

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Fitoterapia na prevenção da mastite bovina: o potencial dos
extratos vegetais para produção leiteira orgânica**

Heloisa Cristina Brugnera

JABOTICABAL - SP

I

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Fitoterapia na prevenção da mastite bovina: o potencial dos
extratos vegetais para produção leiteira orgânica**

Heloisa Cristina Brugnera

Ruben Pablo Schocken-Iturrino

Marita Vedovelli Cardozo

Trabalho de Conclusão de Curso (Iniciação Científica) apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para graduação em Zootecnia.

JABOTICABAL - SP

2/2023

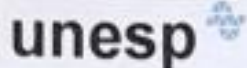
B891f Brugnera, Heloisa Cristina
Fitoterapia na prevenção da mastite bovina: o potencial dos extratos vegetais para produção leiteira orgânica / Heloisa Cristina Brugnera. -- Jaboticabal, 2023
28 p. : il., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Ruben Pablo Schocken-Iturrino
Coorientadora: Marita Vedovelli Cardozo

1. Microbiologia. 2. Mastite bovina. 3. Extratos vegetais. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL

DEPARTAMENTO: Patologia, Reprodução e Saúde Pública

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO: Fitoterapia na prevenção da mastite bovina: o potencial dos extratos vegetais para produção leiteira orgânica

ACADÊMICO: Heloisa Cristina Brugnara

CURSO: Zootecnia

ORIENTADOR (ES): Ruben Pablo Schocken-Iturnino
Marita Vedovelli Cardoso

Aprovado e corrigido de acordo com as sugestões da Banca Examinadora

BANCA EXAMINADORA:

Presidente Dr. Ruben Pablo Schocken-Iturnino

Membro Dr. Alessandra Aparecida Medeiros Ronchi

Membro Dr. Elka Machado Ferreira

gov.br
Documento assinado digitalmente
ALESSANDRA APARECIDA MEDEIROS RONCHI
Data: 24/08/2023 09:58:00
Verifique em https://validar.dig.br

gov.br
Documento assinado digitalmente
ELKA MACHADO FERREIRA
Data: 24/08/2023 11:12:08 -0300
Verifique em https://validar.dig.br

Jaboticabal 04 / 08 / 2023

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 28, 08, 2023
AD REFERENDUM

Chefe do Departamento
Prof.ª Karina Paes Bürger
Chefe do Depto. de Patologia, Reprodução e Saúde Única
FCAV, UNESP, Câmpus de Jaboticabal

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me mantido persistente durante todo o processo da Graduação e, principalmente, durante a escrita deste trabalho. Sou grata por Ele sempre ter sido minha fortaleza e nunca ter me deixado duvidar da minha fé.

Aos meus pais, Claudia e José, por todo o apoio e suporte que sempre me deram, por acreditarem sempre em mim e por todo o esforço que fizeram e fazem para que nunca me falte nada. Agradeço por sempre fazerem o máximo para que eu não perdesse oportunidades que eles não tiveram.

Ao meu parceiro e companheiro de vida, Caio Moraes de Vasconcellos, por ter me abraçado, me acalmado e me dado segurança em todos os momentos mais difíceis e por ter vibrado comigo em cada conquista que tive até aqui.

Aos meus colegas e amigos de turma, em especial ao Rodrigo José de Oliveira, que esteve comigo desde o início da Graduação, me ajudando nas minhas dificuldades e fazendo com que o caminho fosse mais fácil.

Aos meus professores, por terem dado o melhor de si para compartilharem seus conhecimentos. Em especial, aos meus orientadores, Pablo e Marita, por terem me apresentado o lindo universo da microbiologia.

Ao Laboratório de Microbiologia da FCAV/UNESP – Jaboticabal e toda a equipe que esteve lá comigo, me ensinando, apoiando e ajudando, principalmente, durante o desenvolvimento deste trabalho.

À FAPESP, pelo financiamento do Projeto de Iniciação Científica, o qual foi usado de base para este Trabalho de Conclusão de Curso.

“Faça o melhor que puder. Seja o melhor que puder. O resultado virá na mesma proporção de seu esforço.”

Mahatma Gandhi

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1.	Leite	2
2.2.	Microrganismos causadores de mastite	3
2.3.	Extratos Vegetais	5
3.	OBJETIVOS	6
3.1	Objetivo Geral	6
3.2	Objetivos Específicos	6
4.	MATERIAL E MÉTODOS	7
4.1	Amostragem	7
4.2	Quantificação Microbiológica	9
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
6.	CONCLUSÕES	15
7.	RESUMO	16
8.	SUMMARY	17
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18

1. INTRODUÇÃO

O leite e seus derivados são alimentos consumidos em grande escala mundialmente (BRASIL, 2019). Contudo, são objetos de preocupação dos produtores e processadores, por serem perecíveis, pois o leite é um meio nutritivo, facilitando o crescimento de microorganismos de diferentes origens, afetando sua qualidade e gerando risco a saúde do consumidor quando mal processado (SILVA et al., 2017).

A mastite bovina é uma patologia que provoca a inflamação da glândula mamária e se manifesta nas formas clínica e subclínica. Esta pode apresentar origem infecciosa ou não, sendo a primeira a forma mais comum da doença, geralmente ocasionada por bactérias, mas também por protozoários, leveduras e fungos filamentosos (DE ALMEIDA et al., 2020). De acordo com Rezende (2017), os principais prejuízos causados pela mastite bovina são devidos à redução da produção de leite ocorrida pela mastite subclínica, os custos gerados dos casos de mastite clínica, o custo do descarte e morte prematura de animais, os gastos com honorários dos veterinários, a compra de medicamentos e o descarte de leite com resíduos antimicrobianos. Uma das formas de tratamento de casos de mastite, é através do uso de antimicrobianos.

