

**FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE ITUVERAVA
FACULDADE DOUTOR FRANCISCO MAEDA**

Diogiane Josiele Moreira Gontijo

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE *Alternanthera brasiliana* E
Stryphnodendron adstringens FRENTE A IMPORTANTES BACTÉRIAS
CAUSADORAS DE MASTITE BOVINA**

**ITUVERAVA
2024**

DIOGIANE JOSIELE MOREIRA GONTIJO

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE *Alternanthera brasiliana* E
Stryphnodendron adstringens FRENTE A IMPORTANTES BACTÉRIAS
CAUSADORAS DE MASTITE BOVINA**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Fundação Educacional de Ituverava -
Faculdade Dr. Francisco Maeda, para
obtenção do título de bacharel em Medicina
Veterinária.**

Orientadora: Profa. Dra. Sônia Mara Carrijo.

**Coorientadora: Profa. Dra. Juliana de
Andrade Cintra Malanotte**

ITUVERAVA

2024
DIOGIANE JOSIELE MOREIRA GONTIJO

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE *Alternanthera brasiliana* E
Stryphnodendron adstringens FRENTE A IMPORTANTES BACTÉRIAS
CAUSADORAS DE MASTITE BOVINA**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Fundação Educacional de Ituverava -
Faculdade Dr. Francisco Maeda, para
obtenção do título de bacharel em Medicina
Veterinária.**

Ituverava, 04 junho de 2024.

Orientadora: _____ Prof.^a Dr.^a

Sônia Mara Carrijo

Examinadora: _____

Prof.^a Dr.^a Marly Cristina Pinto Wanderley

Examinadora: _____

Prof.^a MSC. Maria Teresa Galdiano Pimenta Costa

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a Deus, que com sua infinita misericórdia me deu paciência, discernimento e conhecimento para realizá-lo!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao meu padrinho Geraldo, que foi o primeiro a me apoiar e me motivar a cursar Medicina Veterinária, em seu tempo na Terra nunca deixou de ser meu grande incentivador!

À minha família, que sempre foi minha base e meu alicerce, meu pai Eliomar que batalhou todos os dias de sol a sol para que eu me formasse e sempre me deu coragem, minha mãe Luciana que nunca deixou que eu desistisse de realizar esse sonho e sempre me deu todo suporte necessário e minha irmã Jakeline que sempre me acompanhou e prestigiou nesta jornada, mesmo de longe se manteve presente!

Ao meu noivo Rodrigo e toda sua família, que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos, suportando todas as dificuldades e vibrando com as vitórias!

Às minhas amigas Daniele e Flávia, que estiveram presentes em toda a graduação e fizeram com que o processo fosse mais leve!

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Sônia Mara Carrijo e minha coorientadora Prof.^a Dr.^a Juliana de Andrade Cintra Malanotte que me auxiliaram com muita paciência e profissionalismo para que eu pudesse redigir este trabalho de conclusão de curso.

À Prof.^a Rosângela que sempre me deu suporte e ajuda durante todo o trabalho.

Às minhas ajudantes dos laboratórios, que me auxiliaram em todo experimento, Georgia, Angélica, Daniele e Rosa, sem a ajuda de vocês eu jamais conseguiria.

Agradeço a todos os professores que fizeram parte da minha jornada, minha eterna gratidão.

Agradeço imensamente a todos que estiveram comigo durante a graduação, sem esse apoio eu jamais persistiria até o final!

“Crê em ti mesmo, age e verás os resultados. Quando te esforças, a vida também se esforça para te ajudar”.

- Chico Xavier

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
	..	1
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1	Extratos Essenciais.....	3
2.1.	<u>Alternanthera</u>	1
2	<u>brasiliiana</u>	3
2.1.	<u>Stryphnodendron</u>	1
3	<u>adstringens</u>	4
2.2	Mastite.....	1
	4
2.2.	<u>Agentes</u>	1
1	<u>Causadores</u>	5
2.2.	<i>Staphylococcus</i>	1
1.1	<i>aureus</i>	5
2.2.	<i>Staphylococcus</i>	1
1.2	spp.....	6
2.2.	<i>Streptococcus</i>	1
1.3	spp.....	6
2.2.	<i>Corynebacterium</i>	1
1.4	spp.....	7
2.2.	<u>Quanto à forma de</u>	1
2	<u>apresentação</u>	8

2.2.	<u>Detecção</u>	e	1
3	<u>Diagnóstico</u>		8
2.2.	<u>Profilaxia</u>		1
4	...		8
2.2.	<u>Tratamento</u>		1
5	...		9
2.2.	<u>Relação</u>		1
6	<u>Custo-Benefício</u>		9
3	MATERIAL	E	2
	MÉTODOS		0
3.1	Material		2
	...		0
3.1.	<u>Obtenção</u>	<u>dos</u>	2
1	<u>extratos</u>		0
3.2	Métodos		2
		0
3.2.	<u>Cultivo</u>		2
1	<u>Bacteriológico</u>		0
3.2.	<u>Nefelometria</u>		2
2	...		1
3.2.	<u>Meio</u>	<u>de</u>	2
3	<u>Cultivo</u>		2
3.2.	<u>Ensaio</u>		2
4	<u>microbiológicos</u>		3
3.2.	<u>Mensuração</u>	<u>dos</u>	2
5	<u>Halos</u>		6

4	RESULTADOS	2
	..	8
5	DISCUSSÃO	3
	...	1
6	CONCLUSÃO	3
	2
	REFERÊNCIAS	3
	3
	ANEXOS	3
	7

RESUMO

O uso da medicina alternativa com extratos fitoterápicos vem trazendo uma resposta positiva, quanto à resistência bacteriana aos antibióticos. O uso dos extratos de terramicina (*Alternanthera brasiliana*) e de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) podem trazer respostas positivas quando se trata de combater infecções causadas por bactérias associadas à mastite bovina, uma das principais causas de perdas econômicas no setor leiteiro brasileiro. Este trabalho teve por objetivo utilizar o extrato de terramicina (*Alternanthera brasiliana*) e o de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) com a finalidade de avaliar sua ação antimicrobiana *in vitro* frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp., importantes agentes etiológicos da mastite bovina. O extrato de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) mostrou-se eficaz quanto à sua atividade antimicrobiana, contra *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp.

Palavras-chave: Infecção; *Corynebacterium* spp.; Leite; *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus* spp.; Economia.

SUMMARY

The use of alternative medicine with herbal extracts has brought a positive response regarding bacterial resistance to antibiotics. The use of terramycin (*Alternanthera brasiliana*) and barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) extracts can bring positive responses when it comes to fighting infections caused by bacteria associated with bovine mastitis, one of the main causes of economic losses in the Brazilian dairy sector. The objective of this study was to use terramycin (*Alternanthera brasiliana*) and barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) extracts in order to evaluate their antimicrobial action *in vitro* against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. and *Corynebacterium* spp., important etiologic agents of bovine mastitis. Barbatimão extract (*Stryphnodendron adstringens*) has been shown to be effective in terms of its antimicrobial activity against *Staphylococcus* spp. and *Corynebacterium* spp.

