



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA
E SOCIEDADE

**ASPECTOS TECNOLÓGICOS E SOCIAIS DO POTENCIAL
ANTIMICROBIANO DE PLANTAS DO SEMIÁRIDO SOBRE
CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DE CAPRINOS**

ANNA JACINTA DANTAS DE MEDEIROS

Mossoró, RN
Março de 2013

ANNA JACINTA DANTAS DE MEDEIROS

**ASPECTOS TECNOLÓGICOS E SOCIAIS DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO
DE PLANTAS DO SEMIÁRIDO SOBRE CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DE
CAPRINOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-
Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre em Ambiente,
Tecnologia e Sociedade.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó – UFERSA

Co-orientador: Prof. Dr. Frederico Silva Thé Pontes –UFERSA

Mossoró, RN
Março de 2013

**Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e catalogação da
Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFERSA**

M534a Medeiros, Anna Jacinta Dantas

Aspectos tecnológicos e sociais do potencial antimicrobianas de plantas do semiárido sobre cepas bacterianas isoladas de caprinos. -- Mossoró, RN; 2013.

118f.: il.

Dissertação (Pós-Graduação em Ambiente Tecnologia e Sociedade) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação.

Orientador: Prof^o. Dr. Sc. Francisco M. Carneiro Feijó.

Co-orientador; Prof^o. Dr. Sc. Frederico S. Thé Pontes

1. Caprinocultura. 2. Aceitabilidade de tecnologia antissépticos.
3. *Spondias purpúrea* L. 4. *Spondias mombim* L. I. Título.

CDD: 636.39

Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza

ANNA JACINTA DANTAS DE MEDEIROS

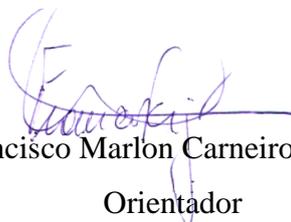
**ASPECTOS TECNOLÓGICOS E SOCIAIS DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO
DE PLANTAS DO SEMIÁRIDO SOBRE CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DE
CAPRINOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-
Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre em Ambiente,
Tecnologia e Sociedade.

Aprovada em: 27 de março de 2013

Conceito: A

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó (UFERSA)
Orientador



Profa. Dra. Elisabete Stradiotto Siqueira (UFERSA)
Membro



Profa. Dra. Michelline do Vale Maciel (FACENE-RN)
Membro

AGRADECIMENTOS

Primeiro quero agradecer a Deus pela oportunidade concebida em mais um degrau da minha vida.

Agradecer aos meus pais, José Gordiano de Medeiros e Cecília Maria Dantas de Medeiros, pelos ensinamentos e orientações nas diversas etapas da minha vida.

Ao meu esposo, Wellington Ferreira Dantas, pela compreensão e companheirismo.

Ao Professor Francisco Marlon Carneiro Feijó, pela orientação, paciência e apoio no trabalho.

Ao Professor Frederico Silva Thé Pontes, pela sua co-orientação.

Ao Professor Genevile Carife Bergamo pelas orientações nas análises estatísticas.

Aos colegas, Caio Sérgio Santos, Ingrid Anajja Galvao Nogueira, Juliana Maria da Costa, Cristiane Ribeiro Lucas e Carolina Carvalho Barbosa que me ajudaram nas coletas, análises de laboratório e aplicação de questionários.

Aos componentes do Laboratório da UERN, Simone Alves Serafim e ao Prof. Jaécio Carlos Diniz pelo acompanhamento na preparação dos extratos e análises fitoterápicas.

Aos assentados da Comunidade Independência, especialmente aos produtores de caprinos.

À banca examinadora, formada pelas Dras. Profa. Elisabete Stradiotto Siqueira e Profa. Dra. Michelline do Vale Maciel, pelas sugestões e correções apresentadas.

Ao IFRN/Campus Ipanguaçu pela flexibilização necessária à realização desse mestrado.

Aos colegas do curso de mestrado pela troca de experiências, apoio e amizade.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização do curso.

ASPECTOS TECNOLÓGICOS E SOCIAIS DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE PLANTAS DO SEMIÁRIDO SOBRE CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DE CAPRINOS

RESUMO – Esse trabalho teve como objetivo pesquisar a ação antisséptica dos extratos das folhas de *Spondias purpurea* L. (sirigueleira), *Spondias mombin* L. (cajá) e *Azadirachta indica* A. (nim) sobre cepas bacterianas isoladas de caprinos, como também avaliar os critérios de aceitabilidade do uso de extratos vegetais pela comunidade do Assentamento Independência. A metodologia consistiu na aplicação de questionários aos assentados, buscando as dificuldades e benefícios para a aceitabilidade dessa tecnologia. Também foram realizadas avaliações laboratoriais “in vitro” e “in vivo” do potencial antimicrobiano das plantas. Para preparar os extratos vegetais hidroalcoólicos a 1%, 2% e 3% de p/v coletou-se folhas de sirigueleira, cajá e nim. Em seguida, realizou-se o teste de sensibilidade aos extratos por difusão em ágar baseados na metodologia do Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão, onde nas placas com ágar Muller-Hinton fez-se 5 poços de diâmetro de 2 mm. Com o auxílio do suabes, semeou-se as bactérias na superfície das placas e em cada poço foram colocados 50 µL de iodo, água, extrato de cajá, siriguela e nim. Após 24h/36°C, foram medidos os halos de inibição produzidos em volta do poço. O extrato que apresentou melhor ação foi utilizado na avaliação “in vivo” que consistiu na aplicação em grupos formados por 3 animais, de extrato de cajá a 3%, iodo a 2% e água durante 28 dias consecutivos, com coletas de leite e swabs das tetas direita e esquerda nos dias 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28. Levados para o laboratório, os swabs foram lavados em água, submetido a diluições e semeados em Agar “Plate Count” 37°C/24h para contagem de mesófilas. Para a contagem de coliformes totais e termotolerantes foi utilizado o teste do NMP. Quanto aos resultados, observa-se que as maiores dificuldades para aceitabilidade do produto são as práticas de manejo ineficientes e o risco de toxicidade do produto. Entre os aspectos benéficos está o fácil acesso dos assentados ao produto, a possível redução de resíduos no leite, a diminuição de custos e o controle dos patógenos. Sobre a microbiota bacteriana isolada, identificou-se: *Bacillus megaterium*, *Bacillus sp.*, *Corynebactérias*, *Enterobacter sp.*, *Cellulomonas sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.* e *Staphylococcus coagulase* negativa. Dentre os extratos, apenas o cajá apresentou atividade, tendo melhor ação sobre a *S. coagulase* negativa (15, 18 e 20 mm) e *Streptococcus sp.* (18, 19 e 20 mm) respectivamente a 1%, 2% e 3% ($p < 0.05$). Quanto a avaliação “in vivo”, obtiveram-se as seguintes médias, em UFC, para a contagem de mesófilas por tratamento: Cajá 3% = 2170,17, Iodo 2% = 5005,33 e Água = 31704,29. Existiu diferença significativa ($p = 0,0147$) entre os produtos testados. Não houve diferença entre os produtos ($p = 0,1280$) para a análise de coliformes totais. Os coliformes termotolerantes, foram identificados apenas nos animais que receberam água como tratamento. Conclui-se que o extrato do cajá apresentou potencial antimicrobiano, sugerindo a possível aplicação do antisséptico na prevenção e tratamento de infecções relacionadas a caprinocultura.

Palavras-Chave: Caprinocultura, Aceitabilidade de tecnologia, Antissépticos, *Spondias purpurea* L., *Spondias mombin* L., *Azadirachta indica* A.

TECHNOLOGICAL AND SOCIAL ASPECTS OF POTENTIAL ANTIMICROBIAL PLANTS SEMIÁRIDO ISOLATED BACTERIAL STRAINS OF GOATS

ABSTRACT – This study aimed to investigate the action of antiseptic extracts of leaves of *Spondias purpurea* L. (sirigueleira), *Spondias mombin* L. (cajá) and *Azadirachta indica* A. (nim) bacterial strains isolated from goats, as well as evaluating the criteria for acceptability of the use of plant extracts for the community of Assentamento Independência. The methodology consisted of questionnaires to the settlers, seeking the difficulties and benefits to the acceptability of this technology. Laboratory evaluations were also performed “in vitro” and “in vivo” antimicrobial potential of plants. To prepare plant extracts hydroalcoholic 1%, 2% and 3% w/v was collected sheets sirigueleira, cajá and neem. Then there was the sensitivity test to extracts by agar diffusion based on the methodology of the Antimicrobial Sensitivity Test for Hard-diffusion, where the plates with Mueller-Hinton agar made up of 5 wells of 2 mm diameter. With the aid of swabs, bacteria seeded on the surface of each well and plates were placed 50 μ L iodine, water, extract cajá, sirigueleira and nim. After 24h/36 °C were measured the inhibition produced around the well. The extract showed best activity that was used for “in vivo” assessment that consisted of 3 animals in each application, extract cajá 3%, 2% iodine and water for 28 consecutive days, with samples of milk and teat swabs left and right on days 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 and 28. Taken to the laboratory, the swabs were washed in water, and subjected to dilutions plated on agar "Plate Count" 37 °C/24h count for mesophile. For the count of total and fecal coliforms test was used to NMP. As for the results, it is observed that the greatest difficulties for product acceptability are inefficient management practices and risk of toxicity of the product. Among the beneficial aspects is the easy access to the product of the settlers, the possible reduction of residues in milk, cost reduction and control of pathogens. About the isolated bacterial microbiota, we identified: *Bacillus megaterium*, *Bacillus* sp., *Corynebactérias*, *Enterobacter* sp., *Cellulomonas* sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp. *Staphylococcus* and *coagulase* negative. Among the extracts, only cajá showed activity, with the best action on *S. Coagulase* negative (15, 18 and 20 mm) and *Streptococcus* sp. (18, 19 and 20 mM) respectively at 1%, 2% and 3% ($p < 0.05$). As for the “in vivo” evaluation, we obtained the following averages in UFC, to count for mesophile treatment: Caja 3% = 2170.17, Iodine 2% = 5005.33 = 31704.29 and Water. There was a significant difference ($p = 0.0147$) among the tested products. There was no difference between products ($p = 0.1280$) for analysis of total coliforms. The fecal coliform were identified only in animals that received water as a treatment. We conclude that the extract showed antimicrobial potential cajá, suggesting the possible application of antiseptic in the prevention and treatment of infections related to goat.

Key-Words: Goat, Acceptability of technology, Antiseptics, *Spondias purpurea* L., *Spondias mombin* L., *Azadirachta indica* A.

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--------|---|
| BHI | <i>Brain Heart Infusion</i> |
| CAERN | Companhia de Águas e Esgoto do Rio Grande do Norte |
| CEP | Comitê de Ética em Pesquisa |
| CEPEA | Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada |
| CEUA | Comitê de Ética no Uso de Animais |
| DNase | Desoxirribonucleases |
| EC | <i>Escherichia coli</i> |
| IDEMA | Instituto de Desenvolvimento Sustentável e Meio Ambiente |
| IN | Instrução Normativa |
| INCRA | Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária |
| LSS | Lauril Sulfato de Sódio |
| MAPA | Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento |
| NCCLS | <i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i> |
| NMP | Número Mais Provável |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| PRONAF | Programa Nacional de Agricultura Familiar |
| RPM | Rotações Por Minuto |
| SCN | <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecimento |
| TSST-1 | Síndrome do Choque Tóxico |
| UERN | Universidade Estadual do Rio Grande do Norte |

| | |
|--------|--|
| UFC | Unidade Formadora de Colônia |
| UFERSA | Universidade Federal Rural do Semi-Árido |
| USP | Universidade de São Paulo |
| VB | Verde Brilhante |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Característica morfológica da bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> | 24 |
| Figura 2 – Exemplar de <i>Spondias mombin</i> L. (cajá) | 28 |
| Figura 3 – Folhas e frutos da <i>Spondias purpurea</i> L. (siriguela) | 30 |
| Figura 4 – Exemplar de <i>Azadirachta indica</i> A. (nim) | 32 |
| Figura 5 – Estrutura química da azadiractina | 33 |
| Figura 6 – Localização do Assentamento Independência – Mossoró/RN | 38 |
| Figura 7 – (a) Coleta de bactérias dos tetos das cabras, (b) Coleta da amostra de leite | 40 |
| Figura 8 – Direção seguida na palma da mão pelo suabe | 41 |
| Figura 9 – (a) Concentração do extrato no rotaevaporador e (b) Extrato concentrado | 42 |
| Figura 10 – Processo de preparação dos extratos hidroalcoólicos a 1%, 2% e 3% de <i>Spondias purpurea</i> L., (siriguela), <i>Spondias mombin</i> L. (cajá) e <i>Azadirachta indica</i> A. (nim) | 42 |
| Figura 11 – Canecas utilizadas para a imersão das tetas em (I) água, (II) cajá e (III) iodo | 51 |
| Figura 12 – Reunião realizada na Associação do Assentamento Independência para apresentação do projeto sobre manejo com caprinos e condições higiênicas sanitárias, em outubro de 2011 | 60 |
| Figura 13 – Recipiente de armazenamento da água utilizada no consumo dos animais | 61 |
| Figura 14 – Ordenha do leite caprino no Assentamento Independência sem a utilização de luvas, Mossoró-RN, 2012 | 62 |
| Figura 15 – Percentual do tipo de antissepsia feita antes da ordenha das propriedades criadoras de caprinos, Mossoró-RN, 2012 | 63 |

| | |
|---|----|
| Figura 16 – Relação entre o tempo de moradia e o conhecimento do uso de extratos em animais pelos assentados. | 65 |
| Figura 17 – Halos de inibição formados pelo cajá a 1%, 2% e 3% em torno da bactéria semeada <i>Cellulomonas</i> sp. | 78 |
| Figura 18 – Comparação entre as médias do número de Unidade Formadora de Colônias (UFC) de acordo com os produtos (Iodo 2%, Cajá 3% e Água destilada) | 80 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Prospecção fitoquímica das classes de antocianinas, antocianidinas e flavonoides | 54 |
| Tabela 2 – Provas fitoquímicas das classes de leucoantocianidinas, catequinas e flavonas | 54 |
| Tabela 3 – Relação entre a escolaridade e o conhecimento dos assentados sobre o processo de higienização do leite | 63 |
| Tabela 4 – Número de indivíduos e porcentagem da faixa etária dos assentados entrevistados | 64 |
| Tabela 5 – Relação entre a escolaridade e o conhecimento dos assentados sobre o conhecimento de extratos para uso animal | 65 |
| Tabela 6 – Determinação do número e porcentagem de bactérias isoladas no Assentamento Independência em Mossoró-RN | 67 |
| Tabela 7 – Número e porcentagem de bactérias por origem isoladas em propriedades criadoras do Assentamento Independência/Mossoró-RN | 68 |
| Tabela 8 – Contagem de mesófilas das mãos dos ordenhadores e do bebedouro de propriedades criadoras de caprinos no Assentamento Independência /Mossoró-RN, 2011 | 72 |
| Tabela 9 – Porcentagem de mesófilas encontradas nas mãos dos ordenhadores de propriedades criadoras de caprinos no Assentamento Independência /Mossoró-RN, 2011 | 73 |
| Tabela 10 – Determinação da presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> em água proveniente de propriedades criadoras de caprinos no Assentamento Independência/Mossoró-RN, 2012 | 75 |
| Tabela 11 – Diâmetro dos halos de inibição dos extratos das folhas de nim, cajazeira e siriguela nas concentrações de 1, 2 e 3% frente às bactérias isoladas em caprinos | 77 |

| | |
|---|----|
| Tabela 12 – Médias do número de Unidade Formadora de Colônias (UFC) e de Coliformes Totais (CT) de acordo com os produtos (Iodo 2%, Cajá 3% e Água destilada) | 80 |
| Tabela 13 – Determinação dos coliformes termotolerantes em cabras que receberam como tratamento a água | 81 |
| Tabela 14– Resultados dos testes farmacognósticos empregados para o extrato hidroalcoólico das folhas do cajá | 82 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 17 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 19 |
| 2.1 SEMIÁRIDO NORDESTINO | 19 |
| 2.2 TECNOLOGIAS ALTERNATIVAS DE CONVIVÊNCIA COM O SEMIÁRIDO | 21 |
| 2.3 CAPRINOCULTURA | 22 |
| 2.4 CONDIÇÕES HIGIENICO-SANITARIAS | 25 |
| 2.5 PLANTAS MEDICINAIS DO SEMIÁRIDO NORDESTINO | 26 |
| 2.6 PLANTAS SELECIONADAS | 28 |
| 2.6.1 A espécie <i>Spondias mombin</i> L. | 28 |
| 2.6.2 A espécie <i>Spondias purpurea</i> L. | 30 |
| 2.6.3 A espécie <i>Azadirachta indica</i> A. | 32 |
| 2.7 FITOQUÍMICA | 34 |
| 3 OBJETIVOS | 37 |
| 3.1 OBJETIVOS GERAIS | 37 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 37 |
| 4 METODOLOGIA | 38 |
| 4.1 LOCAIS DE ESTUDO | 38 |
| 4.2 MATERIAL VEGETAL | 38 |
| 4.3 AMOSTRAS BACTERIANAS | 39 |
| 4.3.1 Amostras bacterianas isoladas dos tetos | 39 |
| 4.3.2 Amostras de leite | 39 |
| 4.3.3 Amostras de água | 39 |
| 4.3.4 Amostras de recipientes de armazenamento de água | 39 |
| 4.3.5 Amostras da superfície das mãos | 40 |
| 4.4 PREPARO DOS EXTRATOS | 41 |
| 4.5 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS | 43 |
| 4.5.1 Amostra do leite | 43 |

| | |
|--|----|
| 4.5.2 Amostra da água | 43 |
| 4.5.2.1 Teste presuntivo | 43 |
| 4.5.2.2 Teste confirmativo para coliformes totais | 43 |
| 4.5.2.3 Teste confirmativo para coliformes termotolerantes | 44 |
| 4.5.2.4 Quantificação de <i>Escherichia coli</i> | 44 |
| 4.5.2.5 Leitura do número de coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> | 44 |
| 4.5.3 Contagem de bactérias | 45 |
| 4.5.4 Identificação de bactérias | 45 |
| 4.5.4.1 Citologia | 45 |
| 4.5.4.2 Provas bioquímicas | 45 |
| 4.6 PREPARAÇÃO DO INÓCULO PARA TESTE “IN VITRO” | 49 |
| 4.7 DETERMINAÇÃO “IN VITRO” DA MELHOR CONCENTRAÇÃO DOS EXTRATOS | 49 |
| 4.7.1 Perfuração | 49 |
| 4.7.2 Semeadura do micro-organismos em placa de Muller-Hinton | 49 |
| 4.7.3 Aplicação dos extratos nas placas | 49 |
| 4.7.4. Incubação das placas | 50 |
| 4.8 DETERMINAÇÃO “IN VIVO” | 50 |
| 4.8.1 Escolha de extratos | 50 |
| 4.8.2 Obtenção e contagem das bactérias antes da aplicação dos extratos | 50 |
| 4.8.3 Aplicação dos extratos nas tetas dos animais | 50 |
| 4.8.4 Obtenção e contagem das bactérias durante aplicação dos extratos | 51 |
| 4.8.4.1 Quantificação das bactérias mesófilas | 51 |
| 4.8.4.2 Quantificação de coliformes totais e termotolerantes | 51 |
| 4.8.4.2.1 Teste presuntivo | 51 |
| 4.8.4.2.2 Teste confirmativo para coliformes totais | 52 |
| 4.8.4.2.3 Teste confirmativo para coliformes termotolerantes | 52 |
| 4.8.4.2.4 Quantificação de <i>Escherichia coli</i> | 52 |
| 4.8.4.2.5 Leitura do número de coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> | 52 |

| | |
|--|----|
| 4.9 ANÁLISE FITOQUÍMICA | 53 |
| 4.9.1 Teste para fenóis e taninos | 53 |
| 4.9.2 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonoides | 53 |
| 4.9.3 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas | 54 |
| 4.9.4 Teste para flavonóis, flavononas, flavononóis e xantonas | 54 |
| 4.9.5 Teste para esteroides e triterpenóides (Lieberman-Burchard) | 55 |
| 4.9.6 Teste para saponinas | 55 |
| 4.9.7 Teste para alcaloides | 55 |
| 4.10 INTERAÇÃO COM OS PROPRIETÁRIOS E AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICAS SANITÁRIAS E | 56 |
| SOCIOAMBIENTAL | |
| 4.10.1 Caracterização dos sujeitos | 56 |
| 4.10.2 Realização das entrevistas | 56 |
| 4.10.3 Critérios para suspender ou encerrar a pesquisa | 57 |
| 4.10.4 Infraestrutura e responsabilidade dos envolvidos na pesquisa | 57 |
| 4.10.5 Medidas de proteção e privacidade | 57 |
| 4.10.6 Indenização e Ressarcimento | 57 |
| 4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 58 |
| 4.12 SUBMISSÃO AO COMITÊ DE ÉTICA | 58 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 59 |
| 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CAPRINOCULTURA NO ASSENTAMENTO INDEPENDÊNCIA | 59 |
| 5.1.1 Aspectos da aceitabilidade da nova tecnologia de antissepsia | 59 |
| 5.1.2 Descrição microbiológica | 66 |
| 5.1.2.1 Microbiota isolada | 66 |
| 5.1.2.2 Contagem de mesófilas nas mãos dos ordenhadores e bebedouro dos Animais | 72 |
| 5.1.2.3 Determinação de coliformes totais e termotolerantes na água | 74 |
| 5.2 AVALIAÇÃO “IN VITRO” DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS | 76 |

| | |
|--|------------|
| EXTRATOS VEGETAIS | |
| 5.3 AVALIAÇÃO “IN VIVO” DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DO CAJÁ | 79 |
| 5.4 AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DO CAJÁ | 82 |
| | |
| CONCLUSÕES | 84 |
| | |
| REFERÊNCIAS | 86 |
| | |
| ANEXOS | 99 |
| APÊNDICES | 107 |

1 INTRODUÇÃO

A criação de caprinos na região Semiárida brasileira é caracterizada por práticas de manejo inadequadas, o que interfere de sobremaneira na produtividade do rebanho, ocasionando sérios prejuízos aos produtores, chegando a inviabilizar essa atividade pecuária (ALENCAR et al., 2010).

Paralelamente, insere-se que essa atividade além da notória importância social e econômica para a região, tem aumentado sua participação no cenário agropecuário brasileiro de forma bastante significativa nos últimos tempos, observando-se maior exigência do mercado consumidor por produtos de qualidade.

Visto a abrangência da caprinocultura e partindo da problemática apresentada, é necessária a inserção de novas tecnologias de convivência com o Semiárido, ou seja, produtos, técnicas ou metodologias replicáveis, desenvolvida na interação com a comunidade e que representem efetivas soluções de transformação social, técnicas que busquem e valorizem alternativas sustentáveis para o desenvolvimento do Semiárido, enfatizando os aspectos da inclusão social, da valorização da cultura e da identidade sertaneja; bem como a preservação dos recursos naturais, tendo uma atitude propositiva de alternativas de desenvolvimento regional, condizente com a visão complexa da realidade e que expresse a preocupação com a tal realidade sociocultural e ambiental do Semiárido (SILVA, 2006).

Nessa óptica, uma das fontes de pesquisa de tecnologias alternativas encontra-se nas plantas do Semiárido. A história nos mostra que ao longo dos anos, as plantas foram os primeiros recursos terapêuticos utilizados, sendo, em muitos momentos única forma de prevenção, tratamento e cura para a humanidade. Segundo Rodrigues (2001), as bases da Medicina de Hipócrates no Brasil (460-377 a.C.), presentes na medicina popular, foram trazidas pelo colonizador europeu, porém este precisou aqui aprender com os indígenas o conhecimento sobre o uso de plantas nativas e demais recursos de sua medicina.

De acordo com Agra et al. (2007), a influência das culturas indígenas, européias e africanas sobre os usos das plantas utilizadas na medicina popular pode ser reconhecida na origem tupi dos nomes populares das plantas cujos usos também estão associados a rituais místicos e religiosos.

Paralelamente a cultura popular, de acordo com Albuquerque e Andrade (2002), as plantas estão sendo pesquisadas no intuito de avaliar suas atividades farmacológicas, para a obtenção de novas substâncias antimicrobianas, devido ao surgimento de cepas resistentes aos diversos tipos de drogas.

Para Pereira (2007) a resistência antimicrobiana, juntamente com as limitações como custos e a demanda por tecnologias adequadas ao sistema de produção agroecológico, motivam o desenvolvimento de pesquisa buscando novos princípios ativos.

Além disso, Vieira (1991) e Costa e Vieira (1984) ressaltam que o uso de extratos de plantas diminuem os custos com a produção leiteira, além de destacar que os medicamentos convencionais tem a capacidade de permanecer por um período prolongado no organismo animal. Isso ocasiona um maior período para a sua eliminação, contribuindo para uma presença de seus resíduos no leite e derivados que se destinam ao consumo humano, causando sérios danos ao meio ambiente e saúde pública.

Diante das demandas para o desenvolvimento de novas tecnologias, o incentivo ao uso de extratos de plantas do Semiárido torna-se uma ação benéfica ao sertanejo que sobrevive da caatinga, visto que as alternativas convencionais, muitas vezes são impróprias às condições socioambientais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SEMIÁRIDO NORDESTINO

O Semiárido Brasileiro ocupa uma área de 982.563,3 km², correspondente a 11% do território nacional, concentrando 12,3 % da população, ou seja, mais de 20 milhões de habitantes em 1.113 municípios, o que representa, respectivamente, 21 habitantes/km² e 22% dos municípios brasileiros. Essa região possui uma média pluviométrica anual de 750 m³ de água e 2800 horas de insolação (LIMA, 2011).

Atualmente, o Semiárido passa pelo processo de desertificação que para Araújo (2005), pode ser visto como um círculo vicioso de degradação crescente onde a erosão causa a diminuição da capacidade de retenção de água pelos solos, causando a redução de biomassa. Este se torna cada vez menos capaz de reter água, a cobertura vegetal raleia e empobrece, a radiação solar intensa desseca ainda mais o solo e a erosão se acelera, promovendo a aridez. Trata-se de um processo de simplificação ecológica, onde a ação do homem tem tipo papel fundamental, acelerando seu desenvolvimento e agravando as consequências através de práticas inadequadas de uso dos recursos naturais.

Juntamente a esse quadro, observa-se que o Semiárido nordestino é uma realidade complexa, tanto no que se refere aos aspectos geofísicos, quanto à ocupação humana e à exploração dos recursos naturais. As peculiaridades dessa região estão associadas a sua estrutura fundiária e raízes históricas, seja no processo de ocupação, nas condições ambientais ou nas relações sociais. Essa área sempre foi caracterizada como a região subdesenvolvida, apresentando os piores indicadores sociais, um espaço problema, terra da seca e da miséria, sendo sempre tratada, por elites e governos locais e nacionais, como um caso a parte, merecedor de prioridade, em vez de ser inserida num projeto nacional de desenvolvimento (ARAÚJO et al., 2007).

Embora seja, na maioria das vezes, descrita por sua aridez e alto índice de desigualdade social, Malvezzi (2007) enfatiza, que o Semiárido nordestino não é apenas problema, mas sim a região da cultura de um povo, com suas músicas, festas, artes, religião, política e história. Insere-se ainda que é uma área em desenvolvimento econômico, propícia a adoção de novas tecnologias, onde existem relações de poder, dinâmica socioeconômica e de responsabilidade social.

Ao se retratar as relações de poder do Semiárido a expressão tipicamente nordestina, coronelismo, está presente e vem transformando-se. Entre as lógicas do poder encontramos as políticas assistencialistas que buscam estender à população a oferta de serviços básicos como a educação, saúde, habitação, nutrição e saneamento básico. Paralelamente existe a política de combate a seca, que segundo Carvalho (2010) é “metáfora” explicativa, utilizada pela elite política e econômica, para justificar a miséria, a desigualdade, o declínio econômico e político regional. Ou seja, a seca é tida como um instrumento ou um elemento de barganha nos pactos e alianças dessas elites com o Governo Central.

Em relação à conjuntura socioeconômica da região, Silva (1999), descreve que o Semiárido esteve por muito tempo alicerçado na trilogia gado, algodão e agricultura de subsistência. Além dessas economias, nos últimos anos iniciou-se a implantação de pólos agroindustriais que se especializam em fruticultura irrigada. Disso, observa-se que a agricultura familiar e o agronegócio passam a coexistir no Semiárido, possuindo lógicas diferentes e não competindo pelo mesmo mercado, mas apresentando relações de contradição e complementariedade.

Dentre os ecossistemas que compreendem o Semiárido, destaca-se a Caatinga, que ocupa aproximadamente uma área de 800.00 Km², representando 70% da região Nordeste, incluindo os Estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Sudeste do Piauí, Oeste de Alagoas e Sergipe, região Norte e Central da Bahia, uma faixa de Minas Gerais e parte de Fernando de Noronha. (TABARELLI, 2004). De acordo com Branco (2004) o nome “caatinga” é de origem Tupi-Guarani e significa “floresta branca”, o que caracteriza o aspecto do ecossistema durante o período de estiagem.

Ainda em relação à Caatinga, Duque (1980) acrescenta que, a associação florística com o solo e a atmosfera é quase uma simbiose. Tal é o regime de economia rígida da água para entreter as funções em equilíbrio. A união densa e fechada, de catingueiras, acácias, umbuzeiros, maniçobas, macambiras, cactáceas, pereiro, entre outras, protege o solo no inverno com a sua folhagem verde e no verão cobre-o com uma camada de folhas fenadas que são em parte comidas pelo gado e adubo para o solo. As espécies, para sobreviverem em relativa harmonia fisiológica absorvem umidade do ar, com o abaixamento da temperatura à noite, quando a terra seca lhes nega água e forças ao repouso. Este é o seu clímax de estabilização vegetativa.

Mesmo sendo importante tanto para a manutenção da biodiversidade local, quanto para os padrões regionais e globais do clima, da disponibilidade de água e de solos férteis a caatinga tem sido bastante modificada pelo homem, sofrendo um intenso processo de

degradação devido à substituição da vegetação natural por culturas, nas quais normalmente são utilizadas práticas condenadas como as queimadas. Além disso, o desmatamento e as culturas irrigadas estão levando à salinização dos solos, o que tem como consequência um aumento da evaporação da água.

2.2 TECNOLOGIAS ALTERNATIVAS DE CONVIVÊNCIA COM O SEMIÁRIDO

A convivência com o Semiárido tem sido objeto de muitas leituras. Entre essas leituras está a visão reducionista do Semiárido como a região problema, desértica, das secas e animais mortos e da falta da água. Entretanto, entre anos 1990 e início dos anos 2000 criaram-se novas referências a cerca da percepção/visão do Semiárido as quais incluíram as temáticas desenvolvimento e ambiente, cuja ótica do desenvolvimento sustentável ou desenvolvimento local passou a orientar as leituras sobre a natureza semiárida, analisando e indicando técnicas adequadas de cultivos e de criação, de manejo sustentável do solo, da água, e outras temáticas relativas com sua sustentabilidade ambiental. Nesse contexto, novos atores sociais adentraram para as redes sociais do Semiárido, tais como, o Estado, as Universidades, Agências Governamentais e uma gama de Organizações Não Governamentais, gerando uma dinâmica de reflexão e amadurecimento (CARVALHO, 2010).

Na nova percepção surge o conceito das tecnologias alternativas, que Silva (2006) as define como as tecnologias que levam em consideração a questão ambiental e à cultura local, tendo como finalidade explícita a melhoria da qualidade de vida da população sertaneja. O mesmo autor enfatiza que a expressão “tecnologias alternativas” também tem sido disseminada nas últimas décadas, como uma variante das “tecnologias apropriadas”. Todavia, a ela tem sido agregando significados políticos e culturais, ao lado da perspectiva ambiental, destacando o seu caráter alternativo radical, diante das tecnologias convencionais, geralmente desenvolvidas, patenteadas e controladas por grandes empresas internacionais que as utilizam para explicar riquezas em países subdesenvolvidos, sem compromisso com o bem-estar social e ambiental.

