



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO**

**JULIA SANTOS UMBELINO DE OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE**  
***Mimosa tenuiflora*, FRENTE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ASSOCIADAS À**  
**MASTITE BOVINA**

RECIFE

2023

JULIA SANTOS UMBELINO DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE  
*Mimosa tenuiflora*, FRENTE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ASSOCIADAS À  
MASTITE BOVINA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à  
Coordenação do curso de Bacharelado em  
Ciências Biológicas da Universidade Federal de  
Pernambuco, como requisito parcial à obtenção  
do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dra. Norma Buarque de Gusmão

RECIFE

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Oliveira, Julia Santos Umbelino de .

Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos da *Mimosa tenuiflora*, frente cepas de *Staphylococcus aureus* associadas à mastite bovina / Julia Santos Umbelino de Oliveira. - Recife, 2023.

56 : il., tab.

Orientador(a): Norma Buarque de Gusmão

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2023.

9,6.

1. Mastite bovina. 2. Resistência microbiana. 3. Plantas medicinais. 4. Plantas como fontes de compostos bioativos . I. Gusmão, Norma Buarque de . (Orientação). II. Título.

570 CDD (22.ed.)

JULIA SANTOS UMBELINO DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE  
*Mimosa tenuiflora*, FRENTE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ASSOCIADAS À  
MASTITE BOVINA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à  
Coordenação do curso de Bacharelado em  
Ciências Biológicas da Universidade Federal de  
Pernambuco, como requisito parcial à obtenção  
do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 28/08/2023

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Norma Buarque de Gusmão (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr.<sup>o</sup> Erik Jonne Vieira de Melo (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

MSc. Nínive Bezerra Florêncio (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sou grata aos meus pais, João Batista e Nilzely Santana. Agradeço por todo incentivo, suporte, amor, compreensão e pelos sacrifícios que me permitiram alcançar meus objetivos e realização dos meus sonhos. Ao meu irmão Júlio César, sou grata pelas palavras de incentivo e momentos de descontração que me auxiliaram a ter mais leveza nessa caminhada. Amo-os demais!

Ao meu namorado Lucas Roberto, agradeço o apoio, companheirismo, ajuda, amor e dedicação durante todos esses anos. Sou extremamente grata por todo suporte e pelo acolhimento nos momentos bons e ruins.

À minha orientadora Dr<sup>a</sup> Norma Buarque de Gusmão, admiro sua trajetória e agradeço pelo incentivo, paciência, disponibilidade e conhecimento compartilhado durante o período em que estive comigo. Obrigada pela oportunidade e por ter agregado na minha trajetória acadêmica.

À banca examinadora, sou grata pelos conselhos, sugestões e pelo conhecimento compartilhado.

Ao Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial (LAMAI) e todos os membros que estiveram presentes na rotina do laboratório e me auxiliaram durante esse período. Carlos, Eduardo, Erik, Fernanda, Nicole, Nínive, Pérsio e Willyane, sou grata por todas as conversas, momentos de descontração e colaboração durante os experimentos.

As minhas amigas, Laís Galvão e Maria Eduarda Alves, sou eternamente grata por todo o suporte, companheirismo, amizade, incentivo e compreensão durante todo o período da graduação. Sou grata por todos os momentos compartilhados e desejo imensamente levar nossa amizade para a vida inteira.

Aos meus colegas de turma, Ailton Matheus, Amaury Oliveira, Gabriel Barboza, Louize Regal, Marjori Silva, Pedro Henrique e Saulo Albuquerque, agradeço pelos momentos e experiências compartilhadas na graduação e pelo auxílio e apoio que me proporcionaram.

À UFPE e ao programa de Bolsas de Iniciação Científica da Propesqi, agradeço o apoio financeiro, que viabilizou a realização do estudo.

Ademais, sou grata a todos os profissionais que atuam no desenvolvimento de pesquisas e dedicam sua vida em prol da ciência.

Agradeço especialmente aqueles que acreditaram e torceram por mim. Obrigada!

*Quando a circunstância é boa, devemos desfrutá-la; quando não é favorável devemos transformá-la e quando não pode ser transformada, devemos transformar a nós mesmos.*

*Viktor Frankl*

## RESUMO

A mastite bovina é definida como uma doença inflamatória que acomete as glândulas mamárias do gado leiteiro, é normalmente provocada por patógenos bacterianos, sendo *Staphylococcus aureus* um dos principais agentes causadores. Usualmente, o tratamento é realizado com antibioticoterapia convencional, no entanto, o uso indevido e prolongado desses medicamentos se tornou um grave problema de saúde pública, resultando no aumento gradativo de microrganismos multirresistentes e presença de resíduos de antibióticos no leite. Diante do exposto, o estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana “*in vitro*” do extrato hexânico e etanólico da Jurema Preta (*Mimosa tenuiflora*), frente quatro cepas de *Staphylococcus aureus* associadas à mastite bovina. Os ensaios de avaliação da atividade antimicrobiana foram executados através dos métodos de microdiluição em placa multiposos para determinação da concentração mínima inibitória (CMI), e determinação da concentração mínima bactericida (CMB). Apenas os extratos etanólicos e hexânicos da casca demonstraram atividade antimicrobiana contra as quatro cepas de *S. aureus* avaliadas, com concentração mínima bacteriostática de 30 mg/ml. Ainda, vale ressaltar que em screening fitoquímico, realizado para detectar a presença de metabólitos secundários, foi demonstrada incidência de alcalóides e flavonóides na casca; e de terpenos, esteróides e taninos hidrolisáveis nas folhas. Desse modo, torna-se evidente o potencial medicinal da espécie, contribuindo para o desenvolvimento e estudo de novos fármacos ou produtos veterinários baseados em produtos naturais.

**Palavras-chave:** mastite bovina, resistência microbiana, plantas medicinais

## ABSTRACT

Bovine mastitis is defined as an inflammatory disease that affects the mammary glands of dairy cattle. It is usually caused by bacterial pathogens, with *Staphylococcus aureus* being one of the main causative agents. Treatment is usually carried out with conventional antibiotic therapy. However, the improper and prolonged use of these drugs has become a serious public health problem, resulting in a gradual increase in multi-resistant microorganisms and the presence of antibiotic residues in milk. The aim of this study was to evaluate the in vitro antimicrobial activity of the hexanic and ethanolic extracts of Jurema Preta (*Mimosa tenuiflora*) against four strains of *Staphylococcus aureus* associated with bovine mastitis. The antimicrobial activity tests were carried out using the multiwell plate microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC). Only the ethanolic and hexanolic extracts of the bark showed antimicrobial activity against the four strains of *S. aureus* evaluated, with a minimum bacteriostatic concentration of 30 mg/ml. It is also worth mentioning that phytochemical screening, carried out to detect the presence of secondary metabolites, showed an incidence of alkaloids and flavonoids in the bark; and terpenes, steroids and hydrolysable tannins in the leaves. The medicinal potential of the species is thus evident, contributing to the development and study of new drugs or veterinary products based on natural products.

**Key words:** bovine mastitis, microbial resistance, medicinal plants

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Árvore da <i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-Preta)	<b>24</b>
<b>Figura 2</b>	Frascos contendo os Extratos etanólicos e hexânicos das cacas e folhas de <i>Mimosa tenuiflora</i>	<b>31</b>
<b>Figura 3</b>	Esquema de realização do teste de microdiluição em placa multipoços	<b>34</b>
<b>Figura 4</b>	Resultado qualitativo do screening fitoquímico realizado com a casca e folhas de <i>Mimosa tenuiflora</i>	<b>36</b>
<b>Figura 5</b>	Teste de microdiluição em placa multipoços avaliando o CMI dos extratos etanólicos e hexânicos das folhas frente quatro linhagens de <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>38</b>
<b>Figura 6</b>	Teste de microdiluição em placa multipoços avaliando o CMI dos extratos etanólicos e hexânicos das cascas frente quatro linhagens de <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>39</b>
<b>Figura 7</b>	Determinação da concentração bacteriostática mínima (CMB) dos extratos etanólicos e hexânicos da casca frente a linhagem de <i>Staphylococcus aureus</i> A5-1	<b>41</b>
<b>Figura 8</b>	Determinação da concentração mínima bactericida (CMB) do antibiótico Oxacilina frente a linhagem de <i>Staphylococcus aureus</i> A5-1	<b>42</b>
<b>Figura 9</b>	Determinação da concentração bacteriostática mínima (CMB) dos extratos etanólicos e hexânicos da casca frente a linhagem de <i>Staphylococcus aureus</i> A5-2	<b>42</b>
<b>Figura 10</b>	Determinação da concentração mínima bactericida (CMB) da Oxacilina frente a linhagem de <i>Staphylococcus aureus</i> A5-2	<b>43</b>
<b>Figura 11</b>	Determinação da concentração bacteriostática mínima (CMB) dos extratos etanólicos e hexânicos da casca frente a linhagem de <i>Staphylococcus aureus</i> A7-1	<b>43</b>
<b>Figura 12</b>	Determinação da concentração mínima bactericida (CMB) do antibiótico Oxacilina frente a linhagem de <i>Staphylococcus aureus</i> A7-1	<b>44</b>
<b>Figura 13</b>	Determinação da concentração bacteriostática mínima (CMB) dos extratos etanólicos e hexânicos da casca frente a linhagem de <i>Staphylococcus aureus</i> A7-2	<b>44</b>
<b>Figura 14</b>	Determinação da concentração mínima bactericida (CMB) do antibiótico Oxacilina frente a linhagem de <i>Staphylococcus aureus</i> A7-2	<b>45</b>

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

- Quadro 1** Relação de alguns compostos químicos de algumas espécies do gênero *Mimosa* 25
- Quadro 2** Testes específicos utilizados na identificação das principais classes de metabólitos secundários 31
- Tabela 1** Resultado qualitativo do screening fitoquímico realizado com a casca e folhas de *Mimosa tenuiflora* 37
- Tabela 2** Concentração mínima bacteriostática do antibiótico Oxacilina frente às cepas de *Staphylococcus aureus* 40
- Tabela 3** Concentração mínima bacteriostática dos extratos da casca de *Mimosa tenuiflora* frente às cepas de *Staphylococcus aureus* 45
- Tabela 4** Concentração mínima bactericida do antibiótico Oxacilina frente às cepas de *Staphylococcus aureus* 46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCS — Contagem de Células Somáticas

EEBC — Extrato etanólico bruto da casca

EHBC — Extrato hexânico bruto da casca

EEBF — Extrato etanólico bruto da folha

EHBF — Extrato hexânico bruto da folha

IBGE — Instituto Brasileiro de Geografia e estatística

MDR — Multidroga resistente

MRSA — *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina

MSSA — *Staphylococcus aureus* suscetível à metilina

VRSA — *Staphylococcus aureus* Resistente à Vancomicina

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>17</b>
3.1 MASTITE BOVINA.....	17
3.2 Staphylococcus aureus.....	19
3.2.1 Metabolismo, características morfológicas e bioquímicas.....	19
3.2.2 Virulência e mecanismos de Resistência.....	20
3.4 RESISTÊNCIA MICROBIANA.....	22
3.5 COMPOSTOS BIOATIVOS A PARTIR DE PLANTAS MEDICINAIS.....	23
3.3 Mimosa tenuiflora (WILLD.) Poir.....	24
3.3.1 Aspectos Gerais.....	24
3.3.2 Perfil fitoquímico e propriedades medicinais.....	25
3.3.3 Atividade antimicrobiana dos extratos de Mimosa tenuiflora.....	26
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>29</b>
4.1 LINHAGENS BACTERIANAS.....	29
4.2 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	29
4.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS E HEXÂNICOS BRUTOS.....	29
4.3.1 Obtenção dos extratos etanólicos e hexânicos da casca (EHBC e EEBC) e da folha (EHBF e EEBF).....	30
4.3.2 Solubilização dos extratos.....	30
4.4 ENSAIOS FITOQUÍMICOS.....	31
4.4.1 Teste para determinação de Alcalóides.....	32
4.4.2 Teste para a identificação de Esteróides e Terpenos.....	32
4.4.3 Teste para a identificação de Flavonóides.....	32

4.4.4 Teste para a identificação de Saponinas.....	32
4.4.5 Teste para a identificação de Taninos.....	33
4.5 ENSAIOS ANTIMICROBIANOS.....	33
4.5.1 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI).....	33
4.5.2 Determinação da concentração mínima bactericida (CMB).....	35
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>36</b>
<b>5.1 SCREENING FITOQUÍMICO.....</b>	<b>36</b>
5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI).....	38
5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA BACTERICIDA (CMB).....	41
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>47</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>49</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O leite é um dos alimentos mais importantes e consumidos mundialmente, considerado uma importante fonte de nutrientes para o desenvolvimento humano (SANDOVAL e RIBEIRO, 2021). Em 2013, a produção de leite no Brasil atingiu a marca de 34,3 milhões de toneladas, tornando-se um dos maiores produtores mundiais e evidenciando sua importância (LIMA et al., 2017). No entanto, a indústria leiteira e sua qualidade podem ser afetadas por doenças que acometem o gado, e a mastite bovina se destaca como uma das patologias mais custosas e nocivas que afetam a indústria.

