

SUSCETIBILIDADE DE ISOLADOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DE MASTITE AO DESINFETANTE HIPOCLORITO DE SÓDIO

MARIA EDUARDA FORTES GONÇALVES¹; LUCAS SCHAEFER BATISTA²;
LUÍSA PEREIRA DE BARROS³; ISABEL LUÍZA OLIVEIRA TEODORO⁴;
HELENICE GONZALEZ DE LIMA⁵; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – eduardafortes.ma@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – ibatistasul@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – luisapdebarros@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – isabelxluiza@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – helenicegonzalez@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – pattsn@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A inflamação da glândula mamária, definida como mastite, é uma das principais doenças que acometem o gado leiteiro. De acordo com SANTOS & FONSECA (2019), os principais agentes etiológicos são as bactérias e o gênero *Staphylococcus* spp. tem se destacado como etiologia na região sul do Rio Grande do Sul (DAL VESCO, 2017).

A mastite bovina acarreta na redução da produção de leite, alteração da composição, além de levar ao descarte precoce de animais, causando uma grande perda econômica aos produtores (BARLOW, 2011). Como medida preventiva a fim de evitar a disseminação de mastite clínica e subclínica, assim como o impacto econômico relacionado à infecção, é feito uso de um esquema sanitário, visto que a matéria prima contaminada indica limpeza e desinfecção de superfícies inadequada e higiene insuficiente na produção (BOHRZ, 2025).

De acordo com MEDEIROS et al. (2009) as substâncias desinfetantes ativas mais estudadas são o iodo, a clorexidina, o cloro, o ácido sulfônico, o peróxido, o ácido clorídrico e o ácido láurico. Levando isso em consideração, o presente estudo tem como objetivo verificar a suscetibilidade *in vitro* de *Staphylococcus aureus* isolados de mastite ao sanitizante hipoclorito de sódio.

2. METODOLOGIA

A suscetibilidade de sete isolados de *S. aureus* foi testada frente a diferentes concentrações de Hipoclorito de Sódio. Os isolados eram oriundos de mastite bovina de animais em lactação de rebanhos da região sul do Rio Grande do Sul. As amostras estavam armazenadas no banco de isolados do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LIPOA/UFPEL). Os isolados eram sabidamente multirresistentes, e foram identificados como Sta49, Sta85, Sta102, Sta331, Sta343, Sta358 e Sta367.

Cada isolado teve a suscetibilidade testada em duplicata na placa de 96 poços, através da metodologia de Microdiluição em Caldo baseada no documento CLSI-M7-A6 adaptada ao Hipoclorito de Sódio, para verificação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e posteriormente Concentração Bactericida Mínima (CBM).

Inicialmente foi feita a preparação do inóculo, dissolvendo-se as colônias a serem testadas, previamente cultivadas em placas de ágar BHI, em solução salina a 0,85%, obtendo-se densidade de 0,5 na escala de MacFarland. Em

seguida foi retirado 1 mL do tubo de salina e acrescentado a 9 mL de caldo Muller Hinton, a fim de obter-se a concentração de 10^7 UFC/mL.

No preparo das placas de 96 poços foram colocados 100 µL de caldo Muller Hinton em todos os poços. Posteriormente foram acrescentados 100 µL do composto, com o dobro da concentração desejada, em todos os poços da primeira coluna a ser testada, a fim de obter-se a concentração de 2,5% do sanitizante. Em sequência é feita a diluição seriada (1:2) obtendo-se as concentrações finais de 1,25%, 0,625%, 0,313%, 0,156%, 0,078%, 0,039%, 0,020%, 0,010% e 0,005%. Por fim, são adicionados 5 µL do inóculo. A placa então é incubada à 37°C por 18 a 24 horas. O Quadro 1 indica as diluições utilizadas no estudo para testar a suscetibilidade de cada isolado a diferentes níveis de exposição ao sanitizante hipoclorito de sódio.

Quadro 1 - Concentrações de Hipoclorito de Sódio utilizadas para verificação da atividade Inibitória e Bactericida Mínima frente a *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina

CONCENTRAÇÕES DE HIPOCLORITO DE SÓDIO (%)										
2,50	1,250	0,625	0,313	0,156	0,078	0,078	0,039	0,020	0,010	0,005

Após a incubação, verifica-se onde houve aumento da densidade óptica, indicando crescimento do isolado inoculado. Aqueles poços que exibiram aspecto turvo indicam que a bactéria não foi sensível aquela concentração do sanitizante e foi capaz de manter seu crescimento, já os que não alteraram sua densidade óptica significa que houve inibição do crescimento.

Para verificação da Concentração Bactericida Mínima do desinfetante, ou seja, capacidade de matar as bactérias foram retiradas alíquotas de 5 µL de cada poço que não houve crescimento na presença do sanitizante e inoculadas em Placas de Petri com ágar Muller Hinton. Essas foram incubadas em estufa à 37°C, por 18 a 24 horas. Ao final observou-se se houve ou não o crescimento, indicando se aquela concentração do sanitizante foi bactericida, em caso de não crescimento, ou apenas bacteriostática, em caso de crescimento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da concentração de 0,625% nenhum dos isolados sofreu ação bactericida ou bacteriostática, ou seja, o sanitizante não foi eficaz e a bactéria manteve a sua multiplicação.

