



TESTE *IN VIVO* DE UMA FORMULAÇÃO NANOESTRUTURADA PARA CONTROLE DA MASTITE BOVINA

ARAUJO, R. S.¹; MOSQUEIRA, V. C. F.¹; BRITO, M. A. V. P.²; GUIMARÃES, A. S.²; LANGE, C. C.²; GERN, J. C.²; BRANDÃO, H. M.^{2*}

¹ Universidade Federal de Ouro Preto, MG, Brasil

² Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil

*e-mail de contato; humberto@cnppl.embrapa.br

Projeto Componente: PC5

Plano de Ação: PA6 e PA 2

Resumo

A mastite figura como uma das doenças que mais causam prejuízo econômicos em rebanhos leiteiros. Seu tratamento consiste de antibioticoterapia pela via parenteral ou intramamária, sendo esta mais eficiente. Entretanto, os casos de insucesso terapêutico são frequentes. Para contornar esta limitação, este trabalho objetivou avaliar o potencial uso de uma formulação nanoestruturada de antibiótico para o tratamento da mastite de bovinos leiteiros. Para tanto, doze quartos mamários de vacas na fase de secagem foram tratados com 600mg de cloxacilina nanoestruturada pela via intramamária. A formulação apresentou tanto efeito curativo nos quartos mamários infectados, quanto efeito preventivo nos saudáveis, indicando, portanto, seu uso promissor para o controle dessa infecção.

Palavras-chave: Mastite, bovino, nanopartículas, cloxacilina

Introdução

A mastite bovina provoca perdas econômicas em todos os segmentos da cadeia produtiva do leite, reduzindo a produtividade, aumentando o custo de produção, o número de células somáticas e diminuindo a qualidade do leite [1]. Dentro de um sistema produtivo, tais consequências resultam em menor remuneração, decorrente em parte, dos sistemas atuais de pagamento adotados pela maioria das empresas compradoras [2]. Em adição, as alterações físico-químicas do leite proveniente de animais com mastite, provocam queda de rendimento industrial, problemas de processamento e produtos industrializados mais instáveis e de pior qualidade [2].

Uma gama muito grande de micro-organismos pode causar mastite, mas pela frequência com que

são isolados, o *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* são considerados os mais importantes [3].

Para o tratamento e para a prevenção de novas infecções por esses patógenos é preconizada a terapia de vaca seca, que consiste na infusão intramamária de formulações de longa ação contendo antibiótico no momento da secagem (*i.e.* 45-60 dias antes do parto). Todavia, recidivas são frequentes após a terapia, principalmente quando os patógenos conseguem se subcompartimentalizar no interior de abscessos, células epiteliais, células fagocitárias, alvéolos e ductos obstruídos por coágulos, os quais dificultam a difusão do antibiótico[1].

No intuito de contornar tal limitação, nossa equipe desenvolveu uma formulação intramamária

contendo nanocápsulas capazes de direcionar o antibiótico para a superfície do epitélio glandular e para o interior de células fagocitárias.

Neste contexto, objetivou-se avaliar clinicamente o uso intramamário de nanocápsulas contendo cloxacilina para o tratamento de vacas contendo quartos mamários sadios e naturalmente infectados com patógenos causadores de mastite.

Material e métodos

Nanocápsulas contendo cloxacilina foram preparadas pela técnica de deposição interfacial de polímero pré-formado, seguida de evaporação do solvente, segundo metodologia previamente descrita por [4].

O tamanho médio e índice de polidispersão (IPD) da partículas foram determinados por espectroscopia de correlação de fótons a 20°C em um Nanosizer N5Plus Analyser, Beckmann Coulter (Fullerton, USA), enquanto que o potencial Zeta foi determinado por anemometria laser Doppler em um Zetasizer HS3000 (Malvern Instruments, Malvern, UK).

A determinação do estado sanitário do quarto mamário foi determinado por intermédio de três isolamentos bacterianos intervalados de dez dias e por três exames de isolamento bacteriano no pós parto respeitando o mesmo intervalo [5,6]. Considerou-se quarto mamário infectado aquele que apresentou pelo menos dois isolamentos de um mesmo patógeno.

Resultados e discussão

As nanocápsulas contendo cloxacilina infundidas na glândulas mamárias apresentaram diâmetro médio de 322nm e uma baixa polidispersão, com IPD de 0,088. O potencial Zeta foi estimado em -28mV, indicando que as partículas podem ser estáveis em suspensão aquosa por repulsão eletrostática, uma vez que o módulo do potencial Zeta encontra-se muito próximo de 30mV [7].

Nos quartos mamários infectados foram isolados *Corynebacterium sp.* (03), *Staphylococcus coagulase negativo* (02) e *Streptococcus uberis* (01) que, quando tratados, tornaram-se livres de patógenos (Tabela 1). Por sua vez, os quartos mamários que se apresentavam livres de bactérias patogênicas permaneceram saudáveis durante o período experimental. Tais resultados indicam que o sistema nanoparticulado empregado no experimento

apresentou tanto efeito curativo quanto preventivo para os bovinos.

Tabela 1. Status microbiológico de quartos mamários tratados com 600mg de cloxacilina nanoencapsulada.

Quartos mamários	Pré tratamento		Pós parto	
	neg	pos	neg	pos
Com mastite	-	06	06	-
Sem mastite	06	-	06	-

O período próximo ao parto, marcado pela fase de secagem e pelos primeiros 30 dias de lactação, é responsável pela maior incidência de novas infecções na glândula mamária. Isso ocorre em função da maior vulnerabilidade glandular, que pode apresentar falhas na manutenção do tampão queratinoso no óstio do teto e redução da capacidade de resposta imunológica da glândula mamária [8]. Por consequência, uma boa formulação antimastite deve exercer efeito curativo e preventivo quando aplicada no momento da secagem [9].

Conclusões

Os resultados encontrados, embora preliminares, sinalizam o uso promissor da cloxacilina nanoencapsulada na terapia de vaca seca. Todavia, para confirmar estes achados e conferir segurança de seu uso, o número de animais tratados deve ser ampliado.

Agradecimentos

À EMBRAPA, CNPq, FINEP, CAPES, Rede AgroNano, FAPEMIG e Rede NAOBIOMG.

Referências

1. R. Gehring, G. W. Smith *J. Vet. Pharm. and Therap.* 2006, 29, 237.
2. P. C. Martins *Os extremos do leite*, in: *Cadeia produtiva do leite*, Embrapa Ed.; Juiz de Fora, 2005; 204.
3. R. J. Harmon *J. Dairy Sci.*, 1994, 77, 2103.
4. V. C. F. Mosqueira; R. S. Araujo; H. M. Brandao US Patent. WO 2011150481, 2011.
5. NCCLS. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Waine: NCCLS, Document M31-T, 1997, 64.
6. M. A. V. P. Brito; J. R. F. Brito; M. A. S. Sila; R. A. Caro *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 2001, 53, 531.
7. C. P. Reis; R. J. Neufeld; A. J. Ribeiro; F. Veiga *Nanomed. Nanotech. Biol. Med.*, 2006, 2, 8.
8. B. A. Mallard; J. C. Dekkers; M. J. Ireland; K. E. Leslie; S. Sharif *J. Dairy Sci.*, 1998, 81, 585.

9. R. J. Erskine; S. Wagner; F. J. Degraes *Vet. Clin.*,
2003, *19*, 109.