

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-graduação em Veterinária



Dissertação

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *In vitro* E *In vivo*
DE *Schinus terebinthifolius* Raddi NO
CONTROLE DA MASTITE BOVINA

Ângela Faccin

Pelotas, fevereiro 2013.

ÂNGELA FACCIN

**Atividade antibacteriana *in vitro* e *in vivo* de *Schinus terebinthifolius*
Raddi no controle da mastite bovina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Veterinária Preventiva).

Orientador: Dr. Luiz Filipe Damé Schuch

Co-Orientador: Dr João Luiz Zani

Co-Orientadora: Dra Silvia Regina Leal Ladeira

Pelotas, fevereiro 2013

Dados Internacionais de Publicação (CIP)

F137a Faccin, Ângela

Atividade antibacteriana in vitro e in vivo de *Schinus terebinthifolius* Raddi no controle da mastite bovina / Ângela Faccin; Luiz Filipe Damé Schuch, orientador. - Pelotas, 2013.

67 f.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

1.Aroeira-vermelha. 2.Antissepsia da ordenha. 3.Mastite. 4.Ação antibacteriana. I. Schuch, Luiz Filipe Damé orient. II. Título.

CDD: 636.0895

Catálogo na Fonte: Marlene Cravo Castillo CRB:10/744
Universidade Federal de Pelotas

Banca examinadora:

Prof. Dr. Luiz Filipe Damé Schuch

Prof. Dr. Jorge Damián Stumpfs Diaz

Prof. Dra Patrícia da Silva Nascente

Prof. Dr. Gustavo Schiedeck

Prof Dra Silvia Regina Leal Ladeira (Suplente)

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por estar sempre me guiando e iluminando meus passos pelo melhor caminho.

Aos meus pais, Clécio Faccin e Jussara Maria Faccin, por todo amor, educação, humildade, dignidade, exemplo de vida e por sempre acreditarem em mim e me apoiarem nas escolhas que fiz, pelo orgulho a cada conquista, pois tudo o que busco é por vocês e para vocês.

A minha irmã Aline Faccin que é mais do que irmã, é minha alma gêmea, nosso amor vai além dessa vida.

Aos meus dindos, Roberto Osvaldo Pont Zambonato e Ana Maria Krusser Zambonato, tios Luis Macluf Junior e Simone Zambonato Macluf e minhas avós Noema Martins de Freitas e Heloíza Pont Zambonato, agradeço por poder fazer parte da vida e do dia-a-dia de vocês durante esse período, o amor incondicional, os momentos que desfrutamos juntos, a fé que sempre tiveram em mim.

Ao meu orientador, oráculo e psicólogo, Doutor Luiz Filipe Damé Schuch, que acreditou em mim, me deu esta oportunidade, segurou as pontas nos momentos de crise e, além disso, contribuiu substancialmente para o meu crescimento profissional e conhecimento adquirido.

As meninas do Schuch, integrantes do Laboratório de Doenças Infecciosas principalmente as colegas, Carolina, Fernanda, Diane, Anna, Katiuscia, Roberta, as estagiárias Lisiane e Bianca, e as funcionárias Silvia, Renata e Carla, que sempre me ajudaram tanto com o aprendizado em rotina de laboratório como na execução dos experimentos.

A Cooperativa Vista Alegre (COOPAVA) que me recebeu sempre tão bem e contribuíram de forma fundamental para a realização do experimento.

A banca pela contribuição científica de análise desses trabalhos.

Resumo

FACCIN, Ângela. **Atividade antibacteriana *in vitro* e *in vivo* de *Schinus terebinthifolius* Raddi no controle da mastite bovina.** 2013. 67f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O interesse científico pela fitoterapia levou ao desenvolvimento de pesquisas baseadas nas práticas populares. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico e óleo essencial das folhas e frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi em dois estádios fenológicos frente a bactérias relacionadas a mastite bovina, além de testar um extrato da planta, com ação antibacteriana, para ser utilizado na antisepsia da ordenha. A dissertação está apresentada em dois artigos científicos. O primeiro, refere-se a atividade antibacteriana *in vitro* do extrato hidroalcoólico e óleo essencial das folhas e frutos em dois estádios fenológicos, testados pela técnica de microdiluição serial em placas contra bactérias da mastite bovina. Os resultados foram expressos pela Concentração Bactericida Mínima. Todos os extratos apresentaram atividade antibacteriana. O segundo trabalho demonstra resultados referentes ao experimento *in vivo*, onde foi testado o extrato hidroalcoólico das folhas da planta no pré e pós dipping, durante doze semanas consecutivas, como controle se utilizou iodo comercial, foram coletados dados semanais referentes a mastite clínica, subclínica, e novas infecções intramamárias, e dados quinzenais da saúde do esfíncter e da pele do teto. Nenhum dos índices analisados apresentaram diferença estatísticas entre os tratamentos, sugerindo que o extrato da planta pode ser usado para antisepsia dos tetos como substituinte dos produtos convencionais. Em nosso estudo obtivemos resultados satisfatórios da utilização desta planta, ela apresenta ação antibacteriana frente as bactérias da mastite bovina e na desinfecção dos tetos tem resultados semelhantes aos do produto convencional.

Palavras-chave: Aroeira-vermelha. Antissepsia da ordenha. Mastite. Ação antibacteriana.

Abstract

FACCIN, Ângela. **Atividade antibacteriana *in vitro* e *in vivo* de *Schinus terebinthifolius* Raddi no controle da mastite bovina.** 2013. 67f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The scientific interest in herbal medicine has led to the development of research based on the popular practices. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract and essential oil from the leaves and fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi at two growth stages against bacteria related to bovine mastitis, besides testing a plant extract with antibacterial action, to be used antisepsis in milking. The thesis is presented in two papers. The first refers to the *in vitro* antibacterial activity of hydroalcoholic extract and essential oil from leaves and fruits at two growth stages, tested by serial microdilution plates against bovine mastitis bacteria. The results were expressed as Minimal Bactericidal Concentration. All extracts showed antibacterial activity. The second paper shows results for the *in vivo* experiment, which tested the hydroalcoholic extract of the leaves of the plant before and after dipping for twelve consecutive weeks, was used as control iodine commercial, weekly data were collected regarding clinical mastitis, subclinical and new intramammary infections, and biweekly health data sphincter and skin from the ceiling. None of the indices analyzed apresentaram difference between treatments, suggesting that the plant extract can be used to teat antisepsis as a replacement of conventional products. In our study we have obtained satisfactory results from the use of this plant, it has antibacterial activity against bacteria in bovine mastitis and teat disinfection has similar results to the conventional product.

Key words: Brazilian pepper tree. Antisepsis milking. Mastitis. Antibacterial action.

Lista de Figuras

ARTIGO 1 Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi em dois estádios fenológicos.

Figura 1 Gráficos das Concentrações Bactericidas Mínimas dos extratos hidroalcoólicos e dos óleos essenciais das folhas, frutos maduros e frutos verdes no estágio fenológico de frutificação 18

Figura 2 Gráfico das Concentrações Bactericidas Mínimas do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial das folhas no estágio fenológico de brotação 18

Figura 3 Gráficos das Concentrações Bactericidas Mínimas dos extratos hidroalcoólicos e óleos essenciais das folhas nos dois estádios fenológicos 20

ARTIGO 2 Utilização do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi na antissepsia do teto pré e pós-orderna em bovinos de leite.

Figura 1 Insidência de CMT negativo das treze coletas 41

Figura 2 Média de escore quinzenal da saúde da pele porção inferior (A), porção superior (B) e esfíncter (C) do teto nos diferentes tratamentos 42

Lista de Tabelas

ARTIGO 1 Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi em dois estádios fenológicos.

Tabela 1	Valores das Concentrações Bactericidas Mínimas dos extratos hidroalcoólicos e óleos essenciais de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi frente a bactérias causadoras de mastite bovina	17
----------	---	----

ARTIGO 2 Utilização do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi na antisepsia do teto pré e pós-orderna em bovinos de leite.

Tabela 1	Incidência de novas infecções intramamárias causadas por <i>Staphylococcus</i> spp. coagulase positiva e <i>Streptococcus</i> spp. em ambos os tratamentos, tratamento controle com iodo comercial e tratamento experimental com extrato hidroalcoólico de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	43
----------	--	----

Lista de Abreviaturas

% – porcentagem

°C – graus Celsius

°gl – Graus Gay-Lussac

μL – microlitros

ATCC – American Type Culture Collection

BHI – Brian heart infusion

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CBM – Concentração Bactericida Mínima

CCS – Contagem de células somáticas

CG/MS – Cromatografia Gasosa com espectro de massa

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Intitute

CMT – California Mastitis Test

COOPAVA – Cooperativa Vista Alegre

DVP – Departamento de Veterinária Preventiva

EHA – Extrato hidroalcoólico

Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FV – Faculdade de Veterinária

g/L – Gay-Lussac

HM – monoterpenos hidrocarbonetos

HS – sesquiterpenos hidrocarbonetos

IIMs – Infecções intramamárias

Km – Kilometros

L – litro

M – metros

mL – mililitro

mm/Hg – milímetros de mercúrio

nº – número

NIIMs – Novas infecções intramamárias

OE – Óleo essencial

OEs – Óleos essenciais

OM – monoterpenos oxigenados

OMS – Organização Mundial de Saúde

OS – monoterpenos oxigenados

p – intervalo de confiança

RPM – Rotação por minuto

SCP – *Spathylococcus* spp. coagulase positiva

spp – espécie

UFC – Unidades formadoras de colônias

UFPeI – Universidade Federal de Pelotas

UPL – Unidade de Produção de Leite

Sumário

1. Introdução	11
2. Objetivos.....	13
3. Artigos	14
3.1 Atividade antibacteriana do óleo essencial e do extrato hidroalcoólico de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi em dois estádios fenológicos	15
3.2 Utilização do extrato hidroalcoólico de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi na antisepsia do teto pré e pós-orderna em bovinos de leite	23
4. Conclusão geral	44
5. Referências	45
Anexos	50

1 INTRODUÇÃO

A mastite é a principal afecção de bovinos destinados a produção leiteira (Langoni et al., 2011). É a enfermidade de maior prevalência, determinando redução na produção de leite, perdas pelo descarte e morte de animais, e custos com tratamento (Schuch et al., 2008). Além da diminuição na produção e perda da qualidade do leite, observa-se a perda da função do parênquima glandular, tornando o úbere uma reserva de patógenos (Reis et al., 2003). É causada principalmente por agentes bacterianos, dos quais são mais frequentes os que pertencem aos gêneros: *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium* (Oyarzabal et al., 2011). Bactérias Gram negativas, como a *Escherichia coli* e *Pseudomonas* spp., também causam mastites, mas com menos frequência (Ladeira, 2007).

Para a prevenção dessa enfermidade, se encontram a higienização do ambiente, dos equipamentos e a antissepsia do úbere após a ordenha, o qual reduz o número de micro-organismos patogênicos (Mota et al., 2011). A antissepsia de tetos é uma prática incorporada na rotina de ordenha, sendo importante para o controle de mastite (Schuch et al., 2008). O tratamento convencional é geralmente baseado em antibióticos, que nem sempre são eficazes, podendo tornar as bactérias resistentes. Além disso, seus resíduos podem afetar a saúde humana e interferir nos processos de fermentação na indústria de leite (Diaz et al., 2010).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento já autoriza por meio da Instrução Normativa nº 64, de 18 de dezembro de 2008, o uso de extratos vegetais na sanitização de equipamentos e instalações e também no tratamento e prevenção de enfermidades dos animais na produção orgânica (Brasil, 2008). De acordo com o Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007, o sistema orgânico de produção agropecuária é todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a

eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente (Brasil, 2007).

A utilização de plantas com fins medicinais, durante vários séculos constituiu a base terapêutica da prática médica (Branco-Neto et al., 2006). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que 80% da população do planeta, de algum modo, utiliza plantas medicinais como medicamento (Lucina et al., 2006). Ultimamente, a importância da fitoterapia foi reafirmada devido a melhorias nas técnicas de vigilância biológica e validação científica (Melo et al., 2002). O crescente interesse da comunidade científica pela fitoterapia nas ultimas duas décadas, levou ao desenvolvimento de várias pesquisas baseadas nas práticas e ditos populares (Santos et al., 2006).

O Brasil apresenta uma flora medicinal particularmente rica, sendo alvo de estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos na segunda metade do século XIX e no início do XX (Mentz et al., 1997). Dentre as plantas de vasto uso popular encontra-se a *Schinus terebinthifolius* Raddi (Branco-Neto et al., 2006). Esta planta, pertencente a família Anacardiaceae, é comum da vegetação litorânea (Nunes et al., 2006), e popularmente é conhecida como aroeira-vermelha ou pimenta-rosa (Roveda et al., 2010). É uma planta nativa no Brasil e em toda América do Sul, e introduzida na Europa, onde é muito apreciada por sua beleza e seu porte, sendo empregada na arborização de ruas (Ribas et al., 2006). Apresenta-se como uma árvore de porte médio, monóica, de folhas compostas e aromáticas sendo usada em culinária, recebendo na França o nome de *poivre rose*, um tipo de pimenta doce (Cerkus et al., 2007). Possui frutos abundantes, pequenos e vermelhos durante a maturação (Mesquita 2009). Sua madeira é dura de múltipla utilização inclusive para a produção de carvão e lenha (Mesquita 2009). Trata-se de uma planta muito utilizada na medicina popular brasileira e apresenta crescente número de estudos a seu respeito na literatura médica (Coutinho et al., 2006).

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo foram avaliar a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial das folhas e dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi em dois estádios fenológicos frente a bactérias relacionadas a mastite bovina, além de desenvolver e testar um extrato a base de *Schinus terebinthifolius* Raddi, com ação antibacteriana, para ser utilizado na antissepsia dos tetos na ordenha de bovinos de leite.

3 ARTIGOS

3.1 Artigo 1

**Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de
Schinus terebinthifolius Raddi em dois estádios fenológicos**

Ângela Faccin, Luiz Filipe Damé Schuch, Carolina Lambrecht Gonçalves, Fernanda Voight Mota, Diane Bender Almeida Schiavon, Luciana Ferreira Lobo de Souza, Rogério Antonio Freitag.

Irá submeter a revista: Brazilian Archives Biology and Technology

Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi em dois estádios fenológicos.

Resumo

A medicina tradicional tem sido praticada há muitos séculos. As plantas medicinais se tornaram o foco de intenso estudo em termos de validação de seus usos tradicionais, através da determinação de seus efeitos farmacológicos, *Schinus terebinthifolius* Raddi é uma árvore conhecida nativa do Brasil, popularmente como aroeira, e comumente encontrada ao longo da costa litorânea. Sendo a mastite a principal afecção de bovinos destinados a produção leiteira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial das folhas e dos frutos desta planta em dois estádios fenológicos frente a dez bactérias relacionadas a mastite bovina. O trabalho foi realizado pela técnica de microdiluição serial em placas, foi utilizado extrato hidroalcoólico e óleo essencial das folhas, frutos verdes e frutos maduros nos estádios de frutificação e brotação contra as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Staphylococcus aureus* e duas cepas de *Staphylococcus spp* coagulase positiva e negativa. Os extratos de aroeira demonstraram bons resultados antibacterianos, sendo que o extrato hidroalcoólico possuiu melhor resultado contra as bactérias gram negativas quando comparado ao óleo essencial, porem frente as demais bactérias todos os extratos obtiveram atividade com diferentes valores de Concentrações Bactericidas Mínimas. Mais estudos devem ser realizados a fim de testar a ação desta planta in vivo no controle da mastite.

Palavras-chave: Aroeira vermelha, bactérias, mastite bovina, atividade antibacteriana.

Abstract

Traditional medicine has been practiced for many centuries. Medicinal plants have become the focus of intense study in terms of validating its traditional uses, through the determination of its pharmacological effects, *Schinus terebinthifolius* Raddi is a tree native to Brazil known popularly as mastic, and commonly found along the coastline. Being the main mastitis disease of cattle intended for dairy production, the objective of this study was to evaluate the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract and essential oil of the leaves and fruits of this plant in two phenological stages ahead ten bacteria related to bovine mastitis. The work was performed by serial microdilution plates was used hydroalcoholic extract and essential oil of leaves, unripe fruit and ripe fruit at stages of fruiting and leafing against bacteria *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Staphylococcus aureus* and two strains of *Staphylococcus spp* coagulase positive and negative. The mastic extracts showed antibacterial good results, and the hydroalcoholic possessed better result against gram-negative bacteria compared to the essential oil, put forward all the other bacteria activity extracts obtained with different values of Minimum Bactericidal Concentrations. More studies should be conducted to test the action of this plant in vivo in the control of mastitis.

