

ACÇÃO DE SOLUÇÕES DESINFETANTES EM LEVEDURAS DE IMPORTÂNCIA VETERINÁRIA

TELES, Alessandra Jacomelli¹; MATTEI, Antonella Souza²; MADRID, Isabel Martins³; SANTIN, Rosema⁴; MEIRELES, Mário Carlos Araújo⁵

¹ *Graduanda em Medicina Veterinária – UFPEL, Bolsista IC/CNPq ale.teles@gmail.com*

² *Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas – UFRGS*

³ *Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária – UFPEL*

⁴ *Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – UFRGS*

⁵ *Prof Associado – Depto Veterinária Preventiva – Faculdade de Veterinária - UFPEL*

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o aumento do diagnóstico de infecções fúngicas na clínica de pequenos animais alertou para a importância do controle da proliferação de microrganismos que possam causar infecção e/ou contaminação de ambientes. Programas de higiene e desinfecção são essenciais no controle ambiental de microrganismos potencialmente patogênicos aos homens e animais, e desse modo o uso de desinfetantes é uma das principais ferramentas e um dos procedimentos fundamentais de biossegurança (SANTOS et al., 2007).

Os fungos possuem ampla distribuição na natureza, sendo responsáveis pela contaminação de diversos materiais (LACAZ et al., 2002). Em ambientes hospitalares e clínicas é frequente a presença de fungos e bactérias no ar e superfícies. Infecções fúngicas são observadas com grande frequência e diversos são os agentes patogênicos responsáveis. Dentre as leveduras, se destacam aquelas pertencentes aos gêneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon* e *Rhodotorula* que muitas vezes estão relacionadas com infecções oportunistas em pacientes imunossuprimidos (Mattei et al., 2011).

Visto o potencial patogênico apresentado por muitos fungos, a desinfecção correta do ambiente torna-se muito importante, assim, a escolha de um produto com amplo espectro de ação e com pouca interferência por matéria orgânica é fundamental para a eliminação de patógenos fúngicos do ambiente. Na literatura consultada, os estudos avaliando a ação de desinfetantes frente a fungos de importância médica são escassos e se concentram na área de saúde oral (SILVA & JORGE, 2002).

Tendo em vista este contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a ação antifúngica do cloreto de benzalcônio (amônia quaternária) e derivado fenólico através da técnica de microdiluição em caldo frente a leveduras com potencial patogênico.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Para a realização dos testes de suscetibilidade foram utilizados 25 isolados de fungos leveduriformes pertencentes a diferentes gêneros e espécies, sendo *Candida* (15), *Cryptococcus* (4), *Trichosporon* (2) e *Rhodotorula* (4) obtidos através de amostras coletadas no ambiente do Hospital de Clínicas Veterinária da UFPEL (Tab. 1).

Tabela 1- Leveduras utilizadas no teste *in vitro* com desinfetantes.

Gênero fúngico	Espécie (n)
<i>Candida</i>	<i>C. parapsilosis</i> (1)
	<i>C. glabrata</i> (1)
	<i>C. catenulata</i> (2)
	<i>C. guilliermondii</i> (7)
	<i>C. famata</i> (3)
	<i>Candida</i> sp. (1)
<i>Cryptococcus</i>	<i>Cryptococcus uniguttulattus</i> (3)
	<i>Cryptococcus laurentii</i> (1)
<i>Trichosporon</i>	<i>Trichosporon asahii</i> (1)
	<i>Trichosporon mucoides</i> (1)
<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula</i> sp. (2)
	<i>Rhodotoula mucilaginoso</i> (2)

Nos testes *in vitro* foram usados os desinfetantes com princípio ativo de cloreto de benzalcônio (amônia quartenária) a 2% e derivado cloro-fenol 3% (orto-benzil p-clorofenol 0,25% e orto-fenil fenol 0,50%), os quais foram testados através da técnica de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM). A microdiluição em caldo foi realizada de acordo com o documento M27-A3 do CLSI, adaptado para agentes químicos.

Foram utilizadas placas de microdiluição (96 orifícios) estéreis, as quais foram preenchidas com o inóculo fúngico e com os desinfetantes previamente diluídos em caldo RPMI 1640 adicionado de tampão MOPS, resultando em 2 a 0,062 vezes a concentração de uso indicada pelo fabricante. Nas microplacas, as diluições dos desinfetantes foram preenchidas no sentido das colunas e os inóculos fúngicos no sentido das linhas. A coluna A correspondeu ao controle positivo, sendo preenchida somente com inóculo fúngico e a coluna H foi utilizada como controle de esterilidade sendo preenchida somente com os desinfetantes. Todas as amostras dos isolados foram testadas em duplicata frente aos dois desinfetantes. As microplacas foram incubadas a 35°C e após 72h de incubação foi realizada a leitura visual para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Para a determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi realizada a semeadura de 10µl de cada linha da microplaca em ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol, incubado a 35°C por até cinco dias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no teste de microdiluição em caldo variaram de 0,19 a 1,5 % para o derivado de cloro-fenol e de 0,12 a 0,5 % para cloreto de benzalcônio (Tab. 2).

