



RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS COMO INSUMO SANITÁRIO PARA PRODUÇÃO ANIMAL AGROECOLÓGICA: ATIVIDADE DE EXTRAÇÕES DE *Achyrocline satureioides* DC. – ASTERACEAE (“MACELA”) SOBRE *Staphylococcus aureus* PADRÃO E CEPA METICILINA RESISTENTE (MRSA)

RENEWABLE NATURAL RESOURCES AS INPUT FOR HEALTH IN AGROECOLOGICAL ANIMAL PRODUCTION: ACTIVITY OF EXTRACTIONS OF *Achyrocline satureioides* DC. - ASTERACEAE ON STANDARD *Staphylococcus aureus* AND STAIN METHICILLIN RESISTANT (MRSA)

¹BOTH, Jane Mari Corrêa; ²OLIVEIRA, Ellusa Assunção de; ¹MACIEL, Mônica Jachetti;

¹CAMPOS, Felipe; ¹DEBRES, Tainá ; ³AVANCINI, César Augusto Marchionatti³

¹Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)- janeboth@gmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas (PPGA) - Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva - Faculdade de Veterinária (UFRGS)- cesar.avancini@ufrgs.br

INTRODUÇÃO

O gênero *Staphylococcus aureus* por ser espécie não específica pode ser encontrado em diversas espécies de animais domésticos, o que contribui significativamente na manutenção do ciclo das enfermidades transmissíveis comuns entre humanos e animais. Além de sua alta patogenicidade, provocando infecções localizadas (como o exemplo da mastite) ou sistêmicas (em septicemias), tem evoluído em mecanismos de resistências a antibióticos. Os *S. aureus* meticilina resistentes (MRSA) (KADLEC et al., 2009) estão envolvidos em infecções nosocomiais (HA-MRSA), em infecções adquiridas na comunidade (CA- MRSA) e em infecções nos animais de companhia e nos de produção (LA-MRSA).

Medida sanitária adotada na prevenção e controle das infecções, além do uso de antibióticos, é prescrita para agir sobre os micro-organismos em vida livre, quando a fonte de infecção é o ambiente, em superfícies, sejam hospitalares ou de produção animal, que possam servir de meio de transmissão do agente causal para hospedeiros saudáveis. O procedimento de redução, ou mesmo de eliminação, dos agentes morbígenos em superfícies inanimadas ou vivas é denominado desinfecção e antisepsia (DF-AS).

O sistema de produção animal agroecológico, para ter seus produtos certificados como orgânicos, precisa cumprir o estabelecido na Instrução Normativa nº 46, do MAPA (BRASIL, 2011), cujo anexo II lista a relação de substâncias permitidas na prevenção e tratamento de enfermidades dos animais orgânicos. Entre elas é permitido o uso de fitoterápicos e extratos vegetais, o que reforça pesquisas que vem sendo desenvolvidas na busca de recursos naturais renováveis/insumos sanitários antimicrobianos de origem vegetal em plantas nativas no sul do Brasil (UFRGS, 2013).

A *A. satureioides* ("macela") é planta nativa no Rio Grande do Sul, tradicionalmente considerada medicinal, e investigações científicas relataram ação anti-inflamatória, antiespasmódica, analgésica e sedativa dos extratos das inflorescências, das folhas e caules. Mostraram também que os extratos testados não apresentaram toxicidade excessiva. Análises fitoquímicas informaram a presença de flavonóides nos extratos polares desta planta, sendo a eles atribuídos a causa de muitos dos relatos de atividade biológica (SIMÕES et al., 1989). A planta foi selecionada para, nessa investigação, avaliar sua atividade antimicrobiana baseado em pesquisa etnográfica - etnomedicina veterinária - realizado por Avancini e Wiest (2008) tendo teste de triagem (*screening*) evidenciado sua atividade frente bactérias de referência. Outros trabalhos



igualmente evidenciaram essa atividade sobre bactérias padronizadas, como Fernandes et al., (2003), e mesmo sobre isolados de mastite bovina (SPEROTTO et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi o de verificar quantitativamente a atividade bioativa desinfetante da solução extrato hidroalcoólico reidratado e solução decocto de *A. saturoides* sobre *Staphylococcus aureus* padrão e cepa meticilina resistente.

MATERIAL E MÉTODO

O acesso de *Achyrocline saturoides* DC.- Asteraceae (“macela ou marcela”), foi adquirido do Sítio Apiquarius, de Gramado /RS, cultivado em sistema de permacultura. Exsicata da planta está depositada no herbário do Instituto de Biociências da UFRGS, sob o número ICN 124895.

As partes utilizadas foram os capítulos florais. Nas extrações usou-se a proporção de 5 g das inflorescências para 100 mL de solvente. Para o extrato hidroalcoólico as inflorescências foram maceradas por 15 dias em álcool etílico 70° GL e após filtração o produto foi submetido à evaporação com pressão reduzida, em banho-maria, na temperatura menor que 60 °C, em evaporador rotativo, desprezando-se a porção alcoólica, reidratando com água destilada estéril até completar o mesmo volume obtido na filtração. O decocto foi obtido submetendo as inflorescências à cocção com água destilada, em frasco Erlenmeyer, com fogo brando por 15 minutos, filtrado, repondo-se o volume inicial perdido na evaporação (FARMACOPÉIA, 1959).

Os micro-organismos utilizados foram a amostra de referência *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e uma cepa *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA). Para padronizar a densidade populacional inicial do inóculo para os testes de sensibilidade, foi usado um controle de turbidez equivalente a uma solução padrão McFarland de 0,5 (suspensão contendo 10^7 a 10^8 UFC/mL). A confrontação das extrações foram feitas com três diluições logarítmicas dos inóculos (10^7 , 10^6 e 10^5 UFC/mL).

