



Revista da Universidade Vale do Rio Verde
ISSN: 1517-0276 / EISSN: 2236-5362
v. 16 | n°. 3 | Ano 2018

Glei dos Anjos de Carvalho-Castro

Docente curso de Medicina Veterinária da
Universidade Vale do Rio Verde – UninCor
glei.castro@unincor.edu.br

Maria Cecília Miranda Mesquita

Acadêmica do curso de graduação em Medicina
Veterinária da Universidade Vale do Rio Verde –
UninCor
mariacmmesquita@gmail.com

Larissa Dias Moreno

Acadêmica do curso de graduação em Medicina
Veterinária da Universidade Vale do Rio Verde –
UninCor
morenodlarissa@gmail.com

Dircéia A. C. Custódio

Doutorando do Curso de Ciências Veterinárias da
Universidade Federal de Lavras - UFLA
dirceia@dmv.ufla.br

Geraldo Márcio da Costa

Professor Associado III da Universidade Federal
de Lavras - UFLA
gmcosta@gmail.com

Elaine Aparecida Rocha Domingues

Doutora em Ciências da Saúde e Docente do Curso
de Enfermagem Acadêmica do curso de graduação
da Universidade Vale do Rio Verde – UninCor
elainerocha.contato@gmail.com

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA ANTIBACTERIANA DE EXTRATO DE *Lentinula edodes* E DA SOLUÇÃO AQUOSA DO LÁTEX DE *Euphorbia* *tirucalli* FRENTE À BACTÉRIA *Streptococcus agalactiae*: ESTUDOS PRELIMINARES

RESUMO

Streptococcus agalactiae é agente causador de enfermidades em seres humanos e animais, sendo uma das principais causas de mastite bovina e perdas econômicas para os produtores leiteiros. Ademais, este patógeno tem apresentado resistência a antimicrobianos que são amplamente utilizados nos diferentes setores de produção animal. Diante disto, métodos alternativos de tratamento têm sido investigados visando o combate desta bactéria, dentre estes fitoterápicos e fungos. Dois agentes terapêuticos: *Lentinula edodes* e *Euphorbia tirucalli* têm demonstrado bons resultados como antimicrobianos e imunostimulantes contra outros patógenos. Entretanto, não há estudos que comprovem a eficácia destes agentes frente *S. agalactiae*. Portanto o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação antimicrobiana de extrato de *Lentinula edodes* e Solução aquosa de *Euphorbia tirucalli* obtidos destes agentes contra *S. agalactiae*. Foram utilizadas 25 bactérias pertencentes ao banco de cultura do Laboratório de Microbiologia da UFLA, isoladas de mastite bovina e uma amostra ATCC BAA – 611 como controle positivo dos testes. O método de concentração inibitória mínima (CIM) foi realizado para avaliar a eficiência dos extratos contra *S. agalactiae* utilizando uma faixa de concentração de 1000 µg/mL a 15,65 µg/mL, de cada um dos extratos. Não foi observada inibição de crescimento em nenhuma das amostras avaliadas, portanto as concentrações estudadas dos agentes não foram eficazes contra *S. agalactiae*.

Palavras-chave: mastite bovina. Fungo shiitake, coroa de cristo, GBS, Concentração inibitória mínima.

EVALUATION OF ANTIBACTERIAL EFFICIENCY OF *Lentinula edodes* EXTRACT AND AQUOSA LATEX SOLUTION OF *Euphorbia tirucalli* FRONT OF BACTERIA *Streptococcus agalactiae*: PRELIMINARY STUDIES

ABSTRACT

Streptococcus agalactiae is the causal agent of several humans and animal diseases, being one of the main cause of bovine mastitis and the economic losses to the farmers. Additionally, this bacterium has been presented antimicrobial resistance to antibiotics more used. Given this, alternative treatment methods

have been researched aiming the bacterial control. Inside this, are largely used herbal medicines and mushrooms *Lentinula edodes* and *Euphorbia tirucalli* against several pathogens however have not reports about this treatment against *S. agalactiae*. Therefore, the goal of this study was to evaluate *L. edodes* and *E. tirucalli* extracts against *Streptococcus agalactiae* isolated from mastitis bovine. Twenty five strains isolated from bovine mastitis and one ATCC BAA-611 belonging to culture collection of veterinary microbiology laboratory of Federal University of Lavras were evaluated. The minimum inhibitory concentration (MIC) technique was performed to assess the extract efficiency using the concentration range of 1000 µg/mL a 15,65 µg/mL of each ones. In this work, was found that the concentrations evaluated of the extracts was no able to inhibit the bacterial growth, therefore future studies with different concentrations are necessities to affirm that they are not efficient.

