

## SUSCETIBILIDADE DE *Staphylococcus* spp. ISOLADOS DE LEITE BOVINO FRENTE À HIPOCLORITO DE SÓDIO

**FREITAS, Thayline Machado<sup>1</sup>; FERREIRA, Gracialda Ferreira<sup>1</sup>; PIVA, Natalia Vanoni<sup>1</sup>; GONZALEZ, Helenice de Lima<sup>2</sup>; NASCENTE, Patrícia da Silva<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Acadêmico do curso de Medicina Veterinária/UFPEL; <sup>2</sup> Departamento de Veterinária Preventiva - Faculdade de Veterinária; <sup>3</sup>Departamento de Microbiologia e Parasitologia - Instituto de Biologia.

thaylinefreitas@yahoo.com.br

### 1 INTRODUÇÃO

Para produção de leite com qualidade e quantidade é indispensável um úbere saudável e, para isto, deve-se tomar o máximo cuidado no *pré* e *pós-dipping* (FREITAS, 1988). Diversas medidas sanitárias também devem ser adotadas durante o processo de ordenha para minimizar a transmissão de agentes causadores de mastites, bactérias e fungos, que podem ser transferidos ao leite depreciando sua qualidade microbiológica. Dentre estas medidas, destacam-se cuidados e limpeza com a ordenhadeira, a mão do ordenhador e lesões nos tetos dos animais que são considerados fatores importantes que expõem a superfície dos tetos aos microrganismos (AMARAL *et al.*, 2004; SMITH *et al.*, 1998).

NEAVE *et al.* (1966) reportam que a incidência de infecções intra-mamárias está correlacionada ao número de patógenos causadores da mastite nas extremidades dos tetos. Portanto, o modo como os tetos são limpos é de fundamental importância para prevenir a ocorrência de mastite (BRITO & BRESSAN 1996). Por isto, a prática de *pré-dipping* também é uma importante medida de controle contra a mastite, pois esta prática elimina muitas bactérias presentes na superfície dos tetos, evitando assim que estas bactérias penetrem nas glândulas mamárias durante a ordenha. O *pós-dipping* tem o objetivo de eliminar os microrganismos presentes na pele dos tetos após o término da ordenha, sendo eficaz na prevenção de novos casos de mastite causados por microrganismos contagiosos (PASSOS, 2004).

Dentre os produtos utilizados com esses objetivos destacam-se o hipoclorito de sódio (NaClO), clorexidina e o iodo. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a suscetibilidade *in vitro* de *Staphylococcus* spp. isolados de leite de vacas com mastite subclínica frente ao desinfetante: hipoclorito de sódio em diferentes concentrações.

### 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras bacterianas isoladas pelo Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, do leite de quartos com reação positiva ao CMT (*Califórnia Mastitis Test*). As espécies avaliadas foram: sete amostras de *Staphylococcus* coagulase positiva e uma amostra de *Staphylococcus* coagulase negativa.

A metodologia utilizada para o teste de suscetibilidade *in vitro* foi realizada através do método de microdiluição em caldo, baseado nas normas do documento M07-A8 (CLSI, 2009). Para isto foram utilizadas placas de microtitulação estéreis,

onde foram feitas dez diluições de razão 2 do desinfetante a partir da concentração indicada para uso. A escala de dez concentrações do Hipoclorito de Sódio variou de 1,25% a 0,0024% e em cada uma destas diluições foram dispostos 100µL dos inóculos bacterianos previamente ajustados em meio BHI líquido. As microplacas foram incubadas a 36°C por 24h e após este período foi realizada a leitura da Concentração Inibitória Mínima (CIM), considerada a menor concentração capaz de inibir o crescimento de cada bactéria.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as bactérias foram suscetíveis ao Hipoclorito de Sódio, variando em entre elas, a Concentração Inibitória Mínima (CIM) observada. A única amostra de *Staphylococcus* coagulase negativa testada apresentou inibição de crescimento na concentração de 0,156% de hipoclorito de sódio, dentre as amostras de *Staphylococcus* coagulase positiva, três também apresentaram CIM de 0,156% e quatro apresentaram CIM de 0,078%.

As bactérias deste estudo foram inibidas na concentração de hipoclorito de sódio recomendada para uso que é em torno de 150ppm (AMARAL et al., 2004) e a qual se refere à aproximadamente 0,015%. Entretanto, a concentração de cloro necessária para conseguir manter uma boa higiene depende do tempo de contato com a superfície (BESSEMS, 1998), sendo a concentração e o tempo de contato o binômio fundamental para o sucesso do efeito desinfetante de compostos à base de cloro.

