

**XI MICTI**
Campus São Bento do SulMostra Nacional de Inovação
Científica e Tecnológica Interdisciplinar**IV IFCULTURN**

CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE FORMULAÇÕES INOVADORAS DE ANTISSEPTICOS DESENVOLVIDOS PARA PRÉ E PÓS-DIPPING, FRENTE A CEPAS DE *S. AUREUS* ISOLADAS DE CASOS DE MASTITE BOVINA

MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION OF NEW ANTISEPTIC PRODUCTS FOR USE IN PRE AND POST DIPPING, AGAINST *S. aureus* STRAINS ISOLATED FROM BOVINE MASTITIS CASES

Autores: [Caroline Rosa MONTEIRO](#)¹, Hevelin Tabata BONI, Sérgio Fernandes FERREIRA, Diogenes DEZEN, Marcella Zampoli TRONCARELLI².

Identificação autores: ¹Bolsista PIBITI/CNPq (Edital 22/2017), graduanda do curso de Medicina Veterinária; ²Orientadora Troncarelli IFC-Campus Concórdia

RESUMO

Com o objetivo de avaliar eficácia *in vitro* de formulações inovadoras de *dippings* para uso em rebanhos leiteiros, foram realizados testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a 20 cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos de mastite bovina. Avaliaram-se produtos à base de clorexidina, iodo e ácido láctico, sendo alguns destes adicionados de glicerina, álcool anidro, hidróxido de sódio, *aloe vera*, mentol e/ou ácido salicílico. A pesquisa contribuiu para o delineamento de estudos experimentais *in vivo*. Os resultados comporão o dossiê de registro dos produtos junto ao MAPA, auxiliando na futura disponibilização comercial de novas tecnologias aplicadas ao campo.

Palavras-Chave: Inovação; Leite; Prevenção.

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the *in vitro* efficacy of new teat-dip formulations against 20 *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis' cases, using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test. The evaluated products were chlorhexidine, iodine and acid lactic. Some of these products presented glycerin, anhydrous alcohol, sodium hydroxide, *aloe vera*, menthol and/or salicylic acid as additional compounds. The study has contributed for *in vivo* experimental studies, which are being conducted by now. In addition, the obtained results will be useful for products' registration at Brazilian Government, allowing the future availability of these new technologies on field.

Keywords: Innovation. Milk. Prevention.



INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A utilização de pré e pós-*dipping* é uma medida essencial a ser adotada nos animais, de forma a reduzir a carga contaminante de micro-organismos que podem estar presentes na superfície do teto (TRONCARELLI, 2014).

Na atualidade, as indústrias químicas têm concentrado esforços para desenvolver *dippings* que apresentem ação antisséptica e cosmética. Ativos como clorexidine, ácido láctico e iodo têm sido associados a compostos inovadores com características emolientes, hidratantes, anti-inflamatórias e/ou mentoladas, de maneira a promover a higiene e a integridade dos tetos dos animais.

Para o desenvolvimento de novos produtos antissépticos para uso na profilaxia da mastite bovina recomenda-se a realização, inicialmente, de estudos de eficácia *in vitro*. Com isso, a presente pesquisa foi proposta, de forma a avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) (ANDREWS, 2006) de formulações inovadoras de antissépticos desenvolvidos para uso em pré e pós-*dipping*, frente a cepas de *S. aureus* isoladas de casos de mastite bovina.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nas dependências do Laboratório de Microbiologia Veterinária (LMV) do IFC *campus* Concórdia-SC. Avaliaram-se produtos à base de clorexidina, iodo e ácido láctico, sendo alguns destes adicionados de glicerina, álcool anidro, hidróxido de sódio, *aloe vera*, camomila mentol e/ou ácido salicílico (Figura 1).

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 *Staphylococcus aureus* isoladas de casos de mastite bovina, obtidas a partir de rebanhos leiteiros do meio-oeste Catarinense, e pertencentes à bacterioteca do LMV, 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 os cálculos estatísticos, foi utilizada a análise de comparação de médias, teste de Tukey ($p < 0,05$), referenciado por Statistical Analysis System - SAS System®, 2000.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

No presente estudo foram a avaliação dos produtos frente a 20 diferentes cepas de *S. aureus*. Os resultados de CIM obtidos são apresentados na Figura 1.

