



UNIVERSIDADE PARANAENSE

**ATIVIDADE BACTERICIDA DE *Azadiractha indica* E *Calendula officinalis* FRENTE
A *Staphylococcus* sp. ISOLADOS DE MASTITE BOVINA**

KELLI CRISTINA MARTINI

UMUARAMA, 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE PARANANSE – UNIPAR
Mestrado em Ciência Animal

**ATIVIDADE BACTERICIDA DE *Azadiractha indica* E *Calendula officinalis* FRENTE
A *Staphylococcus* sp. ISOLADOS DE MASTITE BOVINA**

KELLI CRISTINA MARTINI

Dissertação apresentada a Universidade Paranaense como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

UMUARAMA, 2010



UNIVERSIDADE PARANANSE – UNIPAR
Mestrado em Ciência Animal

KELLI CRISTINA MARTINI

Atividade bactericida de *Azadiractha indica* e *Calendula officinalis* frente a *Staphylococcus* sp isolados de mastite bovina

ORIENTADOR: Prof. Dra. Lisiane de almeida martins

Aprovada em: 26/04/2010

EXAMINADORES:

Prof. Dra. Lisiane de Almeida Martins
Prof. Dra. Sheila Rezler Wosiacki
Prof. Dr. Luiz Rômulo Alberton

Umuarama, 26 de abril de 2010

Aos meus pais Valdir e Eloi pelo incentivo e apoio para a realização deste ideal.

AGRADECIMENTOS

À Deus que sempre me guiou, me dando força e sabedoria para alcançar meus objetivos.

À minha família, por sempre estar presente em todos os momentos.

Ao meu noivo João Marco pelo apoio e carinho, e pela compreensão nos momentos de minha ausência.

À Prof. Dra. Lisiane de Almeida Martins pela orientação para a realização deste trabalho, pela paciência, disponibilidade, e principalmente por sua amizade em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Aristeu Vieira da Silva pelo apoio e atenção que tanto contribuíram para a realização deste estudo.

Aos meus amigos que sempre me apoiaram.

À todos que contribuíram para a realização desta pesquisa, principalmente Elaine Gil Moreschi ; Renata Agostinis; Mirelly Vitalina Rocha.

À Universidade Paranaense – UNIPAR.

Deus não vai nos livrar das lutas, mas vai nos encaminhar nos resultados



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Mestrado em Ciência Animal

MARTINI, K. C. **ATIVIDADE BACTERICIDA DE *Azadiractha indica* E *Calendula officinalis* FRENTE A *Staphylococcus* sp. ISOLADOS DE MASTITE BOVINA.** 37 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Paranaense, 2010.

RESUMO

A mastite bovina é a doença mais importante da pecuária leiteira sendo responsável por grandes prejuízos econômicos em todo o mundo. Esta enfermidade consiste em um processo inflamatório da glândula mamária. Além dos prejuízos diretamente relacionados com as perdas de produção, o custo dos medicamentos empregados no combate às infecções também contribuem para o impacto econômico da mastite na produção leiteira. O *Staphylococcus* sp. é o principal agente envolvido em infecções intramamárias de fêmeas em lactação. Sendo observada grande resistência aos antimicrobianos exigindo repetidos tratamentos, tornando o custo da produção inviável para o produtor. Enterotoxinas estafilocócicas são os principais agentes de intoxicação de origem bacteriana no homem e tem sido relatadas em vários surtos de doenças transmissíveis por alimentos. Considerando a importância da mastite, o difícil tratamento e a presença de componentes com atividade antimicrobiana do Neen (*Azadiractha indica*) e da calêndula (*Calendula officinalis*), este trabalho teve como objetivo de avaliar 43 amostras de *Staphylococcus* sp. isolados de leite com mastite bovina e verificar a atividade bactericida *in vitro* da tintura de *Calendula officinalis* e de *Azadiractha indica*; verificar também a ação de antibióticos utilizados na rotina à campo para tratamento da mastite bovina, bem como avaliar o sinergismo das plantas com os antibióticos. Quando observada atividade bactericida da *Azadiractha indica* isoladamente, observou-se um halo de inibição, confirmando uma atividade bactericida, entretanto quando associada a cada um dos antibióticos, verificou-se uma diferença estatística significativa na associação com eritromicina e estreptomicina. Observa-se que a tintura de *Calendula officinalis* apresentou atividade antibacteriana, sendo esta atividade potencializada em algumas associações como no caso da ampicilina e estreptomicina. Com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que o *Azadiractha indica* e *Calendula officinalis* apresentam atividade bactericida frente a isolados de mastite bovina, podendo ser potencializada quando associadas aos antibióticos.

