

CINÉTICA DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DE EXTRATOS NATURAIS FRENTE A MICRORGANISMOS RELACIONADOS À MASTITE BOVINA

LUIZ FILIPE DAME SCHUCH,¹ JOSÉ MARIA WIEST,² HELEN SILVEIRA COIMBRA,³ LUCIANA SOUZA PRESTES,⁴ LETÍCIA DE TONI⁵ E JULIANA DOS SANTOS LEMOS⁶

-
1. UFPel Professor de Doenças Infecciosas DVP/FV/UFPel. Doutorando em Ciências Veterinárias, FV, UFRGS. Contato principal para correspondência.
 2. UFRGS, Instituto de Ciências e Tecnologia do Alimento, UFRGS,
 3. UFPel PPG em Veterinária, FV, UFPel.
 4. UFPel, PPG em Veterinária, FV, UFPel,
 5. URL Instituição UFPel, Graduanda em Veterinária, FV, UFPel,
 6. URL Instituição UFPel

RESUMO

O presente trabalho buscou avaliar a cinética da atividade antimicrobiana de extratos de plantas medicinais frente a bactérias relacionadas com mastite bovina. Para tal, produziram-se soluções desinfetantes a partir de folhas e talos de *Baccharis trimera* (Less) D.C., Compositae (Asteraceae), *Eucalyptus* ssp Labill., Myrtaceae e *Tagetes minuta* (Linn.), Compositae (Asteraceae), através de extração hidroalcoólica (EHA) e decocto (DEC). Os microrganismos utilizados foram *S. aureus*, *S. agalactiae* e *P. aeruginosa*. Realizou-se avaliação da atividade antimicrobiana permitindo o contato da solução teste com uma suspensão bacteriana com a concentração de ao menos 10⁵ UFC.mL⁻¹ de cada, por intervalos de 30 segundos, 2, 10 e 30 minutos, na presença ou não de matéria orgânica. Após, semearam-se alíquotas em placas de ágar cérebro-coração e contou-se o número de colônias remanescentes. O traba-

lho foi realizado com um controle comercial, clorexidina a 0,18%, e sempre em duplicata. Verificou-se que, para *S. aureus*, os EHA de *Eucalyptus* ssp e de *T. minuta* não diferiram do controle, para *S. agalactiae* além daquelas duas, EHA de *B. trimera*, não diferiu do controle, enquanto que DEC de *Eucalyptus* e o DEC de *B. trimera* também foram ativos frente à bactéria na ausência de matéria orgânica, necessitando de maior tempo de contato. Para *P. aeruginosa*, na ausência de matéria orgânica, todas as soluções-teste diferiram do controle, embora os três EHA tenham inativado a bactéria em 10 ou 30 minutos. Todas as soluções testadas, inclusive o controle, reduziram sua atividade antibacteriana na presença de matéria orgânica. Conclui-se que extratos de plantas medicinais apresentam potencial para serem utilizados em situações-problema em que as bactérias aqui avaliadas estejam envolvidas.

PALAVRAS-CHAVES: Clorexidina, desinfecção, mastite bovina, matéria orgânica plantas medicinais.

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY KINETICS OF MEDICINAL PLANTS EXTRACTS AGAINST BOVINE MASTITIS PATHOGENS

The subject of this paper was to test antimicrobials activities by medicinal plants extracts against more important contagious bovine mastitis pathogens. Disinfectants solutions was made from *Baccharis trimera* (Less) D.C.,

Compositae (Asteracea), *Eucalyptus* ssp Labill., Myrtaceae and *Tagetes minuta* (Linn.), Compositae (Asteracea) plants by hidroalcoholic extraction (EHA) or decoction (DEC). *S. aureus*, *S. agalactiae*, and *P. aeruginosa* were used.

To test for in vitro efficacy, each test solution was mixed with bacterial suspension containing 10^5 CFU.mL⁻¹, by 30 seconds, two, 10 and 30 minutes, with and without 20% of integral milk. Viable bacteria were evaluated by directed plating of neutralized aliquots. The worked included chlorhexidine 0.18% as control and it was executed in duplicate. EHA *Eucalyptus* ssp and EHA *T. minuta* were as effective as control chlorhexidine against *S. aureus*. This solutions plus EHA *B. trimera*, were as effective as control against *S. agalactiae*. DEC *Eucalyptus* and DEC *B. trimera*

also inactivated *S. agalactiae* in more prolonged time. Chlorhexidine was the best against *P. aeruginosa* in milk absence, although the EHA were effective at ten or thirty minutes. All solutions, inclusive control, it was sensibility to organic load. The observations from the in vitro studies presented here need to be substantiated by in vivo clinics and toxicity studies by to confirm the potentiality use of plants medicinal extracts as disinfectants/antiseptics in livestock health.