Keywords: bovine mastitis, shiitake mushroom, crown of Christ, GBS, Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Recebido em: 05/10/2018 - Aprovado em: 10/12/2018 - Disponibilizado em: 30/12/2018

1. INTRODUÇÃO

Streptococcus agalactiae (*S. agalactiae*) pertence ao filo *Firmicutes*, classe *Bacilli*. É uma bactéria gram-positivas, oxidase e KOH negativas. Esta bactéria é comensal do trato genitourinário e digestório de seres humanos e animais, porém possuem alto potencial patogênico (NCBI, 2018; SULLIVAN et al., 2017; BALDISSERA et al., 2018; ZHANG et al., 2018). Relatos mostraram sua capacidade de invadir e causar diferentes quadros clínicos em seres humanos e animais, sendo de grande relevância para a piscicultura e bovinocultura leiteira nacional (BARBOSA et al., 2017; CHILDEROLI et al., 2017; CARVALHO-CASTRO et al., 2017). Vários antimicrobianos são utilizados para tratar pacientes infectados por esta bactéria, entretanto foi mostrada a emergência de patógenos altamente resistentes a terapia convencional (CHILDEROLI et al., 2017; DA SILVA et al., 2017). Portanto, vislumbra – se a necessidade da inserção de tratamentos alternativos eficientes contra este agente.

Diante disto, fitoterápicos e microrganismos têm sido utilizados, a fim de selecionar novos princípios ativos eficazes, com toxicidade seletiva, contra bactérias resistentes (CASTRO et al., 2016). Dentre os agentes alvos de estudo como potenciais produtores de agentes antimicrobianos estão *Lentinula edodes* e *Euphorbia tirucalli*.

Lentinula edodes, popularmente conhecido como shiitake, é o cogumelo mais cultivado no mundo que possui vários princípios farmacêuticos eficientes descritos (SILVA, 2014). *Euphorbia tirucalli*, também denominada alveloz, é um arbusto, usado como cerca viva ou planta decorativa no Brasil. Além desta finalidade, alguns a utilizam como planta medicinal no tratamento contra sífilis, asma, reumatismo, câncer e tumores de pele (DUTRA et al., 2016). Apesar de relatos farmacêuticos das plantas supracitadas, ainda não existem muitas pesquisas que comprovem a eficácia dos extratos de *L. edodes* e *E. tirucalli* contra microrganismos bacterianos.

Portanto, o presente estudo visa avaliar a eficiência antimicrobiana dos extratos de *L. edodes* e *E. tirucalli* contra *S. agalactiae*

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae é uma bactéria gram-positiva pertencente ao filo *Firmicutes*, classe *Bacili*, ordem *Lactobacilales*, família *Streptococcaceae*, gênero *Streptococcus* (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION- NCBI, 2018). É um patógeno capaz de infectar diferentes grupos de hospedeiros sendo uma das principais causadoras da mastite bovina contagiosa. Em produções leiteiras este patógeno gera prejuízos aos produtores, devido à redução na produção, descarte e diminuição do valor comercial do leite cru pelo aumento da contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT). Consequentemente, há queda no rendimento e qualidade dos derivados lácteos e diminuição do tempo de prateleira do leite pasteurizado.

O tratamento da mastite contra *S. agalactiae*, ainda é feito com a administração de antibióticos, porém frequentemente é empregado de maneira indiscriminada. Isto, leva a seleção da resistência antibacteriana contra diversos agentes utilizados no mercado: Eritromicina (19,5%), tetraciclina (35,6%), gentamicina (9,3%), clindamicina (20,3%), penicilina (3,4%), ampicilina (38,1%) (DA SILVA et al., 2017).