Palavras-chave: Mastite bovina. *Staphylococcus* sp. *Calendula officinalis*. *Azadiractha indica*. Resistência bacteriana.



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Mestrado em Ciência Animal

MARTINI, K. C. BACTERIAL ACTIVITY OF *Azadiractha indica* AND *Calendula officinalis* VERSUS *Staphylococcus* SP. ISOLATED OF CATTLE MASTITIS.. 37 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Paranaense, 2010.

ABSTRACT

Mastitis is the most important disease in dairy cattle, being responsible for big economic damages all over the world. Such disease consists of an inflammatory process in the mammary gland. Besides the damages directly related to production loss, the cost of medicines used to combat infections also contributes for the economical impact of mastitis in dairy cattle production. The *Staphylococcus sp.* is the main agent involved in intramammary infections of lactating females. It was observed hard antimicrobial resistance demanding repeated treatments, making the cost of production inviable to the producer. Staphylococcal enterotoxins are the intoxication main agents of bacterium origin in man and have been reported in various outbreaks of diseases transmitted by food. Considering the importance of mastitis, the difficult treatment and the presence of components with Neen antimicrobial activity (*calendula officinalis*) and of the calendula (*Calendula officinalis*), this research had as objective to evaluate 43 samples in duplicate of *Staphylococcus sp.* isolated from milk with cattle mastitis and verify the bactericide activity in vitro of the (*Calendula officinalis*) dye and of (*Azadiractha indica*) dye ; also verify the action of antibiotics used in the routine at field for cattle mastitis treatment and also evaluate the synergism of plants with the antibiotics. When observed bactericide activity of *Azadiractha indica* isolatedly, it was observed a halo of inhibition, confirming a bactericide activity, however when associated to each one of the antibiotics, it was verified a significant statistic diference in the association with eritromicine and streptomisine. It is observed that the dye of *Calendula officinalis* presented antibacterial activity being this activity potencialized in some associations as in the case of ampicillin and streptomisine. With the results got in this study , it was concluded that the *Azadiractha indica* and *Calendula officinalis* present bacterial activity versus isolateds of cattle mastitis, able to be potencialized when associated to antibiotics.

Keywords: *Cattle Mastitis. Staphylococcus sp. Calendula officinalis. Azadiractha indica. Bacterial resistance.*



UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR
Mestrado em Ciência Animal

SUMÁRIO

<i>Atividade bactericida de <i>Azadiractha indica</i> e <i>Calendula officinalis</i> frente a</i>	
<i>Staphylococcus</i> sp. isolados de mastite bovina.....	10
Introdução.....	11
Material e Métodos.....	14
Resultados e discussão.....	16
Agradecimentos.....	20
Referências.....	20
Anexo 01: Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação	
Animal.....	26
Anexo 02: Norma do periódico Ciência Rural (ISSN-0103-8478).....	27
Anexo 03: Classificação do periódico na Qualis.....	30
Anexo 04: Comprovação de submissão.....	31

Atividade bactericida de *Azadiractha indica* e *Calendula officinalis* frente a *Staphylococcus* sp isolados de mastite bovina.

Kelli Cristina Martini¹; Elaine Gil Moreschi¹; Renata Agostinis²; Mirelly Vitalina Rocha²;

Zilda Cristiani Gazim³; Lisiane de Almeida Martins⁴

Resumo:

A mastite bovina é a doença mais importante da pecuária leiteira sendo responsável por grandes prejuízos econômicos em todo o mundo. *Staphylococcus* sp. está envolvido em infecções intramamárias, sendo o principal agente causador de mastite em bovinos. Desta forma é crescente tentativa de novas opções de tratamento. Considerando a importância da mastite, e o difícil tratamento, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade bactericida *in vitro* da tintura de *Calendula officinalis* e da *Azadiractha indica* e antibióticos, bem como avaliar o sinergismo das plantas com os antibióticos, em isolados de *Staphylococcus* sp. oriundos de mastite bovina, analisando 43 amostras em duplicata. Observou-se, no caso da tintura de Neen que a estreptomicina antes de usar o *Azadiractha indica* associado, a taxa de sensíveis era de 70,9% (n=44) enquanto que com a tintura associada 29,0% (n=19) das amostras tornaram-se sensíveis. Para a tintura de calêndula, a ação foi favorável para a amoxicilina, já que das 17 amostras originalmente resistentes, 10 (58,8%) sensibilizaram-se. Conclui-se que as duas tinturas avaliadas apresentaram atividade bactericida podendo ser potencializada quando associadas aos antibióticos.