Entretanto, o uso de antimicrobianos como medida preventiva ou terapêutica de forma inadequada, pode causar diversos problemas (SILANIKOVE et al., 2010), como o desenvolvimento de uma resistência seletiva aos fármacos entre os patógenos causadores dessa doença (OLIVER; MURINDA, 2012). Por esse motivo, os sanitizantes utilizados são selecionados com base em suas propriedades antimicrobianas, capazes de reduzir a carga de microrganismos presentes no teto do animal tanto antes (*pré-dipping*), quanto depois da ordenha (*pós-dipping*).

Os produtos mais utilizados, geralmente, são a base de iodo, porém, extratos vegetais têm mostrado boa capacidade de redução do número total de microrganismos após sua aplicação (LOPES et al., 2020; MOSTAFA et al., 2018), sugerindo que uma formulação composta por alguns desses extratos possa ter uma boa eficiência de redução bacteriana no processo de *dipping* durante a ordenha. Dessa forma, torna-se uma alternativa viável para a indústria orgânica de leite, por ser um produto de origem natural, uma vez que este tipo de indústria exige um conjunto de cuidados mais restritivos com relação a todo o processo de ordenha.

Considerando o aumento da produção brasileira e mundial de leite e derivados; com foco na maior quantidade de interessados na produção orgânica, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia de um produto antisséptico fitoterápico à base de extratos vegetais de papaína (*Carica papaya* L.), babosa (*Aloe vera*), andiroba (*Carapa guianensis*), alecrim (*Salvia rosmarinus*), melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e barbatimão (*Stryphnodendron obovatum* Benth) no controle do crescimento bacteriano no úbere de vacas leiteiras, diminuindo as chances do desenvolvimento da mastite bovina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Leite

A produção mundial e brasileira de leite vem crescendo significativamente. Segundo o órgão Food And Agriculture Organization Of The United Nations - FAO (2023), eram produzidas 313 milhões de toneladas de leite no mundo, em 1967; enquanto em 2022, a estimativa da produção global chegou a 929,9 milhões de toneladas. No primeiro trimestre de 1997 foram produzidos cerca de 2,6 mil litros de leite no Brasil, enquanto no mesmo período de 2023 esse número subiu para 5,8 mil litros (IBGE, 2023).

Embora seja um setor em contínuo crescimento, há uma preocupação e trabalho constante para evitar problemas que podem prejudicar essa expansão, sendo a mastite bovina o principal deles.

O controle da qualidade do leite é uma dificuldade comum, principalmente, entre os pequenos produtores, pois afeta o desempenho econômico das propriedades, tornando esses produtos não competitivos no mercado consumidor, atingindo o sistema social e econômico do pecuarista (MUMIC et al., 2015). Um dos problemas dos produtores com o rebanho leiteiro é o reflexo do déficit de programas de controle de doenças, como a mastite, que impacta tanto a qualidade, quanto a quantidade do produto (BRASIL, 2019).

2.2.Microrganismos causadores de mastite

A presença de agentes patogênicos que são eliminados através do leite contaminado representa uma preocupação para a saúde dos consumidores. Os principais microrganismos causadores de mastite bovina são o *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. e, se ingeridos por humanos, podem ocasionar doenças. Em uma revisão bibliográfica sobre microrganismos causadores de mastite no Brasil, de Almeida et al. (2020) verificaram que, *Staphylococcus aureus* foi a espécie com a detecção mais elevada, sendo descrito em 81,25% (13/16) dos artigos selecionados relativos à mastite bovina. *Streptococcus agalactiae* com 50% (8/16), *Escherichia coli* 43% (7/16), *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis* representado em 37,50% (6/16), cada; *Staphylococcus intermedius* é descrito em 25% (4/16). Estes percentuais mostram que os cocos Gram-positivos correspondem aos mais frequentes causadores de mastite bovina no Brasil.

Ainda que esses microrganismos sejam os mais predominantes em casos de mastite, bactérias do grupo das enterobactérias também merecem atenção. Conforme Santiago (2013), existem muitos gêneros dentro deste grupo, sendo os principais: *Escherichia* spp., *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Yersinia* spp., *Enterobacter* spp. e *Serratia* spp. No estudo realizado por Santiago (2013), as espécies de enterobactérias com maior percentual nas amostras de leite provenientes de vacas acometidas com mastite, foram *Proteus mirabilis* e *Escherichia coli*, com percentual de 43,23% e 40,48%, respectivamente.

Em um estudo feito sobre a prevalência e etiologia da mastite bovina em propriedades rurais da região Noroeste Paulista, por dos Santos Pinto et al. (2021), os resultados do isolamento microbiano mostraram a presença de agentes Gram-positivos em 92,2% dos casos, e Gram-negativos em 7,8%. Dentre os Gram-positivos, 65% eram *Staphylococcus aureus*, 30% *Streptococcus* spp., e 5% *Staphylococcus* spp. coagulase negativo. Todas as amostras de Gram-negativas eram *Escherichia coli*. O isolamento destes microrganismos é um fator preocupante, pois pode indicar ausência de boas práticas de higiene na ordenha, uma vez que são agentes comuns na etiologia da mastite contagiosa e ambiental (ZIMERMANN; ARAUJO, 2017).

