

Taninos da casca do Cajueiro: atividade antimicrobiana

Andréia Vieira Pereira¹, Tatiane Kelly Barbosa de Azevêdo², Severino Silvano dos Santos Higino⁴, Gregório Mateus Santana³, Luiz Fernando Annunziata Trevisan⁴, Sérgio Santos de Azevedo⁴, Mayra Vieira Pereira⁵, Andrea Fernanda Ramos de Paula⁶

¹Aluno (a) do Programa de Pós-graduação em Patologia experimental, Universidade Estadual de Londrina-UEL, Rodovia Celso Garcia 445, Km 380, CEP 86057-970, Londrina, PR. E-mail: andreiavet@hotmail.com

²Aluno (a) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos- CEP: 52171-900, Recife, PE. E-mail: tatiunekellyengenheira@hotmail.com

³Aluno (a) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais UFRRJ, Rodovia BR 465, CEP: 23897-000, Seropédica, RJ. E-mail: gregorioengflorestal@gmail.com

⁴Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFCG/CSTR. Av. Universitária, s/n, Bairro Santa Cecília, CEP: 58708-110. Patos – PB. E-mail: higinoss@hotmail.com; luztre@msn.com

⁵Aluno(a) do Programa Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFPB. Capus I, Av. Cidade Universitária, s/n, CEP: 58059-900. João Pessoa – PB. E-mail: mairayssa@yahoo.com.br

⁶Professor (a) da Escola Técnica de Saúde da UFPB. Capus I, Av. Cidade Universitária, s/n, CEP: 58059-900. João Pessoa – PB. E-mail: fernanda.biologia@hotmail.com

Resumo

Os taninos são tóxicos a muitos organismos inferiores causadores de doenças, como a bactéria *Staphylococcus aureus* que é o mais freqüente agente etiológico da mastite bovina. Este trabalho teve como objetivo determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* das substâncias tânicas isoladas do caule do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn.) sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* de origem bovina. A atividade antimicrobiana *in vitro* da solução tânica extraída do caule do cajueiro foi avaliada, pela determinação da concentração mínima inibitória. Para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) o tanino foi dissolvido de forma seriada em água destilada em concentrações inicial de 500 µg/mL. Os ensaios foram realizados em triplicata. O tanino inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* formando halos que variaram de 10 a 17 mm sendo a CIM de 31,25 µg/mL. Os resultados mostram uma significativa atividade bactericida e bacteriostática de tais linhagens, constituindo um meio medicinal alternativo com atividade anti-infectiva sobre *S. aureus*.

Palavras-chave: Bovinos, Taninos, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

Tannins from the bark of Cashew: antimicrobial activity. The tannins are toxic to many lower organisms that cause diseases such as *Staphylococcus aureus* is the most common etiologic agent of bovine mastitis. This study aimed to determine the *in vitro* antimicrobial activity of tannic substances isolated from the stem of the cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) strains of *Staphylococcus aureus* of bovine origin. The *in vitro* antimicrobial activity of tannin solution extracted from the stem of the cashew tree was evaluated by determining the minimum inhibitory concentration. For determination of MIC, tannin was serially dissolved in distilled water at concentrations initial from 500 µg/mL. Assays were performed in triplicate. Tannin inhibit *Staphylococcus aureus* growth forming halos ranging from 10 to 17 mm with a MIC of 31.25 µg/mL. The results show a significant bacteriostatic and bactericidal activity of these strains, providing an alternative medicine with anti-infective activity against *S. aureus*.

Keywords: Bovines, Tannins, *Staphylococcus aureus*.

Introdução

A mastite, definida como inflamações nas glândulas mamárias, é uma das mais frequentes infecções que acometem o gado

leiteiro, e tem sido relatado como um dos principais entraves na bovinocultura leiteira, no que se refere a perdas econômicas, pela

diminuição na produção e qualidade do leite, elevados custos com mão-de-obra, medicamentos e serviços veterinários, descarte precoce de animais, além de representar risco potencial à saúde pública, devido ao envolvimento de bactérias patogênicas.

Conforme sua manifestação, a mastite pode ser classificada, como clínica, apresentando sinais clínicos evidentes, como edema, aumento da sensibilidade da glândula mamária e aparecimento de grumos ou pus no leite; e subclínica, não demonstra reações macroscópicas detectáveis, porém, apresentam alterações químicas e microbiológicas do leite (Prestes et al. 2003, Vieira et al. 2013), além disso, apresenta prevalência de 15 a 40 vezes maior que a forma clínica, e usualmente precede a mesma (Fontana et al. 2010).

