



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

IJDR

International Journal of Development Research

Vol. 10, Issue, 08, pp. 39568-39572, August, 2020

<https://doi.org/10.37118/ijdr.19675.08.2020>



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE PLANTAS CONTRA *Staphylococcus aureus* MULTIRRESISTENTES ISOLADAS DE MASTITE BOVINA

Richer Costa Camargo¹, João Vitor Stefanin Fuzatti¹, Michel dos Santos Pinto¹, Kedma Lorena da Silva Souza¹, Luciano Ricardo de Oliveira² and Danila Fernanda Rodrigues Frias^{*3}

¹Discente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis; ²Discente do Curso de Agronomia da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis; ³Docente titular do Programa de Mestrado em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis

ARTICLE INFO

Article History:

Received 19th May 2020

Received in revised form

03rd June 2020

Accepted 17th July 2020

Published online 30th August 2020

Key Words:

Concentração Inibitória mínima;
Glândula mamária;
Resistência antimicrobiana;
Tratamento alternativo.

*Corresponding author:

Danila Fernanda Rodrigues Frias,

ABSTRACT

Resumo: A mastite causa sérios prejuízos aos produtores de leite, além de oferecer riscos à saúde pública. Como tratamento, a antibioticoterapia é largamente utilizada, entretanto, o uso ostensivo e inadequado proporciona resistência bacteriana. **Objetivo:** Avaliar a eficácia de extratos de plantas no controle *S. aureus* multirresistentes causadoras de mastite bovina. **Metodologia:** Foram utilizadas duas cepas de *S. aureus* multirresistentes e testados os extratos etanólicos de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga), *Malpighia puniceifolia* L. (Acerola), *Annona muricata* L. (Graviola), *Punica granatum* L. (Romã), *Genipa americana* L. (Jenipapo), *Litchi chinensis* (Lichia), *Tamarindus indica* L. (Tamarindo), *Syzygium jambos* L. (Jambo). A concentração inibitória mínima dos extratos foi determinada por meio do método de microdiluição em placas. A concentração bactericida mínima foi determinada após a obtenção dos resultados da concentração inibitória mínima, e em seguida foi calculada a curva de sobrevivência. **Resultados:** Os extratos que demonstraram ação antibacteriana foram Pitanga, Acerola, Romã, Jenipapo, Lichia, Tamarindo e Jambo. Quando se avaliou a curva de sobrevivência, destacou-se os extratos de Pitanga e Romã, com concentração de 1,6% e efeito bactericida com 50 minutos de exposição. **Conclusão:** Os extratos de pitanga e romã demonstraram melhor eficácia, por isso, sugere-se sua utilização em concentração de 1,6% por 50 minutos.

Copyright © 2020, Richer Costa Camargo et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Richer Costa Camargo, João Vitor Stefanin Fuzatti, Michel dos Santos Pinto, Kedma Lorena da Silva Souza, Luciano Ricardo de Oliveira and Danila Fernanda Rodrigues Frias. "Potencial antimicrobiano de extratos etanólicos de plantas contra staphylococcus aureus multirresistentes isoladas de mastite bovina", *International Journal of Development Research*, 10, (08), 39568-39572.

INTRODUCTION

A mastite causa sérios prejuízos aos produtores de leite e a indústria, além de oferecer riscos à saúde pública. Esta doença consiste em um processo inflamatório da glândula mamária, e é a enfermidade de maior prevalência nos bovinos leiteiros, sendo classificada de acordo com sua forma de apresentação, clínica ou subclínica (GONÇALVES et al., 2013). Os principais agentes etiológicos da mastite contagiosa, transmitida por contato entre os animais, são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma* sp. e *Streptococcus dysgalactiae* e da mastite ambiental são as bactérias gram negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp. e *Proteus* sp., pois o ambiente é o reservatório desses agentes (PEDRINI; MARGATHO, 2003; NADER, 2010).

