

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES EXTRAÇÕES HIDRALCOÓLICAS DE PLANTAS COM INDICATIVO ETNOGRÁFICO ANTISSEPTICO/DESINFETANTE

MOTA, F.V.¹; SCHUCH, L.F.D.*¹ ; PRESTES, L.S.¹; OYARZABAL, M.E.B.²; COIMBRA, H.S.¹; GONÇALVES, C.L.¹

RESUMO

A utilização de produtos naturais, eficazes e de baixo risco, na produção animal tem ganhado importância nos últimos anos. Assim, busca-se a utilização de plantas medicinais com indicativo etnográfico antisséptico/desinfetante no manejo da mastite bovina. Diferentes extratos hidralcoólicos de quatro plantas – *Baccharis trimera*, *Bidens pilosa*, *Eucalyptus sp.* e *Tagetes minuta* foram comparados quanto a sua atividade antibacteriana frente a 2 microrganismos causadores de mastite contagiosa (*S. aureus* e *S. agalactiae*). Foram obtidos extratos hidralcoólicos das plantas a partir de folhas frescas com álcool de cereais à 92,8^o e de folhas secas com álcool de cereais à 70^o e 50^o. A atividade antibacteriana de cada extrato foi medida pela capacidade de inativação de 10⁵-10⁶UFC/mL de cada bactéria, em três tempos de contato, 30 segundos, cinco e 20 minutos. Os resultados foram analisados por análise de variância e comparação entre médias utilizando o teste de Tukey com 95% de significância. Obteve-se efeito antibacteriano de extratos de todas as plantas. Para o *T. minuta*, o extrato de folhas secas com álcool à 70^o foi o mais efetivo (p<0,05) enquanto que para *Eucalyptus sp.*, o extrato obtido de planta fresca foi mais efetivo apesar da diferença não ser estatisticamente significativo. Para as outras duas plantas a forma de obtenção do extrato não apresentou diferença quanto ao efeito antibacteriano. Pode-se concluir que há maior atividade antibacteriana quando o extrato de *T. minuta* é obtido de folhas secas e do *Eucalyptus sp.* de folhas frescas.

1. INTRODUÇÃO

O homem extrai da natureza os recursos indispensáveis para a sua evolução, sendo as plantas medicinais de grande importância, devido a sua contribuição às práticas de cura de enfermidades e a promoção de saúde. Estudos vêm sendo realizados com intuito de comprovar a ação antimicrobiana de plantas utilizadas na cultura popular.

A medicina veterinária vem se apropriando dos benefícios da medicina tradicional, na tentativa de substituir o uso de antibióticos e outros químico-convencionais que, além do alto custo, causam danos tanto ao ambiente, quanto a saúde pública. Na busca de manter a produtividade, surgem na literatura publicações que visam validar os saberes tradicionais, dando enfoque as características culturais, econômicas e sociológicas dos agricultores familiares, aos quais os modernos métodos de produção não levam em conta (WANZALA et al. 2005).

¹ Laboratório de Doenças Infecciosas, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n, Capão do Leão, RS. CEP 96010-900. e-mail: bitoxu@ig.com.br

² Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS

Dentre os problemas de saúde que afetam o gado leiteiro, a mastite infecciosa é a enfermidade de maior relevância, devido à redução na produção de leite, perdas por descarte e mortes de animais e custos em tratamento. Para a prevenção das enfermidades, encontra-se a higienização do ambiente, dos equipamentos e antissepsia dos tetos pós-ordenha. O uso de extrato de plantas tem sido sugerido tanto para tratamento como para desinfecção de tetos (Schuch et al., 2007).

Extratos hidralcoólicos das folhas de *Baccharis trimera*, *Bidens pilosa*, *Eucalyptus sp.* e *Tagetes minuta* obtidos da flora local já foram demonstrados apresentarem atividade antibacteriana e antifúngica (Schuch, 2007; Schuch et al. 2008a; Schuch et al., 2008b). No presente trabalho objetivou-se comparar diferentes formas de obtenção do extrato hidralcoólico de folhas dessas quatro plantas, utilizando folhas secas e folhas verdes, além de diferentes concentrações de etanol.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Na realização deste trabalho, utilizaram-se quatro plantas com indicativo etnográfico antisséptico/desinfetante. As amostras de plantas foram coletadas no início do outono, numa área com raio de 1 km, a partir do ponto 31°39'13"S e 53°03'39'O, localizada no município de Piratini, Rio Grande do Sul, com altitude aproximada de 211 m. Quando necessário, a secagem foi realizada ao ar, em varais a sombra, protegido de insetos e de chuva.