O método de avaliação foi o de diluição, pelo Teste de Suspensão Quantitativo para Avaliar Atividade Bactericida de Desinfetantes e Antissépticos Químicos (BS, 2006).

Após testes pilotos, o extrato hidroalcoólico foi testado nos tempos de contato de 1, 2, 3 e 4 horas, e o decocto nos tempos de 8 e 24 horas, quando de cada tubo de confronto extração *versus* inóculo 1,0 mL foi retirado e passado para tubo de caldo BHI com neutralizador e, após 2 minutos, 0,1 mL retirado e inoculado em placa de ágar Baird Parker, incubada a 35° C por 48 horas.

RESULTADOS

Na Tabela 1, os resultados do confronto do extrato hidroalcoólico com os inóculos.

TABELA 1- Atividade desinfetante *in vitro* de redução e de inativação de densidade populacional promovida pelo extrato hidroalcoólico reidratado de *Achyrocline saturoides* DC. – Asteraceae (“macela”), na proporção 5 g : 100 mL, sobre *Staphylococcus aureus* padrão e cepa meticilina resistente (MRSA).

Amostras	Tempo de contato	10^7 UFC/ mL	10^6 UFC/ mL	10^5 UFC/ mL
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	1 h	$1,5 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$1,5 \times 10^2$
	2 h	$1,5 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	$4,0 \times 10$
	3 h	< 1,0	< 1,0	< 1,0
	4 h	< 1,0	< 1,0	< 1,0
MRSA	1 h	$6,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	< 1,0
	2 h	$1,0 \times 10^2$	< 1,0	< 1,0
	3 h	$2,0 \times 10$	< 1,0	< 1,0
	4 h	< 1,0	< 1,0	< 1,0



Na Tabela 2, os resultados do decocto confrontando os inóculos.

TABELA 2- Atividade desinfetante *in vitro* de redução e de inativação de densidade populacional promovida pelo decocto de *Achyrocline satureioides* DC. – Asteraceae (“macela”), na proporção 5 g : 100 mL, sobre *Staphylococcus aureus* padrão e cepa meticilina resistente (MRSA).

Amostras	Tempo de contato	10 ⁷ UFC/ mL	10 ⁶ UFC/ mL	10 ⁵ UFC/ mL
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	8 h	2,0 x 10 ⁴	4,1 x 10 ³	< 1,0
	24 h	< 1,0	< 1,0	< 1,0
MRSA	8 h	2,5 x 10 ⁴	1,6 x 10 ³	1,0 x 10 ²
	24 h	< 1,0	< 1,0	< 1,0

CONCLUSÃO

As duas formas de solução da *Achyrocline satureioides* demonstraram atividade antibacteriana/desinfetante sobre o inóculo padrão e sobre a cepa MRSA. O extrato hidroalcoólico promoveu atividade em menor tempo de contato, demonstrando que a forma de extração interfere na atividade.

REFERÊNCIAS

- AVANCINI, C.A.M.; WIEST, J.M. Etnomedicina veterinária, etnonosotaxia e etnoterapêutica de doenças de pele como referência para seleção e avaliação preliminar da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.1, p.21-28, 2008.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 46**, de 6 de outubro de 2011 - Estabelecer o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. DOU 7/10/2011, Seção 1.
- BRITISH STANDARD (BS). **The European Standard EN 1040:2005**. Chemical disinfectants and antiseptics – quantitative - suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics – Test method and requirements (phase 1). 2006.
- FARMACOPÉIA** dos Estados Unidos do Brasil. 2 ed. São Paulo: Siqueira S.A., 1959.
- FERNANDEZ, V.N.V.; SILVA, R.K.P.; XIMENES, R.S.F.; AVANCINI, C.A.M. Atividade desinfetante e antisséptica de extrações de plantas nativas no sul do Brasil, frente bactérias de interesse na área da Medicina Veterinária: I - resultados preliminares do sub-projeto *Achyrocline satureioides* D.C. ASTERACEAE (macela). In: **Resumos**. XV Salão de Iniciação Científica e XII Feira de Iniciação Científica 2003/UFRGS. Porto Alegre. p 222-222.
- KADLEC, K.; EHRICHT, R.; MONECKE, S.; STEINACKER, U.; KASPAR, H.; MANKERTZ, J.; SCHWARZ, S. Diversity of antimicrobial resistance pheno- and genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from diseased swine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, n. 64, 1156–1164, 2009
- SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre : Ed. Da Universidade/UFRGS, 1989.
- SPEROTTO, V.R.; MURARI, A.L.; SILVA, D.A.R.; POSSENTI, C.G.R.; WIEST, J.M.; AVANCINI, C.A.M. Atividade antibacteriana *in vitro* do decocto de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. – Asteracea – (“macela”), sobre bactérias padrões e isoladas de mastite bovina. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 40, n. 3, Pub. 1052. 2012
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS), Pró-Reitoria de Pesquisa. **Higiene em ambientes de saúde e produção animal: etnomedicina veterinária e avaliação da atividade antimicrobiana desinfetante de extrações de plantas (medicinalis) nativas no sul do Brasil**. Coordenador: Prof. César Augusto Marchionatti Avancini. Disponível em: <http://www1.ufrgs.br/pesquisa/forms/form_dadosProjetoPesquisa.php>. Acesso em: 11 jul 2013.