

## ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE PLANTAS FRENTE À *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLADOS DE BOVINOS COM MASTITE<sup>1</sup>

Junio Cesar Santos<sup>2</sup>, Adriano França da Cunha<sup>3</sup>, Mariana Fonseca Nunes<sup>2</sup>,  
Vitório Augusto Fabris Xavier Cardoso<sup>2</sup>, Rayssa Gomes Alves<sup>4</sup>,  
Talita Oliveira Maciel Fontes<sup>2</sup>

**Resumo:** *A mastite, inflamação da glândula mamária, gera preocupações por ser uma enfermidade que causa prejuízos na produção leiteira. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas frente à Staphylococcus aureus isolados de vacas com mastite clínica e subclínica. Óleos essenciais de Schinus terebinthifolius, Eucalyptus globulus e Melaleuca alternifolia foram extraídos de por meio de Clevenger para serem utilizados em teste de inibição em placas e concentração inibitória mínima, utilizando 0,05, 0,2, 0,4, 0,8 e 1,5% dos óleos das plantas. Os tubos que não apresentaram turvação foram submetidos à cultivo em placas para confirmação. Óleos essenciais de plantas fitoterápicas apresentam efeito antimicrobiano frente à S. aureus isolados de animais com mastite clínica ou subclínica. M. alternifolia apresenta potencial promissor para o controle de mastite por S. aureus em bovinos.*

**Palavras-chave:** *Bovinocultura, CIM, clínica, mamite, subclínica*

**Abstract:** *Mastitis, inflammation of the mammary gland, raises concerns because it is a disease that causes losses in milk production. The objective of study was to evaluate the antimicrobial activity of essential oils from plants against the Staphylococcus aureus isolated from cows with clinical and subclinical mastitis.*

---

<sup>1</sup> Parte do Trabalho de Conclusão de Curso do primeiro autor;

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

<sup>3</sup> Professor em Medicina Veterinária – FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail: adrianofcunha@hotmail.com.br

<sup>4</sup> Graduanda em Engenharia Química – FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail: rays-salves@hotmail.com

*Essential oils of Schinus terebinthifolius, Eucalyptus globulus e Melaleuca alternifolia were extracted by Clevenger for use in inhibition tests in plates and minimal inhibitory concentration using 0.05, 0.2, 0.4, 0.8 and 1.5% of plant oils. The tubes that had no turbidity were subjected to cultivation plates for confirmation. Essential oils of herbal plants have antimicrobial effect against S. aureus isolated from animals with clinical or subclinical mastitis. M. alternifolia shows promising potential for control of mastitis by S. aureus in cattle.*

**Keywords:** *Cattle, clinical, mastitis, MIC, subclinical*

### **Introdução**

A mastite bovina, inflamação da glândula mamária é uma doença que gera muitas preocupações na pecuária leiteira, devido ao fato de ser uma enfermidade que compromete a produção leiteira. Além de haver o descarte de leite, gastos com médico veterinário e terapias medicamentosas ocorrem e dependendo do grau da mastite, faz se necessário o descarte do animal (LANGONI, 2013).

Dentre os fatores que podem causar mastite bovina, a infecção por *Staphylococcus aureus* está entre os mais relevantes. A bactéria em questão possui uma alta patogenicidade, trazendo grandes preocupações na cadeia produtiva do leite, bem como na saúde pública. *S. aureus* adquirem cada vez mais resistência as antimicrobianoterapias (LOPES et. al., 2013).

Na tentativa de amenizar essas preocupações, novos métodos têm sido adotados para controlar a mastite bovina causada por bactérias e entre estas alternativas está o uso de óleos essenciais extraídos de plantas, que trazem consigo uma complexidade de elementos e resultados satisfatórios em experimentos (MILLEZI et al., 2014).

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas frente à *S. aureus* isolados do leite de bovinos com mastite clínica e subclínica.

## 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 três plantas fitoterápicas (*Schinus terebinthifolius*, *Eucalyptus globulus* e *Melaleuca alternifolia*) foram obtidas em fase adulta para extração de óleo essenciais. Os extratos foram preparados secando e triturando a planta para que fosse misturada com água para, em seguida, o material fosse submetido à hidrodestilação por meio de Clevenger (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 (9x10<sup>8</sup>UFC/mL). Aliquota de 100µL da suspensão foi semeada em placas de Petri contendo meio-ágar Mueller-Hinton. Logo, discos de papel filtro impregnados com óleos essenciais 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 (9x10<sup>8</sup>UFC/mL) foram inoculadas em tubos com caldo nutriente acrescentado de concentrações de óleos essenciais 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 óleo de *M. alternifolia* frente todos *S. aureus* isolados de animais com mastite, tanto clínica quanto subclínica (Tabela 1). Tal planta fitoterápica possui monoterpenos, como o terpinen-4-ol, que induz a perda de integridade da membrana plasmática bacteriana, interferindo na sua forma e fisiologia (OLIVEIRA et al., 2011).