Portanto, há necessidade de novas estratégias visando a redução da resistência

antimicrobiana assim como a redução de gastos pelo produtor pela obtenção de um produto de baixo custo, diminuição do descarte de leite, maximização da taxa de cura por animais (ROSSI, 2017).

Estudos com fitoterápicos e fungos têm sido considerados boas estratégias, com o intuito de descobrir substâncias ativas menos tóxicas e mais eficazes contra a resistência bacteriana (CASTRO et al., 2016).

A maioria dos produtos antimicrobianos disponíveis no mercado são de origem microbiana, sintética ou semissintética. O uso excessivo destes medicamentos seleciona microrganismos resistentes. Diante dessas circunstâncias a utilização de extratos de plantas com efeitos antimicrobianos pode ser uma alternativa para o tratamento de infecções bacterianas visando a redução da resistência antibacteriana (CARVALHO, 2017).

2.2 Fitoterapia

Fitoterapia significa “terapia com plantas”, ou seja, é o estudo da aplicação de produtos oriundos de plantas com propósito terapêutico de prevenir, atenuar ou curar um estado patológico (ROSSATO; CHAVES, 2012). Este ramo da terapêutica segue a medicina alternativa visando a manutenção da saúde, prevenção e melhoria de enfermidades de acordo com crenças e conhecimentos da cultura popular ou indígena (NÓBREGA et al., 2017). A Organização Mundial da Saúde (OMS) em 1978 definiu como planta medicinal qualquer vegetal que contenha em sua constituição substâncias que possam ser usadas para fins terapêuticos, ou

que seus precursores sejam utilizados para a semissíntese químico-farmacêutica. Em 3 de maio 2006, no Brasil, foi publicada a Portaria MS/GM Nº 971 referente a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), que tinha como objetivo o incentivo a criação de hortos de espécies medicinais, bem como a inserção de seu uso no Sistema Único de Saúde – SUS (ROSSATO; CHAVES, 2012; ROCHA et al., 2015).

Adicionalmente, em junho de 2006 o Ministério da Saúde (MS) publicou o Decreto nº 5813 da Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápico, instruindo a melhoria da produtividade de plantas medicinais (OLIVEIRA; ROPKE, 2016). O objetivo deste decreto foi assegurar a população do uso racional de vegetais fitoterápicos e a acessibilidade a eles, favorecendo a utilização sustentável da biodiversidade, o crescimento da produção e da indústria nacional. (CORRÊA; RODRIGUES; BARBANO, 2006). Porém, antes de fazer o uso de fitoterápicos deve-se levar em consideração os riscos de toxicidade que podem ser causados pelo uso das plantas (ROSSATO; CHAVES, 2012). Portanto, é prudente ser realizado o estudo dos fitoterápicos para cada tipo de enfermidade assim como espécie animal por ela acometida para a avaliação de toxicidade seletiva dos agentes escolhidos. Diferentes plantas têm sido relatadas como terapêuticos, dentre elas *Euphorbia tirucalli* e o fungo *Lentinula edodes*.

2.3 *Lentinula edodes*

A *Lentinula edodes* pertence ao Domínio: *Eukaryota*, Reino: *fungi*, Filo:

Basidiomycota, Subfilo: *Agaricomycotina*, Classe: *Agaricomycetes*, Subclasse: *Agaricomycetidae*, Ordem: *Agaricales*, Género: *Lentinula*, Espécie: *Lentinula edodes* (Centre for Agriculture and Bioscience International, CABI 1910). Tem como características a coloração castanha clara e castanha escura no chapéu, sua espessura varia com a temperatura, possui pontos brancos “salpicados” no rebordo do chapéu e no pé, à medida que o cogumelo vai envelhecendo suas brânquias finas tornam-se escuras, seu chapéu é convexo quase plano e mede de 5 a 20 cm de diâmetro tendo uma superfície seca e fibrosa. O pé tem 3 a 5 cm de largura e 8 a 13 mm de espessura, suas brânquias medem 5,5 a 6,5 mm por 3 a 3,5 mm, possui forma subcilíndrica, lisas e de paredes delgadas. (SILVA, 2014).