Key-words: Brazilian pepper tree, bacteria, bovine mastitis, antibacterial activity.

INTRODUÇÃO

A medicina tradicional tem sido praticada há muitos séculos por uma proporção substancial da população do Brasil, principalmente por habitantes do interior do país, a fim de prestar cuidados essenciais de saúde física e psicológica (Lima et al., 2006). Plantas aromáticas têm sido reconhecidas por muitos anos como grande fonte de agentes farmacêuticos e aditivos alimentares (Bendaound et al., 2010). Enquanto o conhecimento da medicina popular brasileira é grande, a maioria das informações nele contidas não foi verificada por um estudo científico rigoroso, e muitas das plantas receberam pouca ou nenhuma atenção (Lima et al., 2006).

Schinus terebinthifolius Raddi é uma pequena árvore conhecida popularmente como aroeira, que é encontrada ao longo da costa brasileira (Leite et al., 2011), pode ser encontrada em algumas regiões da Europa e em outras regiões da América (Santos et al., 2007), é uma espécie nativa do Brasil e da América do Sul, pertencente a família Anacardiaceae. Elas são árvores dioicas que produzem grandes colheitas de pequenos frutos cor de rosa brilhantes dispostos em cachos em hastes pendentes (Bendaound et al., 2010). Os frutos destas árvores são ricos em óleo essencial, que dá um sabor picante, e são utilizados em xaropes, vinagre e bebidas no Peru, assim como vinhos chilenos, em alguns países, os frutos secos e moídos são usadas como um substituto ou como pimenta adulterante de pimenta preta (*Piper nigrum*) (El-Massry et al., 2009). Muitas propriedades medicinais tem sido

atribuída a essas plantas para além da sua utilização como plantas ornamentais, todas as partes da planta têm sido usadas na medicina popular para o tratamento de diversas patologias (Bendaound et al., 2010).

A mastite é a principal afecção de bovinos destinados a produção leiteira (Langoni et al., 2011). É causada principalmente por agentes bacterianos, dos quais são mais frequentes os que pertencem aos gêneros: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. (Oyarzabal et al., 2011). Bactérias Gram negativas, como a *Escherichia coli* e *Pseudomonas* spp., também causam mastites, mas com menos frequência (Ladeira, 2007). É um problema importante nos rebanhos leiteiros por afetar a saúde dos animais, reduzir a produção e causar alterações significativas na qualidade do leite (Zafalon et al., 2008). Além da diminuição na produção e perda da qualidade do leite, observa-se a perda da função do parênquima glandular, tornando o úbere uma reserva de patógenos (Reis et al., 2003).

Recentemente, a aceitação da fitoterapia como uma forma alternativa de cuidados de saúde aumentou entre todos os grupos socioeconômicos da população e tornou-se um setor econômico importante no Brasil (Lima et al., 2006). Os produtos naturais podem ser tão eficientes quanto os produzidos por síntese química (Oyarzabal et al., 2011). Por estas razões, as plantas medicinais se tornaram o foco de intenso estudo em termos de validação de seus usos tradicionais, através da determinação de seus reais efeitos farmacológicos, com isso o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial das folhas e dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi em dois estádios fenológicos frente a dez bactérias relacionadas a mastite bovina.

MATERIAIS E MÉTODOS

OBTENÇÃO, SECAGEM E ARMAZENAMENTO DA PLANTA:

As folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi foram coletadas em dois períodos distintos, no estágio fenológico da planta de frutificação, quando foram coletadas também, frutos maduros e frutos verdes, em abril de 2011 e no estágio fenológico da planta de brotação em dezembro de 2011 quando foram coletadas apenas folhas. A coleta foi realizada sempre no período da manhã antes das 10:00 horas. O material vegetal foi coletado de árvores localizadas no Campus Universitário Capão do Leão, da Universidade Federal de Pelotas, município Capão do Leão, Rio Grande do Sul, em um raio de 1Km a partir das referências geográficas 31°48' S 52°24' O, altitude 17m. As árvores tinham aparência saudável, sem sinal de herbivoria.

As amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia (DVP/FV/UFPel) onde foi realizada a separação manual dos galhos e talos restando apenas folhas ou frutos. Após, permaneceram durante quinze dias em telas de secagem em local fresco e arejado, livre do alcance de insetos e das intempéries climáticas.

Exsicatas de cada árvore foram enviadas para identificação e conservação no Herbário do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pelotas.

OBTENÇÃO DOS EXTRATOS:

Foram utilizadas duas formas de extração para os testes, extrato hidroalcoólico e óleo essencial.

Os extratos hidroalcoólicos (EHA) foram produzidos com base na Farmacopeia Brasileira (1988), na proporção de 1:10, ou seja, 100g de fruto ou folha triturada, para 1L de álcool de cereais 70°GL, essa tintura permaneceu em local fresco, na ausência de luz durante 15 dias com duas agitações diárias. Após esse período foi realizada a filtração com filtro de gaze quatro dobras, reposto o volume inicial com álcool de cereais 70°GL e armazenados em frasco âmbar na ausência de luz solar. No momento do uso de cada um dos extratos, foram retiradas alíquotas de 20 ml de extrato e colocadas em balão de vidro com fundo redondo para a extração do solvente através de um rotaevaporador. A extração foi submetida a uma rotação de aproximadamente 30 RPM, com temperatura máxima de 56°C e sob pressão negativa de 600 mm/Hg, em tempo o suficiente para extrair um mínimo de 70% do volume de álcool esperado. Logo após a extração, o volume inicial foi reposto com água destilada estéril e a solução obtida foi utilizada no momento das avaliações.

O óleo essencial (OE) das amostras das plantas foi obtidos por hidrodestilação em aparelho Clevenger junto ao Laboratório de Produtos Naturais no Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de

Alimentos da UFPel, onde foram identificados seus principais componentes químicos por espectro de CG/MS. No momento do uso, os OEs foram previamente diluídos a uma concentração de 5% para as bactérias Gram positivas e 20% para as Gram negativas, em água destilada estéril com Tween a 1%.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA:

A avaliação da atividade antibacteriana foi realizada pela técnica de microdiluição serial em placas de 96 orifícios em triplicata, a fim de ser determinada a concentração inibitória mínima (CIM).

Os microrganismos testados foram bactérias Gram positivas (uma cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e amostras isoladas de leite no Laboratório de Doenças Infecciosas da UFPel, duas de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, duas de *Staphylococcus* spp coagulase negativa, oriundas do leite de vacas de uma propriedade localizada em Piratini/RS, uma cepa de *Streptococcus agalactiae*, uma de *Streptococcus dysgalactiae* e uma de *Streptococcus uberis*, estas oriundas do leite de vacas da Embrapa Clima Temperado, localizada em Capão do Leão/RS) e Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e *Escherichia coli* ATCC 8739).

Os inóculos foram preparados a uma concentração de $10^{(5-6)}$ UFC/mL em meio BHI 2x, para os testes com o óleo essencial o BHI foi preparado com água destilada estéril com 1% de tween.

A montagem da placa seguiu como descrita pelo documento CLSI M7-A6 (2005) adaptado para fitoterápicos. Foram feitas oito diluições diferentes, iniciando com 50% pois nesse orifício havia extrato e meio de cultura contendo a bactéria, depois sucessivamente 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56, 0,78 e 0,39% e os testes foram realizados em triplicata. Após a incubação das microplacas por 48h à 37°C, em estufa para extratos hidroalcoólicos e em estufa com agitação a 75 RPM para óleo essencial, foram transferidas alíquotas de 5µL de cada orifício para Agar sangue desfibrinado de ovino à 5% e incubadas à 37°C por mais 24 horas.

Como controle positivo, foram realizadas diluições do mesmo modo, com cloro comercial a 5%. E como controle do crescimento bacteriano a partir do inóculo, as bactérias foram postas em orifícios contendo apenas água destilada estéril.

Após a leitura dos crescimentos, a interpretação dos resultados foi realizada pela média geométrica das Concentrações Bactericidas Mínimas entendendo esta como, a menor concentração de extrato da planta, EHA ou OE, capaz de inibir o crescimento bacteriano a partir das alíquotas transferidas para o Agar sangue.

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

Os óleos essenciais foram

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes as porcentagens das Concentrações Bactericidas Mínimas (CBM) dos extratos hidroalcoólicos e dos óleos essenciais das folhas e dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi nas duas fases fenológicas frente as 10 bactérias testadas, estão descritos na tabela 1.

Tabela 1: Valores das Concentrações Bactericidas Mínimas dos extratos hidroalcoólicos e óleos essenciais de *Schinus terebinthifolius* Raddi frente a bactérias causadoras de mastite bovina

	Fase de frutificação						Fase brotação		
	Folha		Fruto maduro		Fruto verde		Folha		Cloro
Bactérias	EHA	OE	EHA	OE	EHA	OE	EHA	OE	a 2%
1	4,9	3,15	79	≥10	12,5	2,5	7,9	2,5	1,58
2	15,8	0,6	39,7	≥10	1,9	1,5	2,4	2	0,78
3	12,5	0,3	79	≥10	1,5	1,25	0,78	1,6	0,5
4	19,8	0,19	79	≥10	0,78	1,25	0,78	2,5	0,78
5	19,8	0,95	≥100	≥10	3,9	≥5	1,9	3,2	0,3
6	39,7	0,12	50	≥10	0,78	0,04	0,78	0,6	0,78
7	6,25	0,04	7,9	≥10	0,9	0,04	0,78	0,5	0,78
8	6,25	0,79	15,8	≥5	0,78	0,39	0,9	2	0,3
9	63	≥40	63	≥40	50	≥40	31	≥40	0,38
10	15,8	≥40	39,7	≥40	79	≥40	39	≥40	0,5

1: *Staphylococcus aureus* ATCC 12600; 2: *Staphylococcus* spp. coagulase positiva (26); 3: *Staphylococcus* spp. coagulase positiva (8A); 4: *Staphylococcus* spp. coagulase negativa (8); 5: *Staphylococcus* spp. coagulase negativa (56); 6:

Streptococcus uberis; 7: *Streptococcus dysgalactiae*; 8: *Streptococcus agalactiae*; 9: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442; 10: *Escherichia coli* ATCC 8739.

Analisando os resultados obtidos dos extratos no estágio de frutificação temos a figura 1 que mostra as Concentrações Bactericidas Mínimas dos extratos hidroalcoólicos e dos óleos essenciais das folhas, frutos maduros e frutos verdes em relação as bactérias testadas, seguindo a mesma ordem das bactérias da tabela. Notamos que o entre os extratos hidroalcoólicos, o que apresentou os menores valores de CBM em relação as bactérias Gram positivas, foi o EHA do fruto verde, com exceção da bactéria *Staphylococcus aureus* em que o menor valor de CBM encontrado foi do EHA da folha. Para a maioria dessas bactérias o EHA do fruto maduro obteve os maiores resultados de CBM. Quando avaliamos as CBM dos OE podemos observar que em quase todas as bactérias o OE das folhas foi o extrato que teve os menores valores. Os três OEs não tiveram ação bactericida com a concentração testada, contra as bactérias Gram negativas, bem como o OE do fruto maduro não inibiu o crescimento das bactérias Gram positivas, na concentração que foi testada.

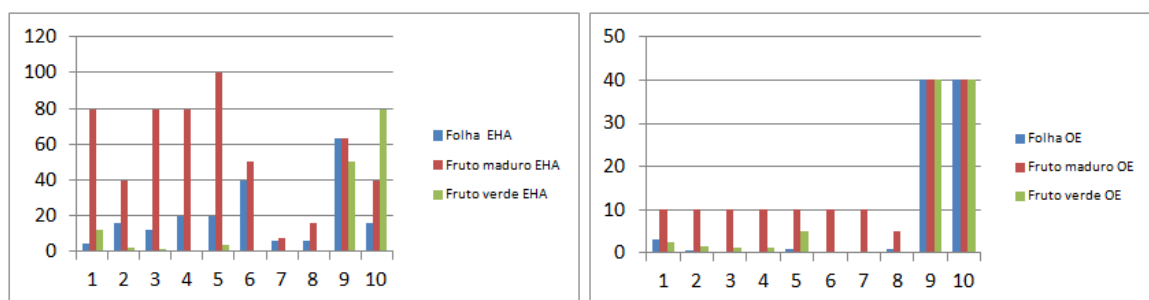


Figura 1: Gráficos das Concentrações Bactericidas Mínimas dos extratos hidroalcoólicos e dos óleos essenciais das folhas, frutos maduros e frutos verdes no estágio fenológico de frutificação.

No estágio fenológico de brotação foram avaliados o EHA e o OE das folhas da aroeira, que podemos ver na figura 2, os valores de CBM encontrados são muito semelhantes em relação a ambos os extratos frente as bactérias Gram positivas. Porém o OE não demonstrou atividade antibacteriana na concentração testada contra as bactérias Gram negativas.

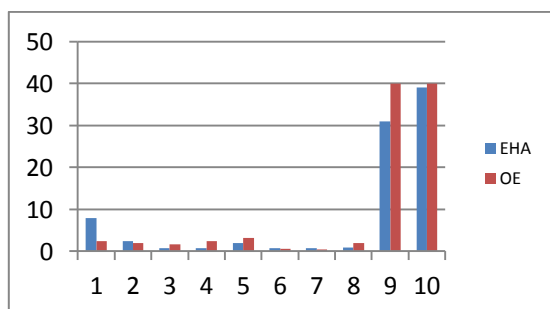


Figura 2: Gráfico das Concentrações Bactericidas Mínimas do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial das folhas no estágio fenológico de brotação.

Na comparação dos resultados das CBMs dos EHAs e dos OEs das folhas nos dois estádios fenológicos, de frutificação e brotação, temos a figura 3. Observamos que em relação ao EHA das folhas nos dois estádios o extrato no estágio de brotação obteve os menores valores de CBM exceto para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Porém o EHA da folha no estágio de frutificação também obteve bons resultados, apenas para *Pseudomonas aeruginosa* que apresentou um valor alto de CBM. Avaliando os OEs, em ambos os estádios não obtivemos ação antibacteriana nas concentrações testadas contra as bactérias Gram negativas. Contudo observamos ainda, que o OE das folhas na fase de frutificação obteve os menores valores de CBM para quase todas as bactérias.

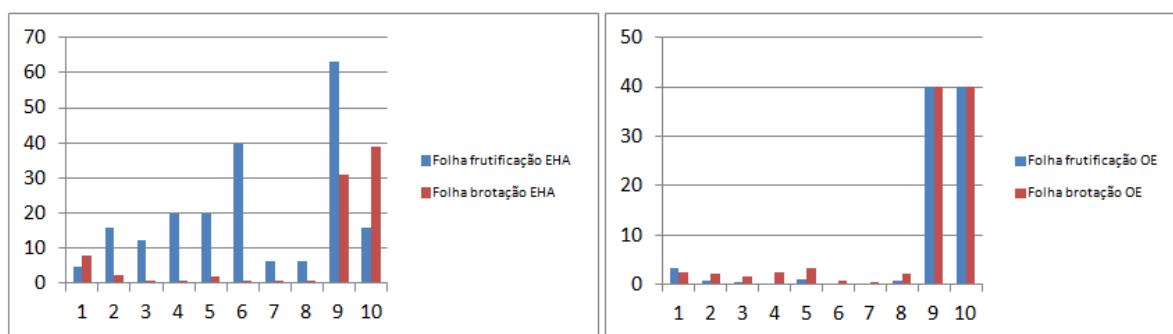


Figura 3: Gráficos das Concentrações Bactericidas Mínimas dos extratos hidroalcoólicos e óleos essenciais das folhas nos dois estádios fenológicos.

Entre as plantas mais populares conhecidas como fonte da especiaria, espécies *Schinus* são caracterizadas por cheiro-pungente dos óleos essenciais concentrados principalmente nos frutos (Bendaound et al., 2010). O óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi é usado no tratamento de problemas respiratórios, micoses, infecções tópicas por *Cândida* spp., e a sua atividade é atribuída as altas concentrações de monoterpenes presentes (Lima et al., 2006).