Visando o controle e prevenção da mastite, vários produtos químicos são utilizados, dentre eles os compostos halogenados, cloro, iodo, clorhexidina, aldeídos e compostos de amônia quaternária (GONÇALVES, et al. 2013). Já para o tratamento, a antibioticoterapia é largamente utilizada, entretanto, o uso ostensivo e inadequado proporciona resistência bacteriana a diversos princípios ativos (NADER, 2010). A busca por alimentos naturais e de melhor qualidade vem aumentando gradativamente, portanto, a presença de agrotóxicos, hormônios e antibióticos nos alimentos está se tornando proibitiva. O mercado de leite orgânico tem se expandido em ritmo acelerado nos últimos anos. Porém, para certificação deste produto, uma série de exigências no que se refere a não utilização de fertilizantes químicos, agrotóxicos, antibióticos, e tantas outras exigências, se fazem necessárias (PEIXOTO, et al. 2009). Tratamentos naturais precisam ser

avaliados para evitar efeitos adversos sobre o bem-estar animal e produtividade desses rebanhos. A utilização de extratos de ervas medicinais, fitoterapias e terapia homeopática têm sido encorajadas nas diversas atividades da agropecuária, porém, a implantação em sistemas convencionais se torna desfavorável, devido à falta de informação sobre a eficácia destes tratamentos (PEIXOTO, et al. 2009). Desta forma, torna-se crescente a demanda por estudos com produtos naturais eficientes, como por exemplo, o extrato de plantas, para o controle de microrganismos patogênicos, sempre avaliando o grau de efetividade da substância testada e a busca pela ausência de efeitos adversos, tanto para os seres humanos e animais, quanto para o meio ambiente (HOCAYEN & PIMENTA, 2013). O uso de extratos vegetais vem se ampliando dentro da saúde animal. Na pecuária agroecológica, o uso de plantas com fins antimicrobianos tem sido amplamente estudado na prevenção da mastite bovina (GONÇALVES, et al. 2013). Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de extratos de plantas no controle *S. aureus* multirresistentes causadoras de mastite bovina na região Noroeste Paulista.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a presente pesquisa foram utilizadas duas cepas (Cepa 1 e Cepa 2) de *Staphylococcus aureus* multirresistentes isoladas de vacas com mastite clínica de propriedades leiteiras localizadas na Região Noroeste Paulista. Para o preparo do inóculo, culturas de 24 horas em ágar Tryptic Soy Agar (TSA) foram transferidas para meio Triptecaseina Broth (TSB) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período a suspensão bacteriana foi diluída em solução salina estéril (NaCl 0,85%) até atingir a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de Mac-Farland, equivalente à concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Para verificação da ação antibacteriana *in vitro*, foram testados os extratos etanólicos das seguintes plantas do herbário da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis: Pitanga (*Eugenia uniflora* L.), Acerola (*Malpighia puniceifolia* L.), Graviola (*Annona muricata* L.), Romã (*Punica granatum* L.), Jenipapo (*Genipa americana* L.), Lichia (*Litchi chinensis*), Tamarindo (*Tamarindus indica* L.), Jambo (*Syzygium jambos* L.). Para o preparo do extrato as folhas de cada planta foram lavadas com água destilada e, o material seco a temperatura ambiente durante 24 horas. Em seguida, o material vegetal foi adicionado em estufa com circulação de ar forçado a 33°C por uma semana, e posteriormente foi triturado. De cada planta utilizou-se 100g para extração hidroalcolica em etanol 70% (v/v). Após duas semanas de maceração foi obtido o extrato bruto por filtração. O extrato filtrado foi levado a temperatura de 45°C por um período de duas semanas para evaporação do solvente (Duarte et al., 2004).

A concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos foi determinada seguindo os protocolos do CLSI (2012), por meio do método de microdiluição em placas. A concentração dos extratos testados foram: 0,4%, 0,8%, 1,6%, 3,2%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50% e 100% e o controle negativo. Após incubação a 37°C por 24 horas do inóculo com os extratos, a CIM foi determinada pela adição de 50 µL do corante 2,3,5 - Triphenyltetrazolium Chloride. A concentração inibitória mínima foi considerada como a menor concentração de extrato capaz de inibir o desenvolvimento bacteriano, sendo visível, pois o corante permitiu a distinção de amostras vivas, coloridas de vermelho, das mortas que mantiveram a coloração inicial. Já a determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

