

**INTERFERÊNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA NA INIBIÇÃO
IN VITRO DE DESINFETANTES DE TETOS FRENTE À
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLADOS DE VACAS COM MASTITE**

Talita Oliveira Maciel Fontes¹, Adriano França da Cunha², Alice
Cristina da Silva Portilho³

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, com ou sem matéria orgânica. Tubos contendo 4mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) foram adicionados ou não de matéria orgânica e desinfetantes à 1,5%. Tempos de exposição (15", 30", 60" e 90") foram cronometrados e estrias foram realizadas em meio BHI. Antes e depois da incubação dos tubos à 36°C por 24 horas, as absorbâncias foram determinadas à 600nm. em espectrofotômetro. *S. aureus* apresentaram maior ($p < 0,05$) crescimento médio frente aos desinfetantes iodo e ácido lático e, portanto, foram menos eficientes que clorexidine e cloro, com e sem matéria orgânica. Entretanto, a inibição pela matéria orgânica ocorreu de forma mais intensa no desinfetante iodo (49,6%). Os resultados qualitativos demonstraram que o percentual de inibição de *S. aureus* frente ao iodo e ácido lático nos tempos de 15", 30", 60" e 90" foram numericamente menores que frente a clorexidine e cloro. Clorexidine inibiu 100% das amostras nos tempos 60" e 90", com e sem matéria orgânica. Portanto, clorexidine e cloro possuem maior atividade inibitória frente a *S. aureus*, tanto com e sem matéria orgânica.

Palavras-chave: *Dipping*, glândula mamária, sensibilidade, teto.

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

² Professor em Medicina Veterinária – FAVIÇOSA/UNIVIÇOSA. e-mail: adrianofcunha@hotmail.com.br

³

Introdução

A desinfecção dos tetos antes da ordenha (*pre-dipping*) tem objetivo de prevenir micro-organismos causadores de mastite ambiental. Os tetos, então, são secados com papel toalha e os conjuntos de ordenha são acoplados para extração do leite. A desinfecção por *post-dipping* é feita após a ordenha completa do animal, com solução desinfetante mais concentrada, tendo o objetivo de prevenir micro-organismos contagiosos (CASSOL et al., 2010).

Os desinfetantes usados como *dipping* apresentam diferenças entre seus princípios ativos. Soluções antissépticas convencionais apresentam acentuada queda na eficiência ou são até mesmo desativadas quando há contato com matéria orgânica, o que é passível de acontecer no teto ou pela própria contaminação do produto pelo ambiente (RAMALHO, 2012).

A avaliação periódica dos desinfetantes utilizados nas propriedades é importante, pois muitos podem não se mostrar eficazes para controlar os micro-organismos mais prevalentes como causadores de mastite, principalmente *S. aureus*. A ineficiência pode ser ainda mais intensificada caso a solução esteja contaminada com matéria orgânica (COSTA et al., 1998; RAMALHO et al., 2012). Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência de desinfetantes de tetos em contato com matéria orgânica na eliminação de *S. aureus* causadores de mastite em vacas leiteiras.

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. As cepas foram cedidas pelo Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal (DTIPOA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Ademais, 1L de mistura de matéria orgânica foi preparado com 10% de urina de bovino, 10% de fezes, 10% de leite e 10% de terra. Este preparado foi esterilizado à 120°C por 15 minutos. Em seguida, 50µL da mistura de matéria orgânica foram adicionados a tubos contendo 4 mL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e 2 mL da solução de desinfetantes diluídos a 1,5%. Tubos sem a presença de matéria orgânica foram utilizados como controle negativo da matéria orgânica.

Posteriormente, 2mL de suspensão bacteriana foram adicionados aos tubos contendo a solução de desinfetantes e matéria orgânica para que os tempos de exposição (15", 30", 60" e 90") fossem cronometrados. A cada tempo, estrias em meio BHI foram realizadas e as placas foram incubadas a 36°C para verificação qualitativa do crescimento por meio do surgimento de colônias.

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 absorbância a 600nm em espectrofotômetro de luz visível SP220 (Biospectro Ltda., Curitiba, Brasil).

Os resultados de absorbância antes e após o crescimento de *S. aureus* no meio BHI adicionado dos desinfetantes com e sem matéria orgânica foram submetidos a comparação de média por meio do teste t de Student. Os resultados qualitativos do crescimento de *S. aureus* nas placas foram submetidos à análise descritiva, obtendo-se as frequências relativas. Todos os dados foram analisados utilizando 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

Por meio do crescimento dado em absorbância, *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, com e sem matéria orgânica (Tabela 1). Entretanto, a inibição pela matéria orgânica ocorreu de forma mais intensa no desinfetante iodo (49,6%). O crescimento médio de *S. aureus* diante tal desinfetante foi significativamente maior ($p < 0,05$) com matéria orgânica do que sem matéria orgânica.

