

## EFICIÊNCIA *IN VITRO* DE DESINFETANTES DE TETOS FRENTE À *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLADOS DE VACAS COM MASTITE

Talita Oliveira Maciel Fontes<sup>1</sup>, Adriano França da Cunha<sup>2</sup>, Alice Cristina da Silva Portilho<sup>3</sup>

**Resumo:** A sensibilidade *in vitro* de quatro cepas de *Staphylococcus aureus* isolados de vacas com mastite foi avaliada frente a quatro desinfetantes comerciais utilizados no *pre-e post-dipping* de tetos. A concentração dos desinfetantes (cloro, iodopolvidona, clorexidine e ácido láctico) foi determinada de acordo com a Farmacopeia Brasileira. Tubos contendo 4mL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) foram adicionados de desinfetantes à 1,5%. Antes e depois da incubação dos tubos à 36°C por 24 horas, as absorbâncias foram determinadas à 600nm. em espectrofotômetro. As concentrações encontradas dos desinfetantes foram 5,35, 22,79, 1,9 e 1,9% de cloro ativo, ácido láctico, iodopovidona e digluconato de clorexidine, respectivamente. Houve maior atividade desinfetante *in vitro* de clorexidine e cloro, pois os crescimentos de *S. aureus* dados em absorbância foram numericamente menores. Apesar disto, os desinfetantes iodo e clorexidine apresentaram inibição de *S. aureus*, pois menores absorbâncias foram observadas que a absorbância dada em tubos ausentes de desinfetantes (p<0,05). Portanto, apesar de clorexidine, iodo, cloro e ácido láctico inibirem o crescimento de *S. aureus*, clorexidine e cloro possuem maior atividade inibitória frente a *S. aureus*.

**Palavras-chave:** Bactérias, *dipping*, mamite, sensibilidade.

---

<sup>1</sup> Graduando em Medicina Veterinária — FAVIÇOSA/UNIVIÇOSA. e-mail: talitaomf95@hotmail.com, aliceromao@globo.com

<sup>2</sup>

<sup>3</sup> Professor em Medicina Veterinária— FAVIÇOSA/UNIVIÇOSA. e-mail: adrianofcunha@hotmail.com.br

## Introdução

Mastite é a inflamação da glândula mamária caracterizada por alterações físicas e químicas do leite e alterações do tecido glandular. Tal enfermidade tem alta prevalência nos rebanhos leiteiros e é responsável por grandes perdas econômicas, podendo reduzir em até 50% a produção leiteira (LADEIRA, 2001). Possui caráter multifatorial, sendo causada por diferentes patógenos e influenciada pelo ambiente e fatores inerentes ao animal (COSER et al., 2012).

O uso apropriado de agentes desinfetantes em tetos durante a ordenha das vacas tem como objetivo reduzir os micro-organismos patogênicos e evitar a disseminação de agentes infecciosos entre os animais, como *Staphylococcus aureus* (RAMALHO et al., 2012). Durante a extração do leite, o esfíncter do teto é aberto, o que aumenta o risco de entrada de micro-organismos. Além disto, várias vacas são submetidas ao uso de mesmas teteiras, as quais podem veicular patógenos contagiosos de um animal para outro (LADEIRA, 2001).

Apesar da importância dos desinfetantes, os mesmos são escolhidos por hábito de uso, facilidade de aplicação ou preço. Deve-se reavaliar as praticidades e as limitações de cada desinfetante, visto que seu uso inadequado pode causar seleção natural de cepas resistentes em uma população microbiana (PEDRINI & MARGATHO, 2003). Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência *in vitro* de desinfetantes de tetos frente à *S. aureus* isolados de vacas com mastite.

## Material e Métodos

Amostras de desinfetantes mais utilizados como pre e post-dipping (cloro, iodo, ácido láctico e clorexidine) foram adquiridas no comércio e enviadas para o laboratório de Química da Faculdade UNIVIÇOSA, localizada em Viçosa (MG). Assim, as concentrações

dos princípios foram determinadas, em triplicata, de acordo com as metodologias estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010).