Silva (2006) ainda aborda que mais recentemente, tem sido desenvolvida uma concepção que utiliza o termo “tecnologias sociais”, como perspectivas da geração e transferência de tecnologias (convencionais e alternativas) para atender as demandas sociais. A aplicação de critérios sociais, culturais e ambientais suplementares aos critérios técnicos e as interesses econômicos possibilitam que uma tecnologia possa atender aos interesses

políticos e sociais, sendo apropriadas por determinados grupos sociais e selecionados de acordo com a adaptação ao contexto natural e às capacidades culturais locais.

Para Moraes et al. (2009), as características que determinam a viabilidade e funcionalidade das tecnologias são: sua capacidade de adaptação aos mais variados ambientes, ser facilmente replicáveis, ter baixo custo de implantação e manutenção e ser facilmente apropriáveis pelos agricultores.

Perante esses conceitos e quadro encontrado, insere-se que o sertanejo, principalmente aqueles que estão incluso na agricultura familiar, encontram problemas como a dificuldade de acesso à água, os problemas nas produções agrícolas e agropecuárias, o êxodo rural de muitas famílias e conseqüentemente a desestruturação da economia local. Diante disso, é necessário o conhecimento e desenvolvimento de tecnologias alternativas adaptadas à realidade do Semiárido, que possibilitem a manutenção do agricultor familiar no campo de forma digna e sustentável. Além de ser interessante que além de se gerar conhecimento a respeito dessas tecnologias, existam investimentos para a disseminação e adoção das mesmas no Semiárido nordestino.

2.3 CAPRINOCULTURA

Historicamente, a caprinocultura se desenvolveu no Nordeste nas áreas mais desfavoráveis a outras atividades, dada à resistência e capacidade de adaptação dos animais. Tal fato acarretou numa enorme difusão dos caprinos pelos sertões, servindo de suporte à existência humana, sobretudo para população mais pobre e, de maneira mais ampliada, à todos nos períodos mais duros de seca, desempenhando importante papel social e econômico, sendo umas das principais rendas dos pequenos produtores, principalmente os que estão inseridos no contexto da agricultura familiar (GONÇALVES JÚNIOR, 2010).

Atualmente, o número de caprinos no Brasil é bastante significativo, destacando-se a região Nordeste, onde predomina a exploração extensiva, direcionada principalmente para a produção de leite, carne e pele. Entretanto, a ocorrência de manejo inadequado, as más condições sanitárias, poucos investimentos, falhas na aplicação de vermífugos e vacinas, insuficiência de alimentos e de tecnologia vem comprometendo essa produção e ocasionando sérios prejuízos aos produtores, chegando a inviabilizar essa atividade pecuária (PINHEIRO et al., 2000; SANTOS et al., 2011; ALENCAR et al., 2010).

Apesar desse quadro desfavorável, os produtos derivados de caprinos vêm representando um horizonte de crescimento muito significativo, gerando, assim, oportunidades de emprego,

renda e fixação do homem no campo, demonstrando seu importante papel no contexto da pecuária brasileira. No entanto, ainda é precário o nível de desfrute, produtividade, gerenciamento e articulação do setor primário da cadeia produtiva em questão, dificultando melhorias de competitividade e remuneração dos próprios produtores, ameaçando o pleno desenvolvimento e a sustentabilidade da atividade (SEBRAE, 2007).

Para Fernandes Jr. et al. (2008), a caprinocultura de leite é uma atividade que vem crescendo acentuadamente. O rebanho efetivo mundial de caprinos em 2011 estava em torno de 880 milhões de cabeça, sendo 19%, aproximadamente, voltados para a produção de leite. Em 2005, o Brasil contabilizava nove milhões de cabeças em seu rebanho com uma produção diária de 85 mil litros. A região nordeste do país concentra 90% do rebanho caprino e é detentora de 26% da produção de leite, mas a sudeste se destaca com mais de 50% da produção nacional em função de melhor organização dos produtores, animais especializados, processo industrial e garantia de comercialização do leite e seus derivados (WANDER e MARTINS, 2004)

Conforme Filgueira (2009), o efetivo caprino no Brasil é bastante expressivo, principalmente na região Nordeste, onde predominam as explorações extensivas, voltadas principalmente para a produção de carne, leite e pele. A produção ocorre, principalmente, em estabelecimentos de base familiar, frágeis financeiramente, com baixa tecnologia e pouco acesso à crédito. A comercialização de caprinos, e seus produtos se caracteriza por canais de comercialização relativamente curtos, em zonas rurais ou pequenas cidades do interior, com pouca ou nenhuma participação de frigoríficos e indústrias de frios.

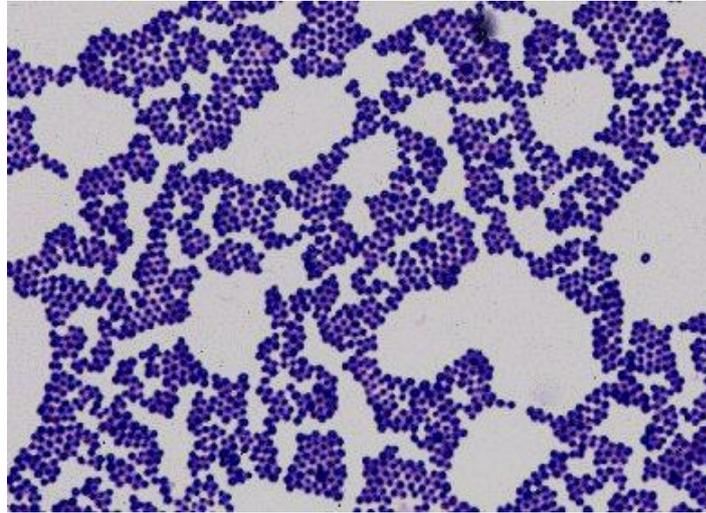
Vários desses trabalhos apontam a mastite caprina, que apresenta uma diversidade de agentes patogênicos, como uma das enfermidades de maior ocorrência em rebanhos leiteiros, sendo a causadora de graves prejuízos econômicos, devido à necessidade do descarte do animal, diminuição da quantidade e qualidade do leite, custos com a assistência veterinária, medicamentos e mão de obra, além de ser importante problema de saúde pública (LANGONI et al., 2004).

A mastite é uma inflamação que ocorre na glândula mamária e pode apresentar-se na forma clínica ou subclínica, sendo causada, na maioria dos casos, por micro-organismos. Na forma clínica, pouco frequente em caprinos, os animais apresentam sinais como aumento da consistência e dor na glândula, edema, aumento da temperatura, resquícios de secreção purulenta, grumos ou outras alterações no leite (CORREA et al., 2010).

Dentre os agentes etiológicos identificados da mastite caprina destaca-se o *Staphylococcus* ssp., *Staphylococcus aureus* (Figura 1) e o *Staphylococcus coagulase*

negativa. Dentre estes, sobressai-se os *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN). (BERGONIER et al. 2003, GONZALO et al. 2004, CONTRERAS et al. 2007).

Figura 1 – Característica morfotintorial da bactéria *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Bhatia et al. (2007).

Os estafilococos são bactérias pertencentes à família Micrococcaceae são cocos Gram-positivo, anaeróbios facultativos, imóveis, não esporulados, catalase e coagulase positivos. Crescem em grupos irregulares aos pares, isolados, tétrede ou em cadeia que se assemelham a cachos de uva, advindo daí o seu nome (*Staphyle* = cacho de uva). Possuem diâmetro compreendido entre 0,5 – 1,0 μm . Suas colônias podem apresentar coloração amarelo-ouro, que normalmente são hemolíticas. São capazes de crescer em meios contendo 10% de cloreto de sódio, e em temperatura que varia de 18 a 40 °C (MURRAY et al., 2004; BHATIA et al., 2007; LEVINSON e JAWETZ, 2005).

São muitos os fatores de virulência que os estafilococos possuem, dentre eles, os componentes estruturais, como a cápsula, que dificulta a fagocitose por células do sistema imunológico (DEGO et al., 2002); a proteína A encontrada na parede celular, capaz de se ligar a porção FC de muitas classes de imunoglobulina G, o que torna a bactéria mais resistente à ação fagocítica dos neutrófilos (HARTLEIB et al., 2000).

Produzem enzimas e toxinas que promovem a invasão tecidual e a sua sobrevida no sítio de invasão (BLATT e PIAZZA, 2004). As enzimas sintetizadas pelos estafilococos são coagulase, catalase, hialuronidase, lipase, estafiloquinase, desoxirribonucleases (DNase), proteases e β -lactamases (MARTINS, 2002). Dentre as toxinas, destacam-se as enterotoxinas, esfoliatina e a toxina da Síndrome do Choque Tóxico (TSST-1). Essas possuem

a capacidade de interagir com as células apresentadoras de antígenos, induzindo a proliferação celular e expressão de altos níveis de citocinas (LEUNG et al., 1993). A leucocidina é uma toxina que apresenta ação destrutiva sobre os neutrófilos e macrófagos, impedindo a fagocitose do *S. aureus* (DINGES et al., 2000).

Além dos estafilococos, outras bactérias são causadores da mastite. Entre elas têm-se as do gênero *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Mannheimia haemolytica* e algumas espécies de fungos, porém são menos frequentes (BERGONIER et al. 2003; GONZALO et al. 2004; CONTRERAS et al. 2007).

2.4. CONDIÇÕES HIGIENICO-SANITARIAS

Para Filgueira (2009), o manejo sanitário dos caprinos é precário. Independente do tipo de exploração ou regime de criação, a mortalidade de animais, principalmente de jovens, é considerada alta e mesmo nos criatórios com exploração leiteira não existe uma preocupação rigorosa com higiene e qualidade do leite, confirmando o quanto são amplas as perdas ocasionadas por problemas sanitários.

Já Bandeira et al. (2007), observaram que na microrregião do Cariri na Paraíba, a ocorrência de enfermidades, o baixo preço de venda e a má qualidade dos produtos oferecidos, além da grande exigência do mercado comprador, têm contribuído pra o estrangulamento da caprinocultura. E ainda considera que a queda da produção de leite, a perda de credibilidade do estabelecimento, as mortes de animais e os custos em assistência técnica causam impactos negativo na economia local, prejudicando principalmente a agricultura familiar que têm na venda do leite uma fonte de renda.

Perante essa preocupação, diferentes trabalhos têm retratado os aspectos de manejo e sanidade da caprinocultura nordestina (PEDROSA et al., 2003; BANDEIRA et al., 2007; COSTA et al., 2008), dando grande importância aos diversos grupos de micro-organismos que contribuem no monitoramento da qualidade dos produtos derivados da caprinocultura. Nesse sentido, atualmente a Instrução Normativa Nº 62 do Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), oficializou os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água (BRASIL, 2003).

Beltrão Filho et al. (2008) consideram o grupo de bactérias aeróbias mesófilas importante para a determinação da qualidade do leite por abranger micro-organismos patogênicos e que causam alterações na matéria-prima. Como também as bactérias do grupo

coliformes, as quais indicam práticas precárias no processo de ordenha e/ou nas etapas subsequentes do processamento.

As bactérias mesófilas são aquelas que crescem bem em uma faixa de temperatura entre 20 °C e 45 °C e possuem temperatura ótima de crescimento entre 30°C e 40°C (JAY, 2005). Seu aumento no leite está relacionado principalmente à falhas de higiene e refrigeração. A presença destes micro-organismos em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos. Destacam-se os gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e algumas *enterobactérias*. O principal problema relacionado à multiplicação destes gêneros bacterianos é a acidificação do leite através da degradação da lactose em glicose e galactose, liberando ao final do processo grande quantidade de ácido láctico. (FONSECA e SANTOS, 2000).

As bactérias do grupo coliforme são membros da família *Enterobacteriaceae* sendo incluídas nesta família bactérias patogênicas tais como *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Yersinia* spp. Os coliformes diferem de outros membros da mesma família pela capacidade de fermentação da lactose com produção de ácido e gás dentro de 24-48 h. Sua presença indica falhas no processo de higiene e sanitização de equipamentos ou contaminação após o beneficiamento do alimento. Comumente são encontrados no leite cru por meio de contaminação dos canais das tetas por forragens ou materiais da cama, podendo ocasionar mastite nos animais e, em consequência, a liberação deste grupo bacteriano no leite; o leite também poderá ser contaminado após a ordenha pelo ar, pelo contato de equipamentos mal higienizados e pelas mãos do homem (JAY, 2005).

2.5 PLANTAS MEDICINAIS DO SEMIÁRIDO NORDESTINO

Nos últimos anos diversas pesquisas foram realizadas com plantas no intuito de avaliar suas atividades farmacológicas, como analgésica, anti-inflamatória, antineoplásica, antiarrítmica, anti-hipertensiva e antimicrobiana (WEBSTER et al., 2008; TEKLEHAYMANOT e GIDAY, 2007).

O avanço dos estudos etnofarmacológicos tem permitido a comprovação das propriedades curativas de muitas plantas usadas na medicina popular. Esses estudos têm servido de base para a descoberta de novas moléculas biologicamente ativas, utilizadas para fins terapêuticos, como precursores para a síntese químico-farmacêutica, bem como, em

programas de saúde para atender as necessidades básicas da população, em função da facilidade de acesso, do baixo custo e da compatibilidade cultural com as tradições populares (DESMARCHELIER et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2009).

Do ponto de vista socioeconômico, é preciso destacar aspectos como a demanda pela fitoterapia e o custo dos medicamentos, o potencial de geração de trabalho e renda na cadeia produtiva dos fitoterápicos, especialmente em regime de economia solidária, os esforços de pesquisa que comprovem, cientificamente, as propriedades medicinais das plantas, e a necessidade de reestruturação do sistema de atendimento à saúde, incluindo a capacitação dos profissionais que atuam nesta área (NUNES et al., 2003).

O Brasil possui uma vasta biodiversidade vegetal. Junto a este fato, a medicina popular é muito rica uma vez que é derivada de uma mistura de culturas, entre elas a indígena, europeia e a africana. Grande parcela dessa biodiversidade permanece desconhecida para a ciência. Isso se acentua no bioma Caatinga, o qual compreende aproximadamente 60% da região Nordeste e uma parte de Minas Gerais (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002; MARTINS et al., 2000; SAMPAIO et al., 2002).

Entretanto o interesse sobre as plantas da caatinga vem aumentando, podendo-se intitular publicações que descrevem a rica flora dessa região (ALBUQUERQUE et al., 2007).

Entre as espécies estudadas encontram-se a *Amburana cearensis* (Amburana), *Anadenanthera colubrina* (Angico), *Cereus jamacaru* (Mandacaru), *Bauhinia cheilantha* (Pata-de-vaca), *Erythrina velutina* (Mulungu) e *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira) (ALBUQUERQUE et al., 2007).

Albuquerque e Andrade (2002) enfatizaram 36 famílias botânicas utilizadas com fins terapêuticos, sob a forma de extrato aquoso, por uma população que situada em uma área da caatinga no estado de Pernambuco, incluindo-se a *Sideroxylon obtusifolium* (Quixabeira.) e *Zizyphus joazeiro* Mart. (Juazeiro).

Estas plantas têm o uso amplamente difundido entre gerações. A comprovação da sua eficácia deve-se, muitas vezes, a identificação de metabólitos secundários acumulados em um ou em vários tecidos das plantas. Dentre os grupos químicos mais relacionados com atividades terapêuticas estão os óleos essenciais, flavonoides, quinonas, taninos e alcaloides (DIXON, 2001; SIMÕES et al., 2003).

2.6 PLANTAS SELECIONADAS

2.6.1 A espécie *Spondias mombin* L.

A *Spondias mombin* L. (cajazeira) é uma árvore frondosa, com copa ampla e imponente na fase de floração e frutificação (Figura 2). Pode chegar a 25 m de altura, tendo folhas caducas, tronco revestido por casca grossa e rugosa (SOUZA e BLEICHER, 2002). Ela pode ser encontrada na África, Ásia e América (AYOKA et al., 2006).

Figura 2 – Exemplar de *Spondias mombin* L. (cajá).



Fonte: Medeiros (2011).

No Brasil, as cajazeiras encontram-se amplamente disseminadas no Norte e Nordeste, apresentando-se agrupadas ou isoladas, principalmente nas regiões da Mata Atlântica e da Amazônia, aparecendo na Caatinga de forma espontânea em condições silvestres, competindo com outras espécies vegetais e em quintais e sítios (BOSCO et al., 2000). No Rio Grande do Norte são mais encontradas nos municípios de Porto Alegre e São João do Sabugi (SOUZA et al., 2000; SAMPAIO, 2002).

Dependendo da região situada, a cajazeira (*Spondias mombin* L.), recebe diferentes denominações. Em Minas Gerais e São Paulo, é popularmente conhecida por cajazeira-miúda e cajá-pequenos; na Amazônia, por taperebá; nos estados do Sul, por cajazeira ou cajá-mirim, e na maioria dos estados do Nordeste, por cajá (PINTO, 1997).

Quanto à classificação taxonômica, a *Spondias mombin* L. apresenta a seguinte posição taxonômica: Domínio- *Eukarya*; Reino- *Plantae*; Filo- *Anthophyta*; Divisão- *Spermatophyta*; Subdivisão- *Angiospermae*; Classe- *Eudicotiledoneae*; Subclasse-

Archichlamidaceae; Ordem- *Sapindales*; Família *Anacardiaceae*; Tribo- *Spondiadeae*; Gênero- *Spondias* L. Essa descrição e classificação botânica foi realizada em 1753 pelo botânico Carolus Linnaeus (BARROSO et al., 1999).

Sobre a constituição química da cajazeira, Diby et al. (2012), identificaram a presença de alcalóides, flavonóides, polifenóis, quinonas, saponinas, taninos gálicos e terpenos na casca do caule. Nijoku e Akumefla (2007), encontraram esses mesmos compostos fitoquímicos nas folhas da planta.

Quanto ao uso medicinal, Fraife Filho et al. (2008) relatam que a casca da planta possui ação aromática, adstringente, emética, antidiarreica, antiblenorrágica e anti-hemorrágica; as folhas são usadas contra febres biliosas, constipações, dores do estômago, complicações pós-parto e algumas enfermidades dos olhos e da laringe.

Luna et al. (2005) descrevem o seu uso no tratamento de erisipela e úlceras, além de citar a sua propriedade anti-espasmódica, abortífero e molusquicida. Os efeitos sedativos, antipsicotrófico e antiepilético foram estudados por Ayoka et al. (2006). Já Ademola et al. (2005) identificaram a atividade anti-helmíntica do extrato etanólico e aquoso de cajá sobre *Haemonchus* sp., *Trichostrongylus* sp., *Oesophagostomum* sp., *Strongyloides* sp. e *Trichuris* sp.

Jain et al. (2005) inserem que o chá das folhas da cajazeira vem sendo utilizado há bastante tempo, devido as suas propriedades anti-virótica. Isolados das folhas e talos desta espécie demonstraram atividade pronunciada contra os vírus Herpes simples tipo 1 e Coxsackie B2, e atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* e *Mycobacterium fortuitum*.

Filgueiras et al. (2009), expõe que extratos de folhas de cajá são recomendados principalmente para combater a herpes simples ou dolorosa e de acordo com Fraire Filho et al. (2008) atualmente já existem produtos industrializados no mercado que tem como base compostos extraídos de cajazeiras.

Em relação à morfologia, o fruto da cajazeira é caracterizado como drupa de 3 a 6 cm de comprimento, ovóide ou oblongo, achatado na base, cor variando do amarelo ao alaranjado, suculento, de sabor ácido-adocicado (SILVA e SILVA, 1995). O endocarpo, comumente chamado de caroço, é grande, branco, súbero-lignificado e enrugado contendo 2 a 5 lóculos (SACRAMENTO e SOUZA, 2000) e de zero a cinco sementes por endocarpo (SOUZA e ARAÚJO, 1999), contendo carotenoides, açúcares, vitaminas A e C. Esse fruto apresenta um crescente valor de mercado principalmente no Norte e Nordeste Brasileiro, devido a sua comercialização como polpa ou em forma de geleias e sorvetes ou *in natura*.

Na maioria das vezes, a comercialização desses frutos é feita em feiras livres, às margens de rodovias próximas às unidades de produção e nas indústrias de processamento de polpas localizadas na região. Atualmente, a polpa congelada de cajá é uma das mais apreciadas em nível nacional, a demanda a cada dia aumenta apesar da pouca existência de plantios comerciais (MARTINS e MELO, 2008).

Em relação à ocorrência de pragas e doenças que prejudiquem o desenvolvimento e a produção da fruteira, apesar de não se encontrar plantios de cajazeiras tecnicamente formados, vários pesquisadores já conseguiram identificar alguns agentes prejudiciais. Dentre estas pragas pode-se destacar a *Anastrepha* sp. (Mosca das frutas) que inicia seu ataque quando o cajá se encontra verdeengo ou de vez; os ovos são depositados no interior dos frutos (CARVALHO et al., 2000).

2.6.2 A Espécie *Spondias purpurea* L.

A *Spondias purpurea* L. (sirigueleira) (Figura 3), pertencente à família *Anacardiaceae* que é composta por mais de 70 gêneros e mais de 600 espécies, que são principalmente árvores e arbustos que crescem em regiões tropicais, zonas subtropicais e temperadas. A família é subdividida em cinco tribos: *Anacardieae*, *Spondiadeae*, *Rhoeae*, *Semecarpeae* e *Dobineae* (WANNAN, 2006). A tribo *Spondiadeae* inclui 17 gêneros e 140 espécies, com cerca de 14 espécies pertencentes ao gênero *Spondias* (BACHELIER & ENDRESS, 2009).

Figura 3 – Folhas e frutos da *Spondias purpurea* L (siriguela).



Fonte: Brito (2010).

Esta é uma árvore caducifólia de 3 a 6 metros de altura, com flores discretas, folhas pinadas e frutos tipo drupa que podem ser encontrados nas cores verde, amarelo, laranja,

vermelho e violeta. Os frutos podem chegar a 5,5 cm e pesar entre 12-28 g e o seu gosto pode ser amargo, doce ou ácido. A planta adulta raramente excede 7 m de altura. Dificilmente se propaga por sementes e a sua multiplicação, por ação antrópica, se dá por estacas. A frutificação inicia no terceiro ano após o plantio, podendo produzir entre 80 e 120 quilos por ano (FREIRE, 2001).

Além da denominação de siriguela, é conhecida como ameixa-da-espanha, cajá vermelho, ciroela, jacote, ciruela mexicana (MARTINS e MELO, 2008). Ela é encontrada na América Central distribuída no México e vários países da região Norte da América do Sul (LORENZI, 2006).

Engels et al. (2012) identificaram fenóis e flavonóides glicosídeos na casca da siriguela, destacando-se os glicosídeos quercetina, kaempferol, kaempferide e rhamnetina. De um ponto de vista fitoquímico, os membros da família *Anacardiaceae* são ricos em metabólitos secundários, em especial os compostos fenólicos.

Brito (2010) relata que o extrato das folhas e da casca da siriguela é utilizado como antipirético e antidiarréico, além do tratamento de infecções na gengiva, erupções cutâneas e sarampo. O óleo essencial dessa planta possui o terpeno β -cariofileno e α -humuleno que sugere uma possível ação antimicrobiana. As pesquisas sobre ação antimicrobiana dessa planta são escassas.

Extratos aquosos e metanólicos de folhas da siriguela são relatadas por terem propriedades antibacterianas (AGRA et al., 2007, AYOKA et al., 2008). Gachet et al. (2010) avaliaram a ação da *Spondias purpurea* L. contra o *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei rhodesiense* e *Trypanosoma cruzi*. Entretanto, o extrato foi inativo para esses protozoários.

Miranda-Cruz et al. (2012) relataram que o extrato das folhas da siriguela apresentou atividade antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* e *Bacillus cereus*. Já Pizana et al. (2010), descreve que o extrato metanólico da siriguela inibiu o crescimento micelar do fungo *Fusarium oxysporum* em um percentual superior a 50 %.

A parte da planta mais utilizada são os seus frutos. Eles são comestíveis com sabor peculiar e agradável, extremamente ricos em carboidratos, cálcio, fósforo, ferro e vitaminas A, B e C, sendo utilizados na fabricação de polpas para sucos, sorvetes, licores, vinho, geleia, compotas, refrigerantes e *in natura*. Além disso, são usados no preparo de bebidas fermentadas (chicha), vinhos, bebidas geladas e no Nordeste brasileiro a siriguela é apreciada como “tira-gosto” após a ingestão de certas bebidas alcoólicas (PINTO, 1997).

2.6.3 A Espécie *Azadirachta indica* A.

O *Azadirachta indica* A. (Figura 4), pertencente à ordem *Rutales*, subordem *Rutinae*, família *Meliaceae*, subfamília *Melioideae*, tribo *Melieae* (SILVA, 2010). Essa planta é originária das regiões áridas da Índia e do Sudeste e Sul da Ásia. Nos últimos anos, ela vem sendo cultivada em diversos países da Ásia, Austrália, África, América do Sul e Central devido ao seu uso múltiplo e o seu valor econômico (MARTINEZ, 2002).

Figura 4 – Exemplar de *Azadirachta indica* A. (nim).

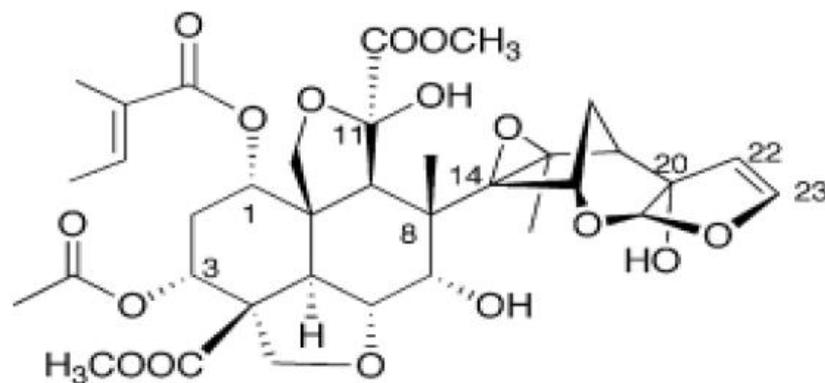


Fonte: Brito (2010).

Quanto as suas características morfofisiológicas, o nim é uma espécie de crescimento rápido. As folhas são verde-escuras, compostas e aglomeradas com frequência nos extremos dos ramos simples e sem estípulas. As flores são esbranquiçadas e aromáticas, com estames crescentes reunidas em inflorescências densas, com 25 cm de comprimento, encontrando-se tanto flores masculinas como hermafroditas, na mesma planta. O fruto de nim é uma baga ovalada com 1,5 a 2,0 cm de comprimento e, quando maduro, apresenta polpa amarelada doce e comestível e casca (tegumento) branca dura contendo um óleo marrom no interior (MARTINEZ, 2002; NEVES, 2003). O nim tem grande capacidade de adaptação, podendo se desenvolver em regiões com temperatura que varia entre 8 °C e 40 °C e com solos profundos. Quanto mais quente for à região, mais rápido será o crescimento do nim (LAREDO, 2003).

Quanto à composição química, as plantas da família *Meliaceae* são especialistas na produção de compostos denominados limonóides. Das várias partes da planta do nim, já foram isolados mais de 200 compostos, dos quais 130 são limonóides, sendo a azadiractina (Figura 5) o mais investigado e considerado o tetranortriterpenóide com maior potencial para o manejo de pragas (ROY e SARAF, 2006; KANOKMEDHAKUL et al., 2005). Além disso, de acordo com Nwachukwu e Iweala (2009), no nim são encontrados taninos e compostos fenólicos.

Figura 5 – Estrutura química da azadiractina.



Fonte: Silva (2010).

Em relação ao uso biológico e farmacológico, são atribuídas diversas atividades para os produtos derivados do nim, como a ação antiplasmódica, antioxidante, antitrypanosomal, anticecancerosa, antibacteriana, antiviral, larvicida, fungicida, antiulcerosa, espermicida, antidiabética, anti-helmíntica, imunomoduladora, moluscicida, contraceptiva, inseticida e alimentar (DEVMURARI & JIVAM, 2010; MAHABUB-UZ-ZAMN et al., 2009; PRAKASH et al., 1988; PATIL et al., 2009; DEGHAN et al., 2006; SITHISARN et al., 2005; GUPTA et al., 2004; VINOETHINI et al., 2009; MBAYA et al., 2010). Juntamente a essas atividades, as sementes do nim produzem uma substância oleaginosa que é utilizada na fabricação de medicamentos de uso humano, como: creme para pele, xampus, sabonetes e creme dental (BUZA et al., 2001).

Existem relatos da ação do nim sobre a espécie *Streptococcus*, *Enterococcus faecalis* e sobre a *Candida albicans*. Ele é um potente inibidor de micro-organismos da cavidade oral (AARATI et al., 2011).

Parida et al. (2002) demonstrou o efeito inibitório “in vitro” e “in vitro” do extrato aquoso de nim sobre o vírus tipo 2 da dengue. Já Faccin-Galhardi et al. (2012) avaliou a ação

da *Azadirachta* sobre a replicação do poliovírus. Carneiro et al. (2012) determinou a ação leishmanicida “in vitro” do extrato etanólico do nim.

Como citado, o extrato dessa meliácea possui alto poder inseticida, podendo alcançar até 90% de sucesso no controle agroecológico de pragas, favorecendo a sustentabilidade econômica dos plantios. As folhas do nim também são utilizadas por veterinários na ração animal, como vermífugo (NEVES e NOGUEIRA, 1996). Estes produtos são considerados biodegradáveis e de baixa toxicidade ao homem e ao ambiente, daí serem utilizados na agricultura orgânica (MAIA, 2005).

A madeira do nim, por sua vez, apresenta características semelhantes às de mogno, sendo empregada amplamente na fabricação de compensados, móveis em geral, construção de embarcações, na construção civil e rural (BUZA et al., 2001) e tem a vantagem de não ser suscetível ao ataque de cupins, devido ser rica em tanino (NEVES e NOGUEIRA, 1996). Por apresentar alta capacidade de crescimento e não exigir solos com alta fertilidade, o nim tem sido indicado para reflorestamento em áreas degradadas (MISHRA, 1995).

2.7 FITOQUÍMICA

A fitoquímica tem sua etimologia em duas palavras gregas, *pharmakon*, ou droga, e *gnosis* ou conhecimento, que caracteriza o estudo do uso, da produção, da história, do armazenamento, da comercialização, da identificação, da avaliação e do isolamento de princípios ativo, inativo ou derivados de vegetais (RICARDO, 2011).

Entre os objetos de pesquisa da fitoquímica está o estudo atividade metabólica secundária das plantas, ou seja, substâncias que não apresentam efeitos diretos sobre processos celulares primários como fotossíntese, respiração, translocação de solutos e água, síntese de proteínas e assimilação de nutrientes. Esses metabólitos secundários são responsáveis pela defesa dos vegetais contra herbívoros e patógenos, sendo divididos em três grupos principais: os terpenos, os compostos fenólicos e os compostos nitrogenados (RICARDO, 2011).

Os terpenos ou terpenóides são formados a partir do ácido mevalônico, no citoplasma, ou do piruvato e 3-fosfoglicerato, no cloroplasto pela fusão de unidades isoprênicas de cinco carbonos (PERES, 2004).

Esses metabólitos secundários podem ser classificados de acordo com o número de unidades isoprênicas que possuem: hemiterpenóides, monoterpenóides, sesquiterpenóides, diterpenóides, triterpenóides, tetraterpenóides e politerpenóides (OLIVEIRA et al., 2003).

Dentre os representantes mais conhecidos está o isopreno, os carotenoides pigmentados e a saponina. Essa última é classe importante de triterpenos e como o próprio nome indica, as saponinas são prontamente reconhecidas pela formação de espuma em certos extratos vegetais. Essas substâncias são semelhantes ao sabão porque possuem uma parte solúvel (glicose) e outra lipossolúvel (triterpeno). Nas plantas, as saponinas desempenham um importante papel na defesa contra insetos e micro-organismos (PERES, 2004).

Quanto aos compostos fenólicos, atuam auxiliando na resposta aos estresses ambientais das plantas, seja na defesa contra patógenos ou a radiação ultravioleta (FARAH & DONANGELO, 2006). A formação desses compostos deve-se a duas vias que contém carboidratos, a via do acetato-polimalato e a do ácido chiquímico e a sua biossíntese destaca-se durante o crescimento vegetal ou na fase de diferenciação celular. Os compostos fenólicos possuem um ou mais grupos hidroxilas (OH) ligados a um anel aromático, podendo ter vários grupos constituintes, como carboxilas, metoxilas, entre outras (NYCHAS et al., 2004).

