

EFICÁCIA DOS EXTRATOS DE AROEIRA E CALÊNDULA *IN VITRO* EM *STAPHYLOCOCCUS* ISOLADOS DE PIODERMITE CANINA¹

Isabella de Oliveira Cunha², Adriano França da Cunha³,
Alessandra Sayegh Arreguy Silva⁴, Eduarda Lima Pires da
Cunha⁵, Leandro Santiago Alves⁶, Magna Coroa Lima⁷

Resumo: A piodermite é uma das principais responsáveis pela prescrição de antimicrobianos na clínica de pequenos animais, favorecendo a resistência bacteriana. Nesse estudo, foram realizados testes com extratos de aroeira e calêndula, em amostras coletadas da pele de cães com piodermite e cães saudáveis, em Viçosa – Minas Gerais. Para os extratos de Aroeira (EA) e Calêndula (EC), utilizou-se, respectivamente, cascas e folhas moídas, acrescentadas de álcool 70%. As soluções foram mantidas em repouso, à 25°C, por oito dias. Após esse tempo, realizou-se a filtração e rotoevaporação da solução. Para o teste com extratos de plantas foi realizado o método de difusão em ágar Mueller Hinton, através da técnica de poço. O EA apresentou atividade antimicrobiana em todas as concentrações utilizadas. Em 66,6% das amostras, o EC apresentou maior atividade inibitória na concentração

¹Parte do trabalho de Iniciação Científica do primeiro autor;

²Graduanda em Medicina Veterinária – UNIVIÇOSA. e-mail: oliveira_isabella08@hotmail.com

³Doutor em Ciência Animal pela UFMG. e-mail: adrianofcunha@hotmail.com.br

⁴Doutoranda em Medicina Veterinária pela UFV. e-mail: veterinaria@univicosacom.br

⁵Graduanda em Medicina Veterinária – UNIVIÇOSA. e-mail: eduarda_limapires@hotmail.com ⁶Graduando em Medicina Veterinária – UNIVIÇOSA. e-mail: lesantiagoalves@gmail.com

⁷Doutora em Medicina Veterinária pela UFV. e-mail: magnaveterinaria@yahoo.com.br

de 100%. Em 13,3%, houve crescimento de algumas colônias dentro dos halos formados frente ao EC. Em 6,6%, verificou-se atividade inibitória nas diluições 1:100 e 1:50. Nenhuma amostra foi sensível ao EC na diluição de 1:25. Em todas as amostras, o controle positivo feito com disco de ciprofloxacina, apresentou atividade antimicrobiana superior a dos extratos. Entretanto, 5 amostras (33,3%) apresentaram heterorresistência à ciprofloxacina. Desse grupo, os EA e EC apresentaram atividade inibitória.

Palavras-chave: Cães; dermatopatias; fitoterapia; microbiologia.

Abstract: *Pyoderma is one of the main responsible for the clinical use of antimicrobials in small animal medicine, favoring bacterial resistance. In this study, tests were carried out with extracts of hoop and marigold, in samples collected from the skin of dogs and dogs, in Viçosa - Minas Gerais. For the extracts of Aroeira (EA) and Calendula (EC), ground leaves were used, respectively, with 70% alcohol added. The solutions were kept in resistance at 25°C for eight days. After this time, the analysis of the solution-evaporation route was carried out. For the test with plant extracts, the diffusion method was carried out in Mueller Hinton agar, using the well technique. The EA presented in all antimicrobial activities developed. In 66.6% of the samples, EC showed inhibitory activity at a concentration of 100%. In 13.3%, there was growth of some colonies within the halos formed in front of the EC. In 6.6%, assess inhibitory activity at 1:100 and 1:50 dilutions. Sample was sensitive to EC at 1:25 dilution. In all samples, the positive control made with ciprofloxacin disc showed superior antimicrobial*

activity to the extracts. However, 5 samples (33.3%) showed heteroresistance to ciprofloxacin. From this group, EA and EC showed inhibitory activity.

Keywords: *Dogs; microbiology; phytotherapy; skin diseases.*

INTRODUÇÃO

A terapia antimicrobiana tem fundamental importância na clínica médica veterinária. No entanto, há uma preocupação acerca da resistência bacteriana, tanto por parte da medicina veterinária, quanto por parte da medicina humana, pois uma série de bactérias patogênicas para os humanos têm reservatórios animais e podem ser transmitidas ao homem por alimentos contaminados, exposição a animais ou ambientes contaminados. (GUARDABASSI et al., 2008).

