

REZUMAT

al tezei de doctorat intitulată:

IDENTIFICAREA UNOR PRINCIPII FITOTERAPEUTICE CA ALTERNATIVĂ LA ANTIBIOTERAPIE ÎN PATOLOGIA BOVINĂ

Doctorand: CĂȘARU (MICH) Cristina

Conducător științific: **Prof. Univ. Dr. DANEȘ Doina**

CUVINTE-CHEIE: fitoterapie, mastită, bovine, uleiuri esențiale, antibioretistență

Având în vedere faptul că rezistența la antibiotice a microorganismelor a devenit o reală problemă, lumea medicală este obligată să găsească soluții alternative pentru a reduce amploarea acestui fenomen. Un alt motiv pentru care este necesară găsirea unor alternative la antibioticele și antiparazitarele clasice îl reprezintă agricultura ecologică, fenomen ce a luat amploare în ultima perioadă.

Prin realizarea obiectivelor prezentei lucrări s-au avut în vedere:

Obiectiv 1: Studiarea prevalenței mamitelor într-o fermă de vaci, precum și impactul economic determinat de aceste afecțiuni pe o perioadă de 8 luni.

Obiectiv 2: Identificarea plantelor medicinale cel mai frecvent utilizate de crescătorii de animale din S-E României în tratamentul diferitelor afecțiuni ale bovinelor.

Obiectiv 3: Evaluarea eficacității, atât *in vitro*, cât și *in vivo*, a unor preparate fitoterapeutice, împotriva unor agenți bacterieni incriminați în etiologia mamitelor la vacile de lapte.

Teza de doctorat este structurată conform normelor, în două secțiuni: studiu bibliografic și cercetările personale. Prima secțiune a tezei abordează aspecte legate de fitoterapie, afecțiuni curente întâlnite în fermele de vaci de lapte și impactul lor economic la nivelul fermei, antibioretistența și abordări neconvenționale care se pot utiliza ca alternativă la antibioterapie, în special în cazul mamitelor.

A doua secțiune a tezei include rezultatele cercetărilor personale. Acestea cuprind investigații realizate într-o fermă de bovine pentru a determina impactul economic direct determinat de mamitele clinice, investigații pe teren cu scopul de a identifica plante folosite în medicina tradițională pentru tratarea afecțiunilor la bovine, urmate de studii *in vitro* și *in vivo* pentru a determina eficacitatea uleiurilor esențiale de cimbrisor (*Thymus serpyllum*), cuișoare (*Eugenia carryophyllus*), mentă (*Mentha piperita*) și scorțișoară (*Cinamum verum*) în tratarea mamitelor.

Cercetările efectuate în vederea determinării prevalenței mamitelor clinice la vacile de lapte și impactul economic avut s-au realizat pe o perioadă de 8 luni de zile, într-o fermă din sud-estul României, cu un efectiv de 520 de capete de vaci de lapte, rasa Holstein-Friza, în perioada 2015-2016. În 100% din cazuri pentru tratarea mamitelor s-a folosit antibioterapie. Antimicrobienele cel mai des utilizate au fost: cefalexina, enrofloxacină, oxitetraciclină și marbofloxacină. Analizând costurile din ferma studiată, pentru cele 8 luni de zile au fost de 47 €/cap de vacă furajată, costul exclusiv datorat costului terapiei medicamentoase și pierderilor de lapte în perioada tratamentului. Dacă se cumulează și pierderile indirecte, costurile depășesc cu mult raportările din literatura de specialitate.

Pentru a identifica plantele medicinale pe care fermierii din regiunea Subcarpaților de Curbură le folosesc în tratarea animalelor au fost realizate cercetări în 25 de sate din 8 comune (Bisoca, Gura Teghii, Mânzălești, Lopătari, Bătrâni, Posești, Jitia și Vintileasca) din județele Buzău, Prahova și Vrancea. Au fost înregistrate 237 de interviuri, în întrebări fiind menționate următoarele afecțiuni: boli respiratorii, ectoparaziți, endoparaziți, meteorism acut, mastită, plăgi mamare superficiale, papilomatoză mamară,

pododermatită și diaree. Cel mai frecvent, informații concrete s-au obținut de la persoane cu vârsta de peste 60 de ani (majoritatea fiind crescători de animale care practică sau au practicat agricultura de subzistență). Pentru persoanele sub 40 de ani, prezența medicului veterinar se impune în majoritatea afecțiunilor întâlnite la animale, diareea fiind singura afecțiune care se poate trata uneori cu ajutorul fitoterapiei.

