

Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Extratos Vegetais Frente a Sorovares de *Salmonella* spp. de Origem Avícola

Evaluation of Antimicrobial Activity of Plant Extract Against Serovars of *Salmonella* spp. of Poultry Products

Eliana de Almeida Mira De Bona^a; Fabiana Gisele da Silva Pinto^b; Aline Monike Chaves Borges^a; Mayara Camila Scur^c; Thomas Kehrwald Fruet^c; Laís Dayane Weber^c; Luis Francisco Angeli Alves^d; Alexandre Carvalho de Moura^{e,f,*}

^aUniversidade Estadual do Oeste do Paraná, Laboratório de Biotecnologia, PR, Brasil

^bUniversidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, PR, Brasil

^cUniversidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, PR, Brasil

^dUniversidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Zoologia, PR, Brasil

^eUniversidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, PR, Brasil

^fUniversidade Federal da Fronteira Sul, PR, Brasil

*E-mail: alexandre.moura@uffs.edu.br

Recebido: 17 de outubro de 2011; Aceito: 6 de fevereiro de 2012

Resumo

A carne de aves é importante veículo de transmissão de *Salmonella* sp. e a ampla utilização de antibióticos nas rações tem conduzido a multiresistência bacteriana. Em virtude disso estudam-se formas alternativas com as mesmas vantagens de um antibiótico, porém com ação menos tóxica como, por exemplo, os extratos vegetais. O objetivo desse trabalho foi avaliar a resistência/sensibilidade de *Salmonella* spp. frente a diferentes extratos vegetais. Foram avaliados nove extratos vegetais aquosos quanto a atividade antimicrobiana sobre 14 sorovares de *Salmonella* spp., isolados de aves. O método utilizado foi de microdiluição em caldo. Distribuiu-se 160 µL de Caldo Müller-Hinton em poços de uma placa de microdiluição, adicionou-se 8 µL de inóculo bacteriano previamente padronizado e, por último, 160 µL do respectivo extrato com concentrações finais de 50, 100, 150 e 200 µg/mL. As microplacas foram incubadas a 35 °C por 24 horas, em condições de aerobiose. A determinação das CIMs teve como base presença ou ausência de turvação, convencionado presença de turvação como crescimento bacteriano e ausência como não crescimento. A partir dos poços que não apresentaram crescimento bacteriano visível, foi retirada uma alíquota de 10 µL e semeada na superfície do ágar MH incubado a 35 °C e, após 48 horas, foi definida a concentração bactericida mínima. Verificou-se que o extrato aquoso de *Allium sativum* apresentou maior atividade antimicrobiana bacteriostática e bactericida, seguido por *Dendranthema grandiflora* com maior atividade bacteriostática em todas as concentrações testadas, e bactericidas para alguns sorovares. O extrato de *Plectranthus barbatus* não apresentou atividade antimicrobiana sobre nenhum sorovar avaliado. Dos 14 sorovares estudados, *S. Lexington* foi o que demonstrou maior sensibilidade e os sorovares com menor sensibilidade aos extratos testados foram *S. Cubana*, *S. Infantis*, *S. Give*, *S. Newport*.

Palavras-chave: Crescimento Bacteriano. Aves. Terapêutica.

Abstract

The poultry meat is an important vehicle of transmission of *Salmonella* sp. and the widespread use of antibiotics in feed has led to bacterial multidrug resistance. In virtue of this are studied alternative forms with the same advantages of the antibiotic, but with less toxic action, for example, plant extracts. The objective of this work was to evaluate the resistance / sensitivity of *Salmonella* spp. against different plant extracts. Nine aqueous plant extracts antimicrobial activity were evaluated against 14 serovars of *Salmonella* sp. isolated from poultry. The method used was microdilution in broth. One hundred and sixty microliters of Müller-Hinton broth were distributed in wells of microdilution plate, then 8 µL of bacterial inoculum previously standardized were added followed by the addition of 160 µL of respective extract with concentrations of 50, 100, 150 and 200 µg/mL. The microplates were incubated at 35 °C for 24 h in aerobic conditions. The determination of MICs was based on the presence or absence of turbidity, which by convention represented bacterial growth and the absence of turbidity indicated no growth. From the wells that showed no visible bacterial growth an aliquot of 10 µL was taken and seeded on the MH agar surface, incubated at 35°C and after 48 hours the minimal bactericidal concentration was determined. It was found that the aqueous extract of *Allium sativum* showed greater bacteriostatic and bactericidal antimicrobial activity, followed by *Dendranthema grandiflora* with greater bacteriostatic activity at all concentrations and bactericidal for some serovars. *Plectranthus barbatus* extract did not show any antimicrobial activity against all serovars evaluated. Of the 14 serovars studied, *S. Lexington* showed a higher sensitivity to the extracts and the serovars with less sensitivity to the extracts tested were *S. Cubana*, *S. Infantis*, *S. Give*, *S. Newport*.