Tabela 1. Diâmetro de halos de inibição (mm) de óleos essenciais de plantas frente à bactérias de animais com mastite clínica e subclínica

Planta	Bactéria*			
	Cli-A	Sub-A	Sub-B	Sub-C
<i>Melaleuca alternifolia</i>	9	8	9	13
<i>Eucalyptus globulus</i>	10	7	15	15
<i>Schinus terebinthifolius</i>	10	9	9	8

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

Também houve halos de inibição pelos óleos extraídos de *E. globulus* frente a todos *S. aureus*. Castro e Lima (2010) relataram que a atividade antimicrobiana da planta se deve principalmente a presença de compostos como o eucaliptol e cineol.

Tanto *S. aureus* isolados de animais com mastite clínica quanto subclínica foram inibidos por óleo de *S.*

*terebinthifolius*. Tal planta é também chamada de aroeira, mas não se sabe ao certo o princípio responsável pela sua atividade antimicrobiana (SOUZA et al., 2015).

Pelo testes CIM, as maiores inibições se deram pelo óleo essencial de *E. globulus* nas concentrações acima de 0,2%. Outros autores observaram

inibição de micro-organismos pela planta também em razão do cineol (ALVES *et al.*, 2010).

*S. terebinthifolius* inibiu apenas a amostra Sub-A na concentração acima de 0,2%. O efeito antimicrobiano de *S. terebinthifolius* se dá em razão de flavonoides e compostos químicos como monoterpenos (DEGÁSPARI *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2014).

Foram observadas inibições por *M. alternifolia*, principalmente quando utilizada concentração de 1,5% de

óleo. Em tal concentração, todos *S. aureus* foram inibidos. O efeito antimicrobiano da planta se dá em razão do terpinen-4-ol (FUSELLI *et al.*, 2010).

Uma alíquota dos conteúdos dos tubos que não turvaram foi estriada em placas de petri para confirmar a ausência de crescimento microbiológico, já que a leitura dos tubos foi realizada visualmente. Entretanto, apenas as alíquotas retiradas dos tubos contendo *M. alternifolia* na concentração de 1,5% e que não turvaram, não apresentaram crescimento no cultivo em placas. Isto indica que a leitura realizada visualmente proporciona resultados falso-positivos quanto à inibição microbiológica.

Os resultados indicam que *M. alternifolia* possui características inibitórias promissoras no combate à *S. aureus* isolados do leite de animais com mastite. Paixão *et al.* (2014) relataram que a planta pode ser utilizada na síntese de desinfetantes a serem utilizados em pre e post-dipping de tetos de vacas leiteiras, a fim de diminuir os riscos de mastite contra *S. aureus* durante o manejo de ordenha.

Óleos essenciais de plantas fitoterápicas apresentam efeito antimicrobiano frente à *Staphylococcus aureus*

isolados de animais com mastite clínica ou subclínica. *M. alternifolia* apresenta potencial promissor para o controle de mastite por *S. aureus* em bovinos.

### Referências Bibliográficas

ALVES, L.A.; FREIRES, I.A.; CASTRO, R.D. Efeito antibacteriano de óleos essenciais sobre bactérias formadoras do biofilme dentário. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, v.14, n.2, p.57-62, 2010.

CASTRO, R.D.; LIMA, E.O. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de Eucalyptus globulus L. sobre Candida spp. Revista de Odontologia, v.39, n.3, p.179-184, 2010.

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.

LANGONI, H. Qualidade do leite: Utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.33, n.5, p.620-626, 2013.

LOPES, L.O; LACERDA, M.S; RONDA, J.B. Uso de antibióticos na cura e controle de mastite clínica e subclínica causada por principais micro-organismos contagiosos em bovinos leiteiros: revisão de literatura. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. n.21, p1-15, 2013.

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.

MILLEZI, A.F.; BAPTISTA, N.N.; CAIXETA, D.S.; ROSSONI, D.F.; CARDOSO, M.G.; PICCOLI R.H. Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.16, n.1, p.18-24, 2014.

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 Mediciniais*, v.13, n.4, p.492-499, 2011.

PAIXÃO, M.G.; LOPES, M.A.; PINTO, S.M.; ABREU, L.R. Impacto econômico da implantação das boas práticas agropecuárias relacionadas com a qualidade do leite. *Revista Ceres*, v.61, n.5, p.612-621, 2014.

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.