Os principais compostos fenólicos encontrados em vegetais podem ser classificados em várias classes de acordo com tipo e número de anéis fenólicos, e em subclasses de acordo com substituições específicas na estrutura básica, associações com carboidratos e formas polimerizadas. Em uma dessas classes estão os compostos não flavonoides e subclasses dos ácidos benzoicos (ácido gálico, ácido protocatéico, ácido p-hidroxibenzóico), dos ácidos hidroxicinâmicos (ácido cumárico, ácido caféico, ácido ferúlico), dos taninos hidrolisáveis, das lignina, entre outras. Em outra classe estão incluídos os compostos flavonoides, como a flavononas, proantocianinas, antocianidinas, isoflavonas (FAARAH e DONANCELO, 2006).

Em relação aos compostos nitrogenados a grande maioria dos compostos nitrogenados é sintetizada a partir de aminoácidos comuns. Essa categoria inclui compostos bem conhecidos na defesa das plantas contra a herbivoria como os glicosídeos cianogênicos, os glicosinolatos e os alcalóides, os quais são de grande interesse devido ao seu efeito tóxico e suas propriedades farmacológicas. (TAIZ & ZEIGER, 2006).

Os alcalóides é a principal classe de compostos nitrogenados encontrada no metabolismo secundário de plantas superiores, constituindo cerca de 20% das substâncias 12 naturais descritas, aproximadamente 15.000 substâncias identificadas. Em geral, nessas substâncias o átomo de nitrogênio faz parte do anel heterocíclico (alcalóides verdadeiros) e em sua grande maioria possuem caráter alcalino devido à presença de um par de elétrons não pareados no nitrogênio. Porém também existem alcalóides de caráter ácido como a colchicina e piperina. Geralmente esses metabolitos são sintetizados a partir de duas vias: a via do ácido chiquímico, formando os alcalóides aromáticos a partir dos aminoácidos fenilalanina, tirosina

e triptofano e a via do acetil-CoA, formando os alcalóides alifáticos a partir dos aminoácidos ornitina e lisina, oriundos do ciclo do ácido cítrico (SANTOS, 2007).

A principal função dos alcalóides é a defesa, devido a sua toxicidade e ao seu gosto amargo. Porém outra função pode ser sugerida para essas substâncias, como a proteção contra radiação ultravioleta (UV), devido ao fato da maioria desses compostos possuírem núcleos aromáticos altamente absorventes deste tipo de radiação (HENRIQUES et al., 2007).

3 OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial tecnológico e social do uso de plantas do Semiárido como antisséptico para caprinocultura.

3.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS

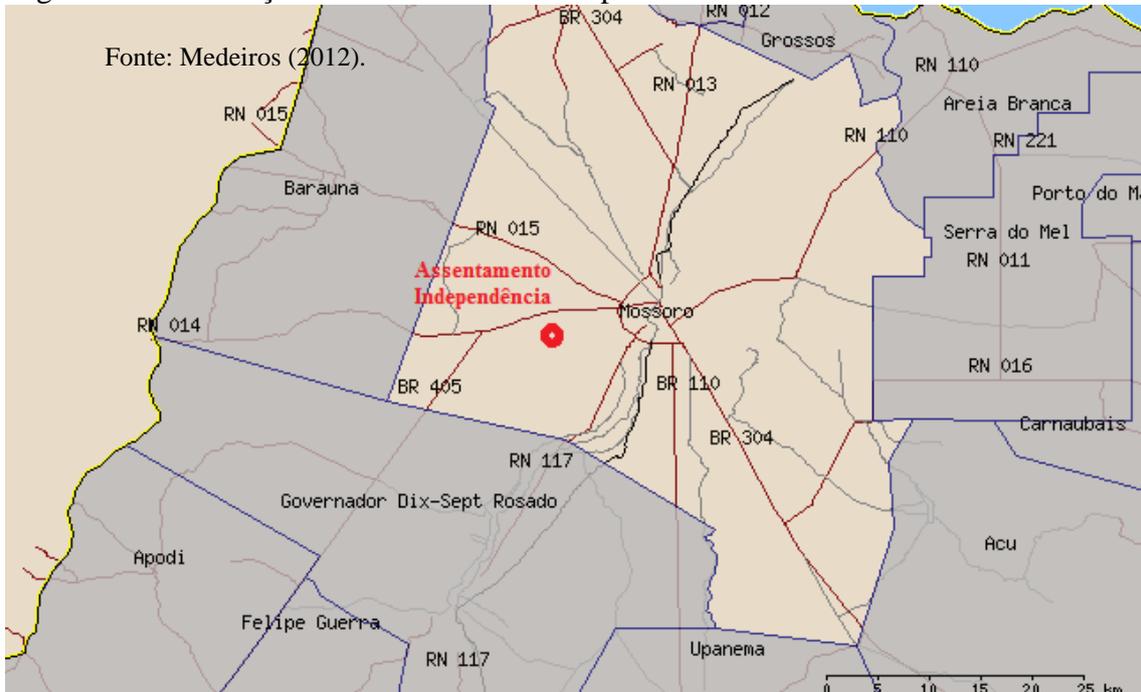
1. Avaliar o potencial antimicrobiano dos extratos das folhas de *Spondias purpurea* L.(cirigueleira), *Spondias mombin* L (cajá) e *Azadirachta indica* A (nim) “in vitro” e “in vivo” contra cepas isoladas de caprinos.
2. Diagnosticar as condições higiênicas sanitárias das propriedades rurais em estudo.
3. Investigar os aspectos relacionados a aceitabilidade do uso de antissépticos naturais nas técnicas de manejo e ordenha de caprinos do Assentamento Independência.

4 METODOLOGIA

4.1 LOCAIS DE ESTUDO

O Assentamento Independência localiza-se às margens da BR 405 entre os municípios de Mossoró e Apodi. Está disposto geograficamente na longitude $37^{\circ}26'14''$ e $05^{\circ}12'37''$, distando 13 km do município de Mossoró (Figura 6). Atualmente possui 38 lotes e 08 criadores de caprinos de aptidão leiteira, de onde foram extraídas todas as amostras microbianas e realizados os questionários para os aspectos sociais.

Figura 6 – Localização do Assentamento Independência – Mossoró/RN.



Fonte: Adaptado do site do IDEMA-RN.

4.2 MATERIAL VEGETAL

As folhas das plantas foram coletadas às 05 horas da manhã no Centro Zoobotânico do Campus Central da UFERSA, no município de Mossoró/RN. Acondicionou-as em sacos de cor preta para serem levadas ao laboratório de Microbiologia Veterinária, na UFERSA, para o processo de secagem e o processamento dos extratos. As exsicatas foram levadas ao Herbário Dárdaro de Andrade Lima, recebendo as seguintes numerações: *Spondias purpurea* L. – 13954, *Spondias mombin* L. – 13953 e *Azadirachta indica* A. – 13963.

4.3 AMOSTRAS BACTERIANAS

4.3.1 Amostras bacterianas isoladas dos tetos

As cepas bacterianas, isoladas dos tetos direito e esquerdo das cabras, foram coletadas com o auxílio de suabes estéreis. Tal procedimento ocorreu através da fricção dos suabes sobre a superfície dos referidos tetos. Em seguida, cada suabe foi acondicionado em um tubo de ensaio identificado que se encontrava em uma caixa isotérmica e enviado para análise no Laboratório de Microbiologia Veterinária (UFERSA). Para cada teto utilizou-se um suabe (Figura 7a).

4.3.2 Amostras de leite

Desprezou-se o primeiro jato de leite. Ordenhou-se as tetas ejetando 10 mL do segundo jato em um tubo de ensaio estéril, previamente identificado (Figura 7b). Os tubos foram armazenados em uma caixa térmica refrigerada até o processamento das amostras no Laboratório de Microbiologia Veterinária (UFERSA).

4.3.3 Amostras de água

Em um balão de fundo chato vedado de forma asséptica para inibição de contaminação foram coletados 100 mL da água utilizada na alimentação dos animais. O balão foi colocado em uma caixa térmica e encaminhado para análise no Laboratório de Microbiologia Veterinária (UFERSA).

4.3.4 Amostras de recipientes de armazenamento de água

Foram coletadas amostras da superfície dos recipientes de armazenamento de água através de suabes estéreis e enviado para o Laboratório de Microbiologia Veterinária (UFERSA) para avaliação.

Figura 7 – (a) Coleta de bactérias dos tetos das cabras, (b) Coleta da amostra de leite.

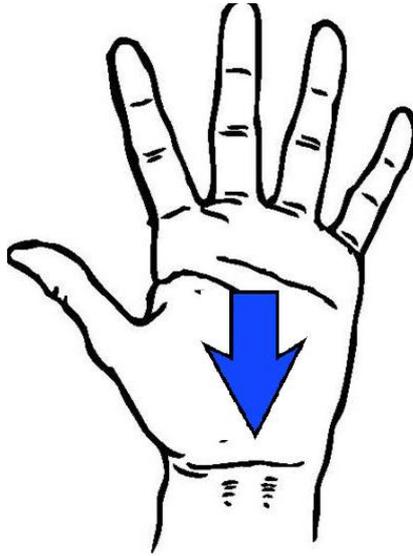


Fonte: Medeiros (2012).

4.3.5 Amostras da superfície das mãos

Um suabe estéril foi utilizado para coletar debris da região palmar das mãos do ordenhador. Este suabe foi rotacionado da região superior para a região inferior da palma da mão.

Figura 8 – Direção seguida na palma da mão pelo suabe.



Fonte: Medeiros (2012).

Todo o material foi acondicionado em caixa isotérmica e encaminhados ao Laboratório de Microbiologia Veterinária (UFERSA) para identificação das bactérias.

4.4 PREPARO DOS EXTRATOS

A preparação dos extratos foi realizada no Laboratório de Cromatografia da Universidade Estadual do Rio Grande do Norte – UERN. As amostras vegetais foram levadas a estufa para secagem a uma temperatura de 60 °C por 72 horas. Quando secas, as folhas passaram pelo processo de trituração em liquidificador industrial e posteriormente foram pesadas em balança semi-analítica séria UX-620H, capacidade 620g e precisão 0,001g. Após pesadas, cada uma das amostras foi acondicionadas em frasco de vidro de 5 litros cor âmbar. Foi preparado um solvente hidroalcoólico à 70 %, suficiente para cobrir a amostra vegetal, e o mesmo foi adicionado em cada um dos frascos por um período de 72 horas. Cada planta foi processada por sessões com três extrações. As extrações iniciaram com uma filtração à vácuo, seguida por uma filtração simples e por último o extrato foi colocado no Rotaevaporador de Marca Fisatom, Modelo 802, rotação média de 90 rpm, com o banho-maria a uma temperatura de 60 +/- 5 °C, para a eliminação do álcool. A parte líquida restante foi evaporada em banho-maria, em uma temperatura média de 45 °C. O extrato resultante foi estocado em recipientes adequados e em ambiente refrigerado com uma temperatura compreendida entre 0 a 8 °C, até seu uso (Figura 9).

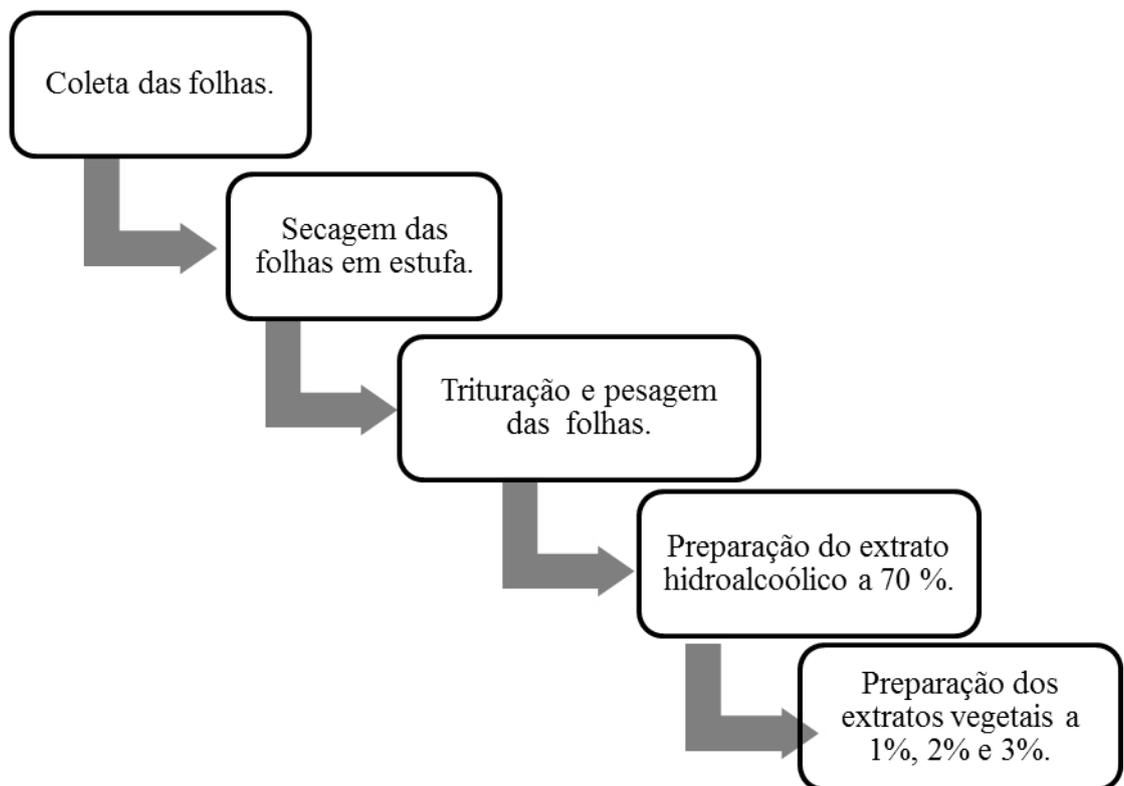
Figura 9 – (a) Concentração do extrato no rotaevaporador e (b) Extrato concentrado.



Fonte: Medeiros (2011).

Posteriormente os extratos foram produzidos nas seguintes concentrações: 1%, 2% e 3% de p/v. utilizando-se como referência MacFaddin (2000) para os cálculos de elaboração dos extratos nas concentrações em porcentagem de peso/volume ou grama/100mL (Figura 10).

Figura 10 - Processo de preparação dos extratos hidroalcoólicos a 1%, 2% e 3% de *Spondias purpurea* L., (siriguela), *Spondias mombin* L. (cajá) e *Azadirachta indica* A. (nim).



Fonte: Medeiros (2012).

A fórmula utilizada:

$$\text{Gramas de soluto} = \frac{\% (p/v) \times \text{volume}}{100 \text{ mL}}$$

, onde:

Gramas de soluto = peso do extrato seco,

%(p/v) = valor da concentração pré-estabelecida

volume = quantidade em mL do solvente necessária para dissolver o soluto a determinada concentração.

4.5 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

4.5.1 Amostra do leite

Foi adicionado 1 mL da amostra de leite em eppendorf identificado. Em seguida, os “eppendorfs” foram levados ao processo de centrifugação por um tempo de 5 minutos a uma rotação 14.000 rpm. O material precipitado foi retirado com o auxílio da alça de platina e semeado no meio ágar sangue e ágar MacConkey. As bactérias que cresceram em um meios de culturas citados a 37 °C foram semeadas no caldo BHI para crescimento bacteriano e posterior visualização das formas bacterianas e provas fisiológicas.

4.5.2 Amostra da água

Na contagem de contagem coliformes totais e coliformes termotolerantes foi utilizada a metodologia de tubos seriados.

4.5.2.1 Teste presuntivo

Inicialmente 1 mL da amostra de água foi depositada em tubos de 10 mL de água estéril. Posteriormente, a partir dessa solução, foram produzidas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . 1mL de cada diluição foi pipetado e semeado em uma série de três tubos de 9ml do Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LSS) contendo tubo de Durham invertido, homogeneizando e incubando os tubos de ensaio em banho-maria a 37 °C durante 48 horas. Os tubos com Caldo

Lauril Sulfato de Sódio (LSS) com produção de gás nos tubos de fermentação (tubo de Durham) eram considerados como positivos.

4.5.2.2 Teste confirmativo para coliformes totais

Em seguida, dos tubos de LSS com produção de gás 1 mL foi transferido para tubos com 9mL de Caldo Verde Brilhante (VB) e incubou-se a 37 °C por 24 a 48 horas e observou-se a produção de gás, os quais eram considerados positivos.

4.5.2.3 Teste confirmativo para coliformes termotolerantes

Para verificar a presença de coliformes termotolerantes, foi transferido 1 mL dos tubos positivos do caldo Verde Brilhante para tubos contendo 9 mL de caldo *Escherichia coli* (EC) e incubados a 44,5 °C por 24 a 48 horas, sendo observado a produção de gás em tubos de durhan, os quais eram considerados positivos. Foi anotado o número de tubos de EC com gás e determinado o Número Mais Provável (NMP) em uma tabela adequada às diluições utilizadas.

4.5.2.4 Quantificação de *Escherichia coli*

Amostras positivas no EC (*Escherichia coli*) foram semeadas em Caldo Triptona e incubadas a 45 °C por 24 a 48 horas. Nesses tubos foi adicionado o reativo de reagente de Kovacs. A formação de um anel vermelho foi a indicação de um resultado positivo para a quantificação de *Escherichia coli*.

4.5.2.5 Leitura do número de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*

Para a leitura do número de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* foi utilizada uma tabela referenciada de acordo com o numero de tubos positivos em cada diluição. (ANEXO 1)

4.5.3 Contagem de bactérias

As amostras dos suabes das mãos, das tetas e dos recipientes de armazenamento de água inicialmente foram lavados em 2 ml de água estéril. Em seguida 1mL dessa solução foi transferida para um tubo de ensaio com 10 mL. Posteriormente, foi feitas as diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . De cada uma das diluições foi retirado 1 ml que foram distribuídos em placas de ágar Mueller Hiton, cada uma das placas foi identificada com o valor da diluição correspondente. As placas foram colocadas em estufa a 37 °C por 24 horas para a contagem de bactérias. Foram contadas as colônias com limite entre 30 – 300 de acordo com a metodologia da instrução normativa IN 62.

4.5.4 Identificação de bactérias

As bactérias de origem das amostras de leite, água, mãos de ordenhadores e recipientes de água foram identificadas através da citologia e provas bioquímicas.

4.5.4.1 Citologia

As amostras com crescimento bacteriano no caldo BHI foram submetidas à coloração de Gram. Uma alíquota da suspensão da referida amostra foi depositada sobre uma lamina, fixado sobre a chama do bico de Bunsen e submetida a seguinte sequencia: cristal violeta – um minuto; lugol – um minuto; álcool – um minuto; safranina – 30 segundos.

4.5.4.2 Provas bioquímicas

Identificadas as características morfo-tintoriais das amostras, dividiram-se as bactérias em quatro grupos principais: cocos Gram positivos, bacilos Gram positivos em cadeia, bacilos Gram positivos pleomórficos e bacilos Gram negativos. Todas as bactérias foram submetidas a provas bioquímicas para identificação de acordo com MacFaddin (2000).

Para os cocos Gram positivos realizaram-se as seguintes provas:

- Catalase – Esta prova demonstra a presença da enzima catalase na bactéria. A função desta enzima é desdobrar o peróxido de hidrogênio (água oxigenada) em água e oxigênio livre. Utiliza-se principalmente para a diferenciação básica e confirmatória entre os gêneros

Staphylococcus (catalase positiva) e *Streptococcus* (catalase negativa). A prova foi realizada em lâmina. Colocou-se uma pequena amostra da bactéria na lâmina junto com uma gota de água oxigenada. A prova positiva pôde ser verificada pela visualização de bolhas quando homogeneizado. Caso contrário a prova era considerada negativa

- Coagulase – As coagulases são enzimas com capacidade para coagular o plasma sanguíneo através de um mecanismo similar ao da coagulação normal. A atividade da coagulase é utilizada para distinguir espécies patogênicas de *Staphylococcus* de espécies não patogênicas, sendo um bom indicador da patogenicidade do *S. aureus*. Esta prova foi realizada de um modo mais rápido em lâmina. Colocou-se uma alíquota da bactéria na lâmina, sendo depois adicionada uma gota de plasma ovino. Homogeneizou-se bem com objetivo de verificar-se a formação de pequenos agregados resultantes do fato das bactérias ficarem aprisionadas na rede de fibrina, indicando que a prova era positiva, caso contrário era considerada negativa.

- Oxidase: Esta prova é utilizada para determinar a presença da enzima oxidase nas bactérias. Ela foi realizada utilizando-se de tiras de oxidase, onde foram colocadas, em sua superfície, alíquotas dos inóculos. A mudança de coloração do branco (cor normal da tira) para azul indicava reação de oxidase positiva devido a oxidação do composto p-parabenzaldeído.

- Fermentação de açúcar (glicose) – A fermentação de carboidratos é amplamente utilizada para a diferenciação de gêneros e identificação de espécies bacterianas. A prova consiste em verificar a capacidade do micro-organismo fermentar ou não um determinado carboidrato, permitindo assim verificar as suas características que auxiliaram na identificação. O microrganismo foi inoculado com a cultura teste e incubado em estufa por 24h. O resultado positivo foi verificada pela modificação da cor do meio de azul/verde para o amarelo, devido à produção de ácidos, com a diminuição do pH do meio. O resultado negativo foi revelado pela ausência de mudança de cor.

- Produção de urease – Há bactérias que possuem a enzima urease que garante a capacidade de utilizar a uréia presente no meio liberando amônia, CO₂ e H₂O. Esta prova foi realizada semeando o micro-organismo em tubos contendo caldo de uréia. O resultado pôde ser verificado após 24 a 72h de incubação à 37 °C, sendo positivo quando a coloração do meio tornava-se rosa, caso contrário, era considerado negativo.

- NaCl 5% - Esta prova avaliou a tolerância dos micro-organismos ao NaCl 5%. Preparou-se um meio líquido contendo 5% de NaCl, dispensou-se em tubos, procedeu-se ao semeio da bactéria e incubou-se em estufa a 37 °C durante 24h. Onde houve turbidez, houve crescimento e o resultado foi positivo.

- Motilidade – A prova da motilidade indica indiretamente a produção de flagelos. Não é uma prova bioquímica e sim fisiológica, mas auxilia a identificar bactérias. A prova foi efetuada inoculando-se o microrganismo em linha reta, em um meio semi-sólido, neste caso utilizado também o meio SIM. A prova indica motilidade quando os micro-organismos crescem deslocando-se da linha de inoculação, turvando o meio. A prova é negativa quando os micro-organismos ficam restritos ao local da inoculação sem, contudo, turvar o meio.

Para os bacilos Gram positivos em cadeia foi realizada, além da catalase, fermentação de açúcar (glicose), produção de urease e motilidade, a seguinte prova:

- Fermentação do manitol – Esta prova verifica a capacidade da bactéria fermentar o manitol. O meio indicador utilizado, além de manitol, contém Vermelho de Fenol. Após as bactérias serem inoculadas no meio, os tubos eram levados à estufa por 24h. Havendo mudança na coloração do meio de vermelho para amarelo, indica-se como positivo para fermentação do manitol.

Para os bacilos Gram positivos pleomórficos foram realizadas as mesmas provas feitas para os bacilos Gram positivos em cadeia, substituindo-se a prova da fermentação do manitol pela seguinte prova:

- Hidrólise da esculina - A esculina é um açúcar complexo, fluorescente sob luz UV. As bactérias que possuem um sistema enzimático capaz de hidrolisá-lo, provocam a formação de esculetina que, ao reagir com ions ferro presentes no meio, dá origem a um complexo de cor escura.

E para os bacilos Gram negativos realizaram-se, além das provas da catalase, da fermentação da glicose, da oxidase, produção de urease e motilidade, as seguintes provas:

- Citrato - Este teste determina se a bactéria é capaz de utilizar o citrato de sódio como única fonte de carbono para o metabolismo e crescimento. Para a realização deste teste, utilizou-se tubos com meio inclinado, semeando o micro-organismo na superfície de todo o meio. Após 24h, fez-se a leitura da prova, a qual é considerada positiva se houver mudança da cor do meio de verde para azul, ou houver crescimento bacteriano na superfície, caso contrário é considerada negativa.

- Descarboxilação de aminoácido (lisina) – A descarboxilação é a remoção de um grupo carboxilo de uma molécula orgânica. A descarboxilação de aminoácidos, como a lisina, resulta na produção de uma amina e de dióxido de carbono. Ela pode ser detectada semeando a bactéria num meio de cultura contendo o aminoácido, glicose e um indicador de pH (púrpura de bromocresol). A prova foi realizada semeando uma alíquota no caldo, e

posteriormente colocado óleo mineral para fornecer condições anaeróbicas. Após 24h a leitura foi realizada, sendo que, as amostras em que a coloração mudou para o amarelo, foram consideradas como negativas, pois o micro-organismo consumiu apenas a glicose, e não metabolizou o aminoácido, ao passo que, as amostras que permaneceram com a coloração lilás, foram consideradas positivas.

- Desaminação da fenilalanina – Verifica a capacidade de bactérias produzirem enzimas que removem o grupo amina da fenilalanina presente no meio, originando o ácido fenilpirúvico, que reage com o cloreto férrico (10%). A prova foi realizada semeando a bactéria no meio inclinado e após aproximadamente 24h foi adicionado ao meio o cloreto férrico a 10%. Resultados positivos revelaram-se na cor verde, já o meio que permaneceu inalterado, considerou-se negativo.

- Hidrólise da gelatina – O objetivo desta prova é determinar a capacidade do micro-organismo excretar uma enzima hidrolítica extracelular capaz de degradar a gelatina (gelatinase). A gelatina é uma proteína produzida pela hidrólise do colágeno que abaixo dos 25°C mantém as suas propriedades de gel e é sólida, enquanto acima dos 25 °C é líquida. A semeadura do micro-organismo foi feita e o mesmo foi incubado a 37 °C durante 24 às 48h. Para efetuar a leitura foi necessário refrigerar as culturas até que atingissem temperatura próxima aos 25 °C. As amostras que se ressolidificaram foram consideradas negativas, pois não houve a ação da enzima gelatinase, em contrapartida, as que se hidrolisaram foram consideradas positivas.

- Produção de H₂S (meio SIM) – Algumas bactérias são capazes de degradar compostos contendo enxofre (como o tiosulfato de sódio e a cisteína das peptonas), através da tiosulfato redutase, produzindo H₂S que é incolor. Os átomos de enxofre atuam como aceptores de hidrogênio durante a oxidação do composto inorgânico. Para esse teste pode ser empregado o meio de SIM, que tem o tiosulfato como fonte de enxofre e o sulfato ferroso como indicador da produção de sulfeto de hidrogênio. O meio é semi-sólido para permitir a respiração anaeróbia. Nesse caso, inoculou-se o meio por punctura e incubou-se em aerobiose por 24h a 35°C. O sulfeto de hidrogênio produzido reage com o metal pesado formando sulfetos que apresentam coloração negra.

4.6 PREPARAÇÃO DO INÓCULO PARA TESTE “IN VITRO”

O inóculo padrão para teste de difusão em Ágar foi obtido cultivando micro-organismos em BHI até a fase log (crescimento exponencial), durante 18-24 horas.

4.7 DETERMINAÇÃO “IN VITRO” DA MELHOR CONCENTRAÇÃO DOS EXTRATOS

A metodologia do teste de sensibilidade aos extratos por difusão em ágar foi baseada na metodologia do Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão descrito pelo NCCLS (2003), adaptado de acordo com Carvalho et al. (2010) descrita a seguir.

4.7.1 Perfuração

Trinta e cinco placas com ágar Muller-Hinton foram preparadas com volumes de 20 mL de Ágar por placa. Após 24 horas, foram preparados, assepticamente, com aparelho perfurante, cinco poços de diâmetro de 2 mm no ágar em cada placa. O ágar retirado dos poços foi descartado e os fundos dos poços foram cobertos com uma camada fina de Ágar Muller-Hinton ainda líquido, retirado de uma placa de ágar aquecida sobre o bico de Bunsen, a temperatura de 300 °C, com a ajuda de uma pipeta Pasteur de vidro estéril acoplada a uma pêra de borracha pequena.

4.7.2 Semeadura do micro-organismo em placa de Muller-Hinton

Um suabe de algodão estéril foi mergulhado na suspensão do inóculo, o qual foi girado quatro vezes, apertando-o firmemente contra a parede interna do tubo, acima do nível do líquido, de forma a retirar excesso de inóculo no suabe. Na placa de ágar Müller-Hinton foi inoculado o microorganismo friccionando o suabe em toda a superfície estéril do ágar de forma a assegurar a distribuição uniforme do inóculo.

4.7.3. Aplicação dos extratos nas placas

Foram colocados, em cada placa, 50 µL de iodo a 2%, água destilada estéril, extrato de cajá (*Spondias mombin* L.), extrato de siriguela (*Spondias purpurea* L.) e extrato de nim (*Azadirachta indica*), diluídos em água e distribuídos nos cinco poços. O Iodo foi usado

como controle positivo e a água destilada estéril como controle negativo. Cada micro-organismo foi testado em duplicata para as concentrações de 1%, 2% e 3%. Após 24h, foram medidos os halos de inibição produzidos em volta do poço.

4.7.4 Incubação das placas

As placas com Muller-Hinton com aplicação dos extratos foram incubadas em estufa bacteriológica a temperatura de 37 °C durante 24 horas.

4.8 DETERMINAÇÃO “IN VIVO”

4.8.1 Escolhas de extratos

Foi utilizado o extrato com melhor resultado testado “*in vitro*” quanto a concentração de acordo com o tamanho do halo produzido.

4.8.2 Obtenção e contagem das bactérias antes da aplicação dos extratos

Foram selecionados 09 animais de forma aleatória e de cada um deles foram colhidas amostras da superfície do teto através de suabe estéril e leite do teto direito e teto esquerdo e enviadas em caixas isotérmicas, em ambiente refrigerado, ao laboratório de Microbiologia Veterinária para a contagem. Esse procedimento foi feito antes da aplicação dos extratos e a determinação do número de bactérias foi feita através de contagem em placa.

4.8.3 Aplicação dos extratos nas tetas dos animais

Seguindo o princípio da causalidade, foi feito um sorteio entre 09 cabras leiteiras em estado hígido, para decidir qual o “tratamento” que cada uma receberia como avaliação. Em cada 3 animais, respectivamente, aplicou-se extrato de cajá (*Spondias mombin* L.) a 3%, iodo a 2% e água destilada estéril durante 28 dias consecutivos. Os extratos foram aplicados em ambas as tetas, após a ordenha, com a imersão das tetas em canecas apropriadas a execução do pós-dipping (Figura 11).

Figura 11 – Canecas utilizadas para a imersão das tetas em (I) água, (II) cajá e (III) iodo.



Fonte: Medeiros (2012).

4.8.4 Obtenção e contagem das bactérias durante a aplicação dos extratos

Antes de cada ordenha, nos dias 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28 , foram colhidas amostras bacterianas da superfície do teto e leite do teto direito e teto esquerdo das cabras e enviadas ao laboratório de Microbiologia Veterinária da UFERSA, em caixa isotérmica sob refrigeração, para a contagem das bactérias mesófilas pelo método do numero mais provável para a quantificação das bactérias sobre os tetos e contagem de coliformes totais e termotolerantes através da técnica do número mais provável.

4.8.4.1 Quantificação das bactérias mesófilas

Inicialmente os suabes foram lavados em água (2 mL) e o material foi submetido às diluições: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Posteriormente, 1 mL de cada diluição foi semeado em Agar “Plate Count” 37 °C/24h para contagem de mesófilas.

4.8.4.2 Quantificação de coliformes totais e termotolerantes

4.8.4.2.1 Teste presuntivo

Inicialmente, 10 mL da amostra de leite foi pipetado e semeado em uma série de três tubos de 10 ml do Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LSS) contendo tubo de Durham invertido. Em seguida, pipetou-se 1 mL da mesma amostra de leite e semeou-a em outra série de três

tubos de 9 mL do caldo LSS contendo tubo de Durham invertido. O mesmo procedimento foi realizado, acrescentando-se 0,1 mL de leite em 9 mL do caldo LSS. Os tubos foram homogenizados e incubando os tubos de ensaio em banho-maria a 37 °C durante 48 horas. Os tubos com Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LSS) com produção de gás nos tubos de fermentação (tubo de Durham) eram considerados como positivos.

