

14408 - Óleo essencial de murta (*Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O.Berg) como alternativa no tratamento de mastite bovina

*Essential oil of myrtle (*Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O.Berg) as an alternative in the treatment of bovine mastitis*

GONÇALVES, Carolina Lambrecht¹; SCHUBERT, Ryan Noremborg²; FACCIN, Ângela¹; MOTA, Fernanda Voigt¹; SCHUCH, Luiz Filipe Damé³

1 Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Programa de Pós Graduação em Veterinária, carolina_lamg@yahoo.com.br; 2 Programa de Pós Graduação em Sistema de Produção Agrícola Familiar – UFPel, ryannslp@yahoo.com.br; 3 Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Departamento de Veterinária Preventiva, bitoxu@ig.com.br

Resumo: O uso de plantas medicinais na medicina veterinária tem sido amplamente estudada, deste modo, este trabalho objetivou avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de murta (*Blepharocalyx salicifolius*) sobre bactérias isoladas de leite bovino. O óleo essencial foi obtido através das partes aéreas da planta por hidrodestilação, sendo testado em bactérias relacionadas com mastite, além de cepas padrões, através da técnica de microdiluição em caldo. Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo para as bactérias Gram positivas variaram de 0,3 a $\geq 5\%$ e de 0,8 a $\geq 5\%$ para Concentração Bactericida Mínima (CBM), enquanto que para as bactérias Gram negativas observou-se tanto para a CIM quanto para a CBM valores entre 5 a 20%. Os resultados demonstraram atividade bactericida e bacteriostática do óleo essencial de murta em isolados bacterianos proveniente de leite bovino.

Palavras-chave: plantas medicinais, leite orgânico, microbiologia.

Abstract: The use of medicinal plants in veterinary medicine has been widely studied in this way, this study aimed to evaluate the antimicrobial activity of the essential oil myrtle (*Blepharocalyx salicifolius*) on bacteria isolated from bovine milk. The essential oil was obtained by hydrodistillation from the aerial parts of the plant, it was tested in bacteria associated with mastitis, and standard strains by microdilution broth. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values for the oil Gram positive bacteria ranged from 0.3 to $\geq 5\%$ and ≥ 0.8 to 5% Minimum Bactericidal Concentration (CBM), while for gram-negative bacteria was observed for both the MIC MBC as for between 5 and 20%. The results showed bacteriostatic and bactericidal activity of the essential oil of myrtle in bacterial isolates from bovine milk.

Keywords: medicinal plants, organic milk, microbiology.

Introdução

O uso de extratos vegetais é uma das mais antigas práticas utilizadas pela humanidade para fins medicinais, sendo a sua importância medida pela intensidade de seu uso. Os primeiros registros evidenciando o uso de produtos vegetais, como prevenção ou tratamento de males, referem-se aos séculos II e III antes da era cristã (DA CUNHA, 2003). Atualmente, inúmeras espécies vegetais têm sido exploradas de forma intensiva ou extrativista tanto pela população, quanto por indústrias com a finalidade de preparos alimentícios, medicamentosos, condimentares e cosméticos (SANDES & DI BLASI, 2001).

Na medicina veterinária moderna, a produção de alimentos de origem animal baseia-se no amplo uso de produtos químicos, tornando-se uma prática cara, com geração de resíduos no ambiente e nos alimentos, ocasionando danos à saúde dos

consumidores. Como forma de minimizar os impactos ocasionados na medicina convencional, o uso de extratos vegetais vem se ampliando dentro da saúde animal (SCHUCH, 2008).

A mastite é a enfermidade de maior prevalência nos bovinos leiteiros, sendo os compostos halogenados, cloro, iodo, clorhexidina, aldeídos e compostos de amônia quaternária, os principais produtos químicos usados na desinfecção de tetos e de teteiras (LADEIRA, 2001). Dentro da pecuária agroecológica, o uso de plantas com fins antimicrobianos tem sido amplamente estudado na prevenção da mastite bovina. Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de murta (*Blepharocalyx salicifolius*) frente a bactérias isoladas de leite bovino.