A mastite bovina é uma patologia que acomete a glândula mamária do gado leiteiro, provocando perdas econômicas e representando um desafio para os produtores de leite mundialmente (GOMES e HENRIQUES, 2016). Dentre os agentes causadores da mastite, *Staphylococcus aureus* é uma das principais bactérias patogênicas associadas à doença, sendo responsável por elevados índices de infecção intramamária e contaminação do leite, inviabilizando seu consumo. Ademais, a mastite é considerada potencialmente fatal, causando malefícios ao animal devido a uma resposta inflamatória que resulta da infecção do tecido do úbere, com possibilidade da presença de sinais clínicos, como edemas, inchaço, e dor na glândula mamária da vaca (PEDERSEN et al., 2021). A presença de grumos, pus, sangue e diversas outras alterações no leite, são evidências de contaminação que impactam a economia e acarretam riscos severos para a saúde pública (GOMES e HENRIQUES, 2016).

*S. aureus* é considerada um dos principais agentes causadores da mastite bovina, caracterizada como uma bactéria com capacidade de adaptabilidade e resistência a agentes antimicrobianos (TURNER et al., 2019). Usualmente, o tratamento da mastite é realizado com antibioticoterapia, no entanto, o uso indevido e prolongado desses medicamentos podem acarretar em microrganismos multirresistentes e risco da presença de resíduos de antimicrobianos no leite.

A preocupação com a resistência bacteriana aos antibióticos utilizados atualmente têm estimulado a busca por alternativas terapêuticas eficazes e seguras. Nesse contexto, as plantas medicinais se destacam como fontes promissoras de compostos bioativos com propriedades antimicrobianas, com potencial abordagem para o controle de infecções (MORGETTE, 2020). Devido a diversidade e uso recorrente na medicina popular, os produtos naturais são alvos de pesquisadores e farmacêuticas, como fontes promissoras para o isolamento de novos agentes antimicrobianos (MORGETTE, 2020).

A *Mimosa tenuiflora*, conhecida popularmente como “Jurema Preta”, é uma espécie nativa da região nordeste do Brasil e é amplamente utilizada na medicina popular. Diversos estudos têm relatado a presença de compostos bioativos na espécie, tais como, alcalóides, taninos e flavonoides, caracterizados pela ação antimicrobiana contra diferentes patógenos (SANTOS et al., 2022). Contudo, apesar de suas propriedades e uso popular, são escassas as pesquisas que visam avaliar sua ação no tratamento de infecções. A investigação mostra-se fundamental para compreender e sanar dúvidas acerca do real potencial medicinal da espécie, além de contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos ou produtos veterinários baseados em produtos naturais.

Diante do exposto, o presente estudo, objetiva avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos hexânico e etanólico de *Mimosa tenuiflora* frente cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos de mastite bovina, a fim de verificar a ação inibitória contra o crescimento bacteriano *in vitro*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O estudo teve como principal objetivo analisar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos hexânico e etanólico da Jurema Preta (*Mimosa tenuiflora*), frente às cepas de *Staphylococcus aureus* associadas à mastite bovina.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Executar screening fitoquímico das cascas e folhas da *Mimosa tenuiflora*;
- Determinar a Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos extratos etanólicos e hexânicos de *M.tenuiflora*,
- Determinar a Concentração Mínima Bactericida (CMB) dos extratos etanólicos e hexânicos de *M.tenuiflora*

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 MASTITE BOVINA

A mastite bovina é uma das doenças mais importantes e prevalentes na indústria leiteira mundial. Caracterizada pela inflamação das glândulas mamárias das vacas, a mastite resulta em efeitos fisiológicos relevantes, causando a redução na produção de leite, aumento dos custos de tratamento e aumento nas taxas de descarte do produto (PEDERSEN et al., 2021). É considerada a doença mais frequente que assola o gado leiteiro, acarretando graves perdas econômicas e preocupação com a saúde pública, advindas do excesso de antimicrobianos utilizados e má qualidade do leite devido a proliferação microbiana (CHENG e HAN, 2020). Além disso, a patologia afeta o bem-estar do animal de forma relevante, causando dor, desconforto e alterações no comportamento (FOGSGAARD et al., 2015).

Diversos patógenos podem estar associados à mastite bovina, sendo as bactérias os principais responsáveis pela inflamação intramamária. *Staphylococcus aureus* é um dos microrganismos mais comumente associados à patologia, responsável por diversos casos relatados e caracterizando-se pela dificuldade no tratamento (SHARUN et al., 2021). Outras bactérias envolvidas no processo inflamatório incluem, *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, entre outros.

A infecção ocorre quando as bactérias penetram na glândula mamária através do canal do teto, ganhando acesso ao interior do úbere do animal (VERÍSSIMO, 2022). Os patógenos são extremamente contagiosos, sendo disseminados rapidamente, e sua ocorrência pode estar relacionada a diversos fatores, tais como, condições precárias de higiene durante a ordenha, falhas nos protocolos de prevenção, ou fator ambiental devido a falta de limpeza adequada no alojamento em que o gado é mantido, assim, o animal atua como reservatório de infecção (MUSHTAQ et al., 2018).

Com base no grau de inflamação, a mastite bovina pode ser classificada como clínica (MC), subclínica (MS) e crônica. Na mastite bovina clínica os sintomas são identificados com facilidade devido a anomalias visíveis, como úbere inchado, vermelho e ocorrência de febre na vaca (KRISHNAMOORTHY et al., 2021). Ademais, em decorrência da patologia, o leite pode apresentar a incidência de grumos, coágulos e aspecto aguado. Dependendo do grau da inflamação, os casos clínicos da mastite podem ser subdivididos em superaguda, aguda e subaguda, podendo ser fatal de acordo com a gravidade dos casos.

Em contrapartida, a mastite subclínica não apresenta sinais clínicos relevantes, dificultando de forma expressiva o diagnóstico. Devido a ausência de sintomas, a realização de testes para identificar a enfermidade é necessário, como o California Mastitis Test (CMT) ou o teste de contagem de células somáticas (CCS), para determinar a presença de mastite subclínica (DIAS et al., 2021). As perdas econômicas causadas pela mastite subclínica é considerada difícil de quantificar, no entanto, especialistas apontam elevada diminuição da produção de leite devido ao aumento da contagem de células somáticas (CCS) (CHENG e HAN, 2020). Além das perdas da produção de leite, o aumento das CCS contribui de forma negativa para o aumento dos custos de tratamento, descarte e alterações na composição do leite (diminuição da gordura, caseína e lactose) acarretando perdas econômicas relevantes para a indústria de laticínios (HEINECK et al., 2022). A mastite bovina crônica é caracterizada por um processo inflamatório que dura vários meses, com a presença de surtos clínicos que ocorrem em intervalos irregulares. A identificação precisa da etiologia e grau da infecção é fundamental para elaboração do tratamento adequado e eficaz.

Perdas bilionárias anuais no mercado mundial de leite e indústria de laticínios são estimadas em decorrência das perdas na produção, custos adicionais com tratamento e o descarte de leite advindos da mastite bovina (MUSHTAQ et al., 2018). Ademais, o aumento das CCS e presença de resíduos de antimicrobianos no leite, propicia rejeição do produto e preocupação com a segurança alimentar.

O combate e prevenção da mastite bovina envolvem diversos fatores, tais como a instalação de boas práticas de manejo e higiene durante a ordenha, implementação de protocolos de prevenção, diagnóstico precoce dos casos e tratamento imediato da infecção. O método de tratamento mais comum disponível contra a mastite bovina é a infusão intramamária de antibióticos, ademais, estratégias terapêuticas como bacteriófagos e probióticos foram avaliadas. No entanto, não desempenham eficácia completa na eliminação do agente etiológico, ademais, a utilização excessiva de antibióticos está diretamente associada ao problema de resistência bacteriana e resíduos de antimicrobianos no leite (MUSHTAQ et al., 2018).

Diante da crescente preocupação com a resistência microbiana, a busca por alternativas terapêuticas eficazes tem se intensificado (FANCELLO et al., 2017). Nesse contexto, as plantas medicinais com sua história bem estabelecida, despertam interesse como fonte de compostos bioativos. Estudos têm demonstrado o potencial de diversas plantas na inibição do crescimento de microrganismos patogênicos, criando novas perspectivas para o

controle e tratamento de diversas infecções, como a mastite bovina (SILVA e NOGUEIRA, 2021).

### **3.2 *Staphylococcus aureus***

#### **3.2.1 Metabolismo, características morfológicas e bioquímicas**

*Staphylococcus aureus* é um dos patógenos bacterianos mais disseminados do mundo, devido a sua adaptabilidade e desenvolvimento de mecanismos de resistência a diversos antibióticos atuais (CASSAT E THOMSEN, 2021). *S. aureus* é considerado um microrganismo comensal, com ocorrência na pele e nas narinas de 30% da população e pode ser responsável por uma gama de infecções de diversos graus (SHERESTHA et al, 2021). Apesar de serem integrantes da microbiota do corpo, *S. aureus* pode ser um patógeno oportunista, causando uma ampla gama de infecções hospitalares e alimentares em hospedeiras humanos e animais, incluindo a mastite bovina (NEWSTEAD et al., 2020). Afecções provocadas por *S. aureus* podem variar de quadros leves a patologias letais, a espécie pode causar infecções de pele e tecidos moles, trato urinário, intoxicações alimentares e infecções associadas ao biofilme ou septicemia (NEWSTEAD et al., 2020). *S.aureus* também é uma bactéria relevante em casos de infecção hospitalar, implicando em 30% dos casos de endocardite infecciosa (SAEED et al., 2019), e a segunda causa mais comum de pneumonia hospitalar (LESHER et al., 2016).

*Staphylococcus aureus* é morfológicamente caracterizada como uma bactéria cocoide, com aproximadamente de 0,8 µm de diâmetro, se apresenta como Gram-positiva pela coloração de Gram, imóvel; não formadora de esporos e flagelo, positiva para os testes de catalase, coagulase plasmática e desoxirribonuclease (LEE et al, 2018; GUO et al 2020). Por ser um microrganismo comensal, a espécie consegue manter uma relação com outro ser vivo sem lhe causar danos, podendo assim obter benefícios através dessa relação. *S. aureus* tem como uma característica marcante a produção e secreção de biofilme, uma substância polimérica extracelular (SPE), que atua como uma espécie de barreira protetora auxiliando o microrganismo a resistir e a neutralizar os efeitos de antibióticos, dificultando o tratamento prognóstico de infecções causadas pela bactéria (IDREES et al 2021).

### 3.2.2 Virulência e mecanismos de Resistência

A problemática da resistência a antimicrobianos envolvendo *Staphylococcus aureus* se tornou expressiva quando as primeiras cepas resistentes à meticilina foram isoladas, em meados de 1960. A resistência microbiana é marcada por alterações na estrutura genética de microrganismos, que proporcionam mecanismos de sobrevivência a tratamentos utilizando fármacos convencionalmente utilizados. O aumento da incidência de microrganismos resistentes a antimicrobianos está diretamente associado a altos índices de mortalidade e morbidade, comprometendo diversas áreas da medicina humana e veterinária (FRIERI et al., 2017). O principal fator que favorece a ocorrência e surgimento de bactérias multirresistentes (MR) é o uso indiscriminado e inapropriado de antibióticos de amplo espectro em tratamentos, gerando aumento das taxas de bactérias MDR, resultando no agravamento na saúde pública mundial (VAN DUIN E PATERSON, 2020).

Em 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou uma lista de agentes patogênicos prioritários que incluiu *S. aureus* resistente à meticilina (SARM), com sensibilidade intermediária e resistência à vancomicina, em segundo lugar na categoria de alta prioridade, ressaltando-o como um dos agentes patogênicos mais danosos e importantes na saúde pública (VACA CÓRDOVA et al, 2021; OMS, 2017). A resistência à meticilina (MRSA) é preocupante, pois limita as opções de tratamento disponíveis para infecções causadas pela espécie.

*S. aureus* foi uma das primeiras bactérias a serem controladas com a descoberta de antibióticos, no entanto, devido sua elevada capacidade de adaptação e resistência, tornou-se uma das espécies de maior importância no quadro de infecções hospitalares e veterinárias (HOWDEN et al., 2023). *S. aureus* apresenta resistência a antibióticos amplamente utilizados para o enfrentamento de infecções, como os macrolídeos e beta lactâmicos (WIŃSKA et al., 2019). Estudos mostram que cepas de SARM adquiriram resistência a vários antibióticos através de elementos genéticos móveis (EGM), responsáveis por carregar genes de resistência, como o *blaZ* (resistência à penicilina), *dfrA* e *dfrK* (resistência à trimetoprima), *ermC* (resistência à eritromicina e clindamicina), *tetK* e *tetL* (resistência à tetraciclinas) (TURNER et al, 2019).

As infecções causadas por MRSA são acompanhadas do aumento da mortalidade, morbidade e internações hospitalares, em comparação com as infecções causadas por *S.aureus* sensível à meticilina (MSSA) (GORDON et al., 2021). Nesse contexto, a vancomicina continua sendo o antibiótico de último recurso para infecções causadas por MRSA, no

entanto, já existem cepas altamente resistentes à vancomicina (VRSA), dificultando o tratamento (MCGUINNESS et al., 2017).

