

## ATIVIDADE DESINFETANTE DO QUATERNÁRIO DE AMÔNIA E DO PINHO SOBRE LEVEDURAS ISOLADAS DE ANIMAIS SILVESTRES

JOSIARA FURTADO MENDES<sup>1</sup>; CRISTINA HALLAL DE FREITAS<sup>2</sup>; PEDRO RASSIER DOS SANTOS<sup>3</sup>; ANNA PIRES TERRA<sup>4</sup>; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE<sup>5</sup>; JOÃO ROBERTO BRAGA DE MELLO<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul – [josiara.mds@hotmail.com](mailto:josiara.mds@hotmail.com)

<sup>2,3,4</sup> Universidade Federal de Pelotas

<sup>5</sup> Universidade Federal de Pelotas – [patn@bol.com.br](mailto:patn@bol.com.br)

<sup>6</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul – [jmello@gabinete.ufrgs.br](mailto:jmello@gabinete.ufrgs.br)

### 1. INTRODUÇÃO

Dentre os diversos agentes patogênicos capazes de produzir infecções estão os fungos, que podem causar sérios danos a animais silvestres e domésticos além do o homem. SPARAGANO & FOGGETT (2009) realizaram um estudo detalhado destes agentes etiológicos apresentando os fungos clinicamente relevantes na Medicina Humana e Veterinária, entre eles *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans* e *Malassezia pachydermatis*.

A limpeza e desinfecção de ambientes têm como meta reduzir a quantidade de microrganismos patogênicos no ambiente de criação. Considera-se que nenhum desinfetante poderá exercer sua ação com eficiência se não houver uma limpeza prévia. Assim a limpeza e desinfecção são duas atividades sequenciais para se obter efeito desejável de criar um ambiente com o mínimo de agressão aos animais (MENDES et al., 2004).

A escolha de um agente químico desinfetante não é uma tarefa fácil frente a grande variedade de produtos existentes no mercado, devendo ser levado em consideração fatores como espectro de atividade desejada, toxicidade, poder residual, custo, estabilidade, e natureza do material a ser tratado. Os principais desinfetantes existentes são álcoois, formaldeído, glutaraldeído, compostos liberadores de cloro ativo (como hipoclorito de sódio), compostos quaternário de amônio (como cloreto de benzalcônio), iodóforos e biguaninas (como clorexidina). Dentre esta gama de opções, não existe um produto que apresente todas as características desejadas a um desinfetante, cada um possui vantagens e desvantagens que devem ser avaliadas no momento da seleção para o uso (MCDONNELL&RUSSEL, 1999).

Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a suscetibilidade *in vitro* de leveduras isoladas de animais silvestres frente ao Quaternário de Amônia, comparado ao do Pinho.

### 2. METODOLOGIA

Foram realizados testes de suscetibilidade *in vitro* com 12 leveduras: *Candida famata*, *C. albicans*, *C. catenulata*, *C. sphaerica*, *C. guilliermondii*, *C. ciferri*, *C. intermedia*, *C. globosa*, *Geotrichum klebahnii*, *Rhodotorula* sp., *Cryptococcus laurentii* e *Tricosporon assahii*. Estes isolados são provenientes da microbiota e de excretas de animais silvestres alojados no Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre (NURFS) do Instituto de Biologia (IB) da UFPel, e foram testados frente a: Quaternário de Amônia 500mg/mL e Pinho 500mg/mL.

A técnica utilizada foi baseada na metodologia proposta pelo CLSI M27-A3 (2008). Foram utilizadas placas de microtitulação estéreis, onde foram feitas dez diluições sucessivas dos desinfetantes (1:2), sendo que estas variaram de 125 à 0,2441mg/mL para Quaternário de Amônio e de 125 à 0,2441mg/mL para Pinho. Em cada diluição foram dispostos os inóculos fúngicos previamente ajustados em meio RPMI líquido. As placas foram incubadas a 37°/48h e após este período foi realizada leitura da Concentração Inibitória Mínima (CIM). A partir dos poços onde as concentrações não apresentaram crescimento do inóculo, alíquotas de 10µL foram semeadas em meio de cultura sólido (Ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol) e incubadas a 37°/24h para verificação da Concentração Fungicida Mínima (CFM).

Todas as amostras fúngicas foram testadas em duplicata frente aos desinfetantes com três repetições.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes *in vitro* realizados com os dois desinfetantes nas concentrações descritas anteriormente, não apresentaram CIM, já que as leveduras estudadas tiveram seu crescimento inibido em todas as concentrações. Foram realizadas então, novas diluições até chegar às concentrações finais: Quaternário de amônia 50mg/mL e Pinho 100 mg/mL.

