

Potencial antimicrobiano de extratos etanólicos de plantas frente a bacilos gram negativos isolados da mucosa cérvico-vaginal de ovelhas criadas na região de Petrolina-PE

Antimicrobial potential of ethanol extracts of plants against gram-negative bacilli isolated from cervicovaginal mucosa of sheep bred in the region of Petrolina-PE

Valdenice Félix da Silva^{1*}; Isabelle Franco²; Tácito Emanuel Ferreira Damasceno³; Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida⁴; Mateus Matiuzzi da Costa⁴

Resumo

Infecções do trato reprodutivo são as principais causas de baixa eficiência reprodutiva de ovelhas. Bacilos gram negativos pertencentes à microbiota genital podem ser patógenos oportunistas. Falhas na antibioticoterapia e a preocupação com resíduos destas drogas nos animais de produção têm incitado pesquisas referentes a alternativas para o tratamento de enfermidades. A fitoterapia tem sido considerada nesse âmbito, sendo alvo de inúmeras pesquisas. Este estudo teve por objetivo avaliar o potencial antibacteriano de extratos etanólicos de plantas pertencentes à flora nordestina frente a bacilos gram negativos isolados da mucosa cérvico-vaginal de ovelhas. Foram selecionadas seis plantas do bioma caatinga: *Encholirium spectabile*, *Bromelia laciniosa*, *Neoglaziovia variegata*, *Amburana cearensis*, *Hymenaea martiana* e *Selaginella convoluta*. O material vegetal foi processado até obtenção do extrato bruto. Este foi testado por meio da microdiluição em placa e determinação da concentração bactericida mínima, segundo documento do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), sendo os extratos diluídos em água destilada e álcool. Foram utilizados 43 isolados gram negativos, sendo: 14 *E. coli*, 10 *Enterobacter* spp., 10 *Acinetobacter* spp. e 9 *Klebsiella* spp.. Na diluição aquosa o gênero *Klebsiella* apresentou resposta somente às espécies *B. laciniosa*, *S. convoluta* e *H. martiana*. Todos os extratos testados apresentaram atividade antimicrobiana perante *Acinetobacter* spp e nenhuma atividade frente *E. coli* e *Enterobacter* spp. Dentre os extratos diluídos em água, *H. martiana* demonstrou a maior atividade antibacteriana. Na diluição alcoólica todos os extratos apresentaram atividade inibitória perante todos os gêneros bacterianos, porém não apresentaram diferença estatística entre eles.

Palavras-chave: Trato reprodutivo, bactérias oportunistas, fitoterapia

Abstract

Reproductive tract infections are the main causes of losses from the low reproductive efficiency of sheep. Gram negative bacilli belonging to the normal flora of the genital region can trigger diseases. The pathogenicity of these agents is expressed when females are with weakened immune system, either by food or stress management. Flaws in and concern about antibiotic residues in animal production have prompted research regarding alternatives for the treatment of diseases. The herbal medicine has

¹ M.e da Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, PE. E-mail: deniveterinaria@yahoo.com.br

² Discente de Doutorado, Universidade Federal da Bahia, UFBA, Salvador, BA. E-mail: isafelinos@hotmail.com

³ Discente de Mestrado, UNIVASF, Petrolina, PE. E-mail: te_damasceno@hotmail.com

⁴ Profs. da UNIVASF, Petrolina, PE. E-mail: jackson.guedes@univasf.edu.br; mmatiuzzi@hotmail.com

* Autor para correspondência

been considered in this context is the subject of numerous studies. This study aimed to evaluate the antibacterial potential of ethanol extracts of plants belonging to the flora of the Northeast against gram negative bacilli isolated from cervical-vaginal mucosa of sheep. Six plants were selected from Caatinga biome: *Encholirium spectabile*, *Bromelia laciniosa*, *Neoglaziovia variegata*, *Amburana cearensis*, *Hymenaea martiana* and *Selaginella convoluta*. The plant material was processed to obtain the crude extract. This was tested by microdilution plate and determining the minimum bactericidal concentration, the second document of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and the extracts diluted in water and alcohol. We used 43 gram negative isolates, as follows: 14 *E. coli*, 10 *Enterobacter* spp., 10 *Acinetobacter* spp. 9 and *Klebsiella* spp. In the aqueous dilution *Klebsiella* spp. showed response only to species *B. laciniosa*, *S. convoluta* and *H. martiana*. All tested extracts showed antibacterial activity against *Acinetobacter* spp and no activity against *E. coli* and *Enterobacter* spp. Among the extracts diluted in water *H. martiana* showed the highest antibacterial activity. In all dilution alcoholic extracts showed inhibitory activity against all bacterial genera, but no statistical difference between them.