A atividade antibacteriana de extratos de plantas medicinais é avaliada através de técnicas que utilizam uma pequena quantidade da substância para inibir o microrganismo testado, através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) ou concentração bactericida mínima (CBM). As variações referentes a determinação da CIM de extratos de plantas podem ser atribuídas a diferentes fatores, dentre eles podemos citar a técnica aplicada, o microrganismo e a cepa utilizada no teste, a origem da planta, a época da coleta, se os extratos foram preparados a partir de plantas frescas ou secas e a quantidade de extrato testada (Ostrosky et al., 2008). Geralmente o método utilizado é a microdiluição serial em placas, utilizando microplacas. O método de microplacas é barato, tem reprodutibilidade, é 30 vezes mais sensível que outros métodos citados na literatura, requerem pequena quantidade de amostra, pode ser usado para grande número de amostras e deixa registro permanente (Ostrosky et al., 2008).

Em relação a atividade antibacteriana da aroeira vermelha, Lima et al. (2006) testaram o extrato com diferentes solventes através da técnica de microdiluição serial em placas frente a cepas padrões e cepas resistentes a antibióticos de *Staphylococcus aureus*, sendo que o extrato etanólico das folhas teve ação somente sobre a cepa padrão e não sobre as resistentes. Melo et al. (2002) verificaram a atividade da aroeira pelo método de difusão em Agar, contra bactérias isoladas de alveolite em ratos, sendo que a planta teve um ótimo resultado. Silva et al. (2010) buscaram testar o óleo essencial das folhas de aroeira frente a *Staphylococcus* spp. isolados de otite externa de caninos pelo mesmo método anterior, neste trabalho também avaliaram a citotoxicidade em animais de laboratório através da administração intraperitoneal do óleo essencial e seguinte avaliação histológica, concluindo que o extrato possui potente ação antimicrobiana e sem evidências de toxicidade. Similarmente, Guerra et al. (2000) testaram extrato fluido das folhas contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, através da técnica de diluição em Agar, obtendo um resultado positivo, com melhor ação contra a levedura, contrário a isto, Santos (2007) testou a ação do extrato de aroeira com *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Aspergillus flavus* e *A. Níger*, os resultados se mostraram positivos para as bactérias e ineficaz contra os fungos. A baixa atividade contra *E. coli* observada pode ser devida a lipopolissacarídeos da membrana externa das bactérias G-negativas, o que os tornam inerentemente resistente a agentes externos, tais como corantes hidrofílicos, antibióticos, e detergentes (El-Massry et al., 2009).

Em nossa análise de espectro de CG/MS, a identificação foi realizada através da comparação dos espectros de massas obtidos com os registros da biblioteca do aparelho. Por probabilidade encontramos no OE das folhas principalmente os compostos α - e β -pineno, α -copaeno, cariofileno, alioaromadendreno, α -cubebeno, α -terpenol, já no OE dos frutos maduros α -pineno, α - e β -felandreno,

4-terpenol, α -cubebeno, cariofileno, β -cadineno. No OE dos frutos verdes foi encontrado α -pineno, 4-terpenol, α -cubebeno, α -gurjuneno, β -elemen, β -cariofileno, alloaromadendreno, α -muroleno, *Schinus terebinthifolius* Raddi é conhecido como uma fonte de triterpenos, fenóis e flavonóis (Lima et al., 2006). O óleo contém α - e β -pineno, Δ^3 -careno, limoneno, α - e β -felandreno, β -cimeno e terpinoleno como os principais componentes, juntamente com pequenas quantidades de alcoóis de monoterpeno e cetonas, hidrocarbonetos, alcoóis de sesquiterpeno e cetonas, e alcoóis triterpênicos e cetonas (Lloyd et al., 1977). Segundo Bendaoud et al., 2010, os principais grupos de componentes identificados foram monoterpenos hidrocarbonetos que representou 62,77% e sesquiterpenos hidrocarbonetos 26,81% dos 98,67% totais. Destes os principais componentes encontrados foram α -felandreno (34,38%), γ -cadineno (18,04%), β -felandreno (10,61%), β -cimeno (7,34%), α -pineno (6,49%) e α -terpenol (5,60%). Convenientemente, os componentes do óleo podem ser agrupados em quatro classes principais: monoterpenos hidrocarbonetos (HM); monoterpenos oxigenados (OM), sesquiterpenos hidrocarbonetos (HS) e sesquiterpenos oxigenados (OS) (Barbosa et al., 2007). Em seu estudo, Lima et al., 2006, através da análise química do extrato etanólico da casca do caule de *Schinus terebinthifolius* Raddi mostraram a presença de fenóis, triterpenos pentacíclicos e antraquinonas, enquanto que o extrato de hexano da casca do caule deram testes positivos para flavonas, xantonas e flavonóides, esteróides livres, antraquinonas e triterpenos pentacíclicos, neste mesmo estudo, o extrato etanólico das folhas foram positivos para a presença de fenóis, flavonas, flavonóides, xantonas e leucoantocianidinas, flavanonas e esteróides livres.

A composição química dos óleos essenciais dos frutos verdes e maduros são completamente diferentes, e deve-se tomar cuidado para não misturar os frutos durante a extração (Barbosa et al., 2007). Encontram-se poucos relatos na literatura sobre o óleo essencial de frutos de *S. terebinthifolius* Raddi (Bendaoud et al., 2010). De fato, em um estudo anterior (Barbosa et al., 2007), apresentaram grandes diferenças na composição entre óleos essenciais hidrodestilados de frutos maduros e verdes de *S. terebinthifolius* Raddi. O óleo dos frutos maduros apresentou menor teor em α -felandreno (13,04%) e β -cimeno (0,2%) e maior teor em β -felandreno (18,08%) e α -pineno (12,94%). Deve-se salientar que não foi identificado neste óleo, terpineol. Além disso, δ -3-careno foi surpreendentemente identificado como o principal componente (29,22%), ao passo que foram encontradas vestígios deste componente no estudo realizado por Bendaoud et al. (2010). A análise cromatográfica e de espectrometria das quatro amostras de óleo obtidas, permitiu a identificação de um total de 57 compostos. Diferenças quantitativas e qualitativas foram detectadas entre as amostras, por exemplo, dentro da amostra de folhas de ramos sem flores, os constituintes principais foram germacreno D (33,80%), (E)-cariofileno (12,25%), β -pineno (5,18%) e (Z)- β -ocimeno (5,16%); já na amostra de folhas de ramos com flores encontraram biciclogermacreno (20,82%), germacreno D (16,06%), e β -elemeno (5,92%). Em contraste, o óleo a partir de frutos verdes tinha os seguintes componentes principais: α -cadinol (20,60%), δ -cadineno (15,48%), β -pineno (10,21%) e de epi- α -muurolol (9,89%) (Barbosa et al., 2007).

Na sequência da descoberta de que os óleos obtidos a partir de folhas colhidas dos ramos, com e sem flores, foram significativamente diferentes, outro estudo foi conduzido para determinar o efeito de qualquer variação sazonal na composição do óleo essencial da folha. O teor de óleo nas folhas de *S. terebinthifolius* Raddi mostra algumas pequenas alterações ao longo do curso de um ano, mas essas alterações não foram estatisticamente significativas. Teor de óleo atinge o pico 65-69%, entre março a setembro, e mínimo (0,45-0,55%) entre outubro e fevereiro, o que coincide com a floração e frutificação, sugere-se que a redução do teor de óleo nas folhas é devido a uma mudança no metabolismo, com a planta gastando mais energia e recursos durante o processo de floração (Barbosa et al., 2007).

Em seu estudo, Barbosa et al. (2007), também investigaram a variação sazonal na composição do óleo das folhas desta planta, o percentual de monoterpenos hidrocarbonetos variou muito durante o ano, com um mínimo durante os meses de março e abril (em torno de 12%) e outubro e novembro (em torno de 16,50%); a quantidade máxima de monoterpenos hidrocarbonetos ocorreu em dezembro (36,84%), janeiro (37,20%) e julho (42,05%), do mesmo modo os sesquiterpenos hidrocarbonetos também mostraram uma considerável variação sazonal, com um teor mínimo (aproximadamente 47% em Julho), em geral, um aumento na quantidade de monoterpenos hidrocarbonetos é acompanhado por uma diminuição do teor de sesquiterpenos hidrocarbonetos, e vice-versa.

CONCLUSÃO

No presente estudo obtivemos resultados positivos referentes a ação antibacteriana da *Schinus terebinthifolius* Raddi, mostrando que o extrato hidroalcoólico das folhas e dos frutos da planta inibiu o crescimento de todas as bactérias testadas em diferentes Concentrações Bactericidas Mínimas nos dois estádios fenológicos, assim como os óleos essenciais obtiveram ótimos resultados contra as bactérias Gram positivas. Dessa forma, mais estudos devem ser realizados a fim de determinar sua ação na prevenção da mastite bovina *in vivo*.

AGRADECIMENTOS

CAPES, Embrapa Clima Temperado.

REFERÊNCIAS

- Barbosa LCA, Demuner AJ, Clemente AD. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Química Nova**. 2007; 30:1959-1965.
- Bendaoud H, Romdhane M, Souchard JP, Cazaux S, Bouajila J. Chemical Composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus Molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. **Journal of Food Science**. 2010; 75(6): 466-472.
- CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically: Approved Standard. M7-A6; 2005.
- El-Massry KF, El-Ghorab AH, Shaaban HÁ, Shibamoto T. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **Journal of Agrocultural and Food Chemistry**. 2009; 57:5265-5270.
- Farmacopeia Brasileira. 4ª ed. São Paulo (SP): Atheneu; 1988. P.102.
- Guerra MJM, Barreiro LM, Rodríguez MZ, Rubalcaba Y. Actividad antimicrobiana de um extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. 2000; 5: 23-25.
- Ladeira SRL. Mastite Bovina. In: Riet-Correa FA, Schild AL, Lemos RAA, Borges JRJ. Doenças de ruminantes e equídeos. Santa Maria: Pallotti, 2007.
- Langoni H, Penachio DS, Citadella JCC. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2011; 31:1059-65.
- Leite SRRF, Amorim MMR, Sereno PFB, Leite TNF, Ferreira JAC, Ximenes RAA. Randomized clinical Trial comparing the efficacy of the vaginal use of metronidazole with a Brazilian pepper tree (*Schinus*) extract for the treatment of bacterial vaginosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 2011; 44(3): 245-252.
- Lima MRF, Luna JS, Santos AF, Andrade MCC, Sant'Ana AEG, Genet JP, Marquez B, Neuville L, Moreau N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. 2006; 105: 137-147.
- Lloyd HA, Jaouni TM, Evans SL, Morton JF. Terpenes of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**. 1977; 16: 1302-1302.
- Melo Jr EJM, Raposo MJ, Lisboa Neto JA, Diniz MFA, Marcelino Jr. CAC, Sant'Ana AEG. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: microbiological and microscopic analysis. **Phytomedicine**. 2002; 9:109-116.
- Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para a avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 2008; 18(2): 301-307.
- Oyazabal ME, Schuch LFD, Prestes LS, Schiavon DBA, Rodrigues MRA, Mello JRB. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. ante bacterias aisladas em leche de bovino. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. 2011; 16(3): 260-266.
- Reis SR, Silva N, Brescia MV. Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2003; 55:651-8.
- Santos ACA, Rossato M, Agostini F, Santos PL, Serafini LA, Moyna P, Dellacasa E. Avaliação química mensal de três exemplares de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Brasileira de Biociências**. 2007; 5(2): 1011-1013.
- Santos ALR. Avaliação do sistema conservante em formulação com extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi – Anacardiaceae. Dissertação PPG em Ciências Farmacêuticas da UFRN. 2007; 01-112.
- Silva AB, Silva T, Franco ES, Rabelo AS, Lima ER, Mota RA, da Câmara CAG, Pontes-Filho NT, Lima-Filho JV. Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Brazilian Journal of Microbiology**; 2010; 41: 158-163.
- Zafalon, L.F.; Nader Filho, A.; de Carvalho, M.R.B.; de Lima, T.M.A. Influencia da mastite subclínica bovina sobre as frações proteicas do leite. **Arquivos do Instituto Biológico**. 2008; 75:135-49.

3.2 Artigo 2

Utilização do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi na antissepsia do teto pré e pós-ordenha.

Ângela Faccin, L.F.D. Schuch, D.B.A. Schiavon, C.L. Gonçalves, F.V. Mota, L.F. Lessa, B.C. Bohm.

Irà submeter a revista: Research in Veterinary Science

Utilização do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi na antissepsia do teto pré e pós-ordenha em bovinos de leite.

Ângela Faccin ^a, L.F.D. Schuch ^b, D.B.A. Schiavon ^a, C.L. Gonçalves ^a, F.V. Mota ^a,
L.F. Lessa ^a, B.C. Bohm ^a.

^a Laboratório de Doenças Infecciosas / Bacteriologia, Faculdade de Veterinária –
UFPel, Pelotas, RS 05332757312

^b Departamento de Veterinária Preventiva / Faculdade de Veterinária – UFPel,
Pelotas, RS 05332757185

RESUMO

As plantas medicinais têm sido usadas há séculos como alternativa de tratamento para problemas de saúde, *Schinus terebinthifolius* Raddi ou aroeira, é uma árvore mediana pertencente a família Anacardiaceae. O efeito antibacteriano de extratos de suas folhas dessa planta já foi demonstrado. O objetivo deste estudo foi testar o extrato de *Schinus terebinthifolius* Raddi para ser utilizado na antissepsia de tetos pré e pós-ordenha. Foi utilizado extrato hidroalcoólico da aroeira, tendo como controle iodo comercial, em quartos opostos, durante doze semanas consecutivas. Nenhum dos índices analisados – caneca de fundo escuro, CMT, novas infecções intramamárias, “saúde da pele e do esfíncter do teto” demonstraram diferença estatísticas entre os tratamentos usados, sugerindo que o extrato da planta pode ser

usado no pré e pós-ordenha para desinfecção tetos como substituinte dos produtos convencionais para rebanhos em sistema de produção orgânica.

Palavras-chave: Produção orgânica, plantas medicinais, desinfetante natural, leite.

ABSTRACT

Medicinal plants have been used for centuries as an alternative treatment for health problems, *Schinus terebinthifolius* Raddi or Brazilian pepper tree, is a tree belonging median family Anacardiaceae. The antibacterial effect of extracts of the leaves of this plant has been shown. The aim of this study was to test the extract of *Schinus terebinthifolius* Raddi be used for ceilings in antisepsis of pre-and post-milking. We used hydroalcoholic extract of pepper tree, with the commercial control iodine in opposite quarters for twelve consecutive weeks. None of the indices analyzed - strip cup, CMT, new intramammary infections, "skin health and sphincter ceiling" showed differences between treatments used, suggesting that the plant extract can be used in pre-and post-milking for disinfection caps as a replacement of conventional products for livestock in organic production system.

Key-words: Brazilian pepper tree, pre dipping, post dipping, intramammary infection, milk.

1. Introdução

As plantas medicinais são usadas há séculos em países em desenvolvimento como alternativa de tratamento para problemas de saúde sendo parte integrante da

nossa sociedade para evitar doenças desde o início da civilização (Diaz et al., 2010, Mukherjee et al., 2010). O uso de plantas medicinais foi relatado por agricultores para aumentar a produção de leite e no tratamento da mastite bovina (Diaz et al., 2010). Estes produtos naturais diminuíram ou desapareceram da indicação médica com o advento da medicina moderna (Mukherjee et al., 2010), pois sofrem com o fato de que as evidências científicas e o esclarecimento estão faltando na maioria dos casos (Mukherjee et al., 2005). A etnoveterinária busca resgatar os saberes tradicionais estabelecendo uma conexão entre esses saberes e o saber científico (Schuch et al., 2008).

Entre os problemas de saúde que afetam o gado leiteiro, a mastite contagiosa é a enfermidade de maior prevalência, determinando redução na produção de leite, perdas pelo descarte e morte de animais e custos com tratamento. Para a prevenção dessa enfermidade, se encontra a higienização do ambiente, dos equipamentos e a antissepsia do úbere após a ordenha, o qual reduz o número de microrganismos patogênicos. A desinfecção de tetos é uma prática incorporada na rotina de ordenha, sendo importante para o controle de mastite (Ladeira, 2007). Contudo, o maior desafio para a indústria de laticínios é a pressão para reduzir o uso de antibióticos em animais produtores de alimentos (Mukherjee et al., 2010). O uso indiscriminado desses produtos pode contribuir para o estabelecimento de infecções persistentes o que é um fator limitante no tratamento de mastite bovina.

