



Avaliação da atividade antimicrobiana da tintura e pomada de *Ruta graveolens* (Arruda) sobre bactérias isoladas de feridas cutâneas em cães⁶

[Evaluation of antimicrobial activity of *Ruta graveolens* (Garden Rue) tincture and ointment on bacteria isolated in cutaneous wounds of dogs]

"Nota/Note"

ZF Mendes^{A(*)}, ER Lima^B, ES Franco^B, RA Oliveira^B, GAS Aleixo^B,
VL Monteiro^B, RA Mota^C, MCOC Coelho^B

^AMédica Veterinária autônoma. Av. Engenheiro Domingos Ferreira, 4333/404, Boa Viagem, 51021040 Recife-PE/Brasil.

^BSetor de Cirurgia Experimental da Área de Clínica do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife-PE/Brasil.

^CLaboratório de Bacterioses da Área de Medicina Veterinária Preventiva do DMV da UFRPE.

Resumo

A *Ruta graveolens* (Arruda) possui várias substâncias bioativas como os alcalóides, ácidos orgânicos, alantoína, saponinas triterpênicas, mucilagem e tanino, substâncias essas que possuem efeitos analgésico, antiinflamatório e antimicrobiano. Em vista do exposto, esta pesquisa teve como objetivo identificar as bactérias mais frequentes em feridas cutâneas de cães e avaliar a atividade antimicrobiana da tintura e pomada de *Ruta graveolens* frente às bactérias isoladas. O estudo foi dividido em duas etapas: na primeira foram isoladas e identificadas as bactérias mais frequentes, avaliando a atividade antimicrobiana in vitro da tintura de *Ruta graveolens*. Na segunda etapa, a planta foi avaliada sob a forma de pomada quanto ao seu potencial antimicrobiano sobre feridas cutâneas após 48 horas da sua aplicação. *Staphylococcus* sp foi a bactéria mais frequentemente isolada em todas as fases da pesquisa. Observou-se que ocorreu inibição da multiplicação bacteriana na primeira fase em 100% das bactérias testadas e na segunda foi obtida uma inibição de 94,12% das bactérias presentes na flora inicial. Conclui-se que a pomada fitoterápica de *Ruta graveolens* é uma opção terapêutica na Medicina Veterinária, tendo em vista sua atividade antimicrobiana in vitro para o tratamento de feridas cutâneas infectadas em cães.

Palavras-chave: bactérias, canino, pele, fitoterapia.

Abstract

The *Ruta graveolens* (Garden Rue) has bioactive substances such as alkaloids, organic acids, allantoin, triterpenic saponins, mucilage and tannin, which have analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial effect. Based on the information exposed, this research aimed to identify the most frequent bacteria in dogs' cutaneous wounds and evaluate the antimicrobial activity of *Ruta graveolens* tincture and ointment over the isolated bacteria. The study was divided in two phases: in the first, were isolated and identified the most frequent bacteria evaluating the in vitro antimicrobial activity of *Ruta graveolens* tincture on them. In the second phase, it was evaluated the antimicrobial potential of an ointment of the same plant on cutaneous wounds after 48 hours of its use. *Staphylococcus* sp was the most frequent bacterium isolated in all research phases. In the first phase was observed an inhibition of 100% in bacterial growth of testing bacteria and in the second phase was observed an inhibition of 94.12% of the bacteria present in the initial flora. It is concluded that *Ruta graveolens* ointment is a therapeutic option in veterinary medicine, in light of its antimicrobial activity in vitro for the treatment of infected skin wounds in dogs.

Key-words: bacterium, canine, skin, phytotherapy.

⁶Trabalho extraído da Dissertação de Mestrado da primeira autora apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da UFRPE.

(*) Autora para correspondência/Corresponding author (mcocc@yahoo.com).

(§) Recebido em 14/05/08 e aceito em 05/08/08.

Introdução

A utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. No início da década de 1990, a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou que entre 65 e 80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais, como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AKERELE, 1993).

Com a célebre frase “*As plantas medicinais brasileiras não curam apenas, fazem milagres*”, Von Martius definiu bem a capacidade das ervas medicinais. Na opinião de alguns autores, é bem provável que das cerca de 200.000 espécies vegetais que possam existir no Brasil, pelo menos, a metade tenha alguma propriedade terapêutica útil à população, entretanto nem 1% dessas espécies foi motivo de estudos adequados (MARTINS, 1995).

A *Ruta graveolens*, conhecida popularmente como Arruda, é cultivada em todo o Brasil e na medicina popular, supostamente, apresenta ação cicatrizante, antiinflamatória, anti-reumática e anti-ulcerogênica. O extrato bruto das folhas é indicado para cicatrização de feridas e com ele é possível produzir pomada usando vaselina, lanolina ou qualquer outra substância gordurosa para maior eficácia na absorção dos princípios ativos (CÂNDIDA, 2003).