Palavras-chave: Mastite bovina. *Azadiractha indica*. *Calendula officinalis*. *Staphylococcus* sp. Resistência bacteriana

¹ Acadêmica do Mestrado em Ciência Animal – UNIPAR – Umuarama – PR.

² Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária – Bolsista de Iniciação Científica – UNIPAR – Umuarama – PR.

³ Docente do Curso de Farmácia da UNIPAR – Umuarama – PR.

⁴ Docente do Curso de Medicina Veterinária e Mestrado em Ciência Animal – UNIPAR – Umuarama – PR.

Abstract:

The cattle mastitis is the most important disease in dairy cattle, being responsible for big economic damages all over the world. *Staphylococcus* sp. is involved in intramammary infections, being the main causer agent of cattle mastitis. It is growing attempt for new treatment options. Considering the importance of mastitis and the difficult treatment, this study had as objective to evaluate the bacterial activity *in vitro* of the dye *Calendula officinalis* and of *Azadiractha indica* dye and antibiotics, as well as to evaluate the synergism of plants with the antibiotics, in strains of *staphylococcus* sp. isolated of cattle mastitis, analyzing 43 samples in duplicate. It was observed in the case of dye Neen, the streptomycine before using the *Azadiractha indica* associated, the tax of sensitive was of 70,9% n= while with the associated dye 29,0% n= of the samples became sensitive. For the calendula dye, the action was favorable to amoxicilin, once the other 17 samples originally resistant, 10 (58,8%) were sensitized. It is concluded that the two evaluated dyes presented bacterial activity being able to be potentialized when associated to antibiotics.

Key words: *Azadiractha indica*. *Calendula officinalis*. *Staphylococcus* sp. Bacterial resistance.

INTRODUÇÃO

Observando-se a produção leiteira dos países do continente Sul- Americano é notória a superioridade do Brasil, representando 50% de todo o volume produzido (SILVA et al., 2009).

Nos últimos anos, a pecuária bovina apresentou consideráveis alterações no que refere-se a ganho de produtividade, melhoria genética dos rebanhos, aspectos nutricionais e a aplicação de biotécnicas da reprodução, as quais promoveram um grande benefício aos

produtores. Entretanto, todos estes fatores desencadearam alguns problemas sanitários, e dentre eles, a mastite.

A mastite bovina é a doença mais importante da pecuária leiteira sendo responsável por grandes prejuízos econômicos em todo o mundo (BLOOD et al., 1983). Esta enfermidade consiste em um processo inflamatório da glândula mamária, podendo alterar as características físico-químicas do leite; lesar o tecido glandular mamário (DOMINGUES, 1996), e permitir a transmissão de microrganismos patogênicos ao homem e aos animais (SILVA, 1999; ZAFALON et al., 1999). Estas alterações podem induzir o descarte precoce de animais de alto desempenho produtivo (LANGONI, 2000)

Além dos prejuízos diretamente relacionados com as perdas de produção, o custo dos medicamentos empregados no combate às infecções também contribuem para o impacto econômico da mastite na produção leiteira. Principalmente naquelas situações em que populações bacterianas resistentes exigem repetidos tratamentos, o custo da produção pode tornar-se inviável para o produtor (COSTA et al., 1995) .

O custo com diagnóstico, medicação, descarte de leite e a taxa de cura bacteriológica (não superior a 50% em infecções por *Staphylococcus* spp.), fazem com que o tratamento da mastite subclínica na lactação seja considerado muitas vezes anti-econômico (COSTA, 2002).

O *Staphylococcus* sp. está envolvido em infecções intramamárias de fêmeas em lactação, sendo o principal agente causador de mastite em bovinos. Esse microrganismo produz grande variedade de toxinas extracelulares que estão relacionados à sua patogenicidade, além de oferecer grande resistência aos antimicrobianos (MATSUNAGA et al., 1993).

Trabalhos realizados nas regiões nordeste, sudeste, sul e centro-oeste do país mostraram a predominância de *Staphylococcus aureus* sobre os demais agentes da doença (BRITO & BRITO , 1996). A presença de *Staphylococcus aureus* e suas toxinas no leite

usado pelas indústrias e pelos laticínios representa sério problema. Segundo LAMAITA et al. (2005) enterotoxinas estafilocócicas são os principais agentes de intoxicação de origem bacteriana no homem e tem sido relatadas em vários surtos de doenças transmissíveis por alimentos.

