

ACÇÃO DE *Jatropha dioica* SOBRE BACTÉRIAS ISOLADAS DE MASTITE BOVINA

VIEIRA, Juliana N.¹; FERREIRA, Gracialda F.²; MENDES, Josiara F.³; ESCAREÑO, Jesus Jaime H.⁴; NASCENTE, Patrícia S.⁵

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação de Parasitologia, ²Graduanda do curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Pelotas (UFPel) email: jujununesvieira@yahoo.com.br, ³Graduanda do curso de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Pelotas (UFPel), ⁴Professor da Faculdade de Veterinária e Zootecnia da Universidade de Nuevo Leon – Microbiologia – Monterrey, México, ⁵Profª. Do Instituto de Biologia - Microbiologia (UFPel).

1 INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma enfermidade que acomete animais de forma clínica ou subclínica, afetando diretamente a qualidade do leite, produção leiteira do rebanho e perda por descartes de animais (SILVA, 1999).

Diversas metodologias são empregadas ao controle e prevenção da mastite visando à minimização de seus impactos aos produtores e a saúde do animal. Domingues (1993) demonstrou que através do diagnóstico precoce e com um tratamento adequado sobre a mastite subclínica, a produção de leite, do quarto mamário afetado, se restabelece em uma mesma lactação.

Dentre os causadores da mastite, o gênero *Staphylococcus* spp. é apontado como o principal agente envolvido seguido de *Streptococcus* spp. Atualmente 95% das cepas de *Staphylococcus aureus* adquiriram resistência aos mais variados antibióticos, como a penicilina, ampicilina, penicilina anti-*Pseudomonas* e metilicina. Esta resposta bacteriana, frente aos antibióticos, é devido à grande diversidade de antimicrobianos disponíveis no mercado, os quais são administrados de forma indiscriminada e inadequada (COSTA et al., 1996). Desta forma, aumenta-se o potencial de transmissão de bactérias resistentes para o homem via alimentação, assim como a ingestão de resíduos destes medicamentos através do leite (MOTA et al., 2005; COSTA et al., 1996).

Percebendo-se a necessidade de desenvolver métodos alternativos a serem aplicados a utilização de plantas medicinais com potencial antibacteriano ganha um espaço cada vez maior na medicina veterinária objetivando reduzir o impacto e o uso de medicamentos de forma exagerada e mantendo a integridade do animal (COSTA et al., 1985).

Jatropha dioica (Leatherstem) é uma planta residente em áreas de seca, cumes de cascalho no deserto do Novo México e no oeste e no sul do Texas, próximo ao México. Na literatura ela foi descrita, com efeito anti-inflamatório e antimicrobiano, entretanto, não foi ainda observada a aplicabilidade em enfermidades humanas e animais. Com base nisso, o desenvolvimento deste trabalho buscou avaliar a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico das raízes da planta *J. dioica*, popularmente conhecida como “Sangre del drago”, frente a bactérias isoladas de leite com diagnóstico de mastite.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Exemplares da planta *J. dioica* foram coletados em uma região montanhosa da cidade de Monterrey – México. As partes aéreas da planta foram separadas de suas raízes e foi obtido um extrato alcoólico, por técnica de maceração de suas

raízes. Foram suspensos 18g de raízes frescas de *J. dioica* em 200mL de etanol 70% e a mistura foi deixada em repouso por 24h. Depois disso, foi utilizado o sobrenadante para o teste de suscetibilidade antimicrobiana e este foi considerado o extrato hidroalcoólico de *J. dioica* na concentração de 0,9g mL⁻¹. A partir desta solução mãe, foram realizadas mais nove diluições 1:2 até 0,00175g mL⁻¹.

Para a análise de suscetibilidade ao extrato, foram utilizados oito isolados, incluindo cepas de *Staphylococcus coagulase negativa* (3), *Staphylococcus intermedius* (2), *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus agalactiae*, sendo todos isolados de casos de mastite bovina e estocados na micoteca do Laboratório de Micologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

A suscetibilidade das bactérias foi avaliada por meio da técnica de microdiluição em caldo através da padronização pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) adaptada a um fitofármaco. Os inóculos bacterianos foram suspensos em tubos contendo solução salina estéril, homogeneizados em agitador magnético e ajustados à turbidez 2 da escala de MacFarland. Esta suspensão bacteriana foi diluída em solução salina, homogeneizada, e submetida à diluição em meio Müeller Hinton duas vezes. O inóculo foi distribuído no sentido das linhas das microplacas em volumes de 100µL, realizados em duplicata, sendo que, uma coluna da microplaca foi utilizada como controle negativo (somente o extrato da planta) e outra como controle positivo (Müeller Hinton com inóculo bacteriano) (CLSI M7-A6, 2008).

