



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

VICTÓRIA GABRIELLY LINHARES DELGADO

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DE EXTRATOS DE *Cannabis sativa*
NO CONTROLE DE PATÓGENOS INTRAMAMÁRIOS**

AREIA

2026

VICTORIA GABRIELLY LINHARES DELGADO

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DE EXTRATOS DE *Cannabis sativa* NO
CONTROLE DE PATÓGENOS INTRAMAMÁRIOS**

Trabalho de Conclusão de Curso em
Medicina Veterinária da Universidade
Federal da Paraíba, como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em Medicina
Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Artur Cezar de Carvalho
Fernandes

**AREIA
2026**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

D352p Delgado, Victória Gabrielly Linhares.

Potencial terapêutico de extratos de Cannabis sativa
no controle de patógenos intramamários / Victória
Gabrielly Linhares Delgado. - Areia:UFPB/CCA, 2026.
28 f. : il.

Orientação: Artur Cezar de Carvalho Fernandes.
TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Medicina veterinária. 2. Canabidiol. 3.
Canabigerol. 4. Delta-9-tetrahydrocannabinol. 5. Difusão
em disco. 6. Ruminantes leiteiros. I. Fernandes, Artur
Cezar de Carvalho. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(02)

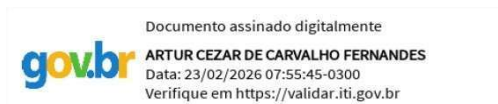
VICTORIA GABRIELLY LINHARES DELGADO

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DE EXTRATOS DE *Cannabis sativa* NO
CONTROLE DE PATÓGENOS INTRAMAMÁRIOS**

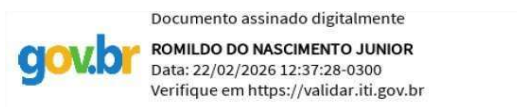
Trabalho de Conclusão de Curso em
Medicina Veterinária da Universidade
Federal da Paraíba, como requisito
parcial à obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovado em: 20/02/2026.

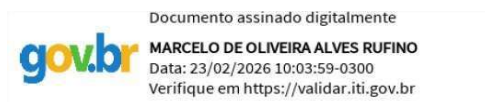
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr.: Artur Cezar de Carvalho Fernandes (Orientador)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



M. V.: Romildo do Nascimento Júnior
Graduado - Universidade Federal da Paraíba
(UFPB)



Dr.: Marcelo de Oliveira Alves Rufino
Pós-doutorando - Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

RESUMO

A mastite é uma das principais enfermidades da pecuária leiteira, frequentemente associada a bactéria do gênero estafilococos e agravada pelo aumento da resistência antimicrobiana. Diante desse cenário, avaliou-se a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de *Cannabis sativa* contra cepas de *Staphylococcus aureus* (bovinas e caprinas), *Staphylococcus chromogenes* (bovina) e *Staphylococcus caprae* (caprina), isoladas de rebanhos da Paraíba. O ensaio foi conduzido pelo método de difusão em disco (Kirby–Bauer), utilizando extratos ricos em canabidiol (CBD) e delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), canabigerol (CBG) isolado e combinações (CBD:CBG, THC:CBG, THC:CBD) entre eles, os extratos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) para alcançar a concentração de 30 mg/mL e posteriormente foram diluídos com tampão fosfato salino (PBS) para atingir a concentração de 3 mg/mL, logo após foi realizada a diluição seriada na escala de 1:3, atingindo as concentrações de 3,0 a 0,01 mg/mL, com leituras em 6, 12, 24 e 48 horas. Observou-se efeito dependente da concentração e do tempo de exposição aos extratos, com aumento significativo da atividade a partir de 12 horas e estabilização posterior, com concentração ideal acima de 1,0 mg/mL. Entre os tratamentos, a combinação CBD:CBG apresentou maior média de zona de inibição, superando os extratos isolados. As cepas de origem bovina demonstraram maior sensibilidade em comparação às caprinas, com *S. caprae* demonstrando maior resistência. Conclui-se que os fitocanabinoides, especialmente em formulações combinadas e na concentração de 1,0 mg/mL, apresentam potencial antimicrobiano promissor contra estafilococos associados à mastite, indicando possibilidade de aplicação futura como alternativa ou adjuvante terapêutico.

Palavras-Chave: canabidiol; canabigerol; delta-9-tetrahydrocannabinol; difusão em disco; ruminantes leiteiros.

ABSTRACT

Mastitis is one of the main diseases affecting dairy production, frequently associated with bacteria of the genus *Staphylococcus* and aggravated by increasing antimicrobial resistance. In this context, the *in vitro* antimicrobial activity of *Cannabis sativa* extracts was evaluated against strains of *Staphylococcus aureus* (bovine and caprine), *Staphylococcus chromogenes* (bovine), and *Staphylococcus caprae* (caprine), isolated from herds in the state of Paraíba, Brazil. The assay was performed using the disk diffusion method (Kirby–Bauer), employing extracts rich in cannabidiol (CBD) and delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), isolated cannabigerol (CBG), and their combinations (CBD:CBG, THC:CBG, THC:CBD). The extracts were initially diluted in dimethyl sulfoxide (DMSO) to obtain a concentration of 30 mg/mL and subsequently diluted in phosphate-buffered saline (PBS) to reach 3 mg/mL. Serial dilutions at a 1:3 ratio were then performed, resulting in concentrations ranging from 3.0 to 0.01 mg/mL, with inhibition zone readings taken at 6, 12, 24, and 48 hours. A concentration- and time-dependent effect was observed, with a significant increase in antimicrobial activity after 12 hours, followed by stabilization, and optimal activity at concentrations above 1.0 mg/mL. Among the treatments, the CBD:CBG combination showed the highest mean inhibition zone, outperforming the isolated extracts. Bovine-origin strains demonstrated greater susceptibility compared to caprine strains, with *S. caprae* showing the highest resistance profile. It can be concluded that phytocannabinoids, particularly in combined formulations and at concentrations ≥ 1.0 mg/mL, exhibit promising antimicrobial potential against staphylococci associated with mastitis, indicating possible future application as alternative or adjunct therapeutic agents.