Keywords: Bacterial Growth. Birds. Therapeutics.

1 Introdução

O aumento crescente nos relatos sobre micro-organismos multirresistentes faz com que se torne incerto o futuro no que diz respeito à terapia antimicrobiana dos fármacos existentes na terapêutica no combate às infecções antimicrobianas. Algumas medidas devem ser tomadas para que a situação atual seja controlada e os riscos reduzidos, como o controle

no uso de antibióticos, o desenvolvimento de pesquisas para melhor compreensão dos mecanismos genéticos de resistência e a continuação de estudos que visem o desenvolvimento de novos medicamentos, sejam eles sintéticos ou naturais¹.

O risco do uso indiscriminado de antimicrobianos também atinge o setor avícola, o qual tem procurado investir em tecnologia para aperfeiçoar sua produção, buscando por melhores resultados

econômicos e também a produção de alimentos mais seguros e saudáveis para o consumidor². Na avicultura industrial, assim como em outras áreas, o principal objetivo visa à busca da alta produtividade associada à qualidade dos produtos finais³.

O uso de antibióticos em dietas de frangos de corte como promotores de crescimento é prática comum, todavia, há preocupação muito grande quanto ao uso desses medicamentos na alimentação animal, em decorrência da presença de resíduos em produtos animais para o consumo e a seleção de cepas resistentes². Muitas agroindústrias avícolas acatam a proibição ao uso de antibióticos que vigoram em diversos países como aqueles pertencentes à União Européia (EU). Desde 2008, nenhum antibiótico utilizado como promotor de crescimento pode ser usado na alimentação animal dos países da UE⁴, por isso o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento⁵ no Brasil foram proibidos e restringidos o uso de diversos antibióticos visando manter a exportação de frango aos países europeus.

Os sorovares de bactérias do gênero *Salmonella* são os micro-organismos mais comumente isolados de aves. Existem mais de 2500 sorovares de *Salmonella* capazes de infectar o homem e uma grande variedade de espécies animais, sendo as aves o principal veículo de transmissão de *Salmonella* para seres humanos, ocorrendo principalmente através de ovos, carnes e derivados⁶⁻⁸.

Foram relatados casos de resistência desses micro-organismos em quase todos os antibióticos disponíveis pelo mercado e essa resistência ocasiona vários obstáculos aos procedimentos clínicos, além de aumentar os custos do tratamento e das doenças na população humana e em animais⁹⁻¹³.

Baseado nesse contexto, diversos aditivos têm sido usados nas rações avícolas como formas alternativas aos antibióticos. O uso de prebióticos e enzimas exógenas vêm sendo bastante enfatizados na alimentação animal, bem como, o uso de ácidos orgânicos na conservação de grãos, cana e água¹⁴. Os ingredientes alternativos podem contribuir na melhoria do desempenho animal, no controle de patógenos e até mesmo possibilitar maior utilização dos extratos vegetais¹⁵.

De forma geral, a natureza é responsável pela produção da maioria das substâncias orgânicas conhecidas, porém dentro do grupo dos vegetais têm se identificado e isolado inúmeras substâncias úteis no tratamento de doenças que acometem os seres humanos. O uso de extratos vegetais e fitoquímicos com propriedades antimicrobianas podem ser de grande importância em tratamentos terapêuticos, sendo que essa atividade normalmente ocorre por combinações sintetizadas no metabolismo secundário da planta^{1,16}.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as plantas medicinais seriam as melhores fontes para obter variedade de medicamentos. Tais plantas deveriam ser investigadas para que melhor fossem entendidas as suas propriedades, segurança e eficiência¹⁷.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes extratos vegetais aquosos frente aos sorovares de *Salmonella* spp., comumente isolados de aviários no Brasil, através da metodologia de microdiluição.

2 Material e Métodos

2.1 Amostras bacterianas

As cepas de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* de diferentes sorovares foram obtidas da bacterioteca do Centro de Diagnóstico Veterinário Brasil Sul Ltda – MercoLab; todas foram isoladas de aves: suabe de arrasto, órgãos, farinha de osso, forro de caixa, suabe de cloaca, vísceras, ração e mecônio. São elas: *S. Derby*, *S. Heidelberg*, *S. Cubana*, *S. Orion*, *S. Enteritidis*, *S. Enterica*, *S. Infantis*, *S. Mbandaka*, *S. Agona*, *S. Lexington*, *S. Give*, *S. Newport*, *S. Montevedeo* e *S. Kentucky*.

