

## SENSIBILIDADE DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE LEITE BOVINO AO ÓLEO ESSENCIAL DE DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*)

VIVIANE SEIXAS CARDOSO VIEIRA<sup>1</sup>; GONÇALVES, CAROLINA LAMBRECHT  
 DIANDE BENDER SCHIAVON, TÁSSIA GUIMARÃES<sup>5</sup>, RYAN NOREMBERG  
 SCHUBERT, LUIZ FILIPE DAMÉ SCHUCH<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – viviseixasvieira@live.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – carolina\_lamg@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – dianebalmeida@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas- tagogui@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas- ryannslp@yahoo.com.br

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas- bitoxu@ig.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

No contexto de sociedade moderna em que vivemos, cresce o interesse em grande parte da população por terapias alternativas e pelo uso de produtos naturais, mais especificamente aqueles derivados de plantas (RATES 2001; ALBUQUERQUE e HANAZAKI 2006; OLIVEIRA et al., 2007). As plantas medicinais na medicina veterinária tem um histórico milenar. Muitos estudos tem sido realizados usando as plantas e suas atividades biológicas, levando em consideração o conhecimento popular associado ao conhecimento científico (SCHUCH, 2008).

O emprego de plantas que possuam substâncias antimicrobianas é de grande importância no que se refere aos resíduos deixados pela medicação convencional em produtos de origem animal (BENEZ et al., 2002). A mastite bovina é uma doença que traz como consequência os maiores prejuízos econômicos à produção leiteira, devido a diminuição da quantidade e pelo comprometimento da qualidade do leite produzido, podendo acarretar a perda total da capacidade secretora da glândula mamária. É evidenciada pela inflamação mamária geralmente de caráter infeccioso, podendo ser classificada como clínica ou subclínica (CUNHA, et al., 2005).

Os principais produtos químicos usados na desinfecção de tetos e de teteiras são compostos halogenados, cloro, iodo, digluconato de clorexidine, aldeídos e compostos de amônia quaternária (LADEIRA, 1998).

Dentro da agropecuária ecológica tem se intensificado o uso de plantas com fins antimicrobianos na prevenção a mastite, assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) frente a bactérias isoladas de leite bovino.

### 2. METODOLOGIA

**Preparação do óleo essencial (OE):** As amostras foram obtidas a partir das folhas de *Rosmarinus officinalis* na Estação Experimental Cascata-Embrapa Clima Temperado. As plantas frescas foram extraídas utilizando o aparelho Clevenger, de acordo com a Farmacopéia Brasileira (2010), sendo armazenado à – 4°C.

**Isolados bacterianos:** A obtenção das amostras bacterianas ocorreu em uma unidade de produção leiteira comercial de Piratini. Estas, foram semeadas em meio de cultura Ágar sangue e incubadas a 37°C, por 24 e 48 horas, sendo observada a sua macro e micromorfologia, além da realização de provas bioquímicas. Em seguida, os microrganismos identificados como *Staphylococcus*

coagulase positiva (n = 2), *Staphylococcus* coagulase negativa (n = 2), *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) foram submetidos ao teste de sensibilidade ao OE de *R. Officinalis*. (QUINN et al, 1998).

Atividade antimicrobiana: A atividade antimicrobiana do OE de alecrim frente aos isolados bacterianos, foi observada a partir do método de diluição seriada, utilizando-se 8 diluições, nas 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  $10^6$  UFC / mL. A diluição do OE ocorreu em água destilada estéril (ADE) contendo 1% de *Tween* 20, em base logaritmo dois. Após a diluição dos OE e de adição do inóculo, os microorganismos foram mantidos a 37 ° C durante 48 h, sob agitação a 75 rpm. Os testes foram realizados em triplicata. A obtenção da Concentração Inibitória Mínima (CIM) ocorreu a partir da visualização da turvação referente à multiplicação do microorganismo, comparada aos controles positivo e negativo, sendo considerada como a menor concentração capaz de produzir inibição do crescimento bacteriano em relação ao controle positivo. Já a Concentração Bactericida Mínima (CBM), foi obtida através de uma alíquota de 5 µL de cada poço da microplaca, a qual foi semeada em placas contendo Ágar Sangue e incubadas por 24 h para observação do crescimento das bacteriano (NCCLS, 1997).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstram diferenças quanto a sensibilidade dos microrganismos analisados. As bactérias do gênero *Streptococcus* apresentaram os menores valores de CIM e CBM, com uma variação de 0,75% à 2,5% e de 0,8 à 2,5% do óleo essencial, respectivamente. Nas concentrações testadas, não foi observado sensibilidade por *Staphylococcus* spp, no entanto, ainda que, bactérias Gram negativas, sejam consideradas mais resistentes aos antimicrobianos em relação as Gram positivas, *E. coli* e *P. aeruginosa*, apresentaram uma concentração inibitória mínima de 2,5%, mostrando-se sensíveis ao óleo essencial de alecrim. Para GRIFFIN et al (1999) estes resultados pode ser explicados pela proteção parcial exercida pela membrana externa das bactérias Gram negativas, a qual é apontada por esta suposta resistência elevada.