Au fost obținute informații despre 135 de remedii de origine vegetală, minerală sau animală, utilizate în tratarea a 15 afecțiuni ale rumegătoarelor și de asemenea, au fost identificate 56 de plante, din 34 de familii utilizate în medicina veterinară tradițională locală. De cele mai multe ori aceste remedii se combină între ele, se adaugă alcool tradițional (țuică), ulei de floarea soarelui sau oțet, fiind elaborate diverse rețete empirice.

Plantele cu cea mai mare frecvență a aparițiilor în tot arealul cercetat au fost: salcâmul (*Robinia pseudoacacia*) utilizat în tratarea diareei, a indigestiei sau pentru efectul antihelmintic, cu 115 mențiuni (48%), urmat de pelin (*Artemisia absinthium*) cu 114 mențiuni, utilizat în majoritatea afecțiunilor cercetate (diaree, indigestie, plăgi cutanate și afecțiuni podale, ca antiparazitar intern și extern) și de răsfugiță (*Sempervivum tectorium*) menționată de 102 ori, folosită în tratarea mamitei și a timpanismului. Pentru tratamentul mamitelor au fost identificate 13 plante dintre care patru plante s-au întâlnit în toate zonele cercetate. Muma pădurii sau răsfugul negru (*Lathraea squamaria*) a fost planta cea mai apreciată și lăudată de micii fermieri, atribuiindu-i-se puteri miraculoase. Aceștia merg primăvara în munte pentru a o culege, fiind folosită exclusiv în tratamentul mamitelor. Se administrează 2-3 rizomi în stare crudă sau uscată, timp de 3-4 zile. În literatura de specialitate nu există date care să confirme eficacitatea plantei, dar nu putem pune la îndoială activitatea acesteia, chiar dacă nu există susținere științifică. *Hylotelephium spectabile* și *Hylotelephium telephium* au fost alte două plante identificate pe care oamenii le folosesc în mod frecvent pentru a trata mamitele.

Cercetările privind eficacitatea *in vitro* a uleiurilor esențiale asupra florei bacteriene implicate în mamite la bovine a cuprins mai multe etape. Inițial au fost izolate, identificate și conservate tulpini bacteriene din 16 probe de lapte provenind de la vaci de lapte cu mamită clinică pe baza caracterelor culturale, morfologice și biochimice folosind galeriile Api 20 NE, Api 20 E, Api 20 Strep și ID 32 Staph. Au fost selectate 10 tulpini bacteriene (*Escherichia coli*- 2 tulpini, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Listeria* spp., *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus epidermitis*, *Staphylococcus aureus*) pentru care s-au realizat antibiograme prin metoda difuzimetrică. Rezultatele au reflectat trendul ascendent al fenomenului de antibiorezistență, 90% din tulpini au prezentat rezistență multiplă la antibioticele testate, 60% s-au dovedit a fi rezistente la cel puțin 5 antibiotice, iar 30% la 7 sau mai multe antibiotice. Pentru aceleași tulpini au fost realizate și aromatograme pentru uleiurile esențiale de *Cinnamomum zeylanicum*, *Mentha piperita* Franco-Mitcham, *Syzygium aromaticum*, *Thymus serpyllum*, pure, în diferite concentrații sau în amestec. A fost testată eficacitatea antibacteriană a uleiurilor purtătoare de cocos și de sămburi de struguri, care au demonstrat lipsa activității antibacteriene împotriva tulpinilor studiate. Uleiul esențial de mentă a fost singurul ulei la acțiunea căruia a fost înregistrată rezistență din partea a trei tulpini bacteriene (*Escherichia coli*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus epidermitis*). Toate cele 10 izolate bacteriene supuse testării s-au dovedit a fi sensibile la acțiunea uleiului esențial de scorțișoară până la diluția de 1/10, acesta având cel mai puternic efect antibacterian dintre uleiurile testate. Uleiul de cuișoare a înregistrat eficiență antibacteriană până la diluția de 1/10 pentru *P. multocida*, până la diluția de 1/4 pentru o tulpină de *E. coli*, *Lactococcus lactis*, *S. xylosus*, *S. spp.* și *S. intermedius* și până la diluția de 1/2 pentru cea de-a doua tulpină de *E. coli*, *Listeria* spp., *S. epidermidis* și *S. aureus*. Uleiul de cimbrisor s-a dovedit a fi eficient până la diluția de 1/10 pentru *Lactococcus lactis* și *Pasteurella multocida*, până la diluția de 1/4 pentru cele două tulpini de *E. coli*, *Listeria* spp., *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus intermedius* și pentru *Staphylococcus aureus*, păstrându-și eficiența până la diluția de 1/2 pentru *Staphylococcus xylosus* și *Staphylococcus epidermidis*. Amestecul în părți egale al celor patru uleiuri esențiale integrale a înregistrat efect antibacterian asupra tuturor celor 10 tulpini bacteriene supuse testării.