foi realizada por meio da transferência de 100µL de cada poço para placas de Petri contendo TSA, incubados a 37°C por 24h-48h. A CBM, foi considerada a concentração que não apresentou crescimento bacteriano. A curva de sobrevivência bacteriana foi apontada de acordo com a CBM pré-determinada. Foram transferidos 100µL de cada poço placas de Petri contendo TSA, em triplicata, sendo as amostras retiradas a cada 10 minutos por um período de 100 minutos. Em seguida as placas foram incubadas a 37°C por 24h. Após a incubação foi realizada a contagem de colônias. Os resultados obtidos foram tabulados e avaliados estatisticamente, no delineamento inteiramente ao acaso, como tipo parcelas subdivididas no tempo (Split Plot). As análises estatísticas foram realizadas no Software Minitab®, versão 18.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cepas utilizadas nesta pesquisa eram multirresistentes e provenientes de vacas com mastite clínica. A cepa 1 apresentava resistência a ampicilina, azitromicina, ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, penicilina G e tetraciclina, já a cepa 2 apresentava resistência a ampicilina, azitromicina, clindamicina, cloranfenicol, eritromicina, cefoxitina, gentamicina, penicilina G e tetraciclina. Alguns autores já relataram a multirresistência a antimicrobianos, como a oxacilina, penicilina, ampicilina, polimixina B, tetraciclina e lincomicina de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite clínica e subclínica bovina, como as cepas encontradas neste estudo (SANTOS, 2003; COSTA, 2008; MEDEIROS et al., 2009; NADER et al., 2014). Acredita-se que a elevada ocorrência de multirresistência de bactérias causadoras de mastite bovina está relacionada a pressão seletiva exercida pelos antimicrobianos e pelo uso inadequado destes fármacos, o que compromete a eficiência do tratamento (FAGUNDES & OLIVEIRA, 2004; MEDEIROS et al., 2009). O teste de eficácia dos extratos frente as cepas de *Staphylococcus aureus* multirresistentes foi realizado por meio da determinação da CIM. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1: Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos etanólicos frente a duas cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite clínica

Extrato	CIM (%)	
	CEPA 1	CEPA 2
Acerola	25	25
Jenipapo	6,2	3,2
Pitanga	0,8	1,6
Jambo	6,2	3,2
Tamarindo	3,2	3,2
Lichia	6,2	3,2
Romã	0,8	1,6
Graviola	-	-

Fonte: Elaborada pelos autores

Avaliando os resultados da CIM, notou-se que apenas o extrato etanólico de graviola não demonstrou efeito de inibição nas duas cepas de *Staphylococcus aureus* multirresistentes estudadas. Os extratos de acerola, jenipapo, pitanga, jambo, tamarindo, lichia e romã, demonstraram eficácia frente as duas cepas testadas, com destaque aos extratos de pitanga e romã, pois inibiram o crescimento das cepas em concentrações baixas, 0,8% e 1,6%. Outros estudos já revelaram a ação inibitória de extratos de plantas e óleos essenciais contra *Staphylococcus aureus*, dentre eles podemos citar a ação positiva do extrato de *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin &

Barneby, Turnera subulata (Sm.), *Pluchea sagittalis* (Lam.), *Croton antisiphiliticus* (Mart.), *Alpinia zerumbet* (Pers.), *Salvinia auriculata*, e de óleos essenciais, como *Cinnamomum zeylanicum*, *Citrus bergamia*, *Eucalyptus globulus*, *Origanum majorana*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Cinnamon cassia* (CORREA *et al.*, 2010; FRATINI *et al.*, 2014; NADER *et al.*, 2014; BERNARDO *et al.*, 2015; ZHU *et al.*, 2016; LIMA, 2016; BORGES, 2018; OLANDA *et al.*, 2019). A ação eficaz do extrato de romã no controle de *Staphylococcus aureus* também foi relatada no estudo de Silva *et al.* (2013), assim como Kauffmann *et al.* (2017) citou o efeito positivo do extrato de pitanga, não só no controle da bactéria, mas também na inibição de formação de biofilme. Este fato reforça os dados encontrados nesta pesquisa, que sugerem a utilização do extrato de pitanga ou romã como opção terapêutica para o controle da mastite bovina por *Staphylococcus aureus*. Nesta pesquisa, também foi realizado o teste para verificação da concentração bactericida mínima (CBM), após a obtenção da CIM. O teste da CBM demonstra a menor dose dos extratos que inibiu o crescimento bacteriano. Os dados obtidos estão descritos na Tabela 2.