LOPES et al. (2011) observaram em seu estudo que o tratamento preventivo nas propriedades rurais teria o impacto econômico de 6%, enquanto o tratamento curativo seria equivalente a 15,3% e as perdas causadas por mastite por Kg de leite produzido poderiam chegar a 78,8%. Ainda, Mesquita et al. (2018), demonstraram que as perdas diárias em consequência da mastite podem chegar a 6,8%.

2.3.Extratos Vegetais

Dentre os extratos vegetais utilizados como antimicrobianos, destaca-se a papaína, uma mistura de enzimas proteolíticas e peroxidases proveniente do látex do mamoeiro *Carica papaya*. Sua ação é caracterizada por provocar a dissociação das proteínas em aminoácidos, ou seja, proteólise. O uso desse extrato vegetal promove a liquefação e retirada da secreção purulenta, ativando o processo de regeneração tecidual e contribuindo para a redução do período de cicatrização; além de apresentar ação bactericida, bacteriostática e anti-inflamatória, agindo apenas nos tecidos necróticos e desvitalizados, sem interferir no tecido sadio (OSOSKI et al., 2017).

Ainda sobre os extratos vegetais, em um trabalho realizado por Reis e Fortuna (2016), com o objetivo de avaliar a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos e éter etílicos de *Plectranthus grandis* (Boldo) e *Aloe vera* (Babosa), sobre cepas padrão de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, a autora citou diversos resultados de pesquisas, nos quais obtiveram conclusões de que o extrato da Babosa possui ação inibitória contra *S. aureus* e *E. coli*; alguns estudos citam, ainda, somente a ação inibitória contra *S. aureus*.

Conforme Ferreira (2022), assim como a casca da banana possui bioativos com efeitos benéficos ao processo de cicatrização de feridas, estudos apontam que o óleo de andiroba apresenta ação potencializadora do processo cicatricial. O óleo extraído de sementes de plantas da espécie *Carapa guianensis* (Andiroba), é um produto que oferece importantes propriedades medicinais, como atividades anti-inflamatórias, antioxidantes e anticarcinogênicas (MELO et al., 2021).

Em um estudo intitulado “Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*”, de Castro

Guimarães et al. (2017), foram obtidos resultados nos quais o óleo essencial de alecrim demonstrou atividade inibitória sobre ambas as cepas testadas, porém, apresentou maior potencial inibitório sobre bactérias Gram-negativas, pela maior sensibilidade de *E. coli*.

De acordo com Chen et al. (2016), a *Melaleuca alternifolia* pode fornecer um óleo essencial com potencial antimicrobiano e antioxidante. E em um outro estudo, o autor Fernandes (2020) discorre sobre o valor terapêutico agregado ao barbatimão devido aos taninos presentes em sua composição; taninos são compostos fenólicos sintetizados através do metabolismo secundário de plantas com o objetivo de suporte e proteção para a planta contra herbívoros e ainda atuam como agentes antimicrobianos (SANT'ANA et al., 2002).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o produto fitoterápico, denominado Profilacto, e sua capacidade de controlar o crescimento microbiano no úbere de vacas leiteiras em lactação.

3.2 Objetivos Específicos

- Quantificar bolores e leveduras totais;
- Quantificar enterobactérias totais;
- Quantificar microrganismos aeróbios mesófilos totais;
- Quantificar *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. totais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), protocolo número 2325/21.

4.1 Amostragem

As coletas e análises foram realizadas entre novembro de 2022 e fevereiro de 2023. Foram utilizados animais de bovinocultura leiteira da raça Girolando, alocados em duas propriedades rurais produtoras de leite na cidade de Jaboticabal, São Paulo. Ambas as propriedades possuem rotina e manejo semelhantes.

Para a pesquisa, utilizou-se 20 animais de cada fazenda, nas quais foram realizadas 4 coletas, com intervalos de 15 dias. Desses, 10 fizeram parte do Grupo Tratamento e os outros 10, do Grupo Controle. A seleção dos animais foi feita de modo aleatório logo na primeira coleta, onde o único critério para seleção era que fossem animais sadios (testados e negativados para mastite através de técnicas *in situ*, sendo elas: teste da caneca de fundo preto e California Mastitis Test (CMT)), realizadas por trabalhadores das fazendas antes de cada ordenha. Após a escolha dos 20 animais que fariam parte do experimento e designação de seus respectivos grupos, estes foram repetidos durante todo o experimento, a fim de proporcionar uma averiguação da eficácia dos produtos a longo prazo.

Durante a pesquisa, não houve casos de animais com mastite, descartando a necessidade de exclusão e reposição dos mesmos ao longo do experimento. Os produtos foram aplicados por imersão, com auxílio do copo sanitizante de tetos. Para a verificação da eficácia do pós-*dipping*, a coleta foi realizada antes da aplicação de qualquer produto na pele do animal no momento da ordenha. Com isso, foi possível averiguar a capacidade do produto, aplicado no dia anterior, em retardar o crescimento microbiano até a próxima

ordenha. Já o *pré-dipping* foi avaliado através da coleta após 30 a 60 segundos da sua aplicação na pele do animal no momento da ordenha, para verificar sua capacidade de redução da carga microbiana. Sendo assim, foram obtidas 2 amostras por animal (*pré* e *pós-dipping*), gerando 40 amostras por coleta em cada fazenda, totalizando, ao final do experimento, 320 amostras.

Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo Tratamento, no qual foi utilizado o produto natural a ser avaliado, com *pré-dipping* composto por: água deionizada, extrato da fruta de *Carica Papaya*, extrato glicólico de Aloe Vera, óleo de semente de Andiroba, goma xantana, ácido hialurônico, óleo de melaleuca, bálsamo de copaíba, aminometilpropanol, metilparabeno e propilparabeno. Já o *pós-dipping*, composto por: corante verde, extrato glicólico de barbatimão, extrato da fruta de *Carica Papaya*, extrato glicólico de Aloe Vera, óleo de semente de Andiroba, goma xantana, ácido hialurônico, metilparabeno, propilparabeno, bálsamo de copaíba, óleo essencial de alecrim, óleo de melaleuca, glicerol e água deionizada.

O segundo grupo, denominado Grupo Controle, onde foi utilizado o produto comumente aplicado nas ordenhas, a base de iodo e peróxido de hidrogênio, composto por: peróxido de hidrogênio, ácido etidrônico, decil poliglucosídeo, cloreto de benzalcônio, glicerol, NanoHydrate, hietelose, formaldeído, hidróxido de sódio, corante polimérico green HMC e água purificada para a formulação do *pré-dipping*; enquanto que o *pós-dipping* é composto por: tensoativo aniônico, espessante, glicerina, polivinil pirrolidona e água deionizada; princípio ativo: polivinil pirrolidona. Como o experimento se deu por um ensaio de não inferioridade, o grupo controle recebeu o produto padrão utilizado para tal finalidade (iodo).

A coleta foi feita por meio da fricção da pele de um dos tetos dos animais com o auxílio de um *swab* estéril, através de movimentos circulares. Em seguida, os *swabs* foram conservados em tubos de ensaio contendo meio de cultura líquido peptona bacteriológica na concentração 0,1% (m/v) (Oxoid, Reino Unido) e acondicionados em caixas hermeticamente fechadas e refrigeradas para transporte até o Laboratório de Bacteriologia Veterinária do Departamento de Patologia Veterinária da UNESP Câmpus de Jaboticabal, para que fossem feitas as devidas análises microbiológicas.

4.2 Quantificação Microbiológica

A quantificação das amostras foi realizada através da técnica de contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/cm²) pelo método de plaqueamento em superfície. Nesta técnica, cada amostra foi diluída, em até 3 vezes, em tubos contendo peptona bacteriológica 0,1% (m/v) na proporção 1:10, e a partir de cada diluição, foi utilizado 0,1mL como inóculo para contagem (Tabela 1).

Tabela 1 – Relação dos microrganismos e respectivos meios utilizados para fazer contagem.

Microrganismo	Meio de contagem
Bolores e leveduras	Ágar Batata-Dextrose
Enterobactérias	Ágar MacConkey
Mesófilos aeróbios totais	Ágar Nutriente
<i>Staphylococcus</i> spp.	Ágar Sal-Manitol
<i>Streptococcus</i> spp.	Ágar Sangue-Azida

O inóculo foi homogeneizado com auxílio de alça de Drigalski e em seguida, as placas foram incubadas em estufas à temperatura de 37°C por um período de 24 horas. Posteriormente, foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) para

a quantificação da carga microbiana antes e depois da aplicação dos produtos antissépticos