Os sorovares selecionados foram ativados em ágar *Salmonella-Shigella* e incubados a 35°C por 24 horas e levados ao laboratório da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). As cepas foram submetidas a uma última confirmação por meio de provas bioquímicas para constatar supostas contaminações.

2.2 Preparo e avaliação do extrato

As partes das plantas utilizadas foram coletadas em diferentes localidades de Cascavel, PR, Brasil, sendo confirmada a identificação no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNOP), Cascavel, PR, Brasil. Os extratos aquosos de *Dendranthema grandiflora* Tzvelev (crisântemo); *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim); *Allium sativum* L. (alho); *Plectranthus barbatus* Andr. (boldo); *Ruta graveolens* L. (arruda); *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (capim limão); *Allium cepa* L. (cebola); *Curcuma longa* L. (curcuma) e *Zingiber officinale* Rosc (gingibre) foram obtidos de plantas frescas de acordo com Stangarlin¹⁸ com modificações. Para preparação dos extratos foram triturados cambitos e folhas (200 g/L de água destilada estéril) em liquidificador por um minuto, homogeneizados, filtrados em gaze e algodão para retirar as partículas maiores e, finalmente, filtrados em membrana filtrante 0,45µm com o auxílio de bomba a vácuo para retirada de partículas em suspensão e armazenado ao abrigo da luz a 4 °C. Avaliaram-se os extratos pelo método de microdiluição em caldo para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM).

A CIM foi determinada com base na metodologia descrita no documento NCCLS¹⁹ que consistiu na distribuição de 160 µL de Caldo Müller-Hinton (MH) em poços de uma placa de microdiluição. Os sorovares foram previamente inoculados em meio de enriquecimento, Caldo Infuso de Cérebro e Coração (BHI) e incubados 16-18 horas a 35 °C. Em

seguida, foram diluídos em solução salina 0,85% até atingir a escala de 1×10^8 UFC/ ml de MacFarlad. Posteriormente, foi realizada uma diluição de 1:100 em Caldo MH e, a partir dessa diluição, adicionou-se 8 μ L da bactéria e, por último, 160 μ L do respectivo extrato com concentrações finais nos poços de 5%, 10%, 15% e 20%. Como controle positivo foram adicionados 30 mg/mL de cloranfenicol ao caldo MH; e para o controle negativo, água destilada esterilizada no lugar do extrato. As microplacas foram incubadas a 35 °C por 24 horas, em condições de aerobiose. A determinação das CIMs teve como base a presença ou ausência de turvação, sendo convencionada a presença de turvação como crescimento bacteriano e ausência como não crescimento bacteriano. Dessa forma, foi analisada a menor concentração do extrato capaz de causar inibição total do crescimento.

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi determinada com base na metodologia de Santurio²⁰. Brevemente, a partir dos poços onde não houve crescimento bacteriano visível, foi retirada alíquota de 10 μ L e semeada na superfície do ágar MH. As placas foram incubadas a 35 °C e, após 48 horas, foi definida a concentração bactericida mínima como a menor concentração do extrato em estudo capaz de causar a morte do inóculo. Os ensaios de CIM e CBM foram realizados em quintuplicata.

3 Resultados e Discussão

O extrato de *Allium sativum* L. apresentou melhor resultado em relação à atividade antimicrobiana dos extratos testados, pois todos os 14 (100%) sorovares avaliados apresentaram-se sensíveis ao mesmo (Tabela 1). Apenas os extratos de *A. sativum* e *Dendranthema grandiflora* obtiveram atividade bactericida inibindo irreversivelmente o crescimento de 78,57% (11/14) e 21,42% (3/14) dos sorovares, respectivamente (Tabela 2). O extrato de *Rosmarinus officinalis* L. demonstrou atividade antimicrobiana somente para *S. Derby* enquanto que o extrato de *Ruta graveolens* L. apresentou atividade somente para o sorovar *S. Lexington*. O extrato de *Cymbopogon citratus* inibiu o crescimento de *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Lexington*. O extrato de *A. cepa* foi bacteriostático para *S. Agona*, *S. Lexington* e *S. Kentucky*. O extrato de *D. grandiflora* promoveu a inibição de 13 sorovares e apenas o *S. Montevedeo* foi resistente a esse extrato. Já a *Curcuma longa* L. demonstrou atividade antimicrobiana para os sorovares *S. Mbandaka*, *S. Heidelberg* e *S. Lexington*. De todos os extratos avaliados, apenas o *Plectranthus barbatus* não apresentou atividade antimicrobiana para nenhum sorovar testado (Tabela 1). Verificou-se atividade bacteriostática do extrato de *C. longa* para os sorovares *S. Mbandaka*, *S. Heidelberg* e *S. Lexington* (21,2%) nas concentrações de 100, 150 e 200 μ g/mL, respectivamente, sugerindo assim que este extrato poderia se associar a outras substâncias com atividades antimicrobianas no controle de *Salmonella* spp.

