



## ESCHERICHIA COLI E O ÓLEO ESSENCIAL DO CYMBOPOGON FLEXUOSUS COMO AGENTE ANTIMICROBIANO NO CONTROLE DA MASTITE BOVINA

### Diana Klöckner<sup>2</sup>, Christiane de Fátima Colet<sup>3</sup>

- <sup>1</sup> Projeto de pesquisa desenvolvido no Laboratório Suport'D Leite, através do Programa de Pós-Graduação *Stricto-Sensu* em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade da Unijuí.
- <sup>2</sup> Bolsista Unijuí; estudante do curso de Mestrado em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade; Médica veterinária; diklockner@gmail.com
- <sup>3</sup> Farmacêutica, Doutora, Docente do Programa de Pós-Graduação *Stricto-Sensu* em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade da Unijuí.

# INTRODUÇÃO

A *Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa comumente encontrada no trato intestinal de animais e humanos (Guerra *et al.*, 2019). Embora muitas cepas sejam inofensivas, algumas são patogênicas e podem causar doenças sérias (Gentilini, 2010). No contexto da pecuária leiteira, a E. *coli* é notoriamente conhecida por ser uma das principais causadoras de mastite bovina, uma inflamação das glândulas mamárias das vacas leiteiras (Santos *et al.*, 2017).

A mastite bovina é uma das doenças mais significativas economicamente na indústria leiteira, afetando tanto a produção de leite quanto a saúde animal (Ferreira e Ribeiro, 2022). Pode ser classificada em mastite clínica e subclínica (Casale, 2019). A mastite clínica apresenta sintomas visíveis, como inchaço, vermelhidão, dor e grumos no leite, além de sinais sistêmicos e a mastite subclínica, por outro lado, não apresenta sintomas evidentes, mas resulta em uma diminuição na produção de leite, qualidade do produto e aumento da contagem de células somáticas do leite (Guerra *et al.*, 2019). Ambas acarretam altos custos com tratamentos medicamentosos, incluindo antibióticos e anti-inflamatórios (Lenhart *et al.*, 2022).

A E. *coli* é uma bactéria aeróbia facultativa que pode sobreviver tanto em ambientes com oxigênio quanto sem ele, sendo altamente adaptável, conseguindo viver em uma ampla variedade de ambientes (Gentilini, 2010). Seguindo nessa linha, a infecção ocorre quando a bactéria presente no ambiente entra na glândula mamária através do canal do teto, em virtude de higiene inadequada, sistema imunológico enfraquecido e situações de estresse (Ribeiro *et al.*, 2006).

Portanto, medidas de controle e prevenção vêm sendo empregadas para combater a infecção por essa bactéria, especialmente a utilização de microbianos, utilizados em demasia e muitas vezes sem orientação de um profissional capacitado, ocasionando resistência a esses





fármacos (Benedette *et al.*, 2008). Nesse contexto, a busca por terapias alternativas para o tratamento e prevenção para mastite está sendo alvo de grande procura, especialmente a utilização de óleos essenciais (Vianna *et al.*, 2016).

Neste contexto, buscou-se com esse trabalho avaliar *in vitro* a eficácia do óleo essencial de Capim-Limão (*Cymbopogon flexuosus*), em diferentes concentrações, frente a *Escherichia coli* encontrada em leite bovino proveniente de vacas com mastite clínica e/ou subclínica durante a estação de inverno, do estado do Rio Grande do Sul.

Ademais, esse estudo atrela-se ao encontro dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da Organização das Nações Unidas (ONU), sendo eles, Fome Zero e Agricultura Sustentável, Indústria, Inovação e Infraestrutura e Parcerias em Prol das Metas.

#### **METODOLOGIA**

O estudo foi realizado no Laboratório Suport'D Leite, em Ijuí, Rio Grande do Sul, entre os meses de julho e agosto de 2023, durante o período de inverno, com amostras de leite recebidas de vacas com mastite clínica ou subclínica que apresentaram na cultura microbiológica crescimento bacteriano positivo para *Escherichia coli*.

As concentrações de óleo essencial de Capim-Limão utilizadas foram 0, 20 e 60%, diluídas em Polissorbato 80 (Tween). Como controle negativo foi utilizado a concentração de 0%, emulsionada por Tween e solubilizada em água destilada estéril. E como controle positivo foram utilizados os antibióticos Ciprofloxacina 5mg e Enrofloxacina 5 mg, ambos fluoroquinolonas.

Após a leitura das culturas microbiológicas que apresentaram crescimento bacteriano isolado para *Escherichia coli*, com um swab estéril, foi retirado da placa as colônias. Esse mesmo swab foi introduzido em um tubo Falcon com 1mL de caldo BHI e esperado 3 horas para promover o crescimento bacteriano. Depois desse período, foi retirado o excesso do caldo e na placa de Petri com Ágar Müller-Hinton realizou-se o esfregaço com o swab de modo a cobrir toda a superfície da placa com o material microbiológico.

Depois do esfregaço e identificação da placa, foram depositados os discos de antibiótico, com o auxílio de uma pinça e lamparina acesa, que realizou a flambagem da pinça, evitando a contaminação ao trocar o princípio ativo. Após os discos, foram colocadas as concentrações do óleo essencial em um pequeno orifício feita com a ponteira da micropipeta de





20 μl, que foi a quantidade depositada de cada concentração, e então fechada a placa e colocada em estufa de incubação a 37° graus por 24 horas.

Após as 24 horas, foi realizada a leitura dos halos, que foram estimados através do diâmetro, por um traçado feito por régua tradicional. Verificando assim, em mm quanto resultará o halo de cada antibiótico e concentração disposto sobre a placa. Para o óleo essencial, halos de inibição iguais ou maiores a 8 mm foram considerados sensíveis e para os antibióticos Ciprofloxacina e Enrofloxacina seguiu-se o padrão estabelecido pela Laborclin, conforme tabela 1.