Keywords: Infeccion; *Corynebacterium* spp.; Milk; *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus* spp.; Economy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Planta <i>Alternanthera brasiliana</i> (terramicina).....	13
Figura 2	Folhas e inflorescência <i>Stryphnodendron adstringens</i> (barbatimão).....	14
Figura 3	Microscopia eletrônica do <i>Staphylococcus aureus</i>	15
Figura 4	Colônia de bactérias <i>Staphylococcus</i> spp.....	16
Figura 5	<i>Streptococcus</i> spp. observadas por microscopia eletrônica.....	17
Figura 6	<i>Corynebacterium</i> spp.....	17
Figura 7	Embalagens dos extratos de terramicina e barbatimão utilizados no trabalho, obtidos da empresa Flor de Esmeralda , Ituverava-SP, 2023.....	20
Figura 8	<i>Staphylococcus</i> spp. isolados em meio Ágar Sangue, Ituverava-SP, 2024.....	21
Figura 9	Escala de MacFarland em comparação da turvação de 0,5 com a Solução (bactéria + soro fisiológico), Ituverava-SP, 2024.....	22

Figura 10	Placas de Petri sendo preenchidas com meio Ágar Sangue, Ituverava-SP, 2024.....	23
Figura 11	Tubo (solução fisiológica + bactéria) com turvação de 0,5 de acordo com a escala de MacFarland, Ituverava-SP, 2024.....	24
Figura 12	Swab estéril embebido com o conteúdo do inóculo bacteriano sendo disperso sobre toda a placa contendo o meio Mueller Hinton, Ituverava-SP, 2024.....	25
Figura 13	Pinça estéril segurando o disco de papel impregnado por extrato de terramicina (A), pinça estéril segurando o disco de papel impregnado por extrato de barbatimão (B), Ituverava-SP, 2024.....	25
Figura 14	Discos de papel impregnados por extrato de terramicina (setas) e de barbatimão adicionados sobre as na placa de Petri, Ituverava-SP, 2024.....	26
Figura 15	Verificação do diâmetro do halo de inibição de crescimento bacteriano formado ao redor da colônia de <i>Corynebacterium</i> spp. Em estudo da ação antimicrobiana do extrato de barbatimão, Ituverava-SP, 2024.....	27
Figura 16	Halo de inibição de crescimento bacteriano (seta) formados pela ação antimicrobiana do extrato de barbatimão, em cultura de <i>Staphylococcus</i> spp., Ituverava-SP, 2024.....	28
Figura 17	Halo de inibição de crescimento bacteriano (seta) formados pela ação antimicrobiana do extrato de barbatimão, em cultura de <i>Corynebacterium</i> spp., Ituverava-SP, 2024.....	28
Figura 18	Halo de inibição de crescimento bacteriano (seta) formados pela ação antimicrobiana do extrato de barbatimão, em cultura de <i>Corynebacterium</i> spp., Ituverava-SP, 2024.....	29
Figura 19	Ausência de formação do halo de inibição de crescimento bacteriano (A, B e C), em cultura de <i>Streptococcus</i> spp., em estudo da ação antimicrobiana do extrato de terramicina (setas) e de barbatimão frente à <i>Streptococcus</i> spp., Ituverava-SP, 2024.....	29
Figura 20	Ausência de halo de inibição de crescimento bacteriano (A e B), que seriam formados pela ação antimicrobiana do extrato de terramicina (setas) e de barbatimão, em cultura de <i>Staphylococcus</i> spp., Ituverava-SP, 2024.....	30
Figura 21	Ausência de halo de inibição de crescimento bacteriano (A e B), que seriam formados pela ação antimicrobiana do extrato terramicina (setas) e de barbatimão, em cultura de <i>Staphylococcus</i> spp., Ituverava-SP, 2024.....	

1 INTRODUÇÃO

Segundo Benedette *et al.* (2008) “A mastite é a inflamação do parênquima da glândula mamária independente da causa, caracterizando-se por uma série de alterações físicas e químicas do leite, bem como modificações patológicas no tecido glandular.” Ela pode ser descrita como clínica e subclínica, sendo mais frequente a forma subclínica (Radostits *et al.*, 2006).

A mastite é uma doença que causa muitos prejuízos, estima-se que no Brasil as perdas anuais causadas pela doença são por volta de 10% de todo o faturamento das fazendas (Neiva; Henrique, 2018).

A mastite pode ser classificada de duas maneiras: clínica ou subclínica. Na forma clínica, os sinais clínicos são mais evidentes, enquanto na subclínica é preciso recorrer a exames complementares. Quanto ao agente causador, a mastite se divide em contagiosa e ambiental (Tyler; Cullor, 2006).

A descoberta dos antibióticos revolucionou a saúde humana e animal, tornando-se uma importante ferramenta para o combate de diversas infecções. Entretanto, os germes desenvolveram a capacidade de derrotar essa droga que seria destinada a matá-los, então disseminou-se em todo o mundo a resistência aos antibióticos, tornando algumas infecções intratáveis e que vêm resultando em óbitos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2019).

Na medicina alternativa, extratos de muitas plantas medicinais vêm sendo utilizados como fitoterápicos para o tratamento de vários tipos de doenças. Entre elas estão o extrato terramicina (*Alternanthera brasiliana*) e o de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). O barbatimão tem sido usado de várias formas pela população, como antibacteriano, anti-inflamatório, antisséptico, adstringente e cicatrizante (Lima *et al.*, 2016) e a terramicina tem sido usada no tratamento de várias patologias, como anti-inflamatória, antibioterapia e analgésica (Delaporte *et al.*, 2001; Lapinski, 2008).

Este estudo busca respostas que auxiliem no uso alternativo desses fitoterápicos naturais para tratamentos de infecções bacterianas, a fim de contornar o problema da aquisição de resistência bacteriana aos antibióticos.

O objetivo deste trabalho foi testar *in vitro*, a eficácia dos extratos de *Alternanthera brasiliana* (terramicina) e *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) na inibição do crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e *Corynebacterium ssp.*, consideradas como importantes agentes etiológicos da mastite bovina.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Extratos Essenciais

Os extratos vegetais são definidos como preparações de consistência líquida, sólida ou viscosa. Como regra, eles são obtidos por maceração (extração até o equilíbrio com água ou álcool) ou percolação (extração até a exaustão com água ou álcool). Os constituintes solúveis em água (hidrofílicos) podem ser extraídos com água, enquanto os constituintes solúveis em gordura (lipofílicos) são extraídos de uma parte específica da planta com álcool ou outros solventes (GEA Group, 2024).