A forma subclínica é transmitida durante a ordenha por microrganismos patogênicos adaptados à glândula mamária, principalmente pelas bactérias do gênero *Streptococcus* como *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberise* também por espécie do gênero *Staphylococcus* como *S. aureus* (Ferreira et al. 2007, Mello-Peixoto et al. 2009; Saeki et al. 2011; Oliveira et al. 2011).

De acordo com Brito et al. (2001), diversos estudos que tratam da susceptibilidade a antimicrobianos de patógenos da mastite bovina no Brasil apontam para um aumento crescente no padrão de resistência, principalmente para *S. aureus*, o agente mais frequentemente isolado.

As infecções por *Staphylococcus aureus* apresenta grande capacidade de penetração na glândula mamária, podendo formar tecido fibroso, formando “bolsões” de bactérias, que limita a ação dos antibióticos, caracterizando a infecção como de longa duração, crônica, baixa taxa de cura, seja espontânea ou por antibióticos (Fonseca & Santos 2007).

A sensibilidade de *S. aureus* aos diferentes antibióticos empregados no tratamento das doenças animais é de grande importância para a medicina veterinária, pois visa fornecer subsídios para a terapia do animal acometido, bem como para todos os animais do rebanho submetidos às mesmas condições de manejo e, portanto, sob os mesmos riscos de infecção (Zafalo et al. 2008).

Segundo Mota et al. (2012), o uso inadequado de antibióticos e desinfetantes, pode promover a resistência das bactérias às

substâncias usadas no controle da mastite. Os estudos de Pribul et al. (2011), apontam o envolvimento do gene *mecA* com a multirresistência bacteriana do *Staphylococcus aureus*. O gene *mecA* foi encontrado em 70% do *Staphylococcus aureus* das amostras colhidas.

Desta forma um conjunto de medidas preventivas e curativas é necessário, em particular a busca de novos agentes antimicrobianos, e este é o papel mais importante dos produtos naturais potencialmente capazes de resolver algumas condições crônicas e constituir excelente alternativa para solucionar o problema da resistência aos antimicrobianos colocados à disposição na prática clínica (Silva et al. 2008).

A planta *Anacardium occidentale* L. pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida popularmente como cajueiro. É originária do Brasil, e utilizada na medicina tradicional, principalmente no nordeste brasileiro com efeitos terapêuticos. Na literatura, encontram-se atividades farmacológicas comprovadas, como sendo o cajueiro uma planta antiinflamatória (Olajide 2004), antidiabética (Barbosa-Filho et al. 2005); inibidor da enzima acetilcolinesterase (Barbosa-Filho et al. 2006) e antimicrobiana (Akinpelu 2001).

Apresenta excelente atividade adstringente, isso ocorre devido à presença natural de tanino, que são compostos fenólicos classificados em condensados e hidrolisáveis, sendo encontrado na casca do caju apenas os taninos condensados (Agostini-Costa et al. 2002). De acordo com Simões (2003), a atividade antimicrobiana apresentada por algumas plantas está diretamente relacionada à presença deste metabolito nas mesmas, possuindo também caráter bactericida.

O objetivo do presente estudo foi determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* das substâncias tânicas isoladas do caule do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn.) sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* de origem bovina.

Material e Métodos

Espécie estudada

As cascas do caule de cajueiro foram coletadas no Núcleo de Pesquisas do Semi-Árido (NUPEÁRIDO), município de Patos, PB, propriedade da Universidade Federal de

Campina Grande (UFCG). Com o intuito de representar a variabilidade genética existente entre e dentre as plantas, de cada espécie amostrada, foram selecionados cinco exemplares, sendo retiradas amostras de cascas em três posições, no tronco (base, meio e topo), nos galhos e nos ramos (diâmetro de até 5,0 cm). Desse modo, a árvore foi integralmente representada.