Metodologia

Preparação do óleo essencial (OE): As amostras foram obtidas a partir das folhas de *B. salicifolius* na Estação Experimental Cascata-Embrapa Clima Temperado. A planta fresca foi extraída utilizando o aparelho Clevenger, de acordo com Brasil (2010), sendo armazenado à - 4°C.

Isolados bacterianos: O isolamento microbiano procedeu após coleta de leite dos quartos mamários dos animais em ordenha em uma unidade de produção leiteira comercial de Piratini. As amostras foram semeadas em meio de cultura Ágar sangue e incubadas a 37°C, por 24 e 48 horas, sendo observada a morfologia, produção de pigmento, produção de hemólise, características morfo-tintoriais, por meio da coloração de Gram e provas bioquímicas. Após a identificação bacteriana, os microrganismos selecionados foram: *Staphylococcus coagulase positiva* (n = 2), *Staphylococcus coagulase negativa* (n = 2), o *Streptococcus agalactiae* (n = 1), *Streptococcus dysgalactiae* (n = 1) *Streptococcus uberis* (n = 1) além das cepas de referência de *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145) e *Escherichia coli* (ATCC 8739) (QUINN et. al., 1998).

Atividade antimicrobiana: Para a avaliação da CIM (Concentração Inibitória Mínima) do OE de murta frente aos isolados bacterianos, foram utilizadas 8 diluições sucessivas, obtendo-se concentrações de 5 a 0,035% e de 20 a 0,14%, para as bactérias Gram positivas e Gram negativas, respectivamente. Os inóculos foram preparados com uma suspensão bacteriana equivalente a 10⁶ UFC / ml. A diluição do OE ocorreu em água destilada estéril (ADE) contendo 1% de Tween 20, em base logarítmica dois. Os testes foram realizados em triplicata, sendo utilizada uma coluna como controle positivo (inóculo/meio) e outra como controle negativo (OE/meio). As placas foram incubadas a 37°C por 48 h, sob agitação a 75 rpm e a interpretação dos resultados foi realizada através da visualização da turvação referente à multiplicação do microrganismo, comparada aos controles positivo e negativo. Assim, a CIM foi definida como a menor concentração capaz de produzir inibição do crescimento bacteriano em relação ao controle positivo. Para determinação da concentração bactericida mínima (CBM), uma alíquota de 5 µL de cada poço da microplaca foi semeada em placas contendo Ágar Sangue, incubadas por 24 h para observação do crescimento das bactérias (NCCLS, 1997).

Resultados e discussões:

Os resultados obtidos demonstraram diferença de sensibilidade entre os microrga-

nismos analisados. As bactérias Gram positivas, em especial, o gênero *Streptococcus*, apresentaram uma maior inibição ao OE, com valores de CIM variando de 0,3 a 0,8%, e de CBM entre 0,8 e 1,25%. *P. aeruginosa*, foi inibida ao se administrar as concentrações máximas do OE, com a CIM e CBM equivalente a 20% do mesmo. Esta diferença pode ser atribuída a constituição estrutural das bactérias Gram negativas, as quais apresentam uma parede celular de maior complexidade química e com maior teor de lipídio, o que dificultaria a ação dos produtos antimicrobianos (LOGUERCIO, 2005). No entanto, Vivot et. al. (2012), verificou a ação da murta frente a Gram negativas, onde seu extrato metanólico apresentou atividade contra *B. subtilis* e *P. aeruginosa*.

Segundo LIMBERGER et. al. (2001), as infusões obtidas por meio de folhas frescas e secas da planta demonstraram atividade antimicrobiana frente a Gram positivas e Gram negativas, sendo a maior atividade observada com as folhas secas frente a *E.coli*. Demais atividades biológicas têm sido atribuídas a esta espécie como fungicida, antiparasitária, antitussígena, expectorante, adstringente e antidiarreica, evidenciando sua capacidade medicinal (SIQUEIRA et. al., 2011; LAHITTE et. al., 1998; SIQUEIRA et. al., 2010). Estudos como estes, envolvendo o uso de extratos vegetais, como a murta, no sistema de produção de leite orgânico, podem auxiliar na elaboração de alimentos de maior qualidade e isentos de resíduos químicos nocivos ao homem e ao meio ambiente, preservando o bem estar-animal, além de otimizar os recursos do produtor (COMERÓN & ANDREO, 2000).