*Staphylococcus aureus* também possui uma série de fatores de virulência que influenciam sua patogenicidade. Entre eles, destaca-se a produção de enzimas extracelulares, como a coagulase e a lipase, que auxiliam na invasão dos tecidos e na degradação de membranas celulares (PIETROCOLA et al., 2019). Além disso, a bactéria é capaz de formar biofilmes, o que confere proteção contra o sistema imunológico do hospedeiro, dificultando o tratamento contra antimicrobianos (SURESH et al., 2019). Outro fator de virulência da espécie são as toxinas secretadas pela bactéria que desempenham papel preeminente (OTTO, 2014). Muitas toxinas de *S. aureus* danificam as membranas biológicas, levando à morte celular, produzindo hemolisinas e leucotoxinas potentes (LIMA, 2023). Além disso, a espécie também é capaz de secretar fatores que inibem a cascata de complemento ou impedem o reconhecimento pelas defesas do hospedeiro (OTTO, 2014).

Enterotoxinas, toxinas esfoliativas e leucocidina Pantón-Valentine (PVL) também são toxinas que compõem fatores de virulência e conferem a patogenicidade de *S.aureus* (POWERS e WARDENBURG, 2014). Fatores como a produção de biofilmes e a produção de cápsulas de polissacarídeos produzidos pela espécie, associada à baixa resposta terapêutica aos antibióticos, tornam infecções causadas por *S.aureus* duradouras e persistentes (ZAATOUT; AYACHI; KECHA, 2020).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), fatores como a compra de sem prescrição médica, o excesso de prescrição e o elevado uso de antibióticos pela população são algumas das causas que favorecem o surgimento da resistência dos microrganismos, e caso não sejam tomadas medidas urgentes, é possível que em uma realidade próxima infecções e ferimentos leves voltem a matar (WU, 2020).

A prevenção e o controle das complicações causadas por *S. aureus* envolvem adoção de práticas de higiene, uso prudente de antimicrobianos, identificação precoce dos casos e implementação de medidas de biossegurança em ambientes hospitalares e de criação de animais. Devido sua elevada patogenicidade, virulência e persistência no ambiente, bem como a colonização de tecidos epiteliais associados com a baixa eficácia dos tratamentos disponíveis atualmente, a busca por métodos utilizando extratos vegetais com possíveis aplicabilidades antimicrobianas tem sido uma realidade. Assim, inúmeras plantas têm sido estudadas e testadas com o intuito de verificar a atividade contra microrganismos multirresistentes.

### 3.4 RESISTÊNCIA MICROBIANA

A resistência microbiana é um dos maiores desafios enfrentados pela saúde pública globalmente, visto que, as doenças infecciosas continuam sendo um dos principais motivos de mortalidade entre humanos e animais (VENTOLA, 2015). Este fenômeno ocorre quando microrganismos, como bactérias, vírus, fungos e parasitas desenvolvem mecanismos que diminuem ou anulam completamente a eficácia de medicamentos utilizados convencionalmente no tratamento de infecções.

Pacientes infectados por microrganismos resistentes têm pior prognóstico e requerem tratamento mais atencioso e complexo, em resultado do agravamento de patologias, aumento e prolongamento de internações (PINHEIRO et al., 2021). Ademais, o risco de mortalidade, morbidade, intoxicação e efeitos colaterais nesses pacientes é mais preocupante. Diagnósticos incorretos, prescrições desnecessárias, automedicação e o uso indevido de antibióticos na medicina humana e veterinária, são fatores que contribuem com resistência microbiana (MACEDO et al., 2022).

A resistência microbiana se dá por diversos fatores, tais como, a alta capacidade de adaptabilidade, estando aptos a sobreviver em condições adversas, como altas temperaturas, salinidade extrema, na presença ou ausência de luz, dentre outras condições. Ademais, bactérias podem reproduzir-se em curtos períodos, em contrapartida, aos antimicrobianos possuem tempo de ação lento em comparação com o ciclo reprodutivo microbiano, dificultando a contenção e o tratamento da patologia (MARTINEZ et al., 2019).

Os microrganismos resistentes podem disseminar-se através de diversos mecanismos, incluindo o contato direto entre humanos e animais, contato ambiental, disseminação de genes de resistência através de plasmídeos, dentre outros (BATISTA, 2020). Ademais, condições de higiene precária e falhas em protocolos de biossegurança podem facilitar a disseminação desses organismos, sendo mais frequente em hospitais e ambientes de criação de animais.

Assim, é evidente que o desenvolvimento de microrganismos resistentes aos antibióticos disponíveis no mercado tem se tornado um grave problema de saúde pública, tornando necessária a pesquisa e estudo de novos agentes antimicrobianos, buscando encontrar alternativas eficazes de tratamento visando solucionar o problema (FELIX et al., 2018).

### 3.5 COMPOSTOS BIOATIVOS A PARTIR DE PLANTAS MEDICINAIS

A resistência microbiana é uma problemática atual e preocupa de forma relevante, visto que, infecções causadas por esses microrganismos continuam sendo uma das causas mais frequentes de mortalidade entre humanos e animais (VENTOLA, 2015). Para a Organização Mundial da Saúde (OMS), a resistência microbiana trata-se de uma das 10 principais ameaças à saúde global enfrentadas pela humanidade. A utilização inadequada de fármacos antimicrobianos tem levado ao surgimento de diversos patógenos multirresistentes, tornando necessária a busca por novos compostos que se mostrem eficazes contra esses microrganismos.

Em contrapartida, as plantas com propriedades medicinais são amplamente utilizadas há milênios pelas sociedades tradicionais para tratar diversas enfermidades, incluindo infecções causadas por microrganismos patogênicos. As plantas possuem inúmeras substâncias em sua composição, os quais são denominados metabólitos primários e secundários (SILVA et al., 2018). O metabolismo primário se refere aos processos que exercem funções indispensáveis nas plantas, como a fotossíntese e o transporte de soluto. Por outro lado, o metabolismo secundário não é essencial à planta, mas desempenha papel importante na diferenciação das espécies, atribuindo aroma e cor aos alimentos, além de contribuir com a resistência a doenças, mantendo a sobrevivência do organismo em condições não favoráveis (BORGES e AMORIM, 2020). Esses metabólitos podem beneficiar diversas áreas com suas propriedades terapêuticas, sendo uma excelente fonte de compostos bioativos e os ensaios fitoquímicos permitem detectar determinado metabólito e indicar seu mecanismo de ação (SILVA et al., 2018).

Diversas plantas contêm compostos bioativos com propriedades antimicrobianas, ou seja, capazes de inibir o crescimento ou eliminar o microrganismo. Alcaloides, flavonoides, terpenoides, taninos e diversos outros compostos bioativos têm atraído o interesse da comunidade científica como fonte potencial de novos agentes antimicrobianos, especialmente diante da problemática da resistência microbiana aos antibióticos convencionais. Ademais, por meio delas, é possível obter compostos eficazes e com menor toxicidade para humanos e animais (FERREIRA et al., 2021). Compostos bioativos encontrados nas plantas desempenham ação antimicrobiana através de diversos mecanismos, incluindo a inibição da síntese da parede celular, inibição da síntese protéica, danos à membrana celular e interferência no metabolismo do microrganismo (VENTOLA, 2015).

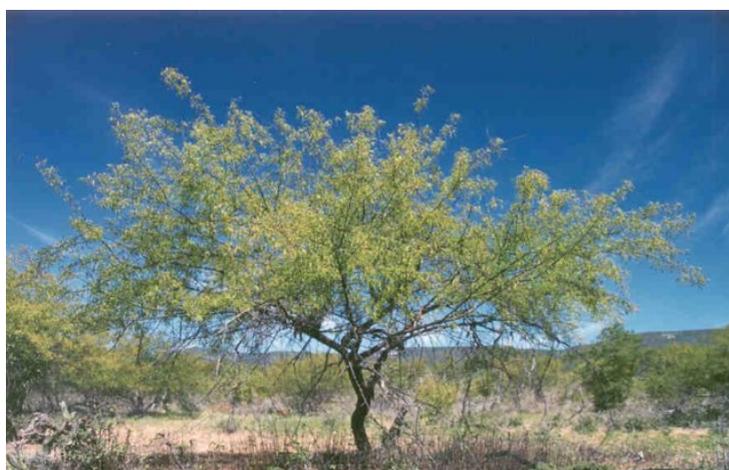
A utilização de agentes antimicrobianos provenientes das plantas medicinais oferece vantagens significativas, como menor probabilidade de desenvolvimento de resistência microbiana, ampla disponibilidade e menor custo em relação aos antimicrobianos sintéticos. Além disso, a diversidade de compostos bioativos presentes na planta possibilita a identificação de novos agentes com diferentes mecanismos de ação, sendo benéfico no combate a microrganismos multirresistentes (BORGES e AMORIM, 2020).

### 3.3 *Mimosa tenuiflora* (WILLD.) Poir

#### 3.3.1 Aspectos Gerais

A *Mimosa tenuiflora*, conhecida popularmente como “Jurema Preta”, é uma planta que pertence ao segundo maior gênero da subfamília *Mimosoideae*, constituinte da família *Fabaceae*, contendo mais de 540 espécies amplamente distribuídas nas Américas, com diversas nativas do Brasil e outras encontradas na África e Ásia (SILVA et al., 2011). Trata-se de uma árvore arbórea-arbustiva que cresce entre 2,5 a 5 metros de altura, apresenta folhas compostas, alternas e bipinadas. Possui flores alvas, pequenas, reunidas em espigas isoladas de 4 a 8 cm de comprimento. O fruto é do tipo vagem deiscente, medindo 2,5 a 5cm de comprimento e contendo 4 a 6 sementes e seus galhos possuem espinhos (DOURADO et al, 2013). Nativa da região nordeste do Brasil, a *Mimosa tenuiflora* (Figura 1) é frequentemente utilizada pela população local, devido sua resistência a longos períodos de seca, com capacidade de brotar diversas vezes durante o ano.

**Figura 1:** Árvore de *Mimosa tenuiflora* (Jurema-Preta)



Fonte: APNE/CNIP

### 3.3.2 Perfil fitoquímico e propriedades medicinais

A espécie é rica em compostos bioativos que lhe conferem diversas propriedades medicinais. Popularmente, a Jurema Preta é utilizada nos tratamentos de queimaduras, acne e outras lesões de pele, bronquite, tosse, úlceras externas e no tratamento de processos infecciosos (SANTOS et al., 2022).

Estudos fitoquímicos comprovaram grande concentração de taninos e flavonoides, sugerindo que estes metabólitos sejam responsáveis pela resposta antibacteriana da *Mimosa tenuiflora*. Ademais, a incidência de outros metabólitos como alcaloides e saponinas, também, contribui com as propriedades medicinais presentes na planta (Quadro 1) (SANTOS et al., 2022). Os taninos podem ser encontrados principalmente nas cascas, frutos e sementes e sua concentração diminui conforme o amadurecimento. Esse metabólito é diretamente associado ao ataque a organelas celulares e dentro da membrana celular de vários microrganismos, inibindo seu crescimento e desenvolvimento, desempenhando efeito bacteriostático (SANTOS et al., 2022). Já os flavonoides, são compostos fenólicos que podem ser divididos em antocianinas, flavonóis e isoflavonas. Esses compostos atuam como agentes redutores, desempenhando função antioxidante e anti-inflamatória (DE AZEVÊDO et al., 2015; PEREIRA et al., 2018; Ferreira et al., 2016).

**Quadro 1:** Relação de alguns compostos químicos de algumas espécies do gênero *Mimosa*

COMPOSTOS	ESPÉCIES
<b>SAPONINA</b>	
Mimosídeo A	<i>M. tenuiflora/M. hamata</i>
Mimosídeo B	<i>M. tenuiflora/M. hamata</i>
Mimosídeo C	<i>M. tenuiflora/M. hamata</i>
<b>ESTERÓIDE</b>	
Beta-sitosterol	<i>M. tenuiflora/M. hamata/ M.pudica</i>
Daucosterol	<i>M.pudica</i>
Esfignoterol	<i>M.pudica</i>
Camposterol	<i>M.pudica</i>
sitosterol	<i>M. invisa</i>
<b>DITERPENO</b>	
Labdano-8(17)-en-15-ol	<i>M. hostilis</i>
Labdano-8-15-en-15-diol	<i>M. hostilis.</i>

Continua

<b>ALCALÓIDES</b>	Continuação
N,N-dimetil-triptamina (DMT)	<i>M. hostilis</i>
N-metil-triptamina	<i>M. scrabella/M. somnians/ M. ophthalmocentra</i>
Triptamina	<i>M. scrabella/M. somnians</i>
5-hidroxitriptamina (5HT)	<i>M. tenuiflora</i>
<b>BENZENÓIDE</b>	
Ácido gálico	<i>M. hamata</i>
Ácido gentístico	<i>M. pudica</i>
<b>FLAVANÓIDES</b>	
Pinocembrina	<i>M. pudica</i>
5-7-di-hidroxi-flavanona	<i>M. paraibana</i>
Flavonoligana	<i>M. artemisia</i>
<b>TRITERPENO</b>	
Friedelina	<i>M. ribicualis</i>
Pupeol	<i>M. tenuiflora/M. invisã</i>

Fonte: Adaptado de BRÁZ (2017).