2.1.2 *Alternanthera brasiliana*

Na medicina tradicional, a *Alternanthera brasiliana* (Figura 1) é frequentemente utilizada no tratamento de diversas patologias, sendo comprovadas a ação anti-inflamatória, analgésica e ainda a atividade inibidora do vírus dos herpes simples (Delaporte *et al.*, 2001; Lapinski, 2008).

A espécie vegetal *Alternanthera brasiliana*, pertencente à família Aranthacea, é popularmente conhecida como "Terramicina", "Penicilina", "Doril", combatendo micro-organismos gram-positivos e gram-negativos, especialmente do gênero *Staphylococcus* (L, 2008)

Segundo o autor Delaporte *et al.* (2001), “a *Alternanthera brasiliana* é uma espécie herbácea perene, ereta ou rasteira, muito ramificada”.

Figura 1. Planta *Alternanthera brasiliana* (terramicina).



Fonte:

<https://watuzyoliveira.wixsite.com/watuzyoliveira/single-post/2016/10/12/pomadas-caseiras-de-terramicina>

2.1.3 *Stryphnodendron adstringens*

Atualmente, o barbatimão tem sido usado como antibacteriano, anti-inflamatório, antisséptico, adstringente, hemostático, antisséptico e cicatrizante (Lima *et al.*, 2016).

Stryphnodendron adstringens (Figura 2) é conhecida popularmente como "barbatimão", "barba-de-timão" ou "cascada-virgindade", denominações estas que variam de acordo com a região (Soares *et al.*, 2008).

Conforme mencionado por Lorenzi e Matos (2002), o barbatimão é uma árvore de folhas caducas, com copa alongada, atingindo de 4 a 5 metros de altura, apresentando tronco rugoso e retorcido, originária dos cerrados do Sudeste e Centro-Oeste.

Figura 2. Folhas e inflorescência de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão).



Fonte: Vieira; Camillo; Coradin (2018).

2.2 Mastite

“A mastite é a inflamação do parênquima da glândula mamária independente da causa, caracterizando-se por uma série de alterações físicas e químicas do leite bem como modificações patológicas no tecido glandular” (Benedette *et al.*, 2008).

2.2.1 Agentes Causadores

As mastites podem ser classificadas, de acordo com o agente etiológico, em ambientais e contagiosas. As mastites ambientais são causadas por microrganismos presentes no ambiente, como *Escherichia coli* e *Klebsiella* sp. Por outro lado, as mastites contagiosas são provocadas por patógenos cujo habitat preferencial é o interior da glândula mamária e a superfície da pele dos tetos, essa transmissão ocorre durante a ordenha dos animais, através das mãos do ordenhador, panos e esponjas para secagem de tetos, quando utilizados em várias vacas, e teteiras (Saab *et al.*, 2014). Conforme os autores, os principais patógenos causadores da mastite contagiosa incluem *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Corynebacterium bovis*. Geralmente, as mastites subclínicas são do tipo contagioso e, nos rebanhos brasileiros, são as responsáveis pelos maiores prejuízos na exploração leiteira.

2.2.1.1 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* (Figuras 3) é uma bactéria do tipo coco Gram positivo, encontrada na pele e nas fossas nasais de indivíduos saudáveis. Contudo, ela pode provocar doenças, que vão desde uma simples infecção (espinhas, furúnculos e celulites) até infecções graves como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico ou septicemia (Souza *et al.*, 2005).

A causa mais comum e importante de mastite (inflamação da glândula mamária) em vacas leiteiras é a bactéria *Staphylococcus aureus*. Elas se alojam nas glândulas mamárias, sendo seus principais reservatórios, a partir dos quais as bactérias são transmitidas para as outras vacas (Santos *et al.*, 2007).

Figura 3. Microscopia eletrônica do *Staphylococcus aureus*.

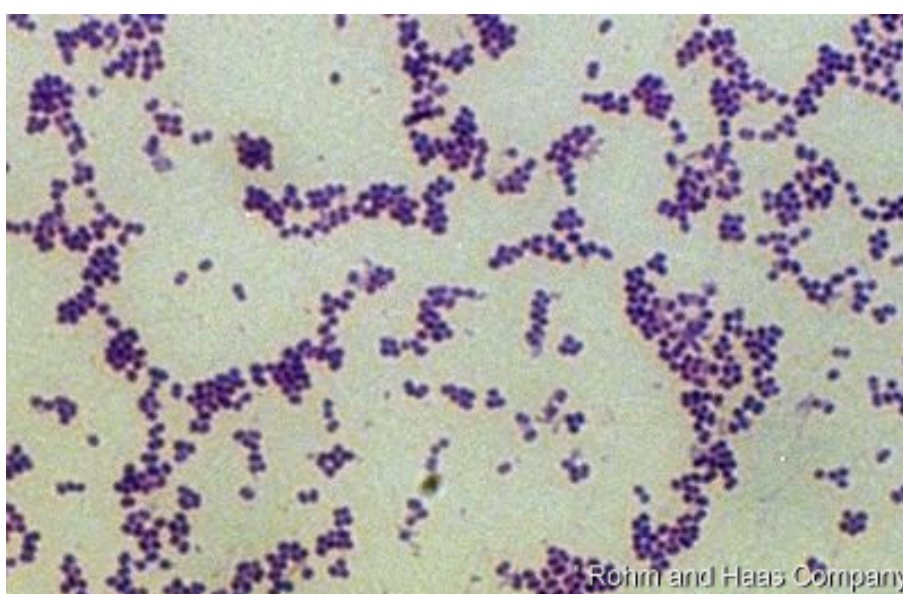


Fonte: TORTORA; FUNK; CASE (2012).

2.2.1.2 *Staphylococcus* spp.

O *Staphylococcus* spp. (Figura 4) é um dos agentes que vem causando o maior número de intoxicações alimentares, sendo transmitido normalmente pela manipulação incorreta dos alimentos, por portadores assintomáticos e por meio dos animais como o gado leiteiro. Suas manifestações podem levar às doenças que são causadas tanto pela ação destes microrganismos patogênicos como por suas toxinas (Prado *et al.*, 2015).

Figura 4. Colônia de bactérias *Staphylococcus* spp.



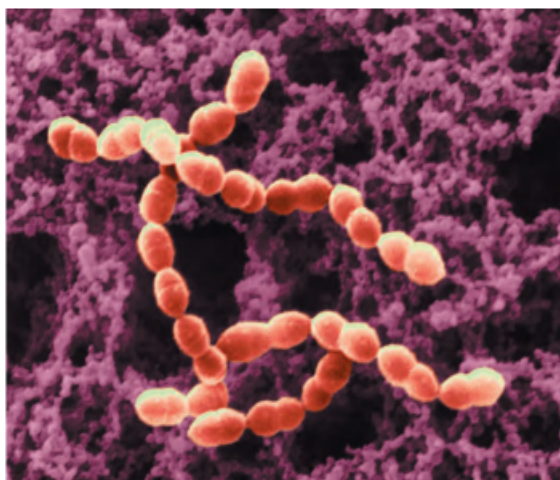
Fonte: Macintyre (2021).