Tabela 1: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) (μ g/mL) de extratos vegetais frente aos sorovares de *Salmonella* spp. e porcentagem de inibição

| Sorovar | Cl | Zo | Cc | Ac | Dg | Rg | As | Ro |
|-----------------------|-------|------|-------|-------|-------|------|-----|------|
| <i>S. Derby</i> | - | - | - | - | 50 | - | 150 | 100 |
| <i>S. Heidelberg</i> | 150 | - | 200 | - | 200 | - | 50 | - |
| <i>S. Cubana</i> | - | - | - | - | 50 | - | 50 | - |
| <i>S. Orion</i> | - | - | - | - | 50 | - | 50 | - |
| <i>S. Enteritidis</i> | - | - | 50 | - | 50 | - | 50 | - |
| <i>S. Enterica</i> | - | - | - | - | 50 | - | 50 | - |
| <i>S. Infantis</i> | - | - | - | - | 200 | - | 50 | - |
| <i>S. Mbandaka</i> | 100 | - | - | - | 100 | - | 100 | - |
| <i>S. Agona</i> | - | - | - | 200 | 150 | - | 50 | - |
| <i>S. Lexington</i> | 200 | - | - | 200 | 150 | 200 | 50 | - |
| <i>S. Give</i> | - | - | 200 | - | 100 | - | 50 | - |
| <i>S. Newport</i> | - | - | - | - | 200 | - | 50 | - |
| <i>S. Montevedeo</i> | - | 200 | - | - | - | - | 50 | - |
| <i>S. Kentucky</i> | - | - | 200 | 200 | 200 | - | 50 | - |
| % de inibição | 21,42 | 7,14 | 28,57 | 21,42 | 92,85 | 7,14 | 100 | 7,14 |

Legenda: Cl - *Curcuma longa*, Zo - *Zingiber officinale*, Cc - *Cymbopogon citratus*, Ac - *Allium cepa*, Dg - *Dendranthema grandiflora*, Rg - *Ruta graveolens*, As - *Allium sativum*, Ro - *Rosmarinus officinalis*; - = Não houve inibição nas concentrações testadas.

No Brasil, os rizomas de *C. longa* são usados como tempero em alimentos. Entretanto, na medicina popular, como na fitoterapia científica, é empregado por suas propriedades anti-hepatóxica, anti-hiperlipidêmica e anti-inflamatória²¹. De acordo com Lorenzi e Matos²¹, *C. longa* apresentou atividade antimicrobiana e anti-histamínica contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e, alguns fungos patogênicos e micro-organismos envolvidos em colecistites.

Pérez-Almeida *et al.*²² avaliaram o óleo essencial e o extrato etanólico de *C. longa* e pigmentos isolados pelo método de difusão em ágar, frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella choleraesuis* e *Escherichia coli*. e observaram que a bisdesmetoxicurcumina presente nos extratos apresentou atividade bacteriostática frente a *B. subtilis*, confirmando assim a atividade desse extrato sobre bactérias gram-positivas.

Já o extrato de *Zingiber officinale*, apesar de resultados discretos, demonstrou ação bacteriostática apenas frente ao sorovar *S. Montevedeo* (7,1%) na concentração de 200 μ g/mL (Tabela 1). Ensaio farmacológicos demonstraram que seu extrato possui propriedade de ação antimicrobiana local, sendo utilizado para o tratamento e o combate à rouquidão e inflamação de vias aéreas superiores²².

Carvalho *et al.*²³ determinaram a intensidade de inibição e a atividade de inativação de extratos hidroalcoólicos de 32 plantas com indicativo etnográfico condimentar na região metropolitana de Porto Alegre - RS, sobre *E. coli*, *S. aureus*, *S. Enteritidis* e *Enterococcus faecalis* e concluíram que este

extrato não apresentou ação antimicrobiana sobre microorganismos. Estes dados concordam com o nosso trabalho em relação ao sorovar *S. Enteritidis*. Da mesma forma, Alvarenga *et al.*²⁴ mencionam que extratos hidroalcoólicos a 10 e 20% de *Z. officinale* avaliados pelo método de difusão em ágar não foram eficientes para *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella choleraesuis*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus mutans* apresentando atividade inibitória apenas para *Shigella flexneri*, em ambas as concentrações. O estudo fitoquímico de *Z. officinale* revelou a presença de alcaloides, lactonas, glicosídeos cardiotônicos, terpenos, quinonas, resinas, taninos, flavonoides, açúcares redutores, antocianidinas, mucilagens e aminoácidos, sendo os terpenos os compostos ativos mais importantes farmacologicamente e encontrados em maior proporção, todavia, não se sabe exatamente como essas substâncias agem nos diferentes usos do gengibre²⁵.

