

AVALIAÇÃO DE PLANTAS COM POTENCIAL INIBITÓRIO EM BACTERIAS CAUSADORAS DA MASTITE BOVINA

VIAN, Andrey¹
GUERIOS, Euler Marcio Ayres²
BARATELA-SIMM, Kelen Cristiane³

RESUMO

A mastite é uma infecção que afeta a glândula mamária, ocasionando diversos prejuízos na produção de leite, entre eles o descarte da produção do animal acometido, diminuição na produção, além dos custos elevados com o tratamento da enfermidade. A mastite pode ser causada por diversos motivos, traumas, infecção bacteriana ou infecção fungica. A infecção bacteriana pode ter como fonte a presença de várias cepas bacterianas, sendo que o *Staphylococcus sp.* é a bactéria com maior frequência nestas infecções. O experimento teve objetivo, analisar algumas plantas que possuem potencial de inibir o crescimento do *Staphylococcus sp.* Coletado amostra de leite de alguns animais acometidos com a enfermidade. As amostras de leite infectados foram levadas para o laboratório de microbiologia para análise através de teste inibitório com extratos alcoólicos de seis plantas medicinais. Foi observada eficiência de inibição do *Rosmarinus officinalis* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Mentha piperita* L. e *Cymbopogon citratus*. Já o *Caryophyllus aromaticus* L. e o *Zingiber officinalis* Roscoe não apresentaram poder inibitório satisfatório nas amostras analisadas.

PALAVRAS-CHAVE: Mastite, *Staphylococcus sp.*, Inibição, plantas medicinais, extratos.

1. INTRODUÇÃO

Na produção de leite é essencial o conhecimento de todos os fatores que influenciam gastos com a produção, tentando diminuir-los, um destes fatores é com a utilização de medicamentos para tratamento de infecções.

Uma das infecções mais comuns nas propriedades e da glândula mamária, popularmente conhecida como mastite, onde se tem gastos altíssimos com terapias antibióticas. Além do prejuízo causado com a perda de animais com a doença ou até mesmo levando o descarte precoce de vacas do plantel.

Com o aumento da resistência bacteriana, diariamente temos que buscar novas tecnologias, para fazer o controle destes microrganismos. Alguns produtores estão propiciando o aumento desta resistência, pois acabam realizando protocolos terapêuticos ineficientes, com concentrações inadequadas, fazendo com que os agentes causadores se propaguem, sem controle.

Vários micro-organismos causadores de mastite, tem capacidade de gerar entre seus pares, mecanismo genético, que realiza resistência cruzada, entre si. Resistência esta, a determinados antígenos, por exemplo, através de uma ponte de pilos, onde fazem troca de parte do material genético, ocorrendo o aumento muito rápido de resistência.

¹ Graduando em medicina veterinária. E-mail: vianandrey4@gmail.com

² Médico veterinário. E-mail: assiveteulermarcio@gmail.com

³ Mestre em microbiologia aplicada. E-mail: kelen@fag.edu.br

O rebanho brasileiro de gado leiteiro, vem enfrentado grandes problemas com a mastite que acomete os animais fazendo com que reduza a produção, além de causar custos altos com o tratamento sendo que nem sempre se tem êxito, obrigando o produtor a descartar o animal por baixa produção.

A mastite além dos prejuízos causados com percas de produção em casos extremo podem levar o animal a óbito, lesando ainda mais a situação financeira da propriedade com o prejuízo do animal morto ou descartado e o custo com a reposição do rebanho.

Estes patógenos que afetam a glândula mamaria, provocam perda de qualidade do leite, pois os mesmos, interferem na composição do produto, aumentando o número de células somáticas, diminuindo os sólidos do leite, principalmente a caseína, aumentando o risco de não formação do coágulo do leite, matéria principal da formação dos lácteos comerciais fazendo diminuir em até R\$0.09 por litro de leite, que é a média em que os laticínios pagam pela qualidade do leite.

Os antibióticos dispostos no mercado na sua maioria possuem um custo no tratamento elevado, por consequência das bactérias causadoras da enfermidade, estarem cada vez mais resistentes, os produtores acabam tendo que comprar produtos com dozes mais elevadas ou fazendo interações medicamentosas para poder sanar o problema da propriedade.

