



REDUÇÃO DA CARGA BACTERIANA TOTAL APÓS UTILIZAÇÃO DE DESINFETANTES EM ORDENHA MECÂNICA NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIPAR EM DIFERENTES PERÍODOS

Danilo Ratti da Silva¹; Noemila Debora Kozerski¹; Romana Fernanda Hoffmann²; Isabel Cristina da Silva Caetano³; Lisiane de Almeida Martins⁴

¹Graduados em Medicina Veterinária - Campus Umuarama - PR. Bolsista PEBIC Unipar/Fundação Araucária. Acadêmicos do Curso de Mestrado em Ciência Animal - UNIPAR - Umuarama – PR- e-mail: daniloratti@gmail.com

²Discente Medicina Veterinária - Campus Umuarama - PR. Bolsista PEBIC Unipar.

³Docente da UNIPAR. Egresso do Mestrado em Ciência Animal – UNIPAR.

⁴Docente do Curso de Medicina Veterinária e Mestrado em Ciência Animal - UNIPAR - Umuarama - PR.

Recebido em: 06/05/2013 – Aprovado em: 17/06/2013 – Publicado em: 01/07/2013

RESUMO

O leite pode ser um veículo de transmissão de micro-organismos causadores de várias doenças aos seres humanos. Boas práticas de ordenha estão relacionadas com matéria-prima adequada ao consumo e com redução da possibilidade de transmissão de agentes infecciosos responsáveis pela mastite bovina. A mastite é uma enfermidade destacada na pecuária leiteira, pois traz muitos prejuízos econômicos. Sendo assim é de fundamental importância manter testes como o perfil microbiológico e de resistência a antimicrobianos. E por isso objetivou-se verificar a eficácia dos desinfetantes, quanto a redução da carga bacteriana, testando os principais princípios ativos disponíveis no mercado, nas diluições recomendadas pelo fabricante, tentando estabelecer o melhor tempo de exposição das bactérias aos desinfetantes. Amostras da microbiota da superfície do teto de vacas em lactação do Hospital Veterinário da UNIPAR, foram colhidas com swab estéril de uma área de 1 cm². Em seguida foram utilizados os desinfetantes a base iodo (0,57%), clorexidine (2,0%). Após os períodos de 15, 30, 60 e 120 segundos, foram colhidas novas amostras de cada um dos animais para verificação da redução da carga bacteriana total. As amostras foram cultivadas em Agar Sangue para contagem das colônias. Obtiveram-se resultados significativos de redução das unidades formadoras de colônias frente ao uso de iodo (0.57%) nos tempos de 15”, 30”, 60” 120” e depois da ordenha mecânica. Comprovando a importância de uso de desinfetantes para boas práticas de higiene para garantir a qualidade microbiológica do leite.

PALAVRAS-CHAVE: Boa prática de ordenha; mastite; resistência a antimicrobianos; qualidade microbiológica.

TOTAL BACTERIAL LOAD REDUCTION AFTER THE USE OF DISINFECTANTS IN MILKING THE VETERINARY HOSPITAL AT UNIPAR IN DIFFERENT PERIODS

ABSTRACT

The milk may be a vehicle for transmission of microorganisms causing several diseases in humans. Good milking practices are related to raw material suitable for consumption and reduce the possibility of transmitting infectious agents responsible for bovine mastitis. Mastitis is a prominent disease in dairy farming, as it brings major economic losses. Therefore it is of great importance to keep tests for microbiological profile and antibiotic resistance. Thus, it was aimed to verify the effectiveness of disinfectants concerning the reduction of bacterial load by testing the main active ingredients available in the market, at the dilutions recommended by the manufacturer, trying to establish the best time of exposure of bacteria to disinfectants. Samples from the teats surface microbiota of producing dairy cows from the UNIPAR Veterinary Hospital were collected with a sterile swab from an area of 1 cm². Then it was used iodine-based disinfectants (0.57%), chlorhexidine (2.0%). After periods of 15, 30, 60 and 120 seconds, new samples were collected from each animal to check the reduction in the total bacterial load. These samples were cultured on blood agar for colony counting. The results showed significant reduction of colony-forming units with the use of iodine (0.57%) in a time of 15 ", 30", 60" and 120", and after mechanical milking. It proves the importance of using disinfectants in good hygiene practices to ensure the microbiological quality of milk.

