

## Capítulo 4

### Seleção de extratos vegetais do Cerrado com efeito antagonista sobre *Pseudomonas* spp.

Rayane Patrícia Silva\*<sup>1</sup>; Roberta Torres Careli<sup>2</sup>; Izabella Carolina de Oliveira Ribeiro<sup>3</sup>; Francielle Patrícia Evangelista Mendes<sup>1</sup>; Eduardo Robson Duarte<sup>4</sup>

#### Resumo

O objetivo deste estudo foi selecionar extratos vegetais com atividade antibacteriana frente a estirpe de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e duas estirpes de *Pseudomonas* spp. isoladas de setores de ordenha bovina. Segundo o teste de *Lilliefors* os resultados apresentaram normalidade e indicou estatística do tipo paramétrica, considerando o teste de *Tukey* a significância de 5% no programa estatístico SAEG. Os resultados mostram que, dos 14 extratos vegetais estudados, cinco apresentaram efeito sobre a estirpe padrão. Observou-se que, para os isolados de ICA e Bengo, três extratos tiveram ação bacteriana inibitória. Pode-se verificar que os extratos etanólico e aquoso de *Schinopsis brasiliensis* (Pau preto) são os mais eficientes para inibir estirpes de *Pseudomonas* provenientes de ambientes de ordenha bovina.

**Palavras-chave:** Atividade antibacteriana. Ordenha bovina. Plantas do Cerrado.

#### Introdução

O controle da contaminação microbiana em equipamentos e utensílios utilizados no setor de ordenha bovina é um grande desafio. Dessa forma, a busca por novos compostos com capacidade de higienizar as superfícies que entram em contato direto com o leite tornou-se uma nova e ampla área de pesquisa.

É extremamente importante que o leite cru seja obtido em condições higiênicas adequadas para diminuir a contaminação inicial (CEPPA, 2010). A má qualidade do leite cru e por consequência, dos leites pasteurizado e esterilizado, assim como de derivados, está relacionada a fatores como deficiências no manejo e higiene da ordenha, índices elevados de mastite, manutenção e desinfecção

---

<sup>1</sup> Graduada em Engenharia de Alimentos, Instituto de Ciências Agrárias/UFMG

<sup>2</sup> Professora Associada, Instituto de Ciências Agrárias/UFMG

<sup>3</sup> Doutoranda em Ciências Veterinárias/UFLA

<sup>4</sup> Professor Associado, Instituto de Ciências Agrárias/UFMG

\*Autora para correspondência: rayaneppsilva@gmail.com

inadequadas dos equipamentos, refrigeração ineficiente ou inexistente e mão de obra desqualificada, entre outros (SANTANA *et al.*, 2001).

*Pseudomonas* spp. é o gênero microbiano mais prevalente utilizado como parâmetro para avaliar a qualidade do leite, além de apresentar espécies capazes de produzir enzimas extracelulares resistentes às temperaturas comumente utilizadas no processamento térmico de leite e derivados, causando deterioração do leite (FORSYTHE, 2002).

De acordo com Novais *et al.* (2003), nos últimos anos, a resistência de microrganismos patogênicos a múltiplas drogas tem aumentado devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, comumente comercializados e usados no tratamento de doenças infecciosas. Essa situação tem forçado os cientistas à busca de novas drogas. Os vegetais são uma excelente opção, porém, apenas recentemente as plantas tornaram-se objeto de estudo científico no que indica às suas variadas propriedades medicinais, inclusive quanto à atividade antibacteriana, tendo em vista que a diversidade molecular dos produtos naturais é superior àquela derivada dos processos de síntese química.

Este estudo teve como objetivo selecionar diferentes extratos de espécies vegetais provenientes do cerrado do Norte de Minas Gerais com atividade antibacteriana frente a estirpes de *Pseudomonas* spp. isoladas de ambientes de ordenha bovina.

