

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE PLANTAS FRENTE À STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLADOS DE BOVINOS COM MASTITE¹

Junio Cesar Santos², Adriano França da Cunha³, Rayssa Gomes Alves⁴,
Talita Oliveira Maciel Fontes², Vitorio Augusto Fabris Xavier Cardoso²,
Mariana Fonseca Nunes²

Resumo: *A mastite bovina está entre as principais enfermidades que causam prejuízos em propriedades leiteiras. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente à Staphylococcus aureus isolados de vacas com mastite clínica e subclínica. Extratos hidroalcoólicos de Piptadenia gonoacantha, Schinus terebinthifolius, Eucalyptus globulus, Momordica charantia, Vernonia polyanthes, Struthanthus vulgaris e Melaleuca alternifolia foram obtidos por meio de destilação fracionada para serem utilizados em teste de inibição em placas e concentração inibitória mínima, utilizando concentrações de 0,05, 0,2, 0,4, 0,8 e 1,5% dos extratos das plantas. Os tubos que não apresentaram turvação foram submetidos à cultivo em placas para confirmação. Extratos hidroalcoólicos de plantas apresentam efeito antimicrobiano frente à S. aureus isolados de animais com mastite clínica ou subclínica. E. globulus, M. alternifolia e S. terebinthifolius apresentam potencial promissor para o controle de mastite causada por S. aureus em bovinos.*

Palavras-chave: Fitoterápico, inibição, mastite, micro-organismo, vaca

Abstract: *Bovine mastitis is among the major diseases that cause losses in dairy farms. The objective was to evaluate the antimicrobial activity of plant*

¹ Parte do Trabalho de Conclusão de Curso do primeiro autor;

² Graduando(a) em Medicina Veterinária – FACISA/UNIVISO. e-mail: junio16cesar@gmail.com; talitaomf95@hotmail.com; vitorioaugustofxc@yahoo.com.br; mariananunes10@hotmail.com;

³ Professor em Medicina Veterinária – FACISA/UNIVISO. e-mail: adrianofcunha@hotmail.com.br

⁴ Graduanda em Engenharia Química – FACISA/UNIVISO. e-mail: rays-salves@hotmail.com

extracts against the Staphylococcus aureus isolated from cows with clinical and subclinical mastitis. Hydroalcoholic extracts of Piptadenia gonoacantha, Schinus terebinthifolius, Eucalyptus globulus, Momordica charantia, Vernonia polyanthes, Melaleuca alternifolia and Struthanthus vulgaris were obtained by fractional distillation to be used in inhibition tests in plates and minimum inhibitory concentration, using concentrations of 0.05, 0, 2, 0.4, 0.8 and 1.5% of the plant extracts. The tubes that had no turbidity were subjected to cultivation plates for confirmation. Plant hydroalcoholic extracts have antimicrobial effect against the S. aureus isolated from animals with clinical or subclinical mastitis. E.globulus, M. alternifolia and S. terebinthifolius have promising potential for mastitis control caused by S. aureus in bovines.

Keywords: Cow, inhibition, mastitis, microorganism, phytotherapy

Introdução

Mastite é a inflamação da glândula mamária de bovinos ocasionada principalmente por micro-organismos. *Staphylococcus aureus* é um dos principais micro-organismos causadores da enfermidade. Tal bactéria causa grande preocupação devido a sua patogenicidade. O agente é responsável por grandes prejuízos na bovinocultura leiteira, afinal, ocasiona perdas na produção e qualidade do leite e gastos com antimicrobiano terapia (DEMEU et al., 2015). *S. aureus* adquirem cada vez mais resistência aos antimicrobianos, tornando a antimicrobiano terapia um grande entrave. Na tentativa de contornar esta situação, novos métodos têm sido adotados para promover a cura e prevenção da mastite, como os fitoterápicos. Exemplos de plantas utilizadas como fitoterápicos são *Piptadenia gonoacantha*, *Schinus terebinthifolius*, *Eucalyptus globulus*, *Momordica charantia*, *Vernonia polyanthes*, *Struthanthus vulgaris* e *Melaleuca alternifolia* (TORRES et al., 2000; VIEIRA, et al., 2005; JORGETTO et al., 2011; CARVALHO et al., 2012; SANTOS, et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015; SOUZA et al., 2015). Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de plantas frente à *S.*

aureus isolados do leite de bovinos com mastite.