Keywords: cannabidiol; cannabigerol; dairy ruminants; delta-9-tetrahydrocannabinol; disk diffusion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 — Evolução temporal do efeito antibacterianos dos extratos de <i>C. sativa</i>	18
Figura 2 — Perfis de sensibilidades bacterianas em função da concentração do extrato de <i>C. sativa</i>	19
Figura 3 — Interação entre as concentrações dos extratos de <i>C. sativa</i> , suas zonas de inibição e cepas bacterianas.....	19
Figura 4 — Interação entre os extratos de <i>C. sativa</i> de acordo com o tempo, com os valores representando as zonas de inibição médias (mm)	20
Figura 5 — Interação entre os extratos de <i>C. sativa</i> e as bactérias, com os valores representando as zonas de inibição médias (mm)	20
Figura 6 — Efeito das diferentes concentrações de <i>C. sativa</i> ao longo do tempo	21
Figura 7 — Curvas de dose-resposta para cada extrato de <i>C. sativa</i> de acordo com as zonas de inibição.....	21
Figura 8 — Zona de inibição média de acordo com o extrato de <i>C. sativa</i> e sua concentração	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBD	Canabidiol
CBG	Canabigerol
THC	Delta-9-tetrahidrocanabinol
mg/mL	miligrama por mililitro
Mm	Milímetros
SAB	<i>Staphylococcus aureus</i> de origem bovina
SAC	<i>Staphylococcus aureus</i> de origem caprina
SCB	<i>Staphylococcus chromogenes</i> de origem bovina
SCC	<i>Staphylococcus caprae</i> de origem caprina
SNA	<i>Staphylococcus</i> não-aureus

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	Panorama geral sobre os principais impactos da mastite no Brasil	11
2.2	Patógenos Estafilocócicos	11
2.3	Biofilme e o desafio da resistência bacteriana	12
2.4	Potencial farmacológico da <i>Cannabis sativa</i> na medicina veterinária	13
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1	Local do estudo e origem das amostras.....	16
3.2	Preparação das placas bacterianas para o Teste de Difusão em Disco de Kirby-Bauer	16
3.3	Aquisição dos extratos de <i>Cannabis sativa</i>	16
3.4	Preparação das diluições dos extratos de <i>Cannabis sativa</i> para o Teste de Difusão em Disco de Kirby-Bauer	16
3.5	Avaliação das zonas de inibição.....	17
3.6	Análises estatísticas	17
4	RESULTADOS.....	18
5	DISCUSSÃO	23
6	CONCLUSÃO	26
	REFERÊNCIAS.....	27

1. INTRODUÇÃO

A mastite é reconhecida como uma das enfermidades de maior impacto na pecuária leiteira mundial, afetando tanto bovinos quanto pequenos caprinos. Caracterizada por processos inflamatórios da glândula mamária, a doença resulta em perdas econômicas severas decorrentes da redução na produção, descarte de leite contaminado e custos elevados com tratamentos (Azooz *et al.*, 2020). Embora apresente etiologia multifatorial, a doença é predominantemente de origem bacteriana, destacando-se agentes contagiosos como o *Staphylococcus aureus*, fortemente associado a infecções persistentes e elevação da contagem de células somáticas (CCS) (Keefe, 2021).

No contexto da bovinocultura leiteira brasileira, a mastite configura-se como uma das principais enfermidades infecciosas que impactam diretamente a produtividade e a qualidade do leite. Estudos conduzidos no Brasil demonstram elevada ocorrência tanto de mastite clínica quanto subclínica, sendo esta última a forma mais prevalente e economicamente mais custosa, por permanecer muitas vezes sem diagnóstico imediato (Acosta *et al.*, 2016; Busanello *et al.*, 2017). Em levantamento envolvendo ampla população de rebanhos leiteiros brasileiros, Busanello *et al.* (2017) evidenciaram prevalências expressivas de mastite subclínica, reforçando a necessidade de monitoramento sistemático por meio da contagem de células somáticas (CCS) e de programas consistentes de controle. Além disso, Acosta *et al.* (2016) destacam que fatores como manejo inadequado de ordenha, falhas na higienização dos equipamentos e ausência de terapia adequada no período seco contribuem significativamente para a manutenção e disseminação da doença nos rebanhos.

Do ponto de vista etiológico, a mastite bovina é causada predominantemente por bactérias, com destaque para patógenos contagiosos e ambientais. Entre os agentes contagiosos, o *Staphylococcus aureus* permanece como um dos principais responsáveis por infecções persistentes e de difícil erradicação, especialmente em razão de sua capacidade de invasão tecidual e formação de biofilmes (Keefe, 2012; Mello *et al.*, 2020). Paralelamente, os estafilococos não-aureus (ENA), como o *Staphylococcus chromogenes*, têm sido cada vez mais reconhecidos pela sua relevância epidemiológica em vacas leiteiras, particularmente no início da lactação e durante o período seco (De buck *et al.*, 2021; Kurban *et al.*, 2025). Esses agentes, embora historicamente considerados de menor importância, podem estabelecer infecções intramamárias persistentes e contribuir para o aumento da CCS e para perdas produtivas significativas, reforçando a complexidade do

cenário sanitário na mastite bovina.

Na caprinocultura leiteira, atividade de extrema relevância socioeconômica no semiárido paraibano, a mastite assume particular relevância sanitária e produtiva, nos quais a doença frequentemente se manifesta de forma subclínica. Diferentemente do observado em bovinos, a interpretação da CCS em cabras é mais complexa devido à fisiologia da secreção apócrina do leite caprino; ainda assim, infecções intramamárias por estafilococos estão claramente associadas à redução da qualidade do leite, alterações na composição físico-química e diminuição da produtividade (Contreras *et al.*, 2007; Bergonier *et al.*, 2003).

Entre os agentes etiológicos mais relevantes da mastite caprina, o *Staphylococcus aureus* destaca-se por sua elevada capacidade de adaptação ao tecido mamário, formação de biofilmes e persistência no rebanho, sendo isolado tanto em casos clínicos quanto subclínicos. Além disso, espécies de *Staphylococcus* não-aureus (ENA) vêm ganhando importância epidemiológica, especialmente o *Staphylococcus caprae*, reconhecido como patógeno oportunista associado a infecções intramamárias crônicas em cabras leiteiras (Bergonier *et al.*, 2003; Contreras *et al.*, 2003). Paralelamente, em rebanhos bovinos, o *Staphylococcus chromogenes* tem demonstrado relevância crescente, sendo reportado como uma das infecções mais prevalentes no início da lactação em vacas primíparas, associado a infecções persistentes durante o período seco (Kurban *et al.*, 2025). Atualmente, um dos maiores desafios no controle da mastite em ambas as espécies é a capacidade desses patógenos de formarem biofilmes, estrutura que funciona como uma barreira física e biológica que reduz drasticamente a eficácia dos antibióticos convencionais (De buck *et al.*, 2021; Naranjo-Lucena; Slowey, 2023). O uso indiscriminado de antimicrobianos tem contribuído para o desenvolvimento da resistência bacteriana, demandando uma busca urgente por terapias alternativas (WHO, 2023). Nesse contexto, a *Cannabis sativa* destaca-se por possuir fitocanabinoides com propriedades farmacológicas documentadas, como o canabidiol (CBD), o canabigerol (CBG)

e o delta-9- tetraidrocanabinol (Δ -9-THC) (Schofs; Sparo; Sánchez bruni, 2021).