A tabela 1 demonstra, em duplicata, os valores necessários para alcançar os níveis de concentração mínimos de Hipoclorito de Sódio capazes de agir como bactericidas ou bacteriostáticos.

Foi possível observar que o sanitizante, em sua diluição mais concentrada, teve capacidade bactericida contra seis isolados, as duplicatas de Sta49, Sta102 e uma das duplicatas de Sta331/1 e Sta85/2, ou seja, o hipoclorito de sódio foi capaz de eliminar o agente na concentração de 2,5%, diferente do isolado Sta85/1, que sofreu ação bactericida na concentração de 1,25%. Já os isolados Sta331/2 e as duplicatas de Sta343, Sta358 e Sta367 não apresentaram Concentração Bactericida Mínima, indicando que as bactérias foram resistentes mesmo a altas concentrações de Hipoclorito de Sódio (2,50%) e foram capazes de voltar a se multiplicar quando em ambiente propício ao seu crescimento.

A Concentração Inibitória Mínima, e Concentração Bacteriostática Mínima, em geral foi na concentração de 1,25%, com exceção das duplicatas de Sta102, Sta343 e Sta367 e o isolado Sta358/2, nos quais a bactéria teve seu crescimento inibido já na primeira diluição e foi capaz de voltar a se multiplicar em ágar.

O isolado Sta358/1 apresentou resistência total, não sendo possível inibir ou eliminar a bactéria em nenhuma concentração do sanitizante.

TABELA 1– Concentrações Inibitória e Bactericida Mínimas de Hipoclorito de Sódio frente aos isolados de *Staphylococcus aureus* oriundos de mastite bovina

ISOLADO	CBM (%)	CIM (%)	ISOLADO	CBM (%)	CIM (%)
49/1	2,5	1,25	331/2	NI	1,25
49/2	2,5	1,25	343/1	NI	2,5
85/1	1,25	1,25	343/2	NI	1,25
85/2	2,5	1,25	358/1	NI	NI
102/1	2,5	2,5	358/2	NI	2,5
102/2	2,5	2,5	367/1	NI	2,5
331/1	2,5	1,25	367/2	NI	1,25

(CBM = Concentração Bactericida Mínima), (CIM = Concentração Inibitória Mínima), (NI = Não Inibiu)

Quando em um ambiente favorável, as bactérias, uma vez inibidas, são capazes de voltar a se multiplicar e dessa vez não serão suscetíveis ao Hipoclorito de Sódio, visto que houve uma seleção dos microrganismos resistentes (SOUZA JÚNIOR, 2024). Essa resistência traz dificuldades para a produção de leite, visto que com a higienização inadequada do ambiente há aumento na disseminação de microrganismos causadores de mastite, resultando em menor produção e implicação econômica, dentre outros fatores que implicam na indústria leiteira (BOHRZ, 2025).

4. CONCLUSÕES

Neste estudo foi possível concluir que, mesmo na maior concentração estudada (2,50%), o Hipoclorito de Sódio não foi eficaz contra todos os isolados de *S. aureus*, sendo capaz apenas de inibir a multiplicação de alguns isolados. Isso levanta a preocupação quanto a possível ineficácia dos processos de higienização para o controle deste microrganismo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARLOW, J. Mastitis therapy and antimicrobial susceptibility: a multispecies review with a focus on antibiotic treatment of mastitis in dairy cattle. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.16, p.383–407, 2011.

BOHRZ, D.A.S. **Biofilm formation and antimicrobial multidrug resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from milking hygienization environment**. 2015. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias e Ciências Biológicas) –

Programa de Pós Graduação em Bioexperimentação, Universidade de Passo Fundo.

DAL VESCO, J.; SIEBEL, J.C.; SUZIN, G.O.; CERESER, N.D.; GONZALEZ, H.L. **Monitoramento dos agentes causadores de mastite e a susceptibilidade aos antimicrobianos.** Expressa Extensão, Pelotas, v.22, n.1, p.34–50, 2017.

MEDEIROS, E.S.; SANTOS, M.V.; PINHEIRO Jr, 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 contra Staphylococcus spp. isolados de mastite bovina.** Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v.29, n.1, p.71–75, 2009.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Controle de mastite e qualidade do leite – desafios e soluções.** Pirassununga: Edição dos Autores, 2019.

SANTOS, P.J.; SANTOS, P.R.; LIMA, H.G.; HUBNER, S.O.; NASCENTE, P.S. Milking antiseptics against bacteria multidrug-resistant bovine mastitis. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.15, n.1, p.1–12, 2021.

SOUZA JÚNIOR, S.A. **Multirresistência bacteriana na medicina veterinária.** 2024. 61f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias Aplicadas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 2024.