

SENSIBILIDADE DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* FRENTE A EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Dichondra repens*

BRUNA DA SILVA URRUTIA¹; TONY PICOLI²; CRISTINA MENDES PETER²; BÁRBARA PONZILACQUA¹; ANDRÉ FERNANDES PERES³; JOÃO LUÍZ ZANI⁴

1 Aluna de graduação em medicina veterinária UFPel – brunaurrutia@hotmail.com; bponzilacqua@hotmail.com

2 Programa de Pós-Graduação em Veterinária UFPel – picolivet@gmail.com; cristina_peter@hotmail.com

3 Médico veterinário, residente em saúde coletiva, Laboratório de Bacteriologia e Saúde Populacional, UFPel – andfperes@yahoo.com.br

4 Professor Adjunto do Departamento de Veterinária Preventiva UFPel – jluzzani@ig.com.br

1. INTRODUÇÃO

A *Dichondra repens*, também conhecida popularmente como orelha de rato é uma planta da família *Colvulaceae*, é uma erva prostada, rizomatosa e de textura herbácea, semelhante aos trevos. (PLANTASONYA, 2013). Muito conhecida na China por suas propriedades antipiréticas, desintoxicantes e diuréticas, é utilizada no tratamento de doenças como hepatites, disenteria e hidropsia (JIANGSU, 2002). QU et al. (2003) relatam sobre as atividades antimicrobianas e antiinflamatória da decocção e tintura da planta, relacionando ao n-butanol presente nos extratos de *Dichondra repens*. No Brasil, apesar de existir a planta, não é dada a devida atenção às suas propriedades medicinais.

Os óleos essenciais têm demonstrado inúmeras ações biológicas, porém não há muita atenção dedicada aos efeitos antibacterianos do óleo essencial de *Dichondra repens* (ARUNA; SIVARAMAKRISHNAN, 1996). As propriedades farmacológicas conhecidas estão diretamente ligadas aos 137 componentes químicos já identificados e alguns com a capacidade de difusão imediata através de membranas celulares (WU, 2009).

Em medicina veterinária e humana, *Staphylococcus aureus* é agente etiológico de diversas enfermidades que podem causar desde um simples prurido até a morte. Trata-se de um coco Gram positivo, catalase e coagulase positivos, capaz de fermentar o manitol, maltose e trealose com produção de ácido e capaz de produzir acetoína (QUINN, 2005). É uma bactéria que faz parte da flora normal de pele e mucosas, mas que apresenta potencial patogênico ao encontrar ambiente adequado para sua multiplicação. Tem importância também em saúde pública, pois pode ser transmitido por alimentos, incluindo o leite que não sofreu tratamento térmico adequado e também pela produção de enterotoxinas termoestáveis, que resistem aos tratamentos térmicos usualmente utilizados pela indústria (HOBBS & ROBERTS, 1999;).

Em medicina veterinária, é o principal responsável pela mastite em vacas leiteiras, enfermidade que mais causa prejuízos econômicos aos produtores de leite. Trata-se da inflamação da glândula mamária desses animais, que geralmente ocorre por causas infecciosas. A colonização no interior da glândula causa destruição do tecido secretor de leite e substituição por tecido fibroso. Por este motivo ocorre a queda na produção e na qualidade do leite, principal motivo pelas perdas econômicas, além do descarte de animais e gastos com tratamento (COSTA, 1998).

O presente estudo objetivou testar a sensibilidade de cepas de *S. aureus* isoladas de tanques resfriadores de leite em propriedades leiteiras a extratos etanólicos de *Dichondra repens* e determinar a sua concentração inibitória mínima para este micro-organismo.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas 38 cepas de *Staphylococcus aureus* previamente isoladas e caracterizadas de amostras de leite provenientes de tanques resfriadores de propriedades leiteiras da região sul do Rio Grande do Sul, e que compõe a bacterioteca do Laboratório de Bacteriologia e Saúde Populacional da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. As amostras, estocadas a temperatura inferior a -10°C em caldo enriquecedor BHI (Brain-Heart Infusion) acrescido de glicerina, foram semeadas em meio de cultura Agar-sangue contendo 5% de sangue ovino desfibrinado e as placas foram incubadas à 37°C durante 24 horas. Os isolados foram suspensos em 2 mL de solução salina estéril a 0,85% até atingir a turbidez ajustada a escala 0,5 de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ bactérias/mL).

As amostras de *Dichondra repens* (folhas, talos e raiz) foram coletadas no interior do município de Pelotas/RS, trazidas ao laboratório onde foram secas, trituradas e imersas em álcool 70°GL na proporção de uma parte da planta para 10 partes do álcool, onde permaneceu durante 15 dias sob temperatura de 37°C sendo agitada 3 vezes ao dia. A solução foi então filtrada e rotaveaporada para retirada do álcool e obtenção de seus compostos bioativos. A concentração da solução foi obtida através da diferença entre as pesagens de 2 gramas antes e depois de permanecer sob temperatura de 100°C durante 2 horas. A concentração obtida foi de 16%.