KEY WORDS: Bovine mastitis, chlorhexidine, disinfection, medicinal plants, organic matter.

INTRODUÇÃO

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. A etnoveterinária busca resgatar esses saberes tradicionais estabelecendo uma conexão entre esses saberes e o saber científico. Essa abordagem do conhecimento tradicional pode servir à geração de tecnologias que possam dar conta das demandas de novos sistemas de produção agrícola baseados na utilização de insumos renováveis, gerados na própria comunidade, portanto equânime e participativo, integrando o tradicional com o cientificamente desenvolvido (DE MAAR, 1992; AKABWAY et al., 1997; LEBEL, 2003; WANZALA et al., 2005).

A agroecologia é uma ciência que busca o estudo de experiências produtivas de agricultura ecológica, para elaborar propostas de ação social coletiva que revelem a natureza depredadora do modelo produtivo agroindustrial hegemônico, para substituí-lo por outro que aponte para “uma agricultura sustentável, mais justa, economicamente viável e ecologicamente apropriada” (SEVILLA-GUZMAN, 2001).

O desenvolvimento é entendido como a realização de potencialidades sociais, culturais e econômicas de uma sociedade, em perfeita sintonia com seu entorno ambiental e seus valores éticos. O estabelecimento de agroecossistemas nesta perspectiva passa pelo resgate das práticas tradicionais e a construção participati-

va de alternativas sustentáveis de produção de base ecológica (CAPORAL & COSTABEBER, 2002). Assim, a obtenção de leite em quantidade e qualidade em base agroecológico depende de soluções para os problemas sanitários dos rebanhos através de alternativas sustentáveis entre os recursos naturais renováveis, em que o uso de plantas medicinais apresenta grande potencial.

Entre os problemas de saúde que afetam o gado leiteiro, a mastite infecciosa é a enfermidade de maior prevalência, determinando redução na produção de leite, perdas pelo descarte e morte de animais, e custos com tratamento. A inflamação da glândula mamária determina perdas qualitativas e quantitativas na produção de leite, sendo necessárias diversas atitudes de manejo para seu controle e prevenção, sendo a desinfecção de tetos pós-ordenha uma das mais importantes para o controle da mastite contagiosa (GIL et al., 1990; DEGRAVES & FETROW, 1993; LARANJA & MACHADO, 1994; EKMAN, 2002; WELLENBERG et al., 2002).

Agricultores e veterinários ainda lançam mão de fitoterápicos em mastite bovina, tanto para a prevenção quanto para tratamento. Predominam as práticas em tratamento, com a utilização de soluções ou pomadas medicinais à base de ervas para uso local ou a administração de plantas verdes ou secas via oral.

Este trabalho teve por objetivo avaliar *in vitro* o potencial do extrato hidroalcolico e do decocto de plantas medicinais utilizadas como desinfetante/anti-séptico por agricultores familiares, na desinfecção de úbere de vacas pós-ordenha.

MATERIAIS E MÉTODOS

Plantas

Utilizaram-se plantas com indicativo etnográfico anti-séptico/desinfetantes, conforme descrito (SCHUCH et al., enviado para publicação). As plantas foram *Eucalyptus* ssp, *Baccharis trimera* e *Tagetes minuta*, a primeira coletada de bosques cultivados há, pelo menos, quinze anos e as demais de brotação natural. Colheram-se as plantas no mês de março, num raio de 1 km da referência geográfica 4587 E, 6070N, município de Piratini, RS. Folhas e talos foram secos ao ar, protegidos da luz solar direta e da poeira, trituradas grosseiramente e armazenadas até o uso.

Extratos

Produziram-se extratos hidroalcoólicos (EHA) e decoctos (DEC) das plantas segundo a FARMACOPÉIA BRASILEIRA (1959). O EHA foi obtido pela maceração de 100g de planta seca em 1L de álcool de cereais a 70°GL, durante quinze dias com agitação diária. Após, passou-se o extrato em filtro de gaze, sendo armazenado em frasco âmbar. No dia de uso, esse extrato foi submetido à destilação fracionada em rota-evaporador à pressão reduzida para extração do álcool. Produziu-se o DEC através da cocção de planta seca em água destilada a 10% (p/v) em fogo brando durante dez minutos e filtrada em filtro de gaze. Após as duas formas de extração, procedeu-se à re-hidratação com água destilada reconstituindo a concentração original do extrato, que foi denominado solução-teste. Tais procedimentos foram realizados a não mais que 24 horas antes do uso.