A determinação da eficácia dos desinfetantes foi realizada, em triplicata, baseando-se na metodologia utilizada por Ramalho et al. (2012). Para a análise, foram preparadas suspensões bacterianas homogêneas, em solução salina estéril correspondendo à escala 1 de McFarland, de quatro cepas de *S. aureus* isoladas de animais com mastite subclínica ( $Sa_a$ ,  $Sa_b$ ,  $Sa_c$  e  $Sa_d$ ). As cepas foram cedidas pelo Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal (DTIPOA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Posteriormente, 2mL de suspensão bacteriana foram adicionados aos tubos contendo a solução de desinfetantes. Em seguida, as misturas contidas nos tubos foram incubadas a 36°C durante 24 horas e foi observada a turvação do meio, formação de película na superfície ou de precipitado no fundo dos tubos. Antes e após o crescimento dos micro-organismos nos tubos, amostras foram submetidas à determinação da absorvância a 600nm em espectrofotômetro de luz visível SP220 (Biospectro Ltda., Curitiba, Brasil).

Os resultados de absorvância antes e após o crescimento de *S. aureus* no meio BHI adicionado dos desinfetantes foram submetidos a comparação de média por meio do teste t de Student, utilizando-se software SigmaPlot 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, USA), ao nível de 5% de significância. A pesquisa foi aprovada pelo Núcleo de Pesquisa e Extensão (NUPEX) da Faculdade União do Ensino Superior de Viçosa (UNIVIÇOSA) sob número de protocolo 207/2016-I.

## **Resultados e Discussão**

De acordo com os rótulos dos desinfetantes, as concentrações dos princípios ativos devem ser 5,0% de cloro ativo, 2,5% de iodopovidona e 1,5% de digluconato de clorexidine. A concentração de ácido lático não estava informada no rótulo do produto. Após

análises, as concentrações encontradas dos desinfetantes foram 5,35, 22,79, 1,9 e 1,9% de cloro ativo, ácido láctico, iodopovidona e digluconato de clorexidine, respectivamente.

Os desinfetantes cloro e *clorexidine* apresentaram concentrações semelhantes ao que os fabricantes propõe. Já a amostra de iodo apresentou concentração inferior à dada pelo fabricante. Caso a concentração encontrada no produto não seja a descrita no rótulo, isto acarretará em descaso ao consumidor e comprometimento da eficácia esperada do produto frente aos patógenos causadores de mastite.

Avaliando a eficácia, houve maior atividade desinfetante *in vitro* de *clorexidine* e cloro, pois os crescimentos de *S. aureus* dados em absorvância foram numericamente menores (Tabela 1). Avaliando a eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente micro-organismos isolados de animais com mastite bovina, Medeiros et al. (2009) observaram que iodo e clorexidine possuíam maior atividade desinfetante contra *S. aureus* e iodo possuía melhor eficácia contra *Staphylococcus coagulase* negativo.

Tabela 1. Crescimento dado em absorvância de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas do leite de animais com mastite frente a desinfetantes de tetos