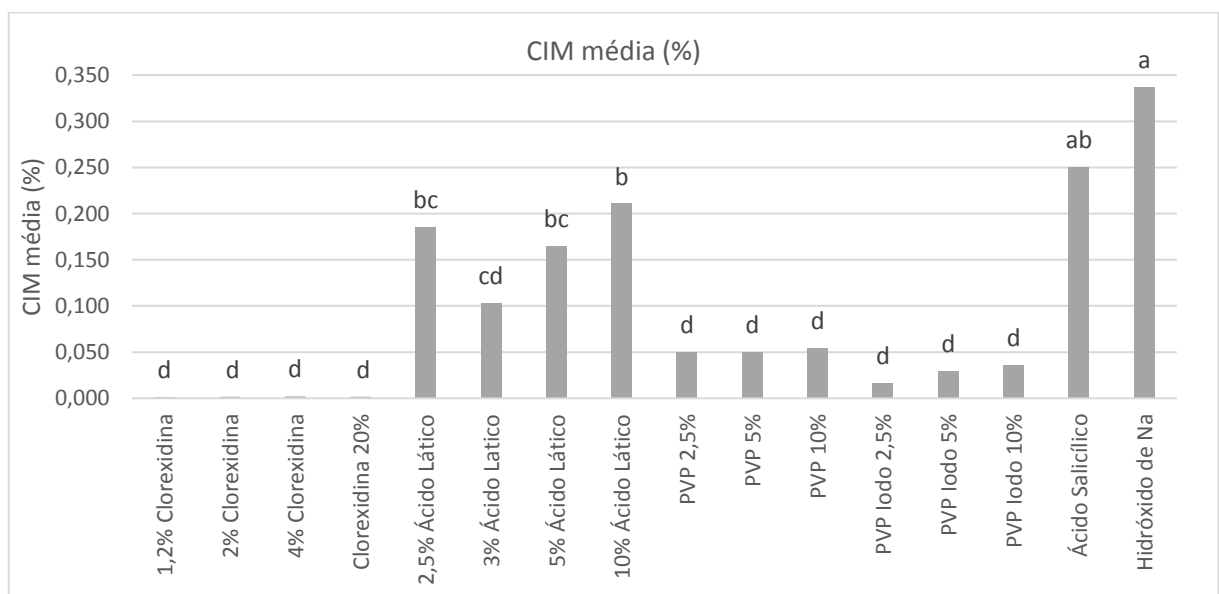


Figura 1 – Resultados médios de Concentração Inibitória Mínima (%) dos produtos antissépticos testados ($p < 0,05$).

Na presente pesquisa, os produtos à base de clorexidina, nas concentrações 1,2; 2,0 e 4,0%; apresentaram eficácia antimicrobiana *in vitro* superior à dos demais



produtos, com CIM média (%) de 0,0015; 0,0017; 0,0020, respectivamente, porém sem diferenças estatisticamente significativas.

Para os produtos à base de iodo, também foi verificada eficácia satisfatória. O ativo em menor concentração (2,5%) foi igualmente eficaz aos de maior concentração (5 e 10%), que apresentaram valores médios de CIM de 0,0165; 0,0292 e 0,0355, respectivamente. Esse fato poderá refletir em economia para a indústria e para o produtor, uma vez que o produto em menor concentração apresenta eficácia similar aos mais concentrados.

Com relação aos produtos à base de ácido láctico, nas concentrações de 2,5; 3,0; 5,0 e 10,0%, foram verificados valores de CIM de 0,1855; 0,1034; 0,1644 e 0,2108%, respectivamente. Neste caso, o ativo de maior concentração (10%) apresentou menor eficácia antimicrobiana *in vitro*, em relação aos demais produtos. Estes resultados indicam que elevadas concentrações de ativo não necessariamente determinam adequada ação antimicrobiana, possivelmente pela sua menor biodisponibilidade.

Nos testes individuais realizados com os componentes adicionais, o hidróxido de sódio e o ácido salicílico apresentaram inibição microbiana, com CIM de 0,3368% e 0,2500%, respectivamente. Também foram testados alguns produtos puros, como a clorexidina a 20%, que apresentou eficácia superior aos demais produtos, com CIM de 0,00152%. O PVPI puro, quando comparado aos produtos à base de iodo, apresentou eficácia similar.

Os demais componentes inovadores adicionais, que não determinaram inibição microbiana, apresentam ação dermatológica ou estabilizante. Como exemplo, os produtos *aloe vera*, camomila e glicerina apresentam ação emoliente, contribuindo para a hidratação da pele dos tetos das vacas. Os resultados obtidos no presente estudo são bastante promissores e contribuirão para o aprimoramento e desenvolvimento de novos produtos destinados a *dippings*.



CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na presente pesquisa possibilitaram avaliar quais ativos/concentrações apresentam melhor eficácia *in vitro* frente a diferentes cepas de *S. aureus* isoladas de mastite bovina. Estes estudos são essenciais para o desenvolvimento de novos produtos para uso em *dippings*, pois contribuem para o ajuste dos processos industriais; para a garantia de qualidade dos produtos 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.

COUTINHO, L.C.A. et al. Eficácia *in vitro* de desinfetantes utilizados na anti-sepsia dos tetos frente a leveduras isoladas do leite de vaca com mastite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Recife, v. 32, n.1, p. 61-65, 2012.

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.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. SAS/ STAT. **User's guide: statistics**, versão 8.1. 4th ed. v. 2, Cary: SAS Institute, 2000. CD-ROM.

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.