Este cogumelo é popularmente conhecido como shiitake, nomenclatura originada devido a relação biológica com a árvore shii, e take, nome japonês que significa cogumelo, uma vez que o maior produtor mundial deste vegetal é o Japão (SILVA, 2014). Este país e a China são os maiores produtores e consumidores deste cogumelo de sabor exótico e extremamente nutritivo, o que o torna o mais utilizado como alimento nutritivo e medicamento eficaz (DIAS, 2005; SOUZA, 2016).

O cultivo deste cogumelo pode ser associado a plantas como a amoreira, o carvalho e a castanheira, e de preferência em clima quente e úmido. A *Lentinula edodes* manifesta-se a partir de uma rede invisível de hifas que invadem o tecido da madeira e formam corpos de frutificação por degradação de seus componentes. Ele é o segundo cogumelo mais

cultivado do mundo, e sua produção aumentou 400% no período de 1986 a 1997 (SOUZA, 2016; SEABRA, 2015; SILVA, 2014).

O shiitake é considerado um alimento completo e muito nutritivo, composto por grande quantidade de água, hidratos de carbono, lipídeos, vitaminas e minerais com predomínio de potássio e fósforo. Possui alta porcentagem de vitamina D2 e contém um valor significativo de vitaminas B1, B2, B12, também é fonte de aminoácidos essenciais, proteínas (80% digestibilidade), carboidratos e possui um baixo teor de gorduras, com predomínio das insaturadas (SEABRA, 2015; SILVA 2014; SOUZA, 2016). Devido suas propriedades nutricionais, este cogumelo tem sido estudado em busca de introduzi-lo na alimentação visando a melhoria da saúde (SILVA, 2014). Ademais, como já mencionado, *Lentinula edodes* está entre os cogumelos mais valiosos como terapêuticos. Em estudos realizados pelos japoneses foi mostrado que o shiitake auxilia no combate a vírus e estimula o sistema imunológico (SILVA, 2014).

Foi mostrado que 80% a 85% dos produtos medicinais de cogumelos, são extraídos dos seus corpos de frutificação. Dentre os extratos é retirado um polissacarídeo: Lentinan, que é extraído da parede celular deste cogumelo, com massa molar de $(1.000.000 \text{ g.mol}^{-1})$, moléculas de D-glicopiranosose, ligações β -(1→3) na cadeia principal e β -(1→6) cadeia lateral, livre de proteínas, nitrogênio, fósforo e enxofre, solúvel em água e estável ao calor, ácidos e bases fracas (SILVA, 2014; DIAS, 2005).

Rincão et al. (2012) isolaram o polissacarídeo da *Lentinula edodes* (PLE), o

extrato aquoso (EAq) e o extrato etanoico (EtOHE) e avaliaram a capacidade antiviral desses contra os Polivírus tipo-1 (PV-1) e Herpes vírus bovino tipo-1 (BoHV-1). Eles concluíram que os extratos e o polissacarídeo atuam nos processos iniciais de replicação e podem ser considerados como uma fonte de potenciais substâncias antivirais sem indicar em que ponto isto acontece. Ademais, os compostos de cogumelo também parecem ser eficientes imunomoduladores, antitumorais/anticâncer, antibacterianos, antioxidantes, anti-hipoglicêmicos, e preventivos de doenças cardiovasculares por seus efeitos como agentes antiaterosclerose (ENSHASY; HATTI-KAUL, 2013).

2.4 *Euphorbia tirucalli*

A *Euphorbia Tirucalli* pertence ao reino *plantae*, sub-reino *viridiplantae*, superdivisão *embryophyta*, divisão *tracheophyta*, subdivisão *spermatophytina*, classe *magnoliopsid*, subordem *rosanae*, ordem *malpighiales*, família *euphorbiaceae*, gênero *euphorbia* l. espécie *Euphorbia tirucalli* (INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM, 2018).

Popularmente é conhecida por aveloz, Coroa-de-Cristo, Árvore de São Sebastião, Cachorro-Pelado, Cabelo-do-Diabo, Labirinto, Dedo-do-Diabo, Gaiolinha, Árvore de Lápiz, Dente de Cão, Espinho Italiano entre outros (WACZUK, 2012; ORLANDA, 2015; OLIVEIRA; EVANGELISTA-COIMBRA, 2014).