De modo geral, observa-se que os *Staphylococcus* spp. apresentaram nível de resistência aos beta-lactâmicos, sendo que os antimicrobianos apontados como mais eficientes variaram bastante nas diferentes investigações não sendo possível eleger um princípio ativo para todos os casos de mastite bovina (LANGE et al., 1998).

Os antibióticos utilizados para tratamento das mastites causam grande preocupação para a indústria e para a saúde pública, e o seu resíduo no leite interfere com o processo de industrialização de muitos produtos lácteos como queijo e outros produtos fermentáveis (NOBREGA et al., 2009). Sendo assim, é crescente a preocupação de tentativas de novas opções de tratamento menos agressivos, principalmente nos animais de interesse zootécnico (PONTES NETTO et al., 2005).

A produção de leite orgânico depende de soluções para os problemas sanitários dos rebanhos através de alternativas sustentáveis entre recursos naturais renováveis, em que o uso de plantas medicinais apresentam grande potencial (CAPORAL & COSTABEBER, 2002).

A utilização de plantas medicinais na medicina veterinária tem uma história milenar. O desenvolvimento desse conhecimento acompanhou a aprendizagem do homem nos cuidados da sua própria saúde, desta maneira agricultores e veterinários lançam mão de fitoterápicos para o tratamento da mastite bovina (SCHUCH et al., 2008).

O Neen (*Azadiractha indica*), originário do sudeste da Ásia, região de clima tropical, pertence a família *Meliaceae*, foi introduzido no Brasil em 1993, possui diversas aplicações em especial com antisséptico, curativo e vermífugo (BENOIT-VICAL et al., 2003). Além

dessas propriedades o óleo extraído do fruto do Neen apresenta atividade antibacteriana, incluindo *Staphylococcus aureus* (MANCEBO et al., 2002).

A *Calendula officinalis* é uma planta originária do Egito, foi importada para a Europa no séc. XII e trazida para o Brasil no séc. XVIII, sendo cultivada como planta ornamental e medicinal, utilizada pelos seus efeitos antiinflamatório, antisséptico e cicatrizante. Sua atividade antibacteriana parece depender, não apenas da presença de substâncias antimicrobianas no vegetal, mas também, das diversas fases de desenvolvimento do vegetal e das condições de extração, sendo que a resposta final pode ser resultante de efeitos sinérgicos, antagonistas, além de outros fatores interativos entre os diversos componentes (VOLPATO et al., 2001)

Segundo Amorim (1999) na medicina popular, as plantas são utilizadas concomitantemente ao uso de medicamentos convencionais, nesta associação as plantas medicinais e/ou subprodutos podem atuar inibindo ou intensificando o efeito terapêutico dos medicamentos convencionais, bem como não interferir na resposta (NASCIMENTO, 2000).

Considerando a importância da mastite, o difícil tratamento e a presença de componentes com atividade antimicrobiana do Neen e da Calêndula, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade bactericida *in vitro* da tintura de Calêndula (*Calendula officinalis*) e da tintura de Neen (*Azadirachta indica*); verificar a ação de antibióticos utilizados na rotina à campo para tratamento da mastite bovina, bem como avaliar o sinergismo das plantas com os antibióticos, em estirpes de *Staphylococcus* sp. isolados de mastite bovina.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das tinturas

Capítulos florais de *Calendula officinalis* e folhas de *Azadirachata indica* foram secos em estufa a 40°C, pulverizados a uma granulometria de 800 microns. Para obtenção das tinturas

utilizou-se o método de extração por maceração utilizando como líquido extrator o etanol 65° GL (v/v) para a *Calendula officinalis*, e o álcool a 70% (p/p) para *Azadirachata indica* como líquido extrator, iniciando o processo de maceração por 21 dias sob agitação constante, para ambas as tinturas.

Decorrido o tempo de maceração, foi realizada a filtração e o armazenamento da tintura em frasco âmbar, obtendo-se uma concentração final de 20% para a tintura de neem e 10% para a tintura de calêndula (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1959).