Esta avaliação permitiu determinar a CBM para cada um dos extratos etanólicos estudados, destacando a eficácia novamente do extrato de pitanga e romã, frente aos dois patógenos avaliados, pois anularam a carga microbiana em concentrações de 1,6%. É possível observar também que a contagem microbiana com utilização de concentrações maiores de outros extratos também apresentou efeito positivo. Apenas o extrato de graviola não apresentou efeito bactericida. Extratos de *Pilocarpus microphyllus*, *Pluchea sagittalis* e *Chenopodium ambrosioides* também não demonstraram efeitos inibitórios frente a *Staphylococcus aureus* em outros estudos (SANTOS, 2016; GRANDINI, 2017; LOURENCINI *et al.*, 2017). O comportamento das cepas de *Staphylococcus aureus* multirresistentes avaliadas por meio da curva de sobrevivência bacteriana com relação ao tempo de exposição aos extratos, está descrito nas Tabelas 3 e 4. Os resultados da Tabela 3 e 4 indicam que os extratos etanólicos demonstraram praticamente a mesma eficácia para as duas cepas analisadas, destacando-se os extratos de pitanga e romã, pois anularam a carga microbiana de *Staphylococcus aureus* em até 50 minutos.

Tabela 2. Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos etanólicos frente duas cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite clínica

Extrato	CBM (%)	
	CEPA 1	CEPA 2
Acerola	50	50
Jenipapo	6,2	6,2
Pitanga	1,6	1,6
Jambo	6,2	3,2
Tamarindo	3,2	6,2
Lichia	12,5	6,2
Romã	1,6	1,6
Graviola	-	-

Fonte: Elaborada pelos autores

Tabela 3. Médias da contagem de *Staphylococcus aureus* da Cepa 1 para os tempos avaliados utilizando a CBM de cada extrato etanólico efetivo

Tempo (min)	Acerola (50%)	Jenipapo (6,2%)	Pitanga (1,6%)	Jambo (6,2%)	Tamarindo (6,2%)	Lichia (12,5%)	Romã (1,6%)
0	$1,3 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,8 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^5$
10	$1,7 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$
20	$1,0 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^3$
30	$2,5 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^2$	$2,5 \cdot 10^1$	$2,5 \cdot 10^2$	$3,0 \cdot 10^1$
40	$1,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^1$	$1,5 \cdot 10^1$	$1,5 \cdot 10^1$	$1,3 \cdot 10^1$	15,0
50	$1,1 \cdot 10^1$	25,0	4,0	8,0	$1,0 \cdot 10^1$	$1,0 \cdot 10^1$	5,0
60	7,0	11,0	0,0	2,0	7,0	3,0	0,0
70	5,0	3,0	0,0	1,0	2,0	1,0	0,0
80	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
90	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Fonte: Elaborada pelos autores

Tabela 4. Médias da contagem de *Staphylococcus aureus* da Cepa 2 para os tempos avaliados utilizando a CBM de cada extrato etanólico efetivo

Tempo (min)	Acerola (50%)	Jenipapo (6,2%)	Pitanga (1,6%)	Jambo (6,2%)	Tamarindo (6,2%)	Lichia (12,5%)	Romã (1,6%)
0	$1,4 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^5$	$1,8 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^5$	$1,8 \cdot 10^6$	$2,0 \cdot 10^5$	$2,1 \cdot 10^5$
10	$1,5 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^3$
20	$1,0 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^2$
30	$1,7 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^2$	$2,0 \cdot 10^1$	$2,0 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^1$
40	$1,0 \cdot 10^2$	$1,3 \cdot 10^1$	$1,0 \cdot 10^1$	$1,7 \cdot 10^1$	$1,3 \cdot 10^1$	$1,7 \cdot 10^1$	12,0
50	$1,1 \cdot 10^1$	$1,0 \cdot 10^1$	5,0	$1,0 \cdot 10^1$	9,0	$1,2 \cdot 10^1$	4,0
60	15,0	9,0	0,0	8,0	2,0	16,0	0,0
70	2,0	5,0	0,0	5,0	0,0	8,0	0,0
80	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	2,0	0,0
90	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Fonte: Elaborada pelos autores