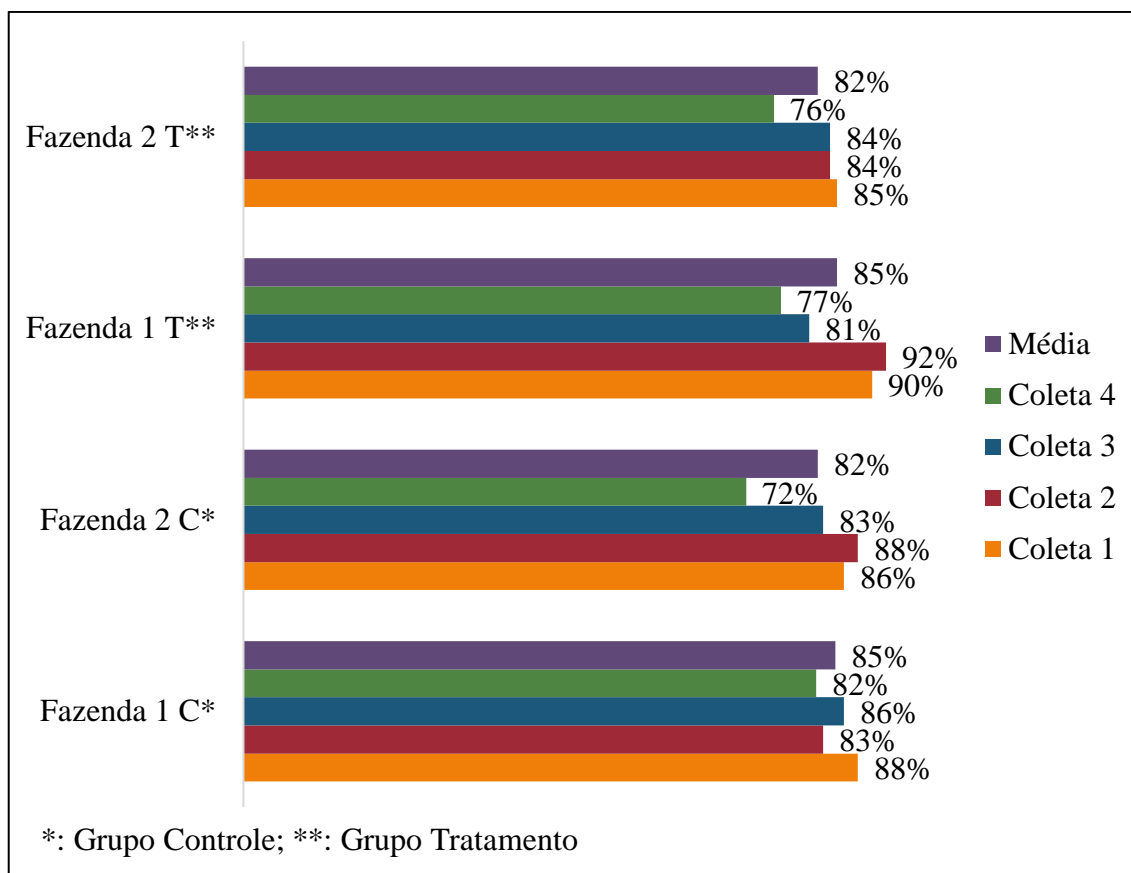
A leitura dos resultados foi feita em placas de Petri contendo entre 30 – 300 colônias isoladas. Todas as amostras foram posteriormente inoculadas em tubos Eppendorf contendo meio de cultura líquido Caldo *Brain-Heart-Infusion* (Oxoid, Reino Unido) e glicerol 30% (v/v) na proporção 1:1 e estocadas em *ultrafreezer* a -80°C para posteriores análises.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De modo geral, foi possível observar diminuição na carga microbiana presente nos tetos das vacas após a aplicação do *pré-dipping*, tanto nos animais do Grupo Controle quanto nos animais do Grupo Tratamento, conforme está detalhado na Tabela 2. Os dois tratamentos obtiveram resultados numericamente iguais, reduzindo a concentração bacteriana total em 85% e 82% nas fazendas 1 e 2, respectivamente, cumprindo com suas funções, como apresentado na Figura 1.

Além disso, também se observou uma eficácia numericamente igual entre ambos os produtos em relação ao *pós-dipping*, na função de retardar o crescimento microbiano, como mostrado na Tabela 2, onde há uma constância na carga microbiológica antes da aplicação do *pré-dipping* durante todo o período de pesquisa.

Figura 1 – Média da redução de microrganismos totais após a aplicação do produto antisséptico (*pré-dipping*).



Nesta pesquisa, foi possível verificar uma maior eficácia dos produtos utilizados na redução de enterobactérias, que são Gram-negativas. Tais resultados são semelhantes aos descritos por de Castro Guimarães et al., (2017), onde foi relatada maior sensibilidade de *E. coli* aos extratos vegetais quando comparados aos microrganismos Gram-positivos. Isso pode ser explicado pela diferente composição estrutural das paredes celulares destes microrganismos, sendo que: nas bactérias Gram-positivas, é constituída de cerca de 90% de peptidoglicano, enquanto nas Gram-negativas é composta por uma maior parte de membrana externa e apenas uma pequena parte de peptidoglicano (MADIGAN et al., 2016), tornando-as menos resistentes.

Tabela 2 - Média populacional bacteriana (UFC/cm²) antes e depois da aplicação dos produtos antissépticos (*pré-dipping*).

	Aplicação	Coleta - Fazenda 1				Coleta - Fazenda 2				
		1	2	3	4	1	2	3	4	
Controle	Enterobactérias	Antes	10 ²	10 ¹	10 ²	10 ¹	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ¹
		Depois	10 ¹	≤ 1,0x10	≤ 1,0x10	10 ¹	≤ 1,0x10	≤ 1,0x10	10 ¹	≤ 1,0x10
	Staphylococcus spp.	Antes	10 ³	10 ²	10 ³	10 ³	10 ³	10 ²	10 ²	10 ⁴
		Depois	10 ²	10 ¹	10 ²	10 ²	10 ²	10 ¹	10 ¹	10 ³
	Streptococcus spp.	Antes	10 ¹	10 ¹	10 ²	10 ²	10 ²	10 ¹	10 ²	10 ³
		Depois	≤ 1,0x10	≤ 1,0x10	10 ¹	10 ¹	10 ¹	≤ 1,0x10	10 ¹	10 ¹
	Mesófilos totais	Antes	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
		Depois	10 ²	10 ²	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
	Bolores e leveduras	Antes	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ⁴
		Depois	10 ²	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ²	10 ³
Tratamento	Enterobactérias	Antes	10 ²	10 ²	10 ¹	10 ¹	10 ¹	10 ²	10 ²	10 ¹
		Depois	≤ 1,0x10	≤ 1,0x10	≤ 1,0x10	≤ 1,0x10	≤ 1,0x10	≤ 1,0x10	10 ¹	≤ 1,0x10
	Staphylococcus spp.	Antes	10 ³	10 ³	10 ³	10 ²	10 ³	10 ²	10 ³	10 ³
		Depois	10 ¹	10 ²	10 ²	10 ²	10 ²	10 ¹	10 ¹	10 ²
	Streptococcus spp.	Antes	10 ²	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ²	10 ²	10 ³	10 ³
		Depois	≤ 1,0x10	≤ 1,0x10	10 ¹	10 ²	10 ¹	10 ¹	10 ¹	10 ²
	Mesófilos totais	Antes	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁵
		Depois	10 ²	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁴	10 ⁴
	Bolores e leveduras	Antes	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
		Depois	10 ²	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁴

1: refere-se à média da contagem na 1ª coleta de cada fazenda; 2: refere-se à média da contagem na 2ª coleta de cada fazenda; 3: refere-se à média da contagem na 3ª

coleta de cada fazenda; 4: refere-se à média da contagem na 4ª coleta de cada fazenda.