Evidências recentes indicam que tais derivados possuem atividade antimicrobiana significativa contra bactérias Gram-positivas, abrangendo inclusive linhagens multirresistentes. Esse efeito é atribuído, primordialmente, à disrupção da membrana citoplasmática e à inibição da síntese de biofilmes (Wassman; Hojrup; Klitgaard, 2020; Niyangoda *et al.*, 2024). Contudo, apesar do cenário promissor, observa-se uma escassez de

estudos que avaliem a eficácia desses fitocanabinoides frente a isolados clínicos específicos da mastite bovina e caprina. Assim, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos compostos CBD, CBG e THC frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (isoladas de vacas e cabras), *Staphylococcus chromogenes* (de origem bovina) e *Staphylococcus caprae* (de origem caprina), todas provenientes de rebanhos do estado da Paraíba. Nesse contexto, o presente estudo objetivou avaliar a eficácia inibitória dos extratos derivados da *Cannabis sativa*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Panorama geral sobre os principais impactos da mastite no Brasil

A mastite bovina é a principal enfermidade infecciosa da pecuária leiteira brasileira, com elevada prevalência, especialmente na forma subclínica, que frequentemente passa despercebida em propriedades com menor nível de tecnificação. Estimativas nacionais indicam prevalência média próxima de 46,4% em rebanhos leiteiros, evidenciando a magnitude epidemiológica da doença no país (Busanello *et al.*, 2017). Revisões nacionais destacam ampla distribuição da mastite em diferentes sistemas produtivos e a predominância de microrganismos do gênero *Staphylococcus* como principais agentes etiológicos (Acosta *et al.*, 2016). No Nordeste, particularmente no Agreste paraibano, estudos demonstram elevada frequência de *Staphylococcus spp.* associados à mastite, além da presença de perfis de resistência antimicrobiana, o que reforça a complexidade do controle sanitário na região (Silva, 2022).

Do ponto de vista econômico, a mastite acarreta perdas significativas decorrentes da redução da produção leiteira, descarte de leite durante o tratamento, custos com medicamentos, assistência veterinária e descarte precoce de matrizes. A alta prevalência da forma subclínica compromete a eficiência produtiva e impacta diretamente a rentabilidade das propriedades (Busanello *et al.*, 2017; Acosta *et al.*, 2016). Em sistemas de baixa e média tecnologia, realidade frequente em diversas áreas do Nordeste, esses prejuízos tendem a ser proporcionalmente mais severos, uma vez que a margem de lucro é limitada e o investimento em medidas preventivas é restrito, configurando a mastite como importante problema sanitário e econômico para a cadeia leiteira brasileira.

2.2 Patógenos Estafilocócicos

O gênero *Staphylococcus* é amplamente reconhecido como o principal grupo bacteriano associado à mastite em ruminantes leiteiros, desempenhando papel central na epidemiologia da doença em bovinos e caprinos. Em bovinos, *Staphylococcus aureus* destaca-se como o patógeno contagioso de maior relevância clínica e epidemiológica, sendo frequentemente associado a infecções intramamárias persistentes e de difícil erradicação. A patogenidade desse microrganismo está relacionada à produção de fatores de virulência, como hemolisinas, leucocidinas e enzimas extracelulares, que favorecem a invasão do

parênquima mamário e podem resultar em lesões teciduais irreversíveis e fibrose (Mello *et al.*, 2020). Além disso, a capacidade de sobreviver no interior de células fagocíticas e de formar biofilmes confere ao *S. aureus* elevada evasão do sistema imune do hospedeiro, contribuindo para as baixas taxas de cura observadas durante a lactação.

Em caprinos, *Staphylococcus aureus* também apresenta importância sanitária significativa, sendo isolado tanto em casos clínicos quanto subclínicos de mastite. Nessa espécie, a infecção por esse patógeno está associada à persistência intramamária, à elevação da contagem de células somáticas e à redução da qualidade do leite, especialmente em sistemas produtivos com manejo sanitário deficiente (Bergonier *et al.*, 2003; Contreras *et al.*, 2003).

Paralelamente, a compreensão acerca dos *Staphylococcus* não-aureus (SNA), anteriormente classificados como patógenos secundários de baixa virulência, tem sido amplamente revisada. Atualmente, essa classificação é considerada inadequada, uma vez que diversas espécies apresentam importância epidemiológica relevante na saúde da glândula mamária. Entre elas, *Staphylococcus chromogenes* destaca-se pela elevada frequência em infecções intramamárias persistentes, especialmente em vacas primíparas, atuando tanto como colonizador do canal do teto quanto como agente etiológico da mastite subclínica (De buck *et al.*, 2021). Estudos recentes demonstram que *S. chromogenes* é a infecção intramamária estafilocócica mais prevalente no início da lactação em primíparas, acometendo cerca de 10% dos animais e promovendo aumento da Contagem de Células Somáticas (CCS) na lactação subsequente (Kurban *et al.*, 2025). A persistência desse agente no rebanho está associada à diversidade genética e à expressão de genes de virulência adaptativos, favorecendo sua sobrevivência no ambiente intramamário (Mello *et al.*, 2020).

Em caprinos, entre os *Staphylococcus* não-aureus (SNA), destaca-se *Staphylococcus caprae*, espécie frequentemente associada à mastite subclínica crônica. Esse microrganismo apresenta elevada capacidade de adaptação ao tecido mamário caprino, contribuindo para a manutenção silenciosa da infecção no rebanho e representando um desafio para o controle sanitário, sobretudo em sistemas de produção com ordenha manual e ausência de programas sistemáticos de prevenção (Bergonier *et al.*, 2003; Contreras *et al.*, 2003).

2.3 Biofilme e o desafio da resistência bacteriana

O controle da mastite enfrenta o desafio global da resistência antimicrobiana (RAM), fenômeno exacerbado pela pressão seletiva decorrente do uso frequente de antibióticos na produção leiteira (Naranjo-lucena; Slowey, 2023). Um dos mecanismos centrais de resistência bacteriana é a formação de biofilmes: matrizes extracelulares compostas por polissacarídeos, proteínas e DNA extracelular, que funcionam como barreiras físicas e biológicas contra fármacos e o sistema imune (De buck *et al.*, 2021).

A relevância deste mecanismo em isolados brasileiros de mastite subclínica bovina foi confirmada por análises de RT-qPCR, que demonstraram a expressão ativa de genes associados à formação de biofilme (Mello *et al.*, 2020). Em pequenos ruminantes, espécies como *S. caprae* também apresentam capacidade significativa de formação de biofilme, o que contribui para a manutenção silenciosa da infecção no rebanho e para o aumento da tolerância aos tratamentos convencionais (Bergonier *et al.*, 2003; Contreras *et al.*, 2003).

2.4 Potencial farmacológico da *Cannabis sativa* na medicina veterinária

Diante das limitações impostas pela resistência bacteriana aos protocolos de antibioticoterapia convencional, os fitocanabinoides extraídos da *Cannabis sativa* emergem como alternativas terapêuticas promissoras. Esses compostos fenólicos possuem natureza lipofílica, o que facilita sua interação com as membranas lipídicas de patógenos Gram-positivos, como os estafilococos causadores de mastite (Schofs; Sparo; Sánchez bruni, 2021).

A atividade antimicrobiana da Cannabis não é uniforme, variando conforme o isolado e o alvo bacteriano. As evidências atuais indicam que o potencial terapêutico dessa planta está principalmente associado a três fitocanabinoides: canabidiol (CBD), canabigerol (CBG) e tetrahydrocannabinol (THC).