Os extratos de jambo e lichia apresentaram menor eficácia, pois necessitaram de 80 minutos de exposição para anular a carga microbiana. Este resultado demonstra o efeito inibidor dos extratos nas concentrações determinadas nesta pesquisa na região de estudo. Sperandio et al. (2019) determinaram a CIM de 1mg/mL do óleo essencial de *Tagetes minuta* no controle de *S. aureus*, porém, outras pesquisas demonstraram diferenças entre as concentrações efetivas de plantas provenientes de outros países (SENATORE et al., 2004; SHIZARI et al., 2014). Este fato pode estar relacionado as variações de composição da planta decorrente do local de cultivo, estágio de crescimento, localização geográfica, nutrientes presentes no solo e parte da planta utilizada para extração do extrato (SINGH et al., 2006; MOGHADDAM et al., 2007; CHAMORRO et al., 2008). Além disso, pequenas variações genéticas e fenotípicas estão presentes entre os isolados microbianos, por isso, podem induzir a ocorrência de pequenas alterações na susceptibilidade relacionada ao extrato testado (SANTOS, 2016). Estudos já constataram este evento, pois o extrato de *Eucalyptus globulus* foi eficiente contra amostras de *S. aureus* isoladas de mastite clínica, porém não demonstrou resultado quando o isolado foi proveniente de vacas com mastite subclínica. Já o extrato de *Vernonia polyanthes*, *Momordica charantia* e *Piptadenia gonoacantha* teve ação contrária ao *Eucalyptus globulus*, apresentando eficácia contra isolados de mastite subclínica e nenhuma eficácia frente a isolados de mastite clínica. Enquanto *Schinus terebinthifolius* apresentou ação positiva independente da origem do patógeno (SOUZA et al., 2015; SANTOS et al., 2016).

Santos (2016) sugeriu as espécies *Cymbopogon citratus*, *Elionurus muticus*, *Tetradenia riparia*, *Vetiver zizanioides* como espécies promissoras no combate de *S. aureus* em concentrações de 0,125 a 0,250 mg. mL⁻¹. *Cymbopogon citratus*, demonstrou eficácia também em outros estudos (MARTINS et al., 2004; EKPENYONG, et al., 2015). Na presente pesquisa sugere-se como extratos etanólicos com potencial promissor para o combate a *S. aureus* multirresistentes isoladas de mastite clínica, o de acerola na concentração de 50%, lichia concentração 12,5%, jenipapo, jambo e tamarindo concentração 6,2%, e pitanga e romã concentração 1,6%. Estes resultados evidenciam que os compostos naturais tem potencial para inibir o crescimento de microrganismos patogênicos multirresistentes. A vantagem do uso de extratos de plantas é, por ser compostos novos, a incapacidade do patógeno em inativá-lo, além de serem menos tóxicos aos seres humanos, animais e ao ambiente, e também ser provenientes de fontes renováveis e sustentáveis. Desta forma o uso destas substâncias com potencial antimicrobiano, é muito importante, principalmente para o desenvolvimento de novos medicamentos de forma sustentável.

Conclusão

Com a realização deste trabalho pode-se concluir que 87,5% dos extratos estudados sugerem ter efeito positivo no controle de *S. aureus* multirresistentes isoladas de mastite clínica nas concentrações pesquisadas, sendo que os extratos de pitanga e romã demonstraram melhor eficácia. Para alcançar efetividade com relação a inibição total de crescimento de *S. aureus* multirresistentes, sugere-se a utilização de extrato etanólico de pitanga ou romã em concentração de 1,6% por 50 minutos. Pelo fato dos extratos apresentarem capacidade para inibir o crescimento de microrganismos patogênicos multirresistentes e pela facilidade de aquisição e seu baixo custo, pode ser viável

a utilização destes como tratamento alternativo para mastite clínica causada por *S. aureus* multirresistentes, porém, novas pesquisas devem ser realizadas por meio do teste *in vivo*, e avaliação dos aspectos toxicológicos das plantas.