O extrato de *C. citratus* a 50 µg/mL inibiu *S. Enteritidis*, e a 200 µg/mL os sorovares *S. Heidelberg*, *S. Lexington* e *S. Kentucky* (28,6%) apresentando atividade bacteriostática (Tabela 1). Ducat *et al.*²⁶ do mesmo modo verificaram atividade antimicrobiana de *C. citratus* no Paraná, com extrato alcoólico frente a amostras de *S. aureus* e *K. pneumoniae*. Esse estudo também reportou altas concentrações de flavonoides nesse extrato sugerindo que a atividade antimicrobiana pode estar relacionada com a presença desse grupo de moléculas.

O *C. citratus* é largamente usado de norte a sul do Brasil como forma de chá de aroma e sabor agradáveis e de ação calmante e espasmolítica suaves^{21,27} e também utilizado como repelente de insetos²⁸.

A atividade bacteriostática do extrato de *Allium cepa* foi constatada para os sorovares de *S. Agona*, *S. Lexington* e *S. Kentucky* (21%) inibidos a 200 µg/mL. A espécie é muito usada como condimento e têm sido relatadas ações como agente anti-hipertensivo, antitrombótico, bactericida, antioxidante, entre outras finalidades medicinais. Seus princípios bioativos ainda estão em estudo, mas sabe-se que alguns produtos finais de diversas substâncias bioquímicas, como tiosulfatos, tiosulfonatos, mono, di e trissulfídios possuem diversas atividades benéficas, dentre elas, anticancerígena, antitrombótica, antiasmática e antibiótica²⁹.

Herrera e Garcia-Rico³⁰ avaliaram a atividade antimicrobiana de extrato aquoso de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* e *Allium cepa*, frente a cinco cepas bacterianas de relevância na indústria alimentícia e observaram em seus resultados maior atividade de *A. cepa* sobre *E. coli*, *Salmonella* spp., e *Bacillus cereus* corroborando com os nossos resultados.

O extrato aquoso de *Dendranthema grandiflora* apresentou atividade bactericida a 50 µg/mL para três dos sorovares (21%) sendo *S. Cubana*, *S. Orion* e *S. Enteritidis* (Tabela 2).

Tabela 2: Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CMB) (µg/mL) de extratos vegetais frente aos sorovares de *Salmonella* spp. e respectiva porcentagem

| Sorovar | <i>Dendranthema grandiflora</i> | <i>Allium sativum</i> |
|-----------------------|---------------------------------|-----------------------|
| <i>S. Derby</i> | - | 150 |
| <i>S. Heidelberg</i> | - | 50 |
| <i>S. Cubana</i> | 50 | 50 |
| <i>S. Orion</i> | 50 | 50 |
| <i>S. Enteritidis</i> | 50 | 50 |
| <i>S. Enterica</i> | - | 50 |
| <i>S. Lexington</i> | - | 50 |
| <i>S. Give</i> | - | 50 |
| <i>S. Newport</i> | - | 50 |
| <i>S. Montevideo</i> | - | 50 |
| <i>S. Kentucky</i> | - | 50 |
| % de inibição | 21,4 | 78,6 |

Legenda: - = Não houve inibição nas concentrações testadas.

Nessa mesma concentração, o extrato apresentou também atividade bacteriostática para *S. Derby* e *S. Enterica*, além dos sorovares já mencionados com atividade bactericida. Na concentração de 100 µg/mL inibiu *S. Mbandaka* e *S. Give*, a 150 µg/mL inibiu *S. Agona* e *S. Lexington* e a 200 µg/mL *S. Heidelberg*, *S. Infantis*, *S. Newport* e *S. Kentucky*, todos com ação bacteriostática num percentual de 93% de inibição (Tabela 1). Portanto, este extrato apresentou inibição das bactérias em estudo, demonstrando atividade nas quatro concentrações ensaiadas, entretanto, não foi mencionada nenhuma referência na literatura sobre a ação antimicrobiana de *D. grandiflora* e seus metabólitos envolvidos, sendo considerado um incentivo para outros experimentos na mesma linha de pesquisa.