Key words: Reproductive tract, opportunistic bacteria, phytotherapy

Introdução

A principal causa da baixa eficiência reprodutiva de ovelhas está relacionada às infecções do trato reprodutivo, que são responsáveis por perdas ocasionadas pelo descarte de fêmeas e diminuição do número de crias destinadas ao abate (FORAR; GAY; HANCOCK, 1995). Bacilos gram negativos são componentes da microbiota normal da região cérvico-vaginal em diversas espécies domésticas (ROCHA et al., 2004; MARTINS et al., 2009). Esses microrganismos, principalmente enterobactérias, são considerados como patógenos oportunistas, desencadeando doença em situações de estresse, como o final da gestação e pós-parto. Mudanças bruscas de temperatura, deficiências nos manejos alimentar, de transporte e práticas como vacinações podem desencadear desequilíbrios entre os hospedeiros e microrganismos fazendo com que estes expressem sua patogenicidade (VERMA et al., 1994). Artigos demonstram a prevalência de enterobactérias na etiologia de enfermidades do trato reprodutivo (HUSTED, 2003; ANDRADE et al., 2005), sendo a *Escherichia coli* o principal agente isolado.

Resultados insatisfatórios frente à utilização de drogas antimicrobianas, a preocupação com a resistência bacteriana e os resíduos teciduais deixados pelas drogas nos animais destinados à produção de alimentos enfatizam a necessidade de

alternativas para o tratamento das enfermidades do trato reprodutivo (AIELLO, 2001). Estudos referentes a fitoterápicos têm se desenvolvido no Brasil nas últimas décadas, sendo parte deles envolvendo espécies nativas do nordeste, especificamente do bioma caatinga (AGRA et al., 2008, ALBUQUERQUE; ANDRADE; SILVA, 2005). Alguns trabalhos vêm demonstrando a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de plantas da flora nordestina. Pode-se citar a *Amburana cearensis* (BRAVO et al., 1999), *Hymenaea courbaril*, (NOGUEIRA et al., 2001), *Borreria verticillata* (PEIXOTO-NETO et al., 2002), *Croton sonderianus* (MCCHESENEY; CLARK; SILVEIRA, 1991), *Hyptis suaveolens* (IWU et al., 1990), *Maytenus rigida* (KLOUCEK et al., 2005), *Pithecellobium cochliacarpum* (ARAÚJO et al., 2002), *Plumbago scandens* (PAIVA et al., 2003), *Ximenia americana* (KONÉ et al., 2004), *Guazuma ulmifolia* (CACERES et al., 1993). A utilização dessa alternativa terapêutica por criadores e veterinários tem sido descrita, sendo os mesmos administrados aos animais em forma de soluções e pomadas para uso local ou administração de plantas verdes ou secas via oral (SCHUCH et al., 2008). Fernandes, Santos e Pimenta (2005) verificaram atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos de *G. ulmifolia* e *H. courbaril* frente *E. coli*.

Sendo assim esse trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* do extrato

etanólico de seis plantas pertencentes à flora nordestina (bioma caatinga) frente a bacilos gram negativos isolados da mucosa cérvico-vaginal de ovelhas mestiças criadas na região de Petrolina – PE.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia e Imunologia do Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco, no município de Petrolina – PE, a uma latitude de -09° 23' 55" e longitude de 40° 30' 03", sendo localizada no Nordeste do Brasil.

Material vegetal

O material botânico foi coletado no município de Petrolina-PE e identificado pelo botânico André Paviotti Fontana a partir do Centro de Referência em Recuperação de Áreas Degradadas (Centro de Referência e Recuperação de Áreas Degradadas - CRAD) da Universidade Federal do Vale do São Francisco. Exemplos encontram-se depositados no Herbário Vale do São Francisco (HVASF) com os códigos para as respectivas espécies: *Encholirium Mart spectabile*. (6443), *Bromelia laciniosa* Mart. (6442), *Amburana cearensis* (Fr. Allem.) AC Smith (5445) e *Hymenaea martiana* Hayne (6444).

