

IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MASTITE BOVINA E PERFIS DE SUSCEPTIBILIDADE À AÇÃO ANTIMICROBIANA DO ÓLEO DE GIRASSOL (*HELIANTHUS ANNUUS L.*)

CRISTINA HALLAL DE FREITAS¹; JOSIARA FURTADO MENDES²; ISABEL DE
ABREU ESTEVES³; CLAUDIO PEREIRA⁴; HELENICE DE LIMA GONZALES⁵;
PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – crishallal@hotmail.com

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul – josiara.mds@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – bel.esteves@live.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – h.gonzalez@terra.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – patasn@bol.com.br

1. INTRODUÇÃO

A mastite se constitui num processo inflamatório da glândula mamária causadora de grandes perdas econômicas na bovinocultura leiteira devido à redução na produção de leite e de sua qualidade, aumento do uso de medicamentos e morte dos animais. A etiologia dessa doença pode ser de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica ou infecciosa, sendo as causas infecciosas as principais (FREITAS et al., 2005).

Os agentes causadores da mastite, além de serem responsáveis pelos prejuízos citados, apresentam resistência a diversos antibióticos utilizados rotineiramente no tratamento desta doença. Desta forma, é de grande importância o isolamento e identificação desses agentes em laboratórios e a análise da sua suscetibilidade *in vitro* para um melhor controle através de terapêutica adequada (FREITAS et al., 2005).

A antibioticoterapia é o procedimento mais utilizado no tratamento da mastite bovina, porém a crescente preocupação com a presença de resíduos de antibióticos no leite e o aparecimento de estirpes bacterianas resistentes tem estimulado a busca por meios alternativos que reduzam ou eliminem tais problemas. Essas situações vêm despertando o interesse dos cientistas na busca de novos farmacos, incentivando a procura por produtos originários de fontes naturais, como as plantas medicinais (PINTO et al., 2001).

Estudos têm identificado algumas plantas que apresentam ação sobre microrganismos causadores de mastite bovina: *Achyrocline satureioides*, conhecida como “Macela” (SPEROTTO, 2010); *Eucalyptus sp.* (SHUCH, 2007); *Origanum vulgare*, o Orégano (OYARZABAL, 2011); entre outros.

Não foi encontrado na literatura revisada nenhum trabalho envolvendo atividade antimicrobiana do óleo essencial de Semente de Girassol frente a agentes de mastite bovina. Este trabalho relata os resultados da atividade antimicrobiana desse óleo frente a bactérias isoladas de leite de vacas com mastite.

2. METODOLOGIA

Para realização desse estudo, foram selecionados 19 isolados bacterianos provenientes de amostras de leite coletadas de quartos mamários que apresentaram mastite subclínica, verificada através do California Mastitis test (CMT), onde a classificação é dada conforme a intensidade da reação formada: leve (+), moderada (++) e intensa (+++) (FONSECA; SANTOS, 2000). Essas amostras foram coletadas em propriedades localizadas na região do município de Pelotas, RS, caracterizadas por rebanhos das raças Holandês e Jersey.

As colônias isoladas foram identificadas através da observação da ocorrência de Hemólise, coloração de Gram, Catalase, teste da Coagulase e provas bioquímicas específicas (BRASIL, 2000). As espécies foram confirmadas através do sistema automatizado Vitek 2[®].

As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) do óleo de girassol foram determinadas pela técnica de microdiluição em caldo Müller-Hinton de acordo com o protocolo M7-A6 (CLSI, 2008). A CIM foi definida como a menor concentração do óleo que inibiu o crescimento bacteriano visível quando comparado com o controle.

Em adição, foram determinadas as menores concentrações capazes de inibir 50 e 90% dos isolados, obtidas através do CIM 50 e CIM 90, respectivamente. Os isolados foram classificados em: sensíveis (CIM \leq CIM 50); intermediário (CIM 50 \leq CIM \leq CIM 90) e resistentes (CIM \geq CIM 90).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como mostra a Tabela 1, a maioria dos 19 isolados analisados pertence ao gênero *Staphylococcus* spp. (52,6%), seguido de *Enterococcus* spp. (36,8%). De forma semelhante, FERREIRA et al. (2007) identificaram o gênero *Staphylococcus* sp. em 74,60% dos casos de mastite. No Brasil, os *Staphylococcus*, seguidos dos *Streptococcus* e do *Corynebacterium bovis*, são citados como os principais microrganismos associados a casos de mastite bovina (BRITO et al., 1999).