Material e Métodos

Para realização do experimento, foram utilizadas quatro amostras de *S.aureus* cedidas pela Universidade Federal de Minas Gerais. As bactérias foram isoladas do leite de vacas com mastite no estado de Minas Gerais, sendo uma de mastite clínica (Cli-A) e três de mastite subclínica (Sub-A, Sub-B e Sub-C). Amostras de sete plantas fitoterápicas (*Piptadenia gonoacantha*, *Schinus terebinthifolius*, *Eucalyptus globulus*, *Momordica charantia*, *Vernonia polyanthes*, *Struthanthus vulgaris* e *Melaleuca alternifolia*) foram obtidas em fase adulta para extração de extratos hidroalcoólicos. Os extratos foram preparados secando e triturando a planta para que fosse misturada com etanol 70%, na proporção de 10%. O conteúdo foi submetido ao ultra-som por uma hora e à destilação fracionada (GONÇALVES et al., 2005).

Colônias cultivadas em meio BHI (Brain Heart Infusion) foram ressuspensas em solução salina 0,85% até obter-se turvação três da escala de Mc Farland (9x10⁸UFC/mL). Aliquota de 100µL da suspensão foi semeada em placas de Petri contendo meio-ágar Mueller-Hinton. Logo, discos de papel filtro impregnados com extratos das plantas foram distribuídos sobre a superfície do ágar inoculado. Após incubação por 48 horas a 37°C, foram avaliados os halos de inibição de *S. aureus* (MICHELIN et al., 2005). Para teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM), culturas de *S. aureus* crescidas em caldo nutriente por seis horas e diluídas à escala três de Mc Farland (9x10⁸UFC/mL) foram inoculadas em tubos com caldo nutriente acrescentado de concentrações dos extratos das plantas (0,05, 0,2, 0,4, 0,8 e 1,5%). Após incubação por 48 horas e a 37°C, os tubos que não apresentaram turvação foram submetidos à cultivo em placas contendo ágar BHI, para comprovação da ausência de crescimento (MICHELIN et al., 2005). Os dados referentes aos testes de inibição em placas e CIM foram submetidos à análise descrita. A pesquisa foi aprovada pelo Núcleo de Pesquisa e Extensão (NUPEX) da Faculdade União do Ensino Superior de

Viçosa (UNIVIÇOSA) sob número de protocolo 103/2015-I.

Resultados e Discussão

Foram observados halos de inibição por extrato de *M. alternifolia* frente todos *S. aureus* isolados de animais com mastite, tanto clínica quanto subclínica (Tabela 1). Segundo Oliveira et al. (2011), *M. alternifolia* possui monoterpenos, como o terpinen-4-ol, que induz a perda de integridade da membrana plasmática bacteriana, interferindo na sua forma e fisiologia.

Tabela 1. Diâmetros de halos de inibição (mm) de extratos hidroalcoólicos de plantas frente à bactérias isoladas de animais com mastite clínica e subclínica.

Planta	Bactéria*			
	Cli-A	Sub-A	Sub-B	Sub-C
<i>Melaleuca alternifolia</i>	7	8	8	10
<i>Eucalyptus globulus</i>	15	0	0	14
<i>Schinus terebinthifolius</i>	10	0	10	11
<i>Piptadenia gonoacantha</i>	0	9	8	9
<i>Strutanthus vulgaris</i>	0	0	0	7
<i>Vernonia polyanthes</i>	0	11	10	0
<i>Mormodica charantia</i>	0	7	6	0

* Cli-A é amostra isolada de animal com mastite clínica e Sub-A, Sub-B e Sub-C com mastite subclínica.

O extrato hidroalcoólico de *E. globulus* não inibiu as amostras subclínicas A e B (Sub-A e Sub-B). *E. globulus* inibiu apenas amostra isolada de animal com mastite clínica (Cli-A). *V. polyanthes* e *M. charantia* inibiram duas amostras de animais com mastite subclínica (Sub-A e Sub-B)

Tanto *S. aureus* isolados de animais com mastite clínica quanto subclínica foram inibidos pelo extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius*. No entanto, a amostra Sub-A não foi inibida. Souza et al. (2015) também relataram atividade antimicrobiana de extratos de tal planta, embora não se saiba quais os seus constituintes que possuem tal atividade.

O extrato de *P. gonoacantha* inibiu amostras isoladas de animais com mastite subclínica (Sub-A, Sub-B e Sub-C), mas não inibiu a amostra

isolada de animal com mastite clínica (Cli-A). Carvalho (2012) relatou que o potencial antimicrobiano da planta se deve a presença de flavonoides, que têm a capacidade de complexar as proteínas e parede celular bacteriana, causando sua lise. Apesar de serem observadas inibições do extrato hidroalcoólico de *E.globulus* frente à duas amostras subclínicas

Outras inibições observadas ocorreram por extrato hidroalcoólico de *S. terebinthifolius*. Tal extrato inibiu a amostra Cli-A na concentração acima de 0,4%. Degáspari et al. (2005) descreveram sobre o efeito antimicrobiano de *S. terebinthifolius* frente a *S. aureus* em razão de flavonoides obtidos a partir dos extratos alcoólicos.