Processamento do material vegetal e obtenção do extrato etanólico bruto

O material vegetal foi dessecado em estufa com circulação forçada à temperatura média de 40°C durante três dias. Após a secagem e completa estabilização (eliminação de água, inativação de enzimas, etc.) o material foi processado em moinho, obtendo-se um material vegetal seco e pulverizado. Este foi submetido à maceração exaustiva com etanol 95%. Foram feitas várias extrações num intervalo de 72 horas entre cada extração até completo esgotamento do material vegetal. A

solução extrativa obtida passou por um processo de destilação do solvente em evaporador rotativo à pressão reduzida a uma temperatura média de 50°C. Após este processo de evaporação do solvente, obteve-se o extrato etanólico bruto.

Fitoquímica

A análise fitoquímica preliminar dos extratos foi realizada. A presença de alcalóides foi testado com reagentes de Dragendorff e Mayer, flavonóides com ácido clorídrico e magnésio em pó, compostos fenólicos com cloreto férrico e esteróides e terpenóides pela reação Liebermann-Burchard (MATOS, 1997).

HPLC-DAD análise de compostos fenólicos

A análise do perfil de compostos fenólicos foi realizada em cromatógrafo líquido Hitachi LaChrom modelo Elite, column LiCospher 100 RP18 (5 mm) com dimensões (150 mm x 04 milímetros) Merck equipado com detector de Diode Array (DAD). A fase móvel utilizada foi uma solução de H₂O/H₃PO₄ 0,1% (A) e MeOH (B) desde inicial de 75% de A e 25% de B por 25 minutos. A temperatura da coluna foi mantida constante em 30 ° C com um fluxo de 1,0 ml / min. Para os extratos, foi utilizado um volume de injeção de 20 µl. Os dados espectrais foram registrados em 320nm durante a corrida inteira.

Testes de sensibilidade aos extratos etanólicos

Foram utilizados 43 isolados, sendo distribuídos da seguinte forma: 14 *E. coli*, 10 *Enterobacter* spp., 10 *Acinetobacter* spp. e 9 *Klebsiella* spp. obtidos da mucosa cérvico-vaginal de ovelhas sadias, não-prenhes pertencentes aos rebanhos do município de Petrolina e região. Foram testados 0,25 g de cada extrato etanólico, os quais foram diluídos em água destilada estéril e álcool absoluto, sendo utilizados 10 mL em ambos os diluentes, obtendo-

se uma solução estoque na concentração de 25 mg/mL. A microdiluição, baseada no documento M7-A7 (CLSI, 2006), consistiu na distribuição de 200 µL de caldo Muller-Hinton em placas de microtitulação; a seguir, 200 µL da solução estoque do extrato eram acrescidos ao primeiro poço e, após homogeneização, transferia-se para o segundo e assim sucessivamente, sendo obtidas as seguintes concentrações finais: 12.500; 6.250; 3.125; 1.562,5; 781,3; 390,6; 195,3 e 97,6 µg/mL. Na preparação do inóculo foi utilizado cultivo bacteriano em Ágar Muller-Hinton, para obtenção de uma suspensão bacteriana com turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland. Desta suspensão, foi inoculado 10 µL nos poços das microplacas contendo a diluição do extrato etanólico. O material foi incubado a 37°C por 24h em condições de aerobiose. De todos os poços retirou-se uma alíquota de 10 µL, semeando-se na superfície de ágar MH e incubando por 24 horas a 37°C. A concentração bactericida mínima (CBM) foi definida como a menor concentração do extrato etanólico em estudo capaz de causar a morte do inóculo. Para os extratos diluídos em álcool, além do controle positivo e negativo, foi realizada a diluição do etanol absoluto sem os extratos, sendo consideradas as CBM dos extratos, quanto menores que aquelas obtidas para o etanol absoluto. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Análise estatística

O delineamento utilizado foi do tipo inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 2 gêneros bacterianos x 6 (extratos etanólicos vegetais), em 6 repetições para a diluição em água enquanto para a diluição em álcool em arranjo de 4 gêneros x 6 (extratos etanólicos) em 18 repetições. Avaliou-se o efeito dos isolados, dos extratos e a interação entre estes fatores, e os tratamentos que apresentaram significância foram comparados pelo teste de Tukey a 5%.