Foram preparadas exsiccatas de cada planta, segundo Ming (1995), a identificação e a conservação foi realizada no herbário do Instituto de Ciências Biológicas da UFPel.

As plantas em estudo foram submetidas ao processo de extração hidroalcoólica, segundo a Farmacopéia Brasileira (1959) com adaptação necessária para realização do experimento. As folhas frescas foram trituradas e colocadas em álcool etílico de cereais à 92,8° GL, em não mais que 12 horas pós-colheita, enquanto as folhas secas foram extraídas em álcool etílico de cereais à 70° e 50°.

Para a realização dos testes de desinfecção, os extratos foram submetidos à destilação, utilizando um evaporador rotativo sob pressão reduzida. Todos os extratos após a extração foram rehidratados ao volume inicial com água estéril, mantendo assim a sua concentração inicial.

Como inóculo, foram utilizados *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* originados a partir da rotina de diagnósticos do Laboratório de Doenças Infecciosas, Departamento de Veterinária Preventiva, da Faculdade Federal de Pelotas, como bactérias relacionadas a mastite contagiosa dos bovinos.

As bactérias foram multiplicadas em Ágar sangue 24 horas antes da realização do experimento, re-suspensas em salina estéril à escala 2 de turvação de MacFarland e diluída 50x em salina, a fim de obter-se um inóculo entre 10⁵ e 10⁶ Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC/mL).

O experimento foi realizado submetendo-se as duas amostras bacterianas ao contato com as quatro soluções desinfetantes, durante 3 diferentes intervalos de tempo, 30 segundos, 5 e 20 minutos. Após cada tempo desejado, era retirada uma amostra de 0,1 mL de cada tubo, e transferida para outro tubo contendo 0,9 mL contendo solução neutralizante. Após

homogeneização, duas alíquotas de 0,1 mL foram semeadas em cada uma de duas placas de Ágar BHI, e incubadas por 24h à 37^oC. Para o experimento com *S. agalactiae*, foram utilizadas placas de Ágar BHI adicionado de 5% de plasma eqüino. Após, as UFC foram contadas em contador com lupa. Todo o experimento foi realizado em duplicata. O resultado foi expresso em índice de inibição conforme publicado (Schuch et al., 2008a). A comparação dos diferentes extratos de cada planta foi realizada por análise de variância e comparação entre médias utilizando o teste de Tukey com 95% de significância.

3. RESULTADOS

Todas as plantas testadas apresentaram atividade frente às duas bactérias. Nas Figuras 1 a 4, estão apresentadas as curvas de inativação das duas amostras testadas frente aos diferentes extratos. *Eucalyptus sp* não diferiu estatisticamente quanto a forma de preparo do extrato ($p>0,05$). Apesar disso, o extrato obtido de folhas frescas foi o único capaz de inativar totalmente o *S. aureus* aos 5 minutos. Todos os extratos inativaram *S. agalactiae* aos 30 segundos e o *S. aureus* aos 20 minutos. Com relação a *T. minuta*, todos os extratos inativaram o *S. agalactiae* em 30 segundos. Entretanto, houve diferenças significativas no efeito sobre *S. aureus* aos 5 e aos 20 minutos ($p<0,05$). O extrato de folha seca com álcool 70^o foi mais eficiente que o extrato produzido com álcool 50^o aos 5 minutos, e os dois foram melhores que o extrato de folha fresca nesses dois tempos ($p<0,05$).

Para a terceira planta avaliada, *B. trimeria*, não foi encontrada diferenças significativas entre os diferentes extratos em nenhum tempo e para nenhuma das duas bactérias. Aos 30 segundos, somente o extrato de folha fresca não inativou o *S. agalactiae*, enquanto que os três extratos só inativaram o *S. aureus* aos 20 minutos. Todos os extratos de *B. pilosa* apresentaram efeito fraco e semelhante sobre as duas bactérias.