A resistência bacteriana pode ser natural ou adquirida, sendo a última, a grande responsável pelos prejuízos na conduta terapêutica. Nesses casos, o antimicrobiano atua como agente seletor, agindo sobre as bactérias sensíveis e permitindo o crescimento daquelas resistentes. (SPINOSA, GÓRNIK, e BERNARDI, 2017).

As infecções bacterianas na pele, as piodermites, são uma das principais responsáveis pela prescrição de antimicrobianos na medicina de pequenos animais. Embora possua alta prevalência, a piodermite canina é comumente diagnosticada incorretamente, levando a um tratamento inadequado e a recidivas frequentes (BOTONI *et al*, 2014), que favorecem a resistência bacteriana.

A preocupação acerca das piодermites envolvendo *Staphylococcus spp* tem se tornado crescente, tanto pelo seu potencial zoonótico, quanto pelo aumento de casos com *Staphylococcus* multirresistentes. O *Staphylococcus pseudointermedius* é uma bactéria residente da microbiota cutânea de cães, sendo o agente etiológico mais isolado de piодermite superficial (BOTONI *et al*, 2014). Por isso, é primordial o desenvolvimento de estudos sobre alternativas terapêuticas eficazes contra essa afecção e que fomentem o uso racional de antimicrobianos.

Em vista do aumento de bactérias resistentes e da sua importância para a saúde pública, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência *in vitro* de *Staphylococcus* isolados de piодermite canina, na cidade de Viçosa – Minas Gerais, frente às substâncias fitoterápicas aroeira e celêndula.

MATERIAL E MÉTODOS

Essa pesquisa experimental foi realizada na Clínica Veterinária Escola e no Laboratório de Pesquisa Animal, do Centro Universitário de Viçosa – Univiçosa, e no Atlas Hospital Veterinário. O projeto de pesquisa foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Univiçosa, sob número de protocolo 014.2021.01.01.15.02.

Foram coletadas amostras de vinte e três animais da rotina clínica da Clínica Veterinária Escola da UNIVIÇOSA e do Atlas Hospital Veterinário, em Viçosa-MG. Os animais foram selecionados de acordo com dois grupos: Grupo Hígidos, composto por animais sem doenças dermatológicas,

e Grupo Doentes, composto por animais com piodermite. As coletas foram realizadas mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do responsável pelo animal.

As coletas foram realizadas na Clínica Veterinária Escola do Centro Universitário de Viçosa-UNIVICOSA e no Atlas Hospital Veterinário, por meio de um swab, previamente umedecido em solução salina 0,9%. Nos animais do Grupo Hígido, as coletas foram sistematicamente realizadas na região inguinal. No Grupo Doentes, as coletas foram realizadas no local das lesões. Imediatamente após a coleta, as amostras foram semeadas em Ágar Sal Manitol, e colocados na estufa à 37°C, por 24-48 horas, segundo TERNES (2010), com pequenas modificações.

As amostras que apresentaram crescimento com borda bem delimitada, com coloração branca, acinzentadas a transparentes, foram submetidas à coloração de Gram e avaliadas quanto à sua morfologia. Aquelas identificadas fenotipicamente como cocos gram-positivos, foram submetidas aos testes com extratos fitoterápicos.

Os extratos foram obtidos das plantas Aroeira e Calêndula. Para o extrato de Aroeira, utilizou-se 300g da casca moída e 1000ml de álcool 70%. A solução foi mantida em repouso, à temperatura ambiente (25°C), durante oito dias. Após esse período, realizou-se a filtração da solução com gaze e posteriormente, com papel filtro. O filtrado resultante passou por rotoevaporador, até a evaporação total do álcool, Segundo REBELLLO (2013), com pequenas modificações.

Para o extrato de Calêndula, utilizou-se 110,3g das folhas moídas e 367ml de álcool 70%. A solução foi mantida em repouso, à temperatura ambiente (25°C), durante oito dias. e posteriormente, realizou-se a filtração com gaze e papel filtro. O filtrado resultante passou por rotoevaporador, até a evaporação total do álcool, Segundo REBELLLO (2013), com pequenas modificações.