2.2.1.3 *Streptococcus* spp.

As bactérias esféricas Gram-positivas do gênero *Streptococcus* spp. (Figura 5). são comumente encontradas em cadeias. Este grupo taxonômico complexo é amplamente reconhecido como responsável por uma gama diversificada de doenças e infecções, superando muitas outras bactérias em sua capacidade patogênica (Tortora; Funk; Case; 2012).

Segundo Radostits *et al.* (2006), os *Streptococcus* são uma causa significativa de sepsse, mastite, poliartrite, meningite, poliserosite, endocardite e mortalidade súbita em neonatos de todas as espécies de animais de produção.

Figura 5. *Streptococcus* spp. observadas por microscopia eletrônica.



Fonte: Tortora; Funk; Case (2012).

2.2.1.4 *Corynebacterium* spp.

Segundo Huxley, Green e Bradley *et al.* (2004), o *Corynebacterium* spp. (Figura 6) é geralmente classificado como um patógeno de pouca relevância, predominantemente responsável por doenças subclínicas e, em certos casos, é até considerado um comensal. Apesar de sua patogenicidade reduzida, é notavelmente contagioso, superando em termos de contágio até mesmo patógenos clássicos como *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus agalactiae*.

Figura 6. *Corynebacterium* spp.



Fonte: Hartmann Science Center (2024).

2.2.2 Quanto à forma de apresentação

A mastite pode se manifestar de duas formas, clínica ou subclínica. Sendo a primeira com sinais clínicos mais evidentes para a percepção da segunda é necessário fazer exames complementares. De acordo com o tipo de agente causador, ela se subdivide em contagiosa e ambiental (Tyler; Cullor, 2006).

2.2.3 Detecção e diagnóstico

O diagnóstico inicial de mastite clínica é feito durante o exame físico de rotina, observando se há anormalidades macroscópicas do leite (descoloração, coágulos, flocos, pus) e aos sinais clínicos e anormalidades do úbere na vaca (edema, calor, dor, hematomas e gangrena). Os testes indiretos incluem teste de Contagem de Células Somáticas (CCS), o teste *California Mastitis Test* (CMT) e a cultura microbiana das amostras de leite de todo o rebanho (Radostits *et al.*, 2006).

O teste de Contagem de Células Somáticas determina a quantidade de leucócitos e células epiteliais presentes no leite, se houver inflamação há um aumento da quantidade dessas células (Viana *et al.*, 2010).

O reagente CMT contém um detergente que reage com DNA de núcleos celulares e um indicador de pH (branco-cresol) que muda de cor quando pH do leite está aumentado, acima do seu valor normal de aproximadamente 6,6 (a mastite aumenta o pH para 6,8 ou superior). O CMT é misturado com quatro amostras de leite que foram previamente recolhidas em uma raquete e essa amostra é suavemente misturada. O resultado é lido instantaneamente em apenas 15 segundos, e ele se baseia na quantidade de células somáticas presentes (desnaturação do DNA das células), podendo ser negativo sem formação de gel ou positivo (CMT: 1, 2, 3), dependendo da quantidade de gel formado na amostra (Radostits *et al.*, 2006).

2.2.4 Profilaxia

Segundo Müller *et al.* (2002), um programa eficaz de controle de mastite deve estabelecer como metas prioritárias: a erradicação das mastites contagiosas causadas por *Streptococcus agalactiae*, o controle das infecções por *Staphylococcus aureus*, a redução dos casos de mastites ambientais, a manutenção das contagens de células somáticas abaixo de

200.000/ml/leite. Para atingir tais objetivos, é crucial abordar a fonte de infecção, identificar com precisão as vacas com mastite clínica e subclínica, aplicar tratamentos adequados e eliminar animais com infecções crônicas.

Além disso, é importante selecionar vacas naturalmente mais resistentes entre os animais susceptíveis e fornecer uma dieta balanceada. Medidas devem ser tomadas também para controlar as vias de transmissão da mastite, implementando práticas adequadas de manejo e higiene durante a ordenha, e garantindo que as vacas sejam mantidas em um ambiente seco e limpo (Müller *et al.*, 2002).

2.2.5 Tratamento

Casos leves de mastite clínica em vacas em lactação (apenas secreção anormal) podem não necessitar de tratamento. Entretanto, todos os episódios clínicos de mastite acompanhados de uma glândula mamária anormal ou sinais sistêmicos de doença devem ser tratados com antibioticoterapia, por via de administração intramamária (todos os casos) e por via parenteral (casos selecionados). Em casos de mastite aguda e superaguda necessitam também de terapia de suporte (fluidos e eletrólitos) e anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). Na terapia de vaca seca é feita a infusão intramamária de agentes antimicrobianos de longa ação, após a última ordenha no final da lactação (na secagem), sendo tratamento indicado para mastite subclínica (Radostits *et al.*, 2006).

2.2.6 Relação Custo-Benefício

A ocorrência de mastite faz com que os custos aumentem, trazendo prejuízos para os produtores, com medicamentos, veterinários, perdas nas produções de leite (pelo resíduo dos medicamentos) e descarte dele (Radostits *et al.*, 2006). Segundo Serpa (2022), as perdas econômicas relacionadas com cada caso de mastite nas fazendas brasileiras giram em torno de R\$700,00 por vaca por ano.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Material

Foram utilizados os extratos de *Alternanthera brasiliana* (terramicina) e de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). As cepas das bactérias testadas foram *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp.

3.1.1 Obtenção dos extratos

Os extratos de terramicina e barbatimão foram obtidos comercialmente pela empresa Flor de Esmeralda, em frascos de 100mL (Figura 7).

Figura 7. Embalagens dos extratos de terramicina e barbatimão utilizados no trabalho, obtidos da empresa Flor de Esmeralda, Ituverava-SP, 2023.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

3.2 Métodos

3.2.1 Cultivo bacteriológico

O experimento foi realizado no período de dezembro/2023 e janeiro/2024 no laboratório do Hospital Veterinário da Faculdade Dr. Francisco Maeda, em Ituverava-SP.

As bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. foram obtidas a partir da coleta de amostras de leite em propriedades

leiteiras durante o atendimento da Médica Veterinária Eliane Tamaso (CRMV MG 5276). O agente foi isolado em Placas de Petri, em Meio Ágar Sangue, cultivado a 37,5°C em estufa de cultura bacteriológica por 48 horas. Para promover o crescimento bacteriano com a finalidade de avaliação da eficácia da ação antimicrobiana dos extratos da terramicina e do barbatimão, foram utilizados os meios de cultivo Manitol e Ágar Chocolate em placas de Petri (Figura 8).