4. DISCUSSÃO

A atividade antibacteriana de extratos de plantas tem sido amplamente demonstrada. Os resultados aqui apresentado confirmam resultados anteriores utilizando essas mesmas espécies de plantas, colhidas na mesma região em anos anteriores (Schuch et al., 2008a). Puderam ser constatadas diferenças na atividade antibacteriana dos diferentes extratos do *T. minuta* e, embora não estatisticamente significativa, do *Eucalyptus sp*. No primeiro caso, a planta seca foi mais ativa enquanto no segundo a planta fresca apresentou melhor atividade. É sabido que os principais constituintes antibacterianos do Eucalipto são óleos voláteis, podendo ser perdidos no processo de secagem, o que explica o melhor efeito da folha verde (Takahashi et al., 2004). Quanto ao *T. minuta* o resultado superior do extrato seco pode ocorrer por concentração dos componentes ativos e/ou por metabolização em constituintes mais potentes durante a secagem.

Essas informações são importantes para a utilização destes extratos com fins antibacterianos e devem ser incorporadas imediatamente ao processo de produção de extratos para essas plantas

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que o extrato de *T. minuta* produzido a partir de folhas secas com álcool 70^o e o extrato de *Eucalyptus* sp produzido a partir de folhas frescas, apesar de não estatisticamente significativo, possuem maior atividade antibacteriana que as outras formas de extração testadas neste trabalho. Para *B. trimera* e *B. pilosa* não foram encontradas diferenças entre as formas de extração para a variável testada.

Figura 1: Índice de inibição de três extratos hidralcoólicos de *Eucalyptus* sp frente a *S. aureus* e *S. agalactiae*

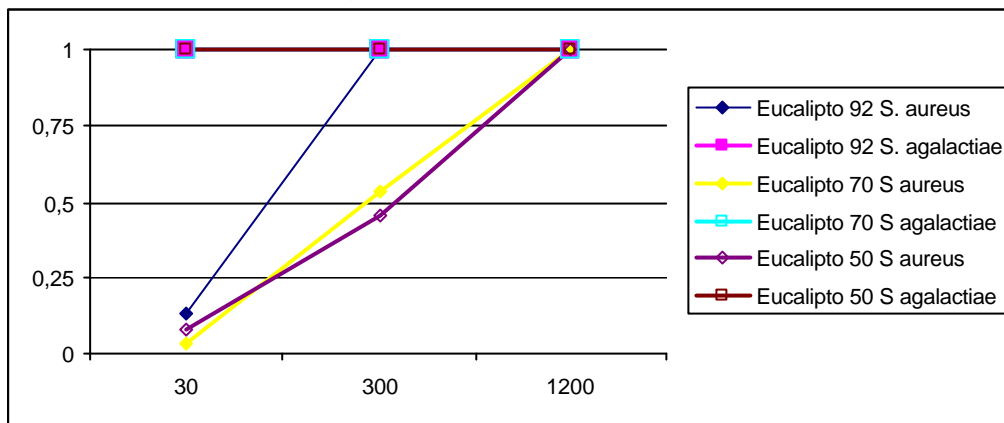


Figura 2: Índice de inibição de três extratos hidralcoólicos de *Tagetes minuta* frente a *S. aureus* e *S. agalactiae*

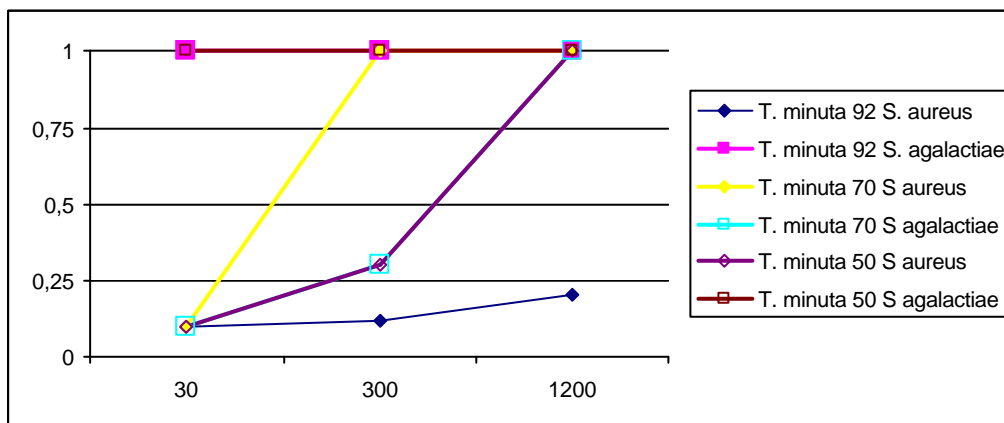


Figura 3: Índice de inibição de três extratos hidralcoólicos de *Baccharis trimera* frente a *S. aureus* e *S. agalactiae*