Para o teste com extratos de plantas foi realizado o método de difusão em ágar Mueller Hinton, através da técnica de poço. Utilizou-se os extratos de Aroeira e Calêndula, sem diluição e nas diluições 1:100, 1:50 e 1:25, com um disco de Ciprofloxacina como antibiótico controle. Após inocular a amostra de bactéria em suspensão, com turvação equivalente à escala 0,5 de MacFarland (1,5 x 10⁸UFC/mL), foram feitos os poços com o auxílio de um *punch* estéril e colocados 20µl de extrato por poço. A leitura foi realizada após 24h de incubação das placas à 37°C, pela medida dos halos de inibição, com a utilização de régua milimetrada, adaptado de COSTA (2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos extratos avaliados, a aroeira apresentou atividade antimicrobiana em todas as concentrações utilizadas, corroborando com COSTA *et al* (2010), que avaliou o efeito antimicrobiano da aroeira frente à bactéria gram positiva *Enterococcus faecalis*. Em 6,6% das amostras (1 de 15), verificou-se crescimento de algumas colônias no interior do halo, de todas as concentrações do extrato de aroeira. Nessa amostra, não houve atividade antimicrobiana do extrato de calêndula,

mas verificou-se sensibilidade frente ao controle positivo. Segundo REBELLO (2013), a atividade antimicrobiana da aroeira se deve aos compostos alcalóides, taninos, flavonóides e saponinas, encontrados em folhase cascas do caule.

Em 66,6% (10 de 15) das amostras, o extrato de calêndula apresentou maior atividade inibitória na concentração de 100%. Em 13,3% (2 de 15), houve crescimento de algumas colônias dentro dos halos formados. Em 6,6% (1 amostra), verificou-se atividade inibitória nas diluições 1:100 e 1:50. Nenhuma amostra foi sensível à calêndula na diluição de 1:25. Do total, 20% (3 de 15) das amostras foram resistentes à calêndula e 13,3% (2 de 15), apresentaram inibição parcial, semelhante ao encontrado por BUFFON *et al* (2001), que sugeriu o efeito do extrato de calêndula sobre *Staphylococcus aureus*. O efeito pode ser explicado pelo fato de se tratar de uma bactéria gram positiva, com parede celular sem membrana externa. Em seu estudo, foi comprovado que a presença de compostos beta lactâmicos, como (S)-(+)-Dihidro-5-(hidroximetil)-2(3H)-furanona, presentes no extrato de calêndula, se ligam às proteínas ligadoras de penicilina (PBP's), responsáveis pela síntese da parede celular, levando à lise e morte da bactéria.

Em todas as amostras, o controle positivo feito com disco de ciprofloxacina (quinolona), apresentou atividade antimicrobiana superior a dos extratos. Entretanto, 5 amostras (33,3%) apresentaram heterorresistência à ciprofloxacina. Desse grupo, os extratos de aroeira e calêndula apresentaram atividade inibitória, corroborando com REBELLO (2013), que discutiu a sensibilidade de *Staphylococcus aureus* resistentes a quinolonas e à meticilina, frente ao extrato de aroeira.

CONCLUSÃO

De acordo com o exposto, verificou-se a presença de atividade antimicrobiana *in vitro* em todos os extratos vegetais testados, frente à *Staphylococcus* isolados de piodermite canina, no município de Viçosa – Minas Gerais.

Os resultados encontrados sugerem que as plantas avaliadas são alternativas promissoras no tratamento de piodermite, principalmente em casos que envolvam *Staphylococcus* multirresistentes.

Faz-se necessário mais pesquisas com os extratos de aroeira e calêndula, visando comprovar sua eficácia e aplicabilidade clínica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Univiçosa, pela concessão da bolsa de Iniciação Científica; aos colegas e colaboradores da Univiçosa e do Atlas Hospital Veterinário, pela ajuda durante a realização do experimento; a minha orientadora Magna e co-orientadora Alessandra, pela disponibilidade e apoio; e ao professor Adriano, pela gentileza e colaboração no projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOTONI, Larissa Silveira et al. **Piodermite superficial**

canina por *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à metilicina (MRSP). Medvep Dermato - Revista de Educação Continuada em Dermatologiae Alergologia Veterinária; 3(10); 270-277, 2014

BUFFON, Marilene da Cruz Magalhães et al. **Avaliação da eficácia dos extratos de *Malva sylvestris*, *Calêndula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoaria* no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo *in vitro*.** Visão Acadêmica, v. 2, n. 1, 2001.

COSTA, E. M. M. B. *et al.* **Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*** • J Bras Patol Med Lab • v. 46 • n. 3 • p. 175-180 • junho 2010

GUARDABASSI, L., JENSEN L.B., KRUSE H. **Guide to Antimicrobial Use in Animals.** 1ª ed. Oxford: Blackwell Publishing, p.223, 2008.

REBELLO, Luciana Camizão. **Atividade antimicrobiana dos extratos de *Schinus terebinthifolia* Raddi.** 2013. 48

f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2013.

SPINOSA, H. de S., GÓRNIK, S. L., BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária.** 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2017.