Schinus terebinthifolius Raddi ou aroeira, aroeira-vermelha, aroeira-da-praia, é uma árvore de porte médio pertencente a família Anacardiaceae (Lorenzi, 2008). Esta árvore é nativa à América do Sul e Central e cresce em regiões subtropicais e tropicais dos Estados Unidos e da África como uma árvore de jardim ornamental (El-Massry et al., 2009). No Brasil ocorre ao longo da Mata Atlântica até o Rio Grande

do Sul (Lorenzi, 2008). Quase todas as partes de *S. terebinthifolius* Raddi, incluindo folhas, cascas, frutos, sementes, resinas e oleorresinas, têm sido utilizadas medicinalmente pelos povos indígenas (El-Massry et al., 2009). A literatura etnobotânica cita o uso das cascas, com base na tradição popular, na forma de decocto, especialmente pelas mulheres após o parto, como anti-inflamatório e cicatrizante, ou como medicação caseira para o tratamento de doenças do sistema urinário e aparelho respiratório (Lorenzi 2008). A ação antibacteriana *in vitro* do extrato hidroalcoólico desta planta já foi comprovado frente as principais bactérias relacionadas como causadoras de mastite (Faccin et al., 2012).

A importância do uso de plantas medicinais pode ser atribuída à acessibilidade, bem como a confiança na fitoterapia conforme o efeito testemunhado a partir dos resultados positivos ao seu uso (Diaz et al., 2010). Já a obtenção de leite em quantidade e qualidade para a produção orgânica, depende de soluções para os problemas sanitários dos rebanhos através de alternativas renováveis, em que o uso de plantas medicinais apresenta grande potencial (Schuch et al., 2008). O termo orgânico refere-se a alimentos de origem animal e vegetal produzidos sem o uso de fertilizantes, pesticidas, inseticidas, antimicrobianos, antiparasitários, transgênicos, ou qualquer outra droga que possua resíduos nocivos a saúde humana, incluindo produtos de uso agropecuário destinados a animais de exploração leiteira (Ribeiro et al., 2009). O Objetivo deste estudo foi testar um extrato a base de *Schinus terebinthifolius* Raddi, com ação antibacteriana, para ser utilizado na antisepsia de tetos pré e pós-ordenha de bovinos de leite.

2. Materiais e Métodos

2.1. Obtenção e secagem da planta

As folhas foram coletadas em um único dia, no mês de junho de 2012. A coleta foi realizada no período da manhã, entre 9:00 e 10:00 horas. As árvores que forneceram o material vegetal para o experimento, localizam-se no Campus Capão do Leão, da Universidade Federal de Pelotas, município Capão do Leão, Rio Grande do Sul, em um raio de 1 Km a partir das referências geográficas 31°48' S e 52°24' O, altitude média da 17m. As plantas tinham aparência saudável, sem doenças ou herbivoria.

As amostras coletadas foram encaminhadas para o Laboratório de Bacteriologia (DVP/FV/UFPel) onde foi realizada a separação manual dos galhos e talos restando apenas folhas. As folhas permaneceram durante quinze dias em telas de secagem em local seco e a sombra, protegido de insetos e outros animais.

Exsicatas de cada árvore foram encaminhadas para identificação e conservação no Herbário do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pelotas.

2.2. Preparação do extrato

O extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi foi feito em uma proporção de 1:10 (g/mL) de folhas da planta com álcool de cereais a uma densidade de 70°GL. A planta ficou em contato com álcool durante quinze dias, com agitação manual duas vezes por dia. Após esse período foi realizada a filtragem com

filtro de gaze quatro dobras, reposto o volume inicial com álcool de cereais 70°GL e armazenados em frasco âmbar em local escuro (Farmacopeia Brasileira 1988, Schiavon et al., 2011).

Para uso, imediatamente antes do início da ordenha, era feita uma diluição a 20%.

2.3. Cultura do leite e escores dos tetos

Para a identificação microbiológica de novas infecções intramamárias (NIIM), foram colhidas individualmente amostras semanais de leite (5 ml) de todos os quartos mamários dos animais em ordenha. Após a assepsia dos tetos com algodão embebido em álcool 70° gL, em tubos de ensaio esterilizados, devidamente identificados, acondicionados em caixas isotérmicas com gelo reciclável e remetidas sob refrigeração ao Laboratório de Bacteriologia da Faculdade de Veterinária, da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL). As amostras de leite foram semeadas em placas de Petri contendo Ágar sangue desfibrinado de ovino a 5% e incubadas a 37°C. As leituras foram realizadas em 24 e 48 horas, sendo observadas as características culturais das colônias (morfologia, produção de pigmento e hemólise) e morfo-tintoriais, por meio da coloração de Gram, que permitiu uma visão preliminar das bactérias envolvidas no processo (Quinn et al., 1998).

Para avaliar a saúde da pele do teto com o uso do extrato na pele do teto, foram coletados dados quinzenais de avaliação em relação aos escores do teto, referentes ao esfínter, e a pele na porção proximal e distal da glândula mamária, seguindo classificação conforme Neijenhuis et al. (2000) e realizado sempre pela mesma pessoa.

2.4. Desenho experimental e análise estatística.

O experimento foi realizado em uma unidade de produção leiteira comercial (UPL), com duração de 12 semanas. O número de animais em ordenha oscilou entre 64 e 73 vacas em diferentes períodos de lactação, totalizando 95 vacas diferentes, das raças Jersey e Holandesa, em criação semi-intensiva com pastoreio e suplementação, e ordenha mecanizada realizada com cinco conjuntos de ordenhadeiras, duas vezes por dia.

Para a antissepsia dos tetos seguiu-se a rotina convencional, primeiramente a lavagem dos tetos com água corrente e secagem com papel toalha em seguida aplicava-se o pré dipping, em que o produto ficava em contato com os tetos por aproximadamente 30 segundos e então se fazia a secagem com papel toalha e a ordenha realizada normalmente, após aplicava-se o pós dipping e os animais eram liberadas da sala de ordenha. Procedeu-se da seguinte forma para a realização do pré e pós dipping: nos quartos mamários do lado esquerdo foi utilizada a solução teste de extrato de *Schinus terebinthifolius* Raddi, e nos quartos do lado direito lodo comercial (Mastin Plus[®]) próprio para as práticas de pré e pós dipping, em todas as ordenhas durante todo o período do experimento. Foram coletados dados semanais referentes à mastite clínica e subclínica através da realização do teste da caneca de fundo escuro e *Mastitis California Test* (CMT) (Schalm et al, 1957).

A ocorrência de novas infecções intramamárias (NIIMs) foi avaliado através do número de dias livres de infecção em cada quarto, ou seja, o número de dias em que este quarto mamário foi negativo para cultura bacteriológica, calculado tendo o número de quartos expostos e previamente livres de IIMs como denominador, e o

número referente aos casos novos, usado como numerador. Foi definido como casos novos, onde a cultura foi positiva para *Staphylococcus* spp., coagulase positiva (SCP), ou *Streptococcus* spp. na amostragem do leite daquele quarto mamário, e este índice foi corrigido para 1000 quartos dia. Foram critérios de exclusão: infecção por SCP ou por *Streptococcus* spp. no início do trabalho, na semana zero e até duas semanas após uma coleta microbiologicamente positiva. Animais com duas coletas sucessivas negativas foram considerados curados e reintroduzidos na contagem de dias livres de infecção (Schiavon et al., 2011).

A análise estatística dos resultados foi realizada através de avaliação de dados qualitativos (novas IIMs total, por SCP ou por *Streptococcus* spp, mastite clínica e mastite subclínica) pelo teste de qui-quadrado utilizando o Software Epi Info 7.0® e os dados não paramétricos (escore da pele e do esfíncter do teto) pelo teste de Kruskal-Wallis utilizando o programa Statistix 6.0®.

3. Resultados

3.1. California Mastitis Test

Os resultados referentes a avaliação do CMT está demonstrado na Figura 1, onde podemos observar o valor de CMT negativo para os dois tratamentos e a média do CMT negativo nas treze semanas coletadas, ou seja, a semana inicial mais as doze semanas do experimento. Ocorreram algumas diferenças entre os valores, porem essas diferenças não foram estatisticamente significativas. A incidência de resultados negativos para este teste variou em relação aos valores de p, com um $p=0,12$ na semana 8, e $p=1$ nas semanas 5 e 7.

3.2. Teste da caneca de fundo escuro

O número de casos de mastite clínica totalizou 26 durante as 12 semanas avaliadas, sendo dez casos ocorridos grupo controle, tratado com iodo e 16 casos no grupo tratamento com o extrato da planta, não houve diferença estatística entre eles ($p=0,33$). Corrigindo esses números para casos de mastite clínica por mil quartos em risco por dia, tem-se 0,965904 para o grupo controle e 1,53198 para o grupo tratamento, não há diferença estatística entre os tratamentos.

3.3. Controle de novas infecções intramamárias

As novas infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e *Streptococcus* spp. estão na tabela 1, onde se observa de acordo com os dois tratamentos, direito sendo o tratamento com iodo comercial e esquerdo o tratamento com o extrato da planta. Em relação ao número total de casos de novas infecções intramamárias nota-se que não houve diferença entre os dois tratamentos. Nenhum caso de NIIM por bactérias Gram negativas foi verificado durante o experimento.

3.4. Escores do úbere

A saúde do esfíncter dos tetos teve uma redução no escore até a terceira análise, em ambos os tratamentos, permanecendo estável nas demais semanas, como vemos na Figura 2. Não houve diferença significativa no escore de pele quando analisado no tempo de tratamento. Não houve diferença em nenhuma das

análises (saúde da pele e do esfíncter do teto) quando comparados os tratamentos, isto está demonstrado na Figura 2. Esses dados suportam a baixa ou nenhuma toxicidade do produto utilizado no pré e pós-dipping.

4. Discussão

As mastites bovinas são causadas principalmente por agentes bacterianos, dos quais são mais frequentes os que pertencem aos gêneros *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. (Oyarzabal et al., 2011). Em um estudo em leite de produção orgânica Ribeiro et al. (2009) também isolaram principalmente *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp. em animais com mastite. A produção de leite orgânico associa baixo custo ao longo do tempo, pois permite independência parcial do produtor em relação aos insumos externos e medicamentos, aumentando a rentabilidade, além de ser um produto interessante para o consumidor que conhece os benefícios do alimento orgânico, que é biologicamente superior (Langoni et al., 2009).

Agricultores e veterinários lançam mão de fitoterápicos para mastite bovina, tanto para a prevenção quanto para o tratamento, mas, predominam as práticas em tratamento, com a utilização de soluções ou pomadas medicinais a base de ervas para uso local ou a administração de plantas verdes ou secas via oral (Schuch et al., 2008). O uso como antisséptico no pré e pós dipping é pouco relatado, tornando esse tipo de prática uma opção para testar o uso de plantas medicinais no controle de mastite na produção orgânica. A mastite é um processo inflamatório da glândula mamaria usualmente causado por bactérias, sendo a doença de maior impacto econômico na pecuária leiteira mundial (Della Libera et al., 2011). O diagnóstico

definitivo de uma infecção intramamária requer o isolamento de bactérias patogênicas a partir de amostras de leite, no entanto, como essas infecções são geralmente seguidas por um influxo de leucócitos para o leite, um aumento da sua contagem de células somáticas tem sido também amplamente utilizado como uma indicação de mastite (Bhutto et al., 2012) e o teste que utilizamos para detectar a mastite subclínica na propriedade é o California Mastit Test (CMT), um teste amplamente utilizado para determinar o estado da doença de animais em lactação, sendo simples, barato e utilizado como teste de triagem rápida (Shitandi et al., 2004), e de acordo com a avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite realizada por Dalla Libera et al. (2011), o teste de CMT apresenta-se como uma ferramenta confiável para o diagnóstico de mastite. Neste estudo, durante todas as semanas, foram obtidos valores de incidência de CMT positivo que variaram entre 36,6 a 54,6%. Dados de CMT positivo em torno de 47% foram encontrados por Bhutto et al. (2012), na Alemanha. Em Botucatu/SP, avaliando aspectos citológicos e microbiológicos do leite em propriedades com sistema orgânico de produção, Langoni et al. (2009) encontraram valores de CMT positivo de 44%, que são semelhantes aos valores encontrados neste estudo isto demonstra que com exceção das semanas de oscilações, os resultados refletem a realidade do Brasil. Porém Schiavon et al. (2011) em estudo realizado na mesma região encontraram valores próximos a 29%, esta diferença pode ser justificada pelo extenso período de estiagem que houve neste ano.

O tempo de duração das infecções nas vacas é um ponto importante que deve ser considerado, pois quanto mais rápido os casos de mastite forem eliminados, maiores chances de sucesso terão os programas de controle (Oliveira et al., 2012). Gundelach et al. (2011) relatou que aproximadamente 85% das novas

infecções intramamárias foram causadas por *Staphylococcus* spp. coagulase negativa, Park et al. (2012), também relatou uma maior ocorrência desses patógenos em novas infecções intramamárias seguidas por *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* spp. Neste estudo encontrou-se um maior isolamento de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva nos casos de novas infecções intramamárias, seguida por *Streptococcus* spp.

Schiavon et al. (2011) testando uma solução a base de *Tagetes minuta* para a desinfecção pós ordenha de vacas em lactação, alcançou números quase cinco vezes maiores que os nossos quando avaliamos a incidência de novas infecções intramamárias por mil quartos por dia. Além disso não houve diferença significativa entre os tratamentos em nosso estudo, demonstrado que tanto o uso da planta quando o produto comercial tiveram resultados semelhantes em controlar NIIM.

Produtos a base de plantas constituem uma fonte importante de terapia alternativa. Por exemplo, estas plantas medicinais vêm sendo exploradas há séculos por várias comunidades, por suas atividades contra uma ampla variedade de doenças causadas ao homem e aos animais (Mukherjee et al., 2005). A importância do uso de plantas medicinais pode ser atribuída à acessibilidade, bem como a confiança na fitoterapia quanto um resultado positivo ao usar plantas medicinais (Diaz et al., 2010). Como visto pode-se relatar que as folhas da planta *Schinus terebinthifolius* Raddi pode ser usada na desinfecção da ordenha, pois a incidência de NIIM foi igual nos dois tratamentos. Em um estudo *in vitro* Silva et al. (2010) identificou a ação antibacteriana do óleo essencial das folhas desta planta frente a *Staphylococcus* spp. coagulase positiva isolados de otite externa de cães.

Uma solução desinfetante deve ser adequada as situações-problema nas quais será empregada, para ser utilizada na desinfecção de tetos na rotina de

ordenha de bovinos, deve ser eficaz sobre os agentes envolvidos na mastite, com o tempo de ação compatível ao manejo a que os animais são submetidos e com pouca suscetibilidade aos fatores intervenientes presença de matéria orgânica, pH e suporte, além disso, não deve possuir efeito colateral sobre a pele do animal e não deixar resíduos no leite (Schuch et al., 2008). Mudanças relacionadas à idade anatômica do teto levam a efeitos negativos sobre a resistência local (por exemplo, aumento do diâmetro do canal do teto, diminuição da função do canal do esfíncter do teto) e resistência diminuída com o aumento da idade, são possíveis razões para um aumento do risco de infecção (Gundelach et al., 2011).

No presente estudo não houve diferença significativa entre escores de pele quando analisado o tempo do tratamento, sugerindo assim a baixa ou nenhuma toxicidade do produto utilizado no pré e pós dipping, quando comparamos os resultados quinzenais dentro de cada. De acordo com isso podemos afirmar que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi pode ser usado como desinfetante no pré e pós dipping, pois não causou toxicidade quando comparada ao tratamento convencional com iodo comercial, porém no início do experimento houve uma piora nos escores dos esfíncteres em ambos os tratamentos, que segundo Neijenhuis et al. (2000) depois de repetidas ordenhas, o tecido do final do teto apresenta mudanças que aparecem como uma coroa ao redor do orifício do teto, essas alterações podem ser resultado de forças mecânicas exercidas pelo vácuo durante a ordenha. Silva et al. (2010), realizou testes toxicológicos do óleo essencial das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi em animais de laboratório e não observou alterações.