Bactérias

Para avaliação do efeito antibacteriano, utilizaram-se três microrganismos representativos daqueles envolvidos em mastite bovina: *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600) e *P. aeruginosa* (ATCC 10145), amostras-padrão desses microrganismos originalmente obtidos de outras fontes, e *Streptococcus agalactiae* isolado de amostra de campo e caracterizado no Laboratório de Doenças Infecciosas da FV/UFPel através de suas características bioquímicas e tintoriais, segundo

QUINN et al. (1998). A amostra de *S. aureus* e de *S. agalactiae* demonstraram resistência frente aos extratos dessas plantas, semelhantemente a outros isolados de casos de mastite bovina das mesmas espécies bacterianas (SCHUCH et al., enviado para publicação). Mantiveram-se as amostras em repiques mensais em ágar-base adicionado com 8% de sangue ovino e ativadas na véspera do uso por cultivo em caldo cérebro-coração por 16-20 horas. O inóculo era preparado pela diluição em solução salina (NaCl – 0,8%) deste cultivo até uma concentração entre 10^{7-8} UFC/mL.

Método

Dois tubos de ensaio contendo 4 mL da solução-teste para cada bactéria foram preparados. A dois desses tubos, acrescentou-se 1 mL de água destilada estéril e no outro 1 mL de leite integral bovino esterilizado por autoclavagem a 121°C por 5 minutos (matéria orgânica). Então, os tubos eram inoculados com 50 µL do inóculo, agitados vigorosamente em vórtex e alíquotas de 40 µL eram retiradas em intervalos de 30 segundos, 2, 10 e 30 minutos e semeadas em tubo com 4 mL de BHI adicionado de neutralizantes químicos de desinfetantes. Uma alíquota de 40 µL de cada desses tubos era semeada em superfície de três placas de Petry contendo ágar cérebro-coração. As placas eram incubadas por 24 horas e as colônias, contadas. Os tubos também eram incubados por 5 dias a 37°C, para controle da presença de atividade antibacteriana residual, semeando-se novamente a bactéria nos tubos sem crescimento, e para controle de contaminação. Controle sem desinfetante foi sempre realizado para compor o cálculo do índice de inibição (II). Além das seis soluções desinfetantes produzidas, foi incluído no experimento um desinfetante comercial à base de clorexidina (Clorexidina-Cetrimida¹®), na concentração final de 0,18%, conforme recomendado para uso em imersão de tetos pós-ordenha. Desenvolveram-se os testes à temperatura ambiente (entre 20-25°C) em câmara asséptica. Todo experimento foi realizado em duplicata. Realizou-se controle de crescimento bacteriano de todas as soluções-teste e da “matéria orgânica” semeando-se uma

1 ® Digluconato de clorexidina + cloreto de cetrimida, Chemitec.

alíquota de 10 µL em tubo de ensaio contendo 1 mL de caldo infuso cérebro-coração e incubando a 37°C por 48 horas.

Interpretação e análise estatística

O teste era considerado válido quando o inóculo continha entre 10^{5-6} UCF/mL, conforme avaliado pela contagem das placas-controle. A contagem de todas as placas era realizada e calculadas as médias de cada repetição e do controle. Transformação logarítmica dessas médias foi realizada conforme recomenda MARKUS (1973), como segue: $\log(y+1)$. Então, foi constituído o II, através da seguinte fórmula: $II=1-(\log \text{trat} + 1)(\log \text{cont} + 1)^{-1}$.

O desenho experimental seguiu o delineamento fatorial com 7 (soluções desinfetantes) X 4 (tempos) X 2 (com e sem matéria orgânica), em duplicata, analisando-se isoladamente cada uma das três bactérias e com a variável dependente expressa em II. Estes dados foram submetidos à análise de variância para delineamento fatorial e comparação de médias, realizada, segundo Dunnet, para comparações com um padrão (clorexidina). O efeito matéria orgânica foi analisado para cada desinfetante mediante o teste T pareado, todos a 0,05 de significância.