Além das aplicações na medicina humana, estudos preliminares têm investigado o potencial do uso da Jurema Preta na medicina veterinária. A espécie pode representar uma alternativa promissora no tratamento de infecções em animais, incluindo a mastite bovina, contribuindo para o controle de doenças e manutenção da saúde e bem-estar do gado leiteiro (BEZERRA et al., 2009). Assim, a *M. tenuiflora* têm despertado o interesse científico de pesquisadores e farmacêuticas acerca da investigação do real potencial medicinal da espécie. Para comprovação da sua atividade antiinflamatória, antimicrobiana, antioxidante, cicatrizante e antiproliferativa são necessários a realização de ensaios antimicrobianos, fitoquímicos, antioxidantes e antibiofilmes para validar sua viabilidade como possível alternativa terapêutica eficaz.

### 3.3.3 Atividade antimicrobiana dos extratos de *Mimosa tenuiflora*

A utilização de plantas na medicina popular não é um evento recente. Atualmente observa-se um aumento gradativo de estudos científicos que buscam elucidar dúvidas e promover descobertas acerca de propriedades terapêuticas oriundas de organismos vegetais. Com isso, os medicamentos fitoterápicos ganham notoriedade e aumento de sua utilização, com aplicações na medicina humana e veterinária (BEZERRA, 2009).

Assim, os extratos advindos de vegetais têm sua propriedade antimicrobiana diretamente associada à presença de determinadas classes de metabólitos secundários encontrados no organismo. Alguns fatores, tais como, tipo de extração, o solvente utilizado, e as condições em que a extração foi realizada, podem afetar na atividade do extrato e na quantidade obtida dos metabólitos de interesse a serem extraídos (OLIVEIRA et al., 2016).

O processo de extração tem como principal objetivo identificar, isolar, purificar e retirar metabólitos secundários que detenham as propriedades medicinais de interesse por meio da adição de solventes. A extração contém uma série de etapas, tais como, a inspeção visual do material vegetal, dessecação, trituração, ensaios fitoquímicos, determinação do solvente e por fim o método de extração (ANS, 2010; GALO et al., 2012).

De acordo com estudos recentes, a *Mimosa tenuiflora* apresenta compostos bioativos, incluindo alcalóides, flavonóides, taninos e outros metabólitos secundários que lhe conferem potencial atividade antimicrobiana, tornando-se uma possível terapia alternativa frente microrganismos patogênicos (SANTOS et al., 2022). Os mecanismos de ação dos extratos de *M.tenuiflora* podem variar de acordo com os compostos presentes no extrato e o tipo de microrganismo testado. Estudos sugerem que os extratos obtidos da espécie podem atuar por meio da inibição da síntese da parede celular bacteriana, interferindo na atividade enzimática e na síntese de proteínas essenciais para o crescimento dos microrganismos (SANTOS et al., 2022).

Segundo Soares et al., (2021), o extrato pirolenhoso de *M.tenuiflora* mostrou-se eficaz nos ensaios antimicrobianos *in vitro* contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, através da técnica de poço, foram obtidos halos superiores a 9mm. Ademais, o extrato também mostrou-se eficiente em ensaios antimicrobianos *in vivo*, demonstrando atividade anti séptica em cabras leiteiras, sendo observadas a contagem de UFC, evidenciando as propriedades antimicrobianas e anti sépticas para caprinos leiteiros.

De acordo com Bezerra et al., (2009), o extrato etanólico da casca de *Mimosa tenuiflora* mostrou-se eficiente na avaliação da atividade antimicrobiana frente *S.aureus* isoladas de amostras de leite de vacas com mastite bovina clínica e subclínica. No ensaio, foram obtidos halos variando de 6-25mm de acordo com as diferentes concentrações aplicadas no estudo, corroborando com seu potencial de enfrentamento à mastite bovina.

Diante desses e outros estudos, é possível destacar a *M.tenuiflora* como planta de interesse médico devido seus constituintes e mecanismos de ação, desempenhando ação antimicrobiana, antioxidante e antibiofilmes, além de possíveis eventos sinérgicos com outras drogas (FERREIRA & EVANGELISTA, 2021).

A descoberta de mecanismos de inibição microbiana dos extratos de *M.tenuiflora* abre novas perspectivas terapêuticas no combate a infecções causadas por bactérias e fungos. Sua utilização representa alternativa aos antimicrobianos convencionais, especialmente diante da problemática da resistência microbiana. Ademais, o uso de recursos naturais pode contribuir para o desenvolvimento de medicamentos mais acessíveis e com menor impacto ambiental, promovendo maior valorização dos recursos naturais.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 LINHAGENS BACTERIANAS**

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos de *Mimosa tenuiflora*, foram utilizadas quatro linhagens de *Staphylococcus aureus* isolados de casos de mastite bovina (Figura 2), todos pertencentes à Coleção de Microrganismos do Departamento de Antibióticos (UFPEDA). Em 20 de fevereiro de 2023, as cepas de *S. aureus* foram repicadas em triplicata em meio sólido Ágar Nutriente (AN) para preparação dos estoques de microrganismos que foram utilizados nos ensaios antimicrobianos.

### **4.2 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL**

O material vegetal (cascas e folhas) foi coletado no dia 02 de agosto de 2022, no município de Arcoverde, distrito de Carneiros, em propriedade privada, Fazenda Nossa Senhora da Penha (08°32'02,86"S; 37°07'13,89"O). Imediatamente após a coleta, o material foi armazenado em sacos com o intuito de preservar seus componentes, e em seguida, foi transportado para o Laboratório de Genética de Microrganismos (LABGEM-UFPE) para processamento. Além disso, foi retirada uma amostra do material vegetal contendo flor e galho intactos para realização de uma exsicata, com o propósito de identificação através da comparação com exsicatas depositadas no Herbário Geraldo Mariz – UFPE. A confirmação da espécie foi realizada pelo doutorando Alessandro Pereira, do Departamento de Botânica da UFPE, como pertencente à espécie *Mimosa tenuiflora* (WILLD). Após a identificação, o material foi depositado no Herbário Geraldo Mariz - UFPE seguindo os critérios estabelecidos, onde gerou o número de tombo 89.395.

### **4.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS E HEXÂNICOS BRUTOS**

O material vegetal coletado foi seco em estufa de ar circulante por 96 h à temperatura de 45°C. Após a secagem, as cascas e folhas foram moídas em moinho de facas e seguiram para o processo de maceração e contato com os solventes escolhidos.

#### **4.3.1 Obtenção dos extratos etanólicos e hexânicos da casca (EHBC e EEBC) e da folha (EHBF e EEBF)**

As cascas e folhas da *Mimosa tenuiflora* foram pesadas antes e depois do processo de trituração. Em seguida, o pó do material vegetal foi colocado em contato com os solventes para extração dos metabólitos de interesse. Foram utilizados dois recipientes para as cascas e dois para as folhas, em cada Erlenmeyer foi adicionado 100 g do material vegetal e o solvente.

Em seguida, foram adicionados 200 ml do solvente Hexano P.A em cada recipiente, com relação às cascas de *M. Tenuiflora*, foi utilizada uma proporção de 1:2 (100 g do pó das cascas para 200 ml do solvente Hexano) enquanto as folhas 1:3 (100 g do pó das folhas para 300 ml do solvente Hexano).

Com o intuito de evitar o contato com a incidência luminosa, cada Erlenmeyer foi coberto com papel alumínio e permaneceu de forma estática durante 72 horas. Após esse período, a suspensão foi filtrada, obtendo-se a fração hexânica do extrato de *M. tenuiflora*. Depois, ao material vegetal foi adicionado o solvente Etanol (96%) em cada Erlenmeyer, na mesma proporção utilizada com o solvente Hexano. Após o tempo estipulado de 72 horas, foi realizada a filtração e a fração etanólica do extrato de *M. Tenuiflora* foi obtida.

O processo de concentração dos solventes de cada solução extrativa foi executado em rota-evaporador à pressão reduzida, variando a temperatura de acordo com o solvente; para o Etanol foi utilizada a temperatura média de 65°C e para o Hexano 55°C. Por fim, foi realizado o processo de liofilização dos extratos, obtendo-se os extratos etanólico e hexânico brutos das cascas de *M. tenuiflora*.

#### **4.3.2 Solubilização dos extratos**

Para a execução do processo de solubilização, foram pesados 600 mg do extrato etanólico e hexânico bruto das cascas e folhas em balança analítica, em seguida foi adicionado 10 ml da solução de DMSO 1% (Figura 2).

**Figura 2:** Frascos contendo os Extratos etanólicos e hexânicos das cascas e folhas de *Mimosa tenuiflora*



Fonte: Autoral (2023)

#### 4.4 ENSAIOS FITOQUÍMICOS

Foi realizado um *screening* fitoquímico com a finalidade de identificar qualitativamente os principais metabólitos secundários presentes na Jurema Preta (*Mimosa tenuiflora*), a fim de realizar uma associação entre a incidência de compostos bioativos e suas propriedades medicinais.

**Quadro 2:** Testes específicos utilizados na identificação das principais classes de metabólitos secundários.

Classes de Metabólito Secundário	Testes
Alcalóides	Dragendorff - K (Bil4)
Terpenos e Esteróides	Liebermann - Buchard
Flavonóides	Shinoda
Saponinas	Espuma
Taninos	Cloreto Férrico

Fonte: Santana (2011)

#### **4.4.1 Teste para determinação de Alcalóides**

O método utilizado para a detecção de alcalóides foi o teste de Dragendorff, solução de K(Bil4). Inicialmente, o material vegetal foi pesado (1g), em seguida foram adicionados 10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%. Depois a mistura foi aquecida em banho-maria a 100°C durante dois minutos e em seguida, a solução passou por um processo de filtração, onde a alíquota do filtrado foi colocada em um tubo de ensaio. No tubo, foi gotejado o reagente de Dragendorff e os alcalóides são identificados devido a formação de uma coloração laranja-avermelhada.

#### **4.4.2 Teste para a identificação de Esteróides e Terpenos**

O método realizado para a detecção de esteróides e terpenos foi o teste de Liebermann - Buchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado). Inicialmente, o material vegetal foi pesado (1g) e adicionado em um tubo de ensaio onde foram acrescentados 3 ml de diclorometano. A mistura foi filtrada e ao fim do processo, foram adicionados 2 ml de anidrido acético, em seguida o tubo foi agitado intensamente. Posteriormente, 5 gotas de ácido sulfúrico foram adicionadas à solução obtida. Assim, a presença de esteróides e terpenos pode ser identificada através da coloração rosa, verde e azul.

#### **4.4.3 Teste para a identificação de Flavonóides**

O método utilizado para a detecção de flavonóides foi o teste de Shinoda (HCL concentrado e magnésio). Inicialmente, foi pesado 1g do material vegetal seco e moído, em seguida o material foi colocado em um tubo de ensaio. Posteriormente foram adicionados 5 ml de metanol (MeOH), e a mistura foi filtrada. Ao filtrado, foi adicionado 1 ml de ácido clorídrico concentrado (HCL), e por fim, foi adicionado à solução 1 cm de fita de magnésio. A presença de flavonóides é identificada através da coloração rosa na solução.

#### **4.4.4 Teste para a identificação de Saponinas**

O método utilizado para a detecção de saponinas foi o teste da espuma, onde inicialmente foi pesado 1g do material vegetal (cascas e folhas) seco e moído e em seguida o material foi colocado em um tubo de ensaio. No tubo foram adicionados 5 ml de água destilada e este foi agitado intensamente durante 5 minutos; posteriormente a solução foi

colocada em repouso durante 30 minutos. Após o tempo de repouso, a formação de espuma indica a presença de saponinas.

#### **4.4.5 Teste para a identificação de Taninos**

O método utilizado para detecção de taninos foi o teste de cloreto férrico, onde inicialmente foi pesado 1g do material vegetal (cascas e folhas) seco e moído, e em seguida o material foi colocado em um tubo de ensaio. No tubo foram adicionados 10 ml de água destilada e posteriormente a mistura foi filtrada. Por fim, ao filtrado foi gotejado cloreto férrico 1% lentamente. A presença de taninos é evidenciada pela coloração verde (taninos condensados) e azul (taninos hidrolisáveis).

### **4.5 ENSAIOS ANTIMICROBIANOS**

#### **4.5.1 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)**

A CMI é conceituada pela menor concentração de um agente antimicrobiano que é capaz de inibir o crescimento do microrganismo após um período de 24 h de incubação à 37°C. O teste para determinação da concentração mínima inibitória foi realizado utilizando quatro cepas de *Staphylococcus aureus*, as linhagens A5-1; A5-2; A7-1 e A7-2 foram repicadas em meio Agar Mueller Hinton, 24 horas antes dos ensaios. Depois, foram preparadas as suspensões bacterianas das cepas e lidas a absorbância entre 0,08 e 0,13 com o auxílio de um espectrofotômetro UV/VIS com comprimento de onda de 530nm.