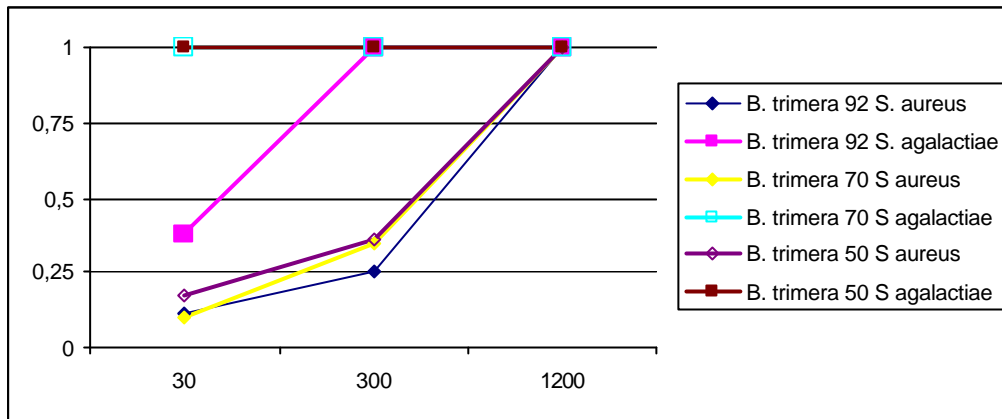
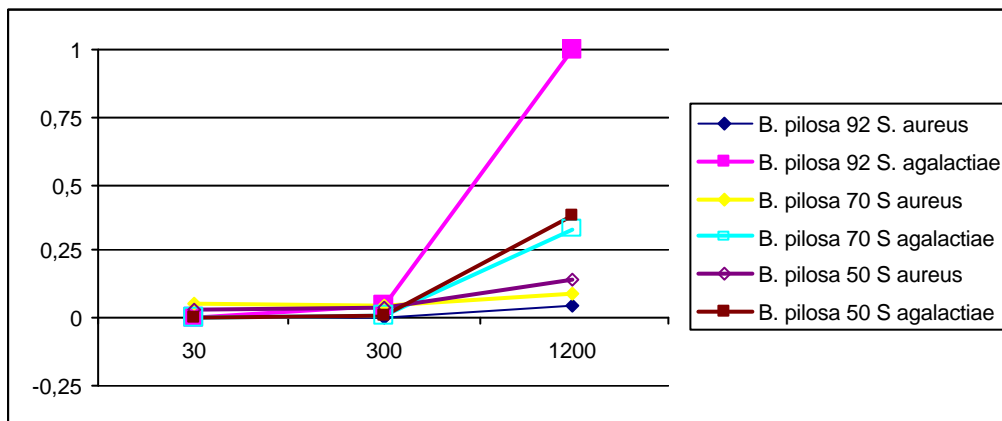


Figura 4.: Índice de inibição de três extratos hidralcoólicos de *Bidens pilosa* frente a *S. aureus* e *S. agalactiae*



6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2.ed. São Paulo: Siqueira, 1959. 610p.

MING, L. C. Coleta de plantas medicinais. *In*: DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: UNESP. 230p. p.69-86. 1995.

SCHUCH, L. F. D.. Plantas medicinais em atenção primária veterinária: atividade antimicrobiana frente a bactérias relacionadas com mastite bovina e com dermatófitos. Tese de Doutorado. PPG em Ciências Veterinárias, UFRGS. 256p. 2007.

SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L. S.; de Toni, L.; LEMOS, J. S.. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microorganismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira** (UFG), v. 9, p. 161-169, 2008a.

SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; GARCIA, E. N.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L. S.; SCHRAMM, R. C.; MEIRELES, M. C. A.. Atividades antifúngicas de extratos de plantas utilizadas por agricultores familiares como antimicrobiano. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, p. 34-42, 2008b.

TAKAHASHI, T.; KOKUBO, R.; SAKAINO, M. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculate*. **Letters Applied Microbiology**, Oxford, v. 39, p. 60-64. 2004.

WANZALA, W.; ZESSIN, K. W.; KYULE, N. M.; BAUMANN, M. P. O.; MATHIAS, E.; HASSANALI, A. Ethnoveterinary medicine: a critical review of its evolution, perception, understanding and the way forward. **Livestock Research for Rural Development**, Cali, v. 17, artigo 117. 2005. <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/11/wanz17119.htm>. Acesso em: 07/01/2007.