4.8.4.2.2 Teste confirmativo para coliformes totais

Em seguida, transferiu-se 1 mL dos tubos de LSS com produção de gás para tubos com 9mL de Caldo Verde Brilhante (VB) e incubou-se a 37 °C por 24 a 48 horas. Observou-se a produção de gás, os quais eram considerados positivos

4.8.4.2.3 Teste confirmativo para coliformes termotolerantes

Para verificar a presença de coliformes termotolerantes, foi transferido 1 mL dos tubos positivos do caldo Verde Brilhante para tubos contendo 9 mL de caldo *Escherichia coli* (EC) e incubados a 44,5°C por 24 a 48 horas, sendo observado a produção de gás em tubos de durhan, os quais eram considerados positivos. Foi anotado o número de tubos de EC com gás e determinado o Número Mais Provável (NMP) em uma tabela adequada às diluições utilizadas.

4.8.4.2.4 Quantificação de *Escherichia coli*

Amostras positivas no EC foram semeadas em Caldo Triptona e incubadas a 45 °C por 24 a 48 horas. Nesses tubos foi adicionado o reativo de reagente de *Kovacs*. A formação de um anel vermelho foi a indicação de um resultado positivo para a quantificação de *Escherichia coli*.

4.8.4.2.5 Leitura do número de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*

Para a leitura do número de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* foi utilizada um tabela referenciada de acordo com o numero de tubos positivos em cada diluição (ANEXO 1).

4.9 ANÁLISE FITOQUÍMICA

A prospecção fitoquímica foi realizada no Laboratório de Cromatografia da Universidade Estadual do Rio Grande do Norte – UERN. Para a identificação dos constituintes foi utilizado o extrato hidroalcoólico de cajá (*Spondias mombin* L.) e seguida a metodologia proposta por Matos (1997). Cada extrato, para testes dos constituintes químicos (marcha química), segundo o procedimento abaixo.

4.9.1 Teste para fenóis e taninos

Em uma alíquota de 5 mL do extrato foram adicionadas três gotas de solução alcoólica de cloreto férrico. Após agitação vigorosa, observou-se qualquer variação de sua cor e/ou formação de um precipitado escuro e abundante. A presença de fenóis é indicada pelo aparecimento de coloração entre o azul e o vermelho. A formação de precipitado escuro revela a presença de tanino. A tonalidade do precipitado indica a presença de taninos pirogálicos ou taninos hidrolisáveis (azul) ou de taninos flobabênicos ou taninos condensados ou catéquicos (verde). Um branco foi preparado substituindo-se o extrato etanólico por água destilada.

4.9.2 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Foram separadas três alíquotas de 5 mL do extrato em três tubos de ensaio. O primeiro foi acidificado a pH 3,0; o segundo e o terceiro foram alcalinizados a pH 8,5 e 11,0, respectivamente. A presença de antocianinas, antocianidinas e flavonoides foi determinada de acordo com aparecimento de colorações, que variavam com o pH (Tabela 1).

Tabela 1 – Prospecção fitoquímica das classes de antocianinas, antocianidinas e flavonoides.

| Constituintes | Coloração em meio | | |
|--------------------------------|-------------------|----------------------|-----------------------|
| | Ácido (pH 3,0) | Alcalino (pH 8,5) | Alcalino (pH 11,0) |
| Antocianinas e antocianidinas | Vermelha | Lilás | Azul-púrpura |
| Flavonas, flavonóis e xantonas | - | - | Amarela |
| Chaconas e auronas | Vermelha | - | Vermelho- púrpura |
| Flavonóis | - | - | Vermelho- laranja |

Fonte: Matos (1997).

4.9.3 Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Foram separadas duas alíquotas de 5 mL do extrato em dois tubos de ensaio. O primeiro foi acidificado com HCl para pH 3,0 e o segundo foi alcalinizado com NaOH para pH 11,0. Os tubos foram aquecidos em banho-maria a 60 °C durante 10 minutos. As alterações na coloração do extrato foram observadas quanto à presença dos metabólitos leucoantocianidinas, catequinas e flavonas de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2 – Provas fitoquímicas das classes de leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

| Constituintes | Coloração do meio | |
|---------------------|-------------------|--------------------|
| | Ácido (pH 3,0) | Alcalino (pH 11,0) |
| Leucoantocianidinas | Vermelha | - |
| Catequinas | Pardo-amarela | - |
| Flavononas | - | Vermelho-laranja |

Fonte: Matos (1997).

4.9.4 Teste para flavonóis, flavononas, flavononóis e xantonas

A um tubo contendo 5 mL de extrato foram adicionadas algumas centigramas de magnésio granulado e 0,5 mL de HCl concentrado. Aguardou-se o término da reação indicada pelo fim da efervescência e observou-se a mudança da coloração. O aparecimento ou

intensificação de cor vermelha era indicativo da presença de flavononóis, flavononas, flavononóis e/ou xantonas livres ou seus heterosídeos.

4.9.5 Teste para esteroides e triterpenóides (Lieberman-Burchard)

Um volume de 30 mL do extrato foi evaporado em banho-maria a 60 °C até a secura e o resíduo foi dissolvido em 5 mL de clorofórmio. Alíquotas de 0,1; 0,5 e 1,0 mL do extrato clorofórmico foram transferidas para três tubos de ensaio, cujos volumes finais foram completados para 2 mL com o mesmo solvente. Em seguida, foram adicionados aos tubos de ensaio 1 mL de anidro acético e lentamente 2 mL de H₂SO₄ concentrado. O desenvolvimento de uma coloração rósea ou azul esverdeada indicava a presença de esteroides, enquanto o aparecimento de uma coloração variando de parda a vermelha, a presença de policíclicos triterpênicos.

4.9.6 Teste para saponinas

Ao resíduo do extrato insolúvel em clorofórmio do teste Lieberman-Burchard foram adicionados 5 mL de água destilada. A solução foi filtrada e transferida para um tubo de ensaio que foi agitado vigorosamente. A presença de espuma permanente e persistente indicou a ocorrência de saponinas. Para confirmar a presença de saponinas foi adicionado 2 mL de HCl concentrado ao tubo de ensaio e levado ao banho-maria por 1 h. Após esse período o tubo foi agitado e a presença de precipitado e a não formação de espuma confirmam a presença de saponinas, que foram submetidas ao teste de Lieberman-Burchard.

4.9.7 Teste para alcaloides

Foram evaporados 25 mL do extrato até a secura em banho-maria a 60 °C, sendo o resíduo dissolvido em 10 mL de HCl a 1 M. Este extrato hidroclorídrico foi distribuído em três tubos de ensaio em alíquotas de 0,5 mL, efetuando-se o teste para alcaloides com os reagentes gerais: reagentes de Mayer, Dragendorff e Wagner. A formação de precipitado de coloração branca, laranja e marrom, de acordo com o reagente utilizado, respectivamente, indicava a presença de alcaloides.

4.10 INTERAÇÃO COM OS PROPRIETÁRIOS E AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICAS SANITÁRIAS E SOCIOAMBIENTAL

4.10.1 Caracterização dos sujeitos

Os sujeitos foram caracterizados quanto a faixa etária, nível de instrução, escolaridade e forma de renda.

4.10.2 Realização das entrevistas

Foram convidados a realizar a entrevista 30 proprietários de lotes da comunidade Independência, com idade igual ou superior a 18 anos, do sexo feminino ou masculino. Esse número representa o total de proprietários do assentamento.

Os questionários (ANEXO 2) foram aplicados durante as visitas às casas dos proprietários em lugar reservado da referida residência com condições ambientais adequadas, as quais fossem satisfatoriamente confortáveis, assegurando a privacidade dos indivíduos entrevistado, como forma de conhecimento sobre as condições higiênicas sanitários dos tetos das cabras de aptidão leiteira, como também as características socioambientais e a aceitabilidade de uso de antissépticos naturais para a ordenha de cabras.

Não foram feitas entrevista com os proprietários que não concordaram com a pesquisa, que mesmo concordando não assinaram o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecimento” (TCLE) e, menores de 18 anos, portadores de deficiência mental ou que tivessem alguma relação de dependência (ANEXO 3). O TCLE foi aplicado por alunos concluintes do Curso de Medicina Veterinária da UFERSA e do mestrado Ambiente, Tecnologia e Sociedade, devidamente treinados para a pesquisa, sendo feita a entrevista ao proprietário do lote somente depois do aceite do mesmo em participar do estudo. Para a obtenção do TCLE o indivíduo deveria ler o documento, caso estivesse impossibilitado de fazê-lo, alguém de sua confiança, a seu pedido, poderia ser convidado a ler o TCLE em voz alta para ele. Foi necessária também sua assinatura, demonstrando estar ciente e de acordo com o conteúdo do documento, caso não soubesse ou não pudesse escrever existia um espaço reservado para impressão datiloscopia.

4.10.3 Critérios para suspender ou encerrar a pesquisa

A pesquisa seria encerrada ou suspensa quando existisse algum impedimento operacional, inclusive pela possibilidade de haver recusas em participar do estudo, quando os produtores sentiam-se constrangidos ou negaram a responder o questionário, ou ainda quando o pesquisador percebesse algum risco ou dano a saúde do sujeito participante, conseqüente a mesma não prevista no termo de consentimento.

4.10.4 Infraestrutura e responsabilidade dos envolvidos na pesquisa

No que diz respeito às responsabilidades dos envolvidos no desenvolvimento da pesquisa, coube aos pesquisadores irem ao assentamento e coletar de forma correta todo o material necessário, garantindo o bem-estar das pessoas e de todos os outros envolvidos na pesquisa. Foi responsabilidade das Instituições Proponente e Co-Participante cumprirem com o fornecimento de material e/ou estrutura física adequada para a realização das mesmas, de modo que não houvesse prejuízos para o referido estudo.

4.10.5 Medidas de proteção e privacidade

Os dados obtidos no momento da aplicação dos questionários foram arquivados na forma impressa. Eles foram embalados e lacrados, para em seguida serem acondicionados no Serviço de Comunicação e Protocolo da Universidade Federal Rural do Semi-Árido durante 5 anos que situa-se no pavimento superior do prédio da reitoria da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, a Avenida Francisco Mota S/N, bairro Costa e Silva, na cidade de Mossoró, sob a responsabilidade da arquivista. Na fase de divulgação dos resultados não houve identificação dos voluntários.

4.10.6 Indenização e Ressarcimento

Os sujeitos da pesquisa que vinhessem a sofrer qualquer tipo de dano previsto ou não no termo de consentimento e resultante de sua participação, além do direito a assistência integral, teriam direito a indenização, os quais não poderiam sob qualquer argumento, renunciar ao direito à indenização pelo dano. Assim, em caso de dano comprovadamente decorrente desta pesquisa ao participante, a qualquer momento, poderia procurar obter

indenização por compensação devida de maneira a anular ou reduzir algum dano de natureza moral ou material originado durante a aplicação do questionário ou ainda ressarcimento por danos eventuais ou mal causado durante a pesquisa realizada que seria a cobertura, em compensação, exclusiva de despesas decorrentes da participação do sujeito na pesquisa.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos questionários junto aos moradores do assentamento em estudo foi submetida a o teste de Teste exato de Fisher e o ao Teste t-Student.

Os tratamentos “in vitro” foram submetidos à análise estatística ao nível de 5% utilizando-se o Teste do Qui-quadrado

Para a análise dos testes “in vivo”, os dados analisados resultaram da média aritmética de 7 coleta realizadas em duas tetas durante 28 dias. Foi utilizado um delineamento inteiramente ao acaso com três repetições (animais) e para comparação de médias o teste de Student Newman Keuls (SNK) pelo emprego do programa R (R Development Core Team (2012)).

4.12 SUBMISSÃO AO COMITÊ DE ÉTICA

O presente trabalho foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da UFERSA (CEUA-UFERSA) na data de 08 de junho de 2011, sendo aprovado em 22 de novembro de 2011 sob o Parecer N° 40/2011/ Processo N° 23091.002285/2011-16 (ANEXO 4).

Também foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UERN em 19 de maio de 2012, sendo aprovado em 06 de novembro de 2012 sob o Parecer 146.259. (ANEXO 5).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CAPRINOCULTURA NO ASSENTAMENTO INDEPENDÊNCIA

5.1.1 Aspectos da aceitabilidade da nova tecnologia de antissepsia

A partir da realização de entrevistas, buscou-se as condições de aceitabilidade da comunidade do Assentamento Independência quanto ao uso de antissépticos naturais nas práticas de manejos e de ordenha de cabras. Inicialmente será feita uma descrição da atividade leiteira no assentamento, seguida por uma análise das práticas e conhecimento da comunidade quanto à importância do manejo sanitário para a produção e por último as particularidades socioculturais que subsidiam o uso, as dificuldades e os benefícios da adoção dessa tecnologia preventiva.

Quanto à forma de renda, 47,00 % da comunidade têm na agricultura o seu modo de sustento, 20,00 % trabalham com a criação de caprinos e bovinos, 13,00 % são aposentados e os outros 20,00 % dividem-se entre as mais variadas atividades, como pedreiro, padeiro, professor, corte de lenha e como empregadas domésticas.

Observou-se que a pecuária caprina no Assentamento Independência vem enfrentando inúmeros problemas que repercutem negativamente na situação socioeconômica dos assentados. Quando questionados, os produtores enumeraram os seguintes entraves para o desenvolvimento dessa atividade: a falta de crédito, problemas climáticos, a falta de assistência técnica e problemas sanitários.

Essa problemática é justificada por Hespanhol et al. (2003) que concordam que a situação socioeconômica dos assentados ainda é bastante frágil, em razão da conjuntura pouco favorável aos pequenos produtores em geral, das dificuldades de obtenção de renda e da dificuldade de organização interna dos próprios produtores rurais.

Mesmo com dificuldades na organização, produtores e os demais assentados se estruturaram em associações no intuito de se fortalecerem e buscar apoio ao crédito, adesão a políticas públicas e demais benefícios a comunidade (Figura 12).

Por intermédio do envolvimento nessa associação, os produtores comercializam a maior parte do leite caprino produzido com o Programa de Leite do Governo do Estado. Essa é uma política pública que visa garantir mercados para os produtos da agricultura familiar e segurança alimentar para os beneficiários do Fome Zero. Todos os produtores indicaram dificuldades quanto ao desenvolvimento desse programa, como: o valor do produto (R\$

1,50/litro), atrasos no pagamento e a quantidade máxima diária permitida de leite por produtor, de 27 litros.

De acordo com o Centro de Estudos de Economia Aplicada da USP (CEPEA), em fevereiro de 2013, o preço bruto do leite, ou seja, desconsiderando o frete e impostos, é de R\$ 0,8941/litro.

Figura 12 – Reunião realizada na Associação do Assentamento Independência para apresentação do projeto sobre manejo com caprinos e condições higiênicas sanitárias, em outubro de 2011.



Fonte: Medeiros (2012).

Além da participação do programa do leite, foi aberta licitação para a construção de uma Usina de Beneficiamento de leite de cabra no próprio Assentamento Independência. A instalação dessa usina contribuirá com a sustentabilidade da atividade leiteira no assentamento.

Quanto ao consumo de leite no assentamento, que é de 1,8 litros por lote/dia, 6,67 % afirmam usar como alimentação apenas leite de cabra, 86,67 % o leite de vaca e 6,67 % utilizam os dois tipos. O que demonstra o baixo consumo de leite de cabra pelos assentados. Os principais consumidores são os próprios produtores.

Correia e Borges (2009) identificaram o baixo consumo de leite de cabra em estudo realizado. Dos 400 entrevistados, 68,8% afirmam nunca ter consumido leite caprino, 4,5% se classificaram como assíduos consumidores e o percentual restante como consumidores esporádicos. Esses mesmos autores indicaram a questão cultural, o odor, o sabor e *Marketing* como fatores essenciais na decisão de consumir ou não o leite caprino.

Em relação aos problemas oriundos de práticas sanitárias inadequadas, percebeu-se em verificação “in loco” que aspectos como lavagem das mãos e dos utensílios, higienização

frequente das instalações e cuidados sanitários na ordenha não são práticas habituais no manejo de grande parte das propriedades. A Figura 13 demonstra uma caixa sanitária sendo reaproveitada como depósito de água para o consumo dos animais. Sob a água observa-se uma grande quantidade de material contaminante depositado.

Figura 13 – Recipiente de armazenamento da água utilizada no consumo dos animais.



Fonte: Medeiros (2012).

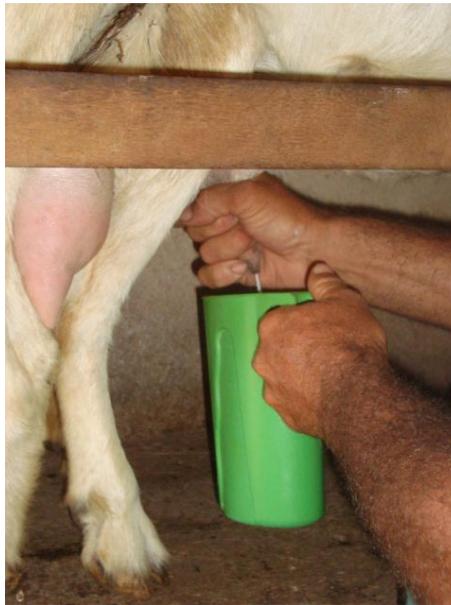
O manejo sanitário inadequado e a deficiência de técnicas de prevenção à patologias propiciam o surgimento de enfermidades que aumentam o custo da produção, uma vez que se torna necessário o uso de antimicrobianos (CORASSIN e OLIVEIRA, 2000).

Em todas as propriedades a ordenha era realizada manualmente. Apenas 25% das propriedades apresentavam sala e plataforma de ordenha e, somente estas propriedades realizavam a prática de pós-dipping após a ordenha.

Ainda nessa óptica, observa-se que a água utilizada no consumo dos animais era acondicionada, na grande maioria, em condições inapropriadas. Tem-se que 62,5% armazenava água em baldes, o restante (37,5%) utilizava-se de mangueiras, fator que dificulta a circulação da água e facilita a contaminação. Amaral et al. (2005), ao investigarem a qualidade da água em propriedades leiteiras, concluíram que a água utilizada em propriedades pode ser veículo para os micro-organismos patogênicos, fazendo-se necessária sua desinfecção e controle com o objetivo de minimizar os riscos à saúde humana e animal.

Referente à utilização de vestimenta de segurança e higienização, em 75% das propriedades não havia uso de vestimentas como botas, luvas e fardamento; os 25% restantes utilizavam-se somente de botas (Figura 14).

Figura 14 – Ordenha do leite caprino no Assentamento Independência sem a utilização de luvas, Mossoró-RN, 2012.



Fonte: Medeiros (2012).

Segundo Tavolaro (2008), a higiene nos processos de obtenção do leite é essencial, já que os consumidores incluem populações de risco, como crianças, idosos e adultos debilitados, devendo, portanto, haver um maior controle e inspeção dos meios de obtenção desse produto.

No tocante ao nível de instrução, os assentados foram divididos em seis grupos de escolaridade: analfabeto (20,00 %), fundamental incompleto (40,00 %), fundamental completo (3,33 %), médio incompleto (10,00 %), médio completo (23,33 %) e nível superior (3,33 %).

Em relação ao conhecimento dos assentados sobre as formas de higienização e conservação do leite, 73,33% dos entrevistados disseram saber como é feita a higienização, outros 26,67% não souberam. Todos os indivíduos que disseram ter conhecimento, citaram a fervura e o resfriamento como opção de higienização e conservação do leite. Ao cruzar os dados de grau de escolaridade com o conhecimento sobre o processo de higienização não foi encontrada associação ($p = 0,6339$) (Tabela 4), mostrando não haver relação entre o nível de escolaridade e o conhecimento sobre o processo de higienização do leite. Observa-se ainda na tabela, a predominância do baixo nível educacional dos assentados. Educação essa que é um importante papel no desenvolvimento econômico e social.

Tabela 3 – Relação entre a escolaridade e o conhecimento dos assentados sobre o processo de higienização do leite.

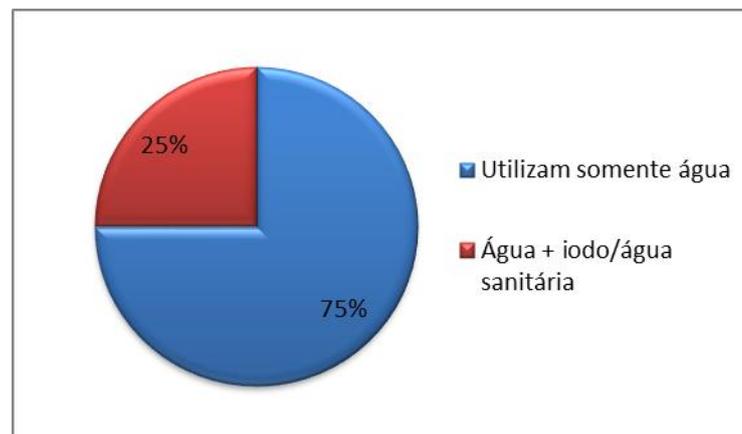
| Higienização do leite (conhecimento) | Escolaridade | | | | | | Total |
|---|--------------|----------|-----------|----------|----------|----------|-----------|
| | ANF | EFI | EFC | EMI | EMC | ES | |
| Não | 2 | 0 | 5 | 0 | 1 | 0 | 8 |
| Sim | 4 | 1 | 7 | 3 | 6 | 1 | 22 |
| Total | 6 | 1 | 12 | 3 | 7 | 1 | 30 |

Teste exato de Fisher ($p < 0,05$) ($p = 0,6339$)

ANF – Analfabeto EFI – Ensino Fundamental Incompleto EFC – Ensino Fundamental Completo
EMI – Ensino Médio Incompleto EMC – Ensino Médio Completo ES – Nível Superior

Sobre a técnica de antissepsia dos tetos das cabras, essa é feita com água em 75% das propriedades e as outras 25% realizam-na com alguma outra substância, como hipoclorito de sódio diluído ou iodo (Figura 15). O iodo é adquirido pelos proprietários de duas maneiras: através da distribuição pelas cooperativas e principalmente pela compra, gerando gastos a produção.

Figura 15– Percentual do tipo de antissepsia feita antes da ordenha das propriedades criadoras de caprinos, Mossoró-RN, 2012.



Fonte: Medeiros (2012).

Muitas vezes, resíduos dessas substâncias permanecem no leite, diminuindo a qualidade do produto. Estudos relatam que soluções de iodo devem ser utilizadas em banhos de tetos em baixas concentrações (0,5% ou menos), uma vez que soluções a 1% de iodo têm resultado em aumento no teor de iodo no leite (PEDRINI e MARGATHO, 2003).

O uso do antisséptico natural, ou de extratos naturais, é uma tecnologia alternativa que vem sendo estudada para fins de apropriação pelo produtor leiteiro do Semiárido no intuito de prevenir e tratar enfermidades. Além disso, essa apropriação busca diminuir ou substituir o uso de iodo e antimicrobianos em animais e dessa forma contribuir para o aproveitamento de recursos naturais de forma sustentável, a diminuição de contaminação do leite e de custos.

A busca por essas tecnologias é evidenciada nas palavras de Moraes et al. (2009) que relata que cada vez mais é preciso incrementar tecnologias próprias às condições ecológicas do Semiárido. Os mesmos autores ainda citam que há necessidade dessas tecnologias serem específicas ao lugar, geradas na própria região e/ou adaptadas através de pesquisas quando há a importação de outras localidades.

Nesse sentido, os assentados foram questionados sobre o conhecimento do uso de extratos de plantas na assepsia caprinos de aptidão leiteira, sendo que 30% dos entrevistados disseram saber sobre extratos que são usados como antissépticos em animais e 70% disseram não ter conhecimento. Entre os extratos citados e aprovados pelos assentados, estavam os derivados de nim, babosa e ameixa. Sendo o nim utilizado por eles principalmente como carrapaticida e a babosa e a ameixa como anti-inflamatórios.

Buscou-se avaliar se o tempo de moradia indivíduos no assentamento Independência teria influência sobre o conhecimento do uso de extratos na caprinocultura. A média de permanência no Assentamento Independência é de 12,1 anos, sendo o número de indivíduos por lote de 4,5 pessoas. Em relação à idade, a média é de 48,27 anos. De acordo com a Tabela 3, os maiores percentuais de faixas de idade encontram-se de 30 a 39 anos (20,00 %) e dos 50 a 59 anos (26,67 %).

Tabela 4 – Número de indivíduos e porcentagem da faixa etária dos assentados entrevistados.

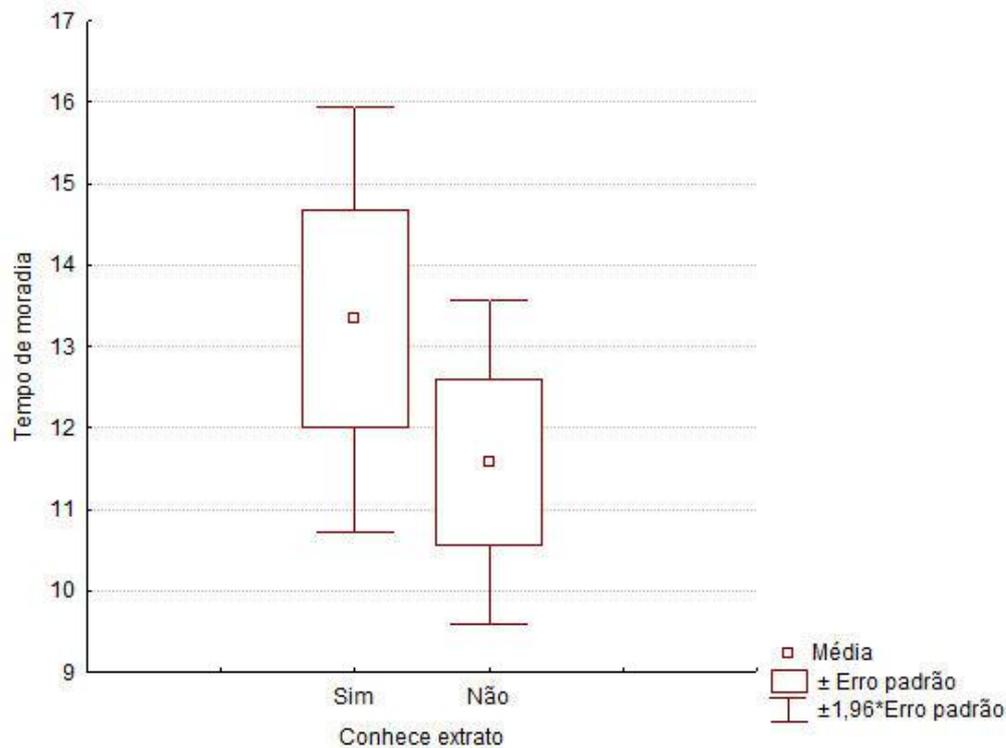
| Faixa etária | Número de pessoas | % |
|--------------|-------------------|--------|
| 20 a 29 | 4 | 13,33 |
| 30 a 39 | 6 | 20,00 |
| 40 a 49 | 5 | 16,67 |
| 50 a 59 | 8 | 26,67 |
| 60 a 69 | 4 | 13,33 |
| 70 a 79 | 3 | 10,00 |
| | 30 | 100,00 |

Fonte: Medeiros (2012).

Não houve diferença estatística ($p = 0,3317$) quanto a correlação entre o tempo de moradia e conhecimento de extratos (Figura 16). Também não houve associação no

cruzamento dos dados do nível de escolaridade e o conhecimento de extrato pelo assentado ($p = 0,1042$) (Tabela 5). Esses dados evidenciam a falta de conhecimento dos assentados sobre o uso dos recursos naturais no manejo da caprinocultura tanto quanto ao aspecto do tempo de permanência no assentamento e escolaridade.

Figura 16 – Relação entre o tempo de moradia e o conhecimento do uso de extratos em animais pelos assentados.



Teste t-Student ($p < 0,05$ %) ($p = 0,3317$).

Tabela 5 – Relação entre a escolaridade e o conhecimento dos assentados sobre o conhecimento de extratos para uso animal.

| Extrato (Conhecimento) | Escolaridade | | | | | | Total |
|---------------------------|--------------|----------|-----------|----------|----------|----------|-----------|
| | ANF | EFI | EFC | EMI | EMC | ES | |
| Não | 6 | 0 | 6 | 3 | 5 | 1 | 21 |
| Sim | 0 | 1 | 6 | 0 | 2 | 0 | 9 |
| Total | 6 | 1 | 12 | 3 | 7 | 1 | 30 |

Teste exato de Fisher ($p < 0,05$) ($p = 0,1042$)

ANF – Analfabeto EFI – Ensino Fundamental Incompleto EFC – Ensino Fundamental Completo
EMI – Ensino Médio Incompleto EMC – Ensino Médio Completo ES – Ensino Superior

Ainda quando consultados sobre o uso de extratos, os entrevistados desconheciam algum antisséptico de origem vegetal que tenha ocasionado problemas em caprinos. Entretanto, a adoção do uso de qualquer planta exige a realização de testes de toxicidade que comprovem a segurança ao animal (CARNEIRO et al., 2012).

Dos assentados sabedores do uso de extratos, 45% disseram acreditar que a ação deste extrato é melhor que a do iodo por ser um produto natural e não industrializado, afirmando que utilizariam extratos vegetais na assepsia dos animais. Outros 22 % disseram não acreditar na eficácia e 33 % não soube opinar. Esses dados refletem que parte dos assentados buscariam nos recursos naturais o tratamento e a prevenção de enfermidades.

Quanto ao custo do uso de antissépticos, 43,33% afirmaram que a utilização do iodo apresenta maior custo que o do extrato vegetal. Outros 6,67% afirmam que o extrato apresenta maior custo e os 50,00% restantes não souberam opinar. Provavelmente, esse número se dê devido a obtenção das plantas ser, na grande maioria, de fácil acesso e a técnica de produção dos extratos simplificada, muitas vezes necessitando apenas da parte vegetal (folha, raiz, fruto ou caule), água e/ou álcool. Além de que alguns extratos são produzidos no momento do uso, não necessitando de conservação.

Diante dessas discussões, observa-se que as dificuldades encontradas para a aceitabilidade dessa tecnologia é a dificuldade de acesso às informações, as práticas de manejo ineficientes e a necessidade de mudanças de hábitos; a adequação e apropriação da técnica de produção do extrato ao cotidiano da comunidade e o risco de toxicidade do produto, o qual exige maior detalhamento.

Entre os aspectos benéficos está o fácil acesso dos assentados ao produto, a possibilidade de redução de resíduos antimicrobianos e de iodo no leite devido ao uso dos recursos naturais, a melhoria da produtividade, a diminuição de custos e o controle dos agentes causadores de doenças em detrimento das mudanças de hábito.

5.1.2 Descrição Microbiológica

5.1.2.1 Microbiota isolada

Foram isoladas 82 bactérias das amostras de suabes dos tetos e amostras de leite caprino, utensílios e das mãos dos ordenhadores, sendo identificados os seguintes microorganismos: *Bacillus megaterium*, *Bacillus* sp., bactérias do grupo das corineformes, *Cellulomonas* sp., *Corynebacterium* sp., *Enterobacter* sp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativa e *Streptococcus* sp. (Tabela 6). Sendo o *Staphylococcus*

coagulase negativa encontrado em maior frequência, 39 (47,56%) das cepas, seguido de *Cellulomonas* sp. (16/19,51%), *Bacillus* sp. (10/12,20%), *Staphylococcus aureus* (8/9,76%), *Streptococcus* sp. (2/2,44%), *Enterobacter* sp. (2/2,44%), *Corynebacterium* sp. (2/2,44%), Corineformes (2/2,44%) e *Bacillus megaterium* (1/1,22%).