5. Conclusão

No presente estudo não ocorreu diferença entre a incidência de novas infecções intramamárias quando comparados os dois tratamentos, assim como, nenhuma evidência de toxicidade do extrato da planta a pele do teto foi encontrado isto permite dizer que o extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi pode ser usado para substituir o iodo comercial na desinfecção dos tetos.

Agradecimentos

Cooperativa Vista Alegre (COOPAVA), CAPES, Embrapa Clima Temperado.

Referências

Bhutto, A.L., Murray, R.D., Woldehiwet, Z., 2012. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. *Research in Veterinary Science* 92, 13-17.

Della Libera, A.M.M.P., Souza, F.N., Blagitz, M.G., Batista, C.F., 2011. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite bovina. *Arquivos do Instituto Biológico* 78, 297-300.

Diaz, M.A.N., Rossi, C.C., Mendonça, V.R., Silva, D.M., Ribon, A.O.B., Aguilar, A.P., Muñoz, G.D., 2010. Screening of medicinal plants for antibacterial activities on

Staphylococcus aureus strains isolated from bovine mastitis. Revista brasileira de farmacognosia 20, 724-728.

El-Massry, K.F., El-Ghorab, A.H., Shaaban, H.Á., Shibamoto, T., 2009. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. Journal of Agrocultural and Food Chemistry 57, 5265-5270.

Faccin, A., Gonçalves, C.L., Schiavon, D.B.A., Mota, F.V., Lessa, L.F., Bohm, B.C., Schuch, L.F.D. Ação antibacteriana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. XXII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. 18 a 21 de setembro de 2012, Bento Gonçalves-RS.

Farmacopeia Brasileira. (4^a ed), 1988. São Paulo (SP): Atheneu, 102pp.

Gundelach, Y., Kalscheuer, E., Hamann, H., Hoedemaker, M., 2011. Risk factors associated with bacteriological cure, new infection, and incidence of clinical mastitis after dry cow therapy with three different antibiotics. Journal Veterinary Science 12, 227-233.

Ladeira, S.R.L., (3 ed.), 2007. Mastite Bovina. In: Riet-Correa FA, Schild AL, Lemos RAA, Borges JRJ. Doenças de ruminantes e equídeos. Santa Maria: Pallotti.

Langoni, H., Sakiyama, T.P., Guimarães, F.F., Menozzi, B.D., Silva, R.C., 2009. Aspectos citológicos e microbiológicos do leite em propriedades no sistema orgânico de produção. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29, 881-886.

Lorenz, H., Abreu, FJM., (2 ed), 2008. *Plantas Medicinais do Brasil: Nativas e Exóticas*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 544 pp

Mota, F.V., Gonçalves, C.L., Schuch, L.F.D., Coimbra, H.S., Hartwig, C., 2011. Comparación de distintas extracciones hidroalcohólicas de plantas com indicativo etnográfico antiséptico/desinfectante. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 16, 236-243.

Mukherje, R., Dash, P.K., Ram, G.C., 2005. Immunotherapeutic potencial of *Ocimum sanctum* (L) in bovine subclinical mastitis. *Research in Veterinary Science* 79, 37-43.

Mukherjee, R., Ram, G.C., 2010. Evalution of mammary gland immunity and therapeutic potential of *Tinospora cordifolia* against bovine subclinical mastitis. *Tropical Animal Health Production* 42, 645-651.

Neijenhuis, F., Barkema, H.W., Hogeveen, H., Noordhuizen, J.P.T.M., 2000. Classification and longitudinal examination of callused teat-ends in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 83, 2795-2804.

Oliveira, J.M.B., Vanderlei, D.R., Moraes, W.S., Brandespim, D.F., Mota, R.A., Oliveira, A.A., Medeiros, E.S., Pinheiro Júnior, J.W., 2012. Fatores de Risco associados a mastite bovina na microrregião Garanhuns, Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 32, 391-395.

Oyarzabal, M.E.B., Schuch,, L.F.D., Prestes, L.S., Schiavon, D.B.A, Rodrigues, M.R.A., Mello, J.R.B., 2011. Actividad antimicrobiana de eceite esencial de *Origanum vulgare* L. ante bacterias aisladas en leche de bovino. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 16, 260-266.

Park, Y.K., Fox, L.K., Hancock, D.D., McMahan, W., Park, Y.H., 2012. Prevalence and antibiotic resistance of mastitis payhogens isolated from dairy herds transitioning to organic management. *Journal of Veterinary Science* 13, 103-105.

Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., Carter, G.R., 1998. *Clinical Veterinary Microbiology*. Londres (England): Wolfe; 648 pp

Ribeiro, M.G., Geraldo, J.S., Langoni, H., Lara, G.H.B., Siqueira, A.K., Salerno, T., Fernandes, M.C., 2009. Micro-organismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29, 52-58.

Schalm, O., Noorlander, D., 1957. Experiments and observations leading to the development of California mastitis test. *Journal of American Veterinary Medical Association* 130,199–204.

Schiavon, D.B.A., Schuch, L.F.D., Oyarzabal, M.E.B., Prestas, L.S., Zani, J.L., Hartwig, C.A., 2011. Aplicación de plantas medicinales para La antisepsia de pezones de vacas posordeño. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 16, 253-259.

Schuch, L.F.D., Wiest, J.M., Coimbra, H.S., Prestes, L.S., Toni, L., Lemos, J.S., 2008. Cinética da atividade Antibacteriana *in vitro* de extratos naturais frente a micro-organismos relacionados a mastite bovina. *Ciência Animal Brasileira* 9, 161-169.

Shitandi, A., Kihumbu, G., 2004. Assesment of the California mastitis test usage in smallholder dairy herds and risk of violative antimicrobial residues. *Journal Veterinary Science* 5, 5-9.

Silva, A.B., Silva, T., Franco, E.S., Rabelo, A.S., Lima, E.R., Mota, R.A., Câmara, C.A.G., Pontes-Filho, N.T., Lima-Filho, J.V., 2010. Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Brazilian Journal of Microbiology* 41, 158-163.

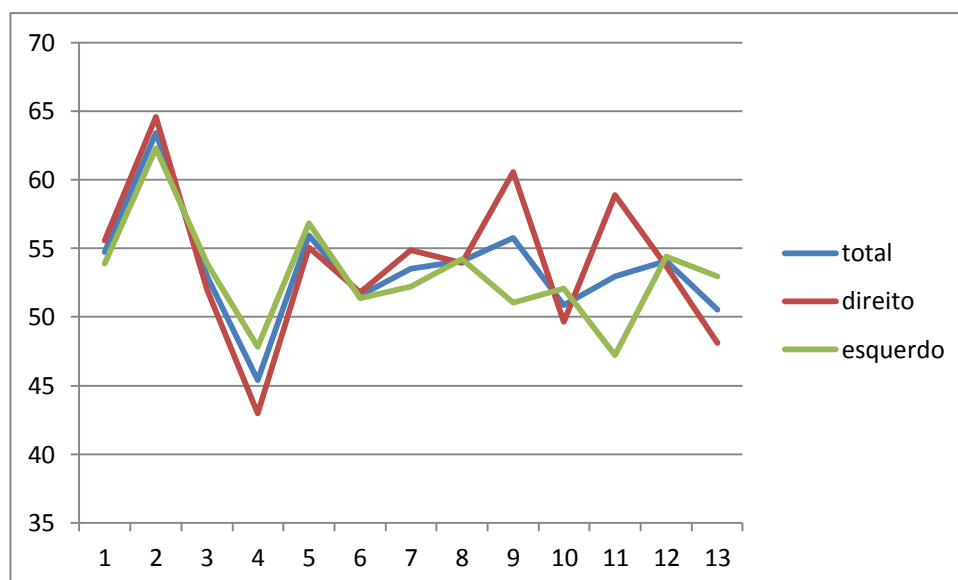


Figura 1: Incidência de CMT negativo das treze coletas.
Direito: Tratamento controle com iodo comercial; Esquerdo: Tratamento experimental com extrato hidroalcoólico de *Schinus terebithifolius* Raddi.

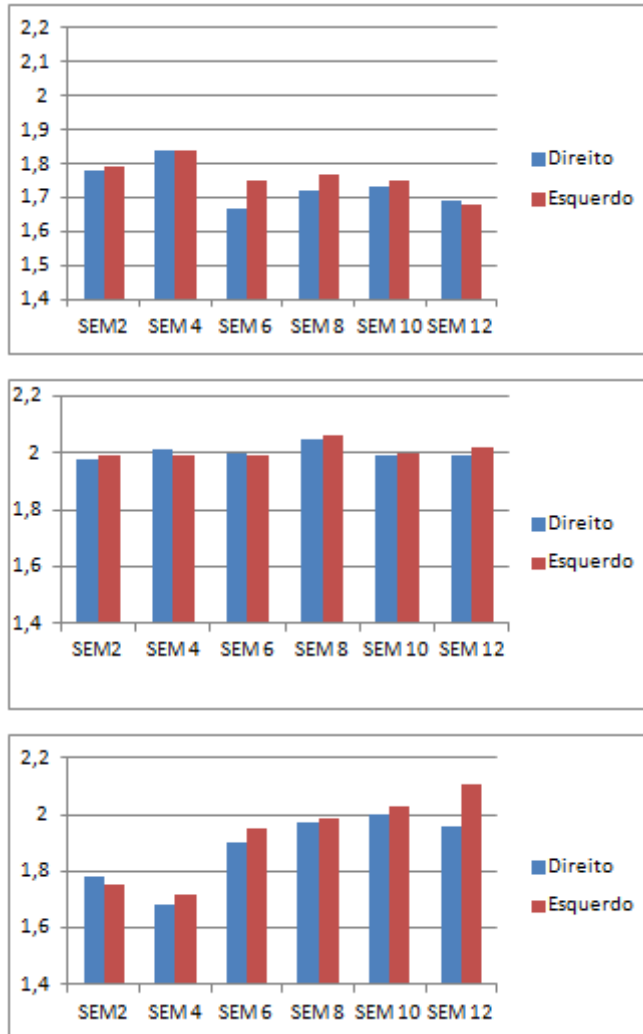


Figura 2: Média de escore quinzenal da saúde da pele porção inferior (A), porção superior (B) e esfíncter (C) do teto nos diferentes tratamentos. Direito: Tratamento controle com iodo comercial; Esquerdo: Tratamento experimental com extrato hidroalcoólico de *Schinus terebithifolius* Raddi.

Tabela 1: Incidência de novas infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e *Streptococcus* spp. em ambos os tratamentos, tratamento controle com iodo comercial e tratamento experimental com extrato hidroalcoólico de *Schinus terebithifolius* Raddi

	Tratamento controle	Tratamento experimental	p
NIIM por <i>Staphylococcus</i> spp. coagulase positiva*	3,1192	4,445512	0,20
NIIM por <i>Streptococcus</i> spp. *	2,7449	3,123874	0,67
Total	5,864	7,329088	0,29

* Novas infecções intramamárias por mil quartos por dia.

4. CONCLUSÕES GERAIS

No experimento *in vitro* obtivemos efetividade referentes a ação antibacteriana da *Schinus terebinthifolius* Raddi, mostrando que ambas formas de extração, assim como o estádio da planta, as folhas e frutos possuem ação bactericida contra as principais bactérias relacionadas a mastite bovina.

No estudo realizado *in vivo*, não ocorreu diferença estatística entre a incidência de novas infecções intramamárias quando comparados os dois tratamentos, assim como, nenhuma evidência de toxicidade do extrato da planta a pele do teto foi encontrado o que nos permite dizer que o extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi pode ser usado para substituir o iodo comercial na antissepsia dos tetos.

5. REFERÊNCIAS:

BARBOSA, L.C.A., DEMUNER, A.J., CLEMENTE, A.D. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Química Nova**, v. 30, p. 1959-1965, 2007.

BENDAOUD, H., ROMDHANE, M., SOUCHARD, J.P., CAZAUX, S., BOUAJILA, J. Chemical Composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus Molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 6, p. 466-472, 2010.

BHUTTO, A.L., MURRAY, R.D., WOLDEHIWET, Z. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 92, p. 13-17, 2012.

BRANCO-NETO, M.L.C., RIBAS-FILHO, J.M., MALAFAIA, O., OLIVEIRA-FILHO, M.A., CZECZKO, N.G., AOKI, S., CUNHA, R., FONSECA, V.R., TEIXEIRA, H.M., AGUIAR, L.R.F. Avaliação do extrato hidroalcoólico de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em peles de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, p.17-22, 2006.

BRASIL 2007, Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Decreto nº 6.323, de 27 de Dezembro de 2007. Regulamenta a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. Diário Oficial da União de 27 de Dezembro de 2007, Seção 1, página 2, Brasília, DF. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/Decreto/D6323.htm> Acessado em 15 de janeiro de 2013.

BRASIL 2008, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 64, de 18 de dezembro de 2008. Aprova o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. Diário Oficial da União de 19 de Dezembro de 2008, Seção 1, Página 21, Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.agriculturaorganicaamericas.net/Documentos%20Oficiais%20CIAO/Instrucao%20Normativa%20N%C2%BA064.pdf>> Acessado em 15 de janeiro de 2013.

CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically: Approved Standard. M7-A6; 2005.

DELLA LIBERA, A.M.M.P., SOUZA, F.N., BLAGITZ, M.G., BATISTA, C.F. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite bovina. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 2, p. 297-300, 2011.

DIAZ, M.A.N., ROSSI, C.C., MENDONÇA, V.R., SILVA, D.M., RIBON, A.O.B., AGUILAR, A.P., MUÑOZ, G.D. Screening of medicinal plants for antibacterial activities on *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 724-728, 2010.

EL-MASSRY, K.F., EL-GHORAB, A.H., SHAABAN, H.A., SHIBAMOTO, T. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **Journal of Agrochemical and Food Chemistry**, v. 57, p. 5265-5270, 2009.

FACCIN, A., GONÇALVES, C.L, SCHIAVON, D.B.A., MOTA, F.V., LESSA, L.F., BOHM, B.C., SCHUCH, L.F.D. Ação antibacteriana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. XXII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. 18 a 21 de setembro de 2012, Bento Gonçalves- RS.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4ª ed. São Paulo (SP): Atheneu; 1988. P.102.

GUERRA, M.J.M., BARREIRO, L.M., RODRÍGUEZ, M.Z., RUBALCABA, Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 5, p. 23-25, 2000.

GUNDELACH, Y., KALSCHEUER, E., HAMANN, H., HOEDEMAEKER, M. Risk factors associated with bacteriological cure, new infection, and incidence of clinical mastitis after dry cow therapy with three different antibiotics. **Journal Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 227-233, 2011.

LADEIRA, S.R.L. Mastite Bovina. In: Riet-Correa FA, Schild AL, Lemos RAA, Borges JRJ. Doenças de ruminantes e equídeos. Santa Maria: Pallotti, 2007.

LANGONI, H., PENACHIO, D.S., CITADELLA, J.C.C. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p.1059-65, 2011.

LANGONI, H., SAKIYAMA, T.P., GUIMARÃES, F.F., MENOZZI, B.D., SILVA, R.C. Aspectos citológicos e microbiológicos do leite em propriedades no sistema orgânico de produção. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 11, p. 881-886, 2009.

LEITE, S.R.R.F., AMORIM, M.M., SERENO, P.F.B., LEITE, T.N.F., FERREIRA, J.A.C., XIMENES, R.A.A. Randomized clinical Trial comparing the efficacy of the vaginal use of metronidazole with a Brazilian pepper tree (*Schinus*) extract for the treatment of bacterial vaginosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 3, p. 245-252, 2011.

LIMA, M.R.F., LUNA, J.S., SANTOS, A.F., ANDRADE, M.C.C., SANT'ANA, A.E.G., GENET, J.P., MARQUEZ, B., NEUVILLE, L., MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 137-147, 2006.

LLOYD, H.A., JAOUNI, T.M., EVANS, S.L., MORTON, J.F. Terpenes of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, v. 16, p. 1302-1302, 1977.

LORENZI, H., ABREU, F.J.M. Plantas Medicinais do Brasil: Nativas e Exóticas. 2 ed; Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008

LUCENA, P.L.H., RIBAS-FILHO, J.M., NASCIMENTO, M.M., CZECHKO, N.G., CORREA-NETO, M.A., HENRIQUES, G.S., SANTOS, O.J., CESCHIM, A.P., THIELE, E.S. Avaliação da ação da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, n. 2, p. 46-51, 2006.