RESULTADOS

A clorexidina, utilizada neste experimento como controle, foi capaz de inativar as três espécies bacterianas durante o período testado. A ação sobre o *S. agalactiae* foi rápida, havendo inativação total aos 30 segundos. Já a *P. aeruginosa* foi inativada aos 2 minutos, e o *S. aureus* aos 10 minutos não apresentava mais células viáveis (Figura 1a). Quando em presença de matéria orgânica leite a 20%, a ação da clorexidina mostrou-se bastante reduzida ($p<0,0001$). Apesar de demonstrar uma tendência de redução da contagem de *S. aureus* e *P. aeruginosa*, a sua eficácia foi fraca, não ultrapassando $10^{0,3}$ de redução na contagem de células após 30 minutos de incubação. Porém, a clorexidina ainda foi capaz de inativar completamente o *S. agalactiae* na presença de matéria orgânica após 10 minutos de incubação.

Também o EHA de Eucalipto foi capaz de inativar o inóculo dos três microrganismos testados, alcançando esse resultado em 30 segundos, 10 minutos e 30 minutos para *S. agalactiae*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, respectivamente (Figura 1b). Sofreu influência da presença de leite a 20% ($p<0,001$). Mas foi capaz de inativar *S. agalactiae* após 10 minutos de contato, reduziu a contagem de *S. aureus* em até $10^{0,7}$ UFC/ml e não apresentou ação sobre a *P. aeruginosa* durante os 30 minutos de exposição.

O decocto de *Eucalyptus* ssp teve a capacidade de eliminar completamente o *S. agalactiae* em 10 minutos de contato. Também reduziu em $10^{0,5}$ UFC/mL a contagem de *S. aureus*. Não apresentou ação sobre *P. aeruginosa* e nem sobre nenhuma das três bactérias em presença de matéria orgânica (Figura 1c).

Os resultados referentes à curva de inativação do EHA de *T. minuta* são apresentados na Figura 1d. Não foi identificada ação antibacteriana deste extrato sobre a *P. aeruginosa*. Foi capaz de eliminar todas as células de *S. agalactiae* em 30 segundos, tempo que foi ampliado para 10 minutos quando em presença de matéria orgânica. Inativou o *S. aureus* em 30 minutos. Em presença de matéria orgânica, apenas aos 30 minutos percebe-se uma pequena tendência de redução da contagem de células (redução de $10^{0,35}$ UFC/mL).

O DEC *Tagetes minuta* apresentou fraco efeito antibacteriano sobre o *S. agalactiae*, reduzindo o número de células viáveis em $10^{0,3}$ UFC/mL. Sobre as outras bactérias e em presença de matéria orgânica não houve efeito antibacteriano detectável (dados não demonstrados).

O EHA de *B. trimera* apresentou ação antibacteriana sobre os três microrganismos testados, alcançando a inativação total de *S. agalactiae* em 30 segundos, *P. aeruginosa* em 10 minutos e *S. aureus* em 30 minutos (Figura 1e). Na presença de matéria orgânica, o EHA de *B. trimera* foi capaz de inativar o *S. agalactiae* em 10 minutos e reduzir a concentração de *S. aureus* em $10^{0,5}$ UFC/mL ao final do experimento. Nessas condições, esse extrato não demonstrou ação sobre a *P. aeruginosa* em 30 minutos de contato.

Na Figura 1f, pode-se observar que houve

a inativação de *S. agalactiae* após 10 minutos de exposição a DEC de *B. trimera*. Também se verificou uma tendência de redução da contagem de *S. aureus* aos 30 minutos de contato de apro-

ximadamente $10^{0,3}$ UFC/mL. *P. aeruginosa* sem matéria orgânica e nenhuma das três bactérias em presença de leite integral a 20% foram sensíveis a esse extrato.