Tabela 6 – Determinação do número e porcentagem de bactérias isoladas no Assentamento Independência em Mossoró-RN.

| BACTÉRIAS | QUANTIDADE | % |
|--|------------|------------|
| <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa | 39 | 47,56 |
| <i>Cellulomonas</i> sp. | 16 | 19,51 |
| <i>Bacillus</i> sp. | 10 | 12,20 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 9,76 |
| <i>Streptococcus</i> sp. | 2 | 2,44 |
| <i>Enterobacter</i> sp. | 2 | 2,44 |
| <i>Corynebacterium</i> sp. | 2 | 2,44 |
| Corineformes | 2 | 2,44 |
| <i>Bacillus megaterium</i> | 1 | 1,22 |
| TOTAL | 82 | 100 |

Esses dados são justificados pelos resultados de Correa et al. (2010) que isolou 37 (27,2%) amostras de *Staphylococcus* coagulase negativo, o principal agente da mastite subclínica, afecção com ocorrência tanto no Brasil, como em outros países. De acordo com os mesmos autores, os patógenos de maior importância no desenvolvimento da mastite são os *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactia* e *Escherichia coli*.

Neves et al. (2010), em um trabalho realizado com nove rebanhos de cabras leiteiras no Semiárido paraibano identificou que das 261 amostras de leite, 30 (11,49%) apresentaram crescimento bacteriano, sendo 25 (83,33%) *Staphylococcus aureus* negativo, e em apenas 5 (16,66%) amostras foram identificados *Staphylococcus aureus*.

Quanto a origem das bactérias isoladas, 42 (51,22%) das bactérias foram provenientes dos tetos, 21 (25,61%) foram isoladas do leite, 6 (7,32%) da superfície dos bebedouros e 13 (15,85%) das mãos dos ordenadores (Tabela 7).

Em relação aos tetos, os micro-organismos identificados foram os *Staphylococcus* coagulase negativa (18/42,86%), *Staphylococcus aureus* (5/11,90%), *Bacillus* sp. (7/16,67%), *Enterobacter* sp. (1/2,38%), *Bacillus megaterium* (1/2,38%), *Corynebacterium* sp. (2/4,76%), grupo das corineformes (2/4,76%) e *Cellulomonas* sp. (6/14,29%). Esses dados são justificados pelos resultados encontrados nos estudos de Neves et al. (2010) onde estudaram sobre a etiologia da mastite caprina.

Tabela 7 – Número e porcentagem de bactérias por origem isoladas em propriedades criadoras do Assentamento Independência/Mossoró-RN.

| ORIGEM | BACTÉRIAS IDENTIFICADAS | | TOTAL | | |
|--------------|--|----|-------|----|-------|
| | TIPO | Nº | % | Nº | % |
| TETO | <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> | 18 | 42,86 | 42 | 51,2 |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 5 | 11,90 | | |
| | <i>Bacillus</i> sp. | 7 | 16,67 | | |
| | <i>Enterobacter</i> sp. | 1 | 2,38 | | |
| | <i>Bacillus megaterium</i> | 1 | 2,38 | | |
| | <i>Corynebacterium</i> sp. | 2 | 4,76 | | |
| | Grupo das corineformes | 2 | 4,76 | | |
| | <i>Cellulomonas</i> sp. | 6 | 14,29 | | |
| LEITE | <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> | 9 | 42,86 | 21 | 25,6 |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 2 | 9,52 | | |
| | <i>Streptococcus</i> sp. | 1 | 4,76 | | |
| | <i>Cellulomonas</i> sp. | 6 | 28,57 | | |
| | <i>Enterobacter</i> sp. | 1 | 4,76 | | |
| | <i>Bacillus</i> sp. | 2 | 9,52 | | |
| BEBEDOU-RO | <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> | 4 | 66,67 | 6 | 15,9 |
| | <i>Cellulomonas</i> sp. | 2 | 33,33 | | |
| MÃO | <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> | 8 | 61,54 | 13 | 7,3 |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 | 7,69 | | |
| | <i>Streptococcus</i> sp. | 1 | 7,69 | | |
| | <i>Bacillus</i> sp. | 1 | 7,69 | | |
| | <i>Cellulomonas</i> sp. | 2 | 15,38 | | |
| TOTAL | | 82 | | 82 | 100,0 |

Sobre a análise do leite, detectou-se as cepas de *Staphylococcus coagulase negativa* (9/42,86%), *Staphylococcus aureus* (2/9,52%), *Streptococcus* sp. (1/4,76%), *Cellulomonas* sp. (6/28,57%), *Enterobacter* sp. (1/4,76%) e *Bacillus* sp. (2/9,52%). Já no bebedouro dos animais isolou-se apenas o *Staphylococcus coagulase negativa* (4/66,67%) e *Cellulomonas* sp. (2/33,33%).

Nas mãos dos ordenhadores foram encontradas o *Staphylococcus coagulase negativa* (8/61,54%), *Staphylococcus aureus* (1/7,69%), *Streptococcus* sp. (1/7,69%), *Bacillus* sp. (1/7,69%) e *Cellulomonas* sp. (2/15,38%).

Observa-se que o *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN) foi encontrado nas quatro origens pesquisadas, tetos, leite, bebedouros e mãos dos ordenhadores. Enquanto que o

Staphylococcus aureus só não estava presente nos bebedouros. Neves et al. (2010) e Langoni et al. (2004), ambos pesquisando sobre os agentes da mastite, isolaram esses dois tipos de micro-organismos. Conforme Santos (2008), os *Staphylococcus* sp. são micro-organismos contagiosos distribuídos na natureza de forma ubiqüitária, com algumas espécies habitando nichos ecológicos específicos, também podendo estar presentes no solo, areia e água.

Anderson et al. (2005), citam os SCN como os principais agentes isolados na mastite e relata ainda que o *Staphylococcus aureus* é bastante comum na pele e nas mucosas de cabras e ovelhas. Já Contreras et al. (2007) enfatiza que a mastite clínica caprina é causada, principalmente, por *Staphylococcus aureus*; e a mastite subclínica, sobretudo, por SCN, dentre os quais destacam-se os *S. epidermidis*, *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. caprae* e *S. agalactiae*.

Em um trabalho feito por Olivindo et al. (2009), foi detectada a ocorrência de *Staphylococcus aureus* em amostras de mãos de ordenhador, tetos das cabras, leite, ordenhadeira e água em salas de ordenha de leite de cabra. Nesse estudo, as mãos do ordenhador caracterizaram-se como ponto crítico de controle, pois se destacaram como iniciador de contaminação nas amostras *Staphylococcus aureus*.

Outra bactéria isolada, *Bacillus* sp., estava presente em amostras de teto, de leite e na amostra das mãos dos ordenhadores. Esses são micro-organismos considerados em alguns estudos como contaminantes, podendo chegar aos tetos e ao leite através das fezes e cama dos animais, poeira, equipamentos e utensílios deficientemente higienizados (ROSSLAND et al., 2003). Langoni et al. (2006) demonstraram *Bacillus* sp. isolados de amostras de leite de cabra em seus estudos, corroborando com os resultados obtidos. Ainda em um estudo realizado por Zegarra et al. (2009) foram isoladas várias bactérias das mãos de manipuladores envolvidos na elaboração de queijo, dentre elas *Bacillus* sp, fato este que colabora com o achados deste micro-organismo na mão do ordenhador.

De acordo com Cronin e Wilkinson (2008), o *Bacillus cereus* está entre as espécies do gênero *Bacillus* de maior importância na indústria de alimentos, tendo em vista sua capacidade de produzir toxinas, que podem provocar toxinfecções alimentares, enzimas deteriorantes e esporos resistentes ao tratamento térmico. Já em outros trabalhos, como o descrito por Vittori et al. (2008), foi verificado que ao avaliarem a qualidade microbiológica do leite UHT caprino, identificaram em seu trabalho a ocorrência de *Bacillus* sp. nas amostras, mesmo após tratamento térmico, justificando os dados encontrados no Assentamento Independência.

Quanto ao *Bacillus megaterium*, é uma bactéria geralmente proveniente do solo, mas podendo ser encontrada em alimentos desidratados, água marinha, sedimentos, peixes, flora normal e até mesmo mel de abelha. Essa é uma bactéria gram-positiva, aeróbica, formadora de endósporos, utilizada na secreção de proteínas recombinantes (SUAREZ et al., 2012). Provavelmente, esse micro-organismo veio a habitar a superfície do teto através do contato das cabras com o solo. Esses micro-organismos também já foram isolados a partir de amostras de abelhas sadias, favo com crias e outras fontes do apiário e de moscas da espécie *Musca domestica* (PICCINI et al., 2004). Sobre o gênero *Enterobacter* sp., gênero de bactérias gram negativas, foi isolado de uma amostra da superfície do teto e de uma amostra de leite. Segundo Fonseca e Santos (2007), esses micro-organismos são do grupo dos coliformes, os quais normalmente habitam o solo e o intestino de animais de sangue quente; se acumulam e se multiplicam no esterco e na cama. Desta forma, o fato de serem isolados em uma amostra de teto está relacionado à contaminação da superfície deste teto. Os estudos de Cavalcanti (2008) sobre prevalência e etiologia da mastite em rebanhos caprinos isolaram bactérias do gênero *Enterobacter* sp. em amostras de leite, concordando com o resultado obtido nesse trabalho.

Dois micro-organismos do gênero *Corynebacterium* sp. foram isolados de amostras de teto. Uma espécie deste gênero, *Corynebacterium bovis*, é encontrado principalmente no interior da glândula mamária e ducto do teto e sua alta incidência em um rebanho indica deficiência na desinfecção dos tetos pós ordenha (SILVA, 2006).

Bergonier et al (2003) e Contreras et al. (2007) corroboram com os dados descritos aqui quando citam em suas obras que micro-organismos do gênero *Corynebacterium* sp. estão entre aqueles causadores de infecções intramamárias em pequenos ruminantes. De acordo com Fonseca e Santos (2007), o gênero *Corynebacterium* é uma das causas mais frequentes de mastite (20 a 30%), devido a sua baixa patogenicidade e alta contagiosidade detectado principalmente na forma subclínica da doença.

Neves et al.(2010) em um estudo sobre etiologia da mastite subclínica caprina no Estado da Paraíba, isolou amostras de *Corynebacterium* sp. associadas a *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp. e *Micrococcus* sp. em amostras de leite coletadas em algumas propriedades.

Outras duas bactérias isoladas dos tetos foram identificadas como pertencentes ao grupo das corineformes (4,76%). Os micro-organismos do gênero *Cellulomonas* sp., que também pertencem ao grupo das corineformes, foram isolados em amostras dos tetos, leite, bebedouros e mãos. Todas as bactérias desse grupo têm em comum serem bacilos gram-

positivos de morfologia irregular, crescimento aeróbico, não formadores de esporos e com ácido-álcool resistência variável (BERNARD, 2005; FUNKE e BERNARD, 2007).

Numa revisão taxonômica feita por Funke e Bernard (2007), os gêneros incluídos no grupo das corineformes são: *Corynebacterium*, *Turicella*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Cellulosimicrobium*, *Curtobacterium*, *Dermabacter*, *Dermatophilus*, *Exiguobacterium*, *Leifsonia*, *Microbacterium*, *Oerskovia*, *Rothia*, *Dermatophilus*, *Janibacter*, *Pseudoclavibacter/Zimmermannella*, *Brachibacterium*, *Knoellia* e *Gardnerella*.

O isolamento das bactérias do gênero *Cellulomonas* sp. em todas as origens estudadas (tetos, leite, bebedouros e mãos) pode ser explicado pelo fato dos micro-organismos desse gênero serem comumente encontrados no meio ambiente e no solo. Duas espécies relatadas são a *Oerskovia turbata* e *Oerskovia xanthineolytica*, com pouca importância clínica, com raros casos de bacteremia e infecções em implantes de próteses (LEVY, 2004).

Micro-organismos do gênero *Streptococcus* sp. foram isolados de uma amostra de leite e uma de mão. Concordando com os resultados obtidos neste trabalho, Neves et al. (2010) isolaram bactérias do gênero *Streptococcus* sp. a partir de amostras de leite de cabra obtidas de propriedades do Estado da Paraíba. Bezerra et al. (2006) identificaram cepas de *Streptococcus* sp. a partir da análise de amostras de leite de cabra positivas no CMT.

Segundo Langoni et al. (2004) as três espécies de *Streptococcus* mais frequentemente identificadas como causadoras de mastite são *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e o *Streptococcus uberis*, sendo o *Streptococcus agalactiae* o mais prevalente. Eles identificaram, em estudo sobre os agentes etiológicos de mastite em caprinos, o *Streptococcus agalactiae* como o segundo micro-organismo mais prevalente isolado em culturas puras e associadas. Causa em sua maioria mastites subclínicas que tendem à forma crônica. Ele pode ser disseminado muitas vezes por equipamento de ordenha ou pelas mãos dos ordenhadores, no momento da ordenha realizada sem higiene. Chapaval et al. (2008), num estudo sobre a detecção de *Streptococcus* sp. para monitoramento da qualidade do leite de cabra em sala de ordenha, isolaram cepas de *Streptococcus* sp. em amostras de mãos de ordenhador, tetos das cabras, leite, ordenhadeira e água; sendo as mãos do ordenhador caracterizadas como ponto crítico de controle, pois se destacam como iniciador de contaminação nas amostras *Streptococcus* sp.

5.1.2.2 Contagem de mesófilas nas mãos dos ordenhadores e bebedouro dos animais

Na contagem de bactérias mesófilas verificou-se a qualidade das características microbiológicas das mãos dos ordenhadores e também dos bebedouros de água dos animais em oito propriedades do Assentamento Independência, assim como, comparou-se os resultados das mesmas. Os resultados das contagens encontram-se na tabela 8, sendo expresso em termos de UFC/ml. O pior resultado foi atribuído à propriedade E, provavelmente devido às más condições de higiene de ordenha ou das más condições de higienização do bebedouro. Enquanto que o melhor resultado foi o encontrado na propriedade A.

Tabela 8 – Contagem de mesófilas das mãos dos ordenhadores e do bebedouro de propriedades criadoras de caprinos no Assentamento Independência /Mossoró-RN, 2011.

| PROPRIEDADES | ME (UFC) | MD (UFC) | BEB (UFC) |
|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| A | $6,0 \times 10^1$ | $2,0 \times 10^1$ | $8,0 \times 10^2$ |
| B | $1,0 \times 10^3$ | $1,0 \times 10^3$ | $2,5 \times 10^4$ |
| C | $1,0 \times 10^3$ | $1,0 \times 10^3$ | $1,0 \times 10^2$ |
| D | $1,0 \times 10^3$ | $1,0 \times 10^3$ | $1,0 \times 10^3$ |
| E | $1,0 \times 10^4$ | $3,2 \times 10^5$ | $3,9 \times 10^5$ |
| F | $1,0 \times 10^3$ | $1,0 \times 10^1$ | $1,0 \times 10^5$ |
| G | $1,0 \times 10^5$ | $1,0 \times 10^5$ | $1,0 \times 10^5$ |
| H | $1,0 \times 10^4$ | $1,0 \times 10^4$ | $1,0 \times 10^4$ |

ME – mão esquerda; MD – mão direita; BEB – bebedouro.

De acordo com a tabela 9, em 43,75% das amostras das mãos, foi observada uma contagem de 1×10^3 UFC/mL, enquanto que 37,5% das amostras apresentaram valores acima de 1×10^3 UFC/mL e 18,75% abaixo desse valor. Já em relação ao bebedouro, a contagem de mesófila esteve compreendida entre 1×10^2 e $3,9 \times 10^5$ UFC/mL.

Tabela 9 – Porcentagem de mesófilas encontradas nas mãos dos ordenhadores de propriedades criadoras de caprinos no Assentamento Independência /Mossoró-RN, 2011.

| MD/ME (UFC) | % |
|-------------------|-------|
| $< 1 \times 10^3$ | 18,75 |
| $= 1 \times 10^3$ | 43,75 |
| $> 1 \times 10^3$ | 37,5 |

ME – Mão Esquerda; MD – Mão Direita.

Olivindo et al. (2009) e Chapaval et al. (2008) relataram que as mãos do ordenhador são caracterizadas como ponto crítico de controle durante o monitoramento da qualidade do leite de cabra em salas de ordenha, pois se destacaram como iniciador de contaminação em amostras isoladas de algumas bactérias mesófilas.

As mãos apresentam, principalmente, dois tipos diferentes de populações microbianas: residente e transitória. A primeira é constituída por micro-organismos com baixa virulência, como os *Staphylococcus* coagulase negativa, corinebactérias e micrococos, sendo mais difícil de ser removida pela higiene das mãos com água e sabão, uma vez que coloniza as camadas mais internas da pele. A segunda coloniza as camadas mais superficiais da pele e, portanto, é mais facilmente removida pela higiene das mãos com água e sabão quando comparada à residente. É comumente formada por bactérias gram negativas, como as enterobactérias e *Pseudomonas*, bem como bactérias aeróbias formadoras de esporos, fungos e vírus (PITTED et al., 1999).

Conforme Santana et al. (2001), os procedimentos empregados na ordenha determinam a qualidade microbiológica do leite, cada etapa nesse processo pode ser responsável pela inclusão de milhões de micro-organismos no leite na ausência de boas práticas de higiene. Os micro-organismos do grupo dos aeróbios mesófilos incluem a maioria das bactérias acidificantes do leite (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Diante de tais evidências, os resultados obtidos das contagens de mãos, nesse trabalho, podem ser comparados ao encontrados por Silva et al. (2011), os quais constataram a contagem de cerca de $2,4 \times 10^5$ UFC/mL de micro-organismos aeróbios mesófilos e de $2,4 \times 10^5$ UFC/mL de psicotróficos isolados de amostras de mãos de ordenhador, antes da ordenha, de propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano. Os mesmos autores ainda relatam que após a

ordenha houve redução nas contagens, justificando que parte dessa contaminação provavelmente foi incorporada aos tetos e ao leite durante esse procedimento.

Numa pesquisa onde se fez o monitoramento microbiológico das mãos de manipuladores de leite de pequenos ruminantes e de queijo fresco de ovelha e cabra em Portugal, obteve-se contagens de mãos de manipuladores entre 1×10^1 a $2,1 \times 10^5$ (PONCIANO, 2010). Ambos os dados apresentam resultados comparativos aos descritos neste trabalho.

Lagaggio et al. (2002), dizem que a média de bactérias mesófilas do leite cru obtido por ordenha manual ou mecânica está em torno de 10^5 e 10^6 UFC/ml. Esses mesmos autores encontraram, em Campinas, variação na contagem total de mesófilos de 10^4 a 10^7 UFC/ml para leite cru. Pode-se considerar que parte da carga microbiana foi, provavelmente, passada ao leite através da contaminação pelas mãos dos ordenhadores (FRANCO et al., 2000).

5.1.2.3 Determinação de coliformes totais e termotolerantes na água

A Tabela 10 aponta os resultados pertinentes à detecção e quantificação de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli*. Em setenta e cinco por cento das amostras de água analisadas foi detectada a presença de coliformes totais, sendo as propriedades F e H as que apresentaram maiores contagens: ambas com 150 NMP/100mL. Das propriedades positivas para coliformes totais, todas, exceto a D, apresentaram também presença de coliformes termotolerantes em suas amostras de água. A propriedade E foi a que mostrou as maiores contagens, cerca de 15 NMP/100mL; as outras variaram entre 3,6 a 9,2 NMP/100mL. Somente as amostras provenientes das propriedades F e H apresentaram-se como positivas para detecção de *E. coli*, apontando contagens de 9,2 e 3,6 NMP/100mL, respectivamente. As amostras de água das propriedades A e C foram negativas para detecção de coliformes.

De acordo com Araújo et al. (2009), torna-se fundamental avaliar não somente a qualidade do leite, mas também da água utilizada em propriedades rurais. Estes autores, em um estudo onde avaliaram as condições higiênico sanitárias da água usada em algumas propriedades produtoras de leite, detectaram contagens de coliformes termotolerantes e de *E. coli* que variavam, ambas, de < 2 e $1,6 \times 10^3$ NMP/100mL. Picinin (2003) afirma que a água pode influenciar diretamente na qualidade da matéria-prima e também na eficiência da limpeza e higienização dos equipamentos e utensílios de ordenha, podendo se constituir em fonte potencial de contaminação quando não devidamente tratada.

Tabela 10 – Determinação da presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em água proveniente de propriedades criadoras de caprinos no Assentamento Independência/Mossoró-RN, 2012.

| PROPRIEDADES | Coliformes totais (NMP/100mL) | Coliformes termotolerantes (NMP/100mL) | <i>Escherichia coli</i> (NMP/100mL) |
|--------------|----------------------------------|---|--|
| A | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| B | 23,0 | 3,6 | 0,0 |
| C | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| D | 3,6 | 0,0 | 0,0 |
| E | 150,0 | 15,0 | 0,0 |
| F | 93,0 | 9,2 | 9,2 |
| G | 11,0 | 7,4 | 0,0 |
| H | 150,0 | 7,4 | 3,6 |

NMP/mL – número mais provável/mililitro.

Em estudo sobre a quantificação de coliformes em diferentes etapas da produção de queijo fresco de leite de cabra, detectou-se que na água utilizada para a limpeza, proveniente de um poço artesianos, havia presença de coliformes totais e termotolerantes, em contagens médias, respectivamente, de 129,8 UFC/100 mL e 10 UFC/100 mL. Essa água era utilizada para higienização das mangueiras que entravam em contato com o leite durante a produção, sendo considerada um ponto de entrada de coliformes no produto produzido (PICOLI et al., 2006).

As origens da água avaliada nas propriedades deste trabalho eram duas: poços (62,5%) e distribuição pública por meio da Companhia de Águas e Esgotos do Rio Grande do Norte (CAERN) (37,5%). De acordo com Amaral et. al, (2003), as principais fontes de abastecimento de água no meio rural são os poços rasos e nascentes, as quais são bastante susceptíveis à contaminação. Conboy e Goss (2000) citam que a deposição diária de resíduo orgânico animal no solo, prática muito disseminada no meio rural, aumenta o risco da contaminação das águas subterrâneas. Fayer et al, (2000) comentam que o dejetos bovino depositado no solo representa risco de contaminação das fontes de água, uma vez que esses animais são reservatórios de diversos micro-organismos. A partir dessas afirmativas, pode-se gerar explicações para a presença de coliformes na água.

Como medidas de prevenção contra contaminação direta dos poços, Gomes et al. (2011) defendem que a proteção das fontes de abastecimento pode preservar a qualidade da água no meio rural onde a desinfecção não é realizada. Dentre algumas fontes de prevenção citadas tem-se: calçada ao redor da fonte, tampa, parede externa acima do solo, revestimento

interno, localização no ponto mais alto do terreno, fossa com distância > 30 m (AMARAL et al., 2003).

5.2 AVALIAÇÃO “IN VITRO” DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS VEGETAIS

Em relação aos resultados do teste de difusão em ágar para os extratos das folhas de *Spondias purpurea* L. (sirigueleira), *Spondias mombin* L. (cajá) e *Azadirachta indica* A. (nim), iodo a 1% - controles positivo -, água destilada estéril - controle negativo, os mesmos estão apresentados na Tabela 11. Os dados demonstram a ausência de inibição por parte dos extratos de nim e siriguela nas concentrações usadas (1%, 2% e 3%).

Os resultados obtidos quanto ao teste de sensibilidade, utilizando-se dos extratos de nim, discordam daqueles encontrados por Pereira et al. (2009), onde os extratos etanólicos de *Azadirachta indica* A. Juss na concentração de 1/1 foi efetivo contra *Staphylococcus* sp. e também discordando do trabalho realizado por Alves et al. (2009), no qual os extratos hidroalcoólicos de folhas de nim a 70% e 80% (v/v) de etanol 96% apresentaram atividade contra *Staphylococcus aureus*. Esses resultados são diferentes provavelmente devido ao diferente percentual utilizado, podemos observar que nos os percentuais deste último trabalho citado são muitos elevados, tornando-se tóxicos se utilizados “in vivo”, como pode se observado por Mourão et al. (2004) que estudaram a toxicidade aguda e crônica dos extratos de sementes e de folhas do nim, em fêmeas do ácaro *Oligonychus ilicis*, obtendo 50% e 99% de mortalidade dos indivíduos em todos os extratos após 72 horas de exposição, nas concentrações 0,02; 15,9 e 121,4 mg/mL e 10,9; 520,9 e 277,4 mg/mL, respectivamente. Ainda Gandhi et al. (1988) relata que a administração de extrato de Neem por via oral em ratos e coelhos produziu sintomas de toxicidade aguda. A CL50 (dose letal que mata 50% dos organismos) do óleo de nim foi de 14 ml/kg para ratos e 24 ml/kg para coelhos em 24 horas. Para ambas as espécies os órgãos alvos foram os pulmões e sistema nervoso central.

Quanto a siriguela, Brito (2010) relata que o extrato das suas folhas e da casca é utilizado como antipirético e antidiarréico, além do tratamento de infecções na gengiva, erupções cutâneas e sarampo. O óleo essencial dessa planta possui os terpeno α -humuleno e β -cariofileno, que sugerem a ação antimicrobiana da planta. Os resultados deste trabalho discordam dessa hipótese sugerida por Brito (2010).

Pizana et al. (2010), descreve que o extrato metanólico da siriguela inibiu o crescimento micelar do fungo *Fusarium oxysporum* em um percentual superior a 50%, esses

Tabela 11 – Diâmetro dos halos de inibição dos extratos diluídos em água das folhas de nim, cajazeira e siriguela nas concentrações de 1, 2 e 3% frente às bactérias isoladas em caprinos.

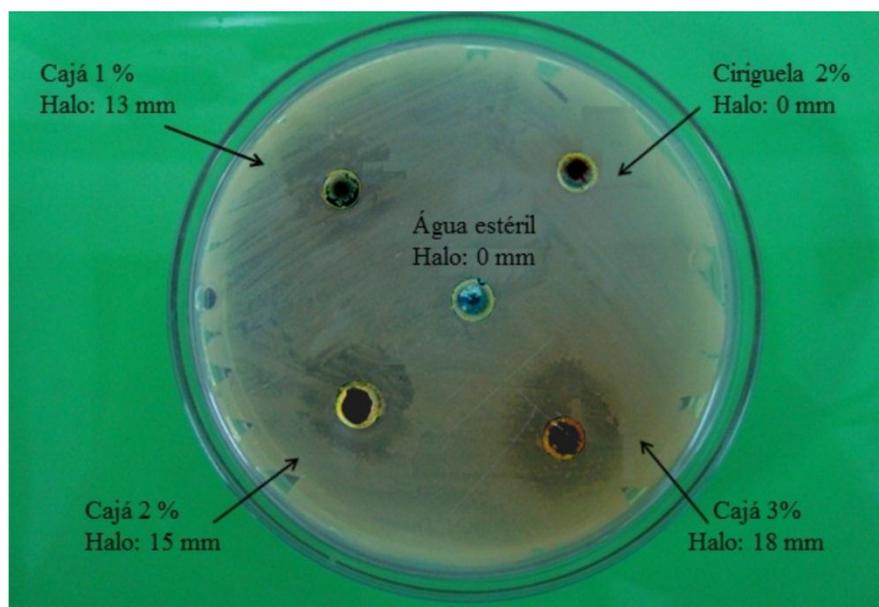
| BACTÉRIA | NIM (mm) | | | CAJAZEIRA (mm) | | | SIRIGUELA (mm) | | | IODO A 1% (mm) | ÁGUA DESTILADA (mm) |
|--|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------|---------------------------|
| | 1% | 2% | 3% | 1% | 2% | 3% | 1% | 2% | 3% | | |
| <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 15 ^b | 18 ^b | 20 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 45 ^c | 0 ^a |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 14 ^b | 15 ^b | 20 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 50 ^c | 0 ^a |
| <i>Bacillus sp</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 6 ^b | 8 ^b | 12 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 45 ^c | 0 ^a |
| <i>Cellulomonas sp.</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 13 ^b | 15 ^b | 18 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 50 ^c | 0 ^a |
| <i>Enterobacter sp</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 5 ^b | 7 ^b | 9 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 50 ^c | 0 ^a |
| <i>Corynebacterium sp</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 8 ^b | 9 ^b | 11 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 55 ^c | 0 ^a |
| <i>Streptococcus sp</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 18 ^b | 19 ^b | 20 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 54 ^c | 0 ^a |

Letras diferentes comparam o efeito dos extratos sobre diferentes tipos de bactérias e representa significância estatística pelo Teste do Qui-quadrado para $p < 0,05$.

dados são diferentes provavelmente devido ao tipo de parede celular produzidas pelos fungos, como celulose ou quitina.

Sobre a ação antimicrobiana dos extratos da cajazeira, esses demonstraram inibição em todas as concentrações utilizadas (1%, 2% e 3%) diante todas as cepas bacterianas testadas (Figura 17). Os halos de inibição originados pelo iodo foram significativamente maiores do que os halos originados pelo extrato de cajazeira, independente da concentração utilizada, frente às diferentes bactérias isoladas de propriedade criadoras de caprinos. Não houve diferenças significativas dos tamanhos dos halos de inibição entre as três concentrações (1%, 2% e 3%) de extratos de cajazeira testadas. Houve uma maior inibição dos cocos, *Staphylococcus* coagulase negativa, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* sp. Os bacilos restantes apresentaram halos de menor inibição. Nota-se, na maioria dos testes, uma relação crescente e proporcional entre o tamanho do halo e a concentração.

Figura 17 – Halos de inibição formados pelo cajá a 1%, 2% e 3% em torno da bactéria semeada *Cellulomonas* sp.



Fonte: Medeiros (2012).

Abo et al. (1999) estudaram a ação dos extratos metanólicos de folhas e da casca do caule da cajazeira nas concentrações de 100mg/mL, 50mg/mL e 25mg/mL contra diversos micro-organismos, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*. Estes dados corroboram com os resultados demonstrados neste trabalho, quando identificaram em seus estudos que a atividade antibacteriana do extrato a

folha da *S. Mombin* foi mais ativa que a atividade da gentamicina a 10mg/mL sobre a *Pseudomonas aeruginosa* e *Shigella dysenteriae*; enquanto a ação dos extratos da casca do caule contra *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram muito semelhante a da gentamicina.

Jain et al. (2005) insere que o chá das folhas da cajazeira vem sendo utilizado há bastante tempo, devido as suas propriedades antimicrobianas, justificando a ação da cajazeira encontrada nessa pesquisa. Isolados das folhas e talos desta espécie demonstraram atividade pronunciada contra os vírus Herpes simples tipo 1 e Coxsackie B2, e atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* e *Mycobacterium fortuitum*. Enquanto que Brito (2010), identificou o terpeno β -cariofileno, o qual supõe uma possível ação antimicrobiana do cajá.

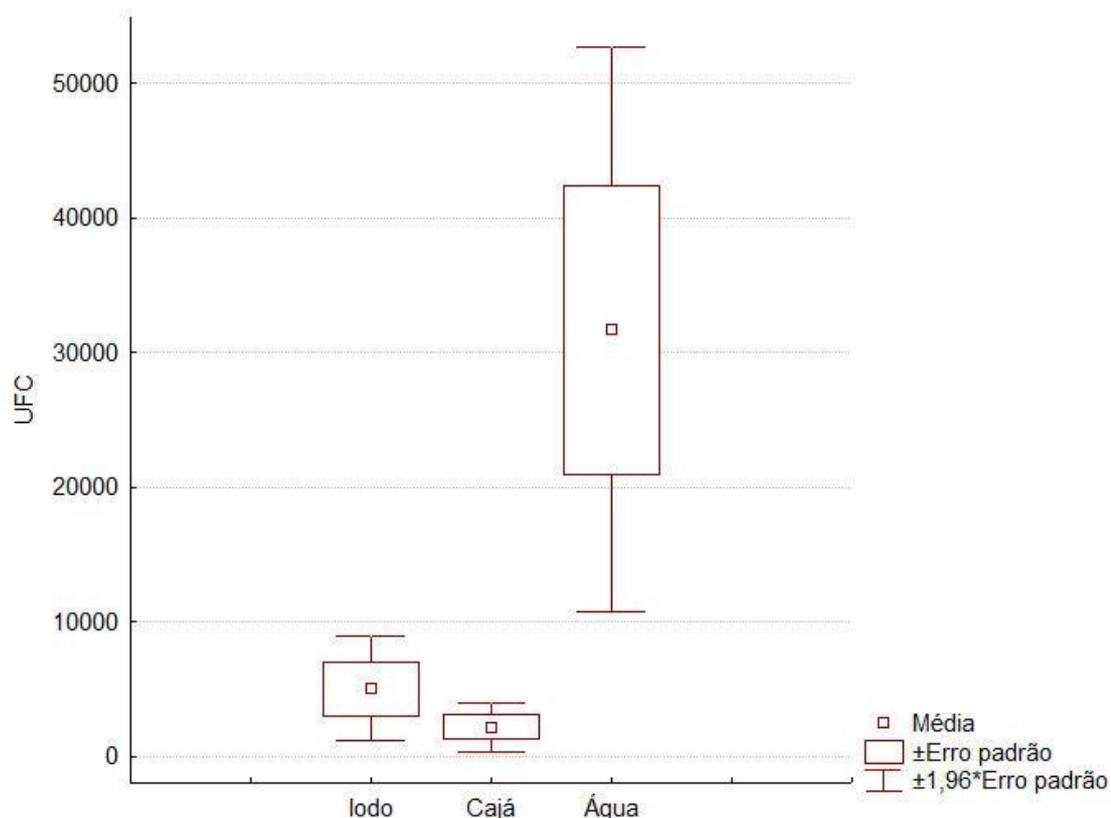
5.3 AVALIAÇÃO “IN VIVO” DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DO CAJÁ

De acordo com os resultados obtidos, a análise de variância, do logaritmo do número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), demonstrou existir diferença significativa ($p = 0,0147$), ao nível de 5%, entre os produtos analisados (Figura 18). Na comparação das médias, o cajá e o iodo não apresentaram diferença e ambos diferem da água, a qual possui um número maior de UFC. Observa-se também que as médias, em UFC, para a contagem de mesófilas foram as seguintes: cajá 3% = 2170,17, iodo 2% = 5005,33 e água = 31704,29 (Tabela 12).