KEYWORDS: Good milking practice, mastitis, antibiotic resistance, microbiological quality.

INTRODUÇÃO

No mercado alimentício, a qualidade deixou de ser simplesmente uma vantagem competitiva e se tornou uma condição fundamental para a comercialização dos produtos. O correto processamento dos alimentos abrange desde a matéria prima até o produto final e tem por objetivo garantir um alimento de boa qualidade e a saúde do consumidor (ZAFALON et al., 2008).

O leite pode ser um meio de transmissão de micro-organismos causadores de várias doenças aos seres humanos. As doenças provocadas por patógenos que se multiplicam no leite e que são responsáveis por intoxicações e infecções alimentares podem ser evitadas, desde que sejam seguidas boas práticas de higiene durante a ordenha e no ambiente da ordenha (ZAFALON et al., 2008).

Durante o processo de ordenha mecânica ou manual existem várias medidas que devem ser tomadas com a finalidade de minimizar a transmissão de agentes mastitogênicos e diminuir o número de micro-organismos que podem contaminar o leite, depreciando sua qualidade microbiológica. A ordenhadeira, a mão do ordenhador, práticas de higiene e lesões nos tetos são fatores importantes que expõem a superfície dos tetos aos micro-organismos patogênicos contagiosos, sendo esses micro-organismos transmitidos de animais infectados para não infectados durante o processo de ordenha (AMARAL et al., 2004). Melhorar a higiene do ambiente também é um dos fatores que contribuem para redução da mastite (BHUTTO et al., 2010).

Mastite é uma doença endêmica que é considerada uma das doenças mais frequentes e cara na indústria leiteira (TOZZETTI, 2008). Pois traz muitos prejuízos econômicos (ANDRADE, 2010), tais como redução da produção de leite, gastos com medicamentos e serviço veterinário, descarte de leite e muitas vezes até eliminação do animal afetado (OLIVEIRA, 2000 citado por FRANZO, 2010).

A mastite é a inflamação da glândula mamária (OLIVEIRA, 2008), e geralmente em consequência de infecção microbiana (BENEDETTE, 2008), sendo inúmeros os micro-organismos causadores. WATTS (1988) em seu trabalho pelo mundo todo relatou um total de 137 agentes.

A mastite é uma enfermidade destacada na pecuária leiteira, pois traz muitos prejuízos econômicos. Sendo assim é de fundamental importância manter testes como o perfil microbiológico e de resistência a antimicrobianos, pois em trabalhos já realizados como o de MEDEIROS et al., (2009), evidenciaram uma alta porcentagem de cepas resistentes, o que reforça a importância do uso adequado e monitorado de antibióticos, já que estes micro-organismos podem ser disseminados pelo leite e se transformarem em sério problema de saúde pública.

Os programas de controle da mastite bovina incluem diversificadas estratégias para diminuir a prevalência em níveis economicamente admissíveis uma vez que a erradicação desta enfermidade não se mostra como uma meta viável (COSTA, 1991 citado por MEDEIROS et al., 2009).

Por isso, há necessidade de educar, informar e instruir os produtores, mostrando que é importante exigir os exames sanitários do rebanho para evitar problemas com a saúde humana, bem como a correta utilização dos desinfetantes. Sendo assim, objetivou-se verificar a eficácia dos desinfetantes, quanto a redução da carga bacteriana, testando os principais princípios ativos disponíveis no mercado, os utilizando na sala de ordenha do Hospital Veterinário da UNIPAR em diferentes tempos de exposição. Além de detectar a carga bacteriana na superfície dos tetos antes do uso dos desinfetantes, com atuação de 15, 30, 60 e 120 segundos para cada um dos princípios ativos e após a ordenha mecânica, nas diluições recomendadas pelo fabricante, tentando estabelecer o melhor tempo de exposição das bactérias aos desinfetantes.