O canabidiol (CBD) é o fitocanabinoide mais amplamente investigado, sobretudo pela ausência de efeitos psicotrópicos e pela consistente atividade frente a bactérias Gram-positivas. Seu mecanismo de ação tem sido associado à desestruturação da membrana plasmática bacteriana, promovendo aumento da permeabilidade celular, extravasamento do conteúdo citoplasmático e consequente morte celular rápida (Wassmann; Hojrup; Klitgaard, 2020). No mesmo estudo, os autores sugerem ainda que o CBD pode atuar como composto adjuvante, potencializando a ação da bacitracina contra bactérias Gram-positivas.

O canabigerol (CBG), reconhecido como precursor biossintético dos principais

fitocanabinoides, tem sido descrito como um dos compostos mais promissores no contexto da atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas. Em revisão sistemática recente, Niyangoda *et al.* (2024) destacam que o CBG demonstrou elevada eficácia *in vitro* frente a cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, incluindo linhagens MRSA. Segundo os autores, o composto apresentou atividade significativa contra células persistentes (persisters), caracterizadas por metabolismo reduzido e elevada tolerância aos antimicrobianos convencionais, fator diretamente relacionado à cronicidade de infecções estafilocócicas. Além disso, o estudo relata que o CBG possui capacidade de inibir estágios iniciais da formação de biofilmes, sugerindo potencial papel na prevenção da persistência bacteriana e na redução da recalcitrância terapêutica (Niyangoda *et al.*, 2024).

O delta-9-ahidrocanabinol (THC), embora apresente restrições para aplicação clínica na medicina veterinária devido aos seus efeitos psicoativos, também demonstra propriedades antimicrobianas relevantes. Seu mecanismo de ação envolve a interferência na síntese de macromoléculas bacterianas e na integridade celular, observando-se efeito sinérgico quando utilizado em extratos de espectro total (full-spectrum), nos quais a ação combinada dos diferentes fitocompostos supera a atividade do canabinoide isolado (Schöfs; Sparo; Sánchez bruni, 2021).

No que se refere às concentrações empregadas nos estudos experimentais, observa-se que a atividade antimicrobiana dos fitocanabinoides tem sido predominantemente avaliada por meio do método de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Wassmann, Højrup e Klitgaard (2020) testaram o canabidiol (CBD) em concentrações variando aproximadamente de 0,5 a 8 µg/mL, observando valores de CIM entre 1 e 2 µg/mL contra *Staphylococcus aureus*, além de efeito adjuvante significativo em concentrações próximas de 2 µg/mL quando associado à bacitracina. De maneira semelhante, a revisão sistemática de Niyangoda *et al.* (2024) reporta que o canabigerol (CBG) apresentou CIM predominantemente entre 1 e 4 µg/mL frente a linhagens multirresistentes de *S. aureus*, incluindo MRSA, sendo que a inibição de biofilmes e de células persistentes foi descrita em concentrações variando entre 2 e 8 µg/mL. Schöfs, Sparo e Sánchez Bruni (2021), ao analisarem diferentes estudos experimentais, relatam que canabinoides ativos contra bactérias Gram-positivas apresentam, em geral, CIM na faixa de 0,5 a 8 µg/mL, dependendo do isolado bacteriano e das condições metodológicas empregadas. Esses dados indicam que, nos modelos baseados em microdiluição, os fitocanabinoides demonstram atividade antimicrobiana em

concentrações relativamente baixas, expressas em $\mu\text{g/mL}$.

Um dos aspectos mais relevantes para o tratamento da mastite bovina é a capacidade desses compostos de penetrar em matrizes complexas. Revisões sistemáticas indicam que os canabinoides conseguem desestabilizar biofilmes já estabelecidos de estafilococos, uma barreira que os antibióticos hidrofílicos convencionais frequentemente falham em ultrapassar (Niyangoda *et al.*, 2024).

Embora as evidências atuais sejam predominantemente provenientes de estudos *in vitro*, esses dados fundamentam a investigação de novos protocolos clínicos. A transição para modelos *in vivo* é o próximo passo necessário para determinar a farmacocinética intramamária e garantir que esses compostos não deixem resíduos psicotrópicos no leite destinado ao consumo humano.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local do estudo e origem das amostras

O estudo foi conduzido junto ao Núcleo Aplicado à Produção e Sanidade da Glândula Mamária (NAPROSA), vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCAN) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Areia/PB. Foram utilizadas oito cepas bacterianas do gênero *Staphylococcus spp.* causadoras de mastite em caprinos e bovinos, todas pertencentes ao banco de bactérias do NAPROSA, sendo elas: duas cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* da espécie bovina (SAB), duas cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* da espécie caprina (SAC), duas cepas bacterianas de *Staphylococcus chromogenes* da espécie bovina (SCB) e duas cepas bacterianas de *Staphylococcus caprae* da espécie caprina (SCC). Todas as bactérias utilizadas foram previamente identificadas por espectometria de massa (MALDI- TOF).

3.2 Preparação das placas bacterianas para o Teste de Difusão em Disco de Kirby-Bauer

Todas as cepas bacterianas foram descongeladas e semeadas em Ágar Sangue ovino a 5%. Após um período de 24 horas, uma amostra da colônia de cada uma das bactérias foi coletada com swab e diluída em solução salina para alcançar a turbidez padrão de 0,5 na escala de McFarland. Posteriormente, com o auxílio de um swab, essas suspensões bacterianas foram inoculadas em placas com Ágar Mueller Hinton (MHI) para realização dos Testes de Difusão em Disco. Todas as bactérias foram feitas em triplicatas.

3.3 Aquisição dos extratos de *Cannabis sativa*

Foram fornecidos três extratos de *Cannabis sativa* advindos de uma parceria com a Associação Cannabis Sem Fronteiras (ACSF, Florianópolis/SC), sendo eles um extrato de *Cannabis sativa full spectrum* rico em CBD, extrato de *Cannabis sativa full spectrum* rico em THC e um extrato de *Cannabis sativa* isolado de CBG.

3.4 Preparação das diluições dos extratos de *Cannabis sativa* para o Teste de Difusão em Disco de Kirby-Bauer

Inicialmente, todos os extratos de *Cannabis sativa* (CBD, CBG e THC) foram diluídos em

Dimetilsulfóxido (DMSO) numa concentração de 30 mg/mL (solução de estoque 1). Posteriormente, 100 μ L dessa solução foi acrescida em 900 μ L de tampão fosfato salino (PBS) para atingir uma concentração de 3 mg/mL (solução de estoque 2). Após isso, realizou-se uma diluição seriada com um fator de diluição de 1:3, resultando em concentrações de 3 mg/mL a 0,01 mg/mL. Ainda, a partir das soluções de estoque 1 de cada um dos extratos, retirou-se 50 μ L para confecção de soluções de estoque 2 com a combinação de dois extratos diferentes, na escala de 1:1, resultando nas soluções combinadas de CBD:THC, CBD: CBG e CBG:THC. O processamento seguiu o mesmo protocolo descrito anteriormente. Após a preparação das diluições, discos de papel filtro qualitativo foram embebidos por 30 minutos em cada uma das soluções. Além disso, discos foram utilizados como controle positivo e negativo utilizando Ceftriaxona (30 μ g) e DMSO, respectivamente.

