparasitas (ex.: *Octodecys cyanotis*), distúrbios das glândulas sebáceas, entre outras. São fatores predisponentes a temperatura elevada associada à umidade e a conformação anatômica como orelhas penduladas (acarreta uma má aeração) e excesso de pelos nos ouvidos. E entre os fatores perpetuantes pode-se citar a colonização bacteriana de forma exacerbada (ROSYCHUK; LUTTGEN, 2014).

O ouvido externo do cão possui uma flora constituída principalmente por cocos e bastonetes Gram positivos, negativos e leveduras (OLIVEIRA, 2003 *apud* BONATES, 2006).

*Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli* e *Corynebacterium spp.* são os microrganismos mais comumente isolados da otite externa (ROSYCHUK; LUTTGEN, 2014). Porém, é comum o isolamento de três ou mais microrganismos em um mesmo processo inflamatório (BIBERSTEIN; HIRSH, 2003).

O gênero *Staphylococcus spp.* é considerado um dos patógenos mais importantes, visto que é o causador de diversas infecções, sendo mais comuns aquelas superficiais, representando 30% a 50% dos casos de Otite externa (Figura 2). Devido ao aumento da sua resistência ela vem obtendo maior importância clínica ao longo dos anos (TEIXEIRA et al, 2008). Classificados como anaeróbios facultativos, possuem conformação esférica, crescendo em forma de cachos irregulares e são bactérias Gram positivas (+). A *S. intermedius* é a mais frequente bactéria piogênica em cães. Seu crescimento ocorre dentro de 12 horas em culturas laboratoriais (BIBERSTEIN, HIRSH, 2003).

*Pseudomonas aeruginosa* é considerado o mais frequente bacilo Gram negativo (-) não fermentador isolado nos laboratórios. É um microrganismo que possui uma grande

facilidade de desenvolvimento, estando mais presente em Otite externa crônica ou recidivante. Possui em torno de 200 espécies, sendo a mais importante na veterinária a *Pseudomonas aeruginosa*. Tem como principal fator de virulência a produção de biofilme (LINCOPAN, TRABULSI, 2008). A *Pseudomonas aeruginosa* é reconhecida como uma bactéria multirresistente. Esse fato se deve a composição física e química (polianiónica) da sua membrana externa, uma vez que, para o antimicrobiano penetrar a barreira externa, necessita saturar toda a sua superfície, dificultando a sua ação (FERREIRA; LALA, 2010).

O gênero *Proteus* spp. faz parte da família *Enterobacteriaceae*, um patógeno oportunista Gram-negativo. Representa em torno de 5% dos casos de Otite externa. Alguns autores a citam como microrganismo causador de infecções no trato urinário de cães (ROSALSKI, 2012; CARVALHO et al., 2014). Já *Streptococcus* sp. e *Escherichia coli* causam infecções supurativas e muitas espécies vivem como comensais na mucosa do trato respiratório e urogenital (LUSA; AMARAL, 2010). De acordo com uma pesquisa realizada por Possebon, Kaiser e Martins (2015), a *Corynebacterium auriscanis* representou 10% das amostras isoladas de cães com Otite.

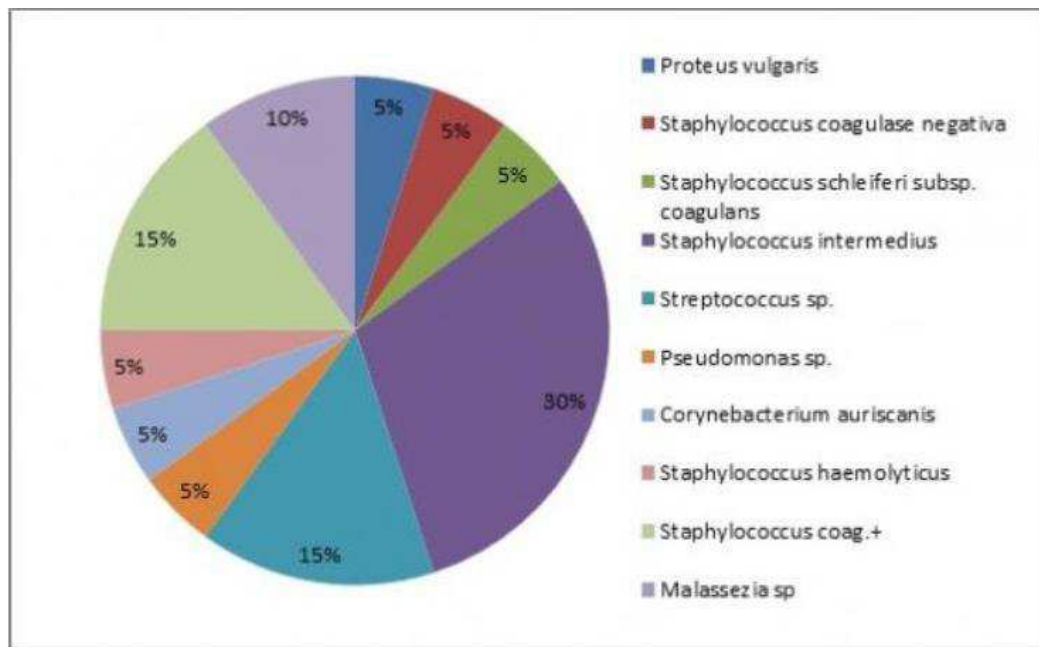


Figura 2 - Agentes isolados do conduto auditivo de caninos (Fonte: POSSEBON; KAISER; MARTINS, 2015).