Antibióticos

Cada estirpe de *Staphylococcus* sp. foi testada frente a ampicilina (10 µg/mL), amoxicilina (10 µg/mL), eritromicina (15 µg/mL), enrofloxacina (5 µg/mL), estreptomicina (10 µg/mL), gentamicina (10 µg/mL), neomicina (30 µg/mL), tetraciclina (30 µg/mL). Estes princípios ativos foram selecionados para inclusão no estudo baseando-se nos tratamentos convencionais a campo. O estudo de observação de sensibilidade das cepas bacterianas frente aos antibióticos foi realizado através da técnica de difusão em meio sólido utilizando-se discos de papel filtro (CLSI, 2008).

Ensaio microbiológico

Foram testados isolados de *Staphylococcus* sp. provenientes de mastite bovina clínica e subclínica da bacterioteca do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Paranaense, perfazendo uma total de 43 amostras, sendo estas avaliadas em duplicata.

As cepas foram descongeladas, repicadas em agar sangue e incubadas a 37°C por 24 horas. Após verificado o crescimento de colônias de *Staphylococcus* sp., estas foram cultivadas em caldo nutritivo (Brain Heart Infusion), e incubadas por uma hora, verificando-se a turvação do meio de cultura. Estas suspensões foram padronizadas de acordo com a

escala 0,5 de Farland correspondendo à concentração de aproximadamente 10^8 Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL). Cada uma das culturas foram submetidas a antibiograma com os princípios ativos selecionados, bem como feita a associação de cada um dos antibióticos com as respectivas tinturas, adicionando a cada disco de papel filtro $10\mu\text{L}$. Como controle foi utilizado álcool 70°.

Após a incubação das placas a 37°C por 48 horas, foi observada a presença de halo de inibição bem como seu diâmetro, sendo esta mensurada em milímetros. Desta forma, pode-se verificar a atuação de cada uma das tinturas de forma individual e associadas aos antibióticos, possibilitando observar a presença ou não de sinergismo.

Estatística

Para a análise de interpretação dos halos de inibição do crescimento de *Staphylococcus* sp. frente a antibióticos e a associação deste com tintura de *Azadiractha indica* e *Calendula officinalis* foi utilizado o teste de Anova, e o teste de Necmar foi realizado para verificar a associação de resultados em amostras dependentes, sendo considerado estatisticamente significativo $P < 0,05$, para os dois testes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os resultados dos antibiogramas mostram uma grande variação no perfil de sensibilidade em todas as amostras testadas. As médias dos halos de inibição estão descritas na Tabela 01, bem como a interpretação destes resultados de acordo com CLSI (2008). Destaca-se uma maior resistência a ampicilina, seguida da eritromicina.

Estes dados são semelhantes aos descritos por MACHADO et al. (2008), os quais analisaram 109 (14,5%) cepas de *Staphylococcus coagulase-negativa* provenientes de mastite bovina, verificando que a resistência à penicilina foi a observação mais frequente (93,5%)

seguida de ampicilina (85,3%), tetraciclina (68,8%), estreptomicina (63,3%), eritromicina (61,4%), neomicina (58,7%) sendo que a amoxicilina/ácido clavulânico apresentou (46,7%).

Estes dados são diferentes dos apresentados por NADER FILHO et al., (2007) que realizaram o teste de sensibilidade *in vitro* pelo método Kirby-Bauer, utilizando penicilina (10UI), gentamicina (10µg), ampicilina (10 µg), vancomicina (30 µg), novobiocina (30 µg), oxacilina (1 µg), estreptomicina (10 µg) e eritromicina (15 µg) fazendo também associação dos antibióticos com os quimioterápicos em 72 cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas do leite de vacas com sinais de mastite 94,4 % foram sensíveis frente a estreptomicina, sendo a ampicilina somente 4,2% de sensibilidade, verificou-se, também que nenhum dos princípios ativos agindo isoladamente, pode ser ativo contra qualquer das cepas experimentadas, notou-se que 72 (100%) das cepas testadas apresentaram resistência simultânea a pelo menos dois antibióticos e quimioterápicos.

Os resultados referentes a sensibilidade dos isolados analisados neste estudo frente a ação de antibióticos e da tintura de Neen (*Azadiractha indica*) são mostrados na Tabela 1. Observa-se que o *Staphylococcus* sp. apresentou maior sensibilidade à amoxicilina, e maior resistência a estreptomicina.

Quando observada atividade bactericida da *Azadiractha indica* isoladamente, observou-se um halo de inibição, confirmando uma atividade bactericida, entretanto quando associada a cada um dos antibióticos, verificou-se uma diferença estatística significativa na associação com eritromicina e estreptomicina.