A CMI foi realizada através da técnica de microdiluição em placas multipoços, conforme o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015; 2018), que recomenda o caldo Mueller Hinton como meio de cultura. Para determinar a CMI cada linhagem bacteriana foi avaliada frente aos extratos etanólicos e hexânicos da casca e os extratos etanólicos e hexânicos das folhas. Os testes foram realizados em placas multipoços (96 poços) contendo caldo Mueller Hinton (Figura 3). Sendo, nas colunas 1 e 11 foram transferidos 180µL do caldo Mueller Hinton e nas outras colunas 100 µL do mesmo meio.

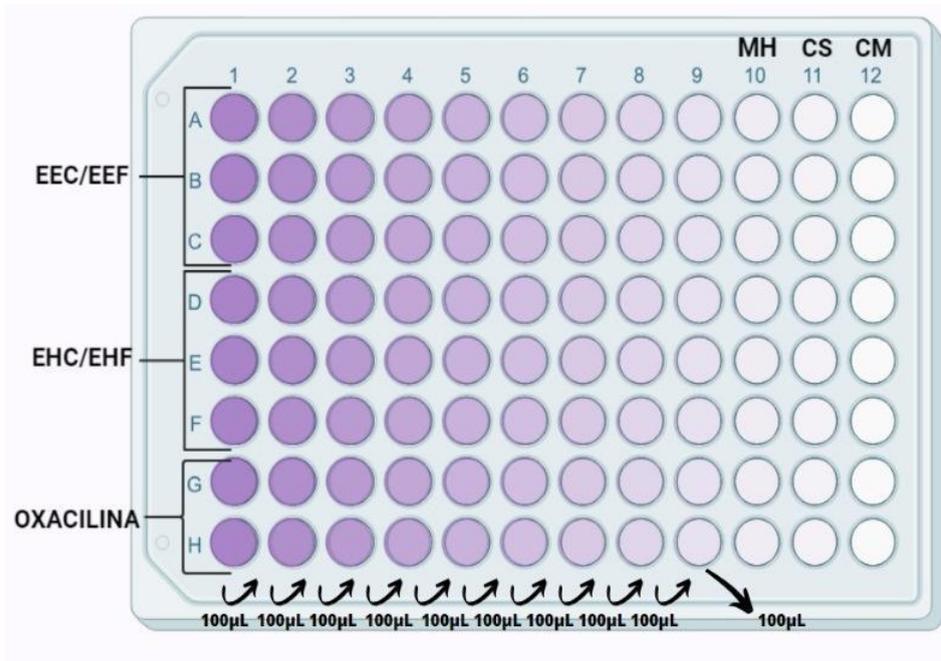
Na coluna 1, foram acrescentados 20µL dos extratos das linhas A até F e nas fileiras G e H foi adicionado o antibiótico Oxacilina na concentração de 360 µg/ml, antibiótico de referência para a bactéria Gram positiva. Na coluna 10, foi realizado o controle de esterilidade do meio, na 11 foi destinada ao controle do solvente (solução DMSO 1%) nas linhas de A a F,

nas fileiras G e H, foi utilizado água como solvente acrescentado do *S. aureus* e na 12 foram utilizadas como controle biótico, referente ao crescimento da bactéria. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Após a adição dos 20 $\mu$ L da solução mãe, foram realizadas diluições seriadas das colunas 1 a 9, sendo ao final descartado 100 $\mu$ l. Após a diluição, cada poço foi inoculado com 10 $\mu$ L do microrganismo (exceto na coluna 10). Em seguida, as microplacas foram incubadas a 37°C por 24 horas em estufa do tipo B.O.D.

Depois de 24 horas, as microplacas foram retiradas da B.O.D. e em todos os poços foram adicionadas 10 $\mu$ L de resazurina na concentração de 0,01%, a resazurina é um corante azul que serve como indicativo de crescimento microbiano, ao entrar em contato com as células bacterianas, em resposta à atividade metabólica das células vivas, a resazurina é reduzida a resorufina, que tem coloração rosa. Em sequência, a microplaca foi coberta com papel alumínio e incubada em estufa do tipo B.O. D por 2 h. depois deste período foi observado a mudança de coloração, sendo a coloração azul um indicativo para células mortas e a coloração rosa um indicativo para células viáveis.

**Figura 3:** Esquema de realização do teste de microdiluição em placa multipoços



**EEC:** (Extrato etanólico da casca); **EEF:** (Extrato etanólico da folha); **EHC:** (Extrato hexânico da folha); **EHF:** (Extrato hexânico da folha); **OXA:** (Oxacilina); **MH** (Controle do meio Mueller Hinton); **CS.**(Controle do Solvente); **CM** (Controle de crescimento microbiano).

#### **4.5.2 Determinação da concentração mínima bactericida (CMB)**

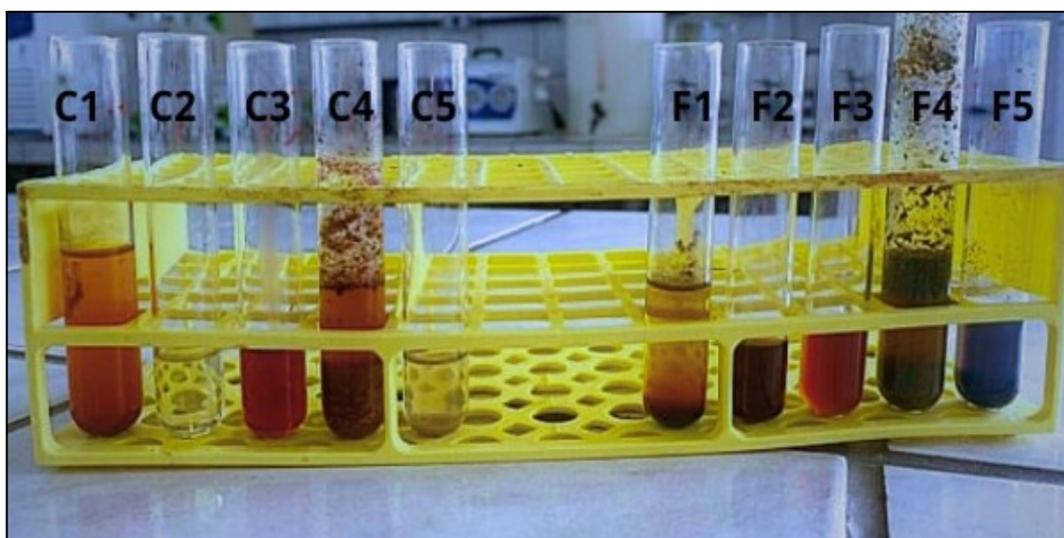
Para determinação da concentração mínima bactericida (CMB) foram selecionados os poços pertencentes às colunas em que os extratos demonstraram atividade antimicrobiana através do teste colorimétrico. Assim, foram selecionados o conteúdo dos poços em que foi detectada atividade inibitória, e os poços da coluna 12 (controle de crescimento bacteriano), o conteúdo foi inoculado em placa com meio Ágar Mueller Hinton e em seguida as placas foram incubadas por 24 horas em estufa do tipo B.O.D com o intuito de detectar o mecanismo de ação dos extratos da casca, ou seja, se eles desempenharam efeito bactericida ou bacteriostático.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 SCREENING FITOQUÍMICO

Os resultados obtidos no screening fitoquímico estão demonstrados na figura 4 e na tabela 1. De acordo com o ensaio, as cascas apresentaram elevada incidência de alcalóides e flavonóides e nas folhas, a presença de terpenos, esteróides e taninos foi mais relevante.

**Figura 4:** Resultado qualitativo do screening fitoquímico realizado com a casca e folhas de *M.tenuiflora*



C1; F1 (Determinação de alcalóides); C2; F2 (Determinação de esteróides e terpenos) C3; F3 (Determinação de flavonóides); C4; F4 (Determinação de saponinas); C5; F5 (Determinação de taninos); C (cascas); F (folhas).

A incidência elevada de taninos e flavonóides presentes na espécie, evidenciam sua propriedade antimicrobiana. Uma vez que, tais metabólitos são descritos como responsáveis por uma ação antibacteriana (SANTOS et al., 2022). Os taninos são polifenóis amplamente distribuídos em diferentes espécies vegetais e tem demonstrado atividade biológica relevante, agem de forma direta no ataque a organelas celulares e dentro da membrana plasmática de diversos microrganismos, inibindo seu crescimento e desempenhando efeito bacteriostático (SANTOS et al., 2022).

Ademais, estudos realizados por Trabelsi et al, (2020), exploraram a ação sinérgica entre taninos, flavonóides e antibióticos convencionais, revelando que a combinação desses compostos resultou em maior eficácia antimicrobiana em comparação ao uso isolado de antibióticos. Sugerindo que esses metabólitos também podem atuar como adjuvantes

potenciais no tratamento de infecções bacterianas, promovendo redução da dose necessária de medicamentos e minimizando o desenvolvimento de microrganismos multirresistentes.

**Tabela 1:** Resultado qualitativo do *screening* fitoquímico realizado com a casca e folhas de *Mimosa tenuiflora*

<b>Metabólito Secundário</b>	<b>Cascas de <i>Mimosa tenuiflora</i></b>	<b>Folhas de <i>Mimosa tenuiflora</i></b>
Alcalóides	+++	+
Terpenos e Esteróides	+	+++
Flavonóides	++	++
Saponinas	-	-
Taninos	+	+++

(+++) Forte intensidade; (++) Média Intensidade; (+) Fraca Intensidade; (-) Não Reativo

Segundo Pereira et al, (2018), a incidência de taninos nos extratos de *Mimosa tenuiflora* e a resposta antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus* está diretamente associada e demonstram considerável redução do crescimento bacteriano, sugerindo potencial uso terapêutico.

A presença de flavonoides também pode conferir a espécie função antioxidante, visto que este metabólito atua como agente redutor (DE AZEVEDO et al., 2015; PEREIRA et al., 2018; FERREIRA et al., 2016).

Os alcalóides são compostos nitrogenados encontrados em diversas espécies de plantas e podem desempenhar propriedades medicinais relevantes, dentre suas inúmeras propriedades medicinais, estão a analgésica, através dos alcalóides da papoula (*Papaver somniferum L.*) são produzidos a morfina e a codeína; e suas propriedades anticancerígenas, alcalóides do *Catharanthus roseus* (vincristina e vimblastina) são utilizados no tratamento do câncer. De acordo com Silva et al, (2021), os alcalóides e flavonóides presentes na *Moringa oifera*, são responsáveis por inibir o crescimento microbiano, uma das propriedades medicinais da espécie.

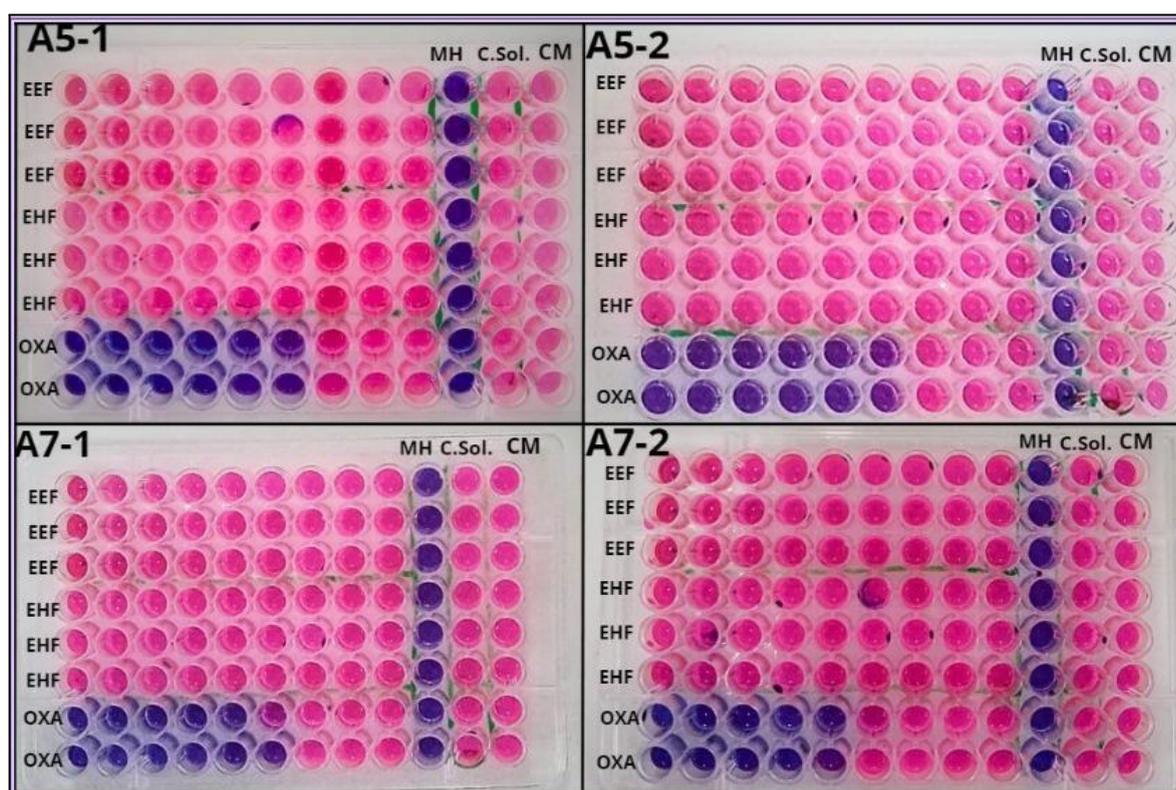
De acordo com YADAV et al. (2014), terpenos e esteróides desempenham uma gama de funções, tais como, propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antiparasitárias, anti-esmasmódio e anti-inflamatória.