A Arruda é uma planta de existência longa que se renova a cada ano, suas folhas verde claro, contrastam com o amarelo-ouro de suas flores em ramallete dotadas de quatro pétalas, com exceção da flor central, que possui cinco pétalas. Os frutos têm a forma de cápsulas arredondadas. Na composição das folhas são encontrados princípios amargos, resina, goma, matérias tânicas, um glucosídeo denominado rutina (OLIVEIRA, 2006), alcalóides (núcleo pirrolizidina), ácidos orgânicos, alantoína, saponinas triterpênicas, mucilagem e tanino. A alantoína é responsável pelo efeito cicatrizante e adstringente por estimular a formação do

tecido de granulação. A mucilagem contribui para o efeito emoliente (CÂNDIDA, 2003).

O tanino e compostos fenólicos vêm sendo amplamente reconhecidos por possuírem alto potencial antibiótico. Tal afirmação encontra respaldo ao se confirmar o uso de plantas medicinais ricas em polifenóis para obtenção de efeito anti-séptico (KOŁODZIEJ et al., 1999). Podendo desta forma, serem utilizados no controle da população bacteriana patogênica encontrada nas feridas cutâneas em cães.

O estudo dos prováveis efeitos fitoterápicos da *Ruta graveolens* no que se refere a sua ação antimicrobiana vem enriquecer o arsenal fitoterápico, podendo ser utilizado na Medicina Veterinária. Assim sendo, esta pesquisa teve como objetivo identificar as bactérias mais frequentes em feridas cutâneas de cães e avaliar a atividade antimicrobiana da tintura e pomada de *Ruta graveolens* frente às bactérias isoladas.

Material e Métodos

Esta pesquisa foi realizada no período de janeiro a novembro de 2006 no Hospital Veterinário e Laboratório de Bacterioses do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Os animais da pesquisa eram da espécie canina com raça, idade e sexo variados, sendo provenientes do atendimento ambulatorial do Hospital Veterinário, apresentando como queixa principal a presença de lesão cutânea.

O experimento compreendeu duas etapas distintas. Na primeira foram utilizados cinco animais, dos quais se coletou material biológico das lesões cutâneas de origem ignorada para avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana da tintura de *Ruta graveolens*, frente às bactérias isoladas. Na segunda, foram utilizados dez animais, dos quais se coletou material biológico das lesões cutâneas em dois tempos, sendo um deles antes de qualquer procedimento de anti-sepsia e o outro após 48 horas da utilização da pomada de *Ruta graveolens*. Coletou-se material

biológico do centro da lesão utilizando-se “swab” estéreis que foram armazenados em tubos de ensaio e rapidamente encaminhados ao laboratório para serem isoladas e identificadas à flora bacteriana local.

As bactérias isoladas e identificadas foram submetidas ao teste *in vitro* de avaliação da atividade antimicrobiana frente a diferentes concentrações da tintura de *Ruta graveolens*. Os inóculos foram padronizados utilizando caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) na escala 0,5 de MacFarland que corresponde aproximadamente 10^8 UFC/mL. Nesta fase do experimento foram testadas quatro concentrações da tintura de *Ruta graveolens* que corresponderam a 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , respectivamente. Para a concentração 10^0 Tintura Mãe (TM) foi utilizada a tintura da *Ruta graveolens* sem diluição, utilizando-se 1 μ L desta solução em contato com 1 μ L do inóculo em caldo BHI.

Nos demais tubos foi realizada uma prévia diluição da tintura de *Ruta graveolens* em 0,9 mL de caldo BHI, o qual foi posto em contato em 0,1 mL do inóculo. Os tubos foram incubados a 37°C em estufa bacteriológica por até 48 horas e, posteriormente, alíquotas foram repicadas em ágar sangue e novamente incubadas para verificar o crescimento bacteriano.

Na segunda etapa foram utilizados dez cães apresentando feridas cutâneas, nos quais foi aplicada a pomada de *Ruta graveolens* manipulada em farmácia, na concentração de TM para avaliar sua atividade antimicrobiana *in vivo*.

Esta etapa foi subdividida em duas fases com objetivos de identificar as bactérias presentes nas feridas cutâneas no momento do atendimento (T_0) e identificar as bactérias presentes nas feridas cutâneas 48 horas após a aplicação da pomada de *Ruta graveolens* (T_1).