Preparo das cascas para extração dos taninos

As cascas ao serem retiradas, foram condicionadas em sacos plásticos, para que não houvesse perda de umidade e transportadas para o Laboratório de Tecnologia de Produtos Florestais (LTPF) da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (UFCG/CSTR), Patos, PB. No laboratório, foram tomadas duas amostras de cascas de cada árvore, as quais foram cortadas em fragmentos menores, homogeneizadas, pesadas e secas em estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas, para a determinação do teor de umidade (base seca) das cascas obtidas. Depois dessa operação, as cascas foram secas ao ar e moídas em uma forrageira, para obter um material de menor granulometria.

O material moído foi classificado e utilizou-se o que passou por uma peneira de malha de 2,00 x 2,00 cm. Após essa operação, retiraram-se quatro amostras representativas de cascas de cada espécie. Duas destas foram secas a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas, a fim de avaliar o teor de umidade (base seca) das cascas secas ao ar e as outras foram moídas em moinho do tipo Willey, para obtenção de um material de menor granulometria e mais homogêneo e destinadas à quantificação das substâncias tânicas presentes em cada espécie. O material restante foi utilizado nas extrações de substâncias tânicas para avaliação da atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*.

Extração das substâncias tânicas das cascas

Foram executadas extrações para a quantificação das substâncias tânicas presentes em cada espécie e para a obtenção de taninos onde será avaliada sua atividade antimicrobiana.

Extração para quantificação das substâncias tânicas

Para a quantificação das substâncias tânicas, o material foi classificado e utilizou-se a porção que passou pela peneira de 32 “mesh” e ficou retida na de 60 “mesh”. Em seguida, o material foi homogeneizado, e retiraram-se duas amostras de cada árvore, que foram pesadas e conduzidas à estufa (sob as mesmas condições já descritas) para a determinação do teor de umidade do material e para permitir os cálculos do teor de taninos presentes em cada espécie. Para as extrações, 25g de casca absolutamente seca foram colocadas em um balão de 1000 mL e adicionaram-se, a seguir, 500 mL de água destilada (relação 20:1; v/p). Ao balão foi conectado um condensador de refluxo, e o material foi mantido na temperatura de ebulição da água por duas horas, em uma manta aquecedora.

Após a fervura, o material foi coado em uma peneira de 150 “mesh”, armazenado em garrafas de plástico e conservado em geladeira, a fim de evitar o surgimento de fungos nos extratos. As cascas foram submetidas novamente ao processo de extração, com o intuito de retirar em ao máximo os taninos presentes em cada espécie. Assim a relação final casca: água foi de 1:40. Os extratos obtidos das extrações foram transferidos para um balão volumétrico de 1.000 mL, tendo o volume completado pela adição de água destilada. Após este procedimento, o material foi coado numa flanela e, posteriormente filtrado em cadinho de vidro sinterizado de porosidade 2. Do filtrado obtido, retiram-se três alíquotas de 50 mL. Uma delas foi colocada em um copo becker de 100 mL, e levada à estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas, para a determinação do teor de sólidos totais (TST) presente no extrato. Para as determinações do TST foi empregada a equação a seguir:

$$TST (\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \cdot 100$$

TST = Teor de sólidos totais (%); M1 = Massa inicial (g); M2 = Massa final (g).

As demais alíquotas foram utilizadas para a determinação do teor de taninos condensados (TTC) de cada extrato. Para tanto, foi empregado o método de Stiasny (Guangcheng et al.,1991), com algumas modificações. Assim, para a determinação do TTC, em uma amostra de 100 mL do extrato total foram adicionados 4 mL de formaldeído

(37%) e 1 mL de HCl concentrado. Assim, para a determinação do TTC, em uma amostra de 100 mL do extrato total adicionaram 4 mL de formaldeído (37%) e 1 mL de HCl concentrado. O material foi aquecido, sob refluxo durante 30 minutos. Nessa condição, os taninos formaram complexos insolúveis, que foram separados por filtragem simples ao empregar filtro de papel. Após a filtragem, o material foi transferido para um copo Becker de 250 mL e seco a $103 \pm 2^\circ\text{C}$, por 24 horas. Após a secagem, calculou-se o Índice de Stiasny, conforme equação a seguir:

$$TTC (\%) = \frac{TST \cdot I}{100}$$

I = Índice de Stiasny (%); M1 = Massa de sólidos em 100 mL de extrato; M2 = Massa do precipitado taninos – formaldeído.