## Material e métodos

Os experimentos foram realizados no laboratório de Microbiologia Aplicada do Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), campus Montes Claros, Minas Gerais. Foram avaliadas duas estirpes de *Pseudomonas* spp. isoladas de amostras de leite cru de tanques de refrigeração dos setores de ordenha da Fazenda Experimental do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG e do município de Bengo, ambos localizados na região Norte de Minas Gerais. Além das estirpes selvagens, avaliou-se uma cultura padrão de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Foram utilizados 14 extratos vegetais de *Annona crassiflora* Mart. (Panã), *Caryocar brasiliense* Cambess (Pequi), *Casearia sylvestris* Sw (Cocão), *Paullinea* sp., *Piptadenia viridiflora* (Kunth) Benth (Surucucu), *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Pau preto) e *Ximenia americana* L. (Ameixa do Cerrado), sendo sete extratos vegetais etanólicos e sete extratos vegetais aquosos de plantas coletadas na cidade de Montes Claros, MG. Os extratos aquosos foram produzidos, adicionando-se 100mL de água destilada a 10 g de cada espécie vegetal e aquecidos em banho-maria a 40 °C durante 60 minutos. Os extratos etanólicos foram obtidos submergindo 100 g do material

vegetais em 1000 mL de etanol PA. Em recipientes de vidro âmbar, conservados em local escuro em temperatura ambiente durante dez dias (NERY *et al.*, 2010, com modificações). A atividade *in vitro* dos extratos sobre as estirpes bacterianas foi determinada segundo metodologia proposta por NCCLS (2003). Os extratos foram ressuspensos em 1 mL de água destilada estéril para 0,1 g de extrato utilizado. Inóculos de cada estirpe foram preparadas com suspensão direta, em solução salina esterilizada, proveniente de colônias anteriormente crescidas em ágar para a contagem de microrganismos em placas (PCA). A suspensão foi ajustada até a turbidez coincidir com a solução padrão de McFarland 0,5.

Em placas contendo ágar Mueller Hinton, foram inoculados 200 µL com a solução do inóculo e espalhada com o auxílio de swabs esterilizados. Sobre a superfície do ágar inoculado foram colocados discos ( $\emptyset = 6$  mm) de papel filtro esterilizados a 121 °C por 15 minutos, previamente embebidos com a solução dos extratos. As placas foram incubadas a 35 °C e após 24 horas os halos de inibição foram medidos em mm (NCCLS, 2003). Esse experimento foi conduzido segundo um delineamento inteiramente casualizado com três repetições por tratamento. As análises estatísticas (testes de *Liliefors* e *Tukey*) foram realizadas a 5% de probabilidade e todos os resultados foram analisados pelo Sistema de Análises Estatísticas – SAEG versão 9.0 (RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

## Resultados e discussão

Nos testes de atividade antimicrobiana *in vitro* realizados para a seleção dos extratos vegetais foram obtidos valores médios de halos de inibição variados. Os resultados encontram-se na Tabela 1.

Os resultados mostram que, dos 14 extratos vegetais estudados, cinco apresentaram efeito sobre a estirpe Padrão. Observou-se que, para as isoladas de ICA e Bengo, três extratos tiveram ação bacteriana inibitória (Tabela 1).

Ao analisar os dados da atividade antibacteriana *in vitro* dos diferentes extratos de Pequi, observou-se um efeito inibitório menos significativo ( $P < 0,05$ ) com relação aos extratos de pau preto. Isso foi comprovado pelos halos de inibição de *P. aeruginosa* com diâmetros de 7,6 mm, 8,3 mm e 14,6 mm para extratos etanólico de pequi com flor e extratos aquosos de pequi com fruto e pequi sem flor e sem fruto, respectivamente (Tabela 1). Quanto às estirpes isoladas de leite cru, verificou-se que apenas os extratos etanólico de pequi com flor e aquoso com fruto possuem algum efeito inibitório (Tabela 1). Dessa forma, a maioria dos extratos de pequi não apresentaram eficiência contra as estirpes de *Pseudomonas* isoladas de ambientes de ordenha bovina.

Paula-Júnior *et al.* (2006) comprovaram os efeitos do extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocar brasiliense* Cambess (pequi) sobre estirpes de bactérias patogênicas Gram-positivo e Gram-negativo. Os autores observaram que este extrato foi responsável pela inibição de crescimento das bactérias estudadas, sendo a maior atividade antibacteriana observada contra *P. aeruginosa* nas concentrações entre 1,5 e 2,0 mg/ mL.

Tabela 1 - Médias de halos de inibição (mm) obtidas pela ação de diferentes extratos vegetais frente a estirpes padrão de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e de *Pseudomonas* spp. isoladas do leite cru de tanques de refrigeração de propriedades rurais do ICA e do município de Bengo na região de Montes Claros, MG.