A mastite é causadora de grandes prejuízos a produção de leite, com a diminuição da produção por período temporário e até mesmo permanente causando destruição do quarto infectado, a diminuição do lucro da propriedade com o valor do antibiótico utilizado no tratamento e o descarte do leite neste período podem afetar muito a saúde financiar da propriedade.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A mastite e causada por um patógeno que por sua vez provoca três formas de infecção sendo elas aguda, subaguda e crônica, apresentado de forma catarral chegando ao apresentação gangrenosa, que vai variar com a disposição e a virilidade do agente (BEER, 1999).

A doença mais comum encontrada na produção leiteira intensiva e a mastite. Embora mais de 100 agentes causadores já foram isolados apartir de amostras oriundas da glândula mamaria, apesar de uma grande variedade de agentes, os mais comuns encontrados são o *staphylococcus aureus*, *streptococcus agalactiae*, *mycoplasma bovis* e *corynebacterium bovis*. A glândula mamaria dos animais infectados são os principais reservatórios para o contágio entre os animais da propriedade (QUINN, 2005).

As bactérias causadoras da mastite por sua maioria *Staphylococcus*, sendo estes da classe de mastite clínica que provocam diminuição de cerca de 45% da produção leiteira além dos custos obtidos na compra de antibióticos para tratar os animais, em período de tratamento encontramos outro fator que deve ser computado na conta de gastos é o leite a ser descartado durante todo o período de acordo com a indicação do fabricante (MULLER, 2002).

Além da dificuldade do tratamento algumas propriedades efetuam de forma errada causando uma resistência bacteriana, as bactérias expostas com antibiótico em quantidade ou tempo insuficiente não as mata e faz com que elas desenvolva resistência aquele medicamento tornando incapaz de matar a bactéria em outros tratamentos forçando o aumento da dosagem ou obrigando a trocar a medicação trazendo riscos aos animais (GUILLOUX et al 2007).

As plantas possuem substâncias que inibem a proliferação bacteriana, as quais na extração de óleos e extratos essenciais, podem ser utilizados como fitoterápicos para tratamento de diversas enfermidades, causadas por bactérias. Muitos estudos estão sendo realizados, e cada dia aumentando a procura de plantas que possivelmente possam contribuir na inibição de microrganismos (SILVA et al, 2009).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

No estudo realizado, foi utilizado o método *in vitro*, onde foram coletadas amostras de leite de vacas que apresentavam sinais clínicos de mastite, em duas propriedades no município de Céu Azul-PR. As amostras foram coletadas, em frascos esterilizados, de forma a respeitar os métodos de higiene e limpeza, exigido pelos laboratórios de análise. Foram realizados os procedimentos padrão em ordenha, como *pré-dipping*, desinfecção dos tetos na *pré-ordenha*, com solução de clorexidina e secagem com papel toalha, após descartados os três primeiros jatos de leite para identificação de grumos nos jatos descartados, limpado a ponta do teto com papel toalha embebido em álcool 70%, e posteriormente retirando a mostra de leite em frasco específico estéril, a amostra foi levada ao laboratório para realização da pesquisa.

Para os extratos alcoólicos foram utilizados partes das plantas previamente selecionadas visando obtenção de espécies com potencial para inibir ou que combatam o crescimento de bactérias, as plantas selecionadas foram *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) denominado planta A, *Caryophyllus aromaticus* L. (cravo da Índia) planta B, *Zingiber officinalis* Roscoe (gengibre) planta C, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (capim cidreira) planta D, *Mentha piperita* L. (hortelã pimenta) planta E e *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) planta F. Para realização dos extratos onde foram

utilizado 10g de cada planta e 100ml de álcool 90%, deixando em um frasco envolvido com papel alumínio para que evita-se o contato com claridade para evitar a perda do princípio ativo das plantas, após deixar em repouso por 72hs o conteúdo foi filtrado em bomba a vácuo com intuito de tirar impurezas e evitar contaminação dos estratos. Os mesmos foram deixado armazenado em frasco estéril e escuro.

Das amostras coletadas de leite e levadas ao laboratório, foram submetidos primeiramente ao enriquecimento, no qual foram colocados em tubos de ensaio com caldo nutriente na proporção de 10ml de caldo e 1 ml de leite para assim pode promover o crescimento das bactérias, em uma segunda etapa com finalidade de isolar as colônias e assim poder trabalhar com colônias puras. O isolamento foi realizado em placas de Petri com Agar CLED, onde além de isolar já consegue identificar as bactérias de *Staphylococcus sp*, após o isolamento e escolha da colônia para a pesquisa, foram colocadas em caldo nutriente para o crescimento das colônias e posteriormente acondicionadas em tubos com Agar estoque.