Esta planta é nativa do continente Africano e chegou ao Brasil no período de navegações. Ela é adaptada a clima quente, de fácil adaptação a solos secos e pobres, ambientes abertos, e em condições favoráveis pode atingir 9 metros. *E. tirucalli* é um arbusto verde, com ramos cilíndricos e folhas muito pequenas, de difícil visualização devido à queda após o nascimento. Esta vegetação secreta através de seus ramos uma substância leitosa denominada de látex, que pode ser extraído das folhas, caule e galhos. Este vegetal possui diversas utilidades, desde ornamentação como cerca viva em propriedades, lavouras agrícolas, ou de forma empírica como fitoterápico na medicina alternativa (SILVA, 2013; OLIVEIRA; EVANGELISTA-COIMBRA, 2014).

Uma das fontes fitoterápicas da *E. tirucalli* é o látex. Porém ele pode causar toxicidade aos que o manipulam por causar irritação na pele e mucosas, inflamações na pele, nos olhos e até cegueira temporária. Ainda mais, pode causar queimação na boca e garganta quando em contato com estas e se ingerida pode causar vômitos, diarreias e hemorragias proveniente de irritação na mucosa gástrica. Se há ingestão em grande quantidade pode ocasionar vasoconstrição, hipóxia tecidual e estimular a coagulação sanguínea. Devido estas propriedades tóxicas a planta foi catalogado no Programa Nacional de Informações sobre Plantas Tóxicas da fundação Oswaldo Cruz (SILVA, 2013; WACZUK, 2012). Apesar destas características toxicológicas, registros Africanos e de alguns países Europeus, mostram a utilização terapêutica da *E. tirucalli* na medicina popular como tratamento único e/ou tratamento

complementar de várias doenças. Esta planta tem ação antibacteriana, antiviral, antitumoral, antirreumática, laxante, antiparasitária, analgésica, antiinflamatória entre outros (SILVA, 2013).

Estudos *in vitro* realizados por Betancur et al. (2002), na Colômbia, mostraram que a planta possui alta capacidade de controle dos vírus Herpes Simplex tipo 2 e Epstein-Barr também chamado de herpesvírus humano 4. Outro estudo avaliou a influência do extrato durante o processo de proliferação de células cancerígenas do carcinoma espinocelular, na concentração de 25 µg / ml de *E. tirucalli*, nesta quantidade a fração mostrou – se capaz de inibir a proliferação de enzimas relacionadas ao tumor (WACZUK, 2012; FRANCO-SALLA et al. 2016). Já King e colaboradores (2009) foram capazes de demonstrar que o euphol isolado da seiva da *E. tirucalli* inibe o crescimento de células cancerígenas gástricas humanas. Diante disto a empresa brasileira “Amazonia Fitomedicamentos” começou uma pesquisa para investigar o extrato padronizado da seiva de *E. tirucalli*, este extrato continha 64% de euphol e mostrou – se eficaz na inibição *in vitro* de uma grande parte de células cancerosas humanas além de seguro quando administrado por via oral, em ensaio toxicológico (DUTRA; CAMPOS; SANTOS, 2016).

2.5 Avaliação antibacteriana

Para avaliação da ação antibacteriana dos extratos, podem ser empregados diferentes métodos, dentre eles Método de difusão em ágar por poço, macrodiluição e microdiluição (esses

dois últimos realizados em caldo). Estes métodos são de modo igual, admissíveis para a aferição quantitativa da atividade *in vitro* de um agente antimicrobiano em oposição a um isolado bacteriano.

O método de microdiluição em caldo tem sido utilizado com mais frequência para a determinação de concentração inibitória mínima de extratos de vegetais, além de demonstrar resultados mais confiáveis para a avaliação de agentes antimicrobianos, já que é estabelecida a menor concentração de uma substância antibacteriana, ou seja, é o extrato mínimo capaz de impedir por completo o crescimento microbiano, sendo possível a observação a olho nu (BONA et al., 2014; CLSI, 2012).