MATERIAL E METODOS

Local de colheita e plano amostral

Amostras da microbiota da superfície do teto de vacas em lactação do Hospital Veterinário da UNIPAR foram colhidas com swab estéril de uma área de um cm². Primeiramente foram colhidas amostras antes do uso dos desinfetantes, essas amostras foram tidas como amostras controle. A seguir foram utilizados um desinfetante a base de iodo (0,57%) e um a base de clorexidine (2,0%), nos períodos de 15, 30, 60 e 120 segundos e colhidas novas amostras em cada um dos tempos de exposição ao desinfetante, de cada um dos animais, para verificação da redução da carga bacteriana total (PEDRINI & MARGATHO, 2003) . A escolha destes dois princípios ativos é justificada pelo fato de seres os mais utilizados em salas de ordenha.

Em seguida os animais foram submetidos a ordenha mecânica e após a ordenha mecânica uma nova amostra da microbiota da superfície do teto dos animais em lactação foi colhida para determinação do número de bactérias totais.

Foram colhidas amostras de cinco vacas, totalizando 60 amostras.

Contagem de Bactérias Totais

Cada uma das amostras colhidas antes, depois da utilização dos desinfetantes e depois da utilização das teteiras, foram acondicionadas em tubos de vidro com tampa rosca contendo três mililitros de caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e no Laboratório de Medicina Veterinária preventiva e saúde animal, foram

cultivadas 100 µL da solução em meio de agar base acrescido de 5-8% de sangue ovino desfibrinado, e incubadas a 37°C por 24 horas. Desta forma foram determinadas as cargas bacterianas totais para cálculo da redução do número de bactérias, o que permite verificar a eficácia do desinfetante, bem como o tempo de exposição a este.

Análise dos resultados

Para análise dos dados, as 60 amostras foram submetidas ao teste de ANOVA, no teste de múltiplas comparações Tukey-Kramer.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram uma maior eficácia do Iodo (0,57%), pois comparando os tempos de atuação do Iodo com a amostra Antes da Ordenha foi possível encontrar resultados com redução estatisticamente significativa de UFC/mL nos tempos de 15", 30", 60", 120" e Depois da Ordenha, respectivamente com ($p < 0,001$) (Figura 01).

Com o uso do clorexidina não foi possível encontrar nenhum resultado estatisticamente satisfatório, mais foi possível notar que houve uma redução no número de UFC/mL após o uso do desinfetante (Figura 02).

Fazendo ainda uma comparação entre os dois desinfetantes foi possível encontrar resultados significativos com redução de UFC/mL nos tempos de 15", 30", 60", 120" e Depois da Ordenha com o uso do clorexidina se comparados ao tempo de Antes da ordenha, amostra controle, do grupo do Iodo (Figura 03).

Nas figuras 1, 2 e 3 encontram-se os resultados obtidos frente aos desinfetantes utilizados no pré e pós-*dipping*, demonstrando que houve uma redução significativa estatisticamente da carga bacteriana total quando utilizado o Iodo.