Tabela 1. Halos de inibição dos antibióticos utilizados como controle positivo.

Antibiótico	CÓD	≤ Resistente	Intermediário	≥ Sensível
Ciprofloxacina	CIP 5 mg	15 mm	16-20 mm	21 mm
Enrofloxacina	ENO 5 mg	14 mm	15-17 mm	18 mm

Fonte: autoria própria (2024), adaptado Laborclin

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo revelou que, o controle positivo Ciprofloxacina foi o que melhor inibiu o crescimento da *Escherichia coli*, sendo superior a Enrofloxacina e as concentrações de óleo essencial. A concentração de 60% de óleo essencial de Capim-Limão foi a que melhor inibiu o crescimento bacteriano, mas foi inferior aos controles positivos. A concentração de 20% foi intermediária e o controle negativo não inibiu, havendo crescimento bacteriano, conforme esperado, como demonstrado na Tabela 2 abaixo.

Tabela 2. Inibição do crescimento bacteriano de Escherichia coli pelas concentrações de óleo essencial de Cymbopogon flexuosus e dos controles positivos.

Tratamento	Média
Ciprofloxacina	30,50
Enrofloxacina	25,00
Concentração 60%	22,75
Concentração 20%	11,00
Concentração 0%	0,00





Média Geral	19,63
Coeficiente de Variação (%)	13,22

Fonte: Dados da autora (2024)

Rodrigues *et al.* (2020) relata que, o óleo essencial de capim-limão possui atividade antimicrobiana frente a *E. coli*, principalmente seus componentes, como o citral e o geraniol, sendo assim, uma terapia integrativa ao tratamento convencional, que continua sendo majoritariamente o uso dos antimicrobianos (Alves e Moreira, 2021).

Os resultados obtidos para a atividade antimicrobiana do *Cymbopogon flexuosus* frente a *E. coli* no estudo são superiores aos obtidos por Azevedo *et al.* (2015), que demonstram halos de inibição em torno de 4 mm em concentrações abaixo de 50%.

Todavia, há a necessidade de novos estudos com concentrações mais elevadas do que as utilizadas no estudo para verificar se elas podem ter um comportamento semelhantes e/ou superior ao controle positivo utilizado.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* apresenta potencial de atividade antimicrobiana frente a *Escherichia coli* presente em leite mastítico de vacas, podendo ser uma alternativa coadjuvante e sustentável ao uso dos antimicrobianos para o tratamento e prevenção das mastites na pecuária de leite. Porém, mais estudo *in vitro* e *in vivo* são necessários para compreender sua toxicidade e atividade no organismo animal, levando em consideração a importância da mastite bovina ocasionada pela E. *coli* e os danos causados ao animal, além dos prejuízos econômicos a toda cadeia produtiva.

Palavras-chave: Escherichia coli. Mastite. Bovinos. Cymbopogon flexuosus.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradecimento especial ao laboratório Suport'D de Leite pela disponibilidade das amostras e local para realização do estudo. À Unijuí, pela bolsa de estudo e ao grupo de pesquisa PLAMEDIC pelo apoio e atenção.





### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, T., MOREIRA, M.A. Mastite Bovina: Tratamento Convencional e Ação de Compostos Extraídos de Plantas. **Uniciências**, v. 25, n. 1, p. 20-25, 2021.

AZEVEDO, I.L., *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo essencial de Capim Limão (*Cymbopogon flexuosus* Steud. Wats.) frente a bactérias isoladas de aves. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 7, n. 1, jan./abr., 2015.

BENEDETTE, M.F., et al. Mastite bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Periódicos Semestral, Ano VI, n. 11, jul., 2008.

CASALE, F.C.C. Caracterização molecular de *Escherichia coli*, isolada de leite de vacas com mastite clínica. Tese de Doutorado, UNESP, Instituto de Biociências, Botucatu – SP, 2019.

FERREIRA, B.H.A., RIBEIRO, L.F. Mastites causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Streptococcus uberis* relacionadas ao sistema de produção Compost Barn e o impacto na qualidade do leite. **GETEC**, v. 11, n. 35, p. 1 -18, 2022.

GENTILINI, M.B. Utilização da vacina *Escherichia coli* J5 na imunização de vacas e novilhas leiteiras contra mastites causadas por *Escherichia coli*. Dissertação de Mestrado, Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, 2010.

GUERRA, S.T., *et al.* Fatores de virulência de *Escherichia coli*: revisão de infecções em humanos e animais com ênfase na mastite bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 40, n. 5, p. 2087-2100, set./out., 2019.

LENHART, D.S., *et al.* Mastite bovina: relato de caso. **ANAIS de Medicina Veterinária**, UCEFF, 2022/2.

RIBEIRO, M.G., *et al.* Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 5, p. 724-731, 2006.

RODRIGUES, G.S., *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. (Capim-Santo) sobre *Staphylococcus aureus* e. *Escherichia coli*. **Revista Ciência, Tecnologia e Ambiente**, vol. 10, e10177, 2020. <a href="https://doi.org/10.4322/2359-6643.10177">https://doi.org/10.4322/2359-6643.10177</a>

ULSENHEIMER, B.C., *et al.* Determinação do Potencial Antimicrobiano de Óleos Essenciais de Lavanda (Lavandula Dentata L.) e Manjericão (Ocimum Basilicum L.) Sobre Cepas de Pseudomonas Aeruginosa Isolada de Leite Mastitíco Bovino. **Editora Unijuí, Revista Contexto & Saúde**, vol. 20, n. 40, jul./dez. 2020, p. 209-214.