### 2.3 Sinais clínicos, diagnóstico e tratamento da Otite externa

A otite inicialmente irá causar uma inflamação no conduto auditivo, placa eritematosa no meato externo e no forro externo do canal. Em seguida o animal irá apresentar aparente desconforto, como agitação da cabeça e dor. Também será observada secreção, odor desagradável e dermatite úmida. Infecções por *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp e *Proteus* sp vêm acompanhadas por um exsudato amarelo claro, escurecendo progressivamente quando há produção de cera (CARDOSO, 2009).

A avaliação clínica completa é um ponto importante para o diagnóstico da enfermidade. Deve-se realizar, não somente exame otológico, como também inspeção de todo o animal para detecção de lesões subjacentes. Exames laboratoriais também podem representar uma forma significativa de diagnóstico, podendo ser realizada citologia, cultura bacteriana ou fúngica para identificação do agente e antibiograma para avaliação da sensibilidade ou resistência aos antimicrobianos. Identificar a causa primária é de extrema importância para resolução do caso, podendo ser realizados testes dietéticos no caso de suspeita de sensibilidade alimentar e testes intradérmicos em suspeita de outras hipersensibilidades (picada de carrapato, fármacos, etc) (PATEL; FORSYTHE, 2010).

O tratamento para a otite externa geralmente ocorre de forma tópica, podendo ser associada à terapia sistêmica, devendo levar em consideração a resistência antimicrobiana surgindo atualmente como um risco à eficácia terapêutica (NOGUEIRA; DINIZ; LIMA, 2008). Os objetivos do tratamento são eliminar a causa primária, aliviar a inflamação, eliminar infecção secundária e prevenir alterações crônicas. Sendo assim, devem-se realizar limpezas com ceruminolíticos, glicocorticoides sistêmicos nos primeiros 10-14 dias do tratamento quando há inflamação, dor e/ou prurido intensos ou hipersensibilidade, antibióticos tópicos e sistêmicos, baseado no antibiograma e/ou citologia e no caso de infecções fúngicas deve-se empregar antifúngicos tópicos (GERARDI, 2014). O tratamento para otite externa é um procedimento demorado, de alto custo e que requer a participação constante do proprietário (DEUS et al., 2009).

### 2.4 Fitoterapia

As plantas são usadas pela humanidade para fins medicinais desde os tempos primordiais, quando ainda não existiam os estudos científicos e fabricação de medicamentos

industrializados. Como não havia outras formas comprovadas para combater doenças, era através das plantas que se encontravam curas e o conhecimento popular adquirido era repassado ao longo das gerações (SANTOS et al., 2011).

O Brasil possui cerca de 23% das espécies vegetais existentes em todo planeta (BATALHA et al, 2003), tornando-o ideal para a fitoterapia, pois além das opções, existe, ainda, a facilidade de obtenção. Nas regiões mais carentes do país evidencia-se o uso dessa terapia alternativa, por ser de fácil acesso, menor custo e, muitas vezes, mostrar resultados mais rapidamente, com o mínimo de efeitos colaterais (SANTOS et al., 2011).

De acordo com Batalha et al (2003), classifica-se os tipos de plantas do Brasil em duas colocações: Aquelas nativas, que crescem naturalmente em solo nacional e aquelas cultivadas ou exóticas, que precisam ser inseridas, sendo as plantas nativas quase que em sua totalidade obtidas através de extrativismo, coletadas em seu ambiente de desenvolvimento natural.

Há uma grande quantidade de fitoterápicos no Brasil que possuem ampla aceitação pela população (ZIECH et al., 2013). As plantas possuem verdadeiro potencial terapêutico, sendo, muitas delas, já cientificamente comprovadas, tanto sua cura como os efeitos adversos causados pelo seu uso indiscriminado. O emprego de plantas medicinais tem se desenvolvido ao longo dos tempos, porém, ainda existem muitas que precisam ser estudadas, contra diversos tipos de patologias, para que se comprove sua eficácia e suas utilidades sejam reconhecidas (COSTA; ALMEIDA, 2014).

O Ministério da Saúde (2006) reconhece que o incentivo e ampliação no setor de fitoterapia trariam benefícios para o enfrentamento das desigualdades regionais existentes no Brasil, quando ocasionadas oportunidades de inserção socioeconômica das populações carentes e daquelas regiões com baixos índices econômicos.

## 2.5 Fitoterapia na Medicina Veterinária

A ciência que estuda práticas populares utilizadas para tratamento de doenças que acometem os animais é conhecida como Etnoveterinária, sendo a mais reconhecida a Fitoterapia, ou seja, o uso de plantas medicinais (ALMEIDA; FREITAS; PEREIRA, 2006).

De acordo com um levantamento bibliográfico realizado de 2005 a 2015 por Teixeira et al (2015), no Brasil ainda tem-se poucos registros do uso popular de plantas medicinais para o tratamento de enfermidades na Medicina Veterinária, porém, seu uso mais comum é na

região Norte (figura 3), destacando-se para o uso de afecções infectocontagiosas e parasitárias.

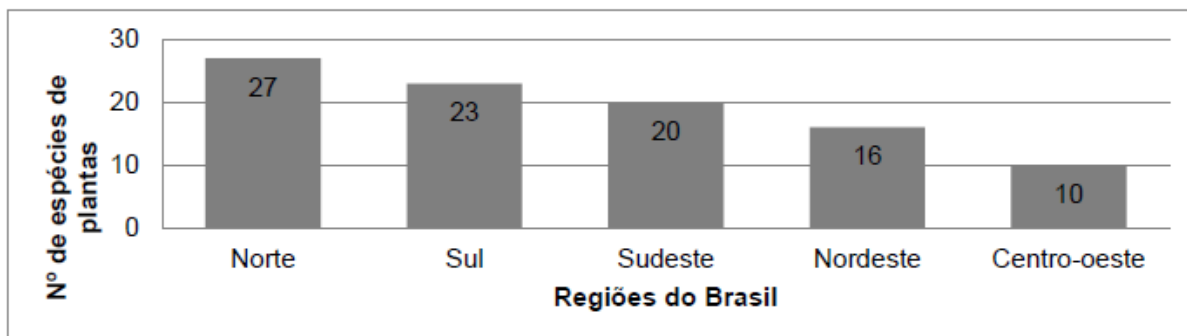


Figura 3 - Distribuição do número de espécies de plantas citadas para uso em doenças típicas de animais no Brasil (Fonte: TEIXEIRA et al., 2015).

Almeida, Freitas e Pereira (2006) afirmam que a Fitoterapia deve estar presente ainda na vida estudantil do futuro Médico Veterinário, conhecendo o tratamento e reconhecendo-o como válido para que a informação possa ser propagada no futuro. Em sua pesquisa constataram que 86,2% dos estudantes entrevistados confiavam na Fitoterapia e a utilizariam em caso de comprovação científica, porém, somente 36,2% faziam seu uso efetivo, provavelmente devido preparação, eficácia e uso desses tratamentos.

Drogas herbais utilizadas em humanos são comumente empregadas em pequenos animais, em particular em proprietários que usam esse tipo de medicação para suas próprias afecções. Enquanto existem poucos estudos que avaliam a eficácia terapêutica de plantas medicinais em animais de companhia, vários estudos foram encontrados na literatura relatando o uso dessa terapia em animais de fazenda, devido a estes serem destinados ao consumo humano, devendo ter pouco ou nenhum resíduo medicamentoso (RUSSO; AUTORE; SEVERINO, 2009).

Bactérias patogênicas tem demonstrado cada vez resistência aos antimicrobianos sintéticos, inclusive na Medicina Veterinária (SANTOS et al., 2015) devendo ser cada vez mais incentivadas pesquisas de novas substâncias que tragam outros efeitos e deixem poucos resíduos (RUSSO; AUTORE; SEVERINO, 2009).

## 2.6 Copaíba

### 2.6.1 A árvore

Tem se destacado, entre as plantas medicinais da Amazônia, a Copaíba (Figura 3). Trata-se de uma árvore de grande porte da família Leguminosae, sub-família Caesalpinoideae Kunth (ARAÚJO-JUNIOR et al., 2005). É uma árvore nativa da região tropical da América Latina e África Ocidental (VEIGA-JUNIOR; PINTO, 2002).

De acordo com um estudo realizado nas plantas amazônicas, Shanley et al (2005) constataram que as copaibeiras atingem cerca de 36 metros de altura, 140 centímetros de diâmetro, ou rodo de até 3 metros, são encontradas em todos os trópicos, mas com maior incidência no Brasil, onde 28 espécies têm ampla distribuição. As principais regiões brasileiras onde se pode encontrar a Copaíba são Sudeste, Centro-Oeste e Amazônica (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009). Tanto no Acre como no Pará, a copaibeira floresce na estação chuvosa, entre janeiro e abril, e frutifica de maio até setembro (SHANLEY et al., 2005).

A árvore é uma planta que se desenvolve através de total exposição solar (heliófita), com dupla estação climática, perdendo parte das folhas no período de estiagem (semidecídua) e adaptadas ao clima tropical (seletiva xerófita) (ALENCAR, 2013).

Existem vários tipos de copaíba, os cientistas têm classificado de acordo com as características da casca e folhas. A árvore possuem casca aromática, folhagem densa, flores pequenas e frutos secos (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009).

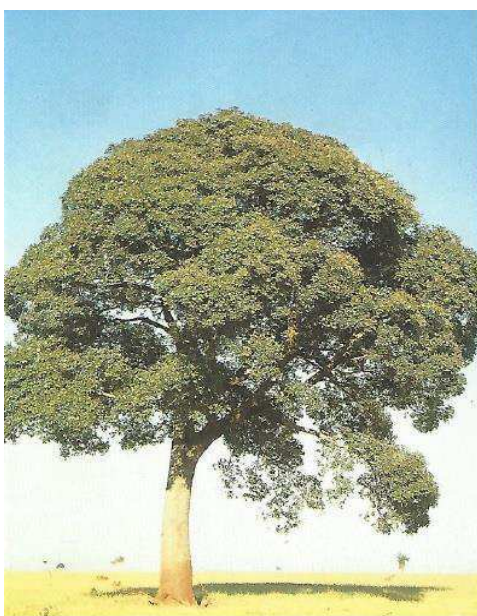


Figura 4 - Árvore Copaíba, *Copaifera langsdorffii* (Fonte: LORENZI, 2000).

### 2.6.2 O óleo de copaíba

Também conhecido, erroneamente, como bálsamo, o óleo de copaíba é um líquido transparente que pode variar do amarelo ao marrom (VEIGA-JUNIOR; PINTO, 2002) e é uma resina formada por ácidos resinosos e substâncias voláteis (óleos voláteis), encontrada em canais secretores localizados em todas as partes da planta (ALENCAR, 2013). Quando a árvore passa por uma situação de estresse ou processo patológico, o óleo é exsudado, como forma dela tentar se proteger dos agentes externos ou realizar uma desintoxicação, sendo responsável por uma ação antimicrobiana, antifúngica e inseticida (BRITO et al., 2005).

Biavatti et al. (2006) realizaram um estudo de análise cromatográfica do óleo de copaíba e de acordo com seus resultados chegaram a conclusão de que a sazonalidade é um fator importante para a padronização do óleo-resina de copaíba, demonstrando que em diferentes épocas poderia diferir de seus diferentes componentes químicos e organolépticos.

O fitoterápico pode ser extraído de diversas formas, porém, a única que não irá ocasionar morte da planta é através do trado (VEIGA-JUNIOR; PINTO, 2002). O óleo é extraído a partir de dois furos cilíndricos no tronco, um inferior e outro superior. Após a coleta é vedado com algum material plástico. A produção por árvore varia de 100 mililitros a 60 litros por ano, porém, nem todas as árvores produzem óleo e esta parece variar de acordo com o tipo de solo e ao longo do tempo. Tem função medicinal como antibiótico e antiinflamatório, e é também usado como cicatrizante de feridas e úlceras e contra dermatose e psoríase (SHANLEY et al., 2005).

### 2.6.3 Mecanismos de ação antibacteriana

Sua formação química é composta por uma grande quantidade de óleos voláteis (30 a 90%), que são compostos basicamente por sesquiterpenos, sendo os mais citados na literatura  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -bisaboleno,  $\beta$  e  $\alpha$ -selineno,  $\alpha$ -humuleno e  $\delta$  e  $\gamma$ -cadineno (Tabela 1) e por diterpenos, constituídos principalmente pelo ácido kaurenóico, ácido polialtico, ácido hardwíckiico e ácido copálico (Tabela 2). Apresenta ainda, uma parte resinosa constituída por ácido copálico, ésteres e resinóides. Estudos fitoquímicos mostram que o ácido copálico foi encontrado em todos os óleos de copaíba até hoje estudados (PLOWDEN, 2004).

Não há um mecanismo de ação definido, porém, Pieri et al (2010b) relatam seu provável mecanismo. Os autores justificam o efeito bactericida ao componente  $\beta$ -cariofileno,



possuindo ação terapêutica especialmente sobre infecções estafilocócicas. Adiciona, ainda, que devido a grande quantidade de sesquiterpenos e diterpenos poderia inibir a formação de bactérias resistentes durante o seu uso, pois diferentes tipos de mecanismos seriam usados sobre os microrganismos.

**Tabela 1** - Sesquiterpenos mais encontrados em estudos cromatográficos.

Nº	Sesquiterpeno
S1	$\alpha$ -copaeno
S2	$\beta$ -cariofileno
S3	$\beta$ -bisaboleno
S4	$\beta$ e $\alpha$ -selineno
S5	$\alpha$ -humuleno
S6	$\delta$ e $\gamma$ -cadineno

**Fonte:** Adaptado de Veiga-Junior e Pinto, 2002.

**Tabela 2** - Diterpenos mais encontrados em estudos cromatográficos.

Nº	Diterpeno
D1	Ácido kaurenóico
D2	Ácido polialtico
D3	Ácido copálico
D4	Ácido hardwíckiico

**Fonte:** Adaptado de Veiga-Junior e Pinto, 2002.

#### 2.6.4 Atividade antimicrobiana do Óleo de copaíba

Vários estudos têm demonstrado a atividade antimicrobiana “*in vitro*” do óleo de copaíba. Entretanto, tem se verificado uma maior eficácia para bactérias Gram positivas.

Pieri et al (2012a) avaliou a atividade inibitória do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) frente a *Streptococcus mutans*, utilizando o teste de Concentração Inibitória Mínima, em microdiluição em caldo, com uma concentração inicial de 10%. Ao final do experimento, as bactérias sofreram inibição em todas as concentrações acima de 0,78  $\mu$ L/mL, demonstrando ação bacteriostática positiva.

Um estudo realizado por Pieri et al (2010a), teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de óleo de copaíba autoclavado e não autoclavado, sob diferentes

concentrações, sobre a bactéria *Listeria monocytogenes*, realizado com teste de difusão em ágar. Foram utilizados seis concentrações e um controle negativo. A solução de 10% do óleo autoclavado mostrou sensibilidade contra cinco cepas de *L. monocytogenes*, sugerindo um resultado positivo.

Em outro estudo, também realizado por Pieri et al (2010b), foram avaliados os efeitos clínicos e microbiológicos do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre bactérias formadoras de placa dental em 18 cães sem raça definida, foram realizados tratamentos bucais três vezes ao dia, durante oito dias. O resultado obtido mostrou que o uso do óleo de copaíba na prevenção da doença periodontal era eficiente e poderia substituir a clorexidina na terapia antimicrobiana oral.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus da cidade de Patos, Paraíba.

#### 3.2 Obtenção do óleo de copaíba

O óleo de copaíba foi obtido comercialmente da empresa Reca (Reflorestamento Econômico Consorciado Adensado), do Estado de Rondônia. O óleo de copaíba foi extraído na vila de Nova Califórnia, onde é utilizada a espécie *Copaifera langsdorffii*.

O óleo de resina passou previamente por uma análise microbiológica para identificação de possível contaminação. Utilizou-se uma placa de Petri com meio Ágar sangue e com uma alça foi espalhado o óleo. O cultivo foi levado a uma estufa a 35°C e, após um período de 24 horas observou-se a ausência de crescimento bacteriano.

#### 3.3 Obtenção das amostras

Foram obtidas 16 cepas bacterianas do acervo microbiológico do Laboratório de Microbiologia, no Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, isoladas previamente de animais com otite externa atendidos na Clínica Médica de Pequenos Animais do mesmo Hospital.

#### 3.4 Preparo dos meios de cultura

Foram preparados 04 (quatro) meios de cultura para realização das análises, o Ágar Sangue, meio rico para crescimento de diversos microrganismos, o Ágar Manitol, para crescimento seletivo de *Staphylococcus aureus*, o Ágar Mueller Hinton Caldo para teste da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e o Brain Heart Infusion (BHI) para cultivo do microrganismo.

No meio Ágar Sangue, emprega-se a dissolução de 40 mg para cada 1000 mL de água destilada, levando-o para esterilização em autoclave e posteriormente, adicionando-se 5% de sangue de carneiro desfibrinado obtido de forma asséptica. Em seguida, o meio foi distribuído

em placas de Petri estéreis e, após a solidificação, foi levado em posição invertida a estufa por um período de 24 horas para controle de qualidade. Sendo, posteriormente, armazenado em refrigeração.

Para preparação do Ágar Manitol foi utilizada as quantidades de 0,2 g de extrato de carne, 1g peptona, 14g de cloreto de sódio, 2g de D-manitol, 0,004g de vermelho fenol e 4g de Ágar, diluídos em 200 mL de água destilada. Após autoclavado o meio foi distribuído em placas de Petri estéreis e levados para refrigeração para uso posterior.

Ágar Mueller Hinton Caldo foi preparado diluindo 21g para cada 1000mL de água destilada. Adicionou-se, ainda, o corante cloreto de trifeniltetrazólio, empregado com a função de corar o meio de vermelho em caso de crescimento bacteriano, facilitando a avaliação da sensibilidade no teste de CIM. O meio preparado foi então levado para esterilização na autoclave e, em seguida, levado a geladeira para resfriamento até realização do teste.

Para preparo do BHI, foi utilizada 37g de Brain Heart broth dissolvido em 1000 ml de água destilada. A mistura foi levada ao microondas para dissolver e depois autoclavado. Ainda quente foi distribuído em tubos esterilizados, e postos na estufa por 24 horas para controle de qualidade.

### 3.5 Cultivo microbiológico

As bactérias obtidas passaram por um crescimento prévio em BHI, em um período de 24 horas na estufa a uma temperatura de 35°C.

No crescimento em placas de Petri para cada tipo de bactéria utilizou-se um diferente meio de cultura. Para as bactérias *Staphylococcus* spp. usou Agar Manitol. Agar MacConkey para as bactérias Gram-negativas, como a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Enterobacter*.

O método de cultivo foi o mesmo para todos. Cada placa de Petri estéril foi dividida ao meio para crescimento de duas diferentes bactérias. Uma porção era retirada do meio BHI através da Alça bacteriológica e semeadas pelo método de esgotamento. Para cada direção a alça era flambada. Os meios de cultura inoculados foram incubados a 35 °C em aerobiose.

### 3.6 Concentração Inibitória Mínima

A Concentração Inibitória Mínima é definida pela menor concentração da substância antimicrobiana capaz de inibir a multiplicação de um isolado bacteriano. Para o teste de CIM foi utilizado a Macrodiluição em tubos (Figura 5), empregando-se o meio Agar Mueller Hinton caldo. Para cada organismo testado usou-se um total de 8 (oito) concentrações, iniciando a 10% de concentração do Óleo de Copaíba e dividindo pela metade a cada diluição realizada. Também era feita uma duplicata com as mesmas quantidades, para garantir que o resultado obtido não apresentava erro. Ainda foi acrescentado 5% de DMSO para diluir o óleo testado. No primeiro tubo havia 2 mL e nos seguintes 1 mL. Foi passado 1 mL desde o primeiro tubo até o último, ficando ao final, todos com 1 mL. Ao final das diluições seriadas era acrescentado 100  $\mu$ L da bactéria em cada tubo. Havia 3 (três) controles, um somente com o meio, um com meio e o óleo de copaíba e outro somente com meio e a bactéria. Os tubos eram, então, colocados na estufa de crescimento bacteriano a uma temperatura de 35°C e após um período de 24 horas era feita a leitura.

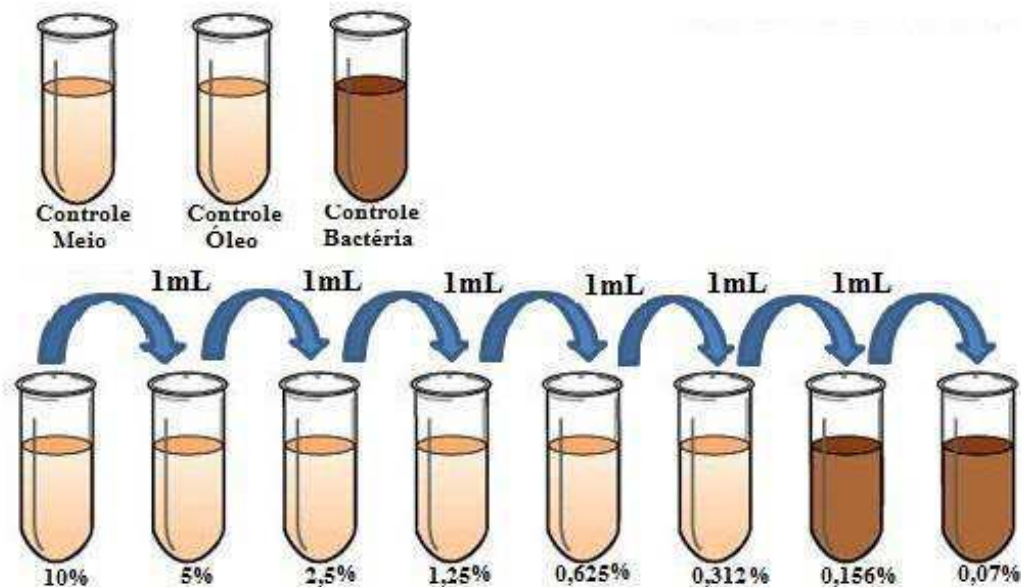


Figura 5 - Esquema da Macrodiluição em tubos (Fonte: Arquivo pessoal).

### 3.7 Avaliação da sensibilidade *in vitro*

As amostras foram analisadas avaliando a presença ou ausência de turbidez (Figura 6), variando a cada diluição e concentração. Para aquelas bactérias que foram sensíveis ao óleo não havia nenhuma turbidez, ou seja, não houve crescimento bacteriano e o óleo mostrou-se eficiente contra elas. Para aquelas bactérias que não foram sensíveis ao óleo era observada presença de turbidez ou produção de biofilme, ou seja, havia crescimento bacteriano e o óleo manifestou-se ser ineficaz contra elas.

Para determinação da CIM empregou-se o mesmo princípio. De acordo com cada concentração observava-se a presença ou ausência de turbidez. Na primeira concentração em que houvesse turbidez, significava que aquela concentração era muito baixa e não era mais competente contra o organismo testado.

O controle do meio e o controle do meio e óleo necessariamente não poderia turvar. O controle de bactéria necessariamente precisaria turvar. Os controles foram usados como forma de garantir que não houvesse falhas durante o teste.

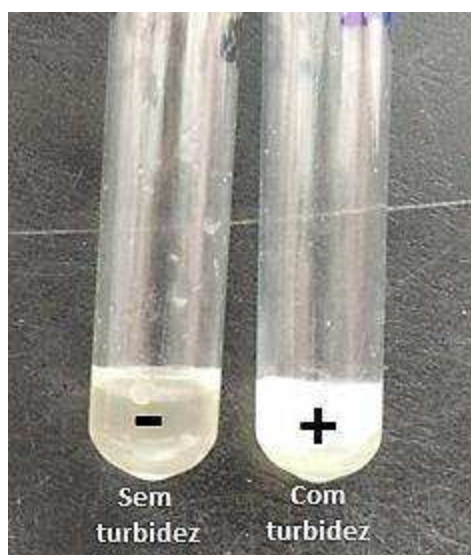


Figura 6 - Tubos de ensaio mostrando ausência e presença de turbidez (Fonte: Arquivo pessoal).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas abaixo resumam os resultados obtidos através do teste de CIM nas amostras bacterianas Gram positivas (Tabela 3) e Gram negativas (Tabela 4) testadas utilizando o Óleo de copaíba.

**Tabela 3** - Resultados da Concentração Inibitória do óleo-resina de copaíba (*Copaifera langsdorffii*), frente as bactérias Gram positivas, Patos/PB, 2016.

Amostra	Agente etiológico	CONCENTRAÇÕES (%)							
		1(10)	2 (5)	3(2,5)	4(1,25)	5 (0,62)	6 (0,3)	7 (0,15)	8 (0,07)
1	<i>Staphylococcus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
2	<i>Staphylococcus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	+	+
3	<i>Staphylococcus spp.</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
4	<i>Staphylococcus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	+	+
5	<i>Staphylococcus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	+	+
6	<i>Staphylococcus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
7	<i>Staphylococcus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	+
8	<i>Staphylococcus spp.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

(-): Inibição bacteriana. (+): Crescimento bacteriano.

**Tabela 4** - Resultados da Concentração Inibitória do óleo resina de copaíba (*Copaifera langsdorffii*), frente às bactérias Gram negativas, Patos/PB, 2016.

Amostra	Agente etiológico	CONCENTRAÇÕES %							
		1 (10)	2 (5)	3 (2,5)	4 (1,25)	5 (0,62)	6 (0,3)	7 (0,15)	8 (0,7)
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
7	<i>Enterobacter</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
8	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

(-): Inibição bacteriana. (+): Crescimento bacteriano.

Das 16 (100%) amostras obtidas, 8 (50%) foram de *Staphylococcus spp.*, 6 (37,5%) de *Pseudomonas aeruginosa*, 1 (6,25%) de *Enterobacter aerogenes* e 1 (6,25%) de *Escherichia Coli*. A bactéria American Type Culture Collection (ATCC) utilizada foi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, para controle de qualidade.

Das 8 cepas de *Staphylococcus spp.*, 7 (87,5%) apresentaram sensibilidade para a concentração de 0,62%, sendo esta concentração considerada C<sub>90</sub>. A concentração de 0,3% foi determinada como a C<sub>50</sub>. Apenas um isolado de *Staphylococcus sp* apresentou resistência a todas concentrações (12,5%).

Estes resultados corroboram com os obtidos por Ziech et al (2011), que também verificaram a atividade antimicrobiana do óleo resina de copaíba (*Copaifera reticulata*) frente a cepas de *Staphylococcus coagulase positivo* isolados de otite de cães através do teste de microdiluição em caldo. Entretanto, os autores reportam que a CIM<sub>90</sub> foi de 0,164 mg/mL, ou seja, foi encontrada uma menor concentração inibitória do que a do presente estudo. O fato pode ser explicado devido ao diferente método de pesquisa empregado e as diferentes espécies do óleo de copaíba avaliadas. Além disso, Biavatti et al (2006) afirmam que a sazonalidade influi na composição química e organoléptica do óleo. Portanto, dependendo ainda da época em que foram coletados, ainda pode ter havido influência das estações na complexidade química e, assim, alterando o efeito dos óleos.

Estudos relativos à atividade antimicrobiana de óleo de copaíba, em sua grande maioria, são realizados com cepas ATCC, onde se pode observar uma grande variação nos resultados (SANTOS et al, 2008). Pesquisa com bactérias isoladas de amostras clínicas são escassos, dificultando a discussão entre os estudos realizados. Santos et al (2008), avaliando diferentes *Staphylococcus* (ATCC), verificaram que os óleos de copaíba das espécies brasileiras *C. martii*, *C. officinalis* e *C. reticulata* exibiram boa atividade contra bactérias gram-positivas, incluindo a MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina), com concentrações de 62,5 a 125 µg/ml.

Em relação as bactérias Gram negativas, no presente estudo, todas as cepas avaliadas apresentaram resistência a todas concentrações testadas. Estudo realizado por Santos et al (2008) também verificaram a resistência do óleo de copaíba frente a bactérias Gram negativas, confirmando que o óleo de copaíba não apresenta atividade antimicrobiana para este grupo de microrganismos. Entretanto, Pieri et al (2012b) estudando óleo de dois diferentes gêneros de copaíba reportam a atividade antimicrobiana frente a bactéria Gram negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas auriginosa*). Porém, foi utilizada a técnica de disco difusão, metodologia diferente da utilizada no presente estudo. O método de disco difusão é considerado pouco eficaz para avaliação da atividade antimicrobiana de óleos, devido à natureza hidrófoba destes, que impediria a difusão uniforme através do meio, gerando apenas resultados qualitativos (NASCIMENTO et al., 2007).

No que se refere a bactérias Gram negativas, principalmente o gênero *Pseudomonas*,



estas possuem histórico de ser uma bactéria bastante resistente, atribuindo-se o fato à composição de sua membrana externa que dificulta a penetração e ação dos agentes antimicrobianos, além de apresentarem diferentes mecanismos de resistência (FERREIRA; LALA, 2010).

Ressalta-se o resultado negativo frente às bactérias Gram negativas testadas, sendo sugerido que o fitoterápico pode ter um maior espectro de ação contra bactérias Gram positivas. Entretanto, estudos referentes à susceptibilidade apresentada pelo óleo de copaíba, bem como avaliação da terapia *in vivo*, devem ser incentivados, principalmente para padronização de protocolos de tratamento.

O óleo de copaíba foi aprovado pelo *Food and drug administration* (FDA) para ser utilizado em alimentos de forma segura em 1972, portanto, seu grau de toxicidade para ingestão oral em humanos já foi provado ser baixo, porém, sua utilização na superfície corpórea ou no conduto auditivo de animais ainda necessita de realização de mais testes.

Não foram encontrados artigos na literatura que testassem *in vivo* o óleo de copaíba especificadamente em conduto auditivo de cães.

## 5 CONCLUSÃO

Analisando-se os resultados obtidos, pode-se concluir que o Óleo de copaíba mostrou eficácia frente a bactérias *Staphylococcus* spp. nas concentrações de 10% a 0,6%, porém, apresentou ineficácia contra bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, ou seja, as Gram negativas avaliadas, em todas as concentrações.

Apesar de ter demonstrado eficácia *in vitro* frente a bactérias Gram positivas (*Staphylococcus* spp.), o uso clínico do fitoterápico ainda deve passar por estudos complementares para definir um protocolo específico de uso, testar sua toxicidade *in vivo* na espécie canina, testar uma possível associação a outro fitoterápico para potencializar seus efeitos benéficos e cada vez mais controlar a resistência antimicrobiana, com a finalidade de se obter produtos como ferramentas de apoio para tratamentos de infecções em animais.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, K.; FREITAS, F.; PEREIRA, T. Etnoveterinária: a fitoterapia na visão do futuro profissional Veterinário. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável.**, Mossoró, v. 1, n. 1, 2006. p. 67-74.
- ALENCAR, E. **Avaliação da atividade antimicrobiana de sistemas emulsionados contendo óleos naturais para o tratamento de infecções cutâneas.** Natal: UFRN, 2013. Tese (Mestrado) – Programa de Pós graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2013.
- ARAÚJO-JUNIOR, F. et al. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 1, 2005.
- BATALHA, M. et al. Plantas Medicinais no Estado de São Paulo: Situação atual, perspectivas e entraves ao desenvolvimento. **Revista Florestar estatístico**, v. 6, n. 15, 2003.
- BIAVATTI, M. et al. Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n. 2.
- BIBERSTEIN, E. A Pele como um Ambiente Microbiano: Infecções bacterianas cutâneas. In: HIRSH, D.; ZEE, Y. **Microbiologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. Cap. 39, p. 194-200.
- BIBERSTEIN, E.; HIRSH, D. Estafilococos. In: HIRSH, D.; ZEE, Y. **Microbiologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. Cap. 21, p. 108-112.
- BRITO, M. et al. Efeito do óleo de copaíba nos níveis séricos de ureia e creatinina em ratos submetidos à síndrome de isquemia e reperfusão renal. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 20, n. 3, 2005. P. 243-246.
- CARDOSO, R. **Atividade antimicrobiana do extrato de própolis frente a isolados de *staphylococcus coagulase positiva* e *Malassezia pachydermatis* de otite canina.** Santa Maria: UFSM, 2009. Tese (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 2009.
- CARVALHO, V. et al. Infecções do trato urinário (ITU) de cães e gatos: etiologia e resistência aos antimicrobianos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 34, n. 1, p. 62-70, 2014.
- COLVILLE, T. Órgãos dos sentidos. In: COLVILLE, T.; BASSERT, J. **Anatomia e fisiologia clínica para Medicina Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. Cap. 14, p. 345-346.
- COSTA, T.; ALMEIDA, O. O conhecimento popular e o risco de intoxicação por ervas medicinais. **EFDeportes**. Buenos Aires, v. 19, n. 194, 2014.
- DEUS, R. et al. Efeito fungitóxico in vitro do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga Hayne*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 3, 2009.
- DYCE, K.; SACK, W.; WENSING, C. A cabeça e a Parte Ventral do Pescoço do Cão e do Gato. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. Cap. 11, p. 374-401.
- ELLENPORT, C. Ouvido (Organum vestibulocochleare [Auris]). In: GETTY, R. **Anatomia dos Animais Domésticos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. Cap 58, p. 1660-1669.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. FDA. Food and drugs. v. 3., 1972.
- FERREIRA, H.; LALA, E. *Pseudomonas aeruginosa*: Um alerta aos profissionais de saúde. **Revista Panamericana de Infectologia**. v. 12, n. 2, 2010. p. 44-50.

- FOSSUM, T. Otite externa. In: \_\_\_\_\_. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 338-341.
- GERARDI, D. Otite externa. In: ROZA, M. et al. **Dia-a-dia: Tópicos Seleccionados em Especialidades Veterinárias**. Curitiba: Medvep, 2014. p. 152-153.
- LIEBICH, H.; KÖNIG, H. Orelha externa. In: \_\_\_\_\_. **Anatomia dos animais domésticos: Texto e atlas colorido**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. Cap 17, p. 613-615.
- LINCOPAN, N.; TRABULSI, L. *Pseudomonas aeruginosa*. In: TRABULSI, L.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. Cap. 49, p. 369-381.
- LORENZI, H. *Copaifera langsdorffi*. In: \_\_\_\_\_. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas Nativas do Brasil**. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2000. p. 152.
- LUSA, F.; AMARAL, R. Otite externa. **PUBVET**. Londrina, v. 4, n. 24, 2010.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, 2006.
- NASCIMENTO, P. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 1., 2007.
- NOGUEIRA, J.; DINIZ, M.; LIMA, E. Atividade antimicrobiana in vitro de produtos vegetais em otite externa aguda. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 74, n. 1, 2008.
- OLIVEIRA, L. et al. Perfil de isolamento microbiano em cães com otite média e externa associadas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, 2006.
- PATEL, A.; FORSYTHE, P. Otite externa e otite média em cão. In: \_\_\_\_\_. **Dermatologia em Pequenos Animais**. Elsevier. Rio de Janeiro: 2010.
- PIERI, F.; MUSSI, C.; MOREIRA, S. Óleo de copaíba (*Copaifera spp.*): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 11, n. 4, 2009.
- PIERI, F., et al. Antimicrobial activity of autoclaved and non autoclaved copaíba oil on *Listeria monocytogenes*. **Revista Ciência Rural**, v. 40, n. 8, 2010a.
- PIERI, F., et al. Efeitos clínicos e microbiológicos do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre bactérias formadoras de placa dental em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, 2010b.
- PIERI, F. et al. Bacteriostatic Effect of Copaiba Oil (*Copaifera officinalis*) against *Streptococcus mutans*. **Braz. Dent. J.**, v. 23, n. 1, 2012a.
- PIERI, F. et al. Antimicrobial profile screening of two oils of *Copaifera* genus. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.1, p. 241-244, 2012b.
- PLOWDEN, C. The Ethnobotany of Copaíba (*Copaifera*) Oleoresin in the Amazon. **New York Botanical Garden Press**. v. 58, n. 4, 2004.
- POSSEBON, K.; KAISER, T.; MARTINS, L. Agentes microbianos isolados de otite externa em cães. In: **XXIII Seminário de Iniciação científica, 2015, Rio Grande do Sul. Anais... Rio Grande do Sul**, 2015.

- REOLON, M., et al. Otite por *Malassezia* em cão: Relato de caso. In: XVI **Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2011, Cruz Alta. Anais... Cruz Alta**, 2011.
- ROSALSKI, A. et al. *Proteus* sp. – an opportunistic bacterial pathogen – classification, swarming growth, clinical significance and virulence factors. **Folia Biologica et Oecologica**. v. 8, p. 1-17, 2012.
- ROSYCHUK, R.; LUTTGEN, P. Doença dos ouvidos. In: ETTINGER, S.; FELDMAN, E. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5. ed., v. 2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. Cap. 122, p. 1042-1059.
- RUSSO, R.; AUTORE, G.; SEVERINO, L. Pharmaco-Toxicological Aspects of Herbal Drugs Used in Domestic Animals. **Journal Natural Product Communications**, v.4, p.2-8, 2009.
- SANTOS, A. et al. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 103, n. 3, 2008.
- SANTOS, J. et al. Bactérias na otite externa canina: etiologia e resistência. **Ars veterinária**. v. 31, n. 2, p. 24, 2015.
- SANTOS, L. et al. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 13, n. 4, 2011.
- SHANLEY, P. et al. Copaíba. In: SHANLEY, P. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**, 2005.
- TEIXEIRA, L. et al. *Staphylococcus aureus*. In: TRABULSI, L; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. Cap. 20, p. 175-182.
- TEIXEIRA, V. et al. Plantas Mediciniais na Etnoveterinária no Brasil – Artigo de Revisão. In: 42º Congresso Bras. de Medicina Veterinária e 1º Congresso Sul-Brasileiro da ANCLIVEPA, 2015, Curitiba. **Anais...** Curitiba, 2015.
- VEIGA-JUNIOR, V.; PINTO, A. O GÊNERO *Copaifera* L. **Revista Química Nova**. Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, 2002. p. 273-286.
- ZIECH, R. et al. Atividade antimicrobiana do oleoresina de copaíba (*Copaifera reticulata*) frente a *Staphylococcus* coagulase positiva isolados de casos de otite em cães. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 33, n. 7, 2013. p. 909-913.