Resultados

As atividades antimicrobianas dos extratos etanólicos de plantas diluídos em água estão dispostas na tabela 1. O gênero *Klebsiella* apresentou resposta somente às espécies *Bromélia laciniosa*, *Selaginella convoluta* e *Hymenaea martiana*, respectivamente com as seguintes médias para CBM: 6.250 µg/mL, 4.167 µg/mL e 12.500 µg/mL. Todos os extratos testados apresentaram atividade inibitória frente à *Acinetobacter* spp., obtendo as seguintes médias para CBM: 10.417 µg/mL (*E. spectabile*), 8.333 µg/mL (*B. laciniosa*), 6.250 µg/mL (*N. variegata*), 9.375 µg/mL (*A. cearensis*), 1.042 µg/mL (*H. martiana*) e 2.604 µg/mL (*S. convoluta*).

Quanto ao percentual de atividade, a *H. martiana* apresentou a maior atividade entre as espécies de plantas testadas, inibindo 70% (7/10) dos isolados de *Acinetobacter* spp., enquanto que no gênero *Klebsiella* a espécie de maior atividade foi a *S. convoluta*, que inibiu 20% (2/10) dos isolados. O gênero *Enterobacter* spp. e os isolados de *E. coli* não apresentaram sensibilidade a nenhum dos extratos testados.

Todos os extratos etanólicos quando diluídos em álcool apresentaram atividade antimicrobiana perante os isolados avaliados, porém não demonstraram diferença estatística entre eles. As menores médias de CBM foram observadas no gênero *Acinetobacter* spp. e foram propiciadas pelos extratos de *N. variegata*, *A. cearensis*, *H. martiana* e *S. convoluta*, com um valor de 1.302 µg/mL (Tabela 2). *Enterobacter* spp. apresentou os melhores resultados com valores médios de CBM de 520,83 µg/mL e 390,6 µg/mL, respectivamente para *N. variegata* e *A. cearensis*. *E. coli* apresentou a média de CBM de 1.302 µg/mL para todos os extratos testados. Os extratos de *H. martiana* e *A. cearensis* foram os extratos que apresentaram melhores resultados de CBM para o gênero *Klebsiella* spp. com médias de 954,9 µg/mL e 911,4 µg/mL respectivamente.

Tabela 1. Concentração Bactericida Mínima dos extratos etanólicos de plantas do bioma caatinga diluídos em água frente a bactérias gram negativas obtidas da microbiota cérvico-vaginal de ovelhas.

Família/Espécie	Gêneros Bacterianos			
	Concentração Bactericida Mínima			
	Médias (µg/mL)			
	<i>E.coli</i>	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp
Bromeliaceae				
<i>Encholirium spectabile</i>	S/A	S/A	10.417 ^a	S/A
<i>Bromelia laciniosa</i>	S/A	S/A	8.333 ^{ab}	6.250 ^b
<i>Neoglaziovia variegata</i>	S/A	S/A	6.250 ^{abc}	S/A
Fabaceae				
<i>Amburana cearensis</i>	S/A	S/A	9.375 ^{ab}	S/A
Caesalpiniaceae				
<i>Hymenaea martiana</i>	S/A	S/A	1.042 ^c	4.167 ^b
Selaginellaceae				
<i>Selaginella convoluta</i>	S/A	S/A	2.604 ^{bc}	12.500 ^a

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey. S/A= sem atividade.

Fonte: Elaboração dos autores.

Tabela 2. Concentração Bactericida Mínima dos extratos etanólicos de plantas do bioma caatinga diluídas em álcool frente a bactérias gram negativas obtidas da microbiota cervico-vaginal de ovelhas.

Família/Espécie	Gêneros Bacterianos			
	Concentração Bactericida Mínima			
	Médias (µg/mL)			
	<i>E.coli</i>	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp
Bromeliaceae				
<i>Encholirium spectabile</i>	1.302,1	585,9	1.563	1.041,7
<i>Bromelia laciniosa</i>	1.302,1	781,3	1.475,7	1.041,7
<i>Neoglaziovia variegata</i>	1.302,1	520,8	1.302,1	1.041,7
Fabaceae				
<i>Amburana cearensis</i>	1.302,1	390,6	1.302,1	911,4
Caesalpinaceae				
<i>Hymenaea martiana</i>	1.302,1	542,5	1.302,1	954,9
Selaginellaceae				
<i>Selaginella convoluta</i>	1.302,1	781,3	1.302,1	1.041,7

Fonte: Elaboração dos autores.