Desinfetante	Bactéria	Antes	Depois	Crescimento
Ausente	S <sub>a</sub> <sup>a</sup>	0,070	1,410	1,340
	S <sub>a</sub> <sup>b</sup>	0,026	1,540	1,514
	S <sub>a</sub> <sup>c</sup>	0,022	1,320	1,299
	S <sub>a</sub> <sup>d</sup>	0,021	1,294	1,274
Clorexidine	S <sub>a</sub> <sup>a</sup>	1,759	1,845	0,086
	S <sub>a</sub> <sup>b</sup>	1,919	2,007	0,088
	S <sub>a</sub> <sup>c</sup>	1,845	1,933	0,088
	S <sub>a</sub> <sup>d</sup>	1,985	2,058	0,073
Iodo	S <sub>a</sub> <sup>a</sup>	0,151	0,316	0,164
	S <sub>a</sub> <sup>b</sup>	0,391	0,437	0,046
	S <sub>a</sub> <sup>c</sup>	0,181	0,582	0,401
	S <sub>a</sub> <sup>d</sup>	0,098	0,544	0,446
Cloro	S <sub>a</sub> <sup>a</sup>	0,023	0,041	0,018
	S <sub>a</sub> <sup>b</sup>	0,028	0,050	0,022
	S <sub>a</sub> <sup>c</sup>	0,032	0,051	0,019
	S <sub>a</sub> <sup>d</sup>	0,024	0,044	0,020
Ácido Láctico	S <sub>a</sub> <sup>a</sup>	0,114	0,433	0,319
	S <sub>a</sub> <sup>b</sup>	0,110	0,499	0,390
	S <sub>a</sub> <sup>c</sup>	0,204	0,451	0,248
	S <sub>a</sub> <sup>d</sup>	0,149	0,350	0,201

Os resultados descritos acima foram confirmados estatisticamente por meio dos resultados médios apresentados na Tabela 2. Por meio do crescimento dado em absorvância, *S. aureus* apresentaram maior ( $p < 0,05$ ) crescimento médio frente aos desinfetantes iodo e ácido láctico e, portanto, foram menos eficientes que clorexidine e cloro. Apesar disto, os desinfetantes iodo e clorexidine apresentaram inibição de *S. aureus*, pois menores absorvâncias foram observadas que a absorvância dada em tubos ausentes de desinfetantes ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2. Crescimento médio e inibição de *Staphylococcus aureus* isolados do leite de animais com mastite frente a desinfetantes de tetos

Desinfetante	Antes	Depois	Crescimento	Inibição do Desinfetante (%)
Ausente	0,034	1,391	1,356 <sup>a</sup>	-
Clorexidine	1,877	1,961	0,084 <sup>c</sup>	93,8
Iodo	0,205	0,470	0,264 <sup>b</sup>	80,5
Cloro	0,027	0,046	0,020 <sup>c</sup>	98,5
Ácido Láctico	0,144	0,433	0,289 <sup>b</sup>	78,7

Médias seguidas de letras diferentes entre linhas diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

De acordo com Santos e Fonseca (2006), melhores inibições de pós-dipping contra micro-organismos causadores de mastite têm sido obtidas com as seguintes concentrações: iodo a 0,7-1,0%, clorexidine a 0,5-1,0% e cloro a 0,3-0,5% (4% hipoclorito de sódio). No *pré-dipping*, os produtos tradicionalmente utilizados são o hipoclorito de sódio a 2%, iodo a 0,3% e *clorexidine* a 0,3%. Em ambos os casos deve-se fazer a imersão completa dos tetos.

## Conclusões

Apesar de *clorexidine*, iodo, cloro e ácido láctico inibirem o crescimento de *S. aureus*, *clorexidine* e cloro possuem maior atividade inibitória frente a *S. aureus*.

### Referências Bibliográficas

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. v. 2. ed. 5. Brasília: Anvisa, 2010. 904p.

COSER, S. M; LOPES, M.A.; COSTA, G.M. Mastite bovina: controle e prevenção. **Boletim Técnico Universidade Federal de Lavras**, n.93, p.1-30, 2012.

LADEIRA, S.R.L. Mastite bovina. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A. et al. (Eds), **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**. v.1, 3 ed. Santa Maria: Editora Pallotti, p.359-370.

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.

RAMALHO, A.C; SOARES, K.D.A.; SILVA, D.F.; BARROS, M.R.C.; PINHEIRO, J.W.J.; OLIVEIRA, M.B.J.; MOTA, R.A.; MEDEIROS, E.S. Eficácia in vitro de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente a *Staphylococcus* spp. isolados em rebanhos leiteiros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.12, p.1285-1288, 2012.

SANTOS, M.V; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Ed. Manole, v.1. 2007, 314p.