Esses dados estão de acordo com Brito (2010) que identificou na espécie *Spondias mombin* L o terpeno β -cariofileno e que sugere ensaios para testar possíveis inibições antibacterianas, uma vez que as pesquisas relacionadas a ação do cajá são escassas, existindo questionamentos a serem respondidos.

Ainda sobre a cajazeira, Jain et al. (2005) insere que o chá de suas folhas vem sendo utilizado há bastante tempo, por suas propriedades anti-viróticas. Isolados das folhas e talos desta espécie demonstraram atividade pronunciada contra os vírus Herpes simples tipo 1 e Coxsackie B2, e atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* e *Mycobacterium fortuitum*.

Figura 18 – Comparação entre as médias do número de Unidade Formadora de Colônias (UFC) de acordo com os produtos (Iodo 2%, Cajá 3% e Água destilada).



A análise de variância, do logaritmo do número de UFC, demonstrou existir diferença significativa ($p = 0,0147$), ao nível de 5%, entre os produtos analisados.

Tabela 12 – Médias do número de Unidade Formadora de Colônias (UFC) e de Coliformes Totais (CT) de acordo com os produtos (Iodo 2%, Cajá 3% e Água destilada)

| Produto | UFC | CT |
|----------------|-----------------------|--------------------|
| Iodo 2 % | 5005,33 ^b | 5,03 ^a |
| Cajá 3 % | 2170,17 ^b | 2,84 ^a |
| Água destilada | 31704,29 ^a | 11,70 ^a |

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Student Newman Keuls, ao nível de 5% de significância.

Ainda na Tabela 12, quanto à contagem do número de coliformes totais (VB), não houve diferença entre os produtos ($p = 0,1280$), embora o número de coliformes seja maior

para os animais que receberam a água como tratamento. Obtiveram-se as seguintes médias em UFC por tratamento: Cajá 3% = 5,03 NPM, Iodo 2% = 2,84 NPM e Água = 11,70 NPM.

Quanto aos coliformes termotolerantes (Tabela 13), esses foram identificados apenas nos animais que receberam água como antisséptico, respectivamente, cabra 1 da Água (7,4 NPM /Col. 8), cabra 2 da Água (3,6 NPM /Col. 8) e Cabra 2 da Água (3 NPM/Col. 2, 3,6 NPM/Col. 6 e 15 NPM/Col. 8), verificando que o extrato de cajá provavelmente diminuiu os índices de coliformes.

Tabela 13 – Determinação dos Coliformes Termotolerantes em cabras que receberam como tratamento a água

| TRATAMENTO | CABRAS | COLIFORMES TERMOTOLERANTES AO LONGO DAS COLETAS (NMP/mL) | | | | | | | |
|------------|--------|--|---|---|---|---|-----|---|------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Iodo 2 % | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cajá 3% | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Água | 1 | - | - | - | - | - | - | - | 7,4 |
| | 2 | - | - | - | - | - | - | - | 3,6 |
| | 3 | - | 3 | - | - | - | 3,6 | - | 15,0 |

NMP/mL – número mais provável/mililitro

Paralelamente a esse trabalho, Gottardi et al. (2008), identificou coliformes totais em sete das oito propriedades estudadas, sendo que as contagens variaram entre zero e $1,4 \times 10^6$ UFC mL⁻¹. Cinco propriedades (2, 4, 5, 6 e 8) apresentaram coliformes totais nas duas coletas. Em duas propriedades (1 e 3), na segunda coleta, e, em uma propriedade (7), nas duas coletas, não foram encontrados coliformes totais. Coliformes fecais foram encontrados nas propriedades 2 e 8 ($3,4 \times 10^4$ UFC mL⁻¹ e $4,1 \times 10^4$ UFC mL⁻¹, respectivamente), na segunda coleta, provavelmente devido a higienização da água potável.

5.4 AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DO CAJÁ

Em relação às análises farmacognósticas, realizadas com os extratos vegetais, obtiveram-se os resultados mostrados na Tabela 14. Entre os grupos químicos pesquisados neste trabalho, a espécie *S. mobim* (Cajá) apresentou-se positiva para taninos pirogálicos (devido à presença de precipitado escuro de tonalidade azul), flavonoides (devido a presença de cor vermelho-laranja em meio básico com pH igual a 11), catequinas (presença de cor pardo-amarelada em meio ácido), flavanonas (presença de cor vermelho-laranja em meio básico), xantonas (aparecimento de cor vermelha) e esteroides livres (presença de coloração azul evanescente seguida de verde permanente). Entretanto, obteve-se resultados negativos para fenóis, antocianinas, antocianidinas, leucoantocianidinas, saponinas, alcaloides e quinonas.

Tabela 14 – Resultados dos testes farmacognósticos empregados para o extrato hidroalcolico das folhas do cajá.

| TESTE DE IDENTIFICAÇÃO | <i>Spondias mombin</i> L. |
|-------------------------------|----------------------------------|
| Fenóis | - |
| Taninos | + |
| Antocianinas | - |
| Antocianidinas | - |
| Flavonóides | + |
| Leucoantocianidinas | - |
| Catequinas | + |
| Flavanonas | + |
| Xantonas | + |
| Esteróides livres | + |
| Saponinas | - |
| Alcalóides | - |
| Quinonas | - |

(+) Positivo (-) Negativo

Esses resultados estão de acordo com Santos-Serejo et al. (2009), que descrevem que nos últimos anos, descobriu-se que os extratos das folhas e dos ramos da cajazeira contém taninos com propriedades medicinais para o controle de bactérias gram positivas e negativas. A atividade antimicrobiana de taninos hidrolisáveis tem sido atribuída a vários mecanismos de ação, em especial a sua capacidade de interagir com as proteínas e inibir a atividade enzimática (KONISHI et al., 1993). Outro mecanismo pode estar relacionada com a capacidade de complexação com os íons metálicos (CHUNG et al., 1998). Esta capacidade foi

relacionada com a proteção de plantas contra predadores, tais como animais insetos e micro-organismos (HATANO et al., 1999).

De acordo com Acciolly et al. (2012), a análise fitoquímica do extrato metanólico da *S. mombin* revelou além da presença de taninos hidrolisáveis (formação de precipitado de cor azul escuro na reação com uma solução de ácido hidro-alcoólico de FeCl_3), a saponinas (formação de espuma estável por agitação com água). Enquanto que Ayoka et al. (2006), confirmou pela avaliação de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos do cajá, a presença de taninos, antraquinonas, flavonóides, glicosídeos, saponinas e compostos fenólicos. Enquanto que os alcaloides estavam ausentes nos três extratos.

Njoku e Akumefula (2007), ainda identificaram em extratos de folhas do cajá, alcaloides (6,00%), flavonoides (3,00%), taninos (3,82%), saponinas (7,6%) e compostos fenólicos (1,00%) nas respectivas proporções. Paralelamente, Lima et al. (2011) ao analisar frutos do cajá acharam grandes quantidades de vitamina A, B1, B2 e C, além de fósforo, cálcio, potássio, carotenoides e taninos. Já Rodriguez-Amaya e Kimura (1989) detectaram o α -caroteno, β -caroteno, ζ -caroteno, zeinoxantina, criptoxantina, criptoflavina e luteína.

CONCLUSÕES

Sobre a avaliação da aceitabilidade do uso de extratos, observa-se que as maiores dificuldades encontradas para a adoção dessa tecnologia são as práticas de manejo ineficientes, a necessidade de mudanças de hábito, a adequação e apropriação da técnica de produção do extrato ao cotidiano da comunidade e o risco de toxicidade do produto. Entre os aspectos positivos para a sua aceitação está o fácil acesso dos assentados ao produto, a possível redução de resíduos no leite, a melhoria da produtividade, a diminuição de custos e o controle dos micro-organismos responsáveis por enfermidades animais.

Sobre a microbiota bacteriana identificada no Assentamento Independências, isolou-se: *Bacillus megaterium*, *Bacillus sp.*, *Corynebactérias*, *Enterobacter sp.*, *Cellulomonas sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.* e *Staphylococcus coagulase* negativa. Destacando-se o *Staphylococcus coagulase* negativa, indicado como um dos principais causadores da mastite.

Quanto a contagem de mesófilas nas mãos dos ordenhadores e bebedouro dos animais, todas as amostras apresentaram elevado número de bactérias.

A maioria das amostras apresentaram coliformes totais. Das propriedades positivas para coliformes totais, todas, exceto uma, apresentaram também presença de coliformes termotolerantes em suas amostras de água.

Dentre os extratos estudados, apenas o cajá apresentou atividade antibacteriana, tendo melhor ação sobre a *S. coagulase* negativa e o *Streptococcus sp.* respectivamente.

Quanto à avaliação “in vivo”, existiu diferença significativa entre os produtos água, iodo e cajá para a contagem de mesófilas. O cajá diminuiu o número de bactérias mesófilas. Não houve diferença entre os produtos para a análise de coliformes totais. Os coliformes termotolerantes, foram identificados apenas nos animais que receberam água como tratamento.

Em relação a análise fitoquímica, a espécie *S. mobim* (Cajá) apresentou-se positiva para taninos pirogálicos, flavonoides, catequinas, flavanonas, xantonas e esteroides livres (presença de coloração azul evanescente seguida de verde permanente). Entretanto, obteve-se resultados negativos para fenóis, antocianinas, antocianidinas, leucoantocianidinas, saponinas, alcaloides e quinonas.

A partir desses resultados, surgem algumas questões: o que fazer para esse produto ser incorporado na rotina da ordenha? Como agregar valor a esse produto? Qual a estratégia a ser implantada para que o uso do extrato seja um diferencial na venda do leite e dos seus derivados?

Diante disso, sugere-se que sejam feitas pesquisas sobre a toxicidade dos extratos, uma avaliação dos custos para a adoção do uso dos extratos e agregação de valor ao produto através de uma abordagem junto as empresas que comercializam o leite.

REFERÊNCIAS

- AARATI, N.; RANGANATH N.; SOUNMYA, B; KISHORE, B.; MITHUM, K. Evaluation of antibacterial and anticandidal efficacy of aqueous and alcoholic extract of neem (*Azadirachta indica*) na *in vitro* study. **International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy**, v. 2, n. 1, p. 230-35, 2011.
- ABO, K. A.; OGUNLEYE, V. O.; ASHIDI, J. S.; Antimicrobial potential of *Spondias mombin* *Croton Zambesicus* and *Zygotritonia Crocea*. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 494-497, 1999.
- ACCIOLY, M.P.; BEVILAQUA, C.M.L.; RONDON, F.C.M.; MORAIS, S.M.; MACHADO, L.K.A.; ALMEIDA, C.A.; ANDRADE JR., H.F.; CARDOSO, F.P.A. Leishmanicidal activity *in vitro* of *Musa paradisiaca* L. and *Spondias mombim* L. fractions. **Veterinary Parasitology**, v.187, p. 79-84, 2012.
- ADEMOLA, I.O.; FAGBEMI, B.O.; IDOWU, S.O. Anthelmintic activity of extracts of *Spondias mombin* against gastrointestinal nematodes of sheep: studies *in vitro* and *in vivo*. **Tropical Animal Health Production**, v.37, v. 3, p. 223-35, 2005.
- AGRA, M.F.; BARACHO, G.S.; NURIT, K.; BASÍLIO, I.J.L.D.; COELHO, V.P.M. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p.383-395, 2007.
- ALBUQUERQUE, A.P.; ANDRADE, L.H.C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do Agreste do estado de Pernambuco. **Revista de Ciencia y Tecnologia de América**.v. 27, n. 7, p. 336-346, 2002.
- ALBUQUERQUE, A.P.; MONTEIRO, J.M., RAMOS, M.A., Amorim E.L.C.. Medicinal and magic plants from a public market in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, p. 76-91, 2007.
- ALENCAR, S.P.; MOTA, R.A.; COELHO, M.C.O.C; NASCIMENTO, S.A.; ABREU. S.R.O; CASTRO, R.S. Perfil sanitário dos rebanhos de caprinos e ovinos no sertão de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 1, p. 131-140, 2010.
- ALVES, P. D.; BRANDAO, M. G. L.; NUNAN, E. A.; VIANNA-SOARES, C. D. Chromatographic evaluation and antimicrobial activity of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae) leaves hydroalcoholic extracts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 19, n. 2b, p. 510-515, 2009.
- AMARAL, L. A. et al. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n.4, p. 510-514, 2003.
- ANDERSON, D. E.; HULL, B. L.; PUGH, D. G. Enfermidades da glândula mamária. In: PUGH, D. G. (Ed.). **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005, p.513.

ARAÚJO, G. C. A.; GODRIM, M.D.; SOUZA, V.S. **A organização social da agricultura familiar do projeto JAÍBA-MG: desafio para o desenvolvimento local sustentável.** In: XLV Congresso da SOBER. Anais. Londrina/PR, 2007, p. 1-21.

ARAÚJO, G. H. S.; ALMEIDA, J. R.; GUERRA, A. J. T. **Gestão Ambiental de Áreas Degradadas.** Bertrand Brasil: Rio de Janeiro, 2005. 320p.

ARAÚJO, M. M. P. E.; ALVES, P. D. D.; BARBOSA, F. H. F.; ROSA, C. A. Qualidade higiênico-sanitária do leite e da água de algumas propriedades da bacia leiteira do município de Luz – MG, **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 9, p. 154-171, 2009.

AYOKA A. O.; AKOMOLAFE R. O.; IWALEWA E. O.; AKANMU M. A.; UKPONMWAN O. E. Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v.103, n. 2, p.166 – 175, 2006.

BACHELIER, J. B., & ENDRESS, P. K. Comparative floral morphology and anatomy of Anacardiaceae and Burseraceae (Sapindales), with a special focus on gynoeceum structure and evolution. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 159, p. 499–571, 2009.

BANDEIRA, D.A.; CASTRO, R.S.; AZEVEDO, E.O.; MELO, L.S.S.; MELO, C.B. Perfil sanitário e zootécnico de rebanhos caprinos nas microrregiões do Cariri paraibano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n.6, p. 1597 – 1600, 2007.

BARROSO, G.M., MORIM, M.P., PEIXOTO, A.L, ICHASCO, C.L.F. **Frutos e Sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 433 p.

BERGONIER D.; DE CRÉMOUX R.; RUPP R.; LAGRIFFOUL G.; BERTHELOT, X. Mastitis of dairy small ruminants. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p. 689-716, 2003.

BEZERRA, A. C. A.; FEIJÓ, F. M. C.; SILVA, J. S.; AVELINO, D. B. Relação entre o “California Mastitis Test” e os agentes microbianos de mastites em caprinos no estado do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 28, p. 160-165, 2006.

BHATIA A; ZAHOOR, S. Staphylococcus aureus Enterotoxins: A Review. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 1, n. 3, p.188-197, 2007.

BLATT, J. M.; PIAZZA, C. E. Perfil de sensibilidade de cepas de Staphylococcus aureus e Staphylococcus coagulase negative isolados em pacientes internados. **RBAC**, v. 36, n.2, p. 129-131, 2004.

BOSCO, J.; SOARES, K.T.; AGUIAR FILHO, S.P.; BARROS, R.V. **A cultura da cajazeira.** João Pessoa: EMEPA, 2000. 29 p. (Documentos, 28).

BRANCO, S. M. **Caatinga: a paisagem do homem sertanejo.** São Paulo: Moderna, 2004. 55 p.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para

Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de agosto de 2003. Seção 1.

BELTRÃO FILHO, E. M.; COSTA, R. G.; QUEIROGA, R. C. R. E.; MEDEIROS, A. N. O.; OLIVEIRA, C. J. B.; ROCHA, J. K. P.; SANTOS, J.G. Avaliação higiênico-sanitária do leite de cabra comercializado no estado da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Pública**, v. 9, n. 4, p. 672-679, 2008.

BERNARD, K. A. Corynebacterium species and coryneforms: an update on taxonomy and diseases attributed to these taxa. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 27, p. 9-18, 2005.

BRITO, H. R. **Caracterização química de óleos essenciais de *Spondias mombin* L., *Spondias purpurea* L. e *Spondias sp* (cajarana do sertão)**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Paraíba. 2010. 67 p.

BUZA, A. G.; SILVA, O. F. **A importância da pesquisa no desenvolvimento da cadeia produtiva: o nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss) no município de Santa Isabel do Pará**. Monografia de especialização em agricultura na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Amazônia. 2001. 34 p.

CARNEIRO, S.M.P; CARVALHO, F.A.A.; SANTANA, L.C.L.R.; SOUSA, A.P.L.; NETO, J.M.M.; CHAVES, M.H. The cytotoxic and antileishmanial activity of extracts and fractions of leaves and fruits of *Azadirachta indica* (A Juss.). **Biology Research**, v. 45, n. 2, p. 111-116, 2012.

CAVALCANTE, M. P. **Caprine mastitis: bacterial ethiology and susceptibility to antimicrobials**. Salvador, Bahia. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, 2008. 82p.

CARVALHO, L. D. **Ressignificação e reapropriação social da natureza: Práticas e Programas de Convivência com o Semiárido no Território de Juazeiro – Bahia**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, Sergipe. 2010. 342 p.

CARVALHO, R.S., NASCIMENTO, A.S., MARANGOLO, W.J.T. Controle Biológico. In: MALAVASI, A., ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Moscas das frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 113-117.

CEPEA. Leite: Dificuldades “dentro da porteira” levam a reajuste ao produtor. **CEPEA**, São Paulo, 28 fev. 2013.

CHUNG, K.T.; WEI, C.; JOHNSON, M.G.. Are tannins a double edged sword in biology and health? **Trends and Food Science & Technology**, v. 9, p. 168–175, 1998.

CHAPAVAL, L.; OLIVINDO, C. de S.; SOUSA, F. G. C. de; ALVES, F. S. F.; FROTA, I. M. A. Detecção de *Streptococcus* spp. utilizando a técnica de REP-PCR no monitoramento da qualidade do leite de cabra em sala de ordenha. In: Congresso Nordestino De Produção Animal, 2008, Aracaju. **Anais**, 2008. p. 1-3.

CONBOY, M. J.; GOSS, M. J. Natural protection of groundwater against bacteria of fecal origin. **Journal of Contaminant Hidrology**, v. 43, p. 1-24, 2000.

CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J.C.; MARCO, J.C.; PAAPE, M.J.; GONZALO, C. Mastitis in small ruminants. *Small Rumin. Reserch in Veterinary*. n. 68, p.145-153, 2007.

CORASSIN, C. H.; OLIVEIRA, C. Aplicabilidade dos conjuntos para detecção de esíduos de antibióticos no leite em propriedades leiteiras. *Revista O Biólogo*, v. 62, n. 1, 2000.

CORREIA, C.M.; MICHAELSEN, R.; RIBEIRO, M.E.R.; PINTO, A.T.; ZANELA, M.B.; SCHMIDT, V. Composição do leite e diagnóstico de mastite em caprinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 38, n. 3, p. 273-278, 2010.

CORREIA, R. T. P.; BORGES, K.C. Posicionamento do consumidor frente ao consumo de leite de cabra e seus derivados na cidade de Natal-RN. *Revista do Instituto de Laticínios Candido Torres*, v. 64, n. 366, p. 36-43, 2009.

COSTA, H. M. DE A. & VIEIRA, L. Da S. Ectoparasitos permanentes de caprinos e ovinos em Sobral-CE. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 19, p. 639-646, 1984.

COSTA, R. G.; ALMEIDA, C. C.; PIMENTA FILHO, E.C. HOLANDA JUNIOR, E.V.; SANTOS, N. M. Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região Semi-árida do estado da Paraíba. Brasil. *Arquivos de Zootecnia*, v. 57, n. 21, p.195-205, 2008.

CRONIN, U. P.; WILKINSON, M. G. *Bacillus cereus* endospores exhibit a heterogeneous response to heat treatment and low temperature storage. *Food Microbiology*, London, v. 25, p. 235-243, 2008.

DEGO, K. O; VAN, D.J.E.; NEDERBRAGT, H. Factors involved in the early pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus* matitis with emphasis on bacrial adhesion and invasion. *The Veterinary quarterly*. v. 24, n. 4, p. 181-98, 2002.

DEHGAN, M.H.; DARYANI, A.; ROBABEH, D.; Hostological evidence of male potent reproductive sites by Iranian botanical *Azadirachta indica* (Neem) seed extract. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*, v. 2, n.1, p. 7-15, 2006.

DESMARCHELIER, C.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging effects in extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, n. 9, v. 31, p.1163-1170, 1998.

DEVMURARI, V.P.; JIVANI, N.P. Hepatoprotective activity of methanolic and aqueous extracts of *Azadirachata Indica* leaves. *Introduction Journal Pharmacology Technology Reserch*, p 1037-1040, 2010.

DIBY, S.B; KONÉ, M; YAPO, A. Potentiel pharmacologique des écorces de tige de *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) sur la motricité in vitro du duodénum de lapin ; une plante médicinale utilisée dans le traitement traditionnel des troubles digestifs. *Phytothérapie*, v. 10, p. 306-312, 2012.

DINGES, M.M.; ORWIN, P. M.; SHLIEVERT, P.M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, p. 16-34, 2000.

DIXON, R.A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v. 411, p. 843-847, 2001.

DUQUE, J. G. **Solo e água no polígono das secas**. 5a. ed. Coleção Mossoroense: Mossoró, 1980. 45 p.

ENGELS, C.; GRÄTER, D.; ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, J.M.; GÄNZLE, M.G SCHIEBER, A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**, v. 46, p.557–562, 2012.

FACCIN-GALHARDI, L.C.; YAMAMOTO, K.A.; RAY,S.; RAY, B.; LINHARES, R.E.C.; NOZAWA, C. The *in vitro* antiviral property of *Azadirachta indica* polysaccharides for poliovirus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p. 86-90, 2012.

FARAH, A.; DONANGELO, C.M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 18, n.1, p. 23-36, 2006.

FAYER, R.; TROUT, J. M.; GRACZKY, T. K.; LEWIS, E.J. Prevalence of *Cryptosporidium parvum*, *Giardia* sp and *Eimeria* sp infection in post-weaned and adult cattle in three Maryland farms. **Veterinary Parasitology**, v. 93, p. 103-112, 2000.

FERNANDES JR, F.C; CAMERINI, N. L.; FONSECA, F.C.E; FONSECA, G.P. Qualidade do leite produzido por cabras alimentadas com níveis crescentes de feno de flor seca. **ABEAS**, v.23, n.1, p. 64-70, 2008.

FILGUEIRA, T.M.B.; AHID, S.M.M. SUASSUNA, A.C.D.; SOUZA, W.J. Aspectos epidemiológicos e sanitários das criações de caprinos na Região da chapada do Apodi. **Revista Verde**, v. 4, n.2, p. 64-67, 2009.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. Qualidade do leite e controle de mastite. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 176 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

FRANCO, R. M. et al. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, v. 14, p. 70-77, 2000.

FRAIFE FILHO, G. A.; LEITE, J.B.V.; RAMOS, J.V. **Cajá**. CEPLAC – Comissão Executiva Do Plano Da Lavoura Cacaueira. 2008. Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/caja.htm>. Acesso em 13 out. 2012.

FREIRE, F.C. O. Uso da manipueira no controle do oídio da ceriguleira: resultados preliminares. **Comunicado Técnico**, EMBRAPA, Fortaleza-CE, 2001.

FUNKE, G.; BERNARD, K. A. Coryneform gram-positive rods. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; JORGENSEN, J. H.; LANDRY, M. L.; PFALLER, M. A. (eds) **Manual of clinical microbiology**. 9.ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 2007, p. 485-514.

GACHET, M. S., LECARO, J. S., KAISER, M., BRUN, R., NAVARRETE, H., MUÑOZ, R. A. Assessment of anti-protozoal activity of plants traditionally used in Ecuador in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 1, p.184–197, 2010.

GANDHI M., L. R.; SANKARANARAYANAN, A.; BANERJEE, C.K.; SHARMA, P.L. Acute toxicity study of the oil from *Azadirachta indica* seed (Neem oil). **Journal Ethnopharmacy**, v. 23, n. 1, p. 39-51, 1988.

GOMES, M.C.R.L.; SOUZA, J.B.; FUJINAGA, C.I. Estudo de caso das condições de abastecimento de água e esgotamento sanitário dos moradores da estação ecológica de Fernandes Pinheiro (PR). **Ambiência Gruarapuava**, v. 7, n. 1, p. 25-28, 2011.

GONÇALVES JUNIOR, O. **Da tradição ao mercado: construção social e caprinovinocultura no Semi-árido**. Tese de Doutorado, Escola de Administração de Empresas de São Paulo da Fundação Getúlio Vargas, São Paulo, São Paulo, 2010. 336 p.

GONZALO, C.; TARDÁGUILA, J.A.; DE LA FUENTE, L.F; SAN PRIMITIVO F. Effects of selective and complete dry therapy on prevalence of intramammary infection and on milk yield in the subsequent lactation in dairy ewes. **Journal Dairy Research** v.71, n. 1, p.33-38, 2004.

GOTTARDI, C.P.T.; MURICY, R.F.; CARDOSO, M.; SCHMIDT, V. Qualidade higiênica do leite caprino por contagem de coliformes e estafilococos. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p. 743-748, 2008.

GRUPTA, S.; KATARIA, M.; GRUPTA, P.K.; MURGANANDAN, S.; YASHOROY, R.C. Protective role of extracts of neem seeds in diabetes caused by streptozotocin in rats. **Journal Ethnopharmacol**, v. 2, n. 10, p. 185-189, 2004.

HARTLEIB, J.; KÖHLER, N.; DICKINSON, R.B.; CHHATWAL, G.S.; SIXMA, J.J.; HARTFORD, O.M.; FOSTER, T.J.; PETERS, G.; KEHREL, B.E.; HERRMANN, M. Protein A is the von Willebrand factor binding protein on *Staphylococcus aureus*. **Blood**, v. 96, n. 6, p.2149-56. 2000.

HATANO, T.; YOSHIDA, T.; HEMINGWAY, R.. Interactions of flavonoids with peptides and proteins and conformations of dimeric flavonoids in solution. **Gross**, p. 509–526, 1999.

HENRIQUES, A.T., LIMBERGER, R.P., KERBER, V.A., MORENO, P.R.H. Alcalóide: Generalidades e Aspectos Básicos. In: C.M.O. SIMÕES, E.P. SCHENKEL, G. GOSMAN, J.C.P MELLO, L.A. MENTZ, P.R. PETROVICK (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2007. p. 765-791.

HESPANHOL, A. N.; COSTA, V. M. H. M., SANTO, C. R. E. Os assentamentos e os reassentamentos rurais na região de Andradina - SP. In: BERGAMASCO, S. M. P. P.; AUBRÉE, M.; FERRANTE, V. L. S. B. (orgs.). **Dinâmicas familiar, produtiva e cultural**

nos assentamentos rurais de São Paulo. Campinas, SP: FEAGRI/UNICAMP/UNIARA/INCRA, 2003. p. 105-124.

JAIN, S.C. et al. Synthesis of novel non-isoprenoid phenolic acids and 3-alkylpyridines. **Pure Applied Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 185–193, 2005.

JAY, J. M. Microbiologia de Alimentos, 6a ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

KANORKMEDHAKUL, S.; KANIKMEDHAKUL, K.; PRAJUABSUK.; T.; PANICHAJAKUL, S.; PANYAMEE, P.; PRABPAI, S.; KONGSAEREE, P. Azadirachtin derivatives from seed kernels of *Azadirachta excelsa*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 7, p. 1047-1050, 2005.

KONISH, K.; ADACHI, H.; ISHIGAKI, N.; KANAMURA, Y. ; ADACHI, I.; TANAKA, T.; NISHIOKA, I.; NONAKA, G.; HORIKOSHI, I. Inhibitory effects of tannins on NADH dehydrogenases of various organisms. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 16, p. 716–718, 1993.

LAGAGGIO, V. R. A.; FLÔRES, M. L.; SEGALINAZI, S. D. Avaliação microbiológica da superfície de mãos dos funcionários do restaurante universitário da Universidade Federal de Santa Maria-RS. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 100, p. 107-110, 2002.

LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F; BALDINI, S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 13, n. 1, p. 51-54, 2004.

LAREDO, G. Planta gosta de altas temperaturas e chega a 11 metros de altura. **Globo rural**, Rio de Janeiro, n. 213. 2003. Disponível em: <http://revistagloboruralrural.globo.com/GloboRural/htm>. Acesso em: 27 jan. 2012.

LEUNG, D.Y.M et al. Toxic shock syndrome toxin-secreting *Staphylococcus aureus* in Kawasaki syndrome. **Lacet**, v. 342, n. 8884, p. 1385-1385, 1993.

LEVY, C. E. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica – Módulo V. In: **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. 1.ed. ANVISA – Associação Nacional de Vigilância Sanitária. 2004.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. ,7a ed. Editora Artmed: Porto Alegre, 2005. 535 p.

LIMA, A.T.B.; SOUZA, V.A.B.; GOMES, R.L.F.; LIMA, P.S.C. Molecular characterization of cajá, *Spondias mombin* (Anacardiaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 4, p. 2893-2904, 2011.

LIMA, R. C.C.; CAVALCANTE, A.M.B.; PEREZ-MARIN, A.M. **Desertificação e mudanças climáticas no semiárido brasileiro**. INSA-PB: Campina Grande, 2011. 209 p.

LORENZI, H. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas**. Instituto Plantarium de Estudos da Flora Ltda: São Paulo, 2006. 357 p.

LUNA, J.S.; SANTOS, A.F.; LIMA, M.R.F.; OMENA, M.C.; MENDONÇA, F.A.C.; FIEBER, L.W.; SANTANA, A.E.G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, n.97, p.199-206, 2005.

MACFADIN, J.F.. **Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria**. Baltimore: Willians & Wilkins Company, 2000. 480 p.

MAHABUB-UZ-ZAMAN, M.; AHAMED, N.U.; AKTER, R.; AHMED, K.; AZIZ, M.S.I. AHAMED, M.S. Studies on anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of ethanol extract of *Azadirachta indica* leaves. **Bangladesh Journal Scientific and Industrial Research**, p. 199-206, 2009.

MAIA, E. L. **Comportamento vegetativo de três espécies florestais sob estresse hídrico, com adubação orgânica em solos da região Semi-árida nordestina**. CCA/UFPB: Areia, 2005. 53 p.

MALVEZZI, Roberto. **Semi-árido: Uma Visão Holística**. Brasília: Confea , 2007. 140 p.

MARTINEZ, S.S. **O nim: *Azadirachta indica* – natureza, usos múltiplos e produção**. Londrina: Instituto Agronômico do Paraná, 2002. 142 p.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Medicinais**. Viçosa : Editora da UFV:, 2000, 220 p.

MARTINS, L. T. Staphylococcus. In: TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 3a ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002. p. 149-156.

MARTINS, S.T.; MELO, B. **Spondias (cajá e outras)**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia. 2008. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/cajá.html>>. Acesso em: 1 mar. 2012.