Após a obtenção do Índice de Stiasny foi calculado o teor de taninos condensados (TTC), conforme a Equação a seguir:

$$I (\%) = \left(\frac{M_2}{M_1} \right) \cdot 100$$

TTC = Teor de taninos condensados (%); TST = Teor de sólidos totais (Equação 1); I = Índice de Stiasny (Equação 2).

Todas as análises foram realizadas em duplicatas.

Extrações das substâncias tânicas para avaliação da atividade antimicrobiana

As substâncias tânicas foram extraídas de acordo com a metodologia de Paes, et al. (2006), para avaliação da atividade antimicrobiana.

Aquisição das amostras de Staphylococcus aureus de origem bovina.

Os isolados clínicos foram coletados de bovinos em fase de lactação, infectadas naturalmente, a coleta das amostras foi realizada após lavagem da teta com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção do óstio do teto, utilizando-se álcool etílico a 70° GL. Coletou-se aproximadamente 5 ml de leite por quarto mamário, de maneira asséptica, com tubo inclinado na posição horizontal (BOUCHOT et al., 1985). Estas amostras foram armazenadas em tubos rosqueados estéreis, identificados e enviados sob refrigeração em caixas de material isotérmico,

para a realização do exame microbiológico, e identificação do *Staphylococcus aureus*, além das amostras clínicas, foi também utilizado amostras padrão de ATCC 29213, no Laboratório de Genética e Microbiologia da Universidade Federal da Paraíba- CCEN, onde foram processadas.

Determinação da Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana em placas foi determinada pelo método de difusão em meio sólido para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). A CIM é considerada a menor concentração das substâncias que inibi visivelmente o crescimento bacteriano. Foram feitos orifícios de 6 mm de diâmetro e preenchidos com 50µL do pó tânico diluído em água destilada, para as concentrações 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 e 1:64 para a determinação da atividade antimicrobiana do tanino. A concentração inicial de tanino para diluição seriada foi de 50 µg/mL. Estas placas foram mantidas na estufa a 37° C por 24 horas, em que foi considerada como CIM a menor concentração da droga que inibiu completamente o crescimento bacteriano (CLSI, 2010). O controle negativo consistiu de uma sequência de diluições seriadas de gentamicina na concentração de 40 µg/mL. A leitura das placas levou em consideração a presença ou ausência de halos.

Análise estatística

Para a comparação da atividade antimicrobiana entre as diferentes concentrações da substância tânica, foi utilizado o teste de Friedman (ZAR, 1999), com nível de significância de 5%, utilizando o programa SPSS for Windows versão 13.0.

Resultados e Discussão

A atividade antimicrobiana da solução tânica do cajueiro sobre as amostras de *S. aureus* estudadas foram conduzidas avaliando-se a determinação da CIM, determinada com base nos diâmetros dos halos de inibição. Dados que se assemelham aos de Pereira (2009), onde seu experimento com o extrato da Jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) apresentou atividade biológica efetiva, nas diluições 1:1; 1:2; 1:4; 1:8 e 1:16, sendo considerado a CIM = 3,125 µg/mL.

Observamos sensibilidade das

amostras ensaiadas em baixas concentrações da solução tânica, halos de inibição que variaram de 10 a 17 mm com uma proporcionalidade entre diminuição do

diâmetro dos halos de inibição e a diminuição da concentração (Tabela 1), com diferença significativa entre as médias das diferentes concentrações ($p < 0,001$).

Tabela 1: Concentração Inibitória Mínima da solução tânica do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn.) amostras de *Staphylococcus aureus* bovinas.

Linhagens Bacterianas	Diluições						
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	16	15	13	12	11	0	0
<i>S. aureus</i> 1	16	14	12	11	10	0	0
<i>S. aureus</i> 2	17	15	13	12	11	10	0
<i>S. aureus</i> 3	15	13	12	12	11	10	0
Média	16	14,25	12,5	11,75	10,75	5	0

Ao extrato do *Anacardium occidentale* Linn, cajueiro, são atribuídas diversas propriedades farmacológicas, tais como: antitussígeno, antissifilítico, diurética e cicatrizante, sendo uma das plantas mais citadas com atividade antimicrobiana relevante sobre o *Staphylococcus aureus* no período de 1998 a 2012, as quais apresentaram halos menores que 20 mm (Santos & Alves 2012). Estudos sobre o efeito antiinflamatório do extrato da casca do cajueiro foram atribuídos à presença de taninos, que demonstraram atividade em ambos os modelos de inflamação aguda e crônica (Mota 1982). Os taninos são muito utilizados no curtimento de couro pela sua capacidade antimicrobiana e adstringente, sendo encontrado na casca do *Anacardium occidentale* 19,83% de teor de taninos condensados (TTC), embora Paes et al. (2006), tenham observado que mesmo apresentando alto índice de TTC, os taninos de *A. occidentale* não foi eficaz no curtimento de peles de caprinos e ovinos.