Figura 8. *Staphylococcus* spp. isolados em meio Ágar Sangue, Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

3.2.2 Nefelometria

A aferição da densidade da suspensão bacteriana foi feita a partir da escala de MacFarland. A escala foi preparada utilizando tubos contendo sulfato de bário e ácido sulfúrico em concentrações crescentes de 0,1-1 mL (BIER, 1977 *apud* FIGUEIREDO, 2021). Para utilização neste trabalho a turvação escolhida foi de 0,5 (variando 0,1-1) sendo adicionado em cada placa 0,1 mL da solução (bactéria + soro fisiológico) comparando-se a turvação de 0,5 (Figura 9).

Figura 9. Escala de MacFarland em comparação da turvação de 0,5 com a Solução (bactéria + soro fisiológico), Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

3.2.3 Meio de Cultivo

O cultivo das bactérias foi feito no meio de Ágar Sangue e para o antibiograma foi utilizado o meio de Mueller Hinton. O meio de cultivo e todas as vidrarias empregadas foram devidamente autoclavados.

O meio Ágar Sangue foi pesado e hidratado conforme as recomendações do fabricante, esterilizado e resfriado. Adicionou-se 5 mL de sangue de cavalo desfibrinado para cada 100 mL de base e após a homogeneização, ele foi distribuído em placas de Petri (Figura 10). O meio Ágar Mueller Hinton foi pesado e hidratado conforme as recomendações do fabricante, esterilizado, resfriado e distribuído em placas de Petri (90 x 15 mm).

Figura 10. Placas de Petri sendo preenchidas com meio Ágar Sangue, Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

3.2.4 Ensaios microbiológicos

Os experimentos microbiológicos foram conduzidos utilizando placas de Petri com dimensões de 90 x 15 mm. As cepas bacterianas foram isoladas e adequadamente incubadas por 2 dias em meio Ágar Sangue a uma temperatura de 37,5°C em uma estufa microbiológica. A partir da placa inicial onde a cultura foi isolada no meio Ágar Sangue, uma porção da cultura bacteriana foi transferida para um tubo contendo solução fisiológica utilizando uma alça de platina, até que a turvação atingisse 0,5 na escala de MacFarland. Foram realizadas 4 repetições para cada extrato essencial e cada bactéria, entretanto, somente em uma das repetições foi utilizada a escala de MacFarland.

Em seguida, mergulhou-se um *swab* estéril no inóculo (Figura 11), com o conteúdo ensopado no *swab* sendo disperso sobre toda a placa, passando-o oito vezes e rotacionando (Figura 12) na placa contendo o meio Mueller Hinton. Utilizando uma pinça estéril (Figura

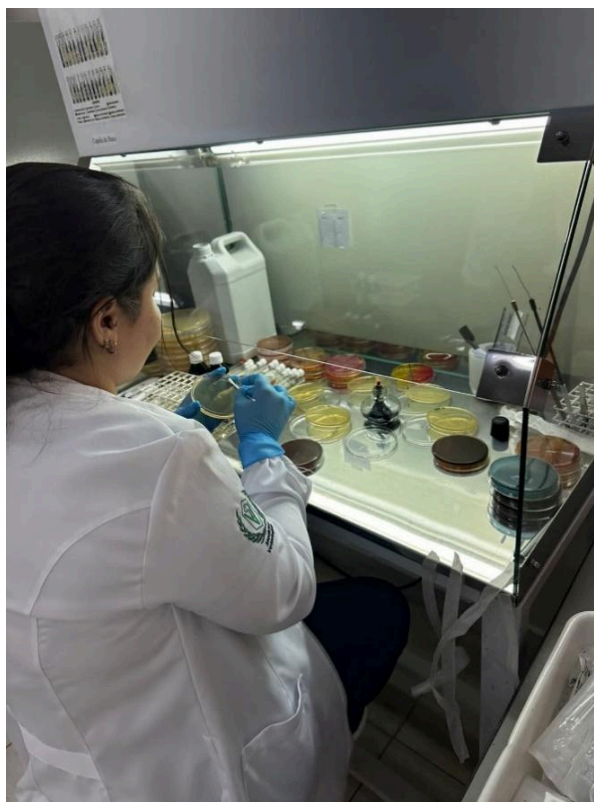
13) foram colocados os discos de papel impregnados (Figura 14) com os extratos de terramicina e barbatimão (individualmente) nas extremidades da placa, para comparação dos halos. Após realizar esses procedimentos, as placas foram colocadas em estufa de cultura bacteriológica a 37,5° por 24 horas.

Figura 11. Tubo (solução fisiológica + bactéria) com turvação de 0,5 de acordo com a escala de MacFarland, Ituverava-SP, 2024.



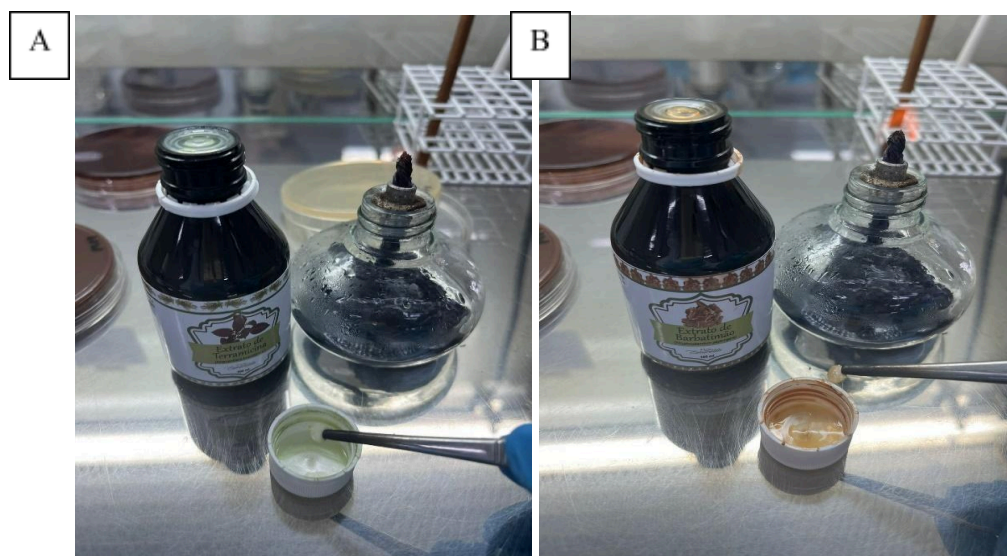
Fonte: Acervo pessoal (2024).