Diante disso, é possível evidenciar nos resultados que os grupos *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. obtiveram uma redução numérica menos visível em comparação ao grupo de Enterobactérias, em aproximadamente 10^1 UFC/cm².

Para analisar os resultados referentes ao grupo de Mesófilos aeróbios totais é necessário entender o que caracteriza esses microrganismos. Organismos mesófilos são aqueles que apresentam uma maior taxa de crescimento em temperaturas medianas (entre 20°C e 40°C) (MADIGAN et al., 2016). Organismos aeróbios, que necessitam de oxigênio (MANTOVANI, 2020), se multiplicam muito mais rápido em comparação aos anaeróbios. Portanto, esse é um grupo de difícil controle populacional, como pode-se observar na Tabela 2, onde há um aumento maior na carga desses microrganismos antes da aplicação do pré-*dipping* durante o experimento e também uma menor redução dessa carga após a aplicação do produto antisséptico, pois os animais estão sempre expostos à ambientes com temperaturas medianas e presença de oxigênio, favorecendo a multiplicação e, conseqüentemente, dificultando a redução da carga microbiana destes.

Analisando ainda os resultados apresentados na Tabela 2, é possível observar que ambos os tratamentos não obtiveram os melhores resultados na redução populacional de bolores e leveduras. Isso pode ser explicado devido à constituição da parede celular desses fungos, formada predominantemente por quitina, o que garante uma parede de estrutura mais robusta e resistente, de acordo com Madigan et al. (2016).

Ainda, isso pode ser devido à complexidade dos compostos presentes nas plantas, que podem variar em composição e concentração (JARDIM, 2016; CECHINEL FILHO; YUNES, 1998), e que também variam de acordo com a fase de desenvolvimento da mesma (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Essa variabilidade torna desafiador o estabelecimento de dosagens adequadas e padronizadas para o tratamento antifúngico.

Além disso, a interação entre os princípios ativos dos fitoterápicos e os mecanismos de ação desses compostos, podem não atuar de forma satisfatória em fungos, uma vez que são eucariotos e se multiplicam através de esporos, que contém alta resistência a tratamentos térmicos e/ou químicos.

Em pesquisas bibliográficas foram encontrados alguns trabalhos relacionados ao uso de extratos vegetais como pré e pós-*dipping*; visando a redução da carga microbiana da pele dos tetos dos animais e, conseqüentemente, a diminuição da ocorrência de mastite. Mureza et al. (2021) comprovaram a diminuição da contagem bacteriana nos tetos após a imersão em sanitizantes compostos por extratos de alho e de cacto. Ainda, Silva et al. (2023), comprovaram a queda no número de UFCs presentes na glândula mamária após o uso de vinagre de madeira de *Eucalyptus urograndis* clone I144 a 1% como pós-*dipping*. Também Purgato et al. (2021) comprovaram altas atividades antimicrobiana e antibiofilme dos extratos de raiz de *Salvinia auriculata* e sugere a possibilidade do uso do mesmo para produção de um produto seguro de imersão para desinfecção dos tetos pré e pós-ordenha.

Atualmente, ainda há um baixo número de experimentos *in vivo* na literatura com o objetivo de avaliar o possível efeito de extratos de plantas no tratamento de doenças bacterianas da pele (MALA et al., 2021). Pesquisas relacionadas ao uso de extratos e plantas como fitoterápicos para controle e tratamento de doenças têm se destacado com grande importância dentro do setor de produção agropecuário, devido ao seu alto potencial de eficácia, além de ser uma opção mais sustentável e ecológica.

De acordo com a definição de Banzatto e Kronka (2013), que recomenda um número mínimo de 20 parcelas e o número de resíduo não inferior a 10, a quantidade de animais escolhidos para o presente trabalho está coerente para a geração de um resultado

f confiável, uma vez que foram utilizados 2 tratamentos, com 10 repetições cada; gerando um total de 20 parcelas e um número de resíduo igual a 18. Uma análise estatística semelhante, também avaliando a eficácia de antissépticos em produção leiteira, foi realizada por do Nascimento (2022).

6. CONCLUSÕES

O experimento realizado *in vivo* permitiu confirmar o poder dos extratos vegetais, quando usados para imersão, no controle populacional de microrganismos causadores de mastite na pele do teto das vacas. Visto que o produto testado, à base de extratos vegetais, apresentou eficácia na sanitização da glândula mamária numericamente igual ao produto controle, à base de peróxido de hidrogênio e iodo, pode-se dizer que esta é uma forte alternativa, ecológica e sustentável, para o setor pecuário de leite no controle da mastite. Entretanto, são necessários mais estudos para avaliar o potencial efeito antimicrobiano, além de possíveis efeitos tóxicos, dos diferentes extratos e em diferentes concentrações e combinações.