3.5 Avaliação das zonas de inibição

A mensuração e avaliação dos halos foi realizada nos tempos de 6, 12, 24 e 48 horas com o auxílio de um paquímetro digital. Todas as zonas de inibição foram medidas em milímetros (mm).

3.6 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram conduzidas em ambiente Python. O nível de significância adotado para todos os testes de hipótese foi de $\alpha = 0,05$, correspondendo a um intervalo de confiança de 95%.

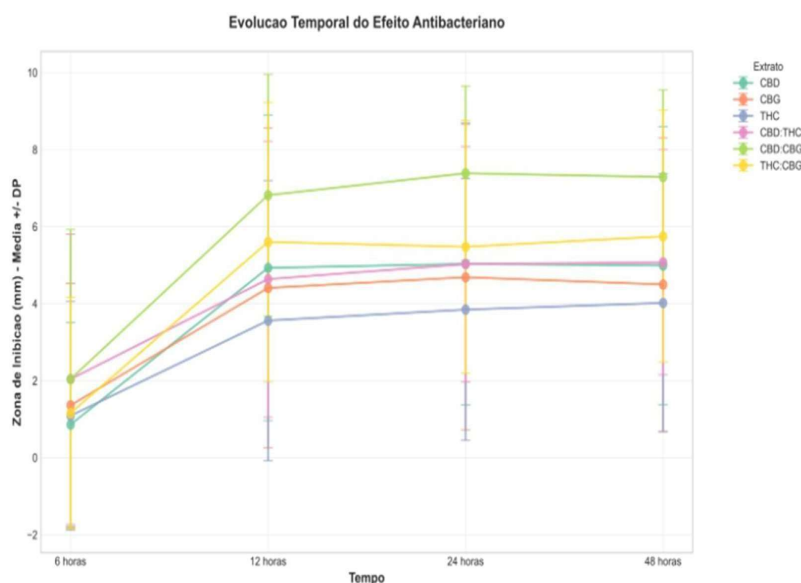
Quando a ANOVA indicou efeitos significativos ($p < 0,05$), procedeu-se à realização de testes post-hoc para identificar diferenças específicas entre os níveis de cada fator. Utilizou-se o teste de Tukey HSD (Honestly Significant Difference), que controla a taxa de erro familywise (FWER) em $\alpha = 0,05$, sendo apropriado para comparações múltiplas pareadas.

4. RESULTADOS

Considerando os extratos avaliados, bem como suas combinações, a associação entre CBD:CBG apresentou as maiores médias de zona de inibição quando comparado aos demais extratos em todas as concentrações ($p < 0,001$). As combinações THC:CBG e CBD:THC não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), mas ambos foram superiores aos extratos isolados. Entre os extratos isolados, a zona de inibição do CBD foi significativamente superior à do THC ($p < 0,05$), mas não diferiu de CBG ($p = 0,928$).

Com relação ao tempo, observou-se que a zona de inibição às 6 horas foi significativamente menor que os demais períodos ($p < 0,001$). Entretanto, não foram detectadas diferenças significativas entre 12, 24 e 48 horas (Figura 1).

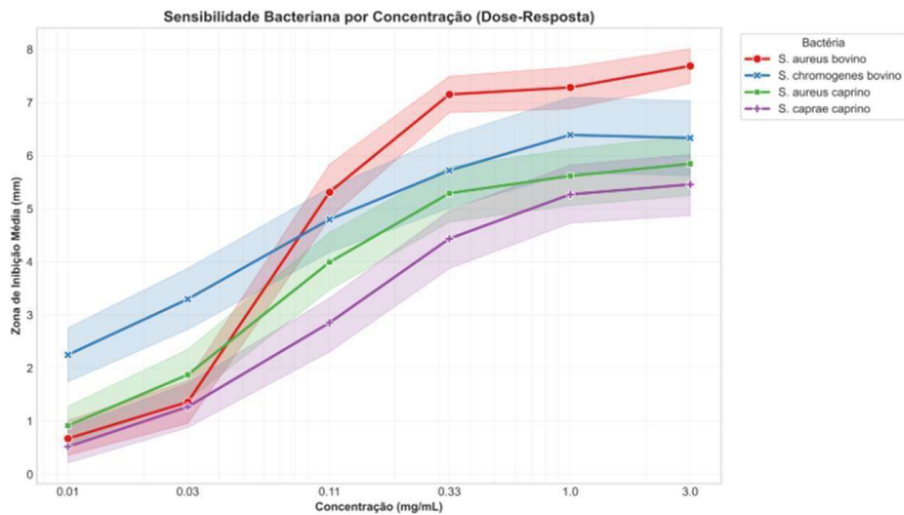
Figura 1 – Evolução temporal do efeito antibacteriano dos extratos de *C. Sativa*



Fonte: Elaboração própria.

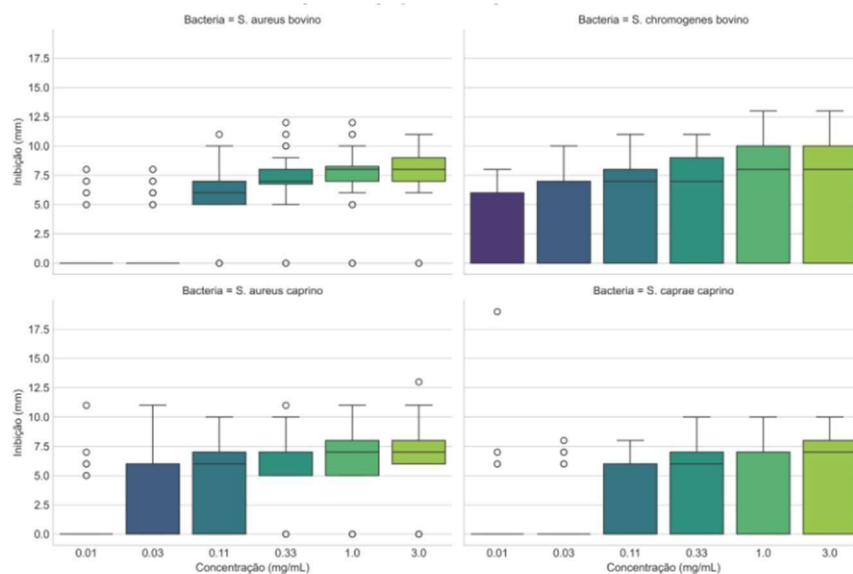
As análises revelaram padrões complexos de sensibilidade diferenciais entre as quatro espécies bacterianas (Figura 2 e 3). A sensibilidade de SAB e SCB não diferiu significativamente ($p > 0,05$), mas ambas foram significativamente mais sensíveis que SAC e SCC ($p < 0,001$). Para todas as bactérias testadas, a eficácia antibacteriana, observada através da zona de inibição, foi atingida com concentrações $\geq 1,0$ mg/mL. SCC foi a bactéria que apresentou a menor sensibilidade, exigindo doses superiores a 0,33 mg/mL para inibição relevante, diferindo significativamente de todas as demais espécies ($p < 0,01$).