MELO Jr, E.J.M., RAPOSO, M.J., LISBOA NETO, J.A., DINIZ, M.F.A., MARCELINO Jr, C.A.C., SANT'ANA, A.E.G. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: microbiological and microscopic analysis. **Phytomedicine**, v. 9, p. 109-116, 2002.

MENTZ, L.A., LUTZEMBERGER, L.C., SCHENKEL, E.P. Da flora medicinal do Rio Grande do Sul: notas sobre a obra de D'Ávila (1910). **Caderno de Farmácia**, v. 13, p. 25-48, 1997.

MOTA, F.V., GONÇALVES, C.L., SCHUCH, L.F.D., COIMBRA, H.S., HARTWIG, C. Comparación de distintas extracciones hidroalcohólicas de plantas com indicativo etnográfico antiséptico/desinfecante. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 16, n. 3, p. 236-243, 2011.

MUKHERJE, R., DASH, P.K., RAM, G.C. Immunotherapeutic potencial of *Ocimum sanctum* (L) in bovine subclinical mastitis. **Research in Veterinary Science**, v. 79, p. 37-43, 2005.

MUKHERJEE, R., RAM, G.C. Evalution of mammary gland immunity and therapeutic potential of *Tinospora cordifolia* against bovine subclinical mastitis. **Tropical Animal Health Production**, v. 42, n. 4, p. 645-651, 2010.

NEIJENHUIS, F., BARKEMA, H.W., HOGVEEN, H., NOORDHUIZEN, J.P.T.M. Classification and longitudinal examination of callused teat-ends in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 12, p. 2795-2804, 2000.

NUNES Jr, J.A.T., RIBAS-FILHO, J.M., MALAFIA, O., CZECHKO, N.G., INÁCIO, C.M., NEGRÃO, A.W., LUCENA, P.L.H., MOREIRA, H., WAGENFUHR Jr, J., CRUZ, J.J. Avaliação do efeito do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) no processo de cicatrização da línea Alba de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, p. 8-15, 2006.

OLIVEIRA, J.M.B., VANDERLEI, D.R., MORAES, W.S., BRANDESPIM, D.F., MOTA, R.A., OLIVEIRA, A.A., MEDEIROS, E.S., PINHEIRO JÚNIOR, J.W., 2012. Fatores de Risco associados a mastite bovina na microrregião Garanhuns, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 32, 391-395.

OSTROSKY, E.A., MIZUMOTO, M.K., LIMA, M.E.L., KANEKO, T.M., NISHIKAWA, S.O., FREITAS, B.R. Métodos para a avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

OYARZABAL, M.E., SCHUCH, L.F.D., PRESTES, L.S., SCHIAVON, D.B.A., RODRIGUES, M.R.A., MELLO, J.R.B. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. ante bacterias aisladas em leche de bovino. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 16, n. 3, p. 260-266, 2011.

PARK, Y.K., FOX, L.K., HANCOCK, D.D., MCMAHAN, W., PARK, Y.H. Prevalence and antibiotic resistance of mastitis pathogens isolated from dairy herds transitioning to organic management. **Journal of Veterinary Science** v. 13, p. 103-105, 2012.

QUINN, P.J., CARTER, M.E., MARKEY, B., CARTER, G.R. Clinical Veterinary Microbiology. Londres (England): Wolfe; 1998. p 648.

REIS, S.R., SILVA, N., BRESCIA, M.V. Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, p. 651-658, 2003.

RIBAS, M.O., SOUSA, M.H., SARTORETTO, J., LANZONI, T.A., NORONHA, L., ACRA, L.A. Efeito da *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. **Revista Odonto Ciência**, v. 21, p. 245-252, 2006.

RIBEIRO, M.G., GERALDO, J.S., LANGONI, H., LARA, G.H.B., SIQUEIRA, A.K., SALERNO, T., FERNANDES, M.C. Micro-organismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 52-58, 2009.

ROVEDA, L.M., FORMAGIO, A.S.N., BALDINIA, D.S., SANTOS, L.A.C., VIEIRA, M.C., CARDOSO, C.A.L., FOGLIO, M.A., CARVALHO, J.E., FORMAGIO NETO, F. Composição química e avaliação da atividade antitumoral do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) 10º SIMPÓSIO BRASIL-JAPÃO; 2010.

SANTOS, A.C.A., ROSSATO, M., AGOSTINI, F., SANTOS, P.L., SERAFINI, L.A., MOYNA, P., DELLACASA, E. Avaliação química mensal de três exemplares de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 1011-1013, 2007.

SANTOS, A.L.R. Avaliação do sistema conservante em formulação com extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi – Anacardiaceae. Dissertação PPG em Ciências Farmacêuticas da UFRN. 2007; 01-112.

SANTOS, O.J., RIBAS-FILHO, J.M., CZECHKO, N.G., BRANCO-NETO, M.L.C., NAUFEL Jr, C.R., FERREIRA, L.M., CAMPOS, R.P., MOREIRA, H., PORCIDES, R.D., DOBROWOLSKI, S. Avaliação do extrato de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, p. 39-45, 2006.

SCHALM, O., NOORLANDER, D. Experiments and observations leading to the development of California mastitis test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 130, p. 199–204, 1957.

SCHIAVON, D.B.A., SCHUCH, L.F.D., OYARZABAL, M.E.B., PRESTES, L.S., ZANI, J.L., HARTWIG, C.A. Aplicación de plantas medicinales para La antisepsia de pezones de vacas posordeño. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 16, n. 3, p. 253-259, 2011.

SCHUCH, L.F.D., WUEST, J.M., COIMBRA, H.S., PRESTES, L.S., TONI, L., Lemos JS. Cinética da atividade Antibacteriana *in vitro* de extratos naturais frente a micro-organismos relacionados a mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 161-169, 2008.

SHITANDI, A., KIHUMBU, G.. Assesment of the California mastitis test usage in smallholder dairy herds and risk of violative antimicrobial residues. **Journal Veterinary Science**, v, 5, n. 1, p. 5-9, 2004.

SILVA, A.B., SILVA, T., FRANCO, E.S., RABELO, A.S., LIMA, E.R., MOTA, R.A., CÂMARA, C.A.G., PONTES-FILHO, N.T., LIMA-FILHO, J.V. Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p. 158-163, 2011.

ZAFALON, L.F.; NADER FILHO, A.; DE CARVALHO, M.R.B.; DE LIMA, T.M.A. Influencia da mastite subclínica bovina sobre as frações proteicas do leite. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, p. 135-149, 2008.

ANEXOS

Anexo A. Artigo de revisão sistemática sobre a planta *Schinus terebinthifolius* Raddi, pesquisa realizada anteriormente aos experimentos da dissertação para melhor conhecimento da planta em questão. Trabalho submetido.

***Schinus terebinthifolius* Raddi, uso popular, composição química e atividade biológica: uma revisão sistemática**

Resumo:

Com o avanço quantitativo e qualitativo de pesquisas comprovando o uso de plantas como medicinais, levando em consideração o fator de que muitas pessoas são adeptas a práticas populares, se buscou identificar, através de uma metodologia previamente definida, a revisão sistemática, estudos primários referentes ao uso popular, a composição química e as principais atividades biológicas da *Schinus terebinthifolius* Raddi. Popularmente conhecida como Aroeira, é uma árvore nativa e abundante de regiões litorâneas do Brasil e América Latina. A pesquisa foi realizada em bibliotecas virtuais comumente usadas no meio científico, seguindo um roteiro de execução e inclusão de artigos. Após todas as etapas de seleção, se obteve um número de estudos que abordavam o uso popular, a composição química e as atividades biológicas da planta. A atividade biológica encontrada e descrita para esta planta é bastante vasta, incluindo 38 trabalhos, demonstrando que há diferentes indicações já comprovadas cientificamente a partir de diferentes partes da planta.

Palavras-chave: aroeira, antimicrobiano, plantas bioativas

INTRODUÇÃO:

A utilização de plantas com fins medicinais durante vários séculos constituiu a base terapêutica da prática médica Branco-Neto et al. (2006). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que 80% da população do planeta, de algum modo, utiliza plantas bioativas como medicamento Lucina et al. (2006). O crescente interesse da comunidade científica pela fitoterapia nas últimas duas décadas, levou ao desenvolvimento de várias pesquisas baseadas nas práticas e ditos populares (Santos et al. (2006).

As plantas são responsáveis pela produção de uma série de substâncias químicas durante seu metabolismo, algumas destas, são conhecidas como princípio ativo e são capazes de provocar algum tipo de resposta biológica quando introduzidos por qualquer via no organismo, sugerindo que o uso indevido de determinadas espécies como medicinais é muito perigoso podendo levar a efeitos colaterais Boscolo et al. (2008). Nos últimos anos, a importância da fitoterapia foi

reafirmada devido a melhorias nas técnicas de vigilância biológica e validação científica Melo et al. (2002).

O Brasil apresenta uma flora medicinal particularmente rica, sendo alvo de estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos na segunda metade do século XIX e no início do XX Mentz et al. (1997). Dentre as plantas de vasto uso popular encontra-se a *Schinus terebinthifolius* Raddi Branco-Neto et al. (2006). Esta planta pertencente a família Anacardiaceae, é uma planta comum da vegetação litorânea Nunes et al. (2006). Popularmente é conhecida como aroeira-vermelha ou pimenta-rosa Roveda et al. (2010). É uma planta nativa do Brasil e introduzida na Europa, onde é muito apreciada pela beleza de seu porte, sendo empregada na arborização de ruas Ribas et al. (2006). Apresenta-se como uma árvore de porte médio, monóica, de folhas compostas e aromáticas sendo usada em culinária, recebendo na França o nome de *poivre rose*, um tipo de pimenta doce Cerkus et al. (2007). Possui frutos abundantes, pequenos e vermelhos durante a maturação Mesquita (2009). Sua madeira é dura de múltipla utilização inclusive para a produção de carvão e lenha Mesquita (2009). Trata-se de uma planta muito utilizada na medicina popular brasileira e apresenta crescente número de estudos a seu respeito na literatura médica Coutinho et al. (2006).

A revisão sistemática é um tipo de investigação científica que tem por objetivo reunir, avaliar criticamente e conduzir uma síntese dos resultados de múltiplos estudos primários Cook et al. (1997). Nas revisões sistemáticas os “sujeitos” da investigação são os estudos primários (unidades de análise) selecionados por meio de método sistemático e pré-definido. Tradicionalmente, a revisão sistemática é um estudo retrospectivo. Cordeiro et al. (2007).

Devido ao avanço em número e qualidade das pesquisas comprovando o uso de plantas medicinais com alguma atividade bioativa, e pelo fato de muitas pessoas serem adeptas a práticas populares, o objetivo desta pesquisa foi identificar estudos primários sobre o uso popular, a composição química e as atividades biológicas da Aroeira – *S. terebinthifolius* Raddi.

METODOLOGIA:

Este estudo de revisão sistemática foi conduzido no período de 05 de abril a 05 de maio de 2011. Foi realizado um levantamento de resultados nas bases de

dados Scielo, PubMed e Google Acadêmico, com qualquer data de publicação. A Scielo, Scientific Eletronic Library Online, foi escolhido por conter estudos da América latina, Espanha e Portugal, o PubMed por reunir os principais estudos da área médica, já no Google Acadêmico foi usado nesta pesquisa com o objetivo principal de encontrar estudos que não estão indexados em periódicos, publicados regionalmente, incluindo teses, dissertações e congressos.

A estratégia de busca no Scielo e no PubMed foi usar a palavra-chave “*Schinus terebinthifolius*” e no Google Acadêmico foram feitas duas pesquisas distintas, com resultados apenas em português e a palavra-chave em qualquer lugar do texto, na primeira busca foi usado na opção com todas as palavras o termo “*Schinus terebinthifolius*” e com a frase exata “uso popular” e na segunda busca também foi usado na opção todas as palavras, o termo “*Schinus terebinthifolius*” e com a frase exata “composição química”.

Após as buscas, todos os estudos encontrados foram selecionados e arquivados, em seguida foi realizada a leitura do título e do resumo de todos os resultados e feito assim, uma segunda seleção, descartando aqueles resultados que não se enquadravam no objetivo da busca, posteriormente uma terceira seleção foi feita, com a leitura completa de todos os textos selecionados na segunda seleção, e então com isso, se obteve o resultado total dos estudos que formaram esta revisão.

Os critérios de seleção adotados foram artigos de conhecimento primário que tratavam sobre o uso popular da planta, a sua composição química e as principais atividades biológicas de interesse nas áreas de saúde.

RESULTADOS:

A seleção dos artigos encontrados, conforme Figura 1, resultaram em 81 publicações que abrangem artigos científicos, publicações regionais, em congressos, dissertações e teses.

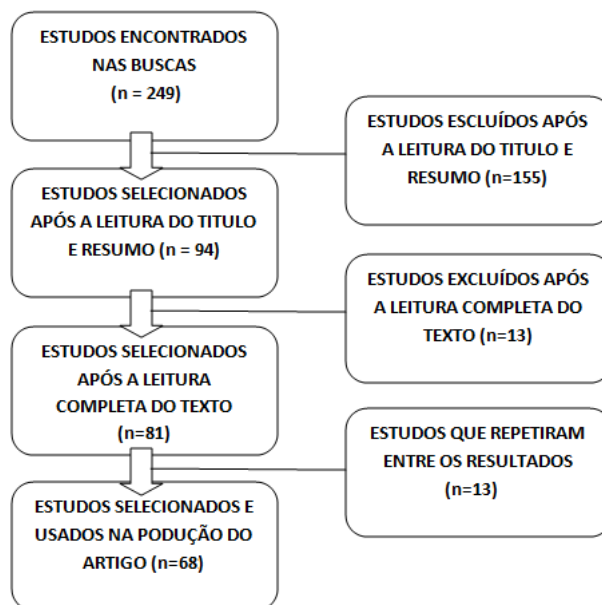


FIGURA 1: Sistemática de exclusão dos artigos encontrados na revisão bibliográfica.

Dos 81 artigos selecionados, 13 repetiriam entre as buscas, ou seja, apareceram como resultado em mais de uma base de pesquisa, portanto o total de publicações usadas neste artigo compreende 68 arquivos. Entre as bases de busca obtivemos resultados conforme mostra a Tabela 1. Foram encontrados 18 artigos abordando o uso popular, 12 sobre composição química e 38 tratavam da avaliação de atividades biológicas de extratos da planta, onde foi possível, através de leituras a complementação de dados.

TABELA 1: Resultados obtidos por base de busca em cada etapa de seleção.

	Scielo	PubMed	GA – composição química*	GA – uso popular**	TOTAL
Resultados					
1ª busca	44	35	111	59	249
Após a 1ª leitura	22	23	26	23	94
Após a 2ª leitura	19	21	21	20	81***

*GA – composição química: Google Acadêmico, com a frase exata composição química.

**GA – uso popular: Google Acadêmico, com a frase exata uso popular.

*** 13 artigos foram repetidos em diferentes bases de busca.

DISCUSSÃO:

Ao longo dos anos, as observações populares conduziram ao acúmulo de informações relevantes sobre a eficácia e os efeitos medicinais das plantas Bertoldi (2006). Segundo Guerra et al. (2010), que realizaram um estudo sobre a utilização

de práticas de fitoterapia em um determinado povoado rural, a realidade nestas comunidades é que há predomínio do uso de ervas medicinais devido ao hábito tradicional das pessoas buscarem a cura de enfermidades aproveitando os recursos existentes em seu ambiente. Da mesma forma, outros autores também realizaram estudos semelhantes, investigando e fazendo um levantamento sobre quais espécies eram mais usadas por certas populações regionais Braga (1908); Boscolo et al. (2008); Cavalcante (2010); Ferraz et al. (2009); Francisco (2010); Lamar et al. (2008); Lopes (2010); Mazza et al. (2000); Medeiros et al. (2005); Mentz et al. (1997); Moreira (2002); Pereira et al. (2005); Pereira (2008); Santos et al. (2009); Silva et al. (2006).

