

AVALIAÇÃO DA AÇÃO DE SANITIZANTES FRENTE À CEPAS DE *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA ISOLADAS DE AMBIENTE DE ORDENHA

JULIANA CAROLINA SIEBEL¹; JULIANA FERNANDES ROSA²; JÉSSICA DAL VESCO³; NATACHA DEBONI CERESER⁴, CLÁUDIO DIAS TIMM⁵, HELENICE DE LIMA GONZALEZ⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – julianasiebel@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – ju_fernandes.r@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – jessica.dalvesco@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – natacha.cereser@ufpel.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – timmm@ufpel.tche.br

⁶Universidade Federal de Pelotas - helenice@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O *Staphylococcus* coagulase positiva é um dos micro-organismos causadores de infecções alimentares e é o principal gênero causador de mastite bovina (WHIST *et al.*, 2009; SOUTO *et al.*, 2008; SENA, 2000). Também é conhecido pela sua capacidade de desenvolver resistência aos antimicrobianos utilizados nos tratamentos veterinários e humanos, e, segundo Rajala-Schultz *et al.* (2004), é possível que cepas multirresistentes encontradas em animais produtores de alimentos possam contaminar os produtos alimentícios.

Para obtenção de um leite de qualidade e seguro ao consumidor, além do controle sanitário do rebanho, é necessário que todos os utensílios e equipamentos sejam higienizados, utilizando-se água potável e em temperatura adequada, com detergentes e sanitizantes apropriados (EMBRAPA, 2005; PENG *et al.*, 2002). Atualmente, já existe inúmeros estudos monitorando a ação dos antimicrobianos sobre os micro-organismos, no entanto são poucos os estudos verificando a atividade dos desinfetantes sobre esses micro-organismos ou a susceptibilidade destes organismos frente aos sanitizantes (AVANCINI; BOTH, 2017).

Frente a esse panorama, o objetivo deste trabalho foi verificar a ação de desinfetantes frequentemente utilizados na higienização de tetos, equipamentos e utensílios frente às cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas em ambiente de ordenha.

2. METODOLOGIA

As cepas utilizadas no trabalho, são oriundas de quatro propriedades participantes do Projeto de Desenvolvimento da Bovinocultura Leiteira da Região Sul do Rio Grande do Sul. Dessas propriedades, duas delas possuem sistema de ordenha mecânica canalizada e duas possuem sistema de ordenha mecânica balde ao pé, onde foram coletadas amostras dos seguintes pontos: leite de conjunto, teteira antes e após ordenha e teto após a ordenha. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica e enviadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal de Pelotas (LIPOA – UFPEL), onde foi realizada a contagem e isolamento de *Staphylococcus* coagulase positiva (BRASIL, 2003).

Para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), foi utilizada a metodologia, com adaptações, descrita no *National Committe for Clinical*

Laboratory Standards (NCCLS, 2003) e conforme De Bona *et al.* (2015). Também foi determinado o CIM₅₀, que indica a menor concentração capaz de inibir o crescimento de 50% das cepas isoladas. Para os testes foram usados os sanitizantes ácido láctico (8%) e hipoclorito de sódio (8%). Os sanitizantes foram utilizados nas concentrações que variaram de 156,3 mg/L até 10.000 mg/L. Para o controle foram utilizadas cepas *American Type Culture Collection* (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 14458 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

A interpretação dos resultados foi de acordo com o CLSI (2010), no qual o CIM dos sanitizantes foi determinado de acordo com ausência ou presença de turbidez no meio de cultura.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos de CIM e CIM₅₀ podem ser visualizados na Tabela 1. As concentrações dos sanitizantes capazes de inibir o crescimento bacteriano foram variáveis entre as cepas, e o CIM₅₀ foi encontrado na concentração 1.250 mg/L para o ácido láctico, e 625 mg/L para o hipoclorito de sódio.

Tabela 1: Resultados da CIM dos sanitizantes frente as cepas testadas em mg/L.

Sanitizantes (nº de cepas testadas)	CIM (mg/L)						
	Concentração dos sanitizantes testados e número de isolados susceptível encontrados em cada concentração						
	10.000	5.000	2.500	1.250	625	312,5	156,3
Ácido láctico (16)	0	1	1	13 ^A	1	0	0
Hipoclorito de sódio (16)	0	3	0	3	9 ^A	1	0

^A: CIM₅₀ = Concentração que inibiu 50% das cepas testadas.

De acordo com Fonseca & Santos (2000) os melhores resultados no *pós-dipping* têm sido obtidos com as seguintes concentrações de compostos: iodo 0,7 - 1,0% (7.000 - 10.000 mg/L), clorexidina 0,5 - 1,0% (5.000 - 10.000 mg/L), cloro 0,3 - 0,5% (3.000 - 5.000 mg/L) e 4% hipoclorito de sódio (40.000 mg/L). No *pré-dipping*, os produtos tradicionalmente utilizados são: hipoclorito de sódio a 2% (20.000 mg/L), iodo a 0,3% (3.000 mg/L), e clorexidina a 0,3% (3.000 mg/L). Em ambos os casos deve-se fazer a imersão completa dos tetos em solução desinfetante (SANTOS & FONSECA, 2006). Comparando esses valores com os resultados obtidos é possível verificar que no presente estudo foi necessária uma quantidade menor do que o indicado para inibir o crescimento bacteriano.