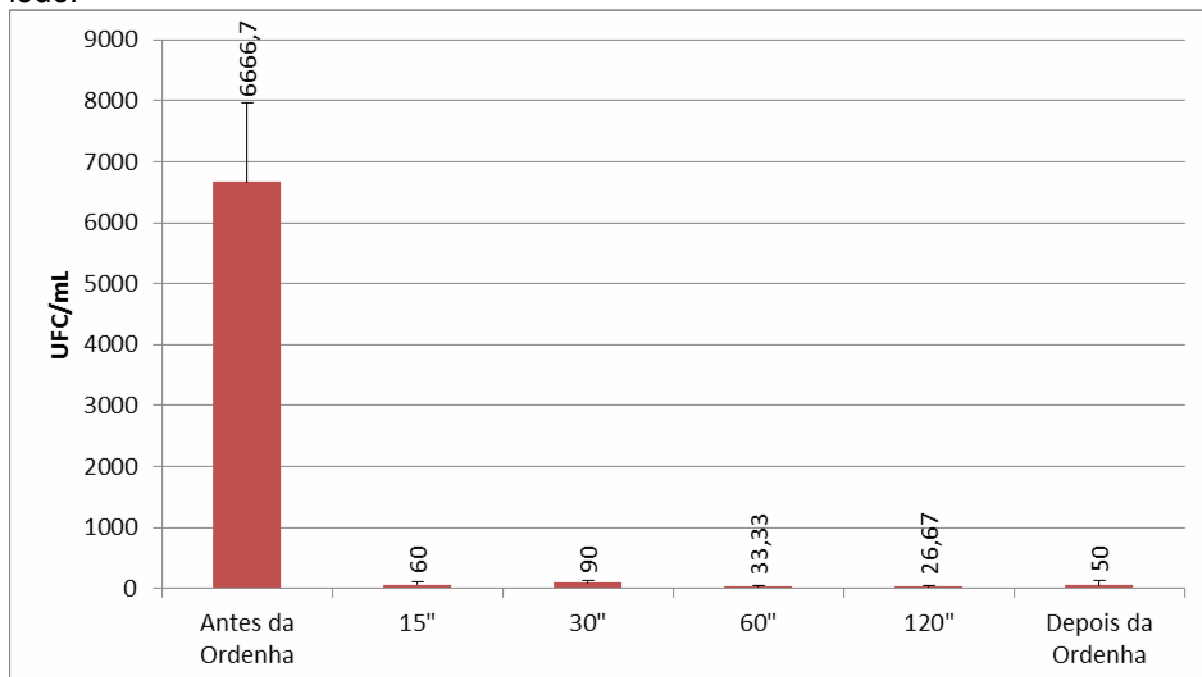


FIGURA 1. Carga bacteriana total em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) frente ao Iodo, antes da ordenha, aos 15, 30, 60 e 120 segundo após a aplicação do desinfetante e após a ordenha.

Foi possível observar resultados significativos de redução das unidades formadoras de colônias frente ao uso de iodo (0.57%) nos tempos de 15", 30", 60" 120" e depois da ordenha mecânica quando comparados com a amostra Antes da Ordenha, que foi a amostra controle.

