

## USO DE GEL FITOTERÁPICO COMPOSTO POR *ORIGANUM VULGARE L.* E PRÓPOLIS COMO PÓS DIPPING NA PREVENÇÃO DE MASTITE BOVINA.

Natália Zampiroli Oliveira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Magali Soares do Santos Pozza (Coorientadora), Fernando Rodrigues de Carvalho (Orientador), Katieli da Silva Souza Campanholi, Rogério Aleson Dias Bezerra, E-mail: frcarvalho@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Maringá, PR

Área: 50400002; Sub-área: 50405020.

**Palavras-chave:** Mastite subclínica; Microbiologia; *Syzygium aromaticum*

### RESUMO

Objetivou-se avaliar a prevenção de mastite bovina nos animais por meio da formulação de um emulgel composto por óleo essencial de cravo e própolis como *pós-dipping*. Foram utilizados cinco animais para o tratamento controle (iodo) e cinco animais para o tratamento contendo emulgel fitoterápico (Carbopol® hidratado + própolis e óleo essencial de folha de cravo), sendo aplicado diariamente com o auxílio de aplicadores convencionais logo após a ordenha. Amostras de leite foram coletadas nos dias 1º, 7º, 14º, 21º e 28º, para a avaliação de composição do leite e contagem de células somáticas (CCS). Para os estudos *in vitro*, foram observados maior efetividade (88%) do óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*). Não foram observados efeitos significativos para a variável gordura, células somáticas e contagem de estafilococos no leite. Para a variável proteína, efeitos foram significativos para a interação entre tratamentos e os dias avaliados. A variável lactose apresentou efeitos significativos para os tempos de avaliação. O uso de gel contendo óleo essencial de cravo como *pós dipping* foi efeito na prevenção da mastite bovina.

### INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma inflamação nas glândulas mamárias, essa enfermidade além de causar grande desconforto aos animais causa também severos prejuízos econômicos, seja pela diminuição da produção de leite, descarte prematuro de animais e gastos com tratamentos. Pesquisas que busquem desenvolver produtos alternativos, de baixo custo, e eficazes no tratamento e prevenção da mastite são importantes e urgentes na clínica veterinária. O processo inflamatório pode ser causado por diversos agentes, entre estes, *Staphylococcus aureus* é reconhecido como um dos agentes mais frequentemente isolados de infecções (NADER *et al.* 1983). Portanto a desinfecção dos tetos após a ordenha torna-se indispensável, processo esse realizado por meio do *pós-dipping*. Há registros na literatura sobre óleos essenciais mostrarem resultados promissores para inibição de bactérias em

tratamentos de mastite bovina, nessas circunstâncias foi formulado um emulgel bioadesivo fitoterápico utilizando óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) e extrato de própolis que também vem se mostrando bastante eficiente no controle microbiano. Na composição do óleo essencial de cravo é encontrado um composto chamado eugenol, que além de ser um excelente anestésico apresenta potencial bactericida e fungicida. A própolis também se destaca entre os compostos naturais mais utilizados pela sua atividade antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória e imunestimulante (PINTO *et al.* 2006). Diante disso, objetivou-se avaliar a prevenção de mastite bovina nos animais por meio da formulação de um emulgel composto por óleo essencial de cravo e própolis como *pós-dipping*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), no Setor de Bovinocultura e as análises foram realizadas no Laboratório de Análises de Leite pertencente ao Centro Mesorregional de Excelência em Tecnologia do Leite (CMETL) região Noroeste da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Os procedimentos envolvendo animais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo nº6646060323). Para o presente estudo, óleo essencial de orégano foi substituído pelo óleo essencial de cravo para os testes *in vitro* e *in vivo*. O experimento foi realizado em quadrado latino (animal x tratamento) repetido com período de 28 dias cada. Foram utilizados cinco animais para o tratamento controle (iodo) e cinco animais para o tratamento com emulgel fitoterápico (Carbopol® hidratado + própolis e óleo essencial de folha de cravo), sendo aplicado diariamente com o auxílio de aplicadores convencionais logo após a ordenha.