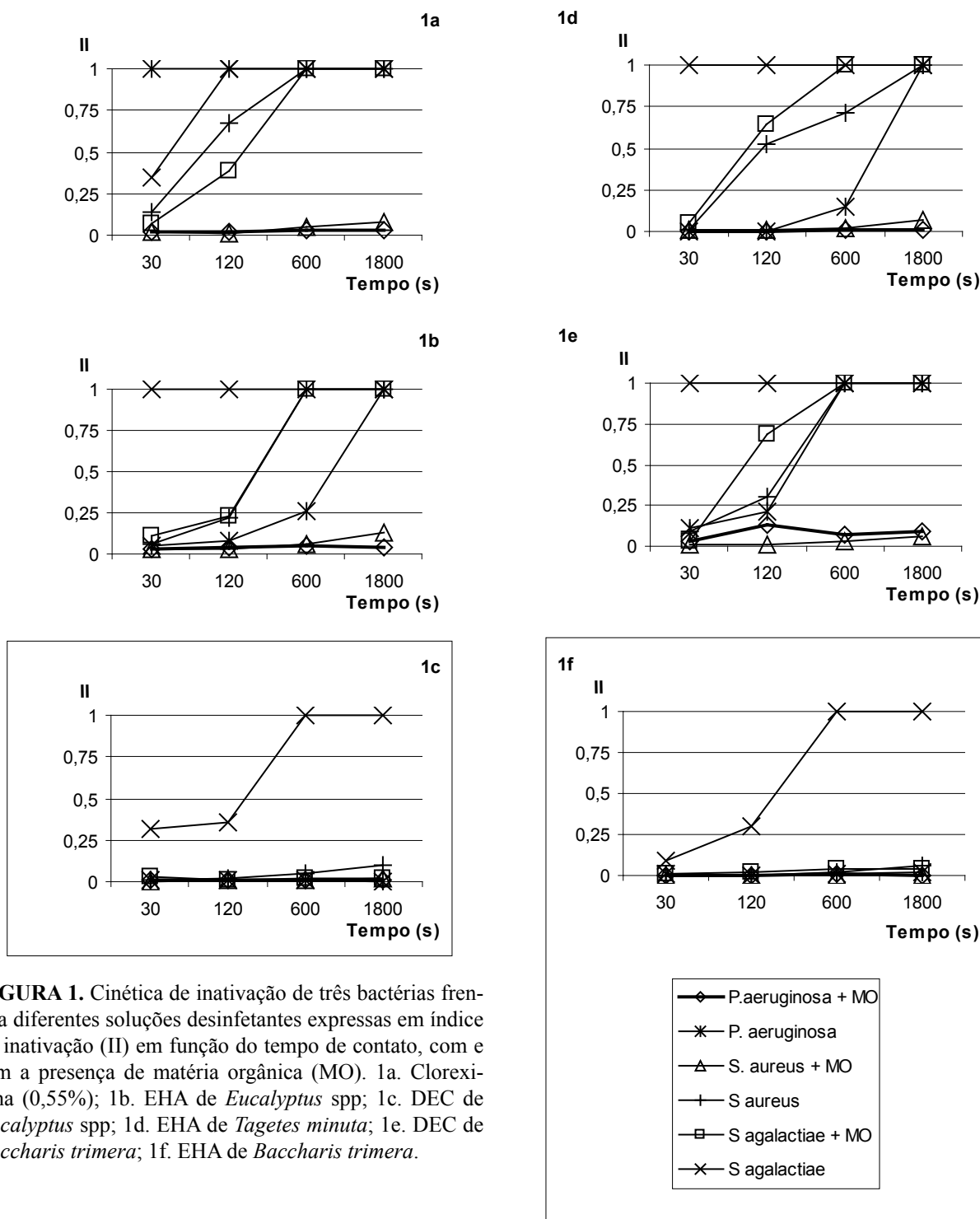


FIGURA 1. Cinética de inativação de três bactérias frente a diferentes soluções desinfetantes expressas em índice de inativação (II) em função do tempo de contato, com e sem a presença de matéria orgânica (MO). 1a. Clorexidina (0,55%); 1b. EHA de *Eucalyptus* spp; 1c. DEC de *Eucalyptus* spp; 1d. EHA de *Tagetes minuta*; 1e. DEC de *Baccharis trimera*; 1f. EHA de *Baccharis trimera*.

As médias do II, a significância da análise de variância e a comparação entre médias em função do padrão clorexidina a 0,18% das sete soluções-teste analisadas estão expressas nas Tabelas 1, 2 e 3, divididas por microrganismo, respectivamente *S. agalactiae*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Na ausência de matéria orgânica, todas soluções testadas, menos o decocto de *T. minuta*, apresentaram forte ação bactericida sobre *S. agalactiae*. Porém, somente os EHA das três plantas

não diferiram do controle, sendo inclusive mais rápidos na inativação da bactéria do que o controle. Na presença de matéria orgânica, dois grupos distintos são formados quanto ao II. O controle e os três EHA não diferiram estatisticamente, apresentando a capacidade de inativar as mais de 10^5 UFC/mL em que estiveram em contato. O outro grupo, representado pelos decoctos das três plantas, não apresentaram ação sobre a bactéria em trinta minutos de exposição.

TABELA 1. Índice de inibição (II)** médio das sete soluções-teste sobre *S. agalactiae* em função do tempo e da presença de matéria orgânica (M.O.)