Medeiros *et al.* (2009), ao isolar cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase positiva* de vacas com mastite e testar a eficiência de produtos usados como *pré* e *pós-dipping*, encontrou sensibilidade do *S. aureus* frente ao cloro de 2,20% e 17,80% de sensibilidade do *S. aureus* frente ao ácido láctico, quando utilizados por 30 segundos. Os resultados encontrados por Medeiros *et al.* (2009), ainda mostraram que a ação do ácido láctico foi maior quanto maior o tempo de exposição.

Avancini e Both (2017) ao submeter cepas de *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) isoladas de fossas nasais de adultos internados na Unidade de Terapia Intensiva do hospital geral de Porto Alegre/RS a testes para avaliar a atividade bactericida dos compostos químicos, verificaram que todas as 21 cepas testadas foram inativadas pelos desinfetantes testados: Hipoclorito de sódio, iodóforo e cloreto de cetil trimetilamônio.

Já Nicolau *et al.* (2001), ao isolar amostras de *S. aureus* durante o processamento de queijo mussarela e testar essas cepas frente ao hipoclorito de sódio (0,59%) e iodóforo (1%), obteve ação dessas substâncias frente ao *S. aureus* a partir de 118 mg/L e 200 mg/L, respectivamente. Diferindo do presente estudo que necessitou uma maior concentração para agir frente as cepas testadas. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4. CONCLUSÃO

Com esse estudo foi possível verificar que o hipoclorito de sódio necessitou de uma menor concentração para inibir 50% das cepas em relação ao ácido láctico, porém mais estudos devem ser realizados devido a falta de padronização no uso do sanitizante e a alta rotatividade de princípios ativos utilizados na ordenha. Além disso, é necessário que sejam recomendadas o uso de boas práticas agropecuárias aos produtores rurais, visando a produção de um alimento seguro ao consumidor.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVANCINI, C. A. M.; BOTH, J. M. C. Atividade bactericida de três desinfetantes sobre *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina (MRSA). **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 7, n. 2, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2003. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003**.

CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 20º suplemento (Substituição da norma M100-S19. v. 29, n. 3). 180p. M100-S20. 2010; 30(1).

DE BONA E. A. M.; PINTO F. G. S.; BORGES A. M. C.; WEBER L. D.; FRUET T. K.; ALVES L. F. A.; MOURA, A. C. Avaliação da atividade antimicrobiana de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre sorovares de *Salmonella* spp. de origem avícola. **UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde**. V.12, n.3, 2015.

EMBRAPA. **Boas práticas agropecuárias na produção leiteira- parte I**. Brasília, 2005 Disponível em: <www.agricultura.gov.br> Acesso em 23 de set. 2017.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

MEDEIROS, E. S.; SANTOS, M. V.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; FARIA, E. B.; WANDERLEY, G. G.; TELES, J. A. A.; MOTA, R. A. Avaliação *in vitro* da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente amostras de

Staphylococcus spp. Isoladas de mastite bovina. **Pesq. Vet. Bras.** 29(1):71-75, janeiro 2009.

NCCLS (Clinical and Laboratory Standards Institute) 2003. Methoda for diluition antimicrobial susceptibility tests for bactéria that grow aerobically: approved standard. NCCLS document M7-6, Wayne, Pennsylvania.

PENG, J. S.; TSAI, W. C.; CHOU, C. C. Inactivation and removal of *Bacillus cereus* by sanitizer and detergent. **Int J Food Microbiol.** v. 77, n.1, p. 11-8, 2002.

RAJALA-SCHULTZ, P. J.; SMITH, K. L.; HOGAN, J.S.; LOVE, B. C.; Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. **Veterinary Microbiology.** V.102, p. 33-42, 2004.

SANTOS M.V. & FONSECA L.F.L. Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite. Editora Manole, Barueri. 314p. 2006.

SENA, M. J. Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e ao conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus* sp. isolados de queijos coalhos comercializados em Recife-PE. 2000. 75p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

SOUTO, L. I. et al. Relationship between occurrence of mastites pathogens in dairy cattle herds and raw-milk indicators of hygienic-sanitary quality. **Journal of Dairy Research.** Cambridge. V.75, p.121-127, 2008.

WHIST, A. C.; OSTERAS, O.; SOLVEROD, L. Association between isolation of *Staphylococcus aureus* one week after calving and milk yield, somatic cell count, clinical mastites, and culling through the remaining lactation. **Journal of Dairy Research.** Cambridge, v. 76, p.24-35, 2009.