Observa-se que a tintura de *Calendula officinalis* apresentou atividade antibacteriana, sendo esta atividade potencializada em algumas associações como no caso da ampicilina e estreptomicina. Mudanças nas faixas de interpretação foram detectadas, quando associado a ampicilina passou de resistente para sensível e intermediário para sensível no caso da estreptomicina.

Os halos observados mostraram-se maiores quando comparados aos descritos por PEREIRA et al. (2009) ao avaliar o extrato do Neen diluído com água destilada nas proporções de 1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128; 1:256 e 1:512 em cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas do leite de búfalas, tendo como base o diâmetro dos halos de inibição superiores a 12mm, observando que o extrato mostrou-se eficaz somente na concentração de 1:1.

Esta atividade bactericida foi descrita por BUFFON et al., (2001), os quais avaliaram *in vitro* a eficácia dos extratos de *Malva sylvestris*, *Calendula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoarea* no crescimento das bactérias da placa dental de 37 amostras como *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*. Todas as culturas foram semeadas em placas de TSA, sobre a superfície foram colocados discos de papel filtro estéreis impregnados com 0,05 mL dos extratos das plantas. Sendo que o extrato de *Calendula officinalis* apresentou um índice de inibição total no crescimento das bactérias da placa dentária em torno de 16,4%, em 17 amostras o extrato de calêndula, ou seja, 45,9% apresentaram halo de inibição parcial, e em 37,8% não apresentou inibição. Evidencia-se também que os extratos de *Calendula officinalis* apresentaram média em halos de inibição total em torno de 12,33mm, médias inferiores comparadas ao presente estudo que foi de 14,93mm.

A atuação da *Calendula officinalis* observada foi descrita por VOLPATO et al. (2001) através de estudos que comprova que extratos de hexano, diclorometano e acetato de etila de *Calendula officinalis* apresentam atividade inibitória contra bactérias Gram positivas e foram inativos contra as bactérias Gram negativas.

BÜRGER et al. (2003) avaliaram o efeito de uma pomada preparada artesanalmente com gordura animal e plantas medicinais entre estas a *Calendula officinalis* sobre feridas cirúrgicas de ratos, para testar o efeito antibacteriano foi utilizado o método da placa de ágar com orifício, os produtos foram testados frente a microrganismos isolados da pele dos

próprios animais, tais como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Observou-se que a intensidade de contaminação bacteriana nos meios ágar sangue e Mac Conkey não foi diferente entre os grupos e foram considerados semelhantes à microbiota normal dos ratos.

No presente estudo demonstrou-se a interferência da tintura de *Azadiractha indica* e *Calendula officinalis* na interpretação dos perfis de sensibilidade, os quais podem ser demonstrados na Tabela 2.

As associações dos antibióticos com as plantas estudadas mostrou um resultado significativo, como no caso da associação da estreptomicina com a *Azadiractha indica*. Verificou-se que em 17 amostras inicialmente resistentes, tornam-se sensíveis quando associado a tintura, desta forma, pode-se ressaltar o sinergismo destes dois princípios ativos.

Quando avaliada a eritromicina houve uma tendência a significância, o que demonstra a necessidade de mais estudos na tentativa de desenvolver alternativas no difícil tratamento da mastite, principalmente no que refere-se a estudos de cada um dos componentes das tinturas da *Azadiractha indica*.

No que refere-se a tintura de *Calendula officinalis*, a ação foi favorável para a amoxicilina, já que das 17 amostras originalmente resistentes, 10 (58,8%) sensibilizaram-se, havendo uma tendência significativa para a tetraciclina.

A interferência de princípios ativos oriundo de plantas foi descrito por OLIVEIRA et al., (2006) estudando a interferência de óleos essenciais na concentração de 4% sobre a efetividade dos antibióticos ampicilina (10µg/mL), cefalotina (10µg/mL), cloranfenicol (30µg/mL), gentamicina (10µg/mL) e tetraciclina (30µg/mL), através da técnica de difusão em meio sólido utilizando discos de papel filtro embebidos com 20µL do óleo essencial, frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* sendo que o óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*

apresentou sinergismo com ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina frente a *Staphylococcus epidermidis*, e com relação a *Staphylococcus aureus*, houve diminuição da atividade inibitória de ampicilina, cloranfenicol e gentamicina.

Atualmente, uma das maiores dificuldades encontradas na produção leiteira, são os custos no tratamento, bem como estabelecer o princípio ativo mais adequado, considerando a seleção de bactérias resistentes pelo uso indiscriminado dos antibióticos. Sendo assim, este trabalho demonstrou a importância da utilização de métodos alternativos no tratamento da mastite, principalmente quando associados a tratamentos convencionais.