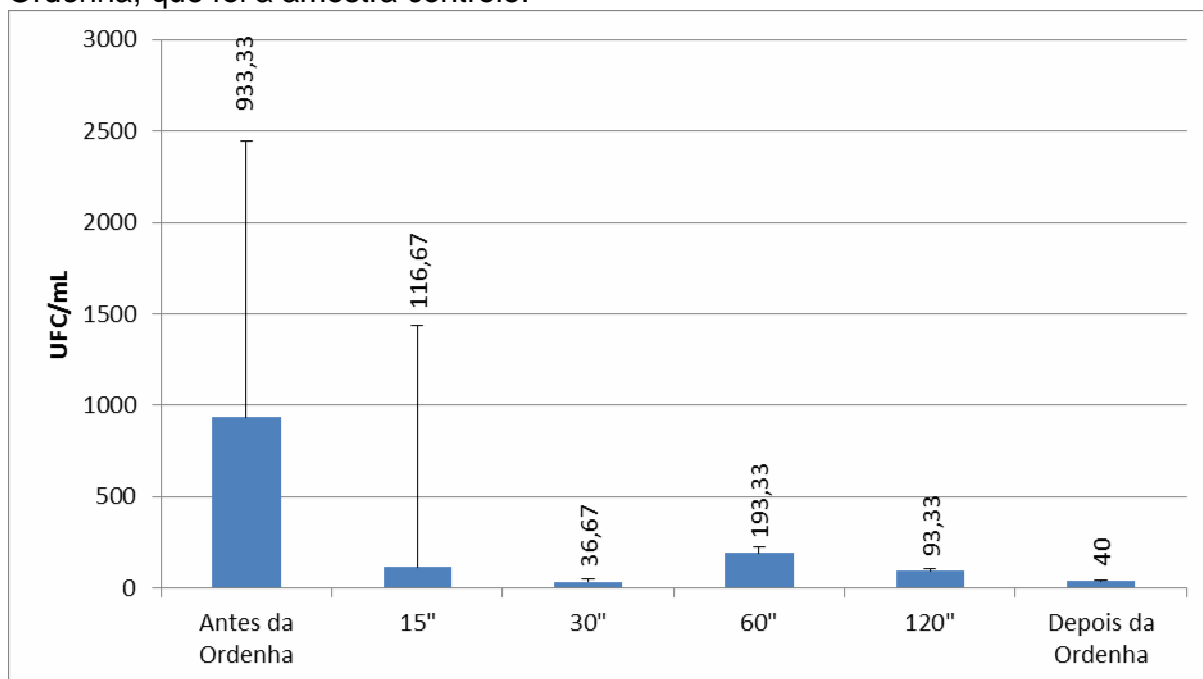


FIGURA 2. Carga bacteriana total em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) frente ao clorexidine, antes da ordenha, aos 15, 30, 60 e 120 segundo após a aplicação do desinfetante e após a ordenha.

Na Figura 2, é possível observar resultados frente ao uso de clorexidine, houve uma redução no número de unidades formadoras de colônia, embora não tenha sido detectada diferença estatística significativa. Nos períodos de 60 e 120 segundos pode-se verificar a atividade bacteriostática e não bactericida como foi detectada com o iodo.

Segundo SOUZA et al., (2005) o procedimento de desinfecção dos tetos antes e após a ordenha, é identificado como uma variável que contribui para redução do aumento da contagem de células somáticas, e consecutivamente na redução da mastite em rebanhos leiteiros (COENTRÃO, 2008).

MENDES (2006) aconselha que após o teste da caneca telada, deve-se fazer a desinfecção dos tetos antes da ordenha (*pré-dipping*) e após o término da ordenha, deve ser realizado o manejo de *pós-dipping*, a fim de reduzir o número de infecção dos animais pelos micro-organismos presentes nos tetos dos animais.

Em estudo dos fatores de risco associados a mastite bovina, OLIVEIRA et al. (2012) obtiveram um total de 477 amostras positivas ao exame microbiológico de um total de 1260 amostras, onde uma entre as demais variáveis foi o *pré-dipping* ($p < 0,0001$), das 1260 amostras 465 foram advindas de propriedades que realizavam o *pré-dipping*, das quais 126 (27,1%) foram positivas ao exame microbiológico e 339 (72,9%) foram negativas e o restante das amostras, 795 foram resultantes de propriedades que não realizavam o *pré-dipping*, com 351 (44,2%) amostras que foram positivas no microbiológico e 444 (55,8%) foram negativas.

Em trabalho realizado em 19 municípios do norte do Paraná, VALLIN et al., (2009) avaliaram a eficácia da implantação de Boas Práticas na ordenha, testadas e recomendadas pelo Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem

Animal – LIPOA, sendo elas: desprezo dos três primeiros jatos de leite, *pré-dipping* direto com solução clorada 750 ppm em caneca sem refluxo, higienização manual vigorosa de baldes, latões e refrigeradores com detergente alcalino clorado 2% e fibra macia LT Scotch-Brite ou similar e inversão dos latões e baldes e inclinação de refrigeradores para escoamento da água residual (FAGAN et al., 2005), e obtiveram resultados satisfatórios, pois houve redução média de 87,90% na CBT (contagem bacteriana total) nas propriedades com ordenha manual e 86,99% nas propriedades com ordenha mecânica. Houve também uma redução média de 33,94% e 51,85% no CCS (contagem de células somáticas) em propriedades com ordenha manual e ordenha mecânica, respectivamente. Confirmando então a eficiência das práticas implantadas.