Após a ordenha, o leite foi coletado para avaliação da composição e CCS (contagem de células somáticas), nos dias 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dias de tratamento. Para a avaliação de composição do leite, amostras foram enviadas semanalmente para a Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) para análises da composição e contagem de células somáticas (CCS). Para o ensaio de atividade anti-microbiana do emulgel, foi utilizado 1mL de água destilada estéril e 3g de emulgel, ambos foram distribuídos em placas de doze poços. Em seguida, a mistura foi homogeneizada e adicionado 10 uL da suspensão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) a cada poço, permanecendo em descanso por trinta minutos. Após, foi coletado 1ml dos poços e adicionado em placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton. Para a microbiologia do leite, utilizou-se 0,1ml da amostra coletada diretamente dos tetos dos animais, em seguida transferidos para placa de Petri estéril com meio de cultura Agar Mueller Hinton. A análise microbiológica dos leites foi realizada em agar Baird Parker para contagem de estafilococos nos tempos 0 e 28 dias. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas), desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (UFV, 1997), sendo as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da atividade anti-microbiana do emulgel frente a cepa ATCC-25923 (Tabela 1) evidenciaram maior efetividade (88%) do óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*), seguido da própolis (78%) e do emulgel (50%). Estes resultados demonstram a real eficácia dos componentes avaliados na redução de colônias da *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923). Resultados semelhantes foram descritos por Garais, Krüger & Quast (2023), utilizando os óleos essenciais e extratos de *Syzygium aromaticum* exibiram atividade na concentração de 100 µl/ml, com os maiores halos de inibição observados para todas as cepas estudadas. Antimicrobianos de origem natural são alternativas eficazes e econômicas, pois são obtidos a partir das plantas aromáticas e especiarias ricas em óleos essenciais caracterizados por uma notável atividade antimicrobiana, e por esta razão, podem ser usados para retardar ou inibir a multiplicação microbiana (SANTOS *et al.* 2011). Não foram observados efeitos significativos para a variável gordura e CCS. Entretanto, a interação entre tratamentos e os dias avaliados foi significativa para a variável proteína e significativa para tempo para a variável lactose (Tabela 1). Deve-se ressaltar que a composição físico-química do leite pode ser influenciada quanto ao nível de produção, ordem de parto, estágio de lactação, raça, alimentação, idade, temperatura ambiente, estação do ano, fatores fisiológicos, patológicos, quartos mamários e intervalos entre ordenhas (CABRAL *et al.* 2016).

**Tabela 1.** Efeito o uso de emulgel sobre a composição química e a contagem de células somáticas (CCS) de vacas em lactação.

Dias	Tratamento <sup>1</sup>	Variáveis <sup>2</sup>			
		GOR	PROT	LAC	CCS
0	Controle	4,75	3,54	3,98	5,23
	Própolis + OEC	4,70	3,43	4,13	5,10
7	Controle	4,85	3,29	4,80	5,09
	Própolis + OEC	4,46	3,47	4,40	5,31
14	Controle	4,84	3,32	4,86	5,07
	Própolis + OEC	4,81	3,58	4,40	5,26
21	Controle	5,18	3,41	3,89	5,17
	Própolis + OEC	4,72	3,35	3,97	5,14
<b>p-valor<sup>4</sup></b>					
Tratamento		0,2953	0,1330	0,2074	0,2581
Dia		0,7838	0,2548	0,0002**	0,9499
Tratamento*Dia		0,8509	0,0076**	0,2367	0,0806

<sup>1</sup>Controle = ; Própolis + OEC = emulgel base de própolis e óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*); <sup>2</sup>GOR = % gordura; PROT = % proteína; LAC = % lactose; CCS = contagem de células somáticas (log 10); <sup>3</sup>CV(%) = coeficiente de variação; <sup>4</sup>p-valor = \*\* 0,0001, \* 0,05.

Para a contagem de *Staphylococcus aureus* no leite não houve diferença significativa entre os tratamentos com iodo ou emulgel. Entretanto vale ressaltar que

ao longo do tempo de avaliação o tratamento controle apresentou diminuição de 9,9%, e o tratamento Própolis + OEC não apresentou alterações ao longo do tempo. É importante ressaltar que o tratamento controle (iodo) presente em vários trabalhos na literatura, destaca-se como um produto para prevenção de mastite bovina, portanto, os resultados observados na avaliação do emulgel demonstram resultados promissores igualando-se estatisticamente com o iodo, com a mesma contagem de *Staphylococcus aureus*. Em trabalho anterior, Valeriano *et al.* (2012), os autores demonstraram que os óleos testados apresentaram capacidade em inibir o crescimento bacteriano permitindo que os mesmos sejam utilizados como antimicrobianos na indústria de alimentos. Resultados promissores também foram observados por Austregesilo-Filho *et al.* (2023), por meio da concentração inibitória (CIM) e a concentração bactericida mínima (MBC), foram observados efeitos para o extrato de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) na atividade antimicrobiana contra cepas de *S. aureus* na mastite bovina e mostrou-se uma opção promissora para o tratamento da doença.

## CONCLUSÕES

O emulgel apresentou atividade antimicrobiana contra as cepas de *Staphylococcus aureus* da mastite bovina demonstrando ser uma opção promissora no tratamento da doença, sendo alternativa futura ao produto convencional utilizado.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPQ pela concessão da bolsa e ao grupo de pesquisa EEQUAM-UEM por todo apoio na execução do projeto e ao INCT/Leite UEL.

## REFERÊNCIAS

AUSTREGESILO-FILHO, P., TSCHA, M., FARIAS, E., OLIVEIRA, G., PEREIRA-JÚNIOR, J. A., & MOTA, R. (2023). Atividade antimicrobiana do extrato de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) em bactérias causadoras da mastite bovina. Peer Review, 5(16), 115-128.

PERINE, S. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente atividade a *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* isolados de mastite bovina. Dissertação de mestrado, UFLA Lavras-MG, 2013.

PINTO, A. et al. Notas Científicas Atividade in vitro do extrato de própolis contra agentes bacterianos da mastite bovina. Pesquisa agropecuária Brasileira, v.41, n.2, p.347-349, fev. 2006

SANTOS, J. C. et al. Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. Semina: Ciências Agrárias, v. 32, n. 4, p. 1537–1564, 19 out. 2011.

VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 14, n. 1, p. 57–67, 2012.