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI)

As figuras 5 e 6, ilustram os resultados da determinação da concentração mínima inibitória (CMI). As diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* apresentaram crescimento normal nas colunas 11 e 12, representando o controle do solvente e de crescimento bacteriano, respectivamente, sugerindo a viabilidade dos microrganismos testados. Ademais, a coluna 10 não apresentou crescimento bacteriano, confirmando a esterilidade do meio.

Nas condições testadas, os extratos etanólicos e hexânicos das folhas não apresentaram atividade antimicrobiana evidente frente às linhagens de *S. aureus* (Figura 5).

**Figura 5:** Teste de microdiluição em placa multipoços avaliando o CMI dos extratos etanólicos e hexânicos das folhas frente quatro linhagens de *Staphylococcus aureus*.



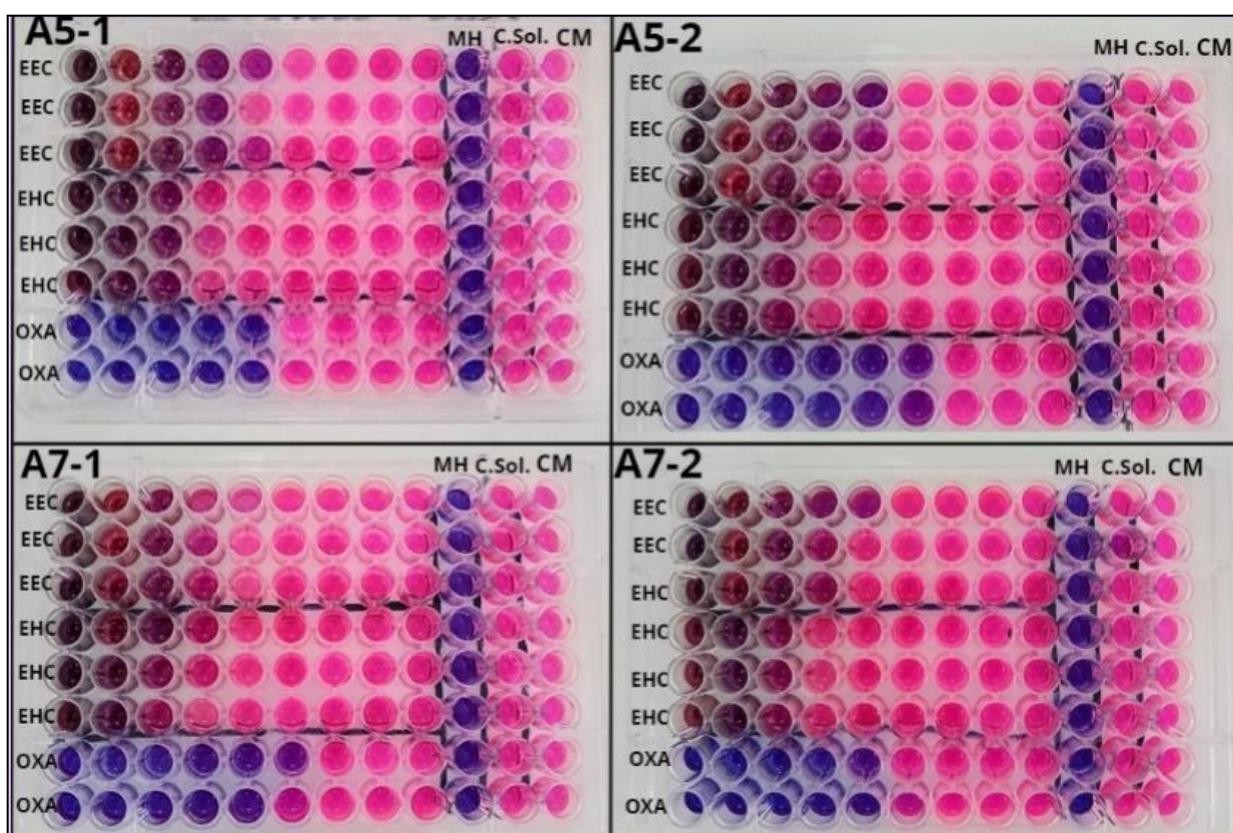
**EEF:** (Extrato etanólico da folha); **EHF:** (Extrato hexânico da folha); **OXA:** (Oxacilina); **MH** (Controle do meio Mueller Hinton); **C.Sol.**(Controle do Solvente); **CM** (Controle de crescimento microbiano).

Apesar das folhas apresentarem metabólitos de interesse que desempenham ação inibitória, os extratos não desempenharam atividade antimicrobiana. Isso pode ocorrer por diversos fatores, tais como, solvente utilizado, metodologia de extração, a quantidade de

metabólitos presentes na folha e se estes estão em quantidade suficiente para desempenhar ação bactericida ou bacteriostática. Ademais, a biossíntese de metabólitos secundários é um processo que está sujeito a influências de diferentes fatores. Fatores bióticos e abióticos podem influenciar na qualidade e quantidade de compostos bioativos resultantes do metabolismo de uma planta em determinado momento (PROBST, 2012).

Em contrapartida, os extratos etanólicos e hexânicos das cascas demonstraram atividade antimicrobiana frente às quatro linhagens de *Staphylococcus aureus* (Figura 6).

**Figura 6:** Teste de microdiluição em placa multipoços avaliando o CMI dos extratos etanólicos e hexânicos das cascas frente quatro linhagens de *Staphylococcus aureus*.



**EEC:** (Extrato etanólico da folha); **EHC:** (Extrato hexânico da folha); **OXA:** (Oxacilina); **MH** (Controle do meio Mueller Hinton); **C.Sol.**(Controle do Solvente); **CM** (Controle de crescimento microbiano).

Embora os extratos da casca de *Mimosa tenuiflora* tenham evidenciado atividade antimicrobiana frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, não foi possível determinar ação bactericida na concentração inicial utilizada (30mg/ml). Nos ensaios, foi possível determinar apenas a concentração mínima bacteriostática, evidenciando diminuição do crescimento bacteriano. Não foi observada ação bactericida que evidenciasse a inibição completa das

cepas de *S.aureus*, no entanto, em concentrações mais elevadas (>30mg/ml), seria possível determinar a dosagem que desempenhasse ação bactericida.

Segundo Santos et al, (2022), os extratos de *M. tenuiflora* apresentaram efeito bactericida na concentração de 107,5 mg/ml, frente a *S. aureus* causadores de mastite em búfalas leiteiras, evidenciando a capacidade inibitória e bactericida que a espécie pode proporcionar, sugerindo alternativas terapêuticas viáveis, tanto no uso isolado do extrato, quanto em sinergismo com medicamentos antimicrobianos.

A produção de metabólitos secundários de plantas pode ser influenciada por fatores relacionados à própria planta (genética e fisiologia) e a fatores externos, tais como, disponibilidade de nutrientes do solo (micro e macronutrientes) e climáticos (umidade, temperatura, época do ano, temperatura, incidência da radiação solar, pluviosidade) (MARTINS 2018). Assim, essas variáveis podem influenciar de forma expressiva na composição e quantidade de metabólitos produzidos em cada parte da planta, para melhor compreensão do real potencial medicinal presente nas folhas de *Mimosa tenuiflora*, se faz necessário a realização de ensaios fitoquímicos mais detalhados a fim de quantificar os metabólitos existentes.

Com relação ao antibiótico testado (Oxacilina 360 µg/ml), foi possível identificar a concentração mínima bactericida e bacteriostática frente às linhagens de *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. Na tabela 2 é evidenciada a concentração mínima bacteriostática, nesta é observado que não houve grande variação de ação do antibiótico oxacilina frente as cepas avaliadas, permanecendo em um intervalo de 1,125 - 2,25 µg/ml, sugerindo que entre as linhagens utilizadas, não houve uma resistência bacteriana ao antibiótico testado.

**Tabela 2:** Concentração mínima bacteriostática do antibiótico Oxacilina frente cepas de *Staphylococcus aureus*

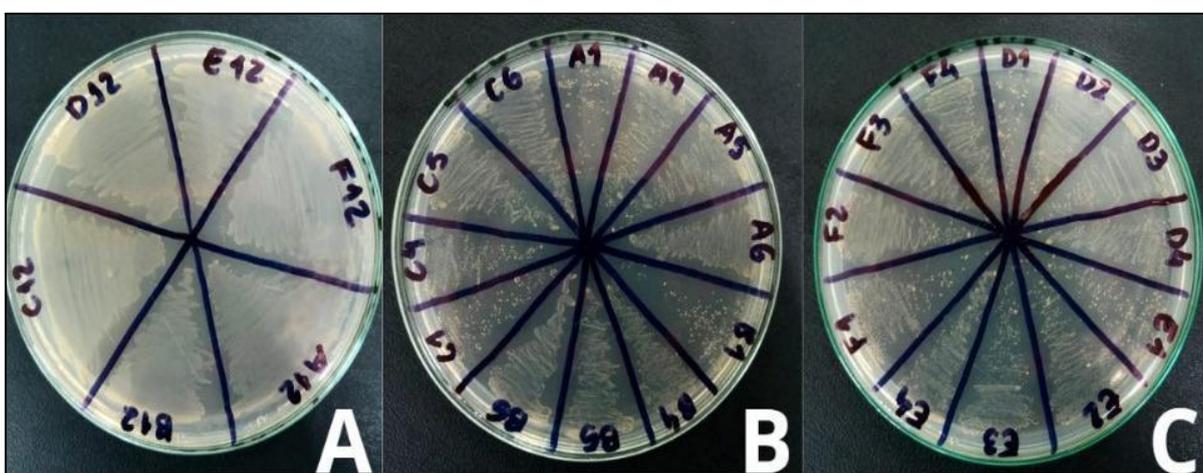
<i>Staphylococcus aureus</i>	CMI µg/ml
	Oxacilina
Linhagem A5 - 1	2,25 µg/ml
Linhagem A5 - 2	1,125 µg/ml
Linhagem A7 - 1	2,25 µg/ml
Linhagem A7 - 2	2,25 µg/ml

Fonte: Autoral (2023)

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

A CMB é considerada quando o composto possui a capacidade de inibir o crescimento bacteriano em no mínimo 50% relacionado ao controle positivo. Diante do exposto, os resultados obtidos da determinação do CMB estão representados na figura 7, 8, 9 e 10. Os extratos etanólicos e hexânicos da casca não desempenharam ação bactericida na concentração inicial utilizada nos ensaios. Entretanto, houve redução do crescimento bacteriano, evidenciando o potencial bacteriostático da *Mimosa tenuiflora*.

**Figura 7:** Determinação da concentração bacteriostática mínima (CMB) dos extratos etanólicos e hexânicos da casca frente a linhagem de *Staphylococcus aureus* A5-1



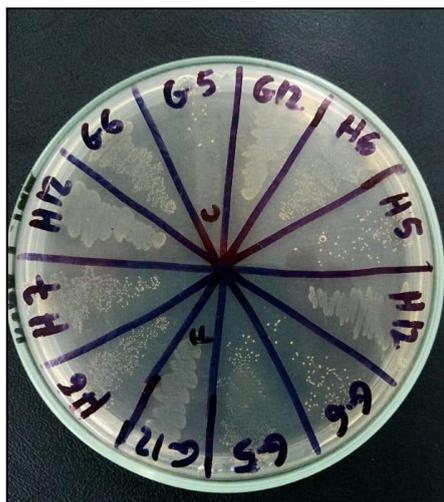
A (Controle de crescimento bacteriano); B (Ação do extrato etanólico das cascas de *M.tenuiflora*); C (Ação do extrato hexânico das cascas de *M.tenuiflora*)

De acordo com os resultados obtidos através da metodologia utilizada, foi observado que os extratos etanólicos e hexânicos da casca de *Mimosa tenuiflora* desempenharam ação bacteriostática frente a linhagem A5-1 de *Staphylococcus aureus* na concentração inicial de 30 mg/ml. O resultado sugere que na concentração utilizada, os extratos possuem a capacidade de reduzir de forma significativa o crescimento bacteriano, com possível potencial bactericida em concentrações mais elevadas.

Ademais, foi realizado a determinação da concentração mínima bactericida (CMB) da Oxacilina, para avaliar a ação do antibiótico em comparação com as diferentes linhagens de *S.aureus* utilizadas, a fim de traçar o perfil das bactérias e avaliar possível resistência das cepas utilizadas (Figura 8). Foi observado que em todas as repetições testadas, o antibiótico utilizado nos ensaios desempenhou ação bactericida em diferentes dosagens, a concentração

de 4,5 µg/ml da oxacilina foi considerada a concentração mínima bactericida (CMB), sendo capaz de inibir o crescimento bacteriano de *S.aureus* (A5-1) de forma significativa.

