

ESTUDO DA EFICÁCIA ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE FORMULAÇÕES INOVADORAS DE *DIPPINGS* FRENTE A CEPAS DE *S. AUREUS* ISOLADAS DE CASOS DE MASTITE BOVINA

Autores: Caroline Rosa MONTEIRO¹; Hevelin Tabata BONI²; Diogenes DEZEN³; Sérgio Fernandes FERREIRA³; Marcella Zampoli TRONCARELLI^{3,*}

¹Discente do Curso de Medicina Veterinária do IFC-Concórdia e Bolsista PIBITI/CNPq

²Engenheira Química da Indústria Química Boltz

³Docente do Curso de Medicina Veterinária do IFC-Concórdia

*Coordenadora do Programa Pro Latte e Orientadora do Projeto (marcella.troncarelli@ifc.edu.br)

RESUMO

O pré e o pós-*dipping* representam uma das principais medidas relacionadas à higiene de ordenha. O objetivo do presente estudo é avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) de formulações inovadoras desenvolvidas para uso em *dippings*, frente a *Staphylococcus aureus* isolados de casos de mastite bovina. Até o presente momento 10 produtos foram testados frente a 13 cepas de *S. aureus*. O estudo encontra-se em andamento, e estima-se testar as formulações frente a um total de 20 cepas. Os resultados poderão contribuir para o registro de produtos inovadores da linha de *dippings*, e para o delineamento de estudos experimentais *in vivo*.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Dentre as principais medidas de profilaxia e controle da mastite nos rebanhos, ressalta-se a utilização dos *dippings* (DOMINGUES, 2017). Nesse contexto, as indústrias têm focado no desenvolvimento de produtos que promovam não somente a higiene, como também a integridade dos tetos dos animais. O principal objetivo do presente estudo é avaliar a CIM de formulações inovadoras de antissépticos desenvolvidas para uso em *dippings*, frente a cepas de *S. aureus* isoladas de casos de mastite bovina, pela técnica de microdiluição em placa, para



comparação dos resultados e fundamentação de estudos futuros *in vivo*.

METODOLOGIA

Até o momento, foram avaliados 10 diferentes compostos antissépticos, à base de clorexidina (produtos 1 a 3); iodo (produtos 4 a 6); ácido láctico (produtos 7 a 10), sendo alguns com adição de mentol, glicerina e/ou ácido salicílico (Tabela 1). Por se tratarem de soluções inovadoras, e por questão de sigilo industrial, as formulações completas dos produtos ainda não poderão ser reveladas.

A avaliação da CIM foi realizada pela técnica de microdiluição em placa, utilizando corante resazurina como indicador de atividade metabólica celular (TRONCARELLI et al., 2014). Amostras de *S. aureus* isoladas de casos de mastite bovina, obtidas a partir de rebanhos leiteiros do meio-oeste Catarinense, e pertencentes à bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Veterinária do IFC Concórdia, foram utilizadas como inóculo, cuja concentração foi ajustada na escala 1,0 de Mac Farland (QUINN et al., 2005). A CIM foi calculada com base na última diluição do produto em que não houve alteração de coloração do meio. As análises foram realizadas em duplicata, para maior acurácia dos resultados. Os valores de CIM foram expressos em porcentagem. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa SAS System®.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

No presente estudo foram realizadas mais de 3.100 análises, decorrentes da avaliação dos produtos frente a 13 cepas de *S. aureus*. Estima-se testar a eficácia *in vitro* dos diferentes ativos





frente a um total de 20 cepas de *S. aureus*. Os resultados de CIM obtidos até o momento, entre os diferentes produtos, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados médios de Concentração Inibitória Mínima (%) de dez produtos antissépticos testados, frente a 13 cepas de *S. aureus* isoladas de casos de mastite bovina.