E para verificar se os estratos inibiram o crescimento bacteriano, foram submetidos ao teste inibitório de crescimento bacterianos, para este procedimento foram usadas placas de Petri com Agar Mueller Hinton, o qual é o meio de cultura específico para este teste. Para o procedimento foram usadas três placas para cada cepa do microrganismo, totalizando duas cepas de amostras coletadas, e mais uma cepa com uma colônia padrão de *Staphylococcus sp.*, todas as placas foram identificadas de acordo com a cepa da bactéria. Com as placas já semeadas com bactérias, foram colocados discos de papel filtro embebidos com os estratos alcoólicos cada um devidamente identificados através de numeração, todas os estratos foram submetidos nas três cepas de bactérias de forma a promover o teste em triplicata, além do controle positivo que foi utilizado o antibiótico tetraciclina, e o teste negativo com disco embebido em álcool 90%, os dois testes positivo e negativo também em triplicata.

Para avaliação dos resultados foram medidos com auxílio de uma régua os halos entorno dos a circunferência das inibições em torno dos discos de papel filtro embebido com os extratos e os testes positivos e negativos para assim pode avaliar a eficiência de cada substância submetida ao teste.

4. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Dos resultados obtidos podemos observar que os estratos as plantas A, D, E, F, tiveram resultados positivos para inibição bacterianos. Já as amostras B e C tiveram uma atuação muito baixa,

sendo que das três amostras apenas uma delas apresentou halo positivo como podemos verificar na tabela abaixo, onde mostra o tamanho da circunferência em redor do disco com os reagentes.

Tabela – Resultado do teste de avaliação de inibição do crescimento bacteriano, medidos os halos em centímetros.

AMOSTRA S	PLANTA A	PLANT A B	PLANT A C	PLANTA D	PLANTA E	PLANT A F	TETRACICLIN A	ALCOOL
PADRÃO	1,5	0	1,4	1,4	2	1,5	2,5	0
1	2	0,7	0	1,4	1,2	2	2	1
2	1,8	0	0	1	1,5	1,8	2,5	0

Fonte: Dados da Pesquisa.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As plantas que foram submetidas ao teste de inibição de crescimento as amostras A, D, E, F tiveram eficiência na inibição do crescimento bacteriano em torno dos discos , já as amostras B e C não apresentaram eficiência para as amostras analisadas pois nas amostras analisadas tiveram crescimento em torno dos discos, podendo ser justificado esta baixa inibição ser pela sua concentração, pois o extrato alcoólico não concentra o potencial máximo de cada planta, para uma amostra devem ser submetidas ao teste com óleo essencial para que se possa obter a concentração máxima do agente inibidor de cada planta podendo se chegar a um resultado possivelmente positivo a inibição bacteriana

REFERÊNCIAS

- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **Journal of Clinical Pathology**. v.45, p.493-496, 1996.
- BEER J., doenças infecciosas em animais domésticos, **Roca** 1999
- FERNANDES, T. T.; FERNANDES, A. T. S.; PIMENTA, S. C. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. **Revista de Patologia Tropical**. v.34, n.2, p.113-122, 2005.
- GUILLOUX, A.G.A.; CARDOSO, M.R.I.; CORBELLINI, L.G. Analise epidemiológica de um surto de mastite bovina em uma propriedade leiteira no estado do rio grande do sul. **Acta Scientiae Veterinariae** v. 756 p. 1-6 2007.
- MULLER, E.E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. **Nupel**, v.212 p. 206-2017.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, p. 102-107, 2007.

QUINN P.J.; MARKEY B.K.; CARTER M.E.; DONNELLY W.J.; LEONARD F.C.,
Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. **Artmed** 2005.

SILVA, M.T.N.; USHIMARU, P.I.; BARBOSA, L.N.; CUNHA, M.L.R.S.; FERNANDES J.
Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. vol.11 no.3 Botucatu 2009.

SOUZA, A. A.; WUEST, J. M. Atividade anti-bacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc. (garupa, erva-santa), usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul – Brasil. **Revista Brasileira Pl. Med.** v.9, n.3, p.23-29, 2007.