Pode-se concluir que o *Azadiractha indica* e *Calendula officinalis* apresentam atividade bactericida frente a isolados de mastite bovina, podendo ser potencializada quando associadas aos antibióticos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Aristeu Vieira da Silva por seu apoio e contribuição para a realização deste trabalho. Ao IPEAC (UNIPAR) pelo financiamento para desenvolvimento do trabalho.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANCA

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Experimentação Animal da Universidade Paranaense, protocolado sob número 15454/2009.

REFERENCIAS

AMORIM, J. A. **Fitoterapia popular e saúde da comunidade: diagnóstico para proposta de integração nos serviços de saúde em Campina Grande, Paraíba.** 1999. 206f. Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

BENOIT-VICAL, M. C. et al. Antiplasmodial and antifungal activities of iridal, a plant triterpenoid. **Phytochemistry**, v.62, p.747-751, 2003.

BLOOD, D.C. et al. **Clínica Veterinária**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1989. 5 ed.

BRITO, M.A.V.P., BRITO, J.R.F. Produção científica brasileira sobre mastite bovina. In: BRITO, J.R.F., BRESSAN, M. (ed.) *Controle integrado da mastite bovina*. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 1996. p.68-96.

BUFFON, M. C. M. et al., Avaliação da eficácia dos extratos de *Malva sylvestris*, *Calendula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoarea* no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo “*in vitro*”. **Rev. Visão Acadêmica**, Curitiba, v.2, n.1, p.31-38, 2001.

BÜRGER, M. E. et al. Cicatrização de feridas cutâneas em ratos tratados com pomada caseira à base de plantas medicinais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.5, n.2, p.91-97, 2003.

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. Construindo uma nova extensão rural no Rio Grande do Sul. **Agroecologia e desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v.3, n.4, p.10-15, 2002.

COSTA, E. O. et al. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.17, p.156-158, 1995.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SINOSA, H. S; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.501-559.

DOMINGUES, P. F. Novas tendências no tratamento da mastite bovina In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITE BOVINA DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2, 1996, Nova Odessa. **Anais...** Nova Odessa, 1996, p.33-43.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 2ª. ed. São Paulo: Gráfica Siqueira. 1959.

- LAMAITA, H. C. et al. Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, n.5, p.702-709, 2005.
- LANGE, C. et al. Suscetibilidade a antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina na grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Brasil). **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, Porto Alegre, v.26, n.1, 1998.
- LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Rev. Educação Continuada do CRMV-SP**, v.3, p.57-64, 2000.
- MACHADO, T. R. O. et al. Antimicrobial susceptibility of coagulase Staphylococci isolated from mastitic cattle in Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.60, n.1, p.278-282, 2008.
- MANCIBO, F. et al. Biological activity of two Neem (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae) products on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. **Crop. Protection**, v.21, p.107-112, 2002.
- MATSUNAGA, T. et al. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from peracute, acute and chronic bovine mastitis. **J. Med. Sci.**, v.55, p.297-300, 1993.
- NADER FILHO, A. et al. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. **Arq. Inst. Biol**, São Paulo, v.74, n.1, p.1-4, 2007.
- NASCIMENTO, G. F. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Rev. Bras. Microbiol.**, v.3, n.1, p.48-53, 2000.
- NÓBREGA, D. B. et al. Utilização de composto homeopático no tratamento da mastite bovina. **Arq. Inst. Biol.**, v.76, n.4, p.523-537, 2009.
- OLIVEIRA, R. A. G. et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Rev. Bras. Farmcogn.**, v.16, n.1, p.77-82, 2006.

PEREIRA, A. V. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de jurema preta e neem sobre amostras de *Staphylococcus* sp. isoladas de mastite em búfalas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.3, p.341-346, 2009.

PONTES NETO, D. et al. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do estado do Paraná. **Acta. Scientiarum Animal Sciences**, v.96, n.1, p.145-151, 2005.

SCHUCH, L. F. D. et al. Cinética da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos naturais frente a microrganismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.161-169, 2008.

SILVA, A. S. A.; ROMERO. E. A. Gerenciamento de custo da pecuária de leite em propriedade rural situada em Roncador – PR. **Rev. em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.2, n.1, p.68-85, 2009.

SILVA, N. Diagnóstico de Mastite em animais de importância econômica. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITE, 3, 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: FMVZ – UNESP, 1999, p.51-55.

