

APLICAÇÕES DE EXTRATOS DE *Mentha gracilis* EM BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MASTITE BOVINA

FINKLER, Fabrine¹; POSSENTI, Cecília Gabriela Rubert²; CAMERA, Leticia³; DIAZ, Jorge Damián Stumpfs⁴; BORTOLOTTI, Josiane Woutheres⁵; GARLET, Tânea Maria Bisognin⁶; SPEROTTO, Vitor da Rocha⁷.

Palavras-chave: planta aromática, atividade antibacteriana, *Staphylococcus aureus*.

Introdução

A etnoveterinária busca resgatar os saberes tradicionais, da utilização de plantas medicinais na medicina veterinária, estabelecendo uma conexão entre o saber científico (SEVILLA-GUZMAN, 2001; LEBEL, 2003; WANZALA et al., 2005). O estabelecimento de agroecossistemas nesta perspectiva passa pelo resgate das práticas tradicionais e a construção participativa de alternativas sustentáveis de produção de base ecológica. Assim, a obtenção de leite em quantidade e qualidade depende de soluções para os problemas sanitários dos rebanhos através de alternativas sustentáveis entre os recursos naturais renováveis, em que o uso de plantas medicinais apresenta grande potencial (CAPORAL; COSTABEBER, 2002).

Segundo Radostits et al. (2002) a inflamação da glândula mamária, ou mastite, é a enfermidade de maior frequência no gado leiteiro, e é considerada uma doença que proporciona as maiores perdas econômicas na produção de leite. No Brasil, em função da alta prevalência de mastite nos rebanhos, estima-se que possa ocorrer perda de produção entre 12 e 15%. Nesse cenário, o *S. aureus* destaca-se como o microorganismo causador de mastite subclínica contagiosa de maior importância, enquanto *E. coli* representa a principal enterobactéria causadora de mastite ambiental clínica. (ZECCONI; HAHN, 2000; FONSECA; SANTOS, 2000). Segundo Pedrini e Margatho (2003) o uso de clorexidina possui papel de destaque como soluções antissépticas adequadas para redução da mastite, contagiosa e ambiental, podendo ser utilizado na concentração de 0,5%. Entretanto, devem-se avaliar as praticidades e as limitações de cada desinfetante, dado que o uso inadequado ou baixas concentrações de químicos antimicrobianos levam a uma seleção natural de cepas resistentes em uma população microbiana. Assim, o uso apropriado de agentes

¹ Médica Veterinária da Universidade de Cruz Alta. Email: fabrola@yahoo.com.br

² Bióloga da Universidade de Cruz Alta. Email: ceciliapossenti@yahoo.com.br

³ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta. Email:

⁴ Médico Veterinário Doutor da Universidade de Cruz Alta. Email: jorgestumpfsdiaz@hotmail.com

⁵ Farmacêutica Mestre da Universidade de Cruz Alta. Email: josianebortolotto@yahoo.com.br

⁶ Bióloga Doutora da Universidade de Cruz Alta. Email: taneagarlet@hotmail.com

⁷ Médico Veterinário Mestre da Universidade de Cruz Alta. Email: vitorsperotto@gmail.com

desinfetantes tem como objetivo reduzir suficientemente a população de microrganismos patogênicos e evitar o potencial de disseminação de enfermidades. Como não existe um agente desinfetante ideal, deve-se ter em mente algumas considerações para a escolha do desinfetante apropriado, tais como possuir amplo espectro de ação; ser atóxico e não irritante aos tecidos humano e animal; apresentar estabilidade na pele e ter custo acessível.

Nesse sentido a utilização de produtos fitoterápicos de *Mentha*, ou hortelã, pode tornar-se útil, pois essas plantas produzem substâncias antimicrobianas, conhecidos como óleos essenciais, que são metabólitos secundários, e sua composição influenciada por fatores ambientais como, o fotoperíodo, temperatura do ar e a nutrição da planta, sendo que as espécies aromáticas de *Mentha* diferem na quantidade e na qualidade do óleo essencial (WATANABE et al., 2006; PAULUS et al., 2007).