Figura 2 – Perfis de sensibilidades bacterianas em função da concentração do extrato de *C. sativa*



Fonte: Elaboração própria.

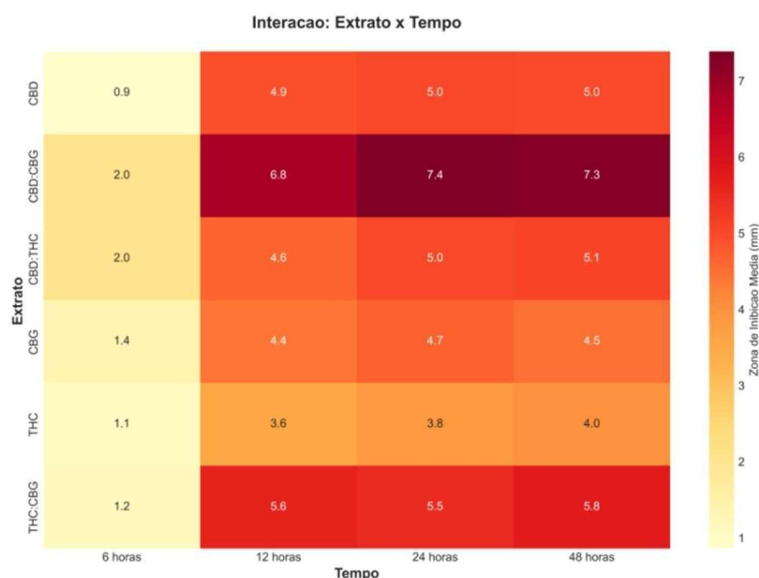
Figura 3 – Interação entre as concentrações dos extratos de *C. sativa*, suas zonas de inibição e bactérias



Fonte: Elaboração própria.

A interação entre extrato e tempo foi significativa ($F = 6,54$, $p < 0,001$). O extrato combinado CBD:CBG foi o mais eficaz na inibição bacteriana em todos os tempos avaliados. Os demais extratos apresentaram um padrão similar de resposta temporal: baixa atividade em 6 horas, aumento rápido até 12 horas e estabilização após 24 horas (Figura 4).

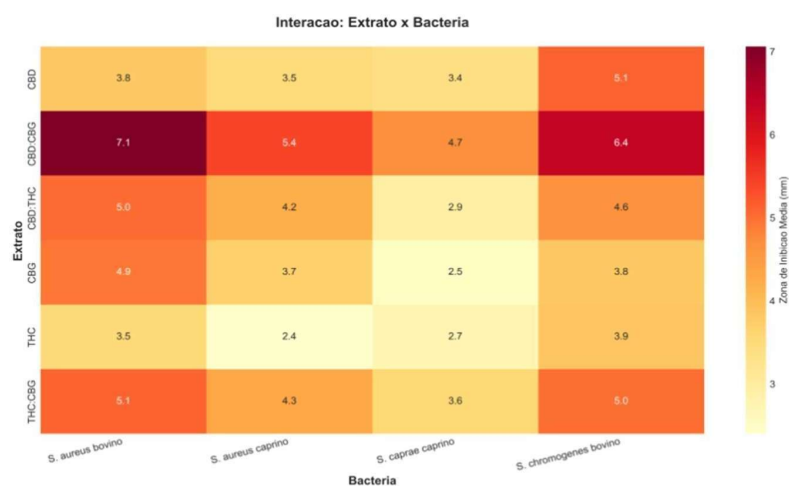
Figura 4 – Interação entre os extratos de *C. sativa* de acordo com o tempo, com os valores representando as zonas de inibição médias (mm)



Fonte: Elaboração própria.

A interação entre os extratos e as bactérias também foi significativa ($F = 5,29$, $p < 0,001$). CBD:CBG apresentou atividade inibitória elevada contra todas as espécies bacterianas testadas, com valores superiores a 5 mm em todos os casos. THC:CBG e CBD:THC apresentaram padrões similares. Além disso, é possível observar que todos os extratos foram mais eficazes contra cepas bacterianas de origem bovinas. Dos seis extratos avaliados, cinco apresentaram atividade mínima contra SCC (Figura 5).

Figura 5 – Interação entre os extratos de *C. sativa* e as bactérias, com os valores representando as zonas de inibição médias (mm)

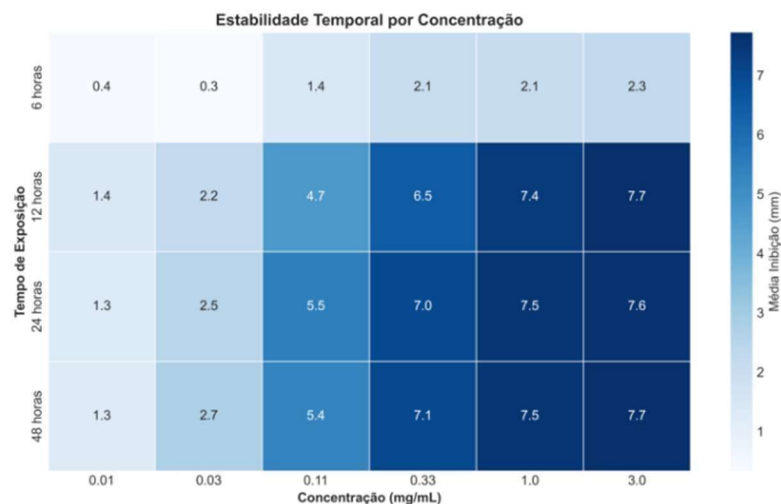


Fonte: Elaboração própria.

Com relação ao tempo e a concentração, não houve interação relevante que indicasse perda de eficácia dos extratos ao longo do tempo. As curvas dose-resposta

estabelecidas às 12 horas mantiveram-se praticamente inalteradas em 24 e 48 horas (Figura 6).

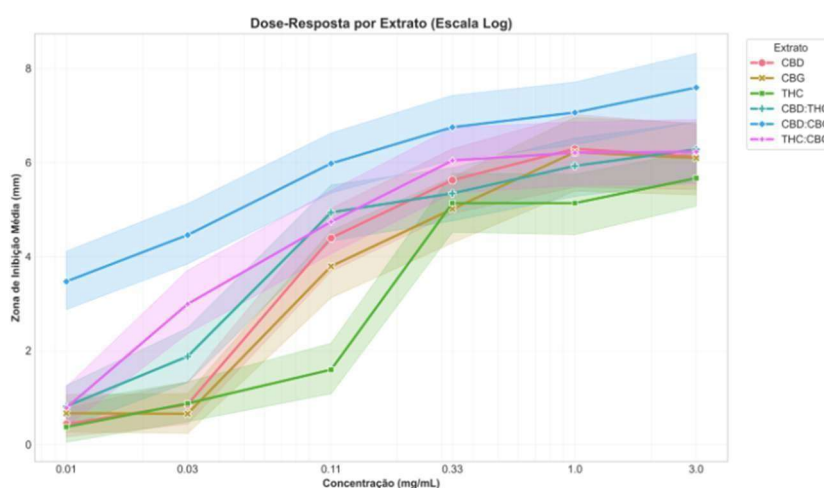
Figura 6 – Efeito das diferentes concentrações de C. Sativa ao longo do tempo



Fonte: Elaboração própria.