As microplacas foram incubadas a 36°C por 24h e a leitura da Concentração Inibitória Mínima (CIM) ocorreu por meio da comparação visual do crescimento bacteriano, ocorrido nos poços referentes às diferentes concentrações testadas, com seu crescimento no controle positivo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A leitura dos resultados foi realizada às 24 horas após a realização do teste. As concentrações testadas variaram de 0,9g mL⁻¹ a 0,00175g mL⁻¹. As Concentrações Inibitórias Mínimas observadas frente as oito cepas estudadas variaram entre 0,1125g mL⁻¹, 0,05625g mL⁻¹ e 0,02812g mL⁻¹.

Na tabela 1 podem-se observar os resultados (CIM) de acordo com cada bactéria.

Tabela 1 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) de *Jatropha dioica* observada frente a diferentes bactérias isoladas de mastite bovina

Isolado Clínico bacteriano	CIM
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	0,05625mL ⁻¹
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	0,02812mL ⁻¹
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	0,02812mL ⁻¹
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0,05625mL ⁻¹
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0,05625mL ⁻¹
<i>Streptococcus uberis</i>	0,1125mL ⁻¹
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	0,05625mL ⁻¹
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,05625mL ⁻¹

Streptococcus uberis foi à única espécie que se diferenciou das demais, apresentando uma CIM maior que as demais espécies testadas. Esta espécie pode estar presente na glândula mamária e em determinadas situações se tornar patogênica, podendo ser chamado de agente etiológico ambiental ou primário. Tem

sido citado como espécie resistente a alguns antimicrobianos (WATTS, 1988; LEIGH et al., 1990; VANGROENWEGHE et al., 2001).

Quanto à planta *Jatropha dioica*, ela tem diversos usos tradicionais, sendo usada em tratamento de infecções estomacais e processos inflamatórios dentários empiricamente. A seiva adstringente teria sido usada por índios para tratar gengiva inflamada. Um estudo microbiológico traz a oportunidade de novas alternativas como antibacteriano, sendo importante, previamente, o estudo *in vitro* para viabilizar o teste em determinados agentes etiológicos.

4 CONCLUSÕES

O extrato hidroalcoólico de *Jatropha dioica* demonstrou atividade antibacteriana *in vitro* frente aos diferentes microrganismos causadores de mastite bovina, como: *Staphylococcus coagulase negativa*, *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, utilizando a técnica de microdiluição em caldo adaptada a um fitofármaco, o que justifica novas análises com o extrato, incluindo estudos *in vivo* para sua utilização como uma alternativa no tratamento desta enfermidade.

5 REFERÊNCIAS

COSTA, E.O.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO W.; TEIXEIRA, C.M. Sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos de bactérias isoladas de mastite bovina. **Pesquisa veterinária brasileira**, Rio de Janeiro, v.5, n.2, p.65-69, 1985.

COSTA, E.O.; MANGERONA, A.M.; BENITS, N.R.; CIRILO, S.L.; GARINO JUNIOR, F.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Avaliação de campo de quatro tratamentos intramamários de mastite clínica bovina. **A hora veterinária**. Ano 16, n.93, p.19-21, 1996.

CLSI M7-A6, Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada – Sexta Edição, 2008.

DOMINGUES, P.F. **Controle da produção leiteira na mastite bovina subclínica**. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, 1993p.

LEIGH, J.A.; FIELD, T.R.; WILLIAMS, M.R. Two strains of *Streptococcus uberis*, of differing ability to cause clinical mastitis, differ in their ability to resist some host defence factors. **Research Veterinary Science**. v.49, n.1, p.85-7, 1990.

MOTA, R.A.; SILVA, K.P.C.; FREITAS, M.F.L.; PORTO, W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multiresistência bacteriana. **Brazilian journal of veterinary research and animal Science**. v.42, n.6, p.465-470, 2005.

SILVA, N. Diagnóstico de mastite em animais de importância econômica. In: **III Encontro de pesquisadores em mastite**, Botucatu. SP, 1999. Anais... Botucatu, 1999, UNESP. p.51-55.

VANGROENWEGHE, F.; DOSOGNE, H.; MEHRZAD, J.; BURVENICH, C. Effect of sampling techniques on milk composition, bacterial contamination, viability and functions of resident cells in milk. **Veterinary Research**, v.32, n.6, p.565-579, 2001.

WATTS, J.L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v.16, n.1, p.41- 66, 1988.