MATOS FJ. Introdução à fitoquímica experimental. 2a.ed. Fortaleza: Edições UFC; 1997. 141p.

MBAYA, A.W.; IBRAHIM, U.I.; THANK GOD, O.; LADI, S. Toxicity and potential anti-trypanosomal activity of ethanolic extract of *Azadirachta indica* (Maliaceae) stem bark: An in vivo and in vitro approach using Trypanosoma brucei. **Journal Ethnopharmacol**, v. 128, n. 2, p. 18050-1862, 2010.

MIRANDA-CRUZ, E.; ESPINOSA-MORENO, J.; CENTURIÓN-HIDALGO, D.; VELÁZQUEZ-MARTÍNEZ, J.R.; ALOR-CHÁVEZ, M.J. Actividad antimicrobiana de extractos de *Psidium friedrichsthalianum* L., *Pterocarpus hayesii* L., *Tynanthus guatemalensis* L. y *Spondias purpurea* L. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 11, n. 4, p. 354 – 361, 2012.

MISHRA, R. N. Neem improvement research at arid forest research institute, Jodhpur. **The Indian Forester**, v. 121, n. 11, p. 997-1002, 1995.

MORAIS, V.M.; FREITAS, F.L.A.; ARRUDA, I.A.; AMORIM, J.D.C.; MARACAJÁ, P.B. Tecnologias de convivência com o Semi-árido, alternativas Viáveis para a agricultura familiar no oeste do Rio Grande do Norte. **Infotecnario**, v.3, n.1, p. 12-24, 2009.

MOURÃO, S.A. et. Seletividade de extratos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 5, p. 613-617, 2004.

MURRAY, P.R. **ROSENTHAL, K.S.; KOBAYASHI, G.S.; PFALLER, M.A. Microbiologia Médica**. 4a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004. 634 p.

NCCLS. 2003. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement M100-S11. NCCLS, Wayne, Pa.

NEVES, B. P.; NOGUEIRA, J. C. M. **Cultivo e utilização do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.)**. Goiânia: EMBRAPA/CNPAF, 1996. 32 p.

NEVES, B. P.; OLIVEIRA, I. P.; NOGUEIRA, J. C. M. **Cultivo e utilização do nim indiano**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2003. 12 p. (EMBRAPA Arroz e Feijão. Circular Técnica 62).

NEVES, P. B.; MEDEIROS, E. S.; SÁ, VALEZKA, V.; CAMBOIM, E. K..A. ; GARINO JR, F.; MOTA, R.A.; AZEVEDO, S. S. Cellular and microbiological profiles and risk factors for subclinical mastitis in goats in the semi-arid region of Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p.379-338, 2010.

NJOKU, P.C.; AKUMEFULA, M.I. Phytochemical and Nutrient Evaluation of Spondias Mombin Leaves. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 6, p. 13-615, 2007.

NUNES, G.P., SILVA, M.F., RESENDE, U.M., SIQUEIRA, J.M. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no Centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 2, p. 83-92, 2003.

NWACHUKWU, N.; IWEALA, E.J. Influence of extraction methods on the hepatotoxicity of *Azadirachta indica* bark extract on albino rats. **Global Journal Pure Appl. Sci.**, v. 15, p. 369-372, 2009.

NYCHAS, G.J.E Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4° C e 10° C. **Journal Applied Bacteriology**, v. 78, p. 593-600, 2004.

OLIVEIRA, F.C. et al. Avanços nas pesquisas etnobotânicas no Brasil. **Acta Botanica Brasileira**, v.23, n.2, p.590-605, 2009.

OLIVEIRA, R. B., GODOY, S. A. P., COSTA, F. B. **Plantas tóxicas: conhecimento e prevenção de acidentes**. Ribeirão Preto: Editora Holos, 2003. 64p.

OLIVINDO, C. de S.; CHAPAVAL, L.; VILLARROEL, A. B. S.; ALVES, F. S. F.; SOUSA, F. G. C. de; FERNANDES, F. E. P. Detecção de *Staphylococcus aureus* utilizando a técnica

de REP-PCR no monitoramento da qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 1317-1321, 2009.

PARIDA, M.M.; UPADHYAY, C.; PANDYA, G.; JANA, A.M. Inhibitory potential of neem (*Azadirachta indica* Juss) leaves on Dengues virus type-2 replication. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 2, p. 273-278, 2002.

PATIL, P.; GAIKWAD, R.D.; SAWANE, M.V.; WAGHMARE, V.S. Effect of neem oil on sperm mitochondrial activity. **Online Journal Health Allied Scientific**, v.8, n. 4, p. 1-2, 2009.

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. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.70, n.4, p.391-395, 2003

PEDROSA, K. Y. F.; BARRÊTO JUNIOR, R. A.; COSTA, E. S.; LEITE, A. I.; PAULA, V. V. Aspectos epidemiológicos e sanitários das criações de caprinos e ovinos na zona noroeste do Rio Grande do Norte. **Caatinga**, v.16, n.1, p.17-21, 2003.

PEREIRA, M S. V. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 572-577, 2007.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2004. 110 p.

PICCINI, C.; ANTÚNEZ, K.; ZUNINO, P. An approach to the characterization of the honey bee hive bacterial flora. **Journal of Apicultural Research**, v. 43, p. 101–104, 2004.

PICOLI, S. U. et al. Quantificacao de coliformes, *Staphylococcus aureus* e mesofilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo fresco de leite de cabra em laticínios. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 64-69, 2006.

PINHEIRO, R.R.; GOVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; HADDAD, J.P.A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n.5, 2000.

PINTO, A. C. Q. Seriguela, fruta exótica com crescente valor no mercado. **Informativo Sociedade Brasileira de Fruticultura**, v.16, p.23-24, 1997.

PITTED, D.; MOUROUGA, P.; PERNEGER, T. V. Compliance with handwashing in a teaching hospital. **Annals of Internals Medicine**, v. 130, p. 126-130, 1999.

PIZANA, C.G.; NECHA, L.L.B.; GOMEZ, Y.R. Evaluation of the fungicidal activity of leaves powders and extracts of fifteen Mexican plants against *Fusarium oxysporum* f.sp. gladioli (Massey) Snyder and hansen. **Plant Pathology Journal**. v.9, n 3, p. 103-111, 2010.

PONCIANO, R. J. F. **Avaliação da qualidade higiênica da produção de leite de pequenos Ruminantes e de queijo fresco da região do Rabaçal**. 2010. 112f. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

PRAKASH, A.O.; TIWARI, R.K.; MATHUR, R. Non-hormonal postictal contraceptive action of neem oil in rats. **Journal Ethnopharmacol**, p. 52-59, 1988.

RICARDO, L.G.P.S. Estudos etnobotânicos e prospecção fitoquímica das plantas medicinais utilizadas na comunidade do Horto, Juazeiro do Norte (CE). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 2011, 87 p.

RODRIGUES, A.G. Buscando raízes. **Horizontes Antropológicos**, v.7, n.16, p.131-144, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. Carotenóides e valor de vitamina A em cajá (*Spondias lutea*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 9, n. 2, p. 148-162, 1989.

ROSSLAND, E.; ANDERSEN BORGE, G. T.; LANGSRUD, A.; SORHAUG, T. Inhibition of *Bacillus cereus* by strains of *Lactobacillus* and *Lactococcus* in milk, **International Journal of Food Microbiology**, v. 89, p. 205-212, 2003.

ROY, A.; SARAF, S. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n.2, p. 191-201, 2006.

SACRAMENTO, C.K. do; SOUZA, F.X. **Cajá (*Spondias mombin L.*)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 42 p.

SAMPAIO, E.V.S.B., GIULIETTI, A.M., VIRGÍNIO, J. e GAMARA-ROJAS, C.F.L.. **Uso das plantas da Caatinga**. Recife: Editora Vegetação e Flora da Caatinga, 2002. 176 p.

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F. Microrganismos psicrotróficos em leite. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 88, p. 27-33, set. 2001.

SANTOS, L.L. **Staphylococcus coagulase negativo como agente de mamite em rebanhos bovinos leiteiros da região sul do Estado de Minas Gerais**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2008. 40 p.

SANTOS, R.I. Metabolismo Básico e Origem dos Metabólitos Secundários. In: C.M.O. SIMÕES, E.P. SCHENKEL, G. GOSMAN, J.C.P MELLO, L.A. MENTZ, P.R. PETROVICK (orgs). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2007. p. 403-434.

SANTOS, T. C.P.; PENAALFARO, C.; FIGUEIREDO, S.M. Aspectos sanitários e de manejo em criações de Caprinos e ovinos na microrregião de Patos, região Semi-árida da Paraíba. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, n. 2, p. 206 - 212, 2011.

SANTOS-SEREJO, J.A.; DANTAS, J.L.L.; SAMPAIO, C.V.; COELHO, Y.S. Fruticultura Tropical: espécies regionais e exóticas. **EMBRAPA**, Brasília, 2009, 25 p.

SEBRAE. **Perfil Setorial da Caprinocultura no Mundo, Brasil, Nordeste e Sergipe**, 2007. Disponível em: <http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf> Acesso em: 19 nov. 2012.

SILVA, A. Q., SILVA, H. Cajá, uma frutífera tropical. **Informativo SBF**, v. 14, n.4, 1995.

SILVA, L. C. C. da; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; D'OIDIO, L.; MATTOS, M. R. de; ARRUDA, A. M. C. T. de; PIRES, E. M. F. Rastreamento de fontes da contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano, **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 267-276, 2011.

SILVA, M.A. **Avaliação do potencial inseticida de *Azadirachta indica* (Meliaceae) visando ao controle de moscas-das-frutas (Diptera:Tephritidae)**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo, 2010. 159 p.

SILVA, R.M.A. **Entre o combate a seca e a convivência com o Semiárido: transições paradigmáticas e sustentabilidade para o desenvolvimento**. Tese de doutorado, UNB, Brasília, 2006. 298 p.

SILVA, V. P. **Das trilhas do gado ao território da cerâmica vermelha: (des) territorialidade em Carnaúba dos Dantas – RN**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Recife, 1999. 125 p.

SIMÕES, C.M.O. **Farmacognosia, da Planta ao Medicamento**. Santa Catarina: Editora da UFRGS, 2003. 920 p.

SITHISARN, P.; ROONGTAWAN, S.; GRITSANAPAN, W. Antioxidant activity of Siamese neem tree (VP129). **Journal Ethnopharmacology**, v. 91, n. 1, p. 109-112, 2005.

SOUSA, F. X. de; ARAÚJO, C.A.T. **Avaliação dos métodos de propagação de algumas *Spondias* agro-industriais**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical.. (Comunicado Técnico, 31), 1999. 8 p.

SOUZA, F.X. de; BLEICHER, E. Comportamento da Cajazeira enxertada sobre umbuzeiro em Pacajus,CE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 790-792, 2002.

SOUZA, F.X.de, SOUZA, F.H.L., FREITAS, J.B.S., ROSETTI, A.G. Aspectos morfológicos da unidade de dispersão de cajazeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n. 1, p. 215-220, 2000.

SUAREZ, C. A.G.; MONTANO, I.D.; CAVALCANTI, N.; ROMANO, E.; COSTA, I.M.R.C. GIORDANO, R.L.C.; GIORDANO, R.C. Assessment of the metabolismo of diferente strains of *Bacillus megaterium*. **Brasilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 4, p. 485-490, 2012

TABARELLI, M.; LEAL, I.; SILVA, J. M.. **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: UFPE, 2004. 800 p.

TAVOLARO, P.; OLIVEIRA, C.A.F.; LEFÈVRE, F. Avaliação do conhecimento em práticas de higiene: uma abordagem qualitativa. **Interface Comunicação, Saúde e Educação**, v.9, n.18, p.243-254, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3a ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 719 p.

TEKLEHAYMANOT, T.; GIDAY, M. Ethnobotanical study of medicinal plants used by people in Zegie Peninsula, Northwestern Ethiopia. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 3, n. 12, p. 1-11, 2007.

VIEIRA, L. S. **Epidemiologia e controle das principais endoparasitoses de caprinos e ovinos**. In: Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 28, João Pessoa, PB. Sociedade Brasileira de Zootecnia. Caprinocultura e Ovinocultura. 1991. p. 27-36.

VINOTHINI, G.; MANIKANDAN, P.; ANANDAN, R.; NAGINI, S. Chemoprevention of rat mammary carcinogenesis by *Azadirachta indica* leaf fractions: Modulation of hormone status, xenobiotic-metabolizing enzymes, oxidative stress, cell proliferation and apoptosis. **Food Chemical Toxicology**, v. 47, n. 8, p. 1852-1863, 2009.

VITTORI, J.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; POIATTI, M. L.; PIGATTO, C. P.; CHIODA, T. P.; RIBEIRO, C. A. M.; GARCIA, G. R.; RAGAZANI, A. V. F. Qualidade microbiológica de leite UHT caprino: pesquisa de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Clostridium*, **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 761-765, 2008.

WANDER, A.E.; MARTINS, E.C. Viabilidade econômica da caprinocultura leiteira. IV Semana de Caprinocultura e Ovinocultura Brasileira. Embrapa Caprinos. 2004.

WANNAN, B. S. Analysis of generic relationships in Anacardiaceae. **Blumea**, v. 51, p. 165–195, 2006.

WEBSTER, D.; TASCHEREAU P.; BELLAND, R.J.; SAND, C.; RENNIE, R.P. Antifungal activity of medicinal plant extracts preliminary screening studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 15, n. 1, p. 140-146, 2008.

ZEGARRA, J. J. Q.; BOTTEON, R. de C. C. M.; OLIVEIRA, B. C. R. da S.; BOTTEON, P. De T. L.; SOUZA, M. M. de. Pesquisa de microrganismos em utensílios, leite e queijos de produção artesanal em unidades de produção familiar no município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 312-321, 2009.

ANEXO 1 – TABELA DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES

| Número de Tubos Positivos | | | NMP/g ou ml | Intervalo Confiança (95%) | |
|---------------------------|-----|-----|-------------|---------------------------|----------|
| 10 | 1,0 | 0,1 | | Inferior | Superior |
| 0 | 0 | 0 | <3,0 | .- | 9,5 |
| 0 | 0 | 1 | 3,0 | 0,15 | 9,6 |
| 0 | 1 | 0 | 3,0 | 0,15 | 11 |
| 0 | 1 | 1 | 6,1 | 1,2 | 18 |
| 0 | 2 | 0 | 6,2 | 1,2 | 18 |
| 0 | 3 | 0 | 9,4 | 3,6 | 38 |
| 1 | 0 | 0 | 3,6 | 0,17 | 18 |
| 1 | 0 | 1 | 7,2 | 1,3 | 18 |
| 1 | 0 | 2 | 11 | 3,6 | 38 |
| 1 | 1 | 0 | 7,4 | 1,3 | 20 |
| 1 | 1 | 1 | 11 | 3,6 | 38 |
| 1 | 2 | 0 | 11 | 3,6 | 42 |
| 1 | 2 | 1 | 15 | 4,5 | 42 |
| 1 | 3 | 0 | 16 | 4,5 | 42 |
| 2 | 0 | 0 | 9,2 | 1,4 | 38 |
| 2 | 0 | 1 | 14 | 3,6 | 42 |
| 2 | 0 | 2 | 20 | 4,5 | 42 |
| 2 | 1 | 0 | 15 | 3,7 | 42 |
| 2 | 1 | 1 | 20 | 4,5 | 42 |
| 2 | 1 | 2 | 27 | 8,7 | 94 |
| 2 | 2 | 0 | 21 | 4,5 | 42 |
| 2 | 2 | 1 | 28 | 8,7 | 94 |
| 2 | 2 | 2 | 35 | 8,7 | 94 |
| 2 | 3 | 0 | 29 | 8,7 | 94 |
| 2 | 3 | 1 | 36 | 8,7 | 94 |
| 3 | 0 | 0 | 23 | 4,6 | 94 |
| 3 | 0 | 1 | 38 | 8,7 | 110 |
| 3 | 0 | 2 | 64 | 17 | 180 |
| 3 | 1 | 0 | 43 | 9 | 180 |
| 3 | 1 | 1 | 75 | 17 | 200 |
| 3 | 1 | 2 | 120 | 37 | 420 |
| 3 | 1 | 3 | 160 | 40 | 420 |
| 3 | 2 | 0 | 93 | 18 | 420 |
| 3 | 2 | 1 | 150 | 37 | 420 |
| 3 | 2 | 2 | 210 | 40 | 430 |
| 3 | 2 | 3 | 290 | 90 | 1000 |
| 3 | 3 | 0 | 240 | 42 | 1000 |
| 3 | 3 | 1 | 460 | 90 | 2000 |
| 3 | 3 | 2 | 1100 | 180 | 4100 |
| 3 | 3 | 3 | >1100 | 420 | .- |

Fonte: BRASIL (2003).

ANEXO 2 - QUESTIONÁRIOS SOCIOECONÔMICOS**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E SOCIEDADE****CARACTERÍSTICAS DOS ASSENTADOS**

1. Número do lote
2. Tempo que mora no assentamento
3. Idade
4. Composição familiar
5. Forma de renda
 agricultura criação p/ corte criação p/ leite
 artesanato aposentadoria
outro: _____
6. Grau de escolaridade
 Analfabetos Ensino fundamental incompleto Ensino fundamental completo
 Ensino médio incompleto Ensino médio completo Nível superior
7. Tipo de leite consumido na residência
 cabra vaca
8. Quantos litros/pessoa
9. Voce sabe como e realizado a higienização do leite que vai ser consumido?
 sim não
10. Tipo de higienização
 pasteurização fervura outros
11. Você conhece algum tipo de extrato utilizado para a ordenha como limpeza
 cajá nim Juca outros

12. Você já ingeriu algum leite que o teto foi higienizado com extrato

sim não

13. O gosto foi modificado

sim não

14. Você acha que o custo fica menor com a utilização de extrato

sim não não sabe

15. Você acha que o extrato é melhor do que o iodo

sim não não sabe

16. Você sabe se algum extrato causou problema para o teto da cabra

sim não não sabe

Qual_____?

PRODUTORES

17. Você realiza alguma higienização do teto da cabra antes da ordenha?

sim não

18. Como é realizada a higienização

água iodo água + sabão extrato

outro:_____

19. Quanto ao uso do iodo:

a) Onde e com que frequência compra?

ANEXO 3 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Esclarecimentos

Este é um convite para você participar da pesquisa “Aspectos sociais do potencial antimicrobiano de plantas do Semi-Árido Nordestino no assentamento de Independência – Mossoro – RN que é coordenada por Francisco Marlon Carneiro Feijó e que segue as recomendações da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares.

Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade.

Essa pesquisa procura contribuir com o conhecimento tecnológico e social da comunidade de Independência – Mossoró/RN. Caso decida aceitar o convite, você será submetido(a) ao(s) seguinte(s) procedimentos: serão realizados questionários com os noventa e oito assentados dos lotes do assentamento de Independência, Mossoró-RN. O questionário abrangerá questões sociais, como renda, escolaridade, tempo de permanência no assentamento, número do lote e idade. Além dessas questões, os demais questionamentos abrangerão o conhecimento dos assentados sobre antissépticos, ordenhas de caprinos, o uso de extratos vegetais nas ordenhas e a economia relacionada ao uso desses mesmos extratos.

Os riscos envolvidos com sua participação são: constrangimentos das pessoas, que serão minimizados através das seguintes providências: as pessoas que estiverem nessa condição serão excluídas da pesquisa.

Você terá os seguintes benefícios ao participar da pesquisa: contribuir com o conhecimento tecnológico e social da comunidade de Independência - Mossoró/RN.

Todas as informações obtidas serão sigilosas e seu nome não será identificado em nenhum momento. Os dados serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários.

Se você tiver algum gasto que seja devido à sua participação na pesquisa, você será ressarcido, caso solicite.

Em qualquer momento, se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito a indenização.

Você ficará com uma cópia deste Termo e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para Francisco Marlon Carneiro Feijó, no endereço BR 110 Km 47 CP 137 ou pelo telefone (84) 3317-6286 ou (84) 88641017.

Dúvidas a respeito da ética dessa pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da UERN no endereço Rua Miguel Antônio da Silva Neto, S/N, Aeroporto. 3º Pavimento da Faculdade de Ciências da Saúde. CEP 59607 360, Mossoró-RN, ou pelo telefone (84) 3318-2596.

Consentimento Livre e Esclarecido

Estamos de acordo com a participação no estudo descrito acima. Fomos devidamente esclarecidos quanto aos objetivos da pesquisa, aos procedimentos aos quais seremos submetidos e dos possíveis riscos que possam advir de tal participação. Foram-nos garantidos esclarecimentos que venhamos a solicitar durante o curso da pesquisa e o direito de desistir da participação em qualquer momento, sem que nossa desistência implique em qualquer prejuízo a nossa pessoa ou de nossa família. A nossa participação na pesquisa não implicará em custos ou prejuízos adicionais, sejam esses custos ou prejuízos de caráter econômico, social, psicológico ou moral. Autorizamos assim a publicação dos dados da pesquisa a qual nos garante o anonimato e o sigilo dos dados referentes a nossa identificação.

Participante da pesquisa ou responsável legal:

Assinatura



Impressão datiloscópica

Pesquisador responsável:

Francisco Marlon Carneiro Feijó

Endereço Profissional: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
BR 110 Km 47 CP 137

Comitê de Ética e Pesquisa. Rua Miguel Antônio da Silva Neto, S/N, Aeroporto.
3º Pavimento da Faculdade de Ciências da Saúde. CEP 59607 360, Mossoró-RN. Telefone: (84) 3318-2596.

Mossoró, ___/_____/2012

ANEXO 4 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UFRSA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Parecer de Projeto Encaminhado A CEUA-UFERSA

Parecer N° 40/2011/ Processo N° 23091.002285/2011-16

Data de Entrada: 08/06/2011

Aprovado em reunião: 22/11/2011

1. Pessoal Responsável: Francisco Marlon Carneiro Feijó

*2. Título do Projeto: “Potencial Antimicrobiano das plantas *Spondias purpurea* L. *Azadirachta indica* A. e *Espondias monbin* L. utilizadas como antissépticos naturais e conhecimento sobre as condições higiênico sanitárias das propriedades de cabras leiteiras”*

*3. Objetivo: Avaliar o potencial inibitório dos extratos das plantas acima discriminadas contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, e promover o melhoramento das condições higiênico sanitárias das propriedades de animais com mastite.*

4. Considerações:

O referido projeto está de acordo com as especificações da Comissão de Ética no Uso Animal da UFERSA - CEUA. Os pesquisadores têm experiência nesta linha de pesquisa. O protocolo experimental está bem discriminado e coerente. O formulário está devidamente preenchido. O numero experimental de animais está coerente. Os animais não serão submetidos a qualquer tipo de maus tratos desnecessários durante o experimento. Todo o procedimento de manipulação dos animais será realizado com acompanhamento técnico especializado e com o uso de material adequado.

5. Parecer final:

FAVORÁVEL à aprovação do projeto.

Mossoró, 22 de dezembro de 2011,


Carlos Campos Câmara
Presidente- CEUA

Carlos Campos Câmara
Méd. Veterinário
CRMV-CE 1328
CRMV-RN 0358

ANEXO 5 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DA UERN

UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO RIO GRANDE DO NORTE -
UERN



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Aspectos sociais do potencial antimicrobiano de plantas do Semi-Árido Nordestino no assentamento Independência - RN

Pesquisador: Francisco Marlon Cameiro Feijo

Área Temática: Área 3. Fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações.

Versão: 3

CAAE: 03097312.7.0000.5294

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO - UFERSA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 146.259

Data da Relatoria: 06/11/2012

Apresentação do Projeto:

A pesquisa tem por objetivo avaliar os aspectos sociais relacionados ao uso extrato de cajá como antisséptico natural para a ordenha de cabra. Não foram descritos objetivos específicos. A pesquisa será desenvolvida de 08/12 a 12/12, sendo o recrutamento dos sujeitos previsto para 08/12. A pesquisa será realizada no Assentamento Independência. Serão convidados a realizar a entrevista 98 proprietários de lotes da comunidade Independência, com idade igual ou superior a 18 anos, do sexo feminino ou masculino. Durante as visitas as casas dos proprietários será aplicado questionário como forma de conhecimento sobre as condições higiênicas sanitários dos animais, tratadores de animais e instalações, como também as características socioambientais e a aceitabilidade de uso do cajá como antisséptico natural para a ordenha de cabras. Serão excluídos da pesquisa pessoas menores de 18 anos, que apresentem incapacidades e deficiências que prejudiquem a autonomia das mesmas, ou se recusem a participar. A análise dos questionários será realizada por meio do teste de associação pelo qui-quadrado, com um nível de significância de 5% quanto as perguntas fechadas e uma estatística descritiva enquanto perguntas abertas. Os riscos poderão ser constrangimento dos entrevistados e as pessoas que sintam nessa condição serão convidados a não participarem do processo de entrevistas. Os benefícios de acordo com os pesquisadores para os assentados será que eles passarão por um processo de conhecimento da capacidade de antisséptico de plantas naturais, onde este apresenta um menor custo para a

Endereço: Rua Almino Afonso n°. 478

Bairro: Centro

CEP: 59.607-360

UF: RN

Município:

Telefone: (843)315--2145

Fax: (843)315--2108

E-mail: cep@uern.br; reitoria@uern.br

UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO RIO GRANDE DO NORTE -
UERN



produção do leite, bem como a agregação do valor cultural que será repassado entre as gerações. Foram garantidos indenização e ressarcimento. O orçamento apresentado é de responsabilidade dos pesquisadores.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar os aspectos sociais relacionados ao uso extrato de cajá como antisséptico natural para a ordenha de cabra.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos poderão ser o do constrangimento dos entrevistados e as pessoas que sintam nessa condição serão convidados a não participarem do processo de entrevistas.

Benefícios:

Os assentados passarão por um processo de conhecimento da capacidade de antisséptico de plantas naturais, onde este apresentam um menor custo para a produção do leite, bem como a agregação do valor cultural que será repassado entre as gerações.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados todos os documentos necessários à avaliação ética.

Recomendações:

Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram sanadas e o protocolo de pesquisa encontra-se em conformidade com as exigências éticas e foi considerado aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Almino Afonso n°. 478

Bairro: Centro

CEP: 59.607-360

UF: RN

Município:

Telefone: (843)315--2145

Fax: (843)315--2108

E-mail: cep@uern.br; reitoria@uern.br



O uso da planta *Spondias mombin* L. como uma tecnologia alternativa para o desenvolvimento da caprinocultura.

Anna Jacinta Dantas de Medeiros¹, Francisco Marlon Carneiro Feijó², Ingrid Anajja Galvão Nogueira³, Genevile Carife Bergamo⁴, Cristiane Ribeiro Lucas⁵, Williane da Silva Freitas⁶

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade – UFERSA. Professora do IFRN. email: anna.medeiros@ifrn.edu.br

²Doutor em Ciências Biológicas – UFPE. Professor da UFERSA. email: marlon@ufersa.edu.br

³Graduanda em Medicina Veterinária – UFERSA. email: ingrid.anajja@gmail.com

⁴Doutor em Estatística e Experimentação Agronômica – USP. Professor da UFERSA. email: gbergamo@ufersa.edu.br

⁵Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade – UFERSA. email:cristianeribeir Lucas@gmail.com

⁶Graduando em Química – IFRN. email: williane-freitas@hotmail.com

Resumo: Esse trabalho tem como objetivo avaliar a ação antimicrobiana do extrato das folhas *Spondias mombin* L (cajá) como antisséptico em caprinos e assim contribuir para a prevenção e controle de enfermidades como a mastite na caprinocultura. Para tanto, no desenvolvimento da metodologia, foram utilizadas 9 cabras leiteiras que receberam como tratamento o extrato de cajá a 3%, iodo a 2% e água estéril durante 28 dias consecutivos, com coletas de leite e suaves das tetas direita e esquerda nos dias 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28. Realizou-se contagem de mesófilas em placas e contagem de coliformes totais e termotolerantes. Nos resultados obtidos, obteve-se as seguintes médias, em UFC, para a contagem de mesófilas: cajá 3% = 2170,17, iodo 2% = 5005,33 e água = 31704,29. A análise de variância demonstrou existir diferença significativa ($p = 0,0147$) entre os produtos analisados. Na comparação das médias, o cajá e o iodo não apresentaram diferença e ambos diferiram da água. Para a análise dos coliformes totais, embora o número de coliformes seja maior para os animais que receberam a água como tratamento, não houve diferença entre os produtos ($p = 0,1280$), os quais apresentaram as seguintes médias em UFC/100 ml: cajá 3% = 5,03 NPM, iodo 2% = 2,84 NPM e água = 11,70 NPM. Quanto aos coliformes termotolerantes, foram identificados apenas nos animais que receberam água como antisséptico, respectivamente, cabra 1 da Água (7,4 NPM /Col. 8), cabra 2 da Água (3,6 NPM /Col. 8) e Cabra 3 da Água (3 NPM/Col. 2, 3,6 NPM/Col. 6 e 15 NPM/Col. 8). Conclui-se que o extrato do cajá apresentou potencial antimicrobiano e os resultados da análise sugere a possível aplicação do extrato na prevenção e tratamento de infecções em glândula mamária de caprinos com aptidão leiteira.

Palavras-chave: atividade antibacteriana, caprinocultura, *Spondias mombin* L.

1. INTRODUÇÃO

A caprinocultura no Nordeste do Brasil tem representando uma parcela de subsistência para o homem do campo. Assim, a tentativa de minimizar o custo com profilaxia vem se expandindo, por exemplo, com o emprego de plantas medicinais que vêm tendo sua eficácia comprovada por meio de experimentos científicos. Dentre essas plantas, encontra-se a *Spondias mombin* L., popularmente conhecida como cajazeira, cajazeira-miúda, taperebá ou cajá-mirim (PINTO, 1997).

A cajazeira é uma árvore frondosa, com copa ampla e imponente na fase de floração e frutificação. Pode chegar a 25 m de altura, tendo em folhas caducas, tronco revestido por casca

ISBN 978-85-62830-10-5

VII CONNEPI©2012



grossa e rugosa que esgalha e ramificana parte terminal, o que confere o porte alto a planta. (SOUZA e BLEICHER, 2002). O fruto da cajazeira, o cajá, apresenta um crescente valor de mercado principalmente no Norte e Nordeste Brasileiro, devido a sua comercialização como polpa ou em forma de geleias e sorvetes ou *in natura* (MARTINS e MELO, 2008). Essa planta pode ser encontrada na África, Ásia e América (AYOKA et al., 2006).

No Brasil, as cajazeiras encontram-se amplamente disseminadas no Norte e Nordeste, apresentando-se agrupadas ou isoladas, principalmente nas regiões da Mata Atlântica e da Amazônia, aparecendo na Caatinga de forma espontânea em condições silvestres, competindo com outras espécies vegetais e em quintais e sítios (BOSCO et al., 2000).

Perante a existência da cajazeira no Semiárido brasileiro e a crescente necessidade da adoção de novas tecnologias alternativas para o desenvolvimento dessa região, esse trabalho descreve a avaliação *in vivo* da ação antimicrobiana dos extratos das folhas da *Spondias mombin* L. sobre caprinos de aptidão leiteira. Dessa forma, contribuindo para a prevenção e tratamento de enfermidades relacionadas a caprinocultura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos animais e aplicação dos extratos nas tetas

Seguindo o princípio da causalidade, foi feito um sorteio entre 09 cabras leiteiras em estado hígido, para decidir qual o tratamento que cada uma receberia como avaliação. Em cada 3 animais, respectivamente, aplicou-se extrato de cajá a 3%, iodo a 2% e água destilada estéril durante 28 dias consecutivos. Os extratos foram aplicados em ambas as tetas, após a ordenha, com a imersão das tetas em canecas apropriadas.