Conforme verificado na Tabela 1, 42,1% das cepas foram identificadas como *Staphylococcus aureus*. No gênero *Staphylococcus*, o *S. aureus* sempre foi a espécie mais importante relacionada à uma série de infecções e intoxicações no ser humano e nos animais. Bactérias dessa espécie destacam-se como microrganismos causadores de mastites contagiosas de maior importância, maior ocorrência nos rebanhos mundiais, e de tratamento mais difícil devido à elevada resistência aos antimicrobianos (FREITAS, 2005).

Dois isolados foram identificados como *Kokuria kristinae*, embora não exista relatos com esta bactéria como causadora de mastite na literatura pesquisada.

Analisando a Tabela abaixo, verifica-se que os valores da CIM do óleo de Girassol variaram entre 10,68 a 42,17 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. As maiores concentrações estão relacionadas à *S. aureus*, ou seja, as bactérias dessa espécie apresentaram-se mais resistentes a ação do óleo. Conforme consta na literatura, espécies de *S. aureus* isoladas de leite mastítico bovino apresentam características de virulência e resistência a diversos antibióticos utilizados rotineiramente no tratamento da doença (FREITAS et al., 2005).

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo de Girassol e perfil de susceptibilidade dos isolados bacterianos oriundos de mastite bovina subclínica

Identificação	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Perfil de susceptibilidade
<i>Staphylococcus aureus</i>	42,71	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	42,71	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	42,71	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	42,71	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	42,71	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	21,35	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	21,35	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	21,35	S
<i>Staphylococcus lentus</i>	21,35	S
<i>Staphylococcus sciuri</i>	10,68	S
<i>Enterococcus faecium</i>	10,68	S
<i>Enterococcus faecium</i>	10,68	S
<i>Enterococcus faecalis</i>	21,35	S
<i>Enterococcus faecalis</i>	21,35	S
<i>Enterococcus faecalis</i>	21,35	S
<i>Enterococcus faecalis</i>	21,35	S
<i>Enterococcus faecalis</i>	21,35	S
<i>Enterococcus faecalis</i>	21,35	S
<i>Kocuria kristinae</i>	10,68	S
<i>Kocuria kristinae</i>	21,35	S

Os resultados apresentados demonstraram que o óleo de Semente de Girassol apresentou atividade antimicrobiana sobre as bactérias causadoras de mastite, visto que 73,7% dos isolados foram sensíveis à ação desse óleo.

Na literatura consultada não foi encontrado trabalhos que indiquem que o óleo estudado possui atividade antimicrobiana, mas já está comprovado que alguns extratos de plantas são eficientes inibidores do crescimento bacteriano de casos de mastite: *Achyrocline satureioides*, conhecida como “Macela” (SPEROTTO, 2010); *Eucalyptus sp.* (SHUCH, 2007); *Origanum vulgare*, o Orégano (OYARZABAL, 2011); entre outros.

4. CONCLUSÕES

Este estudo evidenciou que bactérias da espécie *S. aureus* são os patógenos mais frequentes relacionados à mastite bovina. Visto que o óleo de Girassol apresentou atividade antimicrobiana frente à essas bactérias e considerando a atual problemática da dificuldade no controle e tratamento da mastite bovina, bem como a presença de resíduos de antibióticos no leite e derivados, os dados obtidos evidenciam o potencial uso do óleo de Semente de Girassol como recurso terapêutico no controle dessa enfermidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.51, n. 2, 1999.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. M7-A6, 2008.

FERREIRA, J. L.; LINS, J. L. H. A.; CAVALCANTE, T. V.; MACEDO, N. A.; BORJAS, A. Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 2, p. 261-266, 2007.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. p.39-141.

FREITAS, M.F.L.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; STAMFORD, T.L.M.; RABELO, S.S.A.; SILVA, D.R.; SILVEIRA FILHO, V.M.; SANTOS, F.G.B.; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite com mastite no agreste do Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.2, p.171-177, 2005.

OYARZABAL, M.E.B. **Aplicação do óleo essencial do Orégano (*Origanum vulgare*) no tratamento da mastite bovina e presença de fungos no leite bovino in natura**. 2011. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

PINTO, M. S.; FARIA, J. E. de; MESSAGE, D.; CASSINI, S. T. A.; PEREIRA, C. S.; GIOSO, M. M. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n.6, p.278-283, 2001.

SCHUCH, L.F.D. **Plantas medicinais em atenção primária veterinária: atividade antimicrobiana frente a bactérias relacionadas com mastite bovina e a dermatófilos**. 2007. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SPEROTTO, V.R. **Atividade antibacteriana *in vitro* do decoto de *Achyrocline saturoides* (Lam.) D.C. – Asteracea – (“macela”), sobre bactérias isoladas de mastite bovina**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.