

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE PRODUTOS NATURAIS SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ISOLADAS DE MASTITE BOVINA

Gabriela Sandri

Universidade Federal da Fronteira Sul
gabi-sandri03@hotmail.com

Dalila Moter Benvegnú

Universidade Federal da Fronteira Sul
dalila.benvegnu@uffs.edu.br

RESUMO

Na mastite em bovinos a bactéria *Staphylococcus aureus* se destaca entre os agentes causadores dessa doença devido a sua elevada resistência a antibióticos, ampla incidência e alto potencial de contágio entre humanos e animais. Assim, buscam-se alternativas para o tratamento de doenças causadas por bactérias, entre eles, óleos essenciais e extratos vegetais produzidos a partir de partes de plantas. Verificou-se que tanto os óleos testados de *Aloysia gratissima* e a *Schinus trebinthifolia* (pimenta rosa) como o extrato hidroalcoólico de *Aloysia* apresentaram resultados de CIM e CBM correspondentes para todas as cepas, porém em quantidades diferentes. Assim, os resultados indicaram que tanto os óleos como o extrato hidroalcoólico exerceram efeitos antimicrobianos sobre as cepas testadas.

Palavras-chave: Animais de produção. Gado leiteiro. Óleo essencial.

INTRODUÇÃO

A mastite é uma infecção de rebanhos leiteiros, que resulta em inflamação dolorosa da glândula mamária. No Brasil, o gado afetado pode representar mais de 28% do rebanho leiteiro. Ademais, a reincidência da mastite pode levar ao aumento do custo por animal e causar perda de produtividade e qualidade do leite (ACOSTA *et al.*, 2016). Diante disso, terapias alternativas vem sendo desenvolvidas para o tratamento desta doença, como é o caso das formulações fitoterápicas, visto que, apresentam principalmente propriedade bactericida. Óleos extraídos de sementes e plantas apresentam efeitos antimicrobianos que podem ser eficazes na eliminação das cepas (ENIOUTINA *et al.*, 2017). Dentre as plantas com tal propriedade destaca-se a *Aloysia gratissima* e a *Schinus terebinthifolia* (pimenta rosa). Desta maneira, focando no fato de que diversos óleos extraídos de plantas possuem propriedades antimicrobiana, a utilização dos mesmos na prática veterinária pode fornecer uma alternativa às terapias convencionais em várias situações (ENIOUTINA *et al.*, 2017). Portanto, justifica-se a necessidade de pesquisas adicionais sobre produtos naturais, bem como o desenvolvimento de novas estratégias com o intuito de melhorar essas substâncias já

produzidas pela natureza.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada na Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus Realeza*, sendo que as cepas de *Staphylococcus aureus* foram gentilmente doadas pelo Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB- 13 USP). A extração do óleo essencial de *Aloysia gratissima* e de *Schinus terebinthifolia*, bem como do extrato hidroalcolólico de *Aloysia gratissima* foram realizadas no laboratório de química da UFFS – *Campus Realeza*, no aparelho de Clevenger e extrator de Soxhlet, respectivamente.

Para a padronização das amostras foi retirada uma alçada de 0,01µL que foi transferida para um tubo com 5mL de tal caldo Muller-Hinton (CMH) e incubada a 37°C por 24 horas. Após esse período, a concentração de microrganismos foi padronizada em solução salina até atingir 0,5 na escala McFarland o que também foi confirmado através de espectrofotometria, obtendo-se uma absorbância de aproximadamente 0,093Å, utilizando o comprimento de onda de 625nm, o que representa 1 - 2 UFC/mL x 10⁸ (inóculo). A técnica utilizada para avaliar a atividade antimicrobiana foi a microdiluição em microplacas, que foi realizada em duplicata. Na sequência, foi pipetado 10µL de inóculo em cada poço da microplaca. E, as duas últimas colunas da placa foram utilizadas na seguinte forma: somente o meio de cultura, meio de cultura mais o inóculo e meio de cultura mais os óleos e extrato a serem testados. Por fim, a microplaca foi lida em espectrofotômetro, incubada a 37°C por 24/48 horas e após esse período realizada uma nova leitura no espectrofotômetro. Para o teste da concentração inibitória mínima (CIM) foi utilizado um revelador (Resazurina 0,01%), onde foi pipetado 20µL em cada orifício da microplaca. Após, a microplaca foi incubada a 37°C por 1 hora e realizada nova leitura. Quando se obteve a coloração azul, indicou a ausência de crescimento microbiano e a coloração rosa/vermelha indicou metabolismo celular, ou seja, crescimento microbiano. Já a concentração bactericida mínima (CBM) foi avaliada através da semeadura do conteúdo de cada poço em placas de ágar Mueller-Hinton, incubadas a 37°C por 24 horas e observou-se a presença ou ausência do crescimento bacteriano.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram testadas seis cepas de *S. aureus*. Após análise da atividade antimicrobiana, observou-se que tanto a CBM e a CIM do óleo essencial de *Aloysia* nessas bactérias apresentou resultados mais promissores quando comparados ao extrato do mesmo produto, sendo que o extrato do produto apresentou uma CIM e CBM de cerca de 50% em todas as seis cepas, já o óleo apresentou variações de 0,9 a >3,7% de CIM e CBM em cinco das cepas,