Dentre estes estudos investigativos em diferentes grupos regionais, as principais indicações populares da Aroeira estão relacionadas a patologias bucais Santos et al. (2009); Francisco (2010); Cavalcante (2010), com o uso da planta sugerindo ação cicatrizante Ferraz et al. (2009); Moreira et al. (2002), ou como anti-séptico Medeiros et al. (2005). Segundo o estudo de Boscolo et al. (2008), a casca do tronco e os frutos desta planta, são indicados para transtornos respiratórios e inflamações uterinas. Lopes (2010) relata que o uso do decocto da casca e das folhas é usado para cicatrização, anti-hemorrágico e fortalecimento dos dentes. Assim como os autores citados anteriormente, Guerra et al. (2010) reafirmam o que foi descrito, apontando o uso popular da casca de aroeira em diferentes formas de extração, o cozimento sendo indicado para inflamações e úlceras, a infusão relacionada a ferimentos, hematomas e inflamações, o lambedor sendo indicado em casos de gripes e o pó da casca ou a casca macerada para ferimentos e hematomas. Mentz et al. (1997), sugerem que a infusão das folhas é eficiente para perturbações da digestão, ou ainda, que banhos tem ação anti-reumática e depurativa. Em relação a este uso, Silva et al. (2006), também encontraram o hábito popular desta planta para distúrbios gastrointestinais. Fenner et al. (2006) investigaram plantas que seriam usadas popularmente com ação antifúngica, e destaca a aroeira como uma delas.

Oliveira et al. (2010) e Carriconde, (1999) desenvolveram cartilhas contendo as principais plantas medicinais de uso popular na Paraíba e em Pernambuco, demonstrando como coletar, secar e como preparar as plantas para o uso, bem como a quantidade indicada e por quanto tempo deve ser usada, baseando-se em informações obtidas na investigação popular.

Relacionado a sua composição, vários autores descrevem o isolamento de substâncias químicas de diversas porções e de diferentes extratos da planta. Richter et al. (2010) apontam uma nova técnica de cromatografia usada para isolar os compostos químicos do óleo essencial dos frutos da aroeira.

Assim como Clemente (2006), que analisou quimicamente o óleo essencial da *Schinus terebinthifolius* Raddi, outros autores também investigaram a composição de óleos essenciais desta planta, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2: Composição química de *S terebinthifolius* Raddi descrita pelos diferentes autores

Parte da planta	Extrato	Principais compostos	Ref.*
Folha	Óleo essencial	Monoterpenos / Monoterpenos oxigenados / Sesquiterpenos / Sesquiterpenos oxigenados	1
Folha	Óleo essencial	Sabineno / Alfa-pineno / Cariofileno / Germacreno-D	2
Folha	EHA	Galato de etila / Miricetina / Galato de metila /	3
Fruto	Óleo essencial	Monoterpeno	4
Fruto	Óleo essencial	Alfa-pineno / Delta-careno / Limoneno / Alfa-felandreno	5
Fruto	Óleo essencial	Sesquiterpeno	6
Casca	Decocto	Taninos	7

*Referências: 1: El-Massry et al. (2009); 2: Santos et al. (2007); 3: Havaski et al. (1989); 4: Roveda et al. (2010); 5: Silva et al. (2010); 6: Bendaoud et al. (2010) e 7: Barca (2008).

El-Massry et al. (2009), por cromatografia do óleo essencial das folhas de aroeira, encontraram monoterpenos, sesquiterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos oxigenados. Roveda et al. (2010), também encontrou concentrações de monoterpenos porém no óleo essencial dos frutos. Silva et al. (2010), em sua investigação, também no óleo essencial dos frutos, isolou alfa-pineno, delta careno, limoneno, alfa-felandreno.

Santos et al. (2007), avaliando as alterações químicas do óleo essencial das folhas de três exemplares da planta, em diferentes fases fenológicas, identificaram como substâncias majoritárias o sabineno, alfa-pineno, cariofileno, germacreno – D, as amostras foram diferentes entre si em relação aos componentes majoritários, no entanto, os autores sugerem que as diferenças podem estar relacionadas ao caráter genético, micro ambiental e idade fisiológica das árvores.

Hayashi et al. (1989), isolaram um inibidor da xantina oxidase. Cerkus et al. (2007), fizeram um estudo fitoquímico do extrato hidroalcoólico de folhas de aroeira e isolaram galato de etila, miricetina e galato de metila. Barca (2008), estudou o decocto da casca da aroeira, concluindo que possui uma elevada quantidade de

taninos, se tornando um fitoterápico antiinflamatório e adstringente por provocar vasoconstrição local e coagulação de proteínas, formando um revestimento, ligeiramente anti-séptico, sob o qual ocorre a regeneração dos tecidos. Em relação a influências sobre o extrato, Vasconcelos et al. (2005), avaliaram a influencia da temperatura para obtenção do extrato da planta em seu produto final.

Bendaoud et al. (2010) isolou do óleo essencial dos frutos de aroeira o composto sesquiterpeno, que em suas pesquisas foi ativo contra câncer de mama em humanos. Outro trabalho semelhante foi de Queires et al. (2006), que pesquisaram sobre os efeitos de polifenóis isolados de aroeira e sua atividade contra carcinoma de próstata. Jain et al. (1995), avaliaram um tripenóide, o schinol, para testar na inibição da fosfolipase A2. Tirelli et al. (2010) quantificaram taninos das cascas de aroeira e compararam com outras plantas.

Levando em conta as diversas atividades biológicas da *Schinus terebinthifolius* Raddi, foram vários os resultados. Quanto a atividade frente a bactérias Costa et al. (2010) avaliaram quatro extratos de diferentes plantas, contra uma bactéria de importância odontológica, *Enterococcus faecalis*, revelando ação antibacteriana do extrato da aroeira. Do mesmo modo Lima et al. (2006) testaram o extrato etanólico das cascas do caule e das folhas, bem como algumas frações destes extratos, frente a algumas cepas suscetíveis de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*. Melo et al. (2002) verificaram a atividade da aroeira contra bactérias isoladas de alveolite em ratos, sendo que a planta obteve um resultado eficiente. Silva et al. (2010) objetivaram testar o óleo essencial das folhas de aroeira frente a *Staphylococcus* spp. isolados de otite externa de caninos e avaliaram a citotoxicidade em animais de laboratório, concluindo que o extrato possui potente ação antimicrobiana e sem evidências de toxicidade.

Segundo Amorim et al. (2003), frequentemente as mulheres nordestinas usam decocto de aroeira para tratar vaginite e cervicite, neste estudo eles comprovaram o uso in vivo, com resultados significativos para o tratamento de vaginose bacteriana. Leite et al. (2011), realizaram um estudo muito semelhante, porem comparando o uso da aroeira com metronidazol no tratamento da vaginose bacteriana, porém o antibiótico teve maior percentual de cura.

Santos et al. (2007) avaliaram o efeito do extrato das folhas de aroeira contra algumas espécies fúngicas isolados de flores, apresentando inibição do crescimento

dos exemplares de *Colletotrichum spp* e *Fusarium spp*. Ruiz et al. (1996) realizaram avaliação de treze plantas medicinais, incluindo a aroeira, para testar suas propriedades mutagênicas com *Aspergillus nidulans* e demonstraram que apenas uma, a planta *Momordica charantia*, obteve efeito genotóxico.

Johann et al. (2010)^a pesquisaram a ação antifúngica de varias plantas em relação ao fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, sendo que a aroeira não esteve entre os melhores resultados. Porem em outra pesquisa Johann et al. (2010)^b, usando extrato hidroalcoólico da folha e da casca da aroeira isolaram alguns compostos, entre eles, o schinol e o NC-bifenilo foram ativos contra o fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, também neste estudo, constataram que a porção schinol combinado Itraconazol apresentou efeito sinérgico.

Tonial (2010) demonstrou a atividade antimicrobiana de extrato metanólico das folhas de aroeira. Schmourlo et al. (2005), avaliaram a atividade da planta contra algumas leveduras dos gêneros, *Candida*, *Trichophyton* e *Cryptococcus*. A aroeira apresentou resultados positivos contra *Cândida spp*. Similarmente, Guerra et al. (2000) testaram extrato fluído das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, obtendo um resultado positivo, com melhor ação contra a levedura. Santos (2007) testou a ação do extrato de aroeira com *Staphylococcus aureus*, *Peusodomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Cândida tropicalis*, *Cândida krusei*, *Cândida guillermundii*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus Níger*, os resultados se mostraram positivos para as bactérias e ineficaz contra os fungos. Da mesma forma, Pereira et al. (2010) testaram o extrato etanol de algumas plantas, inclusive a aroeira contra vários microorganismos, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e os extratos apresentaram alguma atividade antimicrobiana.

Há diferentes resultados em relação a cicatrização mediada pelo extrato de aroeira. A atividade cicatrizante foi demonstrada em século XIX e no inicio do XX experimentos em ratos com extrato hidroalcoólico da entrecasca da aroeira na bexiga Lucena et al. (2006), linha Alba Nunes et al. (2006) e colon Coutinho et al. (2006). Porém, nesse mesmo modelo biológico, Santos et al. (2006), que usaram um protocolo semelhante e avaliaram a cicatrização do estomago, não houve alteração do processo cicatrizatório e Branco-Neto et al. (2006) que utilizaram uma técnica

diferente dos demais, avaliando a cicatrização de feridas dorsais, com o uso tópico da planta, concluíram que o extrato retardou a reepitelização das feridas da pele dos ratos.

Lipinski (2008) comparou o efeito da casca de aroeira com outras plantas na cicatrização por segunda intenção em bovinos, resultando em efeito benéfico da planta no processo de cicatrização. Ainda em relação à atividade cicatrizante, Lanzoni (2007) verificou a ação dos extratos polar e apolar das folhas de aroeira bem como sua combinação, no reparo tecidual de lesões transfixantes induzidas na língua de ratos, sendo o extrato polar mais eficaz no processo inicial de reparo e o extrato apolar melhor na produção de colágeno e no reparo das úlceras. Ribas et al. (2006) avaliaram o reparo tecidual em lesões ulceradas na mucosa bucal de ratos, também encontrando resultados positivos a cicatrização.

Medeiros et al. (2007) testaram a ação antiinflamatória de um composto formado por quatro plantas, incluindo a aroeira, utilizado popularmente no nordeste do Brasil, em estudos experimentais com edema de orelha e pata em ratos. O composto apresentou propriedades antiinflamatória e a melhor dose recomendada seria a já usada pela população. Esse mesmo produto foi testado por Paulo et al. (2009), em relação aos efeitos toxicológicos. Esses autores realizaram ensaios clínicos toxicológicos referentes a fase I em seres humanos em relação a um produto fitoterápico, e comprovaram que o produto possui baixa toxicidade. Em ensaios in vivo Lima et al. (2009) avaliaram a toxicidade do extrato hidroalcoólico da casca da aroeira em ratos e concluíram que a planta não produz efeitos tóxicos.

Uma atividade biológica interessante referente ao uso de *Schinus terebinthifolius* Raddi é descrita por Silva et al. (2010) e Silva et al. (2011), que afirmam que o óleo essencial dos frutos de aroeira como uma alternativa aos quimioterápicos para adicionar a ração de frangos de corte, pois melhora os índices de produção e a superfície absorviva do intestino, promovendo melhor conversão alimentar, ganho de peso e peso final.

Estudos precursores, e de impacto científico vem sendo realizados sobre a ação de plantas medicinais contra células tumorais, Barbosa (2009) em suas pesquisas avaliou o efeito toxicológico de algumas plantas, entre elas a aroeira, e analisou a ação de seus extratos sobre células tumorais, bem como Mesquita (2009) que avaliou diversos extratos de plantas do cerrado brasileiro sobre linhagens de câncer, melanoma, cólon e glioblastoma, e a aroeira foi classificada como ativa.

Varela-Barca et al. (2007) afirmam que a aroeira possui propriedades genotóxicas, indicam que os danos causados ao DNA bacteriano são por frações flavonóides de aroeira, o DNA é alvo da FPG e glicosilase Mut Y, via BER. Similarmente, Carvalho et al. (2003), através do decocto da casca do caule, encontrou vários componentes e atribuíram aos flavonóides o potencial antioxidante, neste estudo o extrato causou dano e mutação do DNA bacteriano, sugerindo como ocorre a ação da planta nesses microrganismos, o que é de suma importância para a comprovação científica do uso de plantas medicinais.

Outras atividades relacionadas com a aroeira são descritas por Bertoldi (2006) que avaliou o rendimento e o potencial antioxidante da fração fenólica do óleo essencial e da oleorresina. Machado et al. (2008) investigaram experimentalmente a ação anti alérgica da fração acetato de etila da aroeira, que demonstrou resultados positivos, comprovando essa indicação.

Freitas et al. (2010) numa análise palinológicas, a partir da remoção da cera e da resina, citaram a aroeira como sendo componente da própolis marrom da mata atlântica do Rio de Janeiro, da mesma forma Teixeira (2003) também apontou a aroeira como componente da própolis originária de três regiões de Minas Gerais, atribui a complexidade da composição da própolis a propriedades farmacológicas importantes, considerando alguns compostos isoladamente, ou o sinergismo existente entre eles, o que leva a uma atividade de amplo espectro contra diferentes microrganismos, de distintos graus de patogenicidade para o homem e outros animais. Ainda, cita estudos importantes sobre propriedades biológicas que foram comprovadas, como a ação antioxidante, acitotóxica e imunomoduladora.

CONCLUSÃO:

Esta revisão permitiu sistematizar o conhecimento já produzido sobre os principais usos populares, as principais pesquisas referentes a atividade biológica e em relação a gama de componentes químicos já isolados de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Pode-se demonstrar a riqueza e o alto potencial bioativo medicinal desta planta e que suportam mais pesquisas que aprofundem o conhecimento e o seu uso terapêutico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AMORIM, M.M.R; SANTOS, L.C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Ensaio clínico randomizado. In: XVII CONGRESSO MUNDIAL DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA. Brasília: 2003, p.95-102.

BARBOSA, C.V. **Avaliação do potencial antineoplásico de plantas medicinais utilizadas como coadjuvantes no tratamento do câncer pelos pacientes do CACON/UFAL**. 2009. 98p. (Mestrado – Area de concentração em Ciências da Saúde) Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

Barca, F.N.T.V. **Metagênese induzida por flavonóides presentes no decocto das cascas da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 2008. 93p.(Doutorado – Area de concentração Ciências da Saúde) Centro de Ciências da Saúde, Universidade federal do Rio Grande do Norte, Natal.

BENDAOU, H.; ROMDHANE, M.; SOUCHARD, J.P.; CAZAUX, S.; BOUAJILA, J. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L and *Schinus terebinthifolius* Raddi beviess essential oils. **Journal of food Science** v.75, p.466 – 472, 2010.

BERTOLDI, M.C. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 2006. 116p. (Doutorado – Area de concentração em Ciências e Tecnologia de Alimentos) Departamento de Ciências e Tecnologia doe Alimentos, Universidade federal de Viçosa, Viçosa.

BOSCOLO, O. VALLE, L.S. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **Ser Bot.** v.63, p.263-277, 2008.

BRAGA R. Plantas do Ceará. **Revista do Instituto do Ceará**. p.21-62, 1908

BRANCO-NETO, M.L.C; RIBAS-FILHO, .JM; MALAFAIA, O; OLIVEIRA-FILHO, M.A; CZECZKO, N.G; AOKI, S. CUNHA, R; FONSECA, V.R; TEIXEIRA, H.M; AGUIAR, L.R.F. Avaliação do extrato hidroalcoólico de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em peles de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.21, p.17-22, 2006.

CARRICONDE C. Cartilha para agentes comunitários de saúde do agreste. **Centro nordestino de medicina popular**. p.01-34, 1999.

CARVALHO, M.C.R.D; BARCA, F.N.T.V; AGNEZ-LIMA, L.F; MEDEIROS, S.R.B. Evaluation of mutagenic activity in an extract of pepper tree stem bark (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Environmental and molecular mutagenesis**. v.42, p.185-191, 2003.

CAVALCANTE, A.L.F.A. **Plantas medicinais e saúde bucal; estudo etnobotânico, atividade antimicrobiana e potencial para interação medicamentosa**. 2010, 210p. (Mestrado – área de concentração em Diagnóstico bucal) Departamento de Odontologia, Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa.

CERUKS M.; ROMOFF, P.; FÁVERO, A.O.; LAGO, J.H.G. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova** v. 20, p. 597-599, 2007.