Solução desinfetante	Presença de M.O.	Tempo				Controle Log UFC/mL
		30 s	2 min	10 min	30 min	
Clorexidina (Controle)	Não	0,343	1	1	1	6,090
	Sim	0,074	0,387	1	1	
EHA <i>Eucalyptus</i> ssp	Não	1	1	1	1	5,315
	Sim	0,112	0,228	1	1	
EHA <i>T. minuta</i>	Não	1	1	1	1	5,011
	Sim	0,051	0,639	1	1	
DEC <i>Eucalyptus</i> ssp	Não*	0,316	0,354	1	1	5,061
	Sim *	0,026	0,013	0,015	0,019	
DEC <i>T. minuta</i>	Não*	0,009	0,015	0,048	0,042	5,341
	Sim *	0	0	0	0	
DEC <i>B. trimera</i>	Não*	0,094	0,299	1	1	5,025
	Sim *	0,011	0,019	0,042	0,040	
EHA <i>B. trimera</i>	Não	1	1	1	1	5,097
	Sim	0,032	0,684	1	1	

Obs.: Tratamentos identificados com * diferiram do controle através do teste de Dunnett ($p < 0,05$), analisando-se separadamente a variável presença ou ausência matéria orgânica.

**II=1-[log (UFC/mL do tratamento+1) / log (UFC/mL do controle+1)]. Valores negativos foram igualados a 0.

O controle e os três EHA foram capazes de inativar *S. aureus* durante o período do experimento. Porém, o EHA de *B. trimera* assim como os três decoctos diferiram do controle. Com a adição de matéria orgânica, a solução-controle e os EHAs demonstraram uma tendência à redução da contagem bacteriana, mas com menor eficácia. Nenhum dos decoctos demonstrou ação antibacteriana em 30 minutos.

O controle teve rápida ação frente *P. aeruginosa* na ausência de matéria orgânica, diferindo estatisticamente de todos as demais soluções testadas. No entanto, não apresentou nenhuma ação na sua presença, assim como os demais soluções, não sendo realizada análise estatística nessas condições.

TABELA 2. Índice de inibição (II) médio das sete soluções-teste sobre *S. aureus*, em função do tempo e da presença de matéria orgânica (M.O.)

Solução desinfetante	Presença de M.O.	Tempo				Controle Log UFC/mL
		30 s	2 min	10 min	30 min	
Clorexidina	Não	0,139	0,678	1	1	5,279
	Sim	0,022	0,014	0,049	0,082	
EHA <i>Eucalyptus</i> ssp	Não	0,055	0,224	1	1	5,727
	Sim	0,033	0,031	0,061	0,134	
EHA <i>T. minuta</i>	Não	0,009	0,529	0,715	1	5,658
	Sim	0,011	0,009	0,017	0,065	
DEC <i>Eucalyptus</i> ssp	Não *	0,013	0,019	0,054	0,104	5,488
	Sim	0,004	0,007	0,012	0,022	
DEC <i>T. minuta</i>	Não *	0,012	0,005	0,014	0,015	5,705
	Sim	0,005	0,002	0,004	0,022	
DEC <i>B. trimera</i>	Não *	0	0	0,016	0,057	5,138
	Sim	0	0	0,001	0,005	
EHA <i>B. trimera</i>	Não*	0,002	0,065	0,324	1	5,392
	Sim	0,007	0,014	0,035	0,060	

Obs.: Tratamentos identificados com * diferiram do controle através do teste de Dunnett ($p < 0,05$), analisando-se separadamente a variável presença ou ausência matéria orgânica.

**II=1-[log (UFC/mL do tratamento+1) / log (UFC/mL do controle+1)]. Valores negativos foram igualados a 0.

TABELA 3. Índice de inibição (II) médio das sete soluções-teste sobre *P. aeruginosa*, em função do tempo e da presença de matéria orgânica (M.O.)