7. RESUMO

O leite, rico em proteínas e nutrientes, é um meio propício a multiplicação microbiana, fazendo necessária a adoção de boas práticas de higiene durante a ordenha. O processo de *dipping* é utilizado visando reduzir a carga microbiana no teto, e conseqüentemente, a contaminação do leite e a infecção do quarto mamário. Produtos à base de hipoclorito de sódio e iodo são comumente utilizados, contudo a literatura tem evidenciado alternativas eficazes na redução de microrganismos, como os produtos à base de extratos vegetais. Em busca do desenvolvimento e da relevância de produtos naturais, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia da associação de extratos vegetais de papáina, babosa, andiroba, alecrim, melaleuca e barbatimão em ensaios *in vivo*. Para isso, amostras foram coletadas, de tetos de 40 vacas leiteiras, para realização de análises microbiológicas de quantificação, através da técnica de contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/cm²), dos principais microrganismos relacionados a cadeia produtiva do leite (bolores e leveduras, Enterobactérias, mesófilos totais, *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp.), utilizando o método de plaqueamento em superfície. Nas análises, foi possível observar diminuição na carga microbiana presente nos tetos das vacas após a aplicação do pré-*dipping*, bem como o retardo no crescimento microbiano em resposta ao pós-*dipping* nos animais de ambos os Grupos - Controle e Tratamento. Assim, com esse trabalho, foi possível identificar uma alternativa natural de antisséptico eficaz na produção leiteira, capaz de reduzir a concentração microbiana no úbere das vacas após o pré e pós- *dipping*, garantindo, por sua vez a saúde dos animais e dos consumidores, de modo equivalente ao produto comumente utilizado.

Palavras-chaves: Antimicrobianos, Inflamação da Glândula Mamária, Pecuária Orgânica, Saúde Única, Substâncias Vegetais.

8. SUMMARY

Milk, rich in proteins and nutrients, is a conducive medium for microbial multiplication, making it necessary to adopt good hygiene practices during milking. The dipping process is used in order to reduce the microbial load on the teat, and consequently, the contamination of the milk and the infection of the mammary quarter. Products based on sodium hypochlorite and iodine are commonly used, however the literature has shown effective alternatives in reducing microorganisms, such as products based on plant extracts. In search of the development and relevance of natural products, the present work aimed to evaluate the effectiveness of the association of plant extracts of papain, aloe vera, andiroba, rosemary, melaleuca and barbatimão *in vivo* tests. For this, samples were collected from the teats of 40 dairy cows, to carry out microbiological quantification analyzes, through the technique of counting Colony Forming Units (CFU/cm²), of the main microorganisms related to the milk production chain (molds and yeasts, Enterobacteriaceae, total mesophiles, *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp.), using the surface plating method. In the analyses, it was possible to observe a decrease in the microbial load present in the teats of the cows after the application of the pre-*dipping*, as well as the delay in the microbial growth in response to the post-*dipping* in the animals of both Groups - Control and Treatment. Thus, with this work, it was possible to identify a natural alternative to an effective antiseptic in dairy production, capable of reducing the microbial concentration in the udder of cows after pre and post-*dipping*, ensuring, in turn, the health of animals and consumers, equivalent to the commonly used product.

Keywords: Antimicrobials, Mammary Gland Inflammation, Organic Livestock, One Health, Plant Substances.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. D. **Experimentação agrícola**. 4th ed. Jaboticabal, SP: Funep, 2013.
- BRASIL. 2019. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anuário do leite, p.104, 2019.
- CHEN, M. et al. Facile fabrication of tea tree oil-loaded antibacterial microcapsules by complex coacervation of sodium alginate/quaternary ammonium salt of chitosan. **RSC Advances**, v. 6, p. 13032–13039, 2016.
- CECHINEL FILHO, V., & YUNES, R. A. Strategies for obtaining pharmacologically active compounds from medicinal plants. Concepts about structural modification for improve the activity. **Química Nova**. 1998.
- DE ALMEIDA, Patrícia Veiga et al. Micro-organismos Isolados de Mastite Bovina e em Leite Cru no Brasil. **UNICIÊNCIAS**, v. 24, n. 1, p. 58-64, 2020.
- DE CASTRO GUIMARÃES, Caroline et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 15, n. 2, 2017.
- DO NASCIMENTO, Gabriel Michelutti. Própolis no controle da mastite bovina bacteriana: uma ferramenta para a produção de leite orgânico. **Semina: Ciênc. Agrár. Londrina**, v. 43, n. 2, p. 869-882, mar./abr. 2022.
- DOS SANTOS PINTO, Michel et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina em propriedades rurais da região Noroeste Paulista. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 19184-19192, 2021.
- FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Total Milk Production Worldwide Comparison 2023**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#compare>>. Acesso em: 09/062023.
- FERNANDES, Wagner Ramos. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PLANTA *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). 2020. Disponível em: <<http://www.repositorioguairaca.com.br/jspui/bitstream/23102004/189/1/Avalia%C3%A7%C3%A3o%20da%20atividade%20antimicrobiana%20da%20planta%20Stryphnodendron%20adstringens%20%28barbatim%C3%A3o%29.pdf>>.
- FERREIRA, Elisângela da Silva. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANA DE QUITOSANA COM EXTRATO DE BANANA VERDE E ANDIROBA PARA CICATRIZAÇÃO DE LESÕES EPITELIAIS. 2022. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Pará.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2023. **Pesquisa Trimestral do Leite 2023**. IBGE 2023. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html>>. Acesso em: 09/062023.