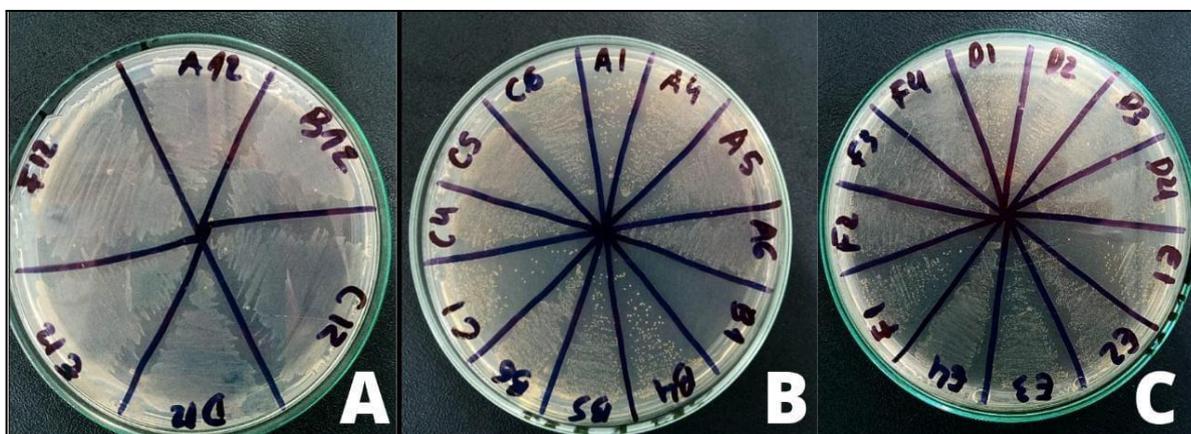
**Figura 8:** Determinação da concentração mínima bactericida (CMB) do antibiótico Oxacilina frente a linhagem de *Staphylococcus aureus* A5-1



Fonte: Autoral (2023)

Com relação a *Staphylococcus aureus* (A5-2) foi observado ação bacteriostática evidente na concentração inicial (30 mg/ml) do extrato etanólico da casca, desempenhando diminuição relevante no crescimento bacteriano da linhagem em questão (Figura 9). Em contrapartida, no extrato hexânico da casca os valores foram acima de 30mg/mL.

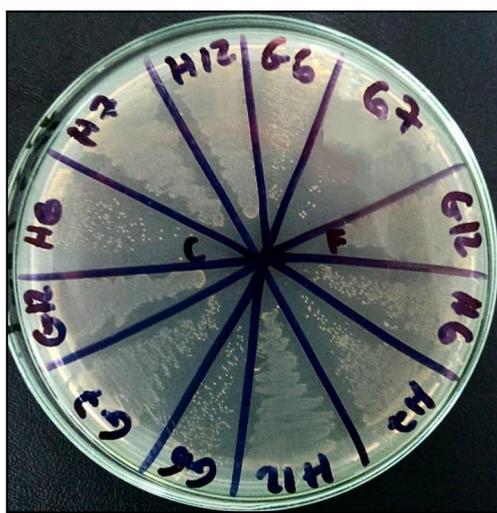
**Figura 9:** Determinação da concentração bacteriostática mínima (CMB) dos extratos etanólicos e hexânicos da casca frente a linhagem de *Staphylococcus aureus* A5-2



A (Controle de crescimento bacteriano); B (Ação do extrato etanólico das cascas de *M.tenuiflora*); C (Ação do extrato hexânico das cascas de *M.tenuiflora*)

Quanto a determinação da CMB da oxacilina em relação a linhagem A5-2, a linhagem de *S.aureus* mostrou-se mais sensível ao antibiótico, sendo 2,25µg/ml considerada a concentração mínima bactericida, capaz de inibir de forma relevante o crescimento bacteriano.

**Figura 10:** Determinação da concentração mínima bactericida (CMB) do antibiótico Oxacilina frente a linhagem de *Staphylococcus aureus* A5-2



Fonte: Autoral (2023)

Com relação a *Staphylococcus aureus* (A7-1) a concentração mínima bacteriostática é de 30mg/mL para o EHC e acima de 30 mg/mL para o EEC.

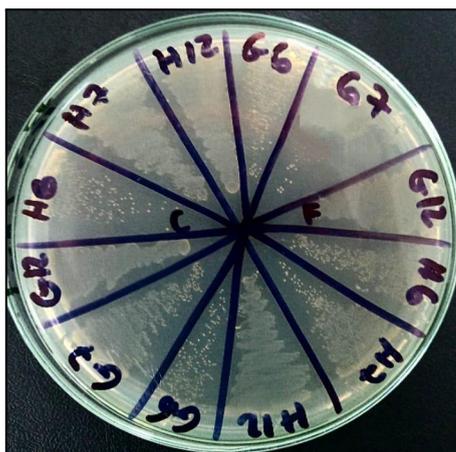
**Figura 11:** Determinação da concentração mínima bacteriostática (CMB) dos extratos etanólicos e hexânicos da casca frente a linhagem de *Staphylococcus aureus* A7-1



A (Controle de crescimento bacteriano); B (Ação do extrato etanólico das cascas de *M.tenuiflora*); C (Ação do extrato hexânico das cascas de *Mimosa tenuiflora*)

Quanto à oxacilina, foi observado que em todas as repetições testadas, a concentração de 4,5 µg/ml do antibiótico foi considerada a concentração mínima bactericida (CMB), sendo capaz de inibir o crescimento bacteriano de *Staphylococcus aureus* (A7-1) (Figura: 12).

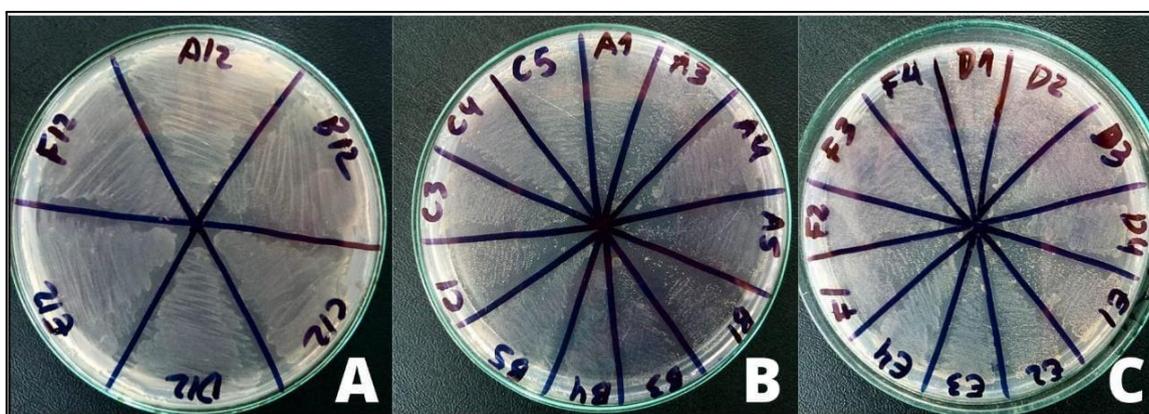
**Figura 12:** Determinação da concentração mínima bactericida (CMB) do antibiótico Oxacilina frente a linhagem de *Staphylococcus aureus* A7-1



Fonte: Autoral (2023)

O ensaio realizado com a linhagem A7-2 de *Staphylococcus aureus* não foi capaz de determinar atividade bacteriostática evidente, visto que, não houve diminuição significativa do crescimento bacteriano nas concentrações utilizadas durante o teste, evidenciando possível resistência da cepa em relação aos extratos em comparação com as demais linhagens.

**Figura 13:** Determinação da concentração mínima bacteriostática (CMB) dos extratos etanólicos e hexânicos da casca frente a linhagem de *Staphylococcus aureus* A7-2



A (Controle de crescimento bacteriano); B (Ação do extrato etanólico das cascas de *M.tenuiflora*); C (Ação do extrato hexânico das cascas de *M.tenuiflora*)

Com relação à oxacilina, foi observado que em todas as repetições testadas, a concentração de 4,5 µg/ml do antibiótico foi considerada a concentração mínima bactericida (CMB), capaz de inibir o crescimento bacteriano de *S.aureus* (A7-2).

**Figura 14:** Determinação da concentração bacteriostática mínima (CMB) do antibiótico Oxacilina frente a linhagem de *Staphylococcus aureus* A7-2



Fonte: Autoral (2023)

A concentração mínima bacteriostática dos quatro extratos em relação às quatro linhagens está representada na tabela 3. Os extratos etanólicos e hexânicos das folhas não evidenciaram atividade antimicrobiana no teste de microdiluição em placa multipoços, e consequentemente não desempenharam ação bactericida ou bacteriostática contra *S.aureus*.

Os extratos etanólicos e hexânicos da casca evidenciaram atividade bacteriostática relevante porém não desempenharam ação bactericida (Tabela 3). No teste de CMB, as linhagens bacterianas mostraram-se sensíveis, sendo possível determinar a concentração mínima bacteriostática, inibindo o crescimento bacteriano, exceto para a A7-2.

**Tabela 3:** Concentração mínima bacteriostática dos extratos da casca de *Mimosa tenuiflora* frente às cepas de *Staphylococcus aureus*.

Cepa	CMB mg/ml	
	EEC	EHC
Linhagem A5 - 1	30mg/ml	30mg/ml
Linhagem A5 - 2	30mg/ml	>30mg/ml
Linhagem A7 - 1	>30mg/ml	30mg/ml

Fonte: Autoral (2023)

Com relação ao antibiótico testado (Oxacilina 360 µg/ml), foi possível identificar a concentração mínima bactericida (CMB) contra linhagens de *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina (Tabela 4). Foi observado que não houve grande variação na concentração mínima bactericida de ação do antibiótico Oxacilina frente as cepas utilizadas, permanecendo em um intervalo entre 2,25 - 4,5 µg/ml, sugerindo que entre as linhagens utilizadas, não houve uma resistência bacteriana ao antibiótico testado.

**Tabela 4:** Concentração mínima bactericida do antibiótico oxacilina frente cepas de *S.aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i>	CMB µg/ml
	Oxacilina
Linhagem A5 - 1	4,5 µg/ml
Linhagem A5 - 2	2,25 µg/ml
Linhagem A7 - 1	4,5 µg/ml
Linhagem A7 - 2	4,5 µg/ml

Fonte: Autoral (2023)

## CONCLUSÃO

- De acordo com o *screening* fitoquímico realizado com as cascas e folhas da *Mimosa tenuiflora*, foi possível identificar metabólitos de interesse medicinal, tais como, alcalóides, flavonóides, terpenos, esteróides e taninos;
- A presença de compostos bioativos na espécie, corrobora para a confirmação de que a Jurema-Preta é uma planta com propriedades medicinais relevantes, que pode desempenhar diversos mecanismos de ação, evidenciando seu potencial na inibição do crescimento microbiano e na modulação da resposta imunológica do organismo.
- Apesar da presença de metabólitos secundários nas folhas, não foi possível identificar atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos e hexânicos das folhas;
- De acordo com os ensaios antimicrobianos foi possível observar atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos e hexânicos da casca;
- Ensaio de CMI não demonstraram atividade bactericidas dos extratos testados;
- Ao realizar o CMB, foi observado que os extratos da casca, desempenharam ação bacteriostática e foram capazes de inibir o crescimento bacteriano de forma relevante (exceto na linhagem A7-2);
- Os extratos da casca não foram capazes de inibir de forma significativa o crescimento bacteriano de *S.aureus* A7-2, evidenciando menor sensibilidade aos extratos em comparação com as demais cepas;
- O antibiótico oxacilina (360 µg/ml) desempenhou ação bactericida e bacteriostática normal contra todas as linhagens de *Staphylococcus aureus* utilizadas no projeto, evidenciando que não houve resistência microbiana ao antibiótico;
- Os resultados obtidos ressaltam a potencial alternativa terapêutica de plantas medicinais em casos de infecções causadas por microrganismos, tanto na medicina humana quanto veterinária.

- Através da apuração dos resultados, é possível concluir que a *Mimosa tenuiflora* é uma alternativa promissora como planta de propriedade medicinal, sendo capaz de inibir o crescimento bacteriano;

## 7 REFERÊNCIAS

ANS. **Farmacopeia Brasileira**. v. 1, p. 546. 2010.

BATISTA, A. C. C. A. *Klebsiella Pneumoniae: Análise Fenotípica e Molecular dos Mecanismos de Resistência KPC e NDM em um Hospital de Foz do Iguaçu, PR*. Dissertação (Mestrado em Ciências). **Universidade Federal da Integração Latino-Americana**. Foz do Iguaçu, 2020.

BEZERRA, D. A. C. et al. Atividade biológica da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir.) sobre *Staphylococcus aureus* isolado de casos de mastite bovina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 814-817, 2009.

BRAZ, A.A.Q. *Estudo fitoquímico e de potenciais atividades biológicas de Mimosa tenuiflora (willd) poir*. 2017. 182 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) **Universidade Federal da Paraíba**, João Pessoa PB, 2017.

BORGES, L. P., AMORIM, V.A. Metabólitos secundários de plantas. **Rev Agrot Ipam.**, 11(1):54-67, 2020.