Os animais foram clinicamente examinados e suas feridas foram avaliadas coletando material das lesões através de “swab” (T_0). Em seguida, realizou-se a antiseptia utilizando clorexidine a 2% e a lavagem com solução fisiológica de NaCl 0,9% e, quando necessário, foi feito

debridamento do tecido desvitalizado. Posteriormente à limpeza, procedeu-se à secagem da ferida com gazes estéreis. A área cruenta foi preenchida pela pomada de *Ruta graveolens* e a ferida foi recoberta com curativo oclusivo. O proprietário foi orientado a não retirar o curativo até o retorno do animal, marcado para 48 horas, quando o animal era submetido à nova coleta de material por meio de “swab”, friccionado à ferida imediatamente após a retirada do curativo (T_1).

Para ambas as fases da pesquisa, os “swab” foram semeados em ágar sangue e ágar levine, os quais foram incubados a 37°C por 48 horas em condições de aerobiose. Após o período de incubação, as colônias isoladas foram submetidas à identificação, utilizando-se inicialmente o método de Gram.

As bactérias Gram positivas foram identificadas presuntivamente pelas características das colônias, hemólise em ágar sangue e pelo aspecto morfotintorial apresentado à técnica do Gram. As bactérias Gram negativas foram classificadas a partir de suas características bioquímicas nos testes de Citrato, Lisina Descarboxilase, Ágar Tríplice Ferro e Açúcar (TSI), Vermelho de Metila (VM), Voges-Proskauer (VP), Produção de Indol, Urease e Motilidade.

Os resultados foram analisados através da estatística descritiva.

Resultados e Discussão

Na primeira fase do estudo foram identificados e isolados 14 representantes bacterianos Gram positivos e negativos. As bactérias isoladas foram o *Staphylococcus* sp (21,46%), *Streptococcus* sp (14,28%), *Proteus* sp (14,28%) e *Escherichia coli* (14,28%), concordando com Wilkinson e Harvey (1996), citado por Monteiro et al. (2001) e Lucas et al. (2005) que identificaram os mesmos gêneros bacterianos em infecções cutâneas de cães.

A tintura de *Ruta graveolens* nas concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} e de 10^{-3} não apresentou efeito inibitório na multiplicação das bactérias Gram positivas e Gram negativas isoladas neste estudo.

Provavelmente, estes resultados ocorreram devido às diluições utilizadas que foram consideradas muito baixas para inibir a multiplicação bacteriana. No entanto, todos os isolados foram inibidos quando se utilizou a *Ruta graveolens* na concentração 1:1.

Na segunda fase do estudo, os animais apresentaram feridas causadas por acidente automobilístico (5/10), mordeduras (4/10) e fistulas após aplicação de medicamento (1/10).

Nesta etapa, foram isolados e identificados 17 microrganismos Gram

positivos e negativos. Dentre as bactérias, foram identificadas *Staphylococcus* sp (28%), *Corynebacterium* sp (12%), *Shigella* sp (12%), *Pseudomonas* sp (12%), *Bacillus* sp (12%), *Arizona* sp (6%), *Citrobacter freundii* (6%), *Klebsiella pneumoniae* (6%) e *Streptococcus* sp (6%) (Figura 1).

A presença de bactérias transitórias, como enterobactérias e microrganismos ambientais, foram possivelmente detectadas pelo hábito dos animais em se deitar no chão e terem contato com fezes, favorecendo o aparecimento destas bactérias.

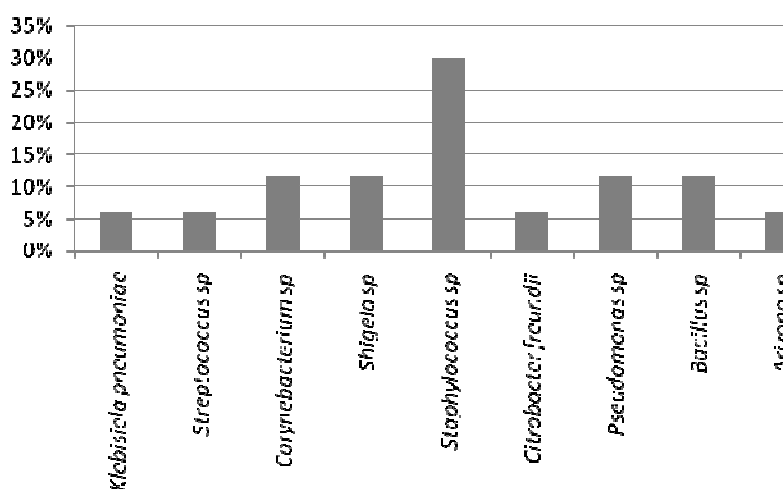


Figura 1. Frequência de bactérias isoladas em feridas de cães no T₀.

A bactéria isolada com maior frequência nas feridas estudadas no T₀ foi a *Staphylococcus* sp. Lucas et al. (2005) relataram ser este um microrganismo da microbiota residente da pele que tem mais facilidade de multiplicação por alterações populacionais de outras bactérias.

