

O USO DE UMA EMULSÃO ESTIMULO-RESPONSIVA CONTENDO ÓLEO DE COPAÍBA VISANDO A PREVENÇÃO DE MASTITE BOVINA.

Kelly Hauana Cravo (PIBIC/CNPq/UEM/DZO), Dayse Maria Bernardo Maricato (PIBIC/CNPq/UEM/DZO), Bruna Barnei Saraiva (Doutoranda/UEM/PPZ), Katieli da Silva Souza Campanholi (Doutoranda/UEM/PQU), Ranulfo Combuca da Silva Junior (Coorientador/UEM), Magali Soares dos Santos Pozza (Orientador), e-mail: pozzamagali@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias / DZO -
Departamento de Zootecnia / PPZ – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia /
PQU - Programa de Pós-Graduação em Química.

Área e sub-área: 50400002, 50405020.

Palavras-chave: Mastite Bovina, Pós-dipping, Óleo de Copaíba.

Resumo:

A mastite bovina é uma enfermidade que acomete animais em estágio de lactação e é caracterizada pela inflamação na glândula mamária. Boas práticas de ordenha, como exemplo aplicações pós-dipping (banho de imersão dos tetos) contribuem para a saúde do animal durante a lactação. Este procedimento é realizado convencionalmente com soluções de iodo, clorexidina, hipoclorito ou ácido láctico. A busca por novas formulações que não sejam invasivas, não contaminem o ordenhador e o meio ambiente têm despertado interesse da comunidade científica. Nesse sentido, formulações preparadas a partir de compostos naturais e matrizes biocompatíveis ganham destaque na prevenção de mastite. O óleo de copaíba é amplamente eficaz em aplicações tópicas com potencial emergente em quadros de mastite. O presente trabalho explorou a eficiência do óleo de copaíba devidamente incorporado em uma mistura de copolímero micelar F127 e um carbômero Carbopol® C934P para aplicação em procedimentos pós-dipping. Avaliações *in vitro* da formulação foram realizadas contra *Staphylococcus aureus*, obtendo redução significativa das colônias, quando comparado ao controle. Ensaio *in vivo* foram conduzidos tendo ácido láctico como controle. Não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação à contagem total de microorganismos (mesófilos aeróbios) e da Contagem de Células Somáticas (CCS) no leite. A emulsão contendo óleo de copaíba possui grande potencial para aplicações tópicas em tratamentos veterinários, e surge como uma alternativa para substituir os produtos convencionais.

Introdução

A mastite bovina é um processo inflamatório da glândula mamária, sendo

considerada a principal doença que acomete os animais em lactação. Existem duas formas de apresentação da doença que são classificadas como mastite clínica, quando as alterações são visíveis macroscopicamente e mastite subclínica, quando as alterações não são visíveis a olho nu (DA SILVA JUNIOR, 2019). Essa enfermidade causa prejuízos econômicos, tanto pela diminuição da produção quanto aos gastos com tratamento dos animais e descarte do leite. A mastite bovina pode ser causada por diversos microorganismos, sendo o *Staphylococcus aureus* reconhecido como a bactéria encontrada com mais frequência em isolados de infecções. Existem algumas formas de detecção da mastite que são realizadas por meio de exames físicos do úbere, aparência do leite, Califórnia Mastite Teste (CMT), cultura bacteriana e Contagem de Células Somáticas (CCS). A resistência do animal, o agente patogênico e o ambiente são os três principais fatores que possuem influência direta na manifestação da mastite. A higiene do ordenhador, higienização dos tetos do animal e dos equipamentos utilizados na ordenha podem estar relacionadas com quadros de mastite e/ou contaminação do leite produzido (DA SILVA JUNIOR, 2019).

Boas práticas de manejo como exemplo a higienização correta dos tetos antes e após a ordenha (pré e pós dipping) previnem a incidência de mastite no rebanho. A busca por alternativas, produtos de origem natural e de baixo custo tem despertado interesse da comunidade científica para substituir compostos utilizados convencionalmente. Nesse contexto o óleo de copaíba destaca-se por suas propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, cicatrizantes e antimicrobianas. Incisões no tronco da árvore copaibeira permite a obtenção do óleo de copaíba, caracterizado como um líquido viscoso, rico em sesquiterpenos (fração volátil) e diterpenos (fração resinosa) (Campanholi, 2022). Emulsões obtidas pela mistura das gotículas de óleo e compostos poliméricos formam um sistema coloidal e podem ser utilizados como produtos de aplicação tópica. Além das propriedades terapêuticas, o óleo também pode atuar como emoliente, permitindo maciez e hidratação à pele lesada (Campanholi, 2022). O presente estudo tem como objetivo a prevenção de mastite bovina com a inserção de uma emulsão de administração tópica do óleo de copaíba em aplicações pós-dipping.