Extratos vegetais	Estirpes de <i>Pseudomonas</i>		
	Padrão	ICA	Bengo
Panã etanólico	0 D	0 B	0 D
Panã aquoso	0 D	0 B	0 D
Pequi com flor etanólico	7,6 C a	0 B b	7,6 C a
Pequi com fruto aquoso	8,3 C a	2,3 B b	0 D b
Pequi sem flor e sem fruto aquoso	14,6 B a	0 B b	0 D b
Pequi com casca branca aquoso	0 D	0 B	0 D
Pequi com folha aquoso	0 D	0 B	0 D
Pequi casca verde aquoso	0 D	0 B	0 D
Cocão etanólico	0 D	0 B	0 D
<i>Paullinea</i> sp. Etanólico	0 D	0 B	0 D
Surucucu etanólico	0 D	0 B	0 D
Pau-preto aquoso	15,0 B a	16,0 A a	14,6 B a
Pau-preto etanólico	17,0 A a	13,0 A b	17,0 A a
Ameixa do cerrado etanólico	0 D	0 B	0 D

Fonte: Dos autores, 2019.

Nota: Médias seguidas por letras diferentes, minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

De acordo com os dados da Tabela 1, verificou-se que o extrato etanólico de pau preto apresentou maior ação inibitória sobre as estirpes padrão e Bengo (P>0,05). Assim, o extrato etanólico de pau preto foi o mais eficiente para tais estirpes, diferindo estatisticamente da estirpe ICA (P<0,05). Os resultados dos halos de inibição da estirpe ICA mostraram uma sensibilidade a ambos os extratos

de pau preto. Ao avaliar o extrato aquoso de pau preto, foi verificada uma eficiência antibacteriana equivalente ( $P > 0,05$ ) para as três estirpes de *Pseudomonas* (Tabela 1).

Silva *et al.* (2012) apresentaram resultados semelhantes em que o extrato hidroalcoólico da planta *Schinopsis brasiliensis* (Pau preto), mostrou uma maior atividade frente *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Isso confirmou que a atividade antibiofilme testada por este autor, pode estar relacionada com a maior proporção de taninos e flavonóides na planta (SIQUEIRA *et al.*, 2012).

A sensibilidade de diferentes microrganismos testados a extratos etanólico e aquoso de pau preto também foi testada por outros autores, os quais confirmaram que a presença de taninos e flavonóides seriam as substâncias ativas responsáveis pela maior eficiência antibacteriana (PESSINI *et al.*, 2003; VIRTUOSO *et al.*, 2005).

## Conclusão

Neste estudo pode-se verificar que os extratos etanólico e aquoso de *Schinopsis brasiliensis* (pau preto) são os mais eficientes para a inibição das estirpes de *Pseudomonas aeruginosa* e de *Pseudomonas* isoladas de leite cru produzido em propriedades rurais do Norte de Minas Gerais.

## Referências

- CEPPA, B. Avaliação higiênico-sanitária do leite produzido em Umuarama (Paraná). **Sistema Eletrônico de Revistas**, Curitiba, v. 28, n.2, p. 271-280, 2010.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Editora Artmed, 2002. 357 p.
- NCCLS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
- NERY, P. S. *et al.* Effect of *Anacardium humile* on the larval development of gastrointestinal nematodes of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 171, n. 1, p. 361-364, 2010.
- NOVAIS, T. S. *et al.* Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 2, p. 5-8, 2003.
- PAULA-JÚNIOR, W. *et al.* Leishmanicidal, antibacterial, and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* Cambess leaves hydroethanolic extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 625-630, 2006.
- PESSINI, G. L. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 24-27, 2003.
- RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. 301 p., 2001.

- SANTANA, E. H. W. *et al.* Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção. I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos. **Ciências Agrárias**, v. 22, n. 2, p. 145-154, 2001.
- SILVA, M. S. P. *et al.* Study Bioprospecting of Medicinal Plant Extracts of the Semiarid Northeast: Contribution to the Control of Oral Microorganisms. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2012, p.1-6, 2012.
- SIQUEIRA, C. F. Q. *et al.* Levels of tannins and flavonoids in medicinal plants: evaluating bioprospecting strategies. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-7, 2012.
- VIRTUOSO, S. *et al.* Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.2, p.137-142, 2005.