O extrato de *Ruta graveolens* apresentou somente atividade bacteriostática frente ao sorovar *S. Lexington* (7%) na concentração 200 µg/mL (Tabela 1). Esta espécie, desde os primórdios, era tratada como planta milagrosa, usada em rituais de proteção dos homens. Ela desprende um odor forte, fétido e ativo, em decorrência de seu óleo essencial de cor amarelo-esverdeado, de sabor amargo e muito espesso. A literatura cita seu uso popular como chá para tratar distúrbios menstruais, inflamações na pele, dor de ouvido, dor de dente, entre outras doenças³¹.

O estudo fitoquímico da arruda indicou a presença de metilcetonas em suas folhas²¹ e dentre os demais componentes químicos encontram-se os flavonoides (rutina e hesperidina), cumarinas (chalepeusina e graveliferona), alcaloides (rutalinium, rutalidina, rutacridona e rubalinidina), e no óleo essencial das raízes pode se encontrar principalmente pineno e limoneno³¹.

Pereira *et al.*³¹ realizaram análises dos extratos alcoólicos de *R. graveolens* (casca e frutos) dentre outros, frente *S. aureus*, *E. coli* e *Enterobacter gergoviae*, utilizando o método

bioautográfico e a determinação da CIM. Demonstrou-se que o extrato de folhas de arruda apresentou elevada inibição à cepa de *E. coli* (gram-negativa).

O extrato de *Allium sativum* foi o que apresentou maior abrangência na atividade inibitória (100%) e bactericida (78,57%) dentre os extratos testados, demonstrando atividade bactericida para *S. Derby* a 150 µg/mL e na concentração de 50 µg/mL para os sorovares *S. Heidelberg*, *S. Cubana*, *S. Orion*, *S. Enteritidis*, *S. Enterica*, *S. Lexington*, *S. Give*, *S. Newport*, *S. Montevideo* e *S. Kentucky*. A CIM para o sorovar *S. Mbandaka* foi de 100 µg/mL e para *S. Agona* e *S. Infantis* de 50 µg/mL para os quais *A. sativum* não apresentou atividade bactericida (Tabelas 1 e 2).

Silva *et al.*³² testaram o extrato de *A. sativum*, tipo suco (alho espremido) e alcoólico, no controle de *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *S. aureus* e observaram que o extrato tipo suco exibiu atividade inibitória em todas as bactérias avaliadas.

Ao avaliar a atividade de *A. sativum* e de outras diversas plantas, Indu *et al.*³³ reportaram que este extrato frente a 20 sorotipos de *E. coli*, 8 sorotipos de *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *Aeromonas hydrophila*, apresentou excelente atividade antimicrobiana sobre a maioria dos micro-organismos testados, exceto em *L. monocytogenes*.

O extrato de *Rosmarinus officinalis* a 100 µg/mL apresentou atividade antimicrobiana bacteriostática somente para *S. Derby* (Tabela 1).

Segundo Lorenzi e Matos²¹, o *R. officinalis* é considerado antimicrobiano contra *Staphylococcus*. A análise fitoquímica demonstrou a presença de óleo essencial em suas folhas constituído de uma mistura de componentes voláteis, responsáveis pelo seu odor característico, dentre os quais estão o cineol, alfa-pineno e cânfora e, entre os compostos não voláteis, o ácido cafeico, diterpenos, amargos, flavonoides e triterpenoides.

O extrato aquoso e hidroalcoólico de *R. officinalis* foi testado por Souza e Conceição³⁴, pela técnica de “hole plate” para avaliação da sua atividade antibacteriana e obtiveram atividade inibitória para *S. aureus* (gram-positiva), mas não foi demonstrada atividade para *P. aeruginosa* e *E. coli*, (gram-negativas).

Em nosso estudo, o extrato de *Plectranthus barbatus* não demonstrou nenhuma atividade frente aos sorovares testados. Matu e Standen³⁵ estudaram *P. barbatus* no Kênia, onde a população tradicionalmente faz uso desse extrato para o tratamento de doenças, as raízes são utilizadas para o tratamento de distúrbios gástricos e as folhas são usadas para tratar dor de estômago, sarampo e também como purgante. Eles observaram atividade inibitória do extrato hidroalcoólico frente a bactérias gram-positivas, através do método de difusão em ágar. Folhas de membros da família *Lamiaceae* são conhecidas por conter terpenos que possuem antifúngica, antibacteriana e inseticida.