Materiais e Métodos

A emulsão foi preparada pela adição de 0,5% de Pluronic® F127, 0,4% de Carbopol C934P®, 15% de Óleo de Copaíba e 84% de água. O pH ajustado para 7.0 com trietanolamina (TEA). Ensaio *in vitro* foram realizados com a bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) 1×10^8 UFC/mL. 1 mL da suspensão de bactérias e da emulsão foram adicionados à placa de Petri contendo ágar Mueller Hinton e incubados a 35 °C por 24 horas. O experimento *in vivo* foi realizado no Setor de Bovinocultura de Leite da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI/UEM). O delineamento experimental foi conduzido em crossover (2x2) tendo ácido láctico como controle. A emulsão foi aplicada como pós-dipping nos tetos de 10 animais da raça Holandesa, com coletas realizadas nos dias 7, 14, 21, 28 e 35. Para coleta, os tetos foram lavados com água e friccionou-se suabe (3M QuickSwabs) na pele do teto em

uma área de 3 cm², estes foram imersos em tubos contendo 9 mL de água peptonada estéril. Desprezou-se os três primeiros jatos de leite e coletados 10 mL do jato seguinte em tubo de ensaio estéril. As amostras de suabe e leite foram avaliadas quanto à presença de aeróbios mesófilos totais com Plate Count Agar (PCA), sendo incubadas a 35 °C por 48 horas (DA SILVA JUNIOR, 2019). Ao final de cada ordenha, amostras de leite foram coletadas para análises de Contagem de Células Somáticas (CCS) e composição físico-química (Ekomiik Total e Ekomiik Scan). Os dados foram submetidos (ANOVA) utilizando o software SAS 9.3 (Statistical Analysis System Institute, Cary, NC). (SISBIO nº 72922-1) (SIGGEN nº AE28797)

Resultados e Discussão

O óleo de copaíba apresenta fitoquímicos em sua composição, exercem atividade antimicrobiana sob diferentes mecanismos, visto que, a ação está associada à função que representam na planta (ações de defesa contra bactérias e fungos fitopatogênicos). Ensaios *in vitro* contra *S. aureus* mostraram a redução significativa na contagem total de microorganismos quando comparado ao controle (Figura 1). As células permaneceram viáveis no controle positivo e na presença apenas de F127/C934P.

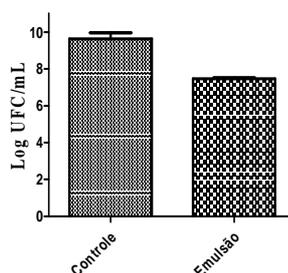


Figura 1. Contagem total de *S. aureus* expressa em log UFC/mL.

A emulsão dermatológica contendo óleo de copaíba apresentou contagem total de *S. aureus* de 7,46 UFC/mL evidenciando a redução de duas unidades logarítmicas quando comparado com o controle positivo que apresentou contagem de 9,62 UFC/mL. Dentre as pesquisas voltadas ao tratamento da mastite pode-se citar o estudo realizado por Pieri e colaboradores, 2007. Os autores avaliaram o efeito antimicrobiano do extrato da folha da copaíba *Copaifera langsdorffii* sobre isolados de *Escherichia coli* obtidos de leite mastítico. Neste trabalho 29,63% dos isolados foram inibidos pelo teste de difusão em ágar. De acordo com o potencial de redução no crescimento de *S. aureus* avaliado *in vitro*, o experimento *in vivo* foi conduzido com aplicações pós-dipping utilizando a plataforma dermatológica contendo óleo de copaíba. Com relação a composição físico química, contagem de células somáticas e contagem total de microorganismos mesófilos aeróbios totais (Tabela 1), não houve diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparado com o controle (ácido láctico). No entanto, como vantagens da emulsão aplicadas à terapia tópica, temos o fornecimento direto de fármaco (óleo de copaíba) no tecido alvo e redução dos efeitos colaterais, facilitando o manejo e administração no animal.

Tabela 1. Composição físico-química do leite e aeróbios mesófilos totais.

	Emulsão	Ácido Lático	P-valor
CCS (Cs/mL)	5,08 ± 0,65	5,06 ± 0,22	0,8710
Gordura (%)	3,95 ± 0,95	4,03 ± 0,83	0,7345
Densidade (%)	1,03 ± 0,00	1,03 ± 0,00	0,7151
Proteína (%)	3,52 ± 0,26	3,57 ± 0,25	0,4488
Lactose (%)	5,21 ± 0,38	5,27 ± 0,36	0,5653
pH	6,68 ± 0,13	6,70 ± 0,13	0,3668
Acidez	21,32 ± 3,20	20,84 ± 2,93	0,5383
PCA suabe log UFC/mL	2,62 ± 0,72	2,51 ± 1,05	0,5738
PCA leite log UFC/mL	2,68 ± 1,00	2,93 ± 0,98	0,2867

A utilização da emulsão contendo óleo de copaíba visa prevenir e tratar a mastite com aplicações diárias da formulação (aplicações pós-dipping). A emulsão atuou de forma eficaz e contribuiu para a obtenção de leite de boa qualidade físico-química e microbiológica com parâmetros em acordo com a Instrução Normativa (IN77/2020).

Conclusões

A inserção desse protocolo pós-dipping utilizando a plataforma dermatológica proposta surge como uma nova alternativa para a prevenção e/ou tratamento de mastite bovina, tendo em vista que a doença ocasiona um grande problema de transmissão além de prejuízos econômicos para o produtor.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos, Grupo de Pesquisa EEQUAM, UEM.

Referências

CAMPANHOLI, K.S.S. *et. al.* Thermal stimuli-responsive topical platform based on copaiba oil-resin: Design and performance upon *ex-vivo* human skin. **Journal of Molecular Liquids**, v. 361, p. 1-20, 2022.

DA SILVA JUNIOR, R.C. *et. al.* Development and applications of safranin-loaded Pluronic® F127 and P123 photoactive nanocarriers for prevention of bovine mastitis: In vitro and in vivo studies. **Dyes and Pigments**, v.167, p.204-215, 2019.

PIERI, F.A. *et. al.* Inhibition of *Escherichia coli* from mastitic milk by copaiba oil.

Semina: Ciências Agrárias, v.32, suplemento 1, p.1929-1934, 2011.