sendo apenas uma cepa observado CBM de 15%. Ainda, ao comparar o óleo essencial de *Aloysia* com o de pimenta rosa foi possível observar que o óleo de *Aloysia* apresentou resultados mais promissores. Porém, ao ser comparado com o extrato de *Aloysia* o óleo essencial de pimenta rosa se mostrou mais eficaz. Assim, observamos que ambos os óleos essenciais apresentam melhores resultados frente essas cepas quando comparados com extratos do mesmo produto. Estudos utilizando esses produtos como tratamento da mastite são escassos, assim um estudo avaliando a associação de óleo de copaíba e melaleuca, na proporção 75:25, observou efeito bacteriostático, inibindo o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium bovis* (OLIVEIRA, 2020). Ainda, segundo Sperandio *et al.* (2019) o óleo essencial de *Tagetes minuta* possui atividade antimicrobiana in vitro frente aos principais agentes causadores de mastite.

Quadro 1 – Resultados CIM e CBM dos produtos naturais testados

CEPA	Extrato hidroalcóolico de <i>Aloysia gratissima</i>		Óleo essencial de <i>Aloysia gratissima</i>		Óleo essencial de <i>Schinus terebinthifolia</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
1	50%	50%	0,9%	>3,7%	15%	>15%
2	50%	-	1,8%	>3,7%	15%	15%
3	<50%	<50%	3,7%	15%	7,5%	>0,9%
4	50%	<50%	0,4%	>1,8%	7,5%	15%
5	<50%	-	0,9%	>3,7%	7,5%	15%
6	50%	<50%	0,2%	>1,8%	7,5%	15%

Fonte: elaborado pelos autores (2023).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se que as concentrações de óleos essenciais utilizados para atingir a CBM e a CIM foram excelentes, principalmente no que se refere ao óleo de *Aloysia gratissima*, contudo, as concentrações de extrato não apresentaram resultados tão promissores. Assim, sugere-se novos estudos para verificar a toxicidade destes óleos essenciais e extratos no tratamento de mastite bovina, visto que, apesar de sua atividade antimicrobiana já ser comprovada, deve-se ressaltar cuidados em relação a toxicidade do mesmo.

AGRADECIMENTOS

CAPES - Edital N° 729/GR/UFFS/2022.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, Atzel Candido *et al.* Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária**

Brasileira. [s.l.], v. 36, n. 7, p.565-573, jul. 2016. FapUNIFESP (SciELO).

ENIOUTINA, E. Y. et al. Phytotherapy as an alternative to conventional antimicrobials: combating microbial resistance. **Expert Review Of Clinical Pharmacology**, p.1-12, 2017.

OLIVEIRA, A. G. Ação dos óleos essenciais de copaíba e melaleuca em microorganismos envolvidos na mastite subclínica de vacas sob sistema orgânico de produção. Dissertação (Mestrado) - UNIVERSIDADE BRASIL CAMPUS DESCALVADO, [S. l.], 2020.

SPERANDIO, J. et al. Atividade antimicrobiana e citotoxicidade in vitro do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. visando à aplicação no controle da mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2019, v. 71, n. 04.