CARVALHO, R. N. G., SILVA, J. P .A. A., ANJOS, C. F. C., VIEIRA, E. S. Detecção de resíduos de antibióticos em leite cru em fazendas de Aquidabã-Sergipe. **Pubvet** 14, 138, 2020.

CASSAT, E. J., THOMSEN, I. *Staphylococcus aureus* infections in children. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 34, n. 5, p. 510-518, 2021.

CHENG, W. N., HAN, S.G. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments - A review. **Asian-Australas J Anim Sci**, 33(11):1699-1713, 2020.

CLSI. Manual Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standards 11 th ed. Document M7- A6 performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, Wayne, PA., 2018.

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved standard- tenth edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**; 2015a.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard; 12th Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**; 2015b.

CÓRDOVA, V. D. S. et al. Prevalencia de Staphylococcus aureus meticilino resistente en el personal de salud de un Hospital de Especialidades en QuitoEcuador. **Revista San Gregorio**, v. 1, n. 45, p. 86-98, 2021.

DE AZEVÊDO, T. K. B., et al. Qualidade dos taninos de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) para a produção de adesivo tanino formaldeído. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.25, n.2, p.507-514, abr.-jun., 2015.

DIAS, J. A. Prevalência e fatores de risco associados à mastite subclínica em rebanhos fornecedores de agroindústrias familiares de Rondônia, **Embrapa**, 2021.

DOURADO, D. A. O., CONCEIÇÃO, A. S., SANTOS-SILVA, J. O gênero *Mimosa* L. (Leguminosae: Mimosoideae) na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Bahia, Brasil. v.13, n. 4, p.224-240, 2013.

FANCELLO, F., ZARA, S., PETRETTO, G. L., CHESSA, M., ADDIS, R., ROURKE, J. P., PINTORE, G. Essential oils from three species of *Mentha* harvested in Sardinia: chemical characterization and evaluations of their biological activity. *International Journal of Food Properties*, v. 20, n. sup2, p. 1751-1761, 2017.

FERREIRA, T.L., EVANGELISTA, A.J.J. Atividade antimicrobiana da *Mimosa tenuiflora* sobre bactérias e fungos de importância médica: uma revisão integrativa. **Arch Microbiol** 203, 3399–3406, 2021.

FERREIRA, T. S. et al. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erva-mate sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.18, n.2, supl. I, p.588-596, 2016.

FRIERI, M. et al. Antibiotic resistance. **Journal of infection and public health**, v. 10, n. 4, p. 369-378, 2017

FOGSGAARD, K. K., BENNEDSGAARD, T. W., HERSKIN, M. S. Behavioral changes in freestall-housed dairy cows with naturally occurring clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, Volume 98, Issue 3, 2015.

GALO, L., RAMÍREZ-RIGO, M. V., PALMA, J. P. S., ALLEMANDI, D., BUCALÁ, V. Valeriana officinalis Dry Plant Extract for Direct Compression: Preparation and Characterization. **Scientia Pharmaceutica**, v. 80, p. 1013-1026, 2012.

GOMES, F., HENRIQUES, M. Controle da Mastite Bovina: Abordagens Terapêuticas Antigas e Recentes. **Curr Microbiol** 72 , 377–382, 2016.

GORDON Y. C. C., BAE, J. S., OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, 12:1, 547-569, 2021.

GUO, Yunlei et al. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, p. 107, 2020.

HEINECK, D. et al. Resultado de CCS no leite de vaca utilizando vacina autógena para controle de mastites, In: X Congresso de Pesquisa e Extensão da FSG & VIII Salão de Extensão. Curso de Medicina Veterinária, **Centro Universitário da Serra Gaúcha**, Caxias do Sul, RS, 2022.

HOWDEN, B. P.; GIULIERI, S. G.; LUNG, T. W. F. et al. Interações e adaptação do hospedeiro *Staphylococcus aureus*. **Nat Rev Microbiol** 21, 380–395, 2023.

IDREES, M. et al. Staphylococcus aureus biofilm: Morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 14, p. 7602, 2021.

KRISHNAMOORTHY, P., GOUDAR, A. L., SURESH, K. P.; ROY, P. Global and countrywide prevalence of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle and buffaloes by systematic review and meta-analysis, Research in **Veterinary Science**, Volume 136, 2021.

LANGONI, H. et al. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesq. Vet. Bras.** 31(12):1059-1065, 2011.

LEE, S. A. et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Nature reviews Disease primers**, v. 4, n. 1, p. 1-23, 2018.

LESHER, B.; GAO, X.; CHEN, Y.; LIU, Z. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial pneumonia: Role of linezolid in the People's Republic of China. **Clin. Outcomes Res.**, 8, 63–72, 2016.

LIMA, L. P.; PEREZ, R.; CHAVES, J. B. P. A indústria de laticínios no Brasil - um estudo exploratório. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 35, n. 1, 2017.

LIMA, M. B. Z. Diversidade molecular de fatores de virulência em amostras de Staphylococcus aureus isoladas de lesões de pé diabético. **Universidade Federal de São Carlos**, 2023.

MACEDO, E. P. S., SARTI, M. S. Perfil microbiológico de resistência aos antimicrobianos dos pacientes internados no Hospital Estadual Monsenhor Walfredo Gurgel. **Repositório Universitário de Ânima**, 2022.

MACHADO, M. L. O. Nutrição e o desenvolvimento da glândula mamária de vacas leiteiras: revisão bibliográfica. **Universidade Estadual Paulista (Unesp)**, 2021.

MARTÍNEZ, M.M.O., GÓMEZ, A.L.B. Epidemia silente del siglo XXI. Resistencia microbiana a los antibióticos. **Medimay**, [S.l.], v. 26, n. 2, p. 233-247, ago. 2019.

- MARTINS, E. R. Avaliação biológica e química dos óleos voláteis de folhas de *Iryanthera polyneura* DUCKE (MYRISTICACEAE) e a influência de fatores climáticos. UNIP, 2018.
- MCGUINNESS W.A., MALACHOWA N., DELEO F.R. Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Yale J Biol Med**, 90(2):269–281, 2017.
- MORGUETTE, A. E. B., CORREIA, C. M., BERTÃO, A. M. S. Potencial antimicrobiano de produtos naturais contra staphylococcus aureus de infecções de feridas. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa** 38 (especial), 218-236, 2022.
- MUSHTAQ, S.; et al. Bovine mastitis: an appraisal of its alternative herbal cure. **Microbial Pathogenesis**, Londres, v. 114, p. 357-361, 2018.
- NEWSTEAD, L. L., VARJONEN, K., NUTTALL, T., PATERSON, G. K. Staphylococcal-Produced Bacteriocins and Antimicrobial Peptides: Their Potential as Alternative Treatments for *Staphylococcus aureus* Infections, **Antibiotics** 9, 40, 2020.
- OLIVEIRA, V. B., ZUCHETTO, M., OLIVEIRA, C. F., PAULA, C. S., DUARTE, A. F. S, MIGUEL, M. D., MIGUEL, O. G. Efeitos de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de Dicksonia sellowiana (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 230-239, 2016.
- OTTO, M. Staphylococcus aureus toxins. **Curr. Opin. Microbiol**, 17, 32–37, 2014.
- PEDERSEN, R. R. et al. Biofilm Research in Bovine Mastitis. **Frontiers in Veterinary Science**, vol.8, 2021.
- PEREIRA, A.V. et al. Effects of associations of tannins from Anacardium occidentale and Anadenanthera colubrina with cephalosporin against bovine Staphylococcus aureus isolates. **Arq. Inst. Biol.**, v.85, p.1-8, 2018.

PIETROCOLA, G. et al. Fibronectin-binding protein B (FnBPB) from *Staphylococcus aureus* protects against the antimicrobial activity of histones, **Journal of Biological Chemistry**, vol. 294, ed. 10, P.3588-3602, 2019.

PINHEIRO, L. F. S., MARTINS, C. P. T., MARTINS, C. F., CAIRES, P. T. P. R. C., ARAGÃO, V. S., ARAGÃO, O. S., FERRAZ, R. S., FELISBERTO, Y. S., NETO, F. J. L. M. C., CHAVES, M. C. Fatores de risco e mortalidade em pacientes criticamente enfermos com infecções por microrganismos multirresistentes. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, 13(4), e7319, 2021.

POWERS, M. E., WARDENBURG, J. B. Igniting the Fire: *Staphylococcus aureus* Virulence Factors in the Pathogenesis of Sepsis. **PLoS Pathog**, 10, e1003871, 2014.

PROBST, I. S. Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico. **UNESP**, 2012.

SAEED, K. et al. An update on *Staphylococcus aureus* infective endocarditis from the International Society of Antimicrobial Chemotherapy (ISAC). **Int. J. Antimicrob. Agents**, 53, 9–15, 2019.

SANDOVAL, V. L., RIBEIRO, L.F. Qualidade do leite: sua influência no processamento, requisitos obrigatórios e sua importância para o produto final. **GETEC**, v.10, n.28, p.41-49, 2021.

SANTANA, A.L.B.D. Estudo químico, antitérmico e anti fúngico da madeira de lei *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var-cebril (Griseb) von Reis Alt. (Angico-de-Caroço) / **Recife: O Autor**, 2011.

SANTOS, R. F, SANTOS, A. P., OLIVEIRA, L. B., FERREIRA, T. C. Antimicrobial properties of jurema-preta (*mimosa tenuiflora* (wild.) poir.) pear extracts. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.8, n.3, p. 16915-16930, 2022.

SHARUN, K. et al. Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. **Veterinary Quarterly**, 2021.

SHRESTHA, B. L. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Nepal. **JNMA: Journal of the Nepal Medical Association**, v. 59, n. 237, p. 518, 2021.

SILVA, F. A., BEZERRA, A. M. C., FERNANDES, P. R. D. TESTES FITOQUÍMICOS EM EXTRATOS ORGÂNICOS DE *BIXA ORELLANAL* (URUCUM). **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte**. HOLOS, Vol.2, 2018.

SILVA, M. V. S. et al. Benefits of *Moringa oifera* for human and animal health: Literature Review. **Research, Society and Development**, V.10, n.8, e50010817495, 2021.

SILVA, R. R., TOZZI, A. M. G. A. Uma nova espécie de *Mimosa* L. (Leguminosae, Mimosoideae) do Centro-Oeste do Brasil. **Hoehnea**, V.38, n.1, pp. 143-146. ISSN 2236-8906, 2011.

SILVA, L. O. P., NOGUEIRA, J. M. B. Resistência bacteriana: potencial de plantas medicinais como alternativa para antimicrobianos. **Rev. bras. anal. clin**, 53(1): 21-27, 20210330, 2021.

SOARES, W. N. C., LIRA, G. P. O., SANTOS, C. S., DIAS, G. N., PIMENTA, A. S., PEREIRA, A. F., FENÍCIO, L. D. M., RODRIGUES, G. S. O., AMORA, S. S. A., ALVES, N. D., FEIJÓ, F. M. C. Pyroligneous acid from *Mimosa tenuiflora* and *Eucalyptus urograndis* as an antimicrobial in dairy goats. **Journal Applied Microbiology**, v. 131, n. 2, p. 604-614, 2021.

SURESH, M. K. et al. An update on recent developments in the prevention and treatment of *Staphylococcus aureus* biofilms. **International Journal of Medical Microbiology**, vol. 309, Issue 1, P. 1-12, ISSN 1438-4221, 2019.

TRABELSI, A. et al. Phytochemical Study and Antibacterial and Antibiotic Modulation Activity of *Punica granatum* (Pomegranate) Leaves", **Scientifica**, vol. 2020, Article ID 8271203, 7 pages, 2020.

TURNER N. A., SHARMA-KUINKEL B. K., MASKARINEC S. A., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. **Nat Rev Microbiol**, 17(4):203–218, 2019.

VAN DUIN, David; PATERSON, David L. Multidrug-resistant bacteria in the community: an update. **Infectious Disease Clinics**, v. 34, n. 4, p. 709-722, 2020.

VENTOLA, C Lee. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. P & T : a peer-reviewed. **Journal for Formulary Management**, v. 40, n. 4, p. 277–83, 2015.

VERÍSSIMO, S. A. O. STAPHYLOCOCCUS AUREUS E STAPHYLOCOCCUS CHROMOGENES ASSOCIADOS A VACAS LEITEIRAS: avaliação imuno metabólica na relação macrófago-bactéria em uma abordagem in vitro, 2022.

WIŃSKA, K.; MACZKA, W.; ŁYCZKO, J.; GRABARCZYK, M.; CZUBASZEK, A.; SZUMNY, A. Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative? **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2130, 2019.

WU, Z. et al. Vancomycin C-terminus guanidine modifications and further insights into an added mechanism of action imparted by a peripheral structural modification. **ACS infectious diseases**, v. 6, n. 8, p. 2169-2180, 2020.

YADAV, M. et al. Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences*, ISSN - 0975-1491, Vol.6, issue 5, 2014.

ZAATOUT, N., AYACHI, A., KECHA, M. Staphylococcus aureus persistence properties associated with bovine mastitis and alternative therapeutic modalities. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n. 5, p. 1102-1119, 2020.