MEDEIROS et al., (2009) avaliando a sensibilidade *in vitro* de *Staphylococcus* spp. frente a alguns desinfetantes comerciais, utilizando cloro (2,5%), iodo (0,57%), clorexidine (2%), amônia quaternária (4%) e ácido láctico (2%) e obteve bons resultados com o cloro, o iodo e a clorexidine, sendo ressaltado que no presente estudo, somente foi eficiente a ação do iodo.

Em trabalho realizado por PEDRINI & MARGATHO (2003) com o objetivo de testar desinfetantes comerciais em diferentes concentrações, utilizaram tintura de iodo, hipoclorito de sódio, digluconato de clorexidina e cloreto de benzalcônio. Obtiveram bons resultados com hipoclorito de sódio a 2%, cloreto de benzalcônio a 1% e clorexidina a 1% e a 0,5%, contradizendo os resultados deste experimento.

Em pesquisa desenvolvida por BARIONI et al. (2006) na Fazenda Roças Velhas na cidade de Cariacica – ES, 20 vacas receberam tratamento *pré-dipping* com hipoclorito de sódio de três formas distintas, as amostras foram colhidas com *swabs* e semeadas em meios seletivos. E não foi possível observar a redução significativa de *Staphylococcus* sp. e *S. aureus*, comparando-se tetos tratados e controle. Só obtiveram resultados significativos frente a coliformes.

BRITO et al., (2000) em um experimento com 36 vacas avaliando a contagem bacteriana da superfície de tetos, obtiveram bons resultados com o uso de imersão dos tetos em solução de iodo (4000ppm) e secagem com papel toalha descartável, e higienização com papel toalha embebida em solução desinfetante contendo clorexidina. Onde os valores médios de contagem totais de bactérias foram 2,2 e 2,4 respectivamente, se comparados a lavagem com água e secagem com papel descartável que foi de 1,8. Podendo haver uma redução do número de bactérias em mais de 90% se os tetos forem cuidadosamente higienizados.

COUTINHO et al., (2012), avaliando, *in vitro*, a eficácia de alguns desinfetantes comerciais frente a amostras de levedura em diferentes tempos, encontraram resultados satisfatórios com o uso da clorexidine (2%), onde 100% das amostras foram sensíveis em todos os tempos de exposição, em seguida vieram os resultados com o uso do iodo (0,57%), onde 83,33% dos isolados foram sensíveis em 15" de exposição, 91,67% em 30" e 100% nos tempos de 60", 300" e 600", demonstrando a eficácia dos desinfetantes não só em bactérias, mas em outros micro-organismos relevantes na mastite, como as leveduras.

Na maioria das vezes, o que se leva em consideração na hora da escolha dos desinfetantes é: o hábito de uso, a facilidade de aplicação e o preço acessível, mas deve-se lembrar que o uso inadequado ou em baixas concentrações, favorece a seleção natural de cepas resistentes. Esta é considerada uma ferramenta simples e indispensável que minimiza o risco de transmissão do patógeno durante a ordenha e aumenta a qualidade microbiológica do leite produzido. Sendo assim, o objetivo da desinfecção dos tetos é a redução nos números de micro-organismos.

CONCLUSÕES

O iodo (0,57%) apresentou bom desempenho contra os micro-organismos presente na superfície dos tetos, com resultados significativos quando comparado a clorexidina, onde foi possível observar uma redução do número de unidade formadora de colônias. Comprovando a importância de uso de desinfetantes para boas práticas de higiene e limpeza para a qualidade microbiológica do leite.

REFERÊNCIAS

AMARAL L. A.; ISA, H.; DIAS, L. T.; ROSSI Jr, O. D.; NADER FILHO, A. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 173-177, 2004.

ANDRADE, U. V. C. **Potