

Utilização do extrato de Nim (*Azadirachta indica*) e própolis em microrganismos isolados de cães (*Canis familiares*) com otite

Use of Neem extract (*Azadirachta indica*) and propolis on microorganisms isolated from dogs (*Canis familiar*) with otitis

DOI: 10.46814/lajdv3n4-043

Recebimento dos originais: 01/05/2021

Aceitação para publicação: 31/06/2021

Carolina Barbosa Carvalho

Médica Veterinária (UFERSA), Residência Clínica Médica Pequenos Animais (UFCG), Pós-Graduanda Geriatria Cães e Gatos (QUALITTAS). Médica Clínica Geral, Centro Médico Veterinário, VetsaN (Curitiba/PR).

Rua Sanito Rocha, 225. Apt 1307. Cristo Rei. Curitiba/PR. 80050-380.

E-mail: carol_zoo@hotmail.com

Francisco Marlon Carneiro Feijó

Professor(a) Dr^o(a) do Curso de Medicina Veterinária, UFERSA – Departamento de Ciências Animais.

BR 110 Km 47. CP 137. Costa e Silva. Mossoró-RN. 59.625-900.

E-mail: marlon@ufersa.edu.br

Paulo Moisés Lima

Professor Msc, Técnico em Agropecuária, IF campus Iguatu/CE
Estrada Iguatu, Várzea Alegre, Km 5. s/n. Cajazeiras, Iguatu/CE. 63503-790.

E-mail: paulomoises1@ifce.edu.br

Klívio Loreno Raulino Tomaz

Médico Veterinário Msc, Hospital Veterinário área Pequenos Animais, UFERSA
Rua Frederico Trota, 159. Apt 503 A. Alto São Manoel. Mossoró-RN. 59631-190.

E-mail: klivio@ufersa.edu.br

Nilza Dutra Alves

Professor(a) Dr^o(a) do Curso de Medicina Veterinária, UFERSA – Departamento de Ciências Animais.

BR 110 Km 47. CP 137. Costa e Silva. Mossoró-RN. 59.625-900.

E-mail: nilza@ufersa.edu.br

Sthenia Amora Santos

Professor(a) Dr^o(a) do Curso de Medicina Veterinária, UFERSA – Departamento de Ciências Animais.

BR 110 Km 47. CP 137. Costa e Silva. Mossoró-RN. 59.625-900.

E-mail: marlon@ufersa.edu.br

RESUMO

A otite canina é uma enfermidade relevante na prática veterinária; desse modo, reveste-se de grande importância o conhecimento do(s) agente(s) associado(s) e seus perfis de susceptibilidade, no intuito de se estabelecer um tratamento direcionado e eficaz e prevenir a disseminação de bactérias multirresistentes (OLIVEIRA et al., 2005). Foram coletadas 29 amostras, através de “swabs” estéreis, de secreções otológicas provenientes de cães de raça, gênero, idade distintas que apresentavam sinais clínicos de otite, no Hospital Veterinário da UFERSA e nas Clínicas do Município de Mossoró- RN no período de agosto 2009 até junho 2010. Isolados e devidamente identificados, os microrganismos foram sujeitos a antibiogramas com antibióticos convencionais e os meios alternativos (extrato Nim e própolis) aqui avaliados, através da técnica de difusão em Ágar pelo disco de papel. Considerando a escassez de dados referentes à otite canina à tratamento provenientes de recursos naturais na região Nordeste do País, este trabalho apresenta resultados da pesquisa por meios alternativos ao tratamento da otite com extrato de Nim (*Azadirachta indica*) e própolis.

Palavras-chaves: otite canina, tratamento, meios alternativos.

ABSTRACT

Use of the extract of Nim (*Azadirachta indica*) and propolis in isolated microorganisms from dogs (*Canis familiares*) with otitis: The canine otitis is a important disease in the practical veterinary medicine; in this manner, the knowledge of the agent(s) and its profiles of [susceptibility](#), in the intention of establishing a directed and efficient treatment and preventing the dissemination of multiresistant bacteria). 29 samples with sterile swabs had been collected, proceeding from dogs of race, genus, age that presented clinical signals of otitis, in the Hospital Veterinarian of the UFERSA and in the clinics of the City of Mossoró- RN in the period of August 2009 until June 2010. Isolated and identified, the microorganisms had been made the antibiogramas with conventional antibiotics and the alternative ways (Nim extract and propolis) here evaluated, through the technique of diffusion in Agar for the paper record. Considering the scarcity of referring data to the canine otitis to the treatment proceeding from natural resources in the Northeast region of the Country, this date present the resulted research for alternative ways to the treatment of the otitis with extract of Nim (*Azadirachta indica*) and propolis.

Key words: canine otitis, treatment, alternative methods.

1 INTRODUÇÃO

A procura por meios alternativos tem sido uma saída positiva para tratamentos em função da necessidade de prevenir ou curar os pacientes sem lhes oferecer possibilidade de intoxicação a partir de medicamentos convencionais disponíveis no mercado, além da existência da resistência do microrganismo, que é um dos desafios no campo de saúde tendo em vista a administração indiscriminada e errônea de medicamentos.

Várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas e direcionadas no descobrimento de novos agentes antimicrobianos provenientes de extratos de plantas e outros produtos naturais, para serem aplicados como produtos farmacêuticos e cosméticos (OSTROSKY et al., 2008). Há poucas publicações de estudos com extrato de Nim (*Azadirachta indica*) e o própolis, podendo ser considerados como uma valiosa fonte para uso na medicina tradicional e no desenvolvimento de bases terapêuticas modernas.

As pesquisas com propósito de obter novos medicamentos a partir de plantas, ou de aprimorar fitoterápicos já existentes, vêm reassumindo papel importante nos últimos anos. Neste contexto, 30% dos medicamentos produzidos pelos países desenvolvidos são provenientes de recursos naturais (SILVEIRA et al., 2009), mostrando uma extrema importância na descoberta da atividade farmacológica, principalmente em um país como o Brasil que oferece uma imensa biodiversidade (OSTROSKY et al., 2008). *Azadirachta indica* (sin. *Antelaea azadirachta*, *Melia azadirachta*), conhecida popularmente como Nim, tem sido usada por séculos no Oriente como planta medicinal, no tratamento de inflamações, infecções virais, hipertensão e febre), ainda como planta sombreadora, repelente, material para construção, combustível, lubrificante, adubo e mais recentemente como praguicida (LOCKE, 1995; MARTINEZ, 2002; SCHMUTTERER, 1990). Embora os antimicrobianos ainda sejam as principais formas de tratamento da patologia em questão, otite, o uso de métodos alternativos tem aumentado, em função da necessidade atual de superar problemas como resistência dos microrganismos. A procura por compostos naturais com potencial preventivo e curativo, sem indesejáveis efeitos tóxicos, vem crescendo nas últimas décadas, devido à baixa toxicidade e larga distribuição na natureza (MOSSINI e KEMMELMEIER, 2005).

O geoprópolis apresenta-se como fragmento rígido de diferentes tamanhos, com granulometria heterogênea, inodoros, coloração marrom escuro e sabor amargo. Constatou-se que a predominância de terra nas amostras não permite uma diferenciação sensorial (DUTRA et al., 2008). A abordagem química dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis indicou a presença de substâncias das classes dos compostos fenólicos, dos triterpenos e das saponinas (DUTRA et al., 2008). Estudos demonstraram as características sensoriais assim como a presença de compostos fenólicos, terpenos e saponinas em amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, coletadas em municípios de diferentes regiões geográficas do estado (NOGUEIRA et al., 2004; NOGUEIRA, 2005). (GOMES et al., 2003); (GOMES; BORGES, 2004) e (GOMES, 2005) demonstraram as atividades analgésica, antiinflamatória e antiedematogênica do extrato hidroalcoólico de geoprópolis, produzido no estado do Maranhão. (DUAILIBE, 2004), em trabalhos experimentais, demonstrou que o bochecho da solução do extrato hidroalcoólico de geoprópolis diminuiu em 48,5% o número de colônias de *Streptococcus mutans* na saliva de pacientes, determinando ação anti-cariogênica. (MARCIEL, 2005) utilizando extrato de geoprópolis demonstrou atividade antimicrobiana *in vitro* contra patógenos orais, sugerindo o uso deste extrato como método auxiliar no tratamento das doenças periodontais. (DUTRA et al., 2005) determinaram os teores de flavonóides em extrato hidroalcoólico de geoprópolis. Flavonóide é um dos compostos que dá origem há vias metabólicas secundárias das plantas, assim como alcalóides, taninos, cumarinas, isoflavonóides, glicosídeos terpenos, poliacetilenos. (YUNES & CALIXTO; NIERO & et al., 2001) Com o avanço das pesquisas, foram atribuídas às referidas substâncias

importâncias relevantes no mecanismo de defesa das plantas contra seus predadores, sejam fungos, bactérias, vírus, parasitas, insetos, moluscos ou animais superiores.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Durante os meses de agosto de 2009 a junho de 2010, foram colhidas 29 amostras de cães com otite que foram atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e Clínicas Médicas Veterinário no Município de Mossoró – RN. Os cães diagnosticados com otite clínica, era colhido amostras através de um “swab” estéril da secreção do canal horizontal e, devidamente etiquetadas e analisadas no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UFERSA. No laboratório eram semeadas em meios de cultura bacteriológico, Ágar Sangue de carneiro desfibrinado a 5% e Ágar MacConkey, em seguida levado a estufa bacteriológica na temperatura de 37°C por 24-48 horas, as amostras que apresentavam crescimento bacteriano, foi retirado um fragmento da colônia para fazer a citologia através do método da coloração de Gram, afim de definir o perfil morfotintorial das colônias, e uma alíquota da cultura transferida para tubos de ensaio contendo caldo de Infuso Cérebro Coração (BHI) e incubados a 37°C durante 24-48 horas. A identificação do microrganismo fora realizado de acordo com a citologia das bactérias através de provas bioquímicas de acordo com MacFaddin (2003). Tendo as devidas identificações das amostras foram realizados os antibiogramas com os antibióticos convencionais e com os meios alternativos, extrato de nim e do própolis a 10, 20 e 30% e ainda os controles positivo e controles negativo. Os antibiogramas foram realizados através da técnica difusão em Ágar pelo disco de papel e a determinação da eficiência dos produtos foram avaliados através da medição dos halos formados em cada concentração de cada substância. Os dados foram avaliados pelo método do teste do Qui-quadrado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 29 amostras submetidas à cultura bacteriana, 20 (68,97%) apresentaram crescimento bacteriano. Entretanto, (RIBEIRO et al., 2000) ressaltam que a demonstração da presença de bactérias no conduto auditivo não significa necessariamente que estes microrganismos sejam patógenos primários totalmente responsáveis pelo desenvolvimento da otite. Os casos em que não houve crescimento microbiano ocorreram devido à possibilidade de agentes microbianos anaeróbios.

A identificação do microrganismo fora realizado de acordo com a citologia das bactérias e das provas bioquímicas. Foram isolados oito diferentes bactérias, *Streptococcus sp.* (5%), *Proteus vulgaris* (10%), *Corynebacterium sp.* (35%), *Bacillus sp.* (10%), *Staphylococcus sp.* (25%), *Staphylococcus aureus* (5%), *Escherichia coli* (5%), *Enterococcus sp.* (5%) (Tabela 01). Estes dados corroboram com os resultados de Santos (2007) que relatou o microrganismo *Staphylococcus* como o principal agente

isolado de cães com otite bacteriana. Dos microrganismos isolados os que apresentaram-se com maior frequência fora *Corynebacterium sp.* e *Staphylococcus sp.* ($X^2 = 0,83$; def = 1; $p < 0,05$).

Tabela 01: Frequência e percentual de bactérias isoladas e identificadas originadas de cães com otite

Microrganismos	Número (N°)	%
<i>Streptococcus sp.</i>	01	5,0
<i>Proteus vulgaris</i>	02	10,0
<i>Corynebacterium sp.</i>	07	35,0*
<i>Bacillus sp.</i>	02	10,0
<i>Staphylococcus sp.</i>	05	25,0*
<i>Staphylococcus aureus</i>	01	5,0
<i>Escherichia coli</i>	01	5,0
<i>Enterococcus sp.</i>	01	5,0
<i>Total</i>	20	100

* ($X^2 = 0,83$; def = 1; $p < 0,05$)

As medidas dos halos referente aos meios alternativos com Nim 10%, 20% e 30%, própolis 10%, 20%, 30% e ainda os controle positivos (gentamicina e iodo puro) e negativos (água destilada e álcool de cereais) estão apresentados na Tabela 02. Os dados observados destacam o Nim (*Azaradicta indica*) a 30% e própolis a 30% somente para o microrganismo *Enterococcus sp.* ($p < 0,05$). As demais bactérias não apresentam resultados significantes, embora o e *Staphylococcus aureus* tenham apresentado halo em relação ao Nim a 30%, própolis a 10%, própolis a 20%, e própolis a 30%. (LANGONI et al, 1996) verificaram ação de 100% em bactérias Gram positivas, como *Staphylococcus aureus*. Já para *Klebsiella pneumonie* e *Pseudomonas auruginosa*, foi verificado um percentual entre 80 e 90%. Já quando utilizaram extrato de própolis (BANKOVA et al ,1999) não encontraram nenhuma atividades antibacteriana para bactérias Gram negativas, colaborando os resultados encontrados neste trabalho quanto ao extrato de própolis. Esta diferença de resultados provavelmente acontece devido a um teor lipídico maior do que as bactérias Gram positivas, tais características estão envolvidas com a maior resistência ao extrato de própolis testado. (PAI et al., 2004) observaram que o extrato de Nim (*Azaradichta indica*) mostrou redução da placa bacteriana, sendo utilizado no tratamento de gengivites e periodontites.

Todos os microrganismo testados foram sensíveis ao controle positivo gentamicina, de acordo com (DWIGHT; ZEE, 1999), as bactérias Gram positivas e Gram negativas são sensíveis ao aminoglicosídeos mais recentes, como a gentamicina.

Tabela 02: Apresentação das medições dos halos ao meio alternativo Nim (*Azadirachta indica*) e própolis, controle positivo e controle negativo

Microorganismo	Nº	Nim 10 %	Nim 20%	Nim 30%	Próp 10%	Pró p 20 %	Próp 30%	H2 O dest .	Alc ool	Iodo Puro	Gen
<i>Streptococcus sp.</i>	01	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	33mm*	21,57mm*
<i>Proteus vulgaris</i>	02	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	18mm*	23mm*
<i>Corynebacterium sp.</i>	07	0mm	0mm	0mm	1,14mm	2mm	1,14mm	0mm	1mm	28,43mm*	23,57mm*
<i>Bacillus sp.</i>	02	0mm	0mm	0mm	3mm	6mm	0mm	0mm	3mm	25,5mm*	17mm*
<i>Staphylococcus sp.</i>	05	0mm	3mm	4mm	0mm	0mm	2mm	0mm	0mm	25,8mm*	29,2mm*
<i>Staphylococcus aureus</i>	01	0mm	0mm	18mm	7mm	7mm	10mm	0mm	0mm	33mm*	27mm*
<i>Escherichia coli</i>	01	0mm	0mm	12mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	45mm*	18mm*
<i>Enterococcus sp.</i>	01	0mm	0mm	12mm*	0mm	8mm	14mm*	0mm	0mm	20mm*	20mm*
	20	0mm	0,15mm	2,3mm	0,56mm	1,15mm	1,35mm	0mm	0,2mm	11,44mm	8,967mm

* ($X^2 = 0,53$; def = 1; $p < 0,05$)

4 CONCLUSÃO

O extrato de Nim (*Azadirachta indica*) e o própolis a 30% podem ser utilizados como método alternativo nas infecções por *Enterococcus sp.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bankova, V. ET AL Chemical. **Composition and antibacterial activity of Brazilian propolis.** Z Naturforsch C, Tübingen, V. 50, n. 3-4, p.167 – 172, 1995.
- Dwight, C.H.; Zee, Y.C. **Microbiologia Veterinária.** 2ª. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1999, 445p.
- Duailibe. Efeito do extrato de própolis na contagem de *Streptococcus mutans* da cavidade oral. São Luís, 73p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, **Universidade Federal do Maranhão**, 2004.
- Dutra, R.P.; Nogueira, A.M.C.; Marques, R.R.D.O.; Costa, M.C.P.; Ribeiro, M.N.S. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata Smith* da Baixada maranhense, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacologia.** 18(4): 557-562. Out./Dez, 2008.
- Gomes V.A.; Nogueira A.M.C.; Marques E.C.; Santana E.R.; Barros F.E.R.; Borges M.O.R.; Borges A.C.R.; Ribeiro M.N.S. Estudos das atividades antiinflamatórias e antinociceptiva da própolis de *Melipona compressipes fasciculata Smith* (túbia). **XV Seminário de Iniciação Científica.** São Luís, Brasil. 2003.
- Langoni, H; Domingues P.F; Funari, S.R.C; Chande, C.G; Neves I.R. Efeito antimicrobiano “in vitro” da própolis. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v.48, n2. P.227-229, 1996.
- Locke, J.C. “Fungi” In: “The Neem Tree”. **Edited By H. Schmutterer**, VHC, pág. 118-26. 1995.
- Marciel A.A.B. Atividade antimicrobiana da própolis e geoprópolis contra periodontopatógenos. 35f. **Dissertação (Mestrado Ciência da Saúde)** – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2005.
- Martinez, S.S. O Nim - *Azadirachta indica* Natureza, Usos Múltiplos, Produção. **Publicado pelo IAPAR** – Londrina, 2002.
- Nogueira, A.M.C.; Matos, R.R.O.; Costa, M.C.P.; Ribeiro, M.N.S. Própolis da túbia (*Melipona compressipes fasciculata Smith*): aspectos químicos e físico-químicos. **LVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira Progresso da Ciência.** Brasília, Brasil. 2004a.
- Nogueira, A.M.C; Matos, R.R.O.; Gomes, V.A.; Ribeiro, M.N.S.; Borges, M.O.R; Borges, A.C.R.; Costa, M.C.P. Química e farmacologia de geoprópolis da túbia. **IV Reunião Regional da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência.** São Luís, Brasil. 2004b.
- MacFadin J.F. **Biochemical tests for identification of medical bacterial.** 3ª ed. Philadelphia: Lawrence McGrew, Lippincott Williams & Wilkins, USA. 901p, 2000.
- Mossini, S.A.G; Kimmelmeier, C. a árvore Nim (*Azadirachta indica A. Juss*): Múltiplos usos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v.24, n.1, p.139-148, 2005.
- Ostrosky E.A; Mizumoto M.K; Lima M.E.L; Kaneko T.M; Nishikawa S.O; Freitas B.R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacologia.** 18(2):pág. 301-307.2008)

Pai, M.R, Acharya, L.D.; Udupa, N. Evaluation of antiplaque activity of *Azadirachta indica* leaf extract gel-a 6-week clinical study. **Journal Ethnopharmacology**, v. 90, p. 99-103, 2004

Ribeiro L.R.R, Gonfiantini, J.M.P.F, Bapo V.J, Bastos O.P. Flora bacteriana de ouvido de cães atendidos no hospital veterinário da UFMS. **Hora Veterinária**, 118:pág. 29-31. 2000

Santos, R.R. Sensibilidade in vitro da microbiota da orelha de cães como otite externa a cinco antimicrobianos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, supl. 2, s. 433-s435, 2007

Schmutterer, H. Properties and potencial of natural pesticides from to nim tree *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.358, p.271-297, 1990.

Silveira, L.M.D.S.; Olea, R.S.G.; Mesquita, J.S.; Cruz, A.D.L.N.D & Mendes, J.C. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de Agar difusão. **Revista Brasileira de Farmacologia**., 90(2): pág. 124-128, 2009.

Yunes, R.A & Calixto, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapecó: Argos. pág 500, 2001.