Frente às novas concentrações pode-se observar a CIM em todos os isolados fúngicos. No Quaternário de Amônia as leveduras apresentaram CIM nas diluições de 0,0244mg/mL, no Pinho as leveduras apresentaram CIM nas diluições entre 0,1953 à 1,5625 mg/mL (Tabela 1). Sugere-se a ação efetiva destes produtos no ambiente, os quais devem ser utilizados em concentrações maiores que a CIM *in vitro* por sofrerem influência dos fatores externos, como temperatura, pH e presença de matéria orgânica (MCDONNELL; RUSSEL, 1999).

Tabela 1: Concentração Inibitória Mínima (CIM) do Quaternário de Amônia e do Pinho frente às 12 espécies de leveduras provenientes de microbiota e de fezes de animais silvestres

Levedura Estudada	Quaternário Amônia (mg/mL)	Pinho 50% (mg/mL)
<i>Rhodotorulla</i> sp.	0,0244	1,1720
<i>Candida albicans</i>	0,0244	0,3906
<i>Candida catenulata</i>	0,0244	0,3255
<i>Candida sphaerica</i>	0,0244	0,2604
<i>Candida guilliermondii</i>	0,0244	0,3255
<i>Candida famata</i>	0,0244	0,3255
<i>Candida intermédia</i>	0,0244	0,3255
<i>Geotrichum klebahnii</i>	0,0244	0,7161
<i>Candida ciferri</i>	0,0244	0,7161
<i>Tricosporon assahii</i>	0,0244	1,1719
<i>Cryptococcus laurentii</i>	0,0244	0,3255
<i>Candida globosa</i>	0,0244	0,3255
<b>Média Final</b>	<b>0,0244</b>	<b>0,5317</b>

Quanto a CFM, tanto o Quaternário de amônia quanto o Pinho demonstraram ação fungistática e fungicida nas mesmas concentrações. Considera-se que nenhum desinfetante poderá exercer sua ação com eficiência se não houver uma limpeza

prévia. A limpeza e desinfecção são duas atividades sequenciais para se obter efeito desejável de criar um ambiente com o mínimo de agressão aos animais. Sendo assim, os programas de higiene e desinfecção são essenciais no controle ambiental de microrganismos potencialmente patogênicos aos animais (MENDES et al., 2004).

A desinfecção deve ser realizada com rodízio periódico de agentes químicos capazes de inibir o crescimento fúngico ou causar a morte desses microrganismos, visando à redução na concentração de conídios inalados pelos animais (KEARNS E LOUDIS, 2003).

Não foram encontrados na literatura consultada (PUBMED; CAPES), estudos *in vitro* sobre a ação do quaternário de amônia sobre leveduras isoladas de animais silvestres. Mas foram localizados outros documentos, onde, de acordo com XAVIER et al. (2007), o Quaternário de Amônia apresentou eficácia frente à todos os isolados de *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* e *A. flavus*, no entanto a amostra de *A. terreus* foi considerada resistente a todas as diluições testadas.

SANTOS et al. (2007) avaliou a atividade fungicida de quatro desinfetantes comerciais, dentre eles Pinho (clorofenol) de uso doméstico frente a *Candida albicans*. O desinfetante clorofenol apresentou inibição total (>99%) do inóculo a partir das diluições de 0,5% a partir da concentração recomendada pelo fabricante.

#### 4. CONCLUSÕES

Nas condições deste estudo, o Quaternário de Amônia e o Pinho demonstraram potencial antimicrobiano fungistático e fungicida contra as diferentes leveduras isoladas de animais silvestres. O Quaternário de Amônia apresentou concentrações inibitórias menores que o Pinho na sua atuação em leveduras.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CLSI - Clinical And Laboratory Standards Institute. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**; approved standard-third edition. CLSI document M27-A3. 3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- KEARNS, K. S.; LOUDIS B. *Aspergillosis* aviar, in Recent Advances in Avian Infectious Diseases, **International Veterinary Information Service**, Ithaca NY, 2003.
- MCDONNELL, G.; RUSSEL, A.D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinical Microbiology Review**, v.12, p.147-179, 1999.
- MENDES, A.A. et al. **Produção de Frangos de Corte**. Campinas, FACTA, Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Agrícola, 2004. Cap. 8, p.117- 119. Cap. 11, p.171-173.
- SANTOS, J. I. Atividade fungicida de desinfetantes comerciais de uso doméstico frente a *Candida albicans*. **6ª SEMANA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO**. Santa Catarina. Anais da 6ª Semana de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2007
- SPARAGANO, O., FOGGETT, S. Diagnosis of clinically relevant Fungi. In: **Medicine and Veterinary Sciences - Advances in Applied Microbiology**, v. 66, p. 29 – 52, 2009.
- XAVIER, M. O. L.M, Madrid, A.R.M, Meinerz, M.B, Cleff, L.F.D, Schuch, M..O, Nobre, M.C.A, Meireles, Atividade “*in vitro*” de três agentes químicos frente a diferentes espécies de *Aspergillus* sp. **Arquivos Institut. Biologico**, v.74, n.1, p.49-53, 2007.