Losqui et al. (2007) avaliaram a atividade microbicida do tanino do *Pilocarpus jaborandi* Holmes sobre microrganismos enteropatogênicos da espécie *Escherichia coli*, não sendo observada inibição do crescimento bacteriano após a exposição levando o mesmo a concluir que a presença de taninos na planta ocorreu em concentrações não suficientes para exercer o efeito bactericida deste metabólito secundário. Também Rodrigues et al. (2014), avaliaram a atividade antimicrobiana de

taninos de *Psidium guineense* sobre amostras de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, encontrando CIM= 256 µg/mL. O que não corrobora com os resultados obtidos em nossa pesquisa, em que encontramos a CIM = 3,125 µg/mL, ou seja é preciso uma concentração maior de taninos de *A. occidentale* para promover a atividade antimicrobiana.

Nossos dados corroboram com Ferreira et al (2012) que afirmam que os taninos podem atuar com um antibiótico natural, podendo este ser utilizado em combinação com outros fármacos para aumentar eficiência destes. De acordo com Loguercio et al. (2005) o mecanismo de ação antimicrobiana dos taninos explica-se por três hipóteses; a primeira pressupõe que os taninos inibem enzimas bacterianas e fúngicas e/ou se complexam com os substratos dessas enzimas; a segunda inclui a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando seu metabolismo e, a terceira fundamenta-se na complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano (Scalbert 1991).

Conclusão

Os resultados obtidos indicam a importante significância clínica de se avaliar meios alternativos e economicamente viáveis para o controle de infecções em Medicina

Veterinária. Neste contexto, podemos concluir que a solução tânica isolada da casca do cajueiro apresenta atividade antibacteriana *in vitro* sobre linhagens de *S. aureus* resistentes ou sensíveis a antibióticos sintéticos, o que sugere a utilização dessas substâncias nas indicações terapêuticas em Medicina Veterinária.