Tabela 1. Crescimento médio dado em absorbância de *Staphylococcus aureus* isolados de animais com mastite frente a desinfetantes com e sem matéria orgânica

Desinfetante	Crescimento		Inibição da Matéria Orgânica (%)
	Sem Matéria Orgânica	Com Matéria Orgânica	
Clorexidine	0,084 ^{Ba}	0,054 ^{Ca}	-55,5
Iodo	0,265 ^{Ab}	0,526 ^{Aa}	49,6
Cloro	0,020 ^{Ba}	0,031 ^{Ca}	35,5
Ácido Láctico	0,289 ^{Aa}	0,315 ^{Ba}	8,25

Médias seguidas de letras maiúsculas e minúsculas diferentes entre linhas e colunas respectivamente diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

A matéria orgânica pode interferir com a atividade antimicrobiana dos desinfetantes, pois desativa a molécula ativa do mesmo ou por ser uma barreira física de proteção aos microorganismos durante o ataque químico. Portanto, é necessário manejo adequado de ordenha e do ambiente onde os animais se encontram para que os animais mantenham o úbere limpo, sobretudo no verão, época de maior ocorrência de sujidades nos tetos (PINHEIRO, 1990).

Os resultados qualitativos demonstraram que o percentual de inibição de *S. aureus* frente ao iodo e ácido láctico nos tempos de 15", 30", 60" e 90" foram numericamente menores que frente a clorexidine e cloro (Tabela 2). Clorexidine inibiu 100% das amostras nos tempos 60" e 90", com e sem matéria orgânica.

Tabela 2. Percentual de inibição de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de animais com mastite em tempos diferentes de exposição a desinfetantes com e sem matéria orgânica

Desinfetante	Matéria Orgânica	N	Tempo (segundos)			
			15	30	60	90
Clorexidine	Ausente	12	75,0	91,7	100,0	100,0
	Presente	12	66,7	83,3	100,0	100,0
Iodo	Ausente	12	8,3	8,3	25,0	33,3
	Presente	12	0	0	8,3	16,7
Cloro	Ausente	12	16,7	41,7	58,3	41,7
	Presente	12	25,0	33,3	41,7	41,7
Ácido Láctico	Ausente	12	0	8,3	8,3	8,3
	Presente	12	0	0	0	0

Na maioria dos tempos de exposição de *S. aureus* a todos os desinfetantes, menores inibições percentuais foram observadas quando em contato com matéria orgânica. Apenas no tempo de 15", a inibição percentual foi igual e menor diante ácido láctico e cloro na ausência de matéria orgânica, respectivamente.

Devido às variações no perfil de sensibilidade e resistência encontradas, é necessária avaliar regularmente a eficiência dos desinfetantes usados nas propriedades, com o intuito de verificar a eficácia do produto e assim contribuir para o controle da mastite no rebanho. Sabendo que o iodo é um dos desinfetantes mais usados na prática, seu uso indiscriminado pode estar selecionando patógenos resistentes ao desinfetante, como *S. aureus* (MARTINS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011).

Conclusões

Clorexidine e cloro possuem maior atividade inibitória frente a *S. aureus*, tanto com e sem matéria orgânica. A matéria orgânica inibe principalmente a atividade antimicrobiana de iodo contra *S. aureus*.

Referências Bibliográficas

CASSOL, D.M.S; SANDOVAL, G.A.F.; PERÍCOLE, J.J.; GIL, P.C.N.; MARSON, F.A. Mastite bovina. **A Hora Veterinária**, v.29, n.175, p.27-31, 2010.

COSTA, E.O; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; VALLE, C.R.; GARINO JUNIOR, F.; SILVA, J.A.B.; THIERS, F.O. Avaliação in vitro dos desinfetantes utilizados na pós ordenha (teat dipping) para controle da mastite bovina. **Revista Napgama**, v.1, n.1, p.18-22, 1998.

MARTINS, R.P; SILVA, J.A.G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; FILHO, E.S.A. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá-MT. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.1, p.181-187, 2010.

OLIVEIRA, C.M.C; SOUSA, M.G.S; SILVA, N.S; MENDONÇA, C.L; SILVEIRA, J.A.S; OAIGEN, R.P; ANDRADE, S.J.T; BARBOSA, J.D.B. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.2, p.104-110, 2011.

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.

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.