ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VITRO DE PRODUTOS NATURAIS PARA MASTITE

Yasmin Gomes Carpes (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Profª. Drª. Magali Soares dos Santos Pozza (Orientadora), Rogério Aleson Dias Bezerra (Coorientador), Thainá Blasques Silva. E-mail: ra140071@uem.br.
Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Maringá, PR

Área e subárea do conhecimento: Ciências Agrárias / Zootecnia
Palavras-chave: bovinos; *Eucalyptus* sp.; mastite; qualidade do leite; *Staphylococcus aureus*;

RESUMO

A mastite bovina compromete a glândula mamária, qualidade e a produção de leite, tornando relevante avaliar alternativas de controle dos patógenos. Este trabalho avaliou, in vitro, gel de extrato natural e um produto fitoterápico comercial contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de vacas leiteiras. Extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. e *Camellia sinensis* (10 g/100 mL) foram mantidos em banho-maria a 60 °C por duas horas e filtrados; própolis, pentabiótico, álcool e água serviram como controles. A triagem foi feita por microdiluição (100 a 6,25%), com semeadura em ágar Mueller-Hinton e incubação a 35 °C por 48 horas. Por apresentar melhor desempenho, o eucalipto foi usado para elaboração do gel, obtido de 50 g de folhas secas em 300 mL de água destilada e homogeneizado com carbopol. Em leite UHT inoculado com as duas cepas, dez tratamentos foram avaliados em duplicata, com 1, 3 e 5 mL de inóculo, com o gel ou com fitoterápico, seguidos de diluições seriadas e contagem de colônias; também realizou-se o teste de difusão em disco. No ensaio em leite não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p = 0,162$). No teste de difusão em disco, o produto comercial apresentou halo médio de 16,58 ± 5,52 mm e o gel de eucalipto, 7,75 ± 1,42 mm ($p = 0,0004$). Conclui-se que o gel de *Eucalyptus* sp. não reduziu a contagem bacteriana no leite e foi menos efetivo que o produto comercial na difusão em disco.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma doença de grande importância para a atividade leiteira por afetar a glândula mamária, reduzir a qualidade do leite e gerar prejuízos ao sistema de produção. A resposta inflamatória está relacionada ao aumento da contagem de células somáticas e a alterações na composição do leite, com reflexos sobre a saúde dos animais e a rentabilidade da atividade; estima-se que 70 a 80% das perdas decorram da forma subclínica da doença (SIMÕES; OLIVEIRA, 2012). Entre os microrganismos associados à mastite, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* estão entre os agentes de maior destaque.

O tratamento convencional utiliza antimicrobianos, porém a resistência bacteriana, o custo dos protocolos terapêuticos e a possibilidade de resíduos no leite estimulam a busca por alternativas que possam ser avaliadas de forma segura e controlada (LAGINESTRA et al., 2024). Nesse contexto, produtos de origem vegetal

vêm sendo estudados *in vitro* antes de aplicação em animais, com resultados variáveis conforme a espécie vegetal, o solvente e a concentração empregados (BEZERRA et al., 2009; MEZZASALMA et al., 2025).

Neste estudo avaliou-se, *in vitro*, o potencial antimicrobiano de extratos naturais e de um gel formulado a partir de *Eucalyptus* sp. frente a microrganismos causadores de mastite, em comparação a um produto fitoterápico comercial.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Microbiologia da Fazenda Experimental de Iguatemi (Comcap/FEI), da Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de vacas leiteiras, reativadas e mantidas em meio de cultura por três dias.

Os extratos aquosos de *Camellia sinensis*, *Eucalyptus* sp e Própolis foram preparados com 10 g de material vegetal para cada 100 mL de água destilada; as suspensões foram homogeneizadas, mantidas em banho-maria a 60 °C por duas horas e filtradas em papel filtro qualitativo. Na triagem inicial foram avaliados eucalipto, chá da índia, própolis e pentabiótico, além de álcool e água como controles. A microdiluição foi realizada em placas de 96 poços, com 0,2 mL das suspensões bacterianas e concentrações de 100%, 50%, 25%, 12,5% e 6,25%. Após a semeadura em ágar Mueller-Hinton, as placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas.

O gel avaliado nas etapas seguintes foi produzido a partir do extrato de *Eucalyptus* sp., em razão do melhor desempenho na triagem. As folhas secas foram trituradas em moinho até a obtenção de pó; 50 g desse material foram adicionados a 300 mL de água destilada, mantidos em banho-maria a 60 °C por duas horas e filtrados no dia seguinte. O extrato foi então homogeneizado com carbopol e mantido sob agitação por cinco horas.

No ensaio em leite foram utilizadas amostras de leite UHT e dez tratamentos, em duas repetições. As cepas ativadas foram quantificadas por diluição seriada decimal até a ordem de 10^{-3}, e cada inóculo foi composto por volumes iguais das suspensões de *S. aureus* e *E. coli*. O tratamento 1 correspondeu ao controle com leite UHT sem inóculo. Os demais combinaram 1, 3 ou 5 mL desse inóculo com leite UHT, sem produto, com gel de eucalipto ou com o medicamento fitoterápico comercial em bisnaga (composição: água, extrato de carqueja, extrato de mamão, extrato glicólico de aloe vera, óleo de andiroba, óleo de alecrim, extrato de barbatimão, extrato glicólico vegetal, óleo de melaleuca, hydroxyethylcellulose, adcinomethyl propanol, resina de copaíba, methylparaben, propylparaben, disodium EDTA). Foram feitas diluições seriadas seguidas da contagem das colônias e cálculo de UFC/mL.