Os dois desinfetantes testados foram eficazes em todos os isolados provenientes da superfície do ambiente veterinário, com CIM e CFM menor que a concentração indicada pelo fabricante.

Tabela 2 – Intervalos de Concentração Inibitória Mínima (%) e Concentração Fungicida Mínima (%) para derivado cloro-fenol e cloreto de benzalcônio em diferentes isolados de leveduras

Isolado fúngico	Derivado Cloro-fenol		Cloreto de benzalcônio	
	Cl: 3 %		Cl: 2 %	
	CIM	CFM	CIM	CFM
<i>C. parapsilosis</i> (1)	0,75	0,75	< 0,12	< 0,12
<i>C. glabrata</i> (1)	0,37	0,37	< 0,12	0,25
<i>C. catenulata</i> (2)	0,19-0,37	0,19-0,37	< 0,12	0,12-0,25
<i>C. guilliermondii</i> (7)	0,19-0,75	0,19-0,75	0,12-0,5	0,12 -0,5
<i>C. famata</i> (3)	0,19-0,75	0,19-1,5	< 0,12	< 0,12
<i>Candida</i> sp. (1)	0,37	0,37	< 0,12	< 0,12
<i>Cryptococcus uniguttulattus</i> (3)	0,37-1,5	0,37-1,5	0,25-0,5	0,25-0,5
<i>Cryptococcus laurentii</i> (1)	1,5	1,5	0,25	0,25
<i>Trichosporon asahii</i> (1)	< 0,19	< 0,19	< 0,12	< 0,12
<i>Trichosporon mucoides</i> (1)	< 0,19	< 0,19	< 0,12	< 0,12
<i>Rhodotorula</i> sp. (2)	0,19-0,37	0,19-0,37	< 0,12	< 0,12
<i>Rhodotoula mucilaginoso</i> (2)	0,19-0,37	0,19-0,37	< 0,12	< 0,12

Cl: Concentração de uso indicada pelo fabricante

CIM: Concentração inibitória mínima

CFM: Concentração fungicida mínima

Estudos a respeito da atividade antifúngica de desinfetantes em fungos são escassos, estando relacionados a espécies de *Candida* e soluções irrigantes para tratamento de canal a base de hipoclorito de sódio (Estrela et al., 2003; Silva e Jorge, 2002). Em veterinária, pesquisas conduzidas por Xavier et al. (2007) com isolados de diferentes espécies de *Aspergillus* demonstraram a eficácia do cloreto de benzalcônio em baixas concentrações, semelhantes aos resultados encontrados no presente estudo.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho permitem concluir que o cloreto de benzalcônio e o derivado de cloro-fenol são eficazes na concentração de uso indicada pelo fabricante frente aos fungos leveduriformes provenientes do ambiente.

5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, CAPES e FAPERGS.

6 REFERÊNCIAS

ESTRELA, C.; RIBEIRO, R.G.; ESTRELA, C. R. A.; PÉCOR, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Brazilian Dental Journal**, v.14, n.1, p.58-62, 2003.

LACAZ, C.; PORTO, E.; MARTINS, J.; HEINS-VACCARI, E.; MELO, N. **Tratado de Micologia Médica**. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1104p.

MATTEI, A. S.; MADRID, I. M.; SILVA, F. M. V. ; SAMPAIO Jr, P. ; MEIRELES, M. C. A. Fungos patogênicos em superfície de Pet Shop da cidade de Pelotas/RS.. In: **XVIII Congresso de Iniciação Científica**, 2009, Pelotas. XVIII Congresso de Iniciação Científica, 2009

MATTEI, A. S.; SANTIN, R.; MADRID, I. M.; COIMBRA, H. S.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A. Isolamento de fungos filamentosos e gênero *Staphylococcus* em locais de atendimento veterinário. **A Hora Veterinária**, v.30, n.180, p.10-22, 2011.

SANTOS, L. R.; NETO, J. F. S.; RIZZO, N. N.; BASTIANI, P. V.; OLIVEIRA, V. M.; BOSCARDIN, G.; RODRIGUES, L. B.; BARCELLOS, H. H. A.; BRUM, M. V. Eficácia de desinfetantes e anti-sépticos empregados no hospital veterinário da UPF (HV-UPF) Brasil. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia (Uruguaiana)**, v. 14, p. 156-164, 2007.

SILVA, C. R. G. ; JORGE, A. O. C. . Avaliação de desinfetantes utilizados em Odontologia. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, São Paulo, v. 2, n. 16, p. 107-114, 2002.