O NaClO é bastante utilizado no *pré-dipping*, e de acordo com NADER FILHO et al. (1982) a higienização prévia dos tetos previne doenças como a mastite sendo de grande importância para reduzir o número de microrganismos patogênicos no leite e melhorar as condições higiênicas do mesmo. COSTA et al. (1998) destacaram a importância do uso adequado dos desinfetantes no controle das mastites uma vez que a presença de matéria orgânica determinou acentuada redução na eficiência dos mesmos.

PEDRINI & MARGATHO (2003) também avaliaram a atividade *in vitro* de diluições sucessivas de diferentes agentes desinfetantes no combate a bactérias causadoras de mastites. Uma solução de NaClO 2% apresentou excelente eficácia contra todos os microrganismos testados, contudo essa concentração é extremamente irritante para a pele do animal. Os autores constataram ainda que o hipoclorito de sódio na concentração recomendada para rotina teve efeito antimicrobiano bastante reduzido, corroborando com os achados deste estudo.

Para AMARAL et al. (2004) através de outra metodologia, observou-se que a desinfecção das teteiras com hipoclorito de sódio ou dicloroisocianurato de sódio não foi eficiente como método preventivo de redução da ação das teteiras como veículo de microrganismos para o úbere e para o leite. A utilização da desinfecção das teteiras entre uma vaca e outra durante a ordenha, utilizando-se as concentrações de cloro livre de 150 a 200ppm, que é a concentração preconizada por MARGATTHO et al. (1998) e indicada pelo MAPA (1984) para higiene da ordenha (150ppm), não foi capaz de reduzir o número dos microrganismos pesquisados na superfície interna das teteiras.

### 4 CONCLUSÃO

O uso de hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,156% e 0,078% inibiu as diferentes espécies bacterianas testadas neste estudo.

## 5 REFERÊNCIAS

AMARAL L.A, ROMANO A.P.M., NADER FILHO A. & ROSSI JR O.D. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesq. Vet. Bras.** v.24, n.4, p.173-177, 2004.

BESSEMS E. **The effect of practical conditions on the efficacy of disinfectants.** Int. Biodeter. Biodegr. 41(3-4):177-183, 1998.

BRITO J.R.F. & BRESSAN M. **Controle Integrado da Mastite Bovina.** Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, Minas Gerais, 1996.

CLSI, **Methods for Dilution Antimicrobial Suscetibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically** – Eighth Edition, 2009.

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

CULLOR, J. S., TYLER, J. W., SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. In: **Tratado de Medicina Interna dos Grandes Animais.** v.2, p.1041-1060, 1994.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite.** São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

FREITAS, M.A.Q. **Mastite bovina: importância e controle.** Circular Téc. Pesagroria, n.11, p.14, 1988.

MAPA. **Normas Técnicas e Higiênico-Sanitárias para Produção de Leite Tipo B.** Divisão de Inspeção de Leite e Derivados, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, p.6, 1984.

MARGATHO L.F., HIPOLITO M. & KANETO C.N. **Métodos de prevenção e controle da mastite bovina.** Bolm Téc. no. 9, Inst. Biológico, São Paulo, p.5-35, 1998.

MEDEIROS, E.S., OS SANTOS, M.V., JOSÉ WILTON PINHEIRO JÚNIOR<sup>3</sup>, EDUARDO BENTO DE FARIA<sup>2</sup>, GUIDO GOMES WANDERLEY<sup>5</sup>, JOSÉ ANDREEY ALMEIDA TELES<sup>6</sup> E RINALDO APARECIDO MOTA<sup>3</sup>. **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. v.29, n.1, p.71-75, 2009

NADER FILHO A., SCHOCKEN-ITURRINO R.P., ÁVILA F.A. & MONTANHOLI R.A. Efeito de várias medidas higiênico-sanitárias durante a ordenha na contagem microbiana do leite. **Revta Inst. Laticínios Cândido Tostes**. v.37, p.13-15, 1982.

NEAVE F.K. , KINGWILL R.G. & DOOD F.K.A. **Method on controlling udder disease**. Vet. Rec. v.78, p.521, 1966.

PASSOS, T. **Desinfecção dos tetos pré e pós ordenha**: implicação sobre seus produtos e seu manuseio. Inhaúma, 2004.

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**. Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento (UPD) de Bauru, São Paulo, 2003.