Solução Desinfetante	Presença de M.O.	Tempo				Controle Log UFC/mL
		30 s	2 min	10 min	30 min	
Clorexidina	Não	1	1	1	1	5,000
	Sim	0,024	0,018	0,032	0,032	
EHA <i>Eucalyptus</i> ssp	Não *	0,046	0,077	0,257	1	5,021
	Sim	0,030	0,040	0,047	0,037	
EHA <i>Tagetes minuta</i>	Não *	0	0,002	0,145	1	5,612
	Sim	0,002	0,005	0,006	0,009	
DEC <i>Eucalyptus</i> ssp	Não *	0,008	0,010	0,010	0,004	5,344
	Sim	0,015	0,013	0,012	0,010	
DEC <i>Tagetes minuta</i>	Não *	0,041	0,037	0,029	0,023	5,001
	Sim	0,020	0,030	0,031	0,016	
DEC <i>Baccharis trimera</i>	Não *	0,008	0	0,007	0,019	5,011
	Sim	0	0	0,011	0	
EHA <i>Baccharis trimera</i>	Não *	0,113	0,215	1	1	5,007
	Sim	0,032	0,135	0,076	0,086	

Obs.: Tratamentos identificados com * diferiram do controle através do teste de Dunnett ($p < 0,05$), analisando-se separadamente a variável presença ou ausência matéria orgânica.

**II=1-[log (UFC/mL do tratamento+1) / log (UFC/mL do controle+1)]. Valores negativos foram igualados a 0.

DISCUSSÃO

Uma solução desinfetante deve ser adequada às situações-problema nas quais será empregada. Para ser utilizada na desinfecção de tetos na rotina de ordenha de bovinos, deve ser eficaz sobre os agentes envolvidos na mastite, com o tempo de ação compatível ao manejo a que os animais são submetidos e com pouca suscetibilidade aos fatores intervenientes presença de matéria orgânica, pH e suporte. Além disso, não deve possuir efeito colateral sobre a pele do animal e não deixar resíduos no leite. No entanto, efeitos deletérios sobre a pele e a mucosa dos tetos podem favorecer a instalação de novas infecções intra-mamárias. Em geral, a concentração eficaz dos desinfetantes tradicionais é muito próxima a sua dose lesiva das estruturas de superfície do teto (BODDIE et al., 1997; OURA et al., 2002; PEDRINI & MARGATHO, 2003).

A toxicidade dérmica do óleo essencial de *Eucalyptus* já foi testada, sendo este produto utilizado na formulação de cremes dérmicos de uso humano (WILMMS et al., 2005). Porém, na forma de uso proposta – extrato bruto e uso tópico – não são encontrados relatos na literatura sobre a toxicidade das plantas aqui utilizadas. A experiência de uso dos produtores rurais sugere baixo risco de ocorrência de problemas de pele. No entanto, testes específicos devem ser realizados.

A desinfecção de tetos é uma prática incorporada na rotina de ordenha, sendo importante para o controle de mastite. Na fisiologia do úbere, o esfíncter do teto relaxa para a extração do leite, graças à descarga de ocitocina, quando o animal é estimulado e permanece relaxado em torno de 30 minutos após (SCHALM et al., 1971). A rapidez do efeito antibacteriano da solução empregada é essencial, pois o tempo de contato do desinfetante com o microrganismo no ambiente do teto é curto. O efeito comparável frente às bactérias gram-positivas, *S. aureus* e *S. agalactiae*, de algumas das soluções desinfetantes utilizadas quando comparadas ao produto comercial, dá suporte à indicação etnográfica de uso como desinfetantes/anti-séptico.

Relatos da literatura para clorexidina têm sido contraditórios. LAROQUE et al. (1992) relatam boa eficácia do acetato de clorexidina já aos 30 segundos de contato frente a *S. aureus*, *S. agalactiae* e *E. coli*. MURDOUGH & PANKEY (1993) verificaram que 67% de 15 formulações comerciais desse desinfetante foram efetivas contra *S. agalactiae*, nove destas foram efetivas frente a *S. aureus* e somente 17% dessas últimas foram efetivas contra *E. coli*. Os resultados desta pesquisa cumprem com a expectativa expressa pelo fabricante do produto, ao indicar que o efeito eficaz é obtido a partir de cinco minutos.

Nas condições deste trabalho, todas as soluções desinfetantes, inclusive o controle, apresentaram-se sensíveis à presença de matéria orgânica a 20%. Outros autores descrevem boa atividade da clorexidina na presença de baixas concentrações de matéria orgânica (albumina sérica bovina a 0,5%) (SASSONE et al., 2003). Sendo o leite integral a principal matéria orgânica que pode contaminar a solução desinfetante na situação-problema mastite bovina, parece importante que desinfetantes indicados para esses casos sejam avaliados na presença deste.