JARDIM, Paloma Michelle de Sales. **Plantas medicinais e fitoterápicos: guia rápido para a utilização de algumas espécies vegetais**. 2. ed. Brasília: Universidade de Brasília, 2016.

LOPES, M.A. et al. Influência da contagem de células somáticas sobre o impacto econômico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.4, p.493-499, 2011.

LOPES, T. S. et al. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. **Research in veterinary science**, v. 131, n. April, p. 186–193, 2020.

MADIGAN, M. T. et al. (2016). **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed.

MALA, L., Lalouckova, K.; SKRIVANOVA, E. (2021). Bacterial Skin Infections in Livestock and Plant-Based Alternatives to Their Antibiotic Treatment. *Animals*, v. 11, n. 8, p. 2473. DOI: 10.3390/ani11082473.

MANTOVANI, Janaina Lara da Silva. **Microbiologia básica**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A. 2020. 169 p.

MELO, K. M., OLIVEIRA, L. F. S., ROCHA, R. M., FERREIRA, M. A. P., FASCINELI, M. L., MILHOMEM-PAIXAO, S. S. R., GRISOLIA, C. K., SANTOS, A. S., SALGADO, H. L. C., MUEHLMANN, L. A., AZEVEDO, R. B., PIECZARKA, J. C., NAGAMACHI, C. Y., 2021, “Andiroba oil and nanoemulsion (*Carapa guianensis Aublet*) reduce lesion severity caused by the antineoplastic agent doxorubicin in mice”, **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 138.

MESQUITA, A. A. et al. Contagem bacteriana total e contagem de células somáticas como indicadores de perdas de produção de leite. **PUBVET**, v.12, n.6, a119, p.1-9, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156 p. Cadernos de Atenção Básica; n. 31.

MOSTAFA, A. A. et al. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 361–366, 2018.

MUMIC, B.; AGUIAR, K. A. P.; LIVRAMENTO, D. E. A importância do associativismo na organização de produtores rurais. **Rev. Inic. Cient. LIBERTAS**, v.5, n.1, p.5-22, 2015.

MUREZA, S., SMIT, C. J., MUYA, M. C.; NHERERA-CHOKUDA, F. V. (2021, abril). Effects of plant extracts as pre-milking dairy cow teat sanitizer. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 31, n. 2, p. 403-408. DOI: 10.36899/JAPS.2021.2.0228.

OLIVER SP; Murinda SE. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. **Vet Clin North Am Food Anim Pract.** 28(2):165-85, 2012.

OSOSKI, E. X.; CARDOSO, B. M.; SILVEIRA, S. M. M. P.; OGAVA, S. E. N. **USO DA PAPAÍNA, *Calendula officinalis* E PRÓPOLIS NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE LESÕES CUTÂNEAS.** UNICESUMAR - CENTRO UNIVERSITÁRIO DE MARINGÁ, 2017.

PURGATO, Gislaine Aparecida et al. *Salvinia auriculata*: chemical profile and biological activity against *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 2401–2411, 2021. DOI: 10.1007/s42770-021-00595-z.

REIS, Stephanie Ferreira; FORTUNA, Jorge Luiz. Atividade antimicrobiana de extratos de *Plectranthus grandis* (LH Cramer) *R. Willemse* (Boldo) e Aloe vera (Linnaeus) *Burm* (Babosa) sobre *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Biociências**, v. 22, n. 1, p. 39-47, 2016.

REZENDE E. DE S. J. **Modelo de detecção de mastite em vacas leiteiras usando termografia infravermelho.** Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola. Universidade Estadual de Campinas, p. 56. 2017. Disponível em:

<http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/325645/1/Rezende_ElisaDeSouzaJunqueira_D.pdf>. Acessado em: 06/06/2021.

SANTIAGO, G. S. **Caracterização da resistência antimicrobiana e estudos fenogenotípico da produção de betalactamases em enterobactérias associadas à etiologia da mastite bovina.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Curso em pós-graduação em Ciências Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, p.84. 2013.

SANT'ANA, A. E. G. Em Biodiversidade, Conservação e Uso Sustentável da Flora do Brasil; Araújo, E. L.; Moura, A. N.; Sampaio, E. S. B.; Gestinari, L. M. S.; Carneiro, J. M. T., eds.; **Imprensa Universitária: UFRPE**, Recife, 2002.

SILANIKOVE N, LEITNER G, MERIN U, PROSSER CG. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v. 89, n. 2, p. 110-124, 2010.

SILVA, A. C.; SILVA, F. F.; BETT, V. A prevalência de mastites em vacas leiteiras do município de Carlinda (MT), no ano de 2016. **PUBVET**, v.11, n.8, p.761-766, 2017. doi: 10.22256/PUBVET.V11N8.761-766.

SILVA, B. A. DA, FEIJÓ, F. M. C., ALVES, N. D., PIMENTA, A. S., BENICIO, L. D. M., JÚNIOR, E. C. DA S., SANTOS, C. S., PEREIRA, A. F., MOURA, Y. B. F.,

GAMA, G. S. P.; LIMA NETO, E. DE S. (2023). Use of a product based on wood vinegar of Eucalyptus clone I144 used in the control of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**. DOI: 10.1016/j.vetmic.2023.109670.

ZIMERMANN, K. F.; ARAUJO, M. E. M. Mastite bovina: agentes etiológicos e susceptibilidade a antimicrobianos. **Campo Digital**, v. 12, n. 1, 2017.