A relação entre a concentração e o tipo de extrato foi altamente significativa. A associação CBD:CBG demonstrou superioridade consistente na capacidade de inibição em quase todas as concentrações. Por outro lado, o extrato de THC isolado exigiu concentrações aproximadamente três vezes maiores para atingir o mesmo efeito inibitório que o CBD:CBG. Além disso, a partir da concentração de 1,0 mg/mL, a maioria dos extratos apresenta um teto de eficácia (Figura 7).

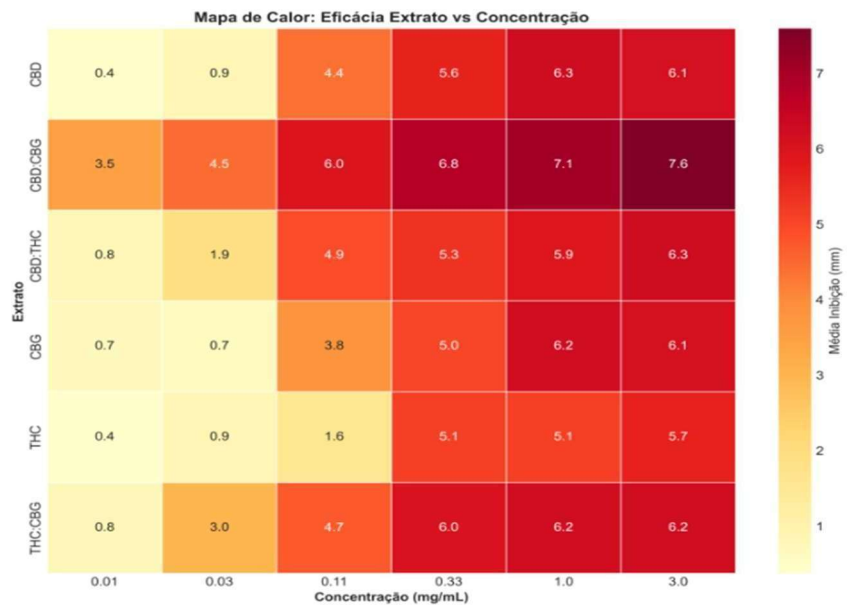
Figura 7 – Curvas de dose-resposta para cada extrato de C. sativa de acordo com as zonas de inibição



Fonte: Elaboração própria.

Na figura 8 é possível observar a zona de inibição média para cada concentração e extrato, sintetizando visualmente efeitos previamente descritos. O extrato combinado de CBD:CBG foi o extrato que apresentou as maiores zonas médias de inibição bacteriana.

Figura 8 – Zona de inibição média de acordo com o extrato de *C. sativa* e sua concentração



Fonte: Elaboração própria.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo sugerem que os fitocanabinóides derivados da *Cannabis sativa* apresentam atividade antimicrobiana *in vitro* mensurável contra cepas de *Staphylococcus aureus* (isoladas de bovinos e caprinos), *Staphylococcus chromogenes* (origem bovina) e *Staphylococcus caprae* (origem caprina). A amplitude total observada (0–19 mm), associada ao primeiro quartil igual a zero, indica que a resposta antimicrobiana não ocorreu de forma homogênea em todas as condições experimentais, mas sim de maneira dependente do conjunto de fatores avaliados (tempo, concentração, tipo de extrato e espécie bacteriana). Esses achados são particularmente relevantes diante do cenário de resistência antimicrobiana descrito para patógenos intramamários, no qual a eficácia dos antibióticos convencionais tem sido progressivamente comprometida, favorecendo a busca por alternativas ou adjuvantes terapêuticos (Naranjo-lucena; Slowey, 2023).

A análise estatística evidenciou diferença significativa entre os extratos testados, com melhores resultados das combinações em relação aos compostos isolados ($p < 0,001$). Entre as formulações avaliadas, o CBD:CBG apresentou o melhor desempenho, com maior média e mediana de zona de inibição, além de superar consistentemente os extratos isolados. A superioridade nos resultados com utilização de extratos combinados, especialmente CBD:CBG, sustenta a interpretação de um possível efeito sinérgico, no qual a associação de fitocanabinóides potencializa a ação antimicrobiana por mecanismos complementares. Isso é coerente com descrições prévias de que canabinóides podem comprometer a integridade da membrana citoplasmática bacteriana e aumentar a permeabilidade celular, favorecendo perda de homeostase e morte bacteriana (Schöfs; Sparo; Sánchez bruni, 2021; Wassmann; Højrup; Klitgaard, 2020; Niyangoda *et al.*, 2024). Assim, os resultados desse trabalho fortalecem o argumento de que o uso combinado de canabinóides apresenta maior potencial inibitório do que a aplicação isolada, principalmente quando se busca uma resposta mais consistente e menos dependente de condições específicas.

O efeito do tempo de incubação também se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,001$), revelando um padrão tempo-dependente. Observou-se incremento expressivo da atividade antibacteriana entre 6 e 12 horas, seguido de estabilização em 24 e 48 horas. Essa cinética sugere que os canabinóides demandam um período mínimo de exposição para exercer o efeito máximo, o que é compatível com um processo gradual de interação com estruturas bacterianas e interferência progressiva em processos celulares essenciais. A

distribuição dos dados corrobora com essa interpretação: no tempo inicial, a mediana em zero indica ausência de efeito em grande parte das condições, enquanto nos tempos posteriores há elevação sustentada das medianas e redução relativa da variabilidade, indicando estabelecimento do efeito. Esse comportamento está de acordo com estudos que descrevem ação gradual de canabinoides sobre estafilococos, com aumento do efeito com maior tempo de contato (Niyangoda *et al.*, 2024).

Quanto à susceptibilidade bacteriana, verificou-se diferença significativa entre as espécies avaliadas ($p < 0,001$), com *Staphylococcus aureus* apresentando maior sensibilidade aos extratos em comparação aos *Staphylococcus* não-aureus (ENA). Esse achado é relevante, pois indica que o potencial antimicrobiano dos canabinoides não se manifesta de forma igualitária entre espécies, refletindo características biológicas próprias de cada patógeno. A maior sensibilidade de *S. aureus* pode estar relacionada a diferenças estruturais e fisiológicas que tornam essa espécie mais suscetível a compostos que atuam sobre membrana e parede celular, ainda que seja reconhecidamente um patógeno com capacidade de persistência e formação de biofilme. Por outro lado, estafilococos não-aureus frequentemente apresentam perfis de persistência e resposta variável, compondo um grupo heterogêneo do ponto de vista epidemiológico e de comportamento intramamário (Mello *et al.*, 2020; De buck *et al.*, 2021). Dessa forma, esse resultado reforça a necessidade de considerar a espécie bacteriana como determinante central na interpretação da eficácia dos fitocannabinoides.