Entre os constituintes químicos da planta destacam-se o mentol e a mentona, com propriedades odoríferas mentoladas; linalol, carvona e pulegona possuindo atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos patogênicos e ação biológica atuando como repelente de moscas das frutas, larvas de insetos e contra o vetor da dengue hemorrágica. *Mentha x gracilis* Sole possui óleo essencial rico em monoterpenos, conferindo propriedades aromáticas, condimentares, ornamentais, antimicrobianas e medicinais (GARLET, 2007; MATOS, 2000; SIMÕES et al., 1995; WATANABE et al., 2006).

Materiais e métodos

Foi utilizada uma espécie de *Mentha* com indicativo etnográfico anti-séptico/desinfetantes, *Mentha x gracilis* Sole frente às bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* causadoras de mastite bovina. A escolha das espécies veio ao encontro da disponibilidade das plantas a ser adquirida no Jardim de Plantas Medicinais da Universidade de Cruz Alta – UNICRUZ, cuja coleta foi realizada em quantidade suficiente para concretizar a pesquisa.

Foram realizados extratos hidroalcoólicos (EHA) das plantas segundo a Farmacopéia Européia. Os extratos foram obtidos pela maceração de 100g de planta seca em 700 ml de álcool 70% e 100g de planta in natura em 700 ml de álcool 50% onde permaneceram durante trinta dias em um frasco âmbar e protegido da luz. Uma semana antes do uso do extrato no experimento, parte desses filtrados foram submetidos à destilação fracionada em rota-evaporador à pressão reduzida para extração do álcool.

Após a extração, procedeu-se a re-hidratação com água destilada reconstituindo a concentração original do extrato; a concentração de diluição utilizada foi de 1mg/ml às plantas (GONÇALVEZ, 1990).



B) *Mentha x gracilis*

Para avaliação do efeito antibacteriano no experimento foram utilizadas amostras a campo de dois microrganismos causadores de mastite bovina da região do Alto Jacuí/RS: o *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Estas amostras foram isoladas, identificadas e liofilizadas no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UNICRUZ. A amostra-padrão desses microrganismos originalmente obtidos de outras fontes foram o *S. aureus* (ATCC 25923) e *E. coli* (ATCC 25922) que se encontravam liofilizadas e mantidas em freezer.

Para testar a atividade antimicrobiana das Menthas a técnica de Pour Plate foi utilizada. Para a realização desta técnica 4 tratamentos foram utilizados: Tratamento 1 (T1) utilizando bactérias e agar MH – grupo controle; Tratamento 2 (T2) utilizando as bactérias em contato com o extrato das diferentes Menthas e agar MH; Tratamento 3 (T3) utilizando as bactérias em contato com o extrato das diferentes Menthas, agar MH, lecitina e tween; Tratamento 4 (T4) utilizando as bactérias em contato com clorexidina, agar MH, lecitina e tween – controle negativo.

Resultados e discussão

Tabela 01 - Resultados (em duplicata) do experimento utilizando os diferentes tratamentos com a planta *in natura* de *M. gracilis* e as bactérias

Tratamento / Bactérias	<i>E. coli</i> ATCC	<i>E. coli</i> MASTITE	<i>S. aureus</i> ATCC	<i>S. aureus</i> MASTITE
T1	1.170.000.000 (1,17x10 ⁹)	1.160.000.000 (1,16x10 ⁹)	308.000.000 (3,08x10 ⁸)	398.000.000 (3,98x10 ⁸)
T1	1.010.000.000 (1,01x10 ⁹)	1.620.000.000 (1,62x10 ⁹)	289.000.000 (2,89x10 ⁸)	372.000.000 (3,72x10 ⁸)
T2	540.000.000 (5,4x10 ⁸)	1.030.000.000 (1,03x10 ⁹)	0	0
T2	740.000.000 (7,4x10 ⁸)	990.000.000 (9,9x10 ⁸)	0	0
T3	1.930.000.000 (1,93x10 ⁹)	840.000.000 (8,4x10 ⁸)	0	0
T3	1.710.000.000 (1,71x10 ⁹)	860.000.000 (8,6x10 ⁸)	0	0
T4	0	0	0	0
T4	0	0	0	0
A	0	0	0	0
A	0	0	0	0

T₁= bactérias + agar Mueller Hinton.