Em placas de 96 cavidades foram adicionados 50µL da solução acrescidos de 50 µL de caldo BHI, obtendo-se concentração 8%. Foram realizadas mais 3 diluições seriadas na base 2 utilizando-se como diluente água destilada estéril. Aos poços foram acrescentados 5µL das suspensões bacterianas. Como controle negativo foi utilizado apenas caldo BHI estéril e como controle positivo caldo BHI acrescido de suspensão bacteriana. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica à 37°C durante 24 horas e, após esse período, uma alíquota de 5µL de cada poço foi semeada em meio de cultura Agar-sangue ovino 5%. Foram consideradas sensíveis as cepas que não obtiveram crescimento após incubação das placas por 24 horas a 37°C . Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o software BioEstat versão 5.3 através do teste Qui-Quadrado com significância de 99%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram-se promissores quanto ao efeito antibacteriano de *Dichondra repens* frente à *S. aureus*, não havendo turvação do meio de cultivo contido nos poços das microplacas nem crescimento em Agar-sangue após exposição ao extrato etanólico da planta nas maiores concentrações testadas. O efeito antimicrobiano está relacionado aos componentes químicos presentes no extrato.

Segundo WU et al. (2009), o composto antimicrobiano natural contido no extrato de *Dichondra repens* é 6-(metilamino)fenantreno-3-ol e nos estudos realizados por DELAQUIS et al. (2002), foram relatados com efeitos antimicrobianos de alguns alcoóis de cadeia longa especialmente contra bactérias

Gram positivas e o composto denominado 3,7-dimetil-1,6-octadieno-3-ol, compostos esses presentes e identificados na composição química de *Dichondra repens*. WU et al. (2009) isolou 31 dos 137 componentes conhecidos da planta, o que representou 78,76% do total, sendo que 6-(metilamino)fenantreno-3-ol correspondeu a 17,41%.

Das 38 cepas testadas, 36 (94,7%) foram sensíveis aos extratos nas concentrações 8% e 4%, demonstrando boa eficácia nessas concentrações, não havendo diferença estatística entre elas. Já na concentração 2%, há a inversão dos valores, onde apenas duas cepas (5,3%) foram inibidas. Há diferença significativa entre as concentrações 2% e 4% ($p < 0,0001$) demonstrando que a concentração inibitória mínima de *S. aureus* frente ao extrato etanólico de *Dichondra repens* fica entre 2% e 4%. Na concentração de 1%, todas as cepas se apresentaram resistentes.

Em estudo semelhante, verificando a ação antibacteriana da planta através do método de disco difusão em Agar, onde discos impregnados com seu óleo essencial eram colocados em placas com meio de cultivo onde foram semeadas diversas bactérias e os halos de inibição do crescimento foi determinado pela eficácia do óleo essencial em sua ação antibacteriana, observou-se um grande halo de inibição contra *Bacillus diphtheriae* (23mm), ao passo que o halo formado pelo antibiótico cloromicetina foi de 25mm. Para os estreptococos β -hemolíticos os halos de inibição foram de 22mm e 25mm, respectivamente para o óleo essencial da planta e o antibiótico testado (WU et al., 2009). Os resultados apresentados corroboram com este estudo, demonstrando o potencial antibacteriano da planta.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados, conclui-se que o extrato etanólico de *Dichondra repens* (orelha de rato), é eficaz contra bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* e a concentração inibitória mínima foi de 4%. Porém, estudos subseqüentes devem ser realizados afim de confirmar as concentrações ótimas a serem utilizadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARUNA, K.; SIVARAMAKRISHNAN, V.M. **Phytother. Res.**, v.10, p-577,1996.
- COSTA, E.O. **Importância da mastite na produção leiteira do Brasil**. Revista de Educação Continuada do CRMV-SP., 1998.
- DELAQUIS, P.J.; STANICH, K.; GIRARD, B.; MAZZA, G.. **Journal of Food Microbiology**, v.74, p.101, 2002.
- HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiênicosanitário de alimentos**. São Paulo: Varela, 1999.
- JIANGSU New Medical College, Vol. I, **Dictionary of Chinese Materia Medica**, Shanghai Scientific and Technical Press, China, 2002, p. 269.
- PLANTASONYA. Orelha de rato (*Dichondra repens*). 2013. Acessado em 28 de setembro de 2013. Disponível em: <http://www.plantasonya.com.br/cultivos-e-cuidados/orelha-de-rato-dichondra-repens.html>.

QU, L.S.; ZENG, W.; XIE, D.; LIU, Y.M.; LIANG, G.Y. **Chin. J. Chin. Mater. Med.**, v. 4, p. 374, 2003.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K., CARTER, M.E. et al. (Eds). **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

WU, J.Z.; QIU, P.H.; LI, Y.; YANG, X.F.; LIN, L.; AI, C.C. Essential oil composition and antibacterial activity of *Dichondra repens*. **Chemistry of natural Compounds**, v.45, n.4, 2009.