O processo de microdiluição em caldo implica o uso de pequenos volumes de caldo divididos em placas de plástico estéreis de microdiluição, que contém poços de fundo redondos, cônicos ou retos (CLSI, 2012).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Extração da solução aquosa do látex da *Euphorbia tirucalli*

A obtenção do látex foi realizada em uma residência particular. O látex foi extraído de acordo com o proposto por Araújo et al. (2015). Brevemente, várias incisões foram feitas nos galhos do vegetal adulto e posteriormente coletado utilizando uma seringa estéril, sendo a concentração inicial de 0,1ml de látex puro correspondente a 180mg, a substância foi adicionada a 9,9ml de água destilada obtendo 18mg/ml deste extrato que foi diluído em caldo

Müeller Hinton a concentração de 1000 µg/mL, que foi utilizada na determinação da concentração inibitória mínima (CIM).

3.2. Extração dos princípios da *Lentinula edodes*

3.2.1. Preparo das soluções testes

A amostra de *Lentinula edodes* foi preparada a partir do cogumelo seco adquirido em estabelecimento comercial de Três Corações - MG. O shitake foi submetido a duas formas de extração, sendo elas, aquosa e etanólica e posteriormente foram misturadas formando o extrato hidroalcoólico proposto por Rincão et al., (2012). Para a obtenção do extrato aquoso foi utilizado 2,56mg/ml do cogumelo seco, que foi suspenso em 60ml de água destilada e aquecido em estufa a 60° C por uma hora, após esse processo foi centrifugado a 3000 x g durante 5 minutos, o sobrenadante foi filtrado e armazenado a -20° C durante dois dias. O extrato etanólico foi obtido a partir da dissolução de 2,56mg/ml de cogumelo seco em etanol a 46% em temperatura ambiente, em seguida o extrato foi centrifugado a 3000 x g durante 5 minutos, o sobrenadante foi filtrado e armazenado a -20° C durante dois dias. Após extração, obteve-se uma concentração de 5,128mg/ml que foi diluído em caldo Müeller Hinton, para a obtenção da concentração de 1000 µg/mL, que foi utilizada para determinação da CIM.

3.3. Amostras bacterianas

Vinte e cinco (25) amostras de *S. agalactiae* isolados de mastite de rebanhos brasileiros,

pertencentes ao banco de culturas do Laboratório de Microbiologia Veterinária da Universidade Federal de Lavras foram utilizadas neste estudo. Adicionalmente foi utilizada a cepa *Streptococcus agalactiae* (ATCC BAA - 611) como controle positivo da reação.

3.4. Preparo do inóculo

As amostras supracitadas foram cultivadas em ágar Muller Hinton sangue ovino 5% foram preparados utilizando as amostras supracitadas a 37°C durante 24h. Para a realização do preparo do inóculo bacteriano, cinco colônias foram coletadas e transferidas para tubos com solução salina estéril NaCl 0,85%, (p/v) até atingir turbidez equivalente a escala McFarland 0,5 (aproximadamente 1×10^8 UFC/mL).

3.5. Concentração inibitória mínima (CIM)

A CIM desta pesquisa foi obtida a partir do método de microdiluição em microplacas de 96 poços com fundo reto e estéreis, contendo caldo Mueller-Hinton suplementado com Cálcio e Magnésio, nas concentrações de 25mg/l de cálcio e 12,5mg/l, respectivamente, de acordo com CLSI (2012).

Para preparo das microplacas para microdiluição, foi utilizada a técnica descrita no CLSI (2012). Sendo feitas diluições para obter-se 1000µg/ml a 15,65µg/ml dos extratos preparados das plantas *Euphorbia tirucalli* e *Lentinula edodes*. Com uma pipeta, foi adicionado o volume de 200µL de extrato à primeira coluna de poços da microplaca, para cada diluição posterior, usou-se uma pipeta com volume de