Următoarea etapă a cercetărilor a constat în realizarea unui produs farmaceutic pe baza uleiurilor esențiale de cimbrisor, cuișoare, scorțișoară și mentă folosite în părți egale la o concentrație de 0,5%, iar ca uleiuri purtătoare au fost folosite uleiul de nucă de cocos și uleiul de sămburi de struguri. După testarea acestui produs privind caracteristicile fizice și microbiologice a fost realizată testarea dermatologică pe suprafața cutanată a glandei mamare la 2 vaci de lapte. Aplicarea topică a produsului nu a dus la modificări ale stării generale a animalului sau la modificări locale la locul administrării.

Ulterior acestei etape, s-a trecut la testarea *in vivo*. Au fost identificate 64 de vaci în lactație, provenind din gospodării tradiționale din comuna Bisoca, județul Buzău pentru care s-a urmărit determinarea mamitelor subclinice, folosind California Mastitis Test (CMT). Au fost identificate 26 de animale pozitive, confirmate ulterior în laborator prin determinarea numărului de celule somatice, cu ajutorul aparatului Soma Count 150. Conform reglementărilor la nivel european privind stabilirea unor norme specifice de igienă care se aplică alimentelor de origine animală numărul de celule somatice pe mililitru lapte nu trebuie să depășească 400.000 de celule, iar numărul total de germeni, măsurat la 30°C să fie mai mic de 100.000. Numărul mare de celule somatice în lapte este un indicator major al mastitei cronice sau subclinice. Animalele cu scor CMT 3 au fost excluse de la testare (3 indivizi), fiind recomandat un protocol clasic de tratament, celelalte animale au fost lotizate, astfel, lotul martor a fost format din 9 animale, iar celelalte 14 animale au reprezentat lotul de lucru. Au fost identificate 2 exploatații la care toate rezultatele CMT au fost negative, acest fapt poate fi asociat și cu o igienă foarte bună a adăpostului, animalele erau metisi de Brună de Maramureș, producția de lapte a animalelor era de 13-14l/ animal/zi, iar hrana era suplimentată cu fân de lucernă și concentrate. În schimb, au fost identificate 6 exploatații la care incidența cazurilor de posibile mamite subclinice a fost mai mare sau egală cu 50%. Din totalul animalelor testate, 40,62 % au fost diagnosticate pozitiv la testul CMT. La aceste bovine, produsul realizat a fost administrat prin masaj ușor pe toată suprafața glandei mamare, inclusiv pe mameloane, de 2 ori pe zi, timp de 5 zile.

S-a determinat numărul de celule somatice (NCS) și numărul total de germeni (NTG) în ziua 5, ziua 14 respectiv ziua 21 de la începerea tratamentului pentru sferturile mamare la care valoare NCS a depășit 200.000 cel/ml la testarea inițială. În ziua a 14-a a avut loc o reducere a NTG cu 52,38% față de momentul inițial în cazul lotului care a primit tratament, pe când în lotul martor nu au fost observate modificări semnificative ale acestui parametru. Față de lotul martor, toate valorile NCS au înregistrat o scădere pentru lotul la care s-a aplicat produsul de testat.

Chiar dacă rezultatele au fost satisfăcătoare și produsul s-ar poate folosi în tratamentul mamitelor subclinice, sunt necesare studii suplimentare privind remanența uleiurilor esențiale în țesuturi și lapte pentru a nu denatura calitatea și gustul laptelui și, de asemenea, pentru a nu aduce prejudicii procesului de fabricație a produselor lactate și derivatele acestora.