Para complementar a avaliação, foi realizado teste de difusão em disco (NONATO et al., 2024) com o gel teste e o produto fitoterápico comercial, sendo o diâmetro do halo mensurado. Os halos foram classificados segundo Alves et al. (2000). O delineamento foi inteiramente casualizado, com dez tratamentos, e as análises foram realizadas no pacote computacional SAS (2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores das contagens microbianas constam na Tabela 1. Não houve diferença significativa entre os dez tratamentos quanto à contagem bacteriana (p = 0,162), ou seja, não houve redução da carga microbiana no leite, tendo o gel teste apresentado efeito semelhante ao do produto comercial.

Tabela 1. Média da contagem bacteriana (log $_{10}$) em leite contaminado, por tratamento.

Trat.	Condição	Média (log UFC/mL)
2	1 mL de inóculo + UHT	8,064
3	1 mL de inóculo + UHT + gel	8,049
4	1 mL de inóculo + UHT + bisnaga	7,927
5	3 mL de inóculo + UHT	7,670
6	3 mL de inóculo + UHT + gel	7,689
7	3 mL de inóculo + UHT + bisnaga	7,909
8	5 mL de inóculo + UHT	7,564
9	5 mL de inóculo + UHT + gel	7,946
10	5 mL de inóculo + UHT + bisnaga	7,389

As médias correspondem à carga bacteriana final expressa em log UFC/mL. O tratamento 1 (leite UHT sem inóculo) foi utilizado como controle negativo. Tratamento 1= controle, sem inoculação

No teste de difusão em disco houve diferença significativa entre os produtos (p = 0,0004), conforme a Tabela 2.

Tabela 2. Diâmetro dos halos de inibição no teste de difusão em disco.

Produto	Média ± desvio (mm)	Amplitude (mm)
Bisnaga (fitoterápico comercial)	16,58 ± 5,52	11–31
Gel de *Eucalyptus* sp.	7,75 ± 1,42	6–11

Médias seguidas do desvio-padrão. O diâmetro foi medido de uma extremidade à outra do halo, incluindo o próprio disco.

De acordo com Alves et al. (2000), o halo médio de 7,75 mm observado para o gel de *Eucalyptus* sp. classifica o produto como inativo. Os valores individuais do gel variaram de 6 a 11 mm, abrangendo resultados inativos (< 9 mm) e parcialmente ativos (9–12 mm). O medicamento comercial, com média de 16,58 mm, enquadra-se como ativo, com valores individuais entre 11 e 31 mm, distribuídos entre as categorias parcialmente ativo, ativo e muito ativo.

Os halos obtidos com o gel de eucalipto foram inferiores aos relatados na literatura para outros produtos naturais frente a agentes da mastite. Bezerra et al. (2009), avaliando extrato de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) sobre *S. aureus* isolado de casos de mastite bovina, observaram halos entre 6 e 25 mm, com sensibilidade considerada a partir de 12 mm, e sensibilidade de 100% dos isolados nas diluições de 1:1 a 1:32. Laginestra et al. (2024), trabalhando com óleo essencial

de *Tetradenia riparia*, também relataram atividade sobre bactérias causadoras de mastite. Mezzasalma et al. (2025) verificaram que o extrato de folhas de *Eucalyptus globulus* foi ativo sobre bactérias isoladas de mastite bovina, porém significativamente menos eficaz quando comparado aos compostos isolados da planta (ácidos ursólico e asiático). Esse conjunto de resultados sugere que a concentração dos princípios ativos no extrato aquoso, e não a ausência de atividade da espécie vegetal, seja o fator limitante observado neste estudo, o que é compatível com o desempenho do gel aqui avaliado.

CONCLUSÕES

Nas condições avaliadas, o gel de *Eucalyptus* sp. não reduziu a contagem bacteriana no leite inoculado, comportando-se de forma semelhante ao produto fitoterápico comercial. No teste de difusão em disco, o produto comercial foi mais efetivo, enquanto o gel foi classificado como inativo. Os resultados indicam a necessidade de ajustar a concentração do extrato e a formulação do gel antes de novas avaliações *in vitro*.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/UEM, pela concessão da bolsa de iniciação científica e pelo apoio ao desenvolvimento deste projeto.

REFERÊNCIAS

ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 3, p. 367-373, 2000. DOI: 10.1590/S0074-02762000000300012.

BEZERRA, D. A. C.; PEREIRA, A. V.; LÔBO, K. M. S.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A.; MEDEIROS, E. S.; RODRIGUES, S. C. Atividade biológica da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir.) sobre *Staphylococcus aureus* isolado de casos de mastite bovina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 814-817, 2009.

LAGINESTRA, B. F. A. et al. Atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Tetradenia riparia* e seu potencial no combate às bactérias causadoras de mastite em bovinos. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 28, n. 2, p. 273-287, 2024. DOI: 10.25110/arqsaude.v28i2.2024-11735.

MEZZASALMA, N.; SPADINI, C.; SPAGGIARI, C.; ANNUNZIATO, G.; ANDREOLI, V.; PROSPERI, A.; MOCHEN, L.; CAVIRANI, S.; GROLLI, S.; TADDEI, S.; COSTANTINO, G.; CABASSI, C. S. Antibacterial and antibiofilm activity of *Eucalyptus globulus* leaf extract, asiatic acid and ursolic acid against bacteria isolated from bovine mastitis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 12, 2025. DOI: 10.3389/fvets.2025.1565787.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**, version 9.1. Cary: SAS Institute, 2004.

SIMÕES, T. V. M. D.; OLIVEIRA, A. A. **Mastite bovina, considerações e impactos econômicos**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2012. 25 p. (Documentos, 170).