Figura 12. *Swab* estéril embebido com o conteúdo do inóculo bacteriano sendo disperso sobre toda a placa contendo o meio Mueller Hinton, Ituverava-SP, 2024.



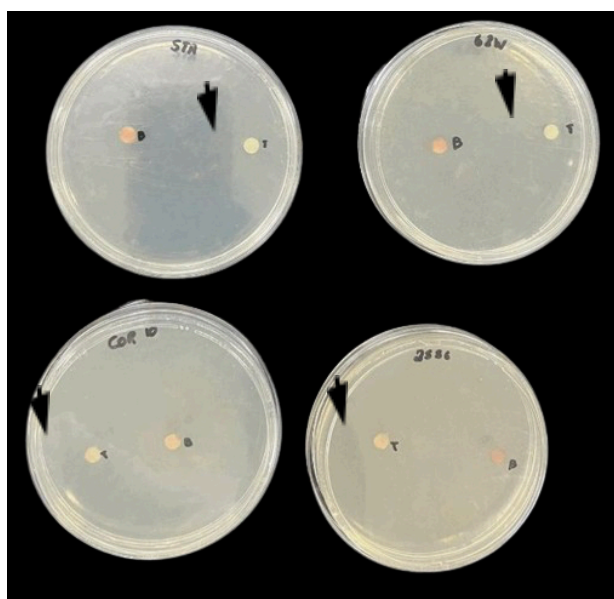
Fonte: Acervo pessoal (2024).

Figura 13. Pinça estéril segurando o disco de papel impregnado por extrato de terramicina (A) e barbatimão (B), Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

Figura 14. Discos de papel impregnados por extrato de terramicina (setas) e de barbatimão adicionados sobre as na placa de Petri, Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

3.2.5 Mensuração dos halos

Os halos foram medidos em milímetros utilizando uma régua para garantir maior precisão. O diâmetro foi calculado a partir do centro do disco de papel até a extremidade do halo (Figura 15), assegurando assim a confiabilidade dos resultados.

Figura 15. Verificação do diâmetro do halo de inibição de crescimento bacteriano formado ao redor da colônia de *Corynebacterium* spp. Em ação antimicrobiana do extrato do barbatimão, Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

4 RESULTADOS

As Figuras 16 a 18 mostram o cultivo de *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. e os halos de inibição de crescimento bacteriano formados pela ação do extrato de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*).

Figura 16. Halo de inibição de crescimento bacteriano (seta) formados pela ação antimicrobiana do extrato de barbatimão, em cultura de *Staphylococcus* spp., Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

Figura 17. Halo de inibição de crescimento bacteriano (seta) formados pela ação antimicrobiana do extrato de barbatimão, em cultura de *Corynebacterium* spp., Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

Figura 18. Halo de inibição de crescimento bacteriano (seta) formados pela ação antimicrobiana do extrato de barbatimão, em cultura de *Corynebacterium* spp., Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

As demais figuras, 19 e 21, mostram que não houve o halo de inibição de crescimento bacteriano formados pela ação antimicrobiana do extrato de barbatimão nem do extrato de terramicina, em cultura de *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp., em estudo da ação antimicrobiana dos extratos de barbatimão e terramicina frente às bactérias mencionadas.

Figura 19. Ausência de formação do halo de inibição de crescimento bacteriano (A, B e C), em cultura de *Streptococcus* spp., em estudo da ação antimicrobiana do extrato de terramicina (setas) e de barbatimão frente à *Streptococcus* spp., Ituverava-SP, 2024.

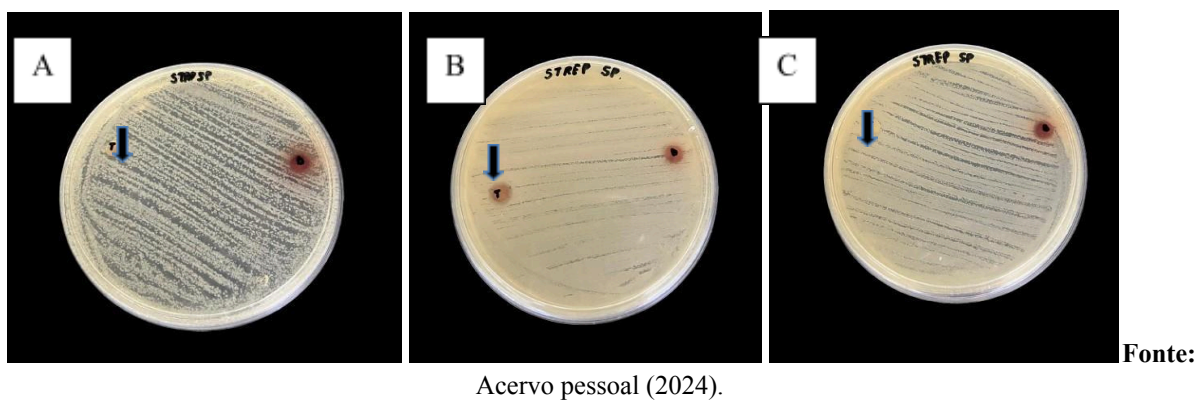


Figura 20. Ausência de halo de inibição de crescimento bacteriano (A e B), que seriam formados pela ação antimicrobiana do extrato de terramicina (setas) e de barbatimão, em cultura de *Staphylococcus aureus*., Ituverava-SP, 2024.