TABELA 1: Valores da CIM% e CBM% do óleo essencial de murta (*Blepharocalyx salicifolius*) sobre bactérias isoladas de leite bovino.

Amostra bacteriana	*CIM%	**CBM
<i>E. coli</i> (ATCC 8739)	5%	5%
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 10145)	20%	20%
<i>S. aureus</i> (ATCC 12600)	2,5%	2,5%
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase +	≥ 5%	≥ 5%
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase +	2,5%	2,5%
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase -	2,5%	2,5%
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase -	2,5%	2,5%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,8%	0,8%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	0,8%	0,8%
<i>Streptococcus uberis</i>	0,3%	1,25%

*CIM:concentração inibitória mínima; **CBM: concentração bactericida mínima.

Conclusões

De acordo com estes dados foi possível concluir que o óleo essencial de murta, apresentou atividade bactericida e bacteriostática *in vitro* em bactérias relacionadas com a mastite bovina. Estes resultados sugerem o uso do OE de murta um método alternativo e de menor impacto ao tratamento mastite bovina.

Referências bibliográficas:

BRASIL, Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, São Paulo: Siqueira, 5ª Ed., p. 546. 1v/II, 2010.

- COMERÓN, E. A. & ANDREO, N. A. Produção, industrialização e comercialização do leite orgânico na Argentina. Anais 2º Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira no Brasil, Goiânia. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. 2000.
- DA CUNHA, A.P. **Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes activos e fitoterapias.** 2003. Disponível em: <http://www.antoniopcunha.com.sapo.pt/> Acesso em: 22 jul. 2013, 17:39:50.
- LADEIRA, S.L. Mastite bovina. In: Riet-Correa, F.; Schild, A.L.; Méndez, M.C. Doenças dos ruminantes e equinos. Pelotas, Ed. Universitária/UFPEL. p. 248- 261, 2001.
- LAHITTE, H.J; HURRELL, J.; BELGRANO, M.; JANKOWSKI, L.; HELOVA, P.; MEHLTRETE, K. Plantas medicinales Rioplatenses. Buenos Aires: Ed:L.O.L.A., 1998.
- LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M. E. G .; ZUANAZZI, J. A. S ; MORENO, P. R. H ; SCHAPOVAL, E. E. S ;HENRIQUES, A. T. **Biological activities and essential oil composition of leaves of *Blepharocalyx salicifolius*.** *Pharmaceutical Biology*, v. 39, n. 4, p. 308-311, jan. 2001.
- LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A.C.; HENZEL, A.; WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.2, p.371-376, set. 2005.
- NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved Standard. n.9, 1997.
- QUINN, P. J., CARTER, M. E., MARKEY, B. & CARTER, G. R. Clinical Veterinary Microbiology. Londres: EdWolfe; p. 648, 1998.
- SANDES, A.R.R. & DI BLASI, G. Biodiversidade e diversidade química e genética. **Biotechnology**,v. 7, n. 13, p. 28-32, out. 2001.
- SCHUCH, L. F. D. Plantas medicinais em atenção primária veterinária: atividade antimicrobiana frente a bactérias relacionadas com mastite bovina e a dermatófitos. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Veterinária. 206 f. 2008.
- SIQUEIRA, E. P.; OLIVEIRA, D. M.; JOHANN, S.; CISALPINO, P. S.; COTA, B. C.; RABELLO, A.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L. Bioactivity of the compounds isolated from *Blepharocalyx salicifolius*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 4, p. 645-651, jul./ago. 2011.
- SIQUEIRA, E. P.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; SOBRAL, M. E. G.; ALVES, T. M. A.; RABELLO, A.; ZANI, C. L. Leishmanicidal activities of the extract from *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [online]. v. 20, n. 3, p. 416-421, mar. 2010.
- VIVOT, E. P; SÁNCHEZ, C.; CACIK, F.; SEQUIN, C. Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). **Ciencia, docencia y tecnologia**, v. 2, n.45, p. 165-185, ago. 2012.