100µL, e estas soluções foram distribuídas pelos poços da microplaca até a coluna 11. Os inóculos foram adicionados em duplicata à coluna 12 da microplaca no volume de 100µL cada. Posteriormente os inóculos foram distribuídos em volume de 10µL nos poços da coluna 1 a 10 da microplaca. Sendo a coluna 11 utilizada como forma de controle, ou seja, foi adicionado apenas o extrato diluído para observar se o mesmo estava contaminado ou não. Depois deste processo as microplacas foram acondicionadas em estufa à 37° C durante 24 horas e submetidos a leitura.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Este estudo propôs demonstrar que os extratos das plantas *Lentinula edodes* e *Euphorbia tirucalli*, seriam capazes de atuar como antimicrobianos frente à bactéria *Streptococcus agalactiae*. Após período de incubação foi observado que nenhuma das bactérias teve seu crescimento inibido pelos extratos utilizados. Isto pode ter ocorrido devido a utilização de uma concentração inibitória inicial muito baixa no trabalho (1000 ug/mL). Esta concentração foi escolhida devido a *E. tirucalli* possuir características de toxicidade. Em outros trabalhos com diversos extratos, as concentrações são maiores. Castro et al. (2014) analisaram a eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* frente *Staphylococcus aureus* com uma concentração de 150mg/mL da planta. Do mesmo modo, Silvestri et al. (2010) avaliaram as atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*

Thunb.), utilizou 333 mg/ mL. Já no estudo feito por BONA et al. (2012), sobre Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos, foram utilizadas 200mg/ml do extrato diluído. Para avaliar o potencial antimicrobiano do látex de *Himatanthus articulatus* Nascimento et al. (2017) utilizaram 40mg/ml do extrato bruto. E na pesquisa de Santos, Santos e Marisco (2017) sobre a ação antimicrobiana da infusão de folhas de *Spondias purpurea* L. foi usado 25,5 e 100mg/ml do extrato bruto.

Outro problema que pode ter acontecido na execução do trabalho foi a técnica para extração

dos extratos. Outros métodos devem ser testados e padronizados. Portanto, com o resultado obtido, não é possível afirmar que os extratos da planta e do fungo utilizados foram extraídos com sucesso.

5. CONCLUSÃO

Serão necessárias padronizações de concentrações e extrações dos princípios ativos a serem utilizados para confirmar com acurácia sua eficiência ou não frente *Streptococcus agalactiae*.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, L. A. de et al. **Efeitos do tratamento tópico com o látex da *euphorbia tirucalli* na sobrevida de ratos com peritonite experimental.** 2013. 50 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia.

BALDISSERA, M. D. et al. Efficacy of dietary curcumin supplementation as bactericidal for silver catfish against *Streptococcus agalactiae*. **Microbial pathogenesis**, v. 116, p. 237-240, 2018.

BARBOSA, N. G. et al. Colonização materna por estreptococos do grupo b: prevalência e suscetibilidade aos antimicrobianos/group b streptococcus colonization in pregnant women: prevalence and antimicrobial susceptibility. **Revista de Pesquisa em Saúde**, v. 17, n. 1, 2016.

BONA, E. A. M. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde, **Manual de utilização de animais/Fiocruz**, comissão de Ética No Uso De Animais De Experimentação, Rio de Janeiro, 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde, **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos

Departamento de Assistência Farmacêutica, Brasília, 2006.

CARVALHO-CASTRO, G. A. et al. Molecular epidemiology of *Streptococcus agalactiae* isolated from mastitis in Brazilian dairy herds. **Brazilian journal of microbiology**, v. 48, n. 3, p. 551-559, 2017.

CARVALHO, M. P. **Avaliação da atividade antimicrobiana dos basidiomicetos: *Lentinula edodes*, *Lentinus crinitus*, *Amauroderma* sp. e *Pycnoporus sanguineus***, 2007, 93f, Faculdade de agronomia, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

CASTRO, K. N. de C. et al. Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* sobre *Staphylococcus aureus*. **Arq. Inst. Biol.**, v.83, e0192014. Epub 01-Set-2016.

Centre for Agriculture and Bioscience International. Disponível em <https://www.cabi.org/isc/datasheet/58359>

CHILDEROLI R. T. et al. Emergence of a new multidrug-resistant and highly virulent serotype of *Streptococcus agalactiae* in fish farms from Brazil. **Aquaculture**, v. 479, n.1, October 2017, p. 45-5.