Discussão

Os extratos etanólicos das plantas, quando diluídos em água apresentaram baixa atividade antimicrobiana frente às bactérias gram negativas testadas. Microrganismos dessa natureza possuem uma parede celular quimicamente mais complexa que os demais, podendo não ser atingidos pelos ativos

das plantas que foram extraídos pela água (QUINN et al., 2005). Resultados semelhantes foram relatados por Souza et al. (2004), que de dezoito plantas testadas nenhuma apresentou atividade contra *E. coli*. Entretanto, Bravo et al. (1999), avaliando substâncias bioativas presentes em *A. cearensis* encontraram atividade biológica contra *E. coli*

isolada de humanos. A atividade antibacteriana de extratos de plantas frente ao gênero *Acinetobacter* spp. já foram relatadas (BORGES et al., 2007). Manetti, Delaporte e Javerde Junior (2009) relatam diferentes classes de substâncias bioativas nas espécies da família Bromeliaceae, entre eles triterpenos, esteróides, flavonóides e gliceróis. Entretanto, do ponto de vista farmacológico, existem poucos estudos disponíveis. A atividade inibitória das plantas testadas sugere a presença de substâncias ativas contra microrganismos, porém estudos devem ser implantados a fim de identificá-las. Pesquisas desenvolvidas com *A. cearensis* revelaram a presença de flavonóides e cumarinas, compostos tidos como responsáveis pela ação farmacológica da planta (CANUTO; SILVEIRA, 2006).

A melhor média de CBM, no extrato diluído em água, foi propiciada pela *H. martiana* tanto para *Klebsiella* spp. como para *Acinetobacter* spp.. Nogueira et al. (2001) em estudos fitoquímicos dessa espécie de planta verificaram a presença de diterpenos nas cascas e na resina exsudada do tronco, sendo estes considerados protetores contra infecções (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997). O gênero *Hymenaea* tem sido um dos mais estudados do ponto de vista antibacteriano, sendo relatada a presença de substâncias ativas como oligopolissacarídeos e polissacarídeos (VALENTIM, 2006). Sua utilização na medicina popular para o tratamento de diversas enfermidades é demonstrada em alguns artigos, tanto para uso humano (SILVA; ALBUQUERQUE, 2005) como animal (ROCHFORD; PARKER; DUNSHEA, 2008). Fernandes, Santos e Pimenta (2005) avaliando a atividade antimicrobiana de plantas, entre elas *H. courbaril*, com o extrato diluído em água destilada estéril, verificaram atividade inibitória perante *E. coli*, não corroborando com os achados deste estudo.

Todos os extratos testados, quando diluídos em álcool, demonstraram atividade inibitória, sugerindo que alguns compostos com ação antibacteriana foram extraídos pelo álcool e não pela água. Silva,

Teixeira e Galdino (2009) avaliando a atividade antibacteriana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. diluído em álcool absoluto verificaram inibição do mesmo perante *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella* spp. Girolometto et al. (2009) avaliando diferentes métodos para extração de princípios ativos da *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. (erva mate), verificaram que, independente da bactéria testada, a alcoolatura (folhas verdes em etanol absoluto) apresentou melhor atividade antibacteriana. Sousa, Conceição (2007) verificaram que soluções alcoólicas de *Rosmarinus officinalis* L. de 1 e 3% apresentaram atividade perante bactérias gram positivas mas não contra *E. coli* em ambas as concentrações. A atividade antibacteriana propiciada pelo extrato hidroalcoólico de *Syzygium cumini* (L.) Skells a 10%, avaliada por Loguercio et al. (2005), não apresentou diferença de sensibilidade entre microrganismos gram positivos e gram negativos. O autor relaciona ainda a atividade antimicrobiana à presença de grande quantidade de taninos na planta. Segundo Scalbert et al. (1991) pressupõe-se que os taninos inibem enzimas bacterianas e agem sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando seu metabolismo.

O estudo do potencial antimicrobiano de plantas pertencentes à flora nordestina é de grande importância, pois estes estudos servirão como base para produção de fitoterápicos. Pesquisas referentes à utilização de plantas em Medicina Veterinária revelaram o uso de inúmeras espécies na terapêutica dos animais domésticos (MARINHO et al., 2007). Esclarecimentos a criadores e veterinários com relação à utilização dessa alternativa se tornam pertinentes, já que se trata de uma opção de baixo custo e alta disponibilidade (MARINHO et al., 2007).