Ativo (concentração ativo livre)	Produto	CIM (%)
Clorexidina (4%)	2	0,0123 ^a
Clorexidina (2%)	1	0,0081 ^a
Clorexidina (1,2%)	3	0,0076 ^a
Iodo (1%)	6	0,0360 ^a
Iodo (0,5%)	5	0,0279 ^b
Iodo (0,25%)	4	0,0171 ^c
Ácido láctico (10%)/ácido salicílico/mentol	7	0,2464 ^a
Ácido láctico (5%)/ácido salicílico/mentol	9	0,1564 ^b
Ácido láctico (2,5%)	10	0,0991 ^b
Ácido láctico (3%)/ácido salicílico/mentol	8	0,0863 ^b

Os produtos 1, 2 e 3, à base de clorexidina, têm apresentado maior eficácia antimicrobiana *in vitro*, e não houve diferenças estatisticamente significativas dos valores de CIM encontrados entre as três concentrações deste ativo. Para os produtos 4, 5 e 6, à base de iodo, também foi verificada eficácia satisfatória. O ativo em menor concentração foi estatisticamente mais eficaz que o de maior concentração, o que poderá refletir em economia para a indústria e para o produtor.

Com relação aos produtos 7, 8, 9 e 10 (ácido láctico), verificou-se que o de maior concentração apresentou menor eficácia antimicrobiana *in vitro*, sugerindo que o excesso de ativo não necessariamente determina adequada ação antimicrobiana.

Com base nos resultados obtidos, optou-se por estratificar os produtos acabados, para realização dos testes de CIM dos ativos puros e dos compostos adicionais, individualmente.





Dados parciais obtidos frente a três cepas de *S. aureus* testadas até o momento demonstraram que os compostos: álcool anidro, hidróxido de sódio, ácido salicílico e glicerina bidestilada apresentaram certo grau de ação antimicrobiana. Estes resultados indicam haver possível sinergismo de ação antisséptica entre os diferentes componentes nos respectivos produtos acabados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos na presente pesquisa têm possibilitado avaliar quais ativos/concentrações apresentam melhor eficácia *in vitro* frente a cepas de *S. aureus* isoladas de mastite bovina; o que poderá auxiliar no delineamento de estudos experimentais futuros com vistas à avaliação da eficácia e inocuidade dos produtos *in vivo*.

Ressalta-se a importância da fundamentação científica no desenvolvimento de novos produtos para uso em *dippings*, pois a mesma contribui para o ajuste dos processos industriais e garantia de qualidade dos produtos; elaboração do dossiê de registro junto ao Ministério da





Agricultura, Pecuária e Abastecimento; consolidação da marca no mercado; maior economia à indústria e ao produtor; e melhorias no processo de obtenção higiênica do leite.

REFERÊNCIAS

ANDREWS, J.M. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. 2006. Disponível em: <<http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/Chapter-2-Determination-of-MICs-2006updated.pdf>> Acesso em: 09/03/2017.

BEHIRY, A.E.; SCHLENKER, G.; SZABO, I.; ROESLER, U. *In vitro* susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows with subclinical mastitis to different antimicrobial agents **J Vet Sci.** v.13, n.2, p.153–161, 2012.

DOMINGUES, P.F. Desinfecção e desinfetantes. Disciplina de Higiene Zootécnica. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública FMVZ-UNESP-Botucatu. Disponível em: <<http://www.fmvz.unesp.br/paulodomingues/graduacao/aula5-texto.pdf> > Acesso em: 09/03/2017.

MEDEIROS, E.S. et al. 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.** [online]. 2009, vl.29, n.1, p.71-75.

QUINN, P.J; MARKEY, B.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas.** Ed. Artmed. Porto Alegre, 2005. 512p.

TRONCARELLI, M.Z.; LANGONI, H.; BRANDÃO, H.M.; DIMKIĆ, I.; STANKOVIĆ, S.; RIBEIRO, A.R. Stability and *in vitro* antimicrobial efficacy of a nanopropolis formulation intended for intramammary treatment of bovine mastitis. **Rev. Bras. Hig. San. Anim.**, v.8, n.5, Supl. 1, p.525-546, 2014.