Dos 14 sorovares estudados, *S. Lexington* foi o que demonstrou maior sensibilidade, exceto para o extrato de *P.*

barbatus e os sorovares com menor sensibilidade aos extratos testados foram *S. Cubana*, *S. Infantis*, *S. Give* e *S. Newport*, embora nenhum sorovar pudesse ser classificado como totalmente sensível ou resistente a todos os extratos.

As diferenças de resultados entre os nossos resultados e os encontrados na literatura, podem ser explicadas pelas diferentes metodologias que foram empregadas em relação à concentração dos extratos, as formas de extração e técnicas empregadas nos testes³⁶ além do que, pela ausência de dados de testes realizados em diferentes sorovares de *Salmonella* spp.

A ampla variedade de sorovares encontrados na cadeia avícola e a diferença entre os sorovares quanto à suscetibilidade a diferentes antimicrobianos e também frente a extratos vegetais, denota a importância em pesquisar a atividade inibitória destes produtos em diferentes sorovares³⁷⁻³⁹.

4 Conclusão

Por meio dos resultados obtidos neste trabalho, o extrato de *A. sativum* foi o que apresentou a maior atividade antimicrobiana, seguido pelo extrato de *D. grandiflora* demonstrando grande potencial no controle aos micro-organismos testados.

Os resultados obtidos, nas condições desta pesquisa sugerem a realização de estudos mais aprofundados sobre a eficácia desses extratos, bem como o estudo de métodos mais eficientes para a inibição dos micro-organismos e para a extração dos princípios ativos dos vegetais. Estes dados incentivam a futuros estudos, na crescente busca de novas substâncias com atividades antimicrobianas, de origem natural com ação efetiva e com baixa toxicidade.

Referências

1. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plants extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Braz J Microbiol* 2000;31(4):247-56.
2. Santos EC, Teixeira AS, Freitas FTF, Rodrigues PB, Dias ES, Murgas LDS. Uso de aditivos promotores de crescimento sobre o desempenho, característica de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte. *Ciênc Agrotec* 2005;29(1):223-31.
3. Loddi MM, Gonzales E, Takita TS, Mendes AA, Roa RO. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. *Rev Bras Zootec* 2000;29(4):1124-31.
4. Brumano G, Gattás G. Implicações sobre o uso de antimicrobianos em rações de monogástricos. *Rev Eletrônica Nutritime* 2009;6(3):953-9.
5. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo. Departamento de Fomento e Fiscalização da Produção animal. Brasília: MAPA; 2004.
6. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Análise Epidemiológica de Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Brasília: MS; 2008.
7. Aarestrup FM, Lertworapreecha M, Evans MC, Bangtrakulnonth A, Chalermchaikit T, Hendriksen RS, *et*