REFERÊNCIAS

- Bernardo, T. H. L., Veríssimo, R. C. S. S., Alvino, V., Araújo, M. G., Santos, R. F. E. P. D., Viana, M. D. M., Bastos, M. L. D. A., Moreira, M. S. A., e Araújo Júnior, J. X. D. (2015). Antimicrobial Analysis of an Antiseptic Made from Ethanol Crude Extracts of *P. granatum* and *E. uniflora* in Wistar Rats against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. The Scientific World Journal, v. 2015, pp. 1-8.
- Borges, A.L.O. (2018). Potencial antimicrobiano dos extratos etanólicos das plantas da caatinga *Turnera subulata* Sm. e *Senna siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby frente a isolados de *Staphylococcus spp.* Monografia (Graduação em Agronomia). Instituto Federal Sertão, Brasil.
- Chamorro, E.R., Ballerini, G., Sequeira, A.F., Velasco, G.A., E Zalazar, M.F. (2008). Chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* L. leaves and flowers. Journal of the Argentine Chemical Society, v.96, pp.80-86.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-second Informational Supplement M100-S22, Wayne, PA. v.32, n.3, pp.1-184.
- Correa, A.J. C., Lima, C. E., e Costa, M.C.C.D. (2010). *Alpinia zerumbet* (Pers) B.L. Burtt & R. M. Sm (Zingiberaceae): levantamento de publicações nas áreas farmacológica e química para o período de 1987 a 2008. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.12, pp.113-119.
- Costa, G.M. (2008). Mamite Bovina em rebanhos leiteiros da região sul do estado de Minas Gerais. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.
- Duarte, M.C.T., Figueira G.M., Pereira, B., Magalhaes, P.M., e Delarmina, C. (2004). Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcolicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 14, supl. 01, pp. 06-08.
- Ekpennyong, C. E., Akpan, E., Nyoh, A. (2015). Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts. Chinese Journal of Natural Medicines, v.13, n.5, pp.321-337.
- Fagundes, H., e Oliveira, C.A.F. (2004). Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. Ciência Rural, v.34, n.4, pp.1315-1320.
- Fratini, F., Casella, S., Leonardi, M., Pisseri, F., Ebani, V.V., Pistelli, L., e Pistelli, L. (2014). Antibacterial activity of essential oils, their blends and mixtures of their main constituents against some strains supporting livestock mastites. Fitoterapia, v.96, pp.1-7.
- Goncalves, C. L., Schiaven, D.B.A., Mota, F.V., Faccin, A., Schubert, R.N., Schiedeck, G., e Schuch, L.F.D. (2013). Actividad antibacteriana de los extractos de *Cymbopogon citratus*, *Elionurus sp.* y *Tagetes minuta* contra bacterias que causan mastitis. Revista Cubana de Plantas Medicinales, v. 18, n. 3, pp. 487-494.
- Grandini, C. P. (2017). Obtenção de extratos voláteis e não voláteis de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera (quitoco):