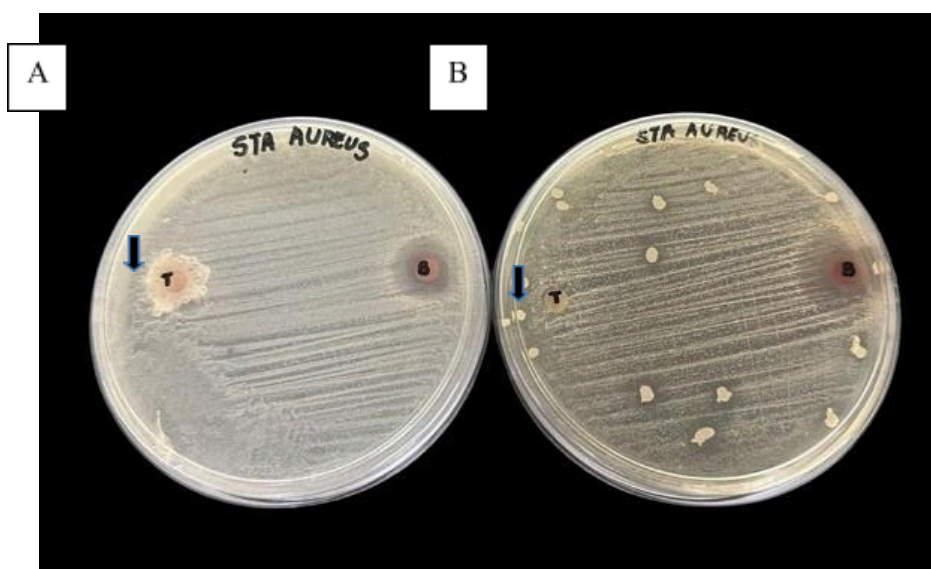
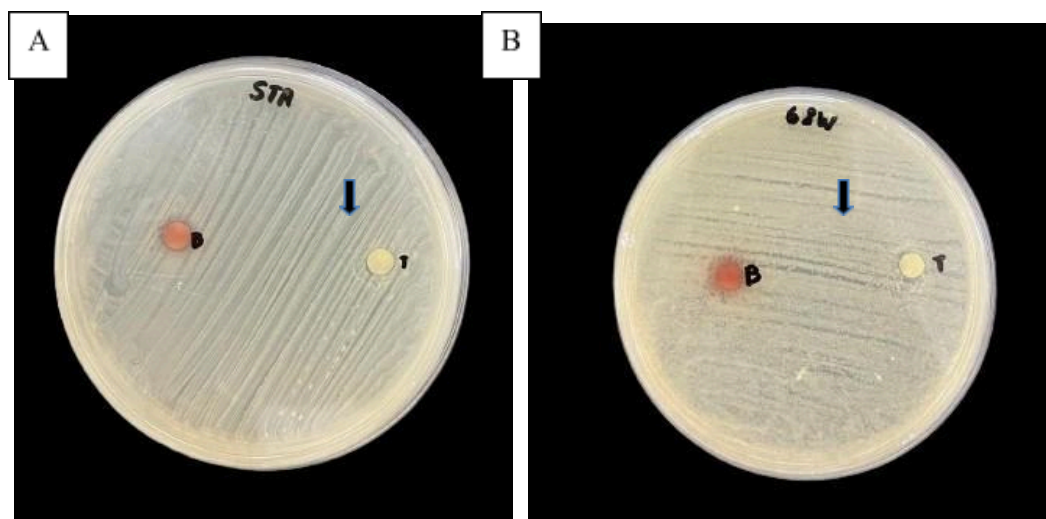


Figura 21. Ausência de halo de inibição de crescimento bacteriano (A e B), que seriam formados pela ação antimicrobiana do extrato terramicina (setas) e de barbatimão, em cultura de *Staphylococcus* spp., Ituverava-SP, 2024.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

5 DISCUSSÃO

Evidências do efeito antimicrobiano do extrato de barbatimão, demonstrados nesta pesquisa, também foram encontradas por outros autores:

Souza *et al.* (2017) avaliaram a eficácia do extrato de barbatimão para inibição de crescimento bacteriano de vários patógenos causadores de mastite, dentre eles, o *Staphylococcus* spp. e o *Streptococcus* spp., que foram isoladas a partir do leite ovino, obtendo respostas positivas com inibição de crescimento bacteriano para este extrato.

Bardal (2011) observou que o extrato aquoso do barbatimão consegue fazer inibição da multiplicação de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* em curto período.

Já Gonçalves, Alves e Menezes (2005) obtiveram os resultados positivos utilizando o extrato de barbatimão, contra *Escherichia coli*, bem como contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp. coagulase, *Streptococcus pyogenes*, observando a inibição bacteriana.

Outros autores obtiveram resultados divergentes aos demonstrados nesta pesquisa:

Costa *et al.* (2020) concluíram através de seus estudos, que o extrato de barbatimão não foi capaz de promover ação bactericida nas colônias de *Streptococcus* mutans.

Santos *et al.* (2020) encontraram moderada atividade antimicrobiana do extrato de barbatimão (*S. coriaceum*) contra isolados de *Corynebacterium ulcerans*.

Os resultados encontrados não coincidem com os de Caetano *et al.* (2002), bem que ele descreve atividade antimicrobiana sobre o extrato bruto de terramicina para quatro cepas, inclusive o *Staphylococcus aureus*.

Gaddini e Nakadomari (2017) por sua vez, não obtiveram atividade antibacteriana utilizando o extrato de terramicina para cepas utilizadas, dentre elas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

6 CONCLUSÃO

O extrato de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) mostrou-se eficaz quanto sua atividade antimicrobiana, contra *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp., produzindo halos de inibição de crescimento bacteriano.

O extrato de terramicina (*Alternanthera brasiliana*) não apresentou halo de crescimento inibitório considerável para nenhum dos agentes etiológicos de escolha para este trabalho.

O extrato de barbatimão mostrou potencial para o tratamento de mastite em rebanhos bovinos leiteiros. No entanto, são necessários mais estudos para determinar as concentrações adequadas para inibir o crescimento bacteriano, bem como para investigar seus potenciais efeitos toxicológicos.

REFERÊNCIAS

BARDAL, D. Atividade antimicrobiana de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville em agentes causadores da mastite. 2011.

https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/NCAP-8SDNVD/1/diego_bardal.pdf

Acesso em 20 maio 2024.

BENEDETTE, M. F. et al. Mastite bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 7, n. 11, p. 1-5, 2008.

https://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/s8Qkxdp3ibXOROS_2013-6-13-15-52-55.pdf

Acesso em 17 jan. 2024.

BIER, O. Bacteriologia e imunologia. 18 ed. São Paulo: Melhoramentos, 1977. In: FIGUEIREDO, Isabela Marques de. **Ação antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de *Cymbopogon flexuosus*, *Eucalyptus globulus* e *Lavandula angustifolia* frente às principais bactérias causadoras de mastite bovina.** 2021.

Acesso em 15 mar. 2024.

CAETANO, N. et al. Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como antiinflamatório. **Revista Brasileira de farmacognosia**, v. 12, p. 132-135, 2002.

<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/dn6tdfn7dShxDzRX6BgWRWK/?format=pdf&lang=p>

Acesso em 31 maio 2024.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic resistance threats in the United States**, 2019.

<https://doi.org/10.15620/cdc:82532>

Acesso em 05 set. 2023.

DA COSTA, C. E. S. et al. Antimicrobial Activity of Barbatimão Glycol Extract on *Streptococcus mutans*. **Journal of Health Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 131–134, 2020. DOI: 10.17921/2447-8938.2020v22n2p131-134.

<https://journalhealthscience.pgsscogna.com.br/JHealthSci/article/view/7830>

Acesso em: 31 maio 2024.

DELAPORTE, R. H. et al. Estudo farmacognóstico das folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae). **Acta Farm. Bonaerense**, v.21, n. 3, p. 169-74, 2001.

http://www.latamjpharm.org/trabajos/21/3/LAJOP_21_3_1_2_NBG71B7P0J.pdf

Acesso em 10/09/2023.