T₂= bactérias + extrato de *M. gracilis* + agar Mueller Hinton.

T₃= bactérias + extrato de *M. gracilis* + agar Mueller Hinton, Lecitina e Tween.

T₄= bactérias + clorexidina + agar Mueller Hinton, Lecitina e Tween.

A = extrato de *M. gracilis* + agar Mueller Hinton

A essência da planta *Mentha x gracilis*, na forma *in natura*, é eficaz na ação contra bactérias causadoras de mastite bovina, pois reduziu significativamente as UFC (Tab. 01), principalmente para as bactérias *S. aureus*, nos quatro tipos de tratamentos. Nos testes com *S. aureus* ocorreu sucesso nos tratamentos T₂, T₃ e T₄ (Tab. 01) o que demonstra a eficiência do tratamento para esta bactéria, que não apresentou diferença para o tratamento com o extrato e com a clorexidina, por isso, acredita-se que esta forma da planta possa ser mais ativa.

Neste experimento, as placas de *S. aureus* ATCC 25923, testadas com os extratos *in natura* de *Mentha x gracilis*, não apresentaram nenhuma UFC, o que evidencia que os extratos desta planta foram eficientes com estas bactérias. Estes resultados corroboram as informações reportadas por outros autores (Deans e Ritchie, 1987; Dorman e Deans, 2000) a respeito da tendência de maior resistência a extratos vegetais em microrganismos Gram-positivos. Em outros relatos, porém, foi observada maior susceptibilidade de microrganismos Gram-positivos a óleos essenciais (Smith-Palmer et al., 1998). Gonçalves et al. (2005) testaram extratos hidro-alcoolicos de 17 espécies vegetais no controle de *S. aureus* e verificaram que para sete destes extratos, a bactéria apresentou-se resistente, demonstrando sensibilidade para os demais.

Conclusão

Neste experimento, as placas de *S. aureus* ATCC 25923, testadas com os extratos *in natura* de *Mentha x gracilis*, não apresentaram nenhuma UFC, o que evidencia que os extratos desta planta foram eficientes com estas bactérias.

Referências

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. Construindo uma nova extensão rural no Rio Grande do Sul. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v. 3, n. 4, p. 10-15, 2002.

GARLET, T. M. B. Produtividade do óleo essencial de espécie de *Mentha* L. (Lamiaceae) cultivadas em hidroponia com variação de potássio. 2007. 112 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – **Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, 2007.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4ª ed. São Paulo: Atheneu Editora Ltda., 1988.

GONÇALVES, D. **Química orgânica experimental**. São Paulo: McGraw-Hill, p.60-64, 1990.

LEBEL, J. **Health: an ecosystem approach**. Ottawa, Canadá: IDRC, 2003. 85 p.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2. ed. Fortaleza: UFC, p. 346, 2000.

PAULUS, D. et al. Teor e qualidade do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) produzida sob cultivo hidropônico e em solo. **Revista Brasileira e Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 9, n. 2, p. 80-87, 2007.

PEDRINI, S.C.B.; MARGATHO, L.F.F. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.4, p.391-395, out./dez., 2003.

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica Veterinária: Um tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Caprinos e Equinos**. 9º Ed, Rio de Janeiro-RJ: Guanabara Koogan, p.676-683, 2002.

SEVILLA-GUZMAN, E. **Uma estratégia de sustentabilidade a partir da agroecologia**. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v. 2, p. 35-45, 2001.

SIMÕES et al. **Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul**. 4. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do RS, 1995.

WANZALA, W. et al. Ethnoveterinary medicine: a critical review of its evolution, perception, understanding and the way forward. **Livestock Research for Rural Development**, v. 17, 2005.

WATANABE, C. H. et al. Extração do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 76-86, 2006.

ZECCONI, A.; HAHN, G. Staphylococcus aureus in raw milk and human health risk. **Bulletin of IDF**, v.345, p.15- 18, 2000.