- processos e análises. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil.
- Hocayen, P.A.S., e Pimenta, D.S. (2013). Extrato de plantas medicinais como carrapaticida de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.15, n.4, supl.I, pp.627-631.
- Kauffmann, C., Soares, A.P.V., Arossi, K., Pacheco, L.A., Buhl, B., Freitas, E.M., Hoehne, L., Castro, L.C., Gnoatto, S.C.B., e Ethur, E.M. (2017). Potencial antimicrobiano e antibiofilme *in vitro* de espécies do gênero *Eugenia*, *Myrtaceae*, nativas do Sul do Brasil. Revista Caderno Pedagógico, v.14, n.2, pp.110-127.
- Lima, S. (2016). Constituintes químicos isolados de *Salvinia auriculata* Aubl. e atividade antibacteriana de extratos brutos sobre estirpes de *Staphylococcus aureus* causadoras de mastite bovina. Tese (Doutorado em Bioquímica Aplicada). Universidade Federal de Viçosa, Brasil.
- Lourencini, M.P., Goldner, M.A., Tavares, B.T., Franco, M.C., Lima, G.R.S., Donatele, D.M., Porfirio, L.C., Taquetti, V.B., Almeida, I.C., e Berbari Neto, F. (2017). Efeito fitoterápico *in vitro* de *Chenopodium ambrosioides* frente a *Staphylococcus aureus*, principal causador da mastite bovina. Revista Acadêmica Ciência Animal, v.15, supl. 2, pp.263-264.
- Martins, M.B.G., Martins, A.R., Telascra, M., e Cavalheiro, A.J. (2004). Caracterização anatômica da folha de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Poaceae) e perfil químico do óleo essencial. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.6, pp.20-29.
- Medeiros, E.S., Mota, R.A., Santos, M.V., Freitas, M.F.L., Pinheiro Junior, J.W., e Teles, J.A.A. (2009). Perfil de sensibilidade microbiana *in vitro* de linhagens de *Staphylococcus* spp. isoladas de vacas com mastite subclínica. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.29, pp.569-574.
- Moghaddam, M., Omidbiagi, R., e Sefidkon, F. (2007). Changes in content and chemical composition of *Tagetes minuta* oil at various harvest times. Journal of Essential Oil Research, v.19, pp.18-20.
- Nader, T. T. (2010). Potencial de atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais do cerrado frente estirpes de *Staphylococcus aureus*. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva). Universidade Estadual Paulista, Brasil.
- Nader, T. T., Coppede, J. S., Amaral, L.A., e Pereira, A.M. S. (2014). Atividade antibiofilme de diterpeno isolado de *Crotonantispylliticus* frente *Staphylococcus aureus*. ARS Veterinária, v.30, pp.32-37.
- Olanda, G.B., Bevilaqua, G.A.P., Schuc, L.F.D., Prestes, L.S., e Job, R.B. (2019). Estabilidade da atividade antibacteriana do extrato de *Pluchea sagittalis* (lam.) Cabrera frente a microrganismos causadores da mastite bovina. Arquivos de Ciência Veterinária e Zoologia da UNIPAR, v.22, pp.21-25.
- Pedrini, S.C.B., e Margatho, L.F.F. (2003). Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. Arquivos do Instituto Biológico, v.70, n.4, pp.391-395.
- Peixoto, E.C.T.M., Pelanda, A.G., Radis, A.C., Heinzen, E.L., Garcia, R.C., e Valerio, M.A. (2009). Incidência de mastite bovina em animais homeopatizados. Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”, v.64, n.367/368, pp.66-71.
- Santos, A.F.S. (2016). Atividade de óleos essenciais sobre cepas de *S. aureus* associadas à mastite bovina: inibição do biofilme e ocorrência de hormesis. Tese (Doutorado em engenharia de alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Brasil.
- Santos, F.G.B., Mota, R.A., Silveira Filho, V.M., Souza, H.M., Oliveira, M.B.M., Johner, J.M.Q., Leal, N.A., Almeida, A.M.P., e Lealbalbino, T.C. (2003). Tipagem molecular de *S. aureus* isolados do leite de vacas com mastite subclínica e equipamentos de ordenha procedentes do estado de Pernambuco. Napagama, v.6, n.1, pp.19-23.
- Santos, J.C., Cunha, A.F., Alves, R.G., Fontes, T.O.M., Cardoso, V.A.F.X., e Nunes, M.F. (2016). Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de plantas frente à *Staphylococcus aureus* isolados de bovinos com mastite. Revista Científica Univiçosa, v.8, n.1, pp.123-129.
- Senatore, F., Napolitano, F., Mohamed, M.A.H., Haris, P.J.C., Mnkeni, P.N.S., e Henderson, J. (2004). Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (*Asteraceae*) essential oil with different chemical composition. Flavour and Fragrance Journal, v.19, n.6, pp.574-578.
- Shizari, M.T., Gholami, H., Kavooosi, G., Rowshan, V., e Tafsiry, A. (2014). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Tagetes minuta* and *Ocimum basilicum* essential oils. Food Science and Nutrition, v.2, pp.146-155.
- Silva, B. T., Anjos, C., Novo, S.M. F., Matsumoto, L. S., Peixoto, E.C.T. M., Silva, L. P., e Silva, R.M.G. (2013). Atividade antimicrobiana *in vitro* de extrato de *Punica granatum* L. sobre *Staphylococcus aureus* isolado em leite bovino. Bioscience Journal, v.29, pp.974-984.
- Singh, A., Khanuja, S.P.S., Arya, S.J.K., Singh, S., e Yadav, A. (2006). Essential oil quality and yield with respect to harvest index in *Tagetes minuta* cultivated in sub-tropical plains of North India. Journal of Essential Oil Research, v.18, pp.362-365.
- Souza, A.P.O., Oliveira, R.M., Oliveira, S.F., e Fortuna, J.L. (2015). Atividade antimicrobiana dos sumos de alecrim, aroeira, guiné e mastruz sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Revista Scientia Plena, v.11, n.7, pp.1-9.
- Sperandio, J., Veleirinho, B., Honorato, L.A., Casmpestrini, L.H., e Kuhnen, S. (2019). Atividade antimicrobiana e citotoxicidade *in vitro* do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. visando à aplicação no controle da mastite bovina. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.71, n.4, pp.1251-1259.
- Zhu, H., Du, M., Fox, L., e Zhu, M.J. (2016). Bactericidal effects of *Cinnamomum cassia* oil against bovine mastitis bacterial pathogens. Food Control, v.66, pp.291-299.