LIMBERGER et al (2001), obteve das infusões realizadas a partir de folhas secas e frescas da planta, atividade antimicrobiana frente a Gram positivos e negativos,. Demais atividades biológicas tem sido atribuídos à esta espécie, como antioxidante, conservante (HENZ S.M.; SANTIN, N.C), apresenta propriedades estimulantes, antiespasmódicas, antissépticas e antifúngica, evidenciando sua capacidade medicinal (SIQUEIRA et al, 2011; LAHITTE et al., 1998; SIQUEIRA et al, 2010). Segundo (HENZ, S.M.; SANTIN, N.C) a *Salmonella* foi inibida com OE puro. Estes resultados sugerem a aplicação do óleo essencial de alecrim, no método de produção ecológica de leite, podendo contribuir na composição de alimentos com maior importância e desprovidos de resíduos químicos prejudiciais ao homem e ao meio ambiente, preservando o bem-estar animal, além de aprimorar os bens do produtor. (COMERÓN & ANDREO, 2000).

TABELA 1. Valores da CIM e CBM do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre bactérias isoladas de leite bovino.

BACTÉRIA	CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	≥5%	≥5%
<i>Staphylococcus coagulase</i> -	≥5%	≥5%
<i>Staphylococcus coagulase</i> +	≥5%	≥5%
<i>Staphylococcus coagulase</i> +	≥5%	≥5%
<i>Staphylococcus coagulase</i> -	≥5%	≥5%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,75%	0,8%
<i>Streptococcus uberis</i>	2,5%	2,5%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1%	0,8%
<i>Echerichia coli</i>	2,5%	3,2%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,5%	5%

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

#### 4. CONCLUSÕES

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

É importante ressaltar que a busca por antimicrobianos fitoterápicos se torna cada dia mais importante, considerando a resistência e toxicidade que os antimicrobianos sintéticos ocasionam.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, U.P, HANAZAKI, N 2006. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. Ver Brasileira Farmacogn 16 (Supl.): 678-689.

BENEZ, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, V.45, p.493-496, 1996.

BRASIL, Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasileira: ANVISA, 5° ed. São Paulo: Siqueira 2010, p.546 1V/II.

CAMERÓN, E.A; ANDREO, N.A. Produção industrialização e comercialização do leite orgânico na Argentina. In: **SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NO BRASIL**, 2, 2000; Goiânia. **Anais...** Tecnologias usadas pelos produtores de leite de Goiás e suas relações com questões de sustentabilidade e competitividade do segmento da produção. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, 2000.

CUNHA, A.P SILVA, da L.G. B; PINHEIRO, Jr.J.W; SILVA, D.R, OLIVEIRA, da F.A.A; SILVA, da K.P.C; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de agentes contagiosos e ambientais isolados de mastite clínica e subclínica de búfalas. Arq. Inst. Biol., São Paulo; v.73, n.1, p: 17-21; jan./mar.2006.

GRIFFIN, S.G.; WYLLIE, S.G.; MARKHAM, J.L.; LEACH, D.N. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. Flavour and Fragrance Journal. Oxford, v. 14, n. 5, p. 322-332, 1999.

LADEIRA, S.L. Mastite bovina. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C. Doenças dos ruminantes e equinos. Pelotas, Ed. Universitária/UFPEL. 2001. p. 248- 261.

LAHITTE, H.J; HURRELL, J.;BELGRANO, M.; JANKOWISKI, L.;HELOVA, P.; MEHLTRETE, K. Plantas medicinales Rioplantences, Buenos Aires: Editorial L.O.L.A, 1998.

LIMBERGER, RP ; SOBRAL, MEG ; ZUANAZZI, JAS ; MORENO, PRH ; SCHAPOVAL, EES ;HENRIQUES, AT. Biological activities and essential oil composition of leaves of *Blepharocalyx salicifolius*. Pharmaceutical Biology, 2001, Vol.39(4), pp.308-311.

LOGUERCIO, A.P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A.C.; HENZEL, A.; WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.2, p.371-376, 2005.

NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved

OLIVEIRA, F.Q.; GOBIRA, B.; GUIMARÃES, C.; BATISTA, J.; BARRETO, M.; SOUZA, M. 2007. Espécies vegetais indicadas na odontologia. Rev. Bras. Farmacogn 17. p. 466-476.

RATES, S.M.K 2001. Plants as Source of drugs. Toxicom 39: 603-613

SANDES, A. R.R; DI BLASI, G. Biodiversidade e diversidade química e genética. Biotecnol n. 13 p. 28-32, 2001.

SCHUCH, L.F.D.; WIEST, J.M.; COIMBRA, H.S.; PRESTES, L.S.; TONI, L. de.; LEMOS, J. dos S. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a micro-organismos relacionados à mastite bovina. Ciência Animal Brasileira, V. 9, n.1,p.161-169 jan./mar. 2008. .

VIVOT, EDUARDO P; SÁNCHEZ, CECILIA; CACIK, FRANCISCO; SEQUIN, CHRISTIAN. Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). Cienc. Docencia tecnol. n.45, 2012. p. 165-185