VOLPATO, A. M. M. et al. Investigação da atividade antibacteriana de *Calendula officinalis* L. (Asteracea). **Rev. Visão Acadêmica**, Curitiba, v.2, n.1, p.7-10, 2001.

ZAFALON, L. F. et al. Influência das bactérias do gênero *Corynebacterium* e Estafilococcus coagulase positivos e negativos, sobre a contagem de células somáticas e a produção láctea de quartos mamários com mastite subclínica. **Rev. Napgma**, v.2, n.6, p.4-6, 1999.

Tabela 01. Média \pm desvio padrão dos halos de inibição (mm) do crescimento de *Staphylococcus* sp. frente antibióticos e a associação destes com tintura de Neen (*Azadirachta indica*) Calêndula (*Calendula officinalis*)

	<i>Azadirachta indica</i>		<i>Calendula officinalis</i>	
	Halo	Interpretação	Halos	Interpretação
Álcool	0,21 ^a \pm 1,94		0,21 ^a \pm 1,94	
Planta	7,13 ^b \pm 7,40		14,93 ^b \pm 8,74	
AMP	27,11 ^c \pm 12,26	R	27,11 ^c \pm 12,26	R
Planta + AMP	27,51 ^c \pm 11,14	R	29,48 ^c \pm 8,13	S
AMO	30,15 ^c \pm 12,17	S	30,15 ^c \pm 12,17	S
Planta + AMO	29,96 ^c \pm 11,49	S	32,62 ^c \pm 9,40	S
ERI	25,93 ^c \pm 9,06	S	25,93 ^c \pm 9,05	S
Planta + ERI	29,00 ^d \pm 8,69	S	27,68 ^c \pm 9,12	S
ENO	27,78 ^c \pm 7,20	S	28,01 ^c \pm 7,20	S
Planta + ENO	28,14 ^c \pm 7,63	S	28,30 ^c \pm 7,74	S
EST	18,21 ^c \pm 11,29	I	18,09 ^c \pm 11,30	I
Planta + EST	21,93 ^d \pm 10,81	I	23,61 ^d \pm 10,97	S
GEN	24,99 ^c \pm 8,11	S	24,99 ^c \pm 8,11	S
Planta + GEN	25,27 ^c \pm 7,66	S	26,74 ^c \pm 7,21	S
NEO	24,03 ^c \pm 7,16	S	24,05 ^c \pm 7,15	S
Planta + NEO	25,12 ^c \pm 8,36	S	24,99 ^c \pm 7,16	S
TET	21,36 ^c \pm 12,30	S	21,36 ^c \pm 12,30	S
Planta + TET	24,71 ^c \pm 9,81	S	25,92 ^d \pm 8,65	S

Análise estatística: letras diferentes mostram resultados estatisticamente significantes no teste de Anova ($p < 0,05$).

*Interpretação segundo CLSI (2008).

Tabela 02. Frequências absolutas (N) e relativas (%) de amostras de *Staphylococcus* sensíveis a antibióticos isoladamente ou à associação antibiótico-tintura de *Azadiractha indica*. Umuarama, 2009.

Antibiótico	<i>Azadiractha indica</i>			<i>Calendula officinalis</i>		
	ATB	ATB + Tintura	P	ATB	ATB + Tintura	P
Ampicilina	46 (53,5%)	40 (46,5%)	0,1460	44 (51,1%)	42 (48,8%)	0,4545
Amoxicilina	17 (19,8%)	23 (26,7%)	0,1094	17 (19,7%)	69 (80,2%)	0,0386*
Eritromicina	32 (37,2%)	54 (62,7%)	0,0890	33 (38,3%)	53 (61,6%)	0,1508
Enrofloxacina	15 (17,4%)	71 (82,5%)	0,2864	24 (28,0%)	62 (72,0%)	0,07744
Estreptomicina	61 (70,9%)	25 (29,0%)	0,03171*	62 (72,0%)	24 (28,0%)	0,3593
Gentamicina	02 (2,3%)	84 (97,6%)	1,0000	02 (2,3%)	84 (97,6/%)	0,5000
Neomicina	07 (8,1%)	79 (91,8%)	0,7266	07 (8,1%)	79 (91,8%)	0,7539
Tetraciclina	23 (26,7%)	63 (73,2%)	1,0000	16 (18,6%)	70 (73,2%)	0,0654

Análise estatística: Teste de Necmar

*diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$)

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)