CLEMENTE, A.D. **Composição química e atividade biológica do óleo essencial da pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 2006, 63p. (Doutorado – área de concentração Agroquímica) Departamento de Agroquímica. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

COOK, D.J.; MULROW, C.D.; HAYNES, R.B. Systematic reviews: synthesis of best evidence for clinical decisions. **Annals of Internal Medicine**. v.126, p.376-380, 1997.

CORDEIRO, A.M.; OLIVEIRA, G.M.; RENTERIA, J.M.; GUIMARÃES, C.A. Revisão sistemática: uma revisão narrativa. **Comunicação Científica**. v. 34, p.428-431, 2007.

COSTA, E.M.M.B.; BARBOSA, A.S.; ARRUDA, T.A.; OLIVEIRA, P.T.; DAMETTO, F.R.; CARVALHO, R.A.; MELO, M.D. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extrato de plantas contra *Enterococcus faecalis*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v.46, p.175-180, 2010.

COUTINHO, I.H.I.L.S.; TORRES, O.J.M.; MATIAS, J.E.F.; COELHO, J.C.U.; SAHLKE JR, H.J.; AGULHAM, M.A.; BACHLE, Ê.; CAMARGO, P.A.M.; PIMENTEL, S.K.; FREITAS, A.C.T. Efeito do extrato hidroalcoólico de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.21, p.49-54, 2006.

EL-MASSRY, K.F.; EL-GHORAB, A.H.; SHAABAN, H.A.; SHIBAMOTO, T. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.57, p.5265-5270, 2009.

FENNER, R.; BETTI, A.H.; MENTZ, L.A.; RATES, S.M.K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.42, p.371-394, 2006.

FERRAZ, L.S.; ALBURQUERQUE, E.S.; SILVA, J.A.A.; OLIVEIRA, K.C.L.; GALDINO, R.M.N. Levantamento da diversidade das plantas medicinais utilizadas pela comunidade do Curado. 2009, 2p. (Trabalho de extensão – área Microbiologia) Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

FRANCISCO, K.S.F. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **Revista Saúde**. v.4, p.18-24, 2010.

FREITAS, A.S.; BARTH, O.M.; LUZ, C.F.P. Própolis Marrom da vertente Atlântica do estado do Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação palinológica. **Revista Brasileira de Botânica**. v.33, p.343-354, 2010.

GUERRA, A.M.N.M.; PESSOA, M.F.; SOUZA, C.S.M.; MARACAJÁ, P.B. Utilização de plantas medicinais pela comunidade rural Moacir Lucena. **Journal of Biosciences**. v.26, p.442-450, 2010.

GUERRA, M.J.M.; BARREIRO, L.M.; RODRÍGUEZ, M.Z.; RUBALCABA, Y. Actividad antimicrobiana de um extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**. v.5, p.23-25, 2000.

HAYASHI, T.; NAGAYAMA, K.; ARISAWA, M.; SHIMIZU, M.; SUZUKI, S.; YOSHIZAKI, M.; MORITA, N. Pentagalloylglucose, a xanthine oxidase inhibitor from a Paraguayan crude drug, "molle I" (*Schinus terebinthifolius*). **Jornal of natural products**. v.52, p.210-211, 1989.

JAIN, M.K.; YU, B.Z.; ROGERS, J.M.; SMITH, A.M.; BORGER, E.T.A.; OSTRANDER, R.L.; RHEINGOLD, A.L. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A2 from berries of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**. v.39, p.537-547, 1995.

JOHANN, S.; CISALPINO, P.S.; WATANABE, G.A.; COTA, B.B.; SIQUEIRA, E.P.; PIZZOLATTI, M.G.; ZANI, C.L.; RESENDE, M.A. Antifungal activity of extracts of some plants used in brazilian traditional medicine against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Pharmaceutical Biology**. v.48, p.388-396, 2010.

JOHANN, S.; SÁ, N.P.; LIMA, L.A.R.S.; CISALPINO, P.S.; COTA, B.B.; ALVES, T.M.A.; SIQUEIRA, E.P.; ZANI, C.L. Antifungal activity of schinol and a new biphenyl compound isolated from *Schinus terebinthifolius* against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**. v.9, p.1-6, 2010.

LAMAR, A.S.; LOPEZ, G.F.; TRUJILLO, N.C.; FUENTES, D.F. Propuesta de ruta crítica para la evaluación genotóxica de plantas medicinales en Cuba. **Revista Cubana de Farmácia**. v.34, p.34-43, 2000.

LANZONI, T.A. **Efeito dos extratos das folhas da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) sobre lesões transfixantes induzidas na língua de ratos**. 2007. 68p. (Mestrado – área de concentração em Estomatologia) Centro de Ciências Biológicas e da saúde – Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba.

LEITE, S.R.R.F.; AMORIM, M.M.R.; SERENO, P.F.B.; LEITE, T.N.F.; FERREIRA, J.A.C.; XIMENES, R.A.A. Randomized clinical trial comparing the efficacy of the vaginal use of metronidazole with a brazilian pepper tree (*Schinus*) extract for the treatment of bacterial vaginosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.44, p.245-252, 2011.

LIMA, L.B.; VASCONCELOS, C.F.B.; MARANHÃO, H.M.L.; LEITE, V.R.; FERREIRA, P.A.; ANDRADE, B.A.; ARAÚJO, E.L.; AVIER, H.S.; LAFAYETTE, S.S.L.; WANDERLEY, A.G. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. **Journal of Ethnopharmacology**. v.126, p.468-473, 2009.

LIMA, M.R.F.; LUNA, J.S.; SANTOS, A.F.; ANDRADE, M.C.C.; SANT'ANA, A.E.G.; GENET, G.P.; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v.105, p.137-147, 2006.

LIPINSKI, L.C. **Comparação da atividade cicatrizante na pele bovina entre fitoterápicos de uso tópico**. 2008, 64p. (Mestrado – área de concentração em

Ciências Veterinárias) Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

LOPES, C.V.G. **O conhecimento etnobotânico da comunidade quilombola do Varzeão, Dr. Ulysses (PR): no contexto do desenvolvimento rural sustentável.** 2010, 159p. (Doutorado – área de concentração em Agronomia – Produção Vegetal) Departamento de Agronomia da universidade Federal do Paraná, Curitiba.

LUCENA, P.L.H.; RIBAS-FILHO, J.M.; NASCIMENTO, M.M.; CZECHKO, N.G.; CORREA-NETO, M.A.; HENRIQUES, G.S.; SANTOS, O.J.; CESCHIM, A.P.; THIELE, E.S. Avaliação da ação da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira.** v.2, p.46-51, 2006.

MACHADO, S.C.C.; ROSAS, E.C.; BRITO, F.A.; HERINGE, A.P.; OLIVEIRA, R.R.; KAPLAN, M.A.C.; FIGUEIREDO, M.R.; HENRIQUES, M.G.M.O. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. **International Immunopharmacology.** v.8, p.1552-1560, 2008.

MAZZA, M.C.M.; RODIGHERI, H.R.; NAKASHIMA, T.; ZILLER, S.R.; MAZZA, C.A.S.; CONTO, A.J.; SOARES, A.O.; BAGGIO, A.J. Potencial de aproveitamento medicinal de espécies do sub-bosque dos bracatingas da região de Curitiba PR. **Embrapa Floresta, documentos** v.43, p.01-27, 2000.

MEDEIROS, K.C.P.; MONTEIRO, J.C.; DINIZ, M.F.F.M.; MEDEIROS, I.A.; SILVA, B.A.; PIUVEZAM, M.R.; Effect of the activity of the brazilian polyherbal formulation: *Eucalyptus globulus* Labill, *Peltodon radicans* Pohl and *Schinus terebinthifolius* Radd, in inflammatory models. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** p.17, p.23-28, 2007.

MEDEIROS, M.F.T.; SENNA-VALLE, L.; ANDREATA, R.H.P. Flora medicinal dos sitiantes da reserva particular do patrimônio natural Rios das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil: taxonomia e aspectos etnobotânicos. **Publicações Avulsas do Museu Nacional do Rio de Janeiro.** v.106, p.03-24, 2005.

MELO JR, E.J.M.; RAPOSO, M.J.; LISBOA NETO, J.A.; DINIZ, M.F.A.; MARCELINO JR, C.A.C.; SANT'ANA, A.E.G. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: microbiological and microscopic analysis. **Phytomedicine.** v.9, p.109-116, 2002.

MENTZ, L.A.; LUTZEMBERGER, L.C.; SCHENKEL, E.P. Da flora medicinal do Rio Grande do Sul: notas sobre a obra de D'Ávila (1910). **Caderno de Farmácia** v.13, p.25-48, 1997.

MESQUITA, M.L. **Potencial antitumoral de substâncias isoladas de plantas do Cerrado brasileiro: estudos preliminares do mecanismo de ação da atividade citotóxica.** 2009. 223p. (Doutorado – área de concentração Ciências Médicas) Departamento de Ciências Médicas da Universidade de Brasília, Brasília.

MOREIRA, R.C.T.; COSTA, L.C.B.; COSTA, R.C.S.; ROCHA, E.A. Abordagem etnobotânica acerca do uso de plantas medicinais na Vila Cachoeira, Ilheus, BA, Brasil. **Acta Farmacêutica Bonaerense.** v.21, p.205-211, 2002.

NUNES JR, J.A.T.; RIBAS-FILHO, J.M.; MALAFIA, O.; CZECHKO, N.G.; INÁCIO, C.M.; NEGRÃO, A.W.; LUCENA, P.L.H.; MOREIRA, H.; WAGENFUHR JR, J.; CRUZ, J.J. Avaliação do efeito do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) no processo de cicatrização da linha Alba de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.21, p.8-15, 2006.

OLIVEIRA, L.C.P.; FIGEIREDO, C.A.; OASHI, E.G.; SOUSA, M.S. Manual de plantas medicinais de interesse no SUS. XII ENCONTRO DE INICIAÇÃO A DOCÊNCIA. 2010.

PAULO, P.T.C.; DINIZ, M.F.F.M.; MEDEIROS, I.A.; MORAIS, L.C.S.L.; ANDRADE, F.B.; SANTOS, H.B. Ensaios clínicos toxicológicos, fase I, de um fitoterápico composto (*Schinus terebinthifolius* Raddi, *Plectranthus amboinicus* Lour e *Eucalyptus globulus* Labill). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.19, p.68-76, 2009.

PEREIRA, E.M.R.; GOMES, R.T.; FREIRE, N.R.; AGUIAR, E.G.; BRANDÃO, M.G.L.; SANTOS, V.R. In vitro antimicrobial activity of brazilian medicinal plant extract against pathogenic microorganisms of interest to dentistry. **Planta médica**. v.77, p.401-404, 2010.

PEREIRA, I.G.R. **Prevalência do uso de fitoterapia em pacientes do programa de geriatria do hospital universitário de Brasília – HUB**. 2008. 143p. (Mestrado – área de concentração – Ciências da Saúde) Departamento de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. Brasília.

PEREIRA, R.C.; OLIVEIRA, M.T.R.; LEMOS, G.C.S. Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes – RJ. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V.14, p.37-40, 2005.

QUEIRES, L.C.S.; LAFÈVE-FAVEL, F.; TERRY, S.; DE LA TAILLE, A.; KOUYOUMDJIAN, J.C.; CHOPIN, D.K.; VACHEROT, L.; RODRIGUES, L.E.A.; CRÉPIN, M. Polyphenols purified from the brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. **Anticancer research**. v.26, p.379-388, 2006.

RIBAS, M.O.; SOUSA, M.H.; SARTORETTO, J.; LANZONI, T.A.; NORONHA, L.; ACRA, L.A. Efeito da *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. **Revista Odonto Ciência**. v.21, p.245-252, 2006.

RICHTER, R.; REUß VON, S.H.; KÖNIG, W.A. Spirocyclopropane-type sesquiterpene hydrocarbons from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Phytochemistry**. v.71, p.1371-1374, 2010.

ROVEDA, L.M.; FORMAGIO, A.S.N.; BALDINIA, D.S.; SANTOS, L.A.C.; VIEIRA, M.C.; CARDOSO, C.A.L.; FOGGIO, M.A.; CARVALHO, J.E.; FORMAGIO NETO, F. Composição química e avaliação da atividade antitumoral do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). 10º SIMPÓSIO BRASIL-JAPÃO, 2010.

RUIZ, A.R.; LA TORRE, R.A.; ALONSO, N.; VILLAESCURA, A.; BETANCURT, J.; VIZOSO, A. Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation

activity in *Aspergillus nidulans*. **Journal of Ethnopharmacology**. v.52, p.123-127, 1996.

SANTOS ACA, AGOSTINI F, SANTOS PL, SERAFINI LA, MOYNA P, DELLACASSA E 2007. Avaliação química mensal de três exemplares de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Revista brasileira de biociência* 7: (1011-1013).

SANTOS, A.C.A.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L.A.; BUENO, M.; CRIPPA, L.B.; SARTORI, V.C.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.20, p.154-159, 2010.

SANTOS, A.L.R. **Avaliação do sistema conservante em formulação com extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi – Anacardiaceae**. 2007. 112p. (Mestrado – área de concentração em Ciências Farmacêuticas) Centro de Ciências da Saúde, Universidade federal do Rio Grande do Norte, Natal.

SANTOS, E.B.; DANTAS, G.S.; SANTOS, H.B.; DINIZ, M.F.F.M.; SAMPAIO, F.C. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.19. p.321-324, 2009.

SANTOS, O.J.; RIBAS-FILHO, J.M.; CZECZKO, N.G.; BRANCO NETO, M.L.C.; NAUFEL JR, C.R.; FERREIRA, L.M.; CAMPOS, R.P.; MOREIRA, H.; PORCIDES, R.D.; DOBROWOLSKI, S. Avaliação do extrato de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.21, p.39-45, 2006.

SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R.R.; ALVIANO, C.S.; COSTA, S.S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v.96, p.563-568, 2005.

SILVA, A.B.; SILVA, T.; FANCO, E.S.; RABELO, S.A.; LIMA, E.R.; MOTA, R.A.; DA CÂMARA, C.A.G.; PONTES-FILHO, N.T.; LIMA-FILHO, J.V. Antibacterial active, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Brazilian Journal of Microbiology** v.41, p.158-163, 2010.

SILVA, M.A.; PESSOTI, B.M.S.; ZANINI, S.F.; COLNAGO, G.L.; NUNES, L.C.; RODRIGUES, M.R.A.; FERREIRA, L. Óleo essencial de aroeira-vermelha como aditivo na ração de frangos de corte. **Ciência Rural Online**. 2011.

SILVA, M.A.; PESSOTTI, B.M.S.; ZANINI, S.F.; COLNAGO, G.L.; NUNES, L.C.; RODRIGUES, M.R.A.; FERREIRA, L. Óleo de aroeira-vermelha sobre o desempenho e a morfometria intestinal de frangos de corte. **Ciência Rural** v.40, p.2151-2156, 2010.

SILVA, M.S.; ANTONIOLLI, A.R.; BATISTA, J.S.; MOTA, C.N. Plantas medicinais usadas nos distúrbios do trato gastrointestinal no povoado Colônia Treze, Lagarto, SE, Brasil. **Acta botânica brasileira**. v.20, p.815-829, 2006.

TEIXEIRA EW 2003. **Identificação de espécies vegetais componentes da própolis originária de três regiões de Minas gerais e suas atividades**

biológicas. 2003, 206p. (Doutorado – área de concentração em Entomologia) Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

TIRELLI, A.A.; ALVES, D.S.; CARVALHO, G.A.; SÂMIA, R.R.; BRUM, S.S.; GUERREIRO, M.C. Efeitos de frações tânicas sobre parâmetros biológicos e nutricionais de *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**. v.34, p.1417-1424, 2010.

TONIAL, F. **Atividade antimicrobiana de endófitos e de extratos foliares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira)**. 2010, 138p. (Mestrado – área de concentração em Microbiologia) Departamento de Patologia Básica da Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

VARELA-BARCA, F.N.T.; AGNEZ-LIMA, L.F.; MEDEIROS, S.R.B. Base excision repair pathway is involved in the repair of lesions generated by flavanoid-enriched fractions of pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) stem bark. **Environmental and molecular mutagenesis**. v.48, p.672-681, 2007.

VASCONCELOS, E.A.F.; MEDEIROS, M.G.F.; RAFFIN, F.N.; MOURA, T.F.A.L. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil®200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.15, p.243-249, 2005.