CONCLUSÃO

No modelo experimental utilizado, obtiveram-se extratos naturais – EHA *Eucalyptus* ssp, EHA *T. minuta* e EHA *B. trimera* – que apresentaram atividade antibacteriana frente a microrganismos gram-positivos, sendo os dois primeiros estatisticamente semelhantes ao controle comercial clorexidina a 0,18% ($p > 0,05$). Estes resultados habilitam tais soluções desinfetantes a testes específicos de toxicidade tóxica e testes clínicos de uso na rotina de ordenha de gado de leite.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, à COOPAVA, pela coleta das plantas, à FIOCUZ, pelo envio das amostras bacterianas-padrões, e a Chemitec, pela disponibilização da clorexidina.

REFERÊNCIAS

- AKABWAY, D.; LEYLAND, T.; STEM, C. Provision of sustainable animal health delivery systems, which incorporate traditional livestock knowledge, to marginalized pastoralist areas. In: *Ethnoveterinary Medicine: alternatives for livestock development*. In: INTERNATIONAL CONFERENCE HELD IN PUNE, 1997, India, v. 1, parte 4: Application of ethnoveterinary medicine. 1997. Pune, India. **Anais...** Disponível em: <<http://www.ethnovetweb.com>>. Acesso em: 7 jan. 2007.
- BODDIE, R. L.; NICKERSON, S. C.; ADKINSON, R. W. Efficacies of teat germicides containing 0,5% chlorhexidine and 1% iodine during experimental challenge with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2808-2814, 1997.
- 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.
- DEGRAVES, F. J.; FETROW, J. Economics of mastitis and mastitis control. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 9, p. 421-434, 1993.
- DE MAAR, T. W. Qué contienen esas botellas? **CERES**, v. 136, p. 40-45, 1992.
- EKMAN, T. Tratamiento y control de la mastitis en los países nórdicos. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 10., 2002. **Proceedings...** Montevideo, Uruguay. 2002. p. 26-29.
- FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2. ed. São Paulo: Siqueira, 1959.
- GIL, R.; HOWARD, W. H.; LESLIE, K. E.; LISSEMORE, K. Economics of mastitis control. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 3340-3348, 1990.
- LARANJA, L. F.; MACHADO, P. F. Avaliação da efetividade de um programa de controle de mastite bovina em fazenda produtoras de leite B do Estado de São Paulo. **Science Agriculture**, Piracicaba, v. 51, p. 569-577, 1994.
- LAROCQUE, L.; MALIK, S. S.; LANDRY, D. A.; PRESSEAU, S.; SVED, S.; MATULA, T. In vitro germicidal activity of teat dips against *Nocardia asteroides* and other udder pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1233-1240, 1992.
- LEBEL, J. **Health: an ecosystem approach**. Ottawa, Canadá: IDRC, 2003. 85 p.
- MARKUS, R. **Elementos de estatística aplicada**. Porto Alegre: Fac. Agronomia UFRGS, 1973. 330 p.
- MURDOUGH, P. A.; PANKEY, J. W. Evaluation of 57 teat sanitizers using excised cow teats. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2033-2038, 1993.
- OURA, L. Y.; FOX, L. K.; WARF, C. C.; KEMP, G. K. Efficacy of two acidified chlorite postmilking teat disinfectants with sodium dodecylbenzene sulfonic acid in prevention of contagious mastitis using an experimental challenge protocol. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 252-257, 2002.
- PEDRINI, S. C. B.; MARGATHO, L. F. F. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 4, p. 391-395, 2003.
- QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. **Clinical Veterinary Microbiology**. Londres: Ed. Wolfe, 1998. 648 p.
- SASSONE, L. M.; FIDEL, R.; FIDEL, S.; VIEIRA, M. HIRATA Jr, R. The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine *in vitro*. **International Endodontical Journal**, v. 36, p. 848-852, 2003.
- SCHALM, O. W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360 p.
- SEVILLA-GUZMAN, E. Uma estratégia de sustentabilidade a partir da agroecologia. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v. 2, p. 35-45, 2001.
- WANZALA, W.; ZESSIN, K. W.; KYULE, N. M.; BAUMANN, M. P. O.; MATHIAS, E.; HASSANALI, A. Ethnoveterinary medicine: a critical review of its evolution, perception, understanding and the way forward. **Livestock Research for Rural Development**, v. 17, 2005.
- WELLENBERG, G. J.; VAN DER POEL, W. H. M.; VAN OIRSHOT, J. T. Viral infections and bovine mastitis: a review. **Veterinary Microbiology**, v. 88, p. 27-45, 2002.
- WILLMS, R. U.; FUNK, P.; WALTHER, C. Local tolerability of two preparations with eucalyptus oil and pine-needle oil. **MMW Fortschr Medicine**, Suppl. 3, p. 109-112, 2005.