DA SILVA, J. R. et al. In vitro antimicrobial susceptibility and genetic resistance determinants of *Streptococcus agalactiae* isolated from mastitic cows

- in Brazilian dairy herds. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, 2017.
- DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, 2016 Oct;112:4-29.
- FRANCO-SALLA, G. B. et al. *Euphorbia tirucalli* modulates gene expression in larynx squamous cell carcinoma. **BMC complementary and alternative medicine**, São Paulo, 2016.
- Integrated Taxonomic Information System. Disponível em https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=502550#null
- NASCIMENTO, J. E. C. et al. Avaliação do potencial antioxidante e anti-Helicobacter pylori in vitro de extratos de plantas medicinais utilizadas popularmente na região amazônica. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v.11, n. 2, 119-249, 2017.
- National Center for Biotechnology Information. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em 20 de fevereiro de 2019.
- OLIVEIRA, A. C. D.; ROPKE, C. D. **Os dez anos da Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (PNPMF) e os principais entraves da cadeia produtiva de extratos vegetais e medicamentos fitoterápicos no Brasil**, Política e Gestão da Inovação, Rio de Janeiro, p.95-219, 2016.
- OLIVEIRA, B. M; EVANGELISTA-COIMBRA, C. C. B. *Euphorbia tirucalli*: No Tratamento Complementar Do Câncer. **Revista UNINGÁ**, Uningá, V.20, 2014.
- ORLANDA, J.F.F.; VALE, V. V. Análise fitoquímica e atividade fotoprotetora de extrato etanólico de *Euphorbia tirucalli* Linneau. **Revista Brasileira Pl. Med**, Campinas, v. 17, 2015.
- RINCÃO, V. P. et al. Polysaccharide and extracts from *Lentinula edodes*: structural features and antiviral activity. **Virology journal**, v. 9, n. 1, p. 37, 2012.
- ROCHA, F. A. G. et al. O uso terapêutico da flora na história mundial, HOLOS, Natal, v. 1, p. 49-61, 2015.
- ROSSATO, A. E.; CHAVES, T. R. C. Fitoterapia Racional, **Aspectos Taxonômicos, Agroecológicos, Etnobotânicos e Terapêuticos**, ed. DIOESC, Florianópolis
- DIAS, Rafael. Isolamento e caracterização do lentinan de cogumelos shiitake cultivados em Santa Catarina**, 2005, Florianópolis, 80f, Tese (para obtenção de título de mestre em química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- ROSSI, R. S.. **Novas estratégias para o aumento da eficácia em programas de erradicação de Streptococcus agalactiae em rebanhos bovinos leiteiros**. 2017. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Estadual Paulista.
- SANTOS, R.; SANTOS, R.; MARISCO, G. Avaliação da atividade genotóxica, citotóxica e antimicrobiana da infusão das folhas de *Spondias purpurea* L. **Scientia Plena**, v. 13, n. 3, 2017.
- SEABRA, A. L. **Cogumelos e saúde**. 2015. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Instituto Universitário Egas Moniz.
- SILVA, J. R. Et al. In vitro antimicrobial susceptibility and genetic resistance determinants of *Streptococcus agalactiae* isolated from mastitic cows in Brazilian dairy herds. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 4, suplemento 1, p. 2581-2594, 2017.
- SILVA, M. dos P. P. da. **Anteprojeto de cogumelos shiitake (Lentinula edodes) em modo de produção biológico**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agricultura Biológica). Instituto Politécnico de Viana do Castelo.
- SILVA, R. A. O. et al. Prospecção Tecnológica De Fitoterápico (*Euphorbia Tirucalli* L.) Utilizado No Tratamento De Neoplasias E Outras Doenças. **Caderno de prospecção**, Teresina, v.6, 2013.
- SILVESTRI, JANDIMARA DONIELLI FIOR et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Ceres**, v. 57, n. 5, 2015.
- SOUZA, L. G. **Cultivo de Lentinula edodes e Pleurotus ostreatus em bagaço de cana-de-açúcar**. 2016, 58f, Tese (Mestrado em microbiologia aplicada) – Instituto de biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- SULLIVAN, M. J. et al. Complete Genome Sequence of Serotype III *Streptococcus agalactiae* Sequence Type 17 Strain 874391. **Genome announcements**, v. 5, n. 42, p. e01107-17, 2017.
- ZHANG, H. et al. Análises Transcriptômicas e iTRAQ-Proteômicas do Tecido Mamário Bovina com Mastite Induzida por *Streptococcus agalactiae*. **Jornal de química agrícola e de alimentos**, v. 66, n. 42, p. 11188-11196, 2018.