Adicionalmente, a maior susceptibilidade observada nos isolados de origem bovina em relação aos de origem caprina pode sugerir adaptações biológicas distintas ao hospedeiro e históricos diferenciados de pressão seletiva por antimicrobianos nos rebanhos da região. Assim, a diferença de resposta entre isolados bovinos e caprinos observada no estudo pode estar associada a particularidades biológicas e epidemiológicas, reforçando a importância de interpretar os dados dentro do contexto regional e do hospedeiro de origem.

No que diz respeito aos *Staphylococcus* não-aureus (ENA), tanto o *S. chromogenes* quanto o *S. caprae* apresentaram sensibilidade aos canabinoides, embora com resultados inferiores aos do *S. aureus*. Esse comportamento é coerente com a literatura, que descreve essas espécies como patógenos relacionados a infecções persistentes em seus respectivos hospedeiros. No caso dos bovinos, o *S. chromogenes* se destaca por sua adaptação ao úbere e relevância clínica em saúde mamária, com potencial para persistência e variabilidade de resposta a tratamentos (De buck *et al.*, 2021). Em cabras, o *S. caprae* pode desempenhar papel semelhante na manutenção de infecções crônicas e subclínicas,

contribuindo para persistência no rebanho (Bergonier *et al.*, 2003; Contreras *et al.*, 2003). Em ambos os contextos, a capacidade de formação de biofilmes funciona como uma barreira de proteção que aumenta tolerância a antimicrobianos, o que pode contribuir para menores halos de inibição observados em parte das condições. Essa interpretação é reforçada por estudos nacionais que confirmaram genes associados a biofilme e padrões de expressão relacionados em estafilococos isolados de mastite no Brasil (Mello *et al.*, 2020). Assim, os resultados obtidos sugerem que, para ENA, a ação dos fitocanabinoides pode ser mais limitada e dependente de condições mais favoráveis (como combinações e doses maiores), possivelmente devido à maior tolerância estrutural e fisiológica.

A relação dose–resposta observada reforça a consistência dos dados experimentais: concentrações iguais ou superiores a 1,0 mg/mL apresentaram maior eficácia, enquanto doses inferiores resultaram em efeito reduzido. Esse padrão confirma que a atividade antimicrobiana *in vitro* dos canabinoides é dependente de concentração, com necessidade de atingir níveis críticos para que o efeito seja detectável e clinicamente interpretável. A existência de um platô nas maiores concentrações também sugere limitação da ação após determinado ponto. Esses achados estão de acordo com a literatura, que descreve que concentrações adequadas são essenciais para que canabinoides exerçam atividade antimicrobiana significativa em ensaios *in vitro* (Schöfs; Sparo; Sánchez bruni, 2021; Niyangoda *et al.*, 2024). De forma geral, os resultados confirmam que a eficácia dos derivados de *Cannabis sativa* é multifatorial, dependendo da concentração, do tempo de exposição e da espécie bacteriana alvo, e reforçam o potencial desses compostos como alternativas ou adjuvantes no controle de patógenos intramamários frente ao avanço da resistência antimicrobiana (Naranjo-lucena; Slowey, 2023).

6. CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que os fitocanabinoides derivados de *Cannabis sativa* apresentam atividade antimicrobiana in vitro contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes* e *Staphylococcus caprae*, sugerindo a associação CBD:CBG, na concentração de 1,0 mg/mL e com tempo mínimo de 12 horas, apresenta o melhor desempenho antimicrobiano entre as condições avaliadas.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, A. C. *et al.* Mastites em ruminantes no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 36, n. 7, p. 565–573, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000700001>.
- AZOOZ, M. F. *et al.* Financial and economic analyses of the impact of cattle mastitis on the profitability of Egyptian dairy farms. *Veterinary World*, v. 13, n. 9, p. 1750–1759, 2020. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1750-1759>.
- BERGONIER, D.; DE CRÉMOUX, R.; RUPP, R.; LAGRIFOUL, G.; BERTHELOT, X. Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*, v. 34, n. 5, p. 689–716, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1051/vetres:2003030>.
- BUSANELLO, M.; ROSSI, R. S.; CASSOLI, L. D.; PANTOJA, J. C. F.; MACHADO, P. F. Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 100, n. 8, p. 6545–6553, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12042>.
- CONTRERAS, A.; LUENGO, C.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J. C. The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livestock Production Science*, v. 79, n. 2–3, p. 273–283, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00172-0](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00172-0).
- CONTRERAS, A. *et al.* Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research*, v. 68, n. 1–2, p. 145–153, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.011>.
- DE BUCK, J. *et al.* Non-aureus Staphylococci and bovine udder health: current understanding and knowledge gaps. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 8, 658031, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.658031>.
- KEEFE, G. P. Update on control of Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae for management of mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 37, n. 2, p. 321–334, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.010>.
- KURBAN, D. *et al.* Dynamics and impacts of staphylococcal intramammary infections during dairy cows' nonlactating periods. *Journal of Dairy Science*, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2025-26662>.
- MELLO, P. L. *et al.* Staphylococcus spp. isolated from bovine subclinical mastitis in different regions of Brazil: molecular typing and biofilm gene expression analysis by RT-qPCR. *Research in Veterinary Science*, v. 132, p. 489–497, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.07.013>.
- NARANJO-LUCENA, A.; SLOWEY, R. Invited review: antimicrobial resistance in bovine mastitis pathogens: a review of genetic determinants and prevalence of resistance in European countries. *Journal of Dairy Science*, v. 106, n. 1, p. 1–18, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22267>.
- NIYANGODA, D. *et al.* Cannabinoids as antibacterial agents: a systematic and critical

review of *in vitro* efficacy against Streptococcus and Staphylococcus. *Antibiotics*, v. 13, n. 11, 1023, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111023>.

SCHÖFS, L.; SPARO, M. D.; SÁNCHEZ BRUNI, S. F. The antimicrobial effect behind *Cannabis sativa*. *Pharmacology Research & Perspectives*, v. 9, n. 2, e00761, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/prp2.761>.

SILVA, C. P. Perfil de resistência a antimicrobianos em Staphylococcus spp. isolados de mastite em bovinos leiteiros no Agreste paraibano. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2022.

WASSMANN, C. S.; HØJRUP, P.; KLITGAARD, J. K. Cannabidiol is an effective helper compound in combination with bacitracin to kill Gram-positive bacteria. *Scientific Reports*, v. 10, art. 4112, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60952-0>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Antimicrobial resistance. Geneva: WHO, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 10 fev. 2026.