Conclusões

Os extratos etanólicos quando diluídos em álcool apresentaram melhor atividade bacteriana frente às bactérias gram negativas. Entretanto,

pesquisas referentes a fatores como toxicidade, em virtude da utilização desse diluente devem ser consideradas. Na diluição aquosa, as espécies *H. martiana* e *A. cearensis* apresentaram maior atividade antibacteriana, demonstrando o potencial de utilização dessas plantas para o desenvolvimento de fitoterápicos.

Referências

- AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.
- AIELLO, S. E. (Ed.). *Manual merck de veterinária*. 8. ed. São Paulo: Roca, 2001. 1861 p.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C.; SILVA, A. C. O. Use of plant resources in a seasonal dry forest (Northeastern Brazil). *Acta Botânica Brasileira*, Recife, v. 19, n. 1, p. 27-38, 2005.
- ANDRADE, J. R. A.; SILVA, N.; SILVEIRA, W.; TEIXEIRA, M. C. C. Estudo epidemiológico de problemas reprodutivos em rebanhos bovinos na bacia leiteira de Goiânia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 57, n. 6, p. 720-725, 2005.
- ARAÚJO, C. W. G.; PEIXOTO-NETO, P. A. S.; CAMPOS, N. V. C.; PORFÍRIO, Z.; CAETANO, L. C. Antimicrobial activity of *Pithecolobium avaremotemo* Bark. *Fitoterapia*, Maceió, v. 73, n. 7-8, p. 698-700, 2002.
- BORGES, L. R.; ASTOLFI, V.; MOSSI, A. J.; CANSIAN, R. L. Determinação de atividades biológicas em extratos de carqueja (*Baccharis trimera* (LESS) D.C). In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 8., 2007, Caxambu. *Anais...* Caxambu: [s.n.], 2007.
- BRAVO, J. A.; SAUVAIN, M.; GIMENEZ, A.; MUNOZ, V.; CALLAPA, J.; LE MEN-OLIVER, L.; MASSIOT, G.; LAVAUD, C. Bioactive phenolic glycosides from *Amburana cearensis*. *Phytochemistry*, Oxford, v. 50, n. 1, p. 71-74. 1999.
- CACERES, A.; FLETES, L.; AGUILAR, L.; RAMIREZ, O.; FIGUEROA, L.; TARACENA, A. M.; SAMAYOA, B. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. *J Ethnopharmacology*, Guatemala City- Guatemala, v. 38, n. 1, p. 31-38, 1993.
- CANUTO, K. M.; SILVEIRA, E. R. Constituintes químicos da casca do caule de *Amburana cearensis* A.C. SMITH. *Química Nova*, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1241-1243, 2006.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, sixteenth informational supplement, document M100-S16. Wayne, PA, USA: CLSI, 2006. 183 p.
- FERNANDES, T. T.; SANTOS, A. T. F.; PIMENTA, F. C. Atividade antimicrobiana das plantas - *Plathymentia reticulate*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 34, n. 2, p. 113-122, 2005.
- FORAR, A. L.; GAY, J. M.; HANCOCK, D. D. The frequency of endemic fetal loss in dairy cattle: a review. *Theriogenology*, Philadelphia, v. 43, n. 6, p. 989-1000, 1995.
- GIROLOMETTO, G.; AVANCINI, C. A. M.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Atividade antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Porto Alegre, v. 11, n. 1, p. 49-55, 2009.
- IWU, M. M.; EZEUGWU, C. O.; OKUNGI, C. O.; SANSON, D. R.; TEMPESTA, M. S. Antimicrobial activity and terpenoids of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *International Journal of Crude Drug Research*, Washington, v. 28, n. 1, p. 73-76, 1990.
- KLOUCEK, P.; POLESNY, Z.; SVOBODOVA, B.; VLKOVA, E.; KOKOSKA, L. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District. *Journal of Ethnopharmacology*, Leiden, The Netherlands, v. 99, n. 2, p. 309-312, 2005.
- KONÉ, W. M.; ATINDEHOU, K. K.; TERAUX, C.; HOSTETTMANN, K.; TRAORÉ, D.; DOSSO, M. Traditional medicine in North Cote d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, Leiden, The Netherlands, v. 93, n. 1, p. 43-49, 2004.
- HUSTED, J. R. *Bacterial and fungal organisms in the vagina of normal cows and cows with vaginitis*. 2003. Dissertation (Master of Science Veterinary Microbiology) - Texas A & M University, Texas,
- LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jombolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.
- MANETTI, L. M.; DELAPORTE, R. H.; JAVERDE JUNIOR, A. Metabólitos secundários da família