GADDINI, L.V; NAKADOMARI, G. H. **Avaliação da atividade antibacteriana de compostos naturais frente a cepas padrão**. 2017.

https://www.researchgate.net/profile/Sheila-Wosiacki/publication/262592693_Influence_of_powdered_garlic_Allium_sativum_supplementation_on_ruminal_flora_and_weight_gain_in_feedlot_lambs/links/619d0424d7d1af224b1beb74/Influence-of-powdered-garlic-Allium-sativum-supplementation-on-ruminal-flora-and-weight-gain-in-feedlot-lambs.pdf

Acesso em 30 maio 2024

GEA Group, Extratos vegetais. **Nutracêuticos**.2024.

<https://www.gea.com/pt/pharma-healthcare/nutraceuticals/plant-extracts/>

Acesso em 17 maio 2024.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, 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.

<https://www.scielo.br/j/aib/a/crnzsB6wskJm4ZnRJgSpwLP/?format=pdf&lang=pt>

Acesso em 10 maio 2024.

HARTMANN SCIENCE CENTER. **Corynebacterium spp. (bactéria)**. 2024.

<https://www.hartmann-science-center.com/en/hygiene-knowledge/pathogens-a-z/pathogens-3/corynebacterium-spp>

Acesso em 28 maio 2024.

HUXLEY, J.; GREEN, M.; BRADLEY, A. *Corynebacterium Bovis* - friend or foe? **Proceedings of the British Mastitis Conference, Garstang**, p. 23–34, 1 out. 2004.

<http://britishmastitisconference.org.uk/BMC2003Proceedings.pdf>

Acesso em 23/09/2023.

LAPINSKI, T. F. **Fotossensibilizadores naturais em terapia fotodinâmica antimicrobiana: Extratos de Alternanthera brasiliana (Amaranthaceae)**, 2008. 112 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2008.

<https://cepein.femanet.com.br/BDigital/arqTccs/0711290351.pdf>

Acesso em 23/09/2023.

LIMA, T. C. D. et al. Breve revisão etnobotânica, fitoquímica e farmacologia de *Stryphnodendron adstringens* utilizada na Amazônia. **Revista Fitos**, v.10, n.3, 2016.

<https://doi.org/10.5935/2446-4775.20160025>

Acesso em 19 set. 2023.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais do Brasil Nativas e Exóticas. São Paulo: **Instituto Plantarum**, 2002. p. 296.

https://www.unieuro.edu.br/sitenovo/revistas/downloads/farmacia/cenarium_03_01.pdf

Acesso em 24 set. 2023.

MACINTYRE, S. **Staphylococcus spp.** 2021.

<https://quizlet.com/ca/638414237/staphylococcus-spp-flash-cards/>

Acesso em 31/05/2024.

MÜLLER, E. E. et al. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, **Anais...** v. 2, 2002, p. 206-217, 2002.

Acesso em 27 maio 2024.

NEIVA, R.; HENRIQUE, F. Nanotecnologia: trata mastite e muito mais. **ANUÁRIO Leite**, p. 3, 2018.

<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094149/anuario-leite-2018-indicadores-tendencias-e-oportunidades-para-quem-vive-no-setor-leiteiro>

Acesso em 10 maio 2024.

POMADAS CASEIRAS DE TERRAMICINA

<https://watuzyoliveira.wixsite.com/watuzyoliveira/single-post/2016/10/12/pomadas-caseiras-d-e-terramicina> Acesso em 31 maio 2024.

PRADO, R. et al. Staphylococcus spp.: importantes riscos à saúde pública. **PubVet**, v. 9, n. 8, p. 363–368, ago. 2015. Disponível em:

<https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1534> Acesso em 10 abr. 2024.

RADOSTITS, O. M. et al. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep goats, pigs and horses**. 10.ed. Saunders Ltd, 2006.674p. Acesso em 17 maio 2024.

SAAB, A. B. et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Nova Tebas, Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(2), 835–843. 2014.

<https://www.redalyc.org/pdf/4457/445744140020.pdf>

Acesso em 25 maio 2024.

SANTOS, A. L. DOS et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413–423, dez. 2007.

<https://www.scielo.br/j/jbpm/a/gHvPXyhgbzWt69YKxGqPFHk/>

Acesso em 35 maio 2024.

SANTOS, D. C. P. et al. Bioprospecção das atividades antioxidante, antibacteriana e antibiofilme contra *Corynebacterium ulcerans* e toxicidade de *Stryphnodendron coriaceum* Benth. *Scientia plena*, v. 16, n. 10, 2020.

<https://scientiaplena.emnuvens.com.br/sp/article/download/5745/2332>

Acesso em 10 maio 2024.

SERPA, M. Quanto custa um caso de mastite? **Revista MilkPoint**, 2022.

<https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/quanto-custa-um-caso-de-mastite-229605/#>

Acesso em 22 maio 2024.

SOARES, S. P. et al. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Revista Odontologia**, v. 23, n. 2, 2008.

https://www.researchgate.net/profile/Carlos-Henrique-Martins-2/publication/277103396_Antibacterial_activity_of_the_crude_hydroalcoholic_extract_of_Stryphnodendron_adstringens_on_dental_caries_microorganisms/links/557596fd08ae7521586ac677/Antibacterial-activity-of-the-crude-hydroalcoholic-extract-of-Stryphnodendron-adstringens-on-dental-caries-microorganisms.pdf

Acesso em 24 maio 2024.

SOUZA, C. N. et al. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais do cerrado mineiro frente a bactérias isoladas de ovinos com mastite. **Unimontes Científica**, 2017.
<https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/42396/2/Atividade%20antimicrobiana%20de%20plantas%20medicinais%20do%20cerrado%20mineiro%20frente%20a%20bact%20c3%a9rias%20isoladas%20de%20ovinos%20com%20mastite.pdf>

Acesso em 25 set. 2023.

SOUZA, M. V.; REIS, C.; PIMENTA, F. C. Revisão sobre a aquisição gradual de resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos. **Revista De Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 34, n. 1, 2005.

<https://revistas.ufg.br/iptsp/article/view/2134>

Acesso em 30 set. 2023.

TORTORA, G. J.; FUNK, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TYLER, J. W.; CULLOR, J. S. Sanidade e distúrbios da glândula mamária. In: SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006, p. 1019-1038.

VIANA, K. F. et al. Comparação da contagem de células somáticas em leite cru por quatro métodos de coloração. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 59-63, 2010.

https://www.researchgate.net/publication/277255245_COMPARACAO_DA_CONTAGEM_DE_CELULAS_SOMATICAS_EM_LEITE_CRU_POR_QUATRO_METODOS_DE_COLORACAO Acesso em 29 maio 2024.

VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro-Região Centro-Oeste**. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade, 2018.

ANEXOS

Autorização para Uso de Dados			
Eu,	<u>Diogiane Josiele Moreira Gontijo</u>	, portador do RG nº	
17800004			