Obtenção e contagem das bactérias durante aplicação dos extratos

Antes de cada ordenha, nos dias 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28, foram colhidas amostras de suabes e leite do teto direito e teto esquerdo das cabras e enviadas ao laboratório de Microbiologia Veterinária da UFERSA, em caixa isotérmica sob refrigeração, para a contagem em placa, das bactérias mesófilas, e número mais provável para coliformes totais e termotolerantes. Inicialmente os suabes foram lavados em água (2 mL) e o material foi submetido às diluições: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Posteriormente, 1 mL de cada diluição foi semeado em Agar "Plate Count" 37°C/24h para contagem de mesófilas. Para a contagem de coliformes totais e termotolerantes, foi utilizado o teste do NMP, em que inicialmente 10 ml da amostra de leite foi adicionada a uma série de três tubos de 10 ml do caldo Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LSS) contendo tubo de Durham invertido. Adicionou-se também 1 ml da mesma amostra de leite a



outra série de três tubos de 9 ml do caldo LSS contendo tubo de Durham invertido. O mesmo procedimento foi realizado, acrescentando-se 0,1 ml de leite em 9 ml do caldo LSS. Após esse procedimento, o material foi homogeneizado e incubou-se os tubos de ensaio em banho-maria a 37°C/24 a 48 horas. Transcorrido este tempo foi observada a produção de gás nos tubos de fermentação (tubo de Durham), anotando-se o número de tubos positivos.

Em seguida, os materiais dos tubos de LSS com produção de gás foi transferido com o auxílio de uma alça para tubos de Caldo Verde Brilhante (VB). Incubou-se a 37°C /24 a 48 horas e observou-se o crescimento com produção de gás. Anotou o número de tubos de VB com formação de gás.

A etapa seguinte foi a transferência, com o auxílio da alça de platina, de amostras bacterianas dos tubos de VB com produção de gás para o EC. Os tubos foram incubados a 44,5°C por 24 a 48 horas. Foi anotado o número de tubos de EC com gás e determinado o Número Mais Provável (NMP) em uma tabela adequada as diluições utilizadas.

Amostras positivas no EC foram ser semeadas em triptona, incubadas a 45 °C/24 a 48 horas. Nesses tubos foi colocado o reativo de reagente de Kovacs. A formação de um anel vermelho indicaria um resultado positivo para a quantificação de *Escherichia coli*.

Análise estatística

Usou-se um delineamento inteiramente ao acaso com três tratamentos e com três repetições. Para comparação das médias, utilizou-se o teste de Student Newman Keuls (SNK) com emprego do programa R.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, a análise de variância, do logaritmo do número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), demonstrou existir diferença significativa ($p = 0,0147$), ao nível de 5%, entre os produtos analisados. Na comparação das médias, o cajá e o iodo não apresentaram diferença e ambos diferem da água, a qual possui um número maior de UFC. Observa-se também que as médias, em UFC, para a contagem de mesófilas foram as seguintes: cajá 3% = 2170,17, iodo 2% = 5005,33 e água = 31704,29 (Tabela 1).

Esses dados estão de acordo com Brito (2010) que identificou na espécie *Spondias mombin* L o terpeno β -cariofileno e que sugere ensaios para testar possíveis inibições antibacterianas, uma vez que as pesquisas relacionadas a ação do cajá são escassas, existindo questionamentos a serem respondidos.

Ainda sobre a cajazeira, Jain et al. (2005) insere que o chá de suas folhas vem sendo utilizado há bastante tempo, por suas propriedades anti-viróticas. Isolados das folhas e talos



desta espécie demonstraram atividade pronunciada contra os vírus Herpes simples tipo 1 e Coxsackie B2, e atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* e *Mycobacterium fortuitum*.

Tabela 1 – Médias do número de Unidade Formadora de Colônias (UFC) e de Coliformes Totais (CT) de acordo com os produtos (Iodo 2%, Cajá 3% e Água destilada)

| Produto | UFC | CT |
|----------------|-----------------------|--------------------|
| Iodo 2 % | 5005,33 ^b | 5,03 ^a |
| Cajá 3 % | 2170,17 ^b | 2,84 ^a |
| Água destilada | 31704,29 ^a | 11,70 ^a |

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Student Newman Keuls, ao nível de 5% de significância.

Ainda na Tabela 1, quanto a contagem do número de coliformes totais (VB), não houve diferença entre os produtos ($p = 0,1280$), embora o número de coliformes seja maior para os animais que receberam a água como tratamento. Obtiveram-se as seguintes médias em UFC por tratamento: Cajá 3% = 5,03 NPM, Iodo 2% = 2,84 NPM e Água = 11,70 NPM.

Quanto aos coliformes termotolerantes (Tabela 2), esses foram identificados apenas nos animais que receberam água como antisséptico, respectivamente, cabra 1 da Água (7,4 NPM /Col. 8), cabra 2 da Água (3,6 NPM /Col. 8) e Cabra 2 da Água (3 NPM/Col. 2, 3,6 NPM/Col. 6 e 15 NPM/Col. 8), verificando que o extrato de cajá provavelmente diminuiu os índices de coliformes.

Tabela 2 – Determinação dos Coliformes Termotolerantes em cabras que receberam como tratamento a água.

| TRATAMENTO | CABRAS | COLIFORMES TERMOTOLERANTES AO LONGO DAS COLETAS (NMP/mL) | | | | | | | |
|------------|--------|--|---|---|---|---|-----|---|-----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Água | 1 | - | - | - | - | - | - | - | 7,4 |
| | 2 | - | - | - | - | - | - | - | 3,6 |
| | 3 | - | 3 | - | - | - | 3,6 | - | 15 |

NMP/mL – número mais provável/mililitro

Paralelamente a esse trabalho, Gottardi et al. (2008), identificou coliformes totais em sete das oito propriedades estudadas, sendo que as contagens variaram entre zero e $1,4 \times 10^6$ UFC mL⁻¹. Cinco propriedades (2, 4, 5, 6 e 8) apresentaram coliformes totais nas duas coletas.



Em duas propriedades (1 e 3), na segunda coleta, e, em uma propriedade (7), nas duas coletas, não foram encontrados coliformes totais. Coliformes fecais foram encontrados nas propriedades 2 e 8 ($3,4 \times 10^4$ UFC mL⁻¹ e $4,1 \times 10^4$ UFC mL⁻¹, respectivamente), na segunda coleta, provavelmente devido a higienização da água potável.

Euthier (1998), avaliando a qualidade dos queijos de leite de cabra, encontrou valores para os coliformes totais de $2,4 \times 10^6$ a $2,4 \times 10^9$ NMP/g, tendo os coliformes fecais apresentado variações de $2,4 \times 10^2$ a $2,4 \times 10^6$ NMP/g.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que o extrato do cajá apresentou potencial antimicrobiano sobre as cepas originadas das glândulas mamária de caprinos com aptidão leiteira.

Sugerem-se estudos complementares para confirmação da eficácia do extrato de cajá e sua utilização na a prevenção e tratamento das doenças relacionadas à caprinocultura.

5. REFERÊNCIAS

- AYOKA A. O.; AKOMOLAFE R. O.; IWALEWA E. O.; AKANMU M. A.; UKPONMWAN O. E. Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.103, p.166 – 175, 2006.
- BOSCO, J.; SOARES, K.T.; AGUIAR FILHO, S.P.; BARROS, R.V. A cultura da cajazeira. João Pessoa: EMEPA, 2000. 29 p. (Documentos, 28).
- BRITO, H. R. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Spondias mombin* L., *Spondias purpurea* L. e *Spondias sp* (cajarana do sertão).2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Campina Grande.
- EUTHIER, S.M.F.; TRIGUEIRO, L.N.S.; RIVERA, F. Condições higiênic-sanitárias do queijo de leite de cabra “tipo coalho”, artesanal elaborado no Curimatá paraibano. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 2, p. 162-164, 1998.
- GOTTARDI, C. P. T.; MURICY, R. F.; CARDOSO, M.; SCHMIDT, V. Qualidade higiênica de leite caprino por contagem de coliformes e estafilococos. *Ciência Rural*, v.38, n.3, p. 743 – 748, 2008.
- JAIN, S.C. et al. Synthesis of novel non-isoprenoid phenolic acids and 3-alkylpyridines. *Pure Applied Chemistry*, v. 77, p. 185–193, 2005.
- MARTINS, S.T.; MELO, B. *Spondias* (cajá e outras). Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, MG. Disponível em: <http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/cajá.html> acessado em: 01/03/20012.
- PINTO, A. C. Q. Seriguela, fruta exótica com crescente valor no mercado. *Informativo Sociedade Brasileira de Fruticultura*, v.16, p.23-24, 1997.



Avaliação da atividade antimicrobiana das plantas *Spondias purpurea* L., *Spondias mombin* L., e *Azadirachta indica* A. sobre cepas isoladas de caprinos com aptidão leiteira

Anna Jacinta Dantas de Medeiros¹, Francisco Marlon Carneiro Feijo², Caio Sérgio Santos³, Frederico Silva The Pontes⁴, Cristiane Ribeiro Lucas⁵, Dayan Deceseri de Moura Bezerra de Melo⁶

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade – UFERSA. Professora do IFRN. email: anna.medeiros@ifrn.edu.br

²Doutor em Ciências Biológicas – UFPE. Professor da UFERSA. email: marlon@ufersa.edu.br

³Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade – UFERSA. email: caio Sergio14@hotmail.com

⁴Doutor em Economia Aplicada – UFV. Professor da UFERSA. email: Frederico@ufersa.edu.br

⁵Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade – UFERSA. email: cristianeribolucas@gmail.com

⁶Graduando em Química – IFRN. email: dayan_decreseri@hotmail.com

Resumo: Pretendeu-se com esse trabalho pesquisar a ação antimicrobiana *in vitro* dos extratos das folhas de *Spondias purpurea* L. (ciriguela), *Spondias mombin* L. (cajá) e *Azadirachta indica* A. (nim) sobre cepas bacterianas isoladas de caprinos. A metodologia consistiu em preparar extratos a 1%, 2% e 3% de p/v das referidas plantas e em seguida, realizar o teste de sensibilidade aos extratos por difusão em ágar baseados na metodologia do Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão, tendo como controle positivo o iodo e o controle negativo a água destilada estéril. De acordo com os resultados obtidos, a microbiota bacteriana encontrada nas coletas foi a seguinte: *Bacillus megaterium*, *Bacillus sp.*, *Corynebacterias*, *Enterobacter sp.*, *Cellulomonas sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.* e *Staphylococcus coagulase* negativa. A espécie mais comumente identificada foi *S. coagulase* negativa, a qual é um dos principais causadores da mastite. Dentre os extratos estudados, o cajá apresentou atividade, formando halo de inibição sobre todas as amostras bacterianas e apresentando melhor ação sobre a *S. coagulase* negativa (15, 18 e 20 mm), *S. aureus* (14, 15 e 20 mm) e *Streptococcus sp.* (18, 19 e 20 mm) respectivamente a 1%, 2% e 3% ($p < 0.05$). Esses dados reafirmam a ação antimicrobiana do cajá. Quanto a ação dos extratos das folhas Nim e Ciriguela, houve ausência de inibição dos mesmos sobre as cepas bacterianas. Conclui-se que a bactéria encontrada em maior quantidade nas amostras foi o *S. coagulase* negativa e que o extrato de cajá apresentou atividade inibitória, principalmente sobre o *S. coagulase* negativa, *S. aureus* e o *Streptococcus sp.*

Palavras-chave: atividade antibacteriana, *Azadirachta indica* A., caprinocultura, *Spondias mombin* L., *Spondias purpurea* L.

1. INTRODUÇÃO

Cada vez mais as plantas estão sendo pesquisadas cada vez mais no intuito de avaliar suas atividades farmacológicas, como por exemplo, para a obtenção de novas substâncias antimicrobianas, devido ao surgimento de cepas resistentes aos diversos tipos de antimicrobianos. Paralelamente ao conhecimento científico, a história nos mostra que ao longo dos anos, as plantas foram os primeiros recursos terapêuticos utilizados.

Entre as aplicabilidades das plantas, está o seu uso na caprinocultura como antisséptico, uma vez que essa atividade é severamente afetada por inúmeros fatores, entre eles, a alta incidência de problemas de origem sanitários, o que interfere de sobremaneira na produtividade



do rebanho, ocasionando sérios prejuízos aos produtores, chegando a inviabilizar essa atividade pecuária. (ALENCAR et al., 2010).

Como exemplos de plantas encontradas no Semiárido brasileiro, temos o nim, a cajazeira e a ciriguela. De acordo com Neves et al., (2003), o nim é uma árvore indiana muito usada no controle biológico de pragas que apresenta ação anti-séptica, antimicrobiana, sobre os distúrbios urinários, diarreias e doenças do couro cabeludo. Já o extrato das suas folhas e casca da ciriguela é utilizado como antipirético e antidiarreico, além do tratamento de infecções na gengiva, erupções cutâneas e sarampo (BRITO, 2010). Quanto a cajazeira, Jain et al. (2005) insere que o chá de suas folhas vem sendo utilizado há bastante tempo, por suas propriedades anti-virótica. Isolados das folhas e talos desta espécie demonstraram atividade pronunciada contra os vírus Herpes simples tipo 1 e Cocksackie B2, e atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* e *Mycobacterium fortuitum*.

Diante desse quadro, pretende-se com esse trabalho pesquisar a ação dos extratos das folhas de *Spondias purpurea* L. (ciriguela), *Spondias mombin* L. (cajá) e *Azadirachta indica* A. (nim) na prevenção e no controle de enfermidades transmissíveis em saúde e produção animal, especificadamente na caprinocultura, e assim contribuir para a otimização das condições higiênicas sanitárias das propriedades rurais em estudo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Preparo do material vegetal e extratos

As folhas das plantas *Spondias purpurea* L., *Spondias mombin* L. e *Azadirachta indica* A. foram coletadas, às 05 horas da manhã, no município de Mossoró, Rio Grande do Norte no Centro Zoobotânico no Campus Central da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA. Em seguida, foram levadas a estufa para secagem a uma temperatura de 60°C por 72 horas. As amostras vegetais secas foram trituradas em liquidificador industrial. Posteriormente, foram pesadas e acondicionadas em garrafas de vidro cor âmbar, misturadas a uma solução hidroetanólica a 70% suficiente para cobrir a amostra vegetal por um período de 72 horas. Para cada planta foram realizadas três extrações. As extrações iniciaram com uma filtração à vácuo, seguida por uma filtração simples e por último o extrato foi colocado no Rotaevaporador de Marca Fisatom, Modelo 802, rotação média de 90 rpm, com o banho-maria a uma temperatura de 60 +/- 5°C, para a eliminação do álcool. A parte líquida restante foi evaporada em banho-maria, em uma temperatura média de 45° C. O extrato resultante foi estocado em recipientes adequados e em ambiente refrigerado com uma temperatura compreendida entre 0 a 8°C, até seu uso.

Posteriormente os extratos foram produzidos nas seguintes concentrações: 1%, 2% e 3% de p/v, utilizando-se como referência MacFaddin (2000) para os cálculos de elaboração dos extratos nas concentrações em porcentagem de peso/volume ou grama/100mL. A fórmula utilizada:

$$\text{Gramas de soluto} = \frac{\%(\text{p/v}) \times \text{volume}}{100\text{mL}}$$



, onde:

Gramas de soluto = peso do extrato seco,

%(p/v) = valor da concentração pré-estabelecida

volume = quantidade em mL do solvente necessária para dissolver o soluto a determinada concentração.

Obtenção das amostras microbianas

As amostras microbianas foram coletadas de tetas e leite caprinos, no assentamento Independência que situa-se a 12 km de Mossoró-RN, na BR 403. As cepas foram semeadas em Ágar Sangue desfibrinado de carneiro a 5%, e em Ágar MacConkey. Após 24 horas foram semeadas em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), com auxílio de alça de platina, e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C durante, no mínimo, 24 horas. Em seguida, foram identificadas por meio de citologia e provas bioquímicas.

Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos

Para a determinação da atividade antibacteriana "in vitro" dos extratos vegetais, o inóculo padrão para teste de difusão em Ágar foi obtido cultivando esses microorganismos em BHI até a fase log (crescimento exponencial), durante 18-24 horas.

A metodologia do teste de sensibilidade aos extratos por difusão em ágar foi baseada na metodologia do Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão descrito pelo NCCLS (2003), adaptado de acordo com Carvalho et al. (2010).

Inicialmente, placas com ágar Muller-Hinton foram preparadas com volumes de 20 mL de Ágar por placa. Após 24 horas, foram preparados, assepticamente, com aparelho perfurante, cinco poços de diâmetro de 2 mm no ágar em cada placa. O ágar retirado dos poços foi descartado e os fundos dos poços foram cobertos com uma camada fina de Ágar Muller-Hinton ainda líquido.

Feito os poços, foi mergulhado um suabe de algodão estéril na suspensão do inóculo o qual foi girado várias vezes, apertando-o firmemente contra a parede interna do tubo, acima do nível do líquido, de forma a retirar qualquer excesso de inóculo no suabe. Na placa de ágar Müller-Hinton foi inoculado o microorganismo esfregando o suabe em toda a superfície estéril do ágar de forma a assegurar a distribuição uniforme do inóculo.

Em seguida, em cada placa, foram colocados 50 µL de Iodo, água destilada estéril, extrato de cajá, extrato de ciriguela e extrato de nim, distribuídos nos cinco poços. O Iodo foi usado como controle positivo e a água destilada estéril como controle negativo. Cada microorganismo foi testado em duplicata para as concentrações de 1%, 2% e 3%. Após 24h, foram medidos os halos de inibição produzidos em volta do poço.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação às bactérias isoladas nos tetos e leite caprino, foram encontrados os seguintes microorganismos: *Staphylococcus* coagulase negativa, *Cellulomonas* sp., *Bacillus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium* sp., bactérias do grupo das corineformes, *Streptococcus* sp, *Enterobacter* sp e o *Bacillus megaterium* (Tabela 01). Sendo o *Staphylococcus* coagulase negativa encontrado em maior quantidade, 39 (47,56%) das cepas.



Tabela 01 – Determinação do número e porcentagem de bactérias isoladas de tetos e leite caprino.

| BACTÉRIAS | QUANTIDADE | % |
|--|------------|------------|
| <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> | 39 | 47,56 |
| <i>Cellulomonas sp.</i> | 16 | 19,51 |
| <i>Bacillus sp.</i> | 10 | 12,20 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 9,76 |
| <i>Streptococcus sp.</i> | 2 | 2,44 |
| <i>Enterobacter sp.</i> | 2 | 2,44 |
| <i>Corynebacterium sp.</i> | 2 | 2,44 |
| Corineformes | 2 | 2,44 |
| <i>Bacillus megaterium</i> | 1 | 1,22 |
| TOTAL | 82 | 100 |

Esses dados são justificados pelos resultados de Correa et al. (2010) que isolou 37 (27,2%) amostras de *Staphylococcus coagulase negativa*, o principal agente da mastite subclínica, tanto no Brasil, como em outros países e ainda de acordo com Prestes et al. (2002), os patógenos de maior importância no desenvolvimento da mastite são os *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactia* e *Escherichia coli*.

Quanto aos resultados do teste de difusão em ágar para os extratos das folhas de *Spondias purpurea* L. (ciriguela), *Spondias mombin* L. (caja) e *Azadirachta indica* A. (nim), iodo a 1% - controles positivo -, água destilada estéril - controle negativo, estão apresentados na Tabela 02. Os dados demonstram a ausência de inibição por parte dos extratos de nim e ciriguela nas concentrações usadas (1%, 2% e 3%).

Tabela 02 – Diâmetro dos halos de inibição dos extratos das folhas de Nim, Cajazeira e Ciriguela nas concentrações de 1, 2 e 3% frente as bactérias isoladas em caprinos.

| BACTÉRIA | NIM (%) | | | CAJAZEIRA (%) | | | CIRIGUELA (%) | | | IODO A 1% | ÁGUA DESTILADA |
|--|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | | |
| <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 15 ^b | 18 ^b | 20 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 45 ^c | 0 ^a |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 14 ^b | 15 ^b | 20 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 50 ^c | 0 ^a |
| <i>Bacillus sp</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 6 ^b | 8 ^b | 12 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 45 ^c | 0 ^a |
| <i>Cellulomonas sp.</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 13 ^b | 15 ^b | 18 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 50 ^c | 0 ^a |
| <i>Enterobacter sp</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 5 ^b | 7 ^b | 9 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 50 ^c | 0 ^a |
| <i>Corynebacterium sp</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 8 ^b | 9 ^b | 11 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 55 ^c | 0 ^a |
| <i>Streptococcus sp</i> | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 18 ^b | 19 ^b | 20 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 54 ^c | 0 ^a |

Letras diferentes comparam o efeito dos extratos sobre diferentes tipos de bactérias e representa significância estatística pelo Teste do Qui-quadrado para $p = 0,05$.

Os resultados obtidos quanto ao teste de sensibilidade, utilizando-se dos extratos de nim, discordam daqueles encontrados por Pereira et al. (2009), onde os extratos etanólicos de *Azadirachta indica* A. Juss na concentração de 1/1 foi efetivo contra *Staphylococcus sp.* e também discordando do trabalho realizado por Alves et al. (2009), no qual os extratos hidroalcoólicos de folhas de nim a 70% e 80% (v/v) de etanol 96% apresentaram atividade contra *Staphylococcus aureus*.



Quanto a ciriguela, Brito (2010) detectou o α -humuleno, o qual apresenta importante ação antimicrobiana. Os resultados deste trabalho discordam de Brito (2010) quanto à ausência de inibição antimicrobiana dos extratos etanólicos de ciriguela a 1, 2 e 3%.

Os extratos da cajazeira demonstraram inibição nas concentrações utilizadas (1%, 2% e 3%) diante todos os tipos bacterianos testados. Os halos de inibição originados pelo iodo foram significativamente maiores do que os halos originados pelo extrato de cajazeira, independente da concentração utilizada, frente às diferentes bactérias isoladas de propriedade criadoras de caprinos. Não houve diferenças significativas dos tamanhos dos halos de inibição entre as três concentrações (1%, 2% e 3%) de extratos de Cajazeira testadas. Houve uma maior inibição dos cocos, *Staphylococcus coagulase negativa*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* sp. Os bacilos restantes apresentaram halos de menor inibição. Nota-se, na maioria dos testes, uma relação crescente e proporcional entre o tamanho do halo e a concentração.

Abo et al. (1999) estudaram a ação dos extratos metanólicos de folhas e da casca do caule da cajazeira nas concentrações de 100mg/mL, 50mg/mL e 25mg/mL contra diversos microorganismos. Estes dados corroboram com os resultados demonstrados neste trabalho, quando identificaram em seus estudos que a atividade antibacteriana dos extratos de folhas de Cajazeira contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Shigella dysenteriae* foi mais ativa que a atividade da gentamicina a 10mg/mL; enquanto a ação dos extratos da casca do caule contra *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram muito semelhante a da gentamicina.

4. CONCLUSÕES

O estudo da atividade antibacteriana dos extratos vegetais demonstra que para os microorganismos testados, o extrato do cajá, em todas as concentrações testadas, apresentou ação inibitória sobre as todas as cepas analisadas, principalmente sobre *Staphylococcus coagulase negativa*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* sp. Entretanto, não foi observada a ação inibitória nos extratos da ciriguela e do nim. Sugerem-se estudos complementares para confirmar a eficácia do extrato de cajá e sua utilização para a prevenção e tratamento das doenças relacionadas à caprinocultura.

5. REFERÊNCIAS

- ABO, K. A.; OGUNLEYE, V. O.; ASHIDI, J. S.; Antimicrobial potential of *Spondias mombin* *Croton Zambesicus* and *Zygotritonia Crocea*. *Phytotherapy Research*, v. 13, p. 494-497, 1999.
- ALENCAR, S.P.; MOTA, R.A.; COELHO, M.C.O.C; NASCIMENTO, S.A.; ABREU, S.R.O; CASTRO, R.S. Perfil sanitário dos rebanhos de caprinos e ovinos no sertão de Pernambuco. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 11, n.º 1, 2010.
- ALVES, P.D et al. Chromatographic evaluation and antimicrobial activity of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae) leaves hydroalcoholic extracts. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 19, p. 510-515, 2009.
- BRITO, H. R. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Spondias mombin* L., *Spondias purpurea* L. e *Spondias* sp (cajarana do sertão). 2010. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – UFCG, Patos, 2010.

Pôster (Painel)

Evento Submissão: XXI Congresso Latino Americano de Microbiologia - ALAM

AREA: Microbiologia Veterinária - Divisão H

SUB-AREA: Métodos de Diagnóstico microbiológico e sensibilidade aos antimicrobianos

AVALIAÇÃO "IN VIVO" DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO DA *Spondias mombin* L (CAJÁ) SOBRE GLÂNDULA MAMÁRIA DE CAPRINOS DE APTIDÃO LEITEIRA.

Autores MEDEROS, A.J.D. ^{1,2}, FEIJÓ, F.M.C. ², SANTOS, C.S. ², NOGUEIRA, I.A.G. ², PONTES, F.S.T. ², BERGAMO, G.C. ², SERAFIM, S.A. ³, DINIZ, J.C. ³, LUCAS, C.R. ², BARBOSA, C.C. ², COSTA, J.M. ², ALVES, N.D. ², AMÓRA, S.S.A. ², VIANA, F.A. ³

E-mail do primeiro autor: anna.medeiros@ifrn.edu.br

Instituição ¹ IFRN - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do RN (Rodovia RN 118, s/nº, Distrito Base Física, Ipangaçu-RN CEP: 59508-000), ² UFRSA - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (Avenida Francisco Mota, BR 110, Km47, 572, Costa e Silva Mossoró), ³ UERN - Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (BR 110, KM48, Rua Prof. Antônio Campos, Costa e Silva 59610-090 - Mossoró-RN)

Resumo:

INTRODUÇÃO A caprinocultura no Nordeste do Brasil tem representando uma parcela de subsistência para o homem do campo. Assim, a tentativa de minimizar o custo com profilaxia vem se expandindo, por exemplo, com o emprego de plantas medicinais que vem tendo sua eficácia comprovada por meio de experimentos científicos. Nesse sentido, vimos nesse trabalho avaliar a ação antimicrobiana do extrato das folhas *Spondias mombin* L (cajá) como antisséptico em caprinos e assim contribuir para a prevenção e controle de enfermidades. **MATERIAIS E MÉTODOS** Foram utilizadas 9 cabras leiteiras. Em seguida realizou-se um sorteio para indicar qual o tratamento que cada animal receberia como avaliação. Em cada 3 animais (ambas as tetas), respectivamente, aplicou-se extrato de cajá a 3%, iodo a 2% e água durante 28 dias consecutivos, com coletas de leite e sw abs das tetas direita e esquerda nos dias 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28. Levados para o laboratório, os sw abs foram lavados em água e o material foi submetido as diluições: 10-1, 10-2, 10-3. Posteriormente, 1 mL de cada diluição foi semeado em Agar "Plate Count" 37oC/24h para contagem de mesófilas. Para a contagem de coliformes totais e termotolerantes, foi utilizado o teste do NMP. Usou-se um delineamento inteiramente ao acaso com três tratamentos e com três repetições. Para comparação das médias o teste de Student Newman Keuls (SNK) com emprego do programa R. **RESULTADOS E DISCUSSÕES** Obtiveram-se as seguintes médias, em UFC, para a contagem de mesófilas: Cajá 3% = 2170,17, Iodo 2% = 5005,33 e Água = 31704,29. A análise de variância demonstrou existir diferença significativa ($p = 0,0147$) entre os produtos analisados. Na comparação das médias, o cajá e o iodo não apresentaram diferença e ambos diferem da água. Para a análise dos coliformes totais, embora o número de coliformes seja maior para os animais que receberam a água como tratamento, não houve diferença entre os produtos ($p = 0,1280$), os quais apresentaram as seguintes médias em UFC: Cajá 3% = 5,03 NFM, Iodo 2% = 2,84 NFM e Água = 11,70 NFM. Quanto aos coliformes termotolerantes, foram identificados apenas nos animais que receberam água como antisséptico, respectivamente, cabra 1 da Água (7,4 NFM/Col. 8), cabra 2 da Água (3,6 NFM/Col. 8) e Cabra 3 da Água (3 NFM/Col. 2, 3,6 NFM/Col. 6 e 15 NFM/Col. 8). **CONCLUSÕES** O extrato do cajá apresentou potencial antimicrobiano e os resultados da análise sugere a possível aplicação do extrato na prevenção e tratamento de infecções em glândula mamária de caprinos com aptidão leiteira.

Palavras-chaves: *Spondias mombin*, Ação antibacteriana, Caprinocultura

Pôster (Painel)

Evento Submissão: XXI Congresso Latino Americano de Microbiologia - ALAM

AREA: Microbiologia Veterinária - Divisão H

SUB-AREA: Métodos de Diagnóstico microbiológico e sensibilidade aos antimicrobianos

Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de extratos de plantas do Semiárido Brasileiro sobre bactérias isoladas de glândula mamária de fêmeas de caprinos de aptidão leiteira

Autores MEDEIROS, A.J.D. ^{1,2}, FEIJÓ, F.M.C. ², SANTOS, C.S. ², NOGUEIRA, I.A.G. ², PONTES, F.S.T. ², BERGAMO, G.C. ², SERAFIM, S.A. ³, DINIZ, J.C. ³, LUCAS, C.R. ², COSTA, J.M. ², BARBOSA, C.C. ², ALVES, N.D. ², AMÓRA, S.S.A. ², VIANA, F.A. ³**E-mail do primeiro autor:** anna.medeiros@ifrn.edu.br**Instituição** ¹ IFRN Ipananguçu - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do RN (Rodovia RN 118, s/nº, Distrito Base Física, Ipananguçu-RN CEP: 59508-000), ² UFERSA - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (BR 110 - Km 47, Bairro Pres. Costa e Silva, CEP 59.625-900, Mossoró/RN), ³ UERN - Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (BR 110, KM 48, Rua Prof. Antônio Campos, Costa e Silva 59610-090 - Mossoró-RN)**Resumo:**

INTRODUÇÃO A busca por novas alternativas terapêuticas, que venham a minimizar o impacto da resistência desenvolvida pelos microrganismos frente a drogas, motiva a avaliação da possível atividade antimicrobiana de fitoterápicos. Pretende-se com esse trabalho pesquisar a ação antimicrobiana dos extratos das folhas de *Spondias purpurea* L. (ciriguela), *Spondias mombin* L. (cajá) e *Azadirachta indica* A. (nim) sobre cepas bacterianas isoladas de caprinos. Assim, contribuir para a prevenção e controle de enfermidades especificadamente na caprinocultura. **MATERIAIS E MÉTODOS** As cepas bacterianas foram obtidas das cabras leiteiras por meio de suabes das tetas e amostras do leite. A identificação foi realizada através de citologia, macroscopia de colônias e provas bioquímicas. Para a preparação dos extratos vegetais hidroalcoólicos coletou-se amostras das folhas de ciriguela, cajá e nim. De todas as amostras preparou-se extratos a 1%, 2% e 3% de p/v. Em seguida, realizou-se o teste de sensibilidade aos extratos por difusão em ágar baseados na metodologia do Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão, onde nas placas com ágar Muller-Hinton fez-se 5 poços de diâmetro de 2 mm. Com o auxílio do suabes semeou-se as bactérias na superfície das placas e em cada poço foram colocados 50 µL de lodo (controle positivo), água destilada estéril (controle negativo), extrato de Cajá, extrato de Ciriguela e extrato de Nim. Após 24h/36°C, foram medidos os halos de inibição produzidos em volta do poço. **RESULTADOS E DISCUSSÕES** A microbiota bacteriana encontrada nas coletas foi a seguinte: *Bacillus megaterium*, *Bacillus sp.*, *Corynebactérias*, *Enterobactersp.*, *Cellulomonas sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.* e *Staphylococcus coagulase* negativa. A espécie mais comumente identificada foi *S. coagulase* negativa, a qual é um dos principais causadores da mastite. Dentre os extratos estudados, o cajá apresentou atividade, formando halo de inibição sobre todas as amostras bacterianas e apresentando melhor ação sobre a *S. coagulase* negativa (15, 18 e 20 mm) e *Streptococcus sp.* (18, 19 E 20 mm) respectivamente a 1%, 2% e 3% (p <0.05). Esses dados reafirmam a ação antimicrobiana do cajá. Houve ausência de inibição por parte dos extratos de Nim e Ciriguela. **CONCLUSÕES** De acordo com os dados obtidos, conclui-se que a bactéria encontrada em maior quantidade nas amostras foi o *S. coagulase* negativa e que o extrato de cajá apresentou atividade inibitória, principalmente sobre o *S. coagulase* negativa e o *Streptococcus sp.*

Palavras-chaves: Ação Antibacteriana, Plantas do Semiárido, Caprinocultura