Referências

- AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, M. V.; LIMA, A.; AGUIAR, M. J.; LIMA J. B.; PAIVA J. Tanino em pedúnculos de caju: efeito de algumas variações genéticas e climáticas. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (B. CEPPA)**, v. 20, n. 2, p. 226-278, 2002.
- AKINPELU, D. A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**, v 72, p 286-287, 2001.
- BARBOSA-FILHO, J.M.; MEDEIROS, K.C.P.; DINIZ, M.F.F.M.; BATISTA, L.M, ATHAYDE-FILHO, P.F.; SILVA, M.S; CUNHA, E.V.; LALMEIDA, J.R.G.S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 16, p. 258-285, 2006.
- BARBOSA-FILHO, J.M.; VASCONCELOS, T.H.C.; ALENCAR, A.A.; BATISTA, L.M.; OLIVEIRA, R.A.G.; GUEDES, D.N.; FALCÃO, H.S.; MOURA, M.D.; DINIZ, M.F.F.M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n 15, p 392-413, 2005.
- BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; SILVA, M.A.S.; CARMO, R.A. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *S. aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p.10-17, 2001.
- FERREIRA P.R.B.; MENDES C.S.O.; RODRIGUES C.G.; ROCHA J.C.M.; ROYO V.A.; VALÉRIO H.M.; OLIVEIRA D.A. Antibacterial activity tannin-rich fraction from leaves of *Anacardium humile*. **Cienc. Rural**, v.42, p.1862-1863, 2012.
- FERREIRA, J. L.; LINS, J. L. F. H. A.; CAVALCANT, T. V.; MACEDO, N. A.; BORJAS, A. R. Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 2, p. 261-266, abr./jun. 2007.
- FONSECA, L. F. L., SANTOS, M. V. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri,SP, Manole, Pirassununga,SP, Ed. dos autores, 2007. p 163-171.
- FONTANA, V. L. D. S.; GIANNINI, M. J. S. M.; LEITE, C. Q. F.; MIRANDA, E. L.; ALMEIDA, A. M. F.; FONTANA, C. A. P.; SOUZA, C. M.; STELLA, A. E. Etiologia da mastite bovina subclínica, sensibilidade dos agentes às drogas antimicrobianas e detecção do gene da β -lactamase em *Staphylococcus aureus*. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 17, n. 4, p. 552-559, dez. 2010.
- MELLO-PEIXOTO, E. C. T.; PELANDA, A. G; RADIS, A. C; HEINZEN, E. L.; ARCIA, R. G.; VALÉRIO, A.P. Incidência de mastite bovina em animais homeopatizados. **Instituto Laticínio Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 64, n. 368, p. 66-71, mar-jun. 2009.
- MOTA, R.A.; MEDEIROS, E.S.; SANTOS, M.V.; PINHEIRO-JUNIOR, J.W.; MOURA, A.P.B.L.; COUTINHO, L.C.A. Participação dos *Staphylococcus* spp na etiologia das mastites e bovinos leiteiros no estado de Pernambuco (Brasil). **Revista Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.1, p. 124-130, Goiânia, jan./mar. 2012.
- OJEWOLE, J.A. Potentiation of the anti-inflammatory effect of *Anacardium Occidentale* (Linn) stem bark aqueous extract by grape fruit juice. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, n 26, v3, p 183-8, 2004.
- OLIVEIRA, C. M. C.; SOUZA, M. G. S.; SILVA, N. S.; MENDONÇA, C. L.; SILVEIRA, J. A. S.; OAIGEN, R.P.; ANDRADE, S.J.T.; BARBOSA, J.D. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.2, p.104-110, fev. 2011.
- PAES, J.B.; MARINHO, I.V.; LIMA, R.A.; LIMA, C.R.; AZEVEDO, T.K.B. Viabilidade técnica dos taninos de quatro

- espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro no curtimento de peles. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 4, p. 453-462, 2006.
- PRESTES, D. S.; FILAPPI, A.; CECIM, M. Susceptibilidade à mastite: fatores que a influenciam – uma revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.9, n.1, p. 48-59, 2003.
- PRIBUL, B.R.; PEREIRA, I.A.; SOARES, L.C.; COELHO, S.M.O.; BARBERIS, I.L.; PASCUAL, L.; SOUZA, M.M.S. Resistência bacteriana e ação das bacteriocinas de *Lactobacillus spp* em *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 3, jun, 2011.
- RODRIGUES, C.G.; FERREIRA P.R.B.; OLIVEIRA C.S.M.; JÚNIOR R.R.; VALÉRIO H.M.; BRAMDI I.V.; OLIVEIRA D.A. Antibacterial activity of taninins from *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae). **Journal of Medicinal Plant Research**, v.8, p.1-5, 2014.
- SAEKI, E. K.; MELLO-PEIXOTO, E. C. T.; MATSUMOTO, L. S.; MARCUSSO, P. F.; MONTEIRO, R. M. Mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: sensibilidade às drogas antimicrobianas e ao extrato alcoólico de própolis. **Acta Veterinária Basílica**, Brasília, v. 5, n. 3, p. 284-290, nov. 2011.
- SANTOS S.J.D. & ALVES F. Análise comparativa da ação de extratos de plantas com atividade antimicrobiana (in vitro) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. **Periódico científico do núcleo de Biociências**, v.02, n.04, p. 12-19, 2012.
- SILVA, M. A. R.; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. P.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V. Antibiotic activity of the extract of *Punica granatum* Linn. over bovine strains of *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 34-41, 2008.
- SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETRVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis, 5. ed., Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2003.
- VIEIRA, B. C. R.; LORENZONI, L. S.; SOUZA, M.H.; ALFAIATE, M.B.; XAVIER, T.M.T. Etiologia infecciosa associada à mastite subclínica em bovinos de propriedades rurais no município de Alegre-ES. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.16; p. 1154, 2013.
- ZAFALO, L.F.; ARCARO, J.R.P.; NADER-FILHO, A.; FERREIRA, L.M.; CASTELANI, L.; BENVENUTTO, F. Investigação de perfis de resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados na ordenha de vacas em lactação. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n 2, p 118-125, 2008.