- al. Antimicrobial susceptibility and occurrence of resistance genes among *Salmonella* enterica serovar Weltevreden from different countries. J Antimicrob Chemother 2003;52(4):715-8.
8. Pra MAD, Corrêa EK, Roll VF, Xavier EG, Lopes DCN, Lourenço FF, *et al.* Uso de cal virgem para o controle de *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. em camas de aviário. Cienc Rural 2009;39(4):1189-94.
 9. Cardoso MO, Ribeiro AR, Santos LR, Pilotto F, Moraes HLS, Salle CTP, *et al.* Antibiotic resistance in *Salmonella* Enteritidis isolated from broiler carcasses. Braz J Microbiol 2006;37:368-71.
 10. Ribeiro AR, Kellermann A, Santos LR, Nascimento VP. Resistência antimicrobiana em *Salmonella* Enteritidis isoladas de amostras clínicas e ambientais de frangos de corte e matrizes pesadas. Arq Bras Med Vet Zootec 2008;60(5):1259-62.
 11. Duarte DAM, Ribeiro AR, Vasconcelos AMM, Santos SB, Silva JVD, Andrade LAA, *et al.* Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. Braz J Microbiol 2009;40:569-73.
 12. Lima ET, Andreatti Filho RL, Pinto JPAN. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* isolados de produtos avícolas. Vet Zoot 2009;16(2):394-400.
 13. Ribeiro VB, Lincopan N, Landgraf M, Franco BDGM, Destro MT. Characterization of class 1 integrons and antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolates from foodstuff and related sources. Braz J Microbiol 2011;42(2):685-92.
 14. Andreatti Filho RL, Silva EN, Ribeiro AR, Kondo N, Curi PR. Use of anaerobic cecal microflora, lactose and acetic acid for the protection of broiler chicks against experimental infection with *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis. Braz J Microbiol 2000;31:107-12.
 15. Araujo JA, Silva JHV, Amâncio ALL, Lima MR, Lima CB. Uso de aditivos na alimentação de aves. Acta Vet 2007;1(3):69-77.
 16. Montanari CA, Bolzani VS. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. Química Nova 2001;24(1):105-11.
 17. Bhattacharjee I, Chatterjee SK, Chatterjee S, Chandra G. Antibacterial potentiality of Argemone mexicana solvent extracts against some pathogenic bacteria. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006;101(6):645-8.
 18. Stangarlin JR, Schwan-estrada KRF, Cruz MES, Nozak MH. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. Biotecnol Cienc Desenvol 1999;(11):16-21.
 19. NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobiana por diluição para bactéria de crescimento aeróbio. Norma aprovada. Brasília: ANVISA; 2003.
 20. Santurio MJ, Santurio DF, Pozzati P, Moraes C, Franchin PR, Alves SH. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* de origem avícola. Cienc Rural 2007;37(3):803-8.
 21. Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum; 2002.
 22. Péret-Almeida L, Naghetini CC, Nunan EA, Junqueira RG, Glória MBA. Atividade antimicrobiana in vitro do rizoma. Atividade antimicrobiana in vitro do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. Cienc Agrotec Lavras 2008;32(3):875-81.
 23. Carvalho HHC, Cruz FT, Wiest JM. Atividade antibacteriana em plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/Brasil. Rev Bras Plantas Med 2005;7(3):25-32.
 24. Alvarenga AL, Schwan RF, Dias DR, Schwan-Estrada KRF, Bravo-Martins CEC. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. Rev Bras Plantas Med 2007;9(4):86-91.
 25. Enriquez Flores AM, Prieto Vela EP, De Los Rios Martinez E, Ruiz Reyes SG. Estudio farmacognóstico y fitoquímico del rizoma de Zingiber officinale Roscoe "Jengibre" de la ciudad de Chanchamayo - Región Junín. Perú. Rev Med Vallejiana 2008;5(1):50-64.
 26. Ducat G, Torres YR, Dalla Santa HS, Caetano IK, Kleinubing SA, Stock D, *et al.* Correlation among metallic ions, phenolic compounds and antimicrobial action in medicinal plants extracts. J Food Quality 2011;34:306-14.
 27. Martins ER, Castro DM, Castellani DC, Dias JE. Plantas medicinais. Viçosa: UFV; 2000.
 28. Simões CMO, Mentz LA, Schenkel EP, Irgang BE, Stehmann JR. Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: UFRGS; 1986.
 29. Campos KE, Balbi APC, Alves MJQF. Efeitos do extrato aquoso de cebola (*Allium cepa* L.) sobre a função renal e a pressão arterial em ratos Wistar. Rev Bras Plantas Med 2005;8(1):24-9.
 30. Herrera AFC, Garcia-Rico RO. Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extracto acuoso de: *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa*: estudio preliminar in vitro. BISTUA 2007;5(2):68-79.
 31. Pereira MSV, Rodrigues OG, Feijó FMC, Athayde AC, Lima EQ, Sousa MRQ. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no Semi-Árido Paraibano. Agrop Cient Semi-Árido 2006;2(1):37-43.
 32. Silva DAK, Chaves C, Gern MI. Estudo da atividade antibacteriana de duas soluções extrativas de *Allium sativum* L., uma obtida por método popular e outra na forma de suco, manipuladas em gel. Saúde Amb Rev 2005;6(2):15-8.
 33. Indu MN, Hatha AAM, Abirosh C, Vivekanadan G. Antimicrobial activity of some of the south-Indian spices against serotypes of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila*. Braz J Microbiol 2006;37(2):153-8.
 34. Souza MP, Conceição DM. Atividade antibacteriana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). Rev Cienc Vet 2007;5(5):7-13.
 35. Matu EN, Standen JV. Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. J Ethnopharmacol 2003;87:35-41.
 36. Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneco TM, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para a avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CIM) de plantas medicinais. Rev Bras Farmacogn 2008;18(2):301-7.
 37. Kanashiro AMI, Stoppa GFZ, Cardoso ALSP, Tessari ENC, Castro AGM. Serovars of *Salmonella* spp. isolated from broiler chickens and commercial breeders in diverse regions in Brazil from July 1997 to December 2004. Braz J Poult Sci 2005;7(3):195-8.
 38. Lima ET, Andreatti Filho RL, Pinto JPAN. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* isolados de produtos avícolas. Vet Zootec 2009;16(2):394-400.
 39. Souza CO, Ramos FLP, Mota CM, Santos LVS, Lopes ML. Resistência antimicrobiana de *Salmonella* Typhi identificadas no Estado do Pará, Brasil. Rev Pan-Amaz 2010;1(2):61-5.