Conclusões

Extratos hidroalcoólicos de fitoterápicos apresentam efeito antimicrobiano frente à *Staphylococcus aureus* isolados de animais com mastite clínica ou subclínica. *E.globulus*, *M. alternifolia* e *S. terebinthifolius* apresentam potencial promissor para o controle de mastite por *S. aureus* em bovinos.

Referências Bibliográficas

CARVALHO, C.A. Caracterização botânica, fitoquímica e avaliação da atividade biológica de extrato de *Piptadeniagonoacantha* (Mart.) J. F. Macbr (FABACEAE). 2012. 59f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZYNSKYJ, N.; PRADO, M.R.M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius*

Raddi. *Ciência e Agrotecnologia*, v.29, n.3, p.617-622, 2005.

FUSELLI, S.R.; ROSA, S.B.G.; EGUARAS, M.J.; FRITZ, R. In vitro antibacterial effect of exotic plants essential oils on the honeybee pathogen *Paenibacillus*, causal agent of American foulbrood. Spanish Journal of Agricultural Research, v.8, n.3, p.651-657, 2010.

GONÇALVES, A.L.; FILHO, A.A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. Arquivos do Instituto Biológico, v.72, n.3, p.353-358, 2005.

JORGETTO, G.V.; BORIOLO, M.F.G.; SILVA, L.M.; NOGUEIRA, D.A.; JOSE, T.D.S.; RIBEIRO, G.E.; OLIVEIRA, N.M.S.; FIORINI, J.E. Ensaios de atividade antimicrobiana in vitro e mutagênica in vivo com extrato de *Vernonia polyanthes* Less (Assa-peixe). Revista do Instituto Adolfo Lutz, v.70, n.1, p.53-61, 2011.

MICHELIN, D.C.; MORESCHI, P.E.; LIMA, A.C.; NASCIMENTO, G.G.F.; PAGANELLI, M.O.; CHAUD, M.V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.15, n.4, p.316- 320, 2005.

OLIVEIRA, A.C.M.; FONTANA, A.; NEGRINI, T.C.; NOGUEIRA, M.N.M.; BEDRAN, T.B.L.; ANDRADE, C.R.; SPOLIDORIO, L.C.; SPOLIDORIO, D.M.P. Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.13, n.4, p.492-499, 2011.

OLIVEIRA, M.I.; SCHNEIDER, M.; ROSA, M.B.; SILVA, C.M.; MORAES, M.S.A.; SCHNEIDER, R.C.S.; KIST, L.T. Extração e caracterização do óleo essencial de *Melaleuca* e desenvolvimento de uma formulação semi-sólida de uso tópico. Revista Jovens Pesquisadores, v.5, n.1, p.50-59, 2015.

SANTOS, K.K.A; ROLÓN, M.; VEJA, C.; ARIAS, A.R.; COSTA, J.G. M; COUTINHO, H.D.M. Atividade leishmanicida in vitro de *Eugenia uniflora*. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v.34, n.1, p.47-50, 2013.

SILVA, C.L.; SOUZA, E.B.; FELIX, K.C.S.; SANTOS, A.M.G.; SILVA, M.G.; MARIANO, R.L.R. Óleos essenciais e extratos vegetais no controle da podridão mole em alface crespa. Horticultura Brasileira, v.30, n.4, p.632-638, 2012.

SOUZA, A.P.O; OLIVEIRA, R.M.; OLIVEIRA, S.F; FORTUNA, J.L. Atividade antimicrobiana dos sumos de alecrim, aroeira, guiné e mastruz sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Revista Scientia Plena, v.11, n.07, p.1-9, 2015.

TORRES, C.R.G.; KUBO, C.H.; ANIDO, A.A.; RODRIGUES, J.R. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. Revista Faculdade de Odontologia, v.3, n.2, p.43-52, 2000.

VIEIRA, O.M.C.; SANTOS, M.H.; SILVA, G.A.; SIQUEIRA, A.M. Atividade antimicrobiana de *Struthanthus vulgaris* (erva-de-passarinho). Revista Brasileira de Farmacognosia, v.15, n.2, p.149-154, 2005.