- Bromeliaceae. *Química Nova*, São Paulo, v. 15, p. 1-13, 2009.
- MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; ROTONDANO, T. E. F.; VIDAL, I. F.; SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 64-69, 2007.
- MARTINS, G.; FIGUEIRA, L.; PENNA, B.; BRANDÃO, F.; VARGES, R.; VASCONCELOS, C.; LILENBAUM, W. Prevalence and antimicrobial susceptibility of vaginal bacteria from ewes treated with progestin-impregnated intravaginal sponges. *Small Ruminant Research*, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 182-184, 2009.
- MATOS, F. J. A. *Introdução à fitoquímica experimental*. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997. 141 p.
- MCCHESNEY, J. D.; CLARK, A. M.; SILVEIRA, A. R. Antimicrobial diterpenes of *Croton sonderianus*. *Journal of Nature Product*, v. 54, n. 6, p. 1625-1633, 1991.
- NOGUEIRA, R. T.; SHEPHERD, G. J.; LAVERDE JÚNIOR, A.; MARSAIOLI, A. J.; IMAMURA, P. M. Clerodane-type diterpenes from the seed pods of *Hymenaea courbaril* var. *Stilbocarpa*. *Phytochemistry*, Oxford, v. 58, n. 8, p. 1153-1157, 2001.
- PAIVA, S. R.; FIGUEIREDO, M. R.; ARAGÃO, T. V.; KAPLAN, M. A. x Antimicrobial activity in vitro of plumbagin isolated from *Plumbago* species. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 98, n. 7, p. 959-961, 2003.
- PEIXOTO-NETO, P. A. S.; SILVA, M. V.; CAMPOS, N. V. C.; PORFÍRIO, C. Z.; CAETANO, L. C. Antibacterial activity of *Borreria verticillata* roots. *Fitoterapia*, Maceió, v. 73, n. 6, p. 529-531, 2002.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512 p.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. *Farmacognosia e farmacobiotecnologia*. São Paulo: Premier, 1997. 372 p.
- ROCHA, A. A.; GAMBARINI, M. L.; ANDRADE, M. A.; OLIVEIRA FILHO, B. D.; GOMES, F. A. Microbiota cérvico-vaginal durante o final de gestação e puerpério em vacas girolando. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 5, n. 4, p. 215-220, 2004.
- ROCHFORT, S.; PARKER, A. J.; DUNSHEA, F. R. Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*, Oxford, v. 69, n. 2, p. 299-322, 2008.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, Oxford, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.
- SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L. S.; DE TONI, L.; LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos naturais frente a microrganismos relacionados à mastite bovina. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 9, n. 1, p. 161-169, 2008.
- SILVA, A. C. O.; ALBUQUERQUE, U. P. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). *Acta Botânica Brasileira*, Recife, v. 19, n. 1, p. 17-26, 2005.
- SILVA, A. B.; TEIXEIRA, L. M.; GALDINO, R. M. N. Atividade antibacteriana in vitro do extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale* Linn. 2009. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex_2009/cd/resumos/R0177-1.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2010.
- SOUZA, G. C.; HAAS, A. P.; VON POSER, G. L.; SCHAPOVAL, E. E.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, Porto Alegre, v. 90, n. 1, p. 135-143, 2004.
- SOUSA, T. M. P.; CONCEIÇÃO, D. M. Atividade antibacteriana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). *Revista de Ciências Veterinárias*, Niterói, v. 5, p. 7-13, 2007.
- VALENTIM, A. P. T. *Atividade antimicrobiana, estudo fitoquímico e identificação de constituintes apolares do alburno de Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex. Hayne (jatobá). 2006. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- VERMA, H. K.; SHARMA, D. K.; KAUR, H.; DHABLAMA, D. C. A bacteriological study of repeat breeders cows and their treatment. *Indian Veterinary Journal*, Madras, v. 47, n. 6, p. 467-470, 1994.