No T₁ foram isoladas e identificadas 13 amostras bacterianas representadas por microrganismos Gram positivos e negativos (Figura 2). Dentre as amostras testadas, houve uma inibição de 94,12% das bactérias presentes na flora inicial, sendo 2/10 com inibição total (100%) da multiplicação

bacteriana observada até 48 horas em cultura microbiológica. Este resultado ocorreu pela ação antimicrobiana característica da planta, como relatado por Kolodziej et al. (1999) e Cândida (2003), sendo compatível aos resultados obtidos na primeira fase da pesquisa, quando a tintura de *Ruta graveolens* foi testada na proporção de 1:1 e inibiu a multiplicação das bactérias (100%) em estudo.

Foi observado neste experimento, o crescimento de outros gêneros bacterianos, provavelmente devido à recontaminação da ferida com bactérias presentes no ambiente.

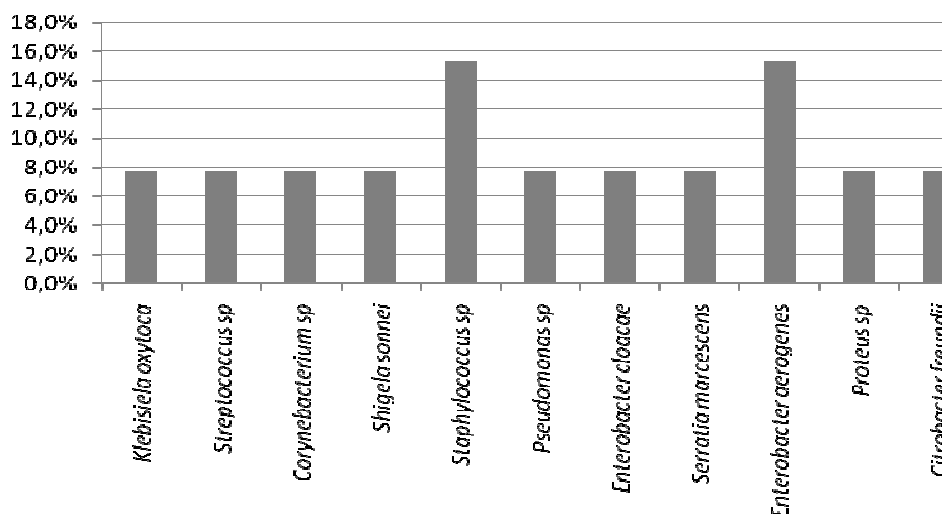


Figura 2. Frequência de bactérias isoladas de feridas cutâneas em cães (T₁) após 48 horas utilizando a pomada de *Ruta graveolens*.

No T₁ as bactérias encontradas (69,23%) pertenciam à família das Enterobacteriaceae, sendo permissível comentar que sua presença esteja relacionada, possivelmente, à contaminação com material fecal devido aos hábitos inerentes dos animais em se lamberem. Os 30,77% restantes fazem parte da flora cutânea, entretanto, como já mencionada, a *Ruta graveolens* possui um amplo espectro de ação antimicrobiana como verificada na primeira fase deste experimento.

Conclusão

A pomada fitoterápica *Ruta graveolens* é uma opção terapêutica na Medicina Veterinária, tendo em vista sua atividade antimicrobiana *in vitro* para o tratamento de feridas cutâneas infectadas em cães.

Referências

AKERELE, O. Summary of WHO Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines. **Herbal Gram**, n.28, p.13-16, 1993.

CÂNDIDA, M. **Revista diversa**, v.27, dezembro / janeiro 2003. Belo Horizonte, MG: Universitária, UFMG. 2003-. Anual. Disponível em: <www.ufmg.br/diversa.htm>.

Acesso em: 10 jan. 2007.

KOŁODZIEJ, H. et al. Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution broth method. **Planta Médica**, n.65, p.444-446, 1999.

LUCAS, R. et al. Manejo terapêutico das piодermites: aspectos clínicos, etiológicos e terapêuticos. **Veterinary News**, ano 12, n.12, p.14, 2005.

MARTINS, E.R. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 1995. 220p.

MONTEIRO, V.L.C.M. et al. Anti-sepsia de pele de cães utilizando-se clorhexidina a 2%, povidine a 10% e álcool a 5%. **Ciência Animal**, v.11, n.1, p.7-12, 2001.

OLIVEIRA, A.L.T.T.L. **Ruta graveolens L. (Arruda)**. Curitiba, 2006. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/monografia_ruta_graveolens.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2007.

WILKINSON, T.G.; HARVEY, R.G. **Atlas de Dermatologia dos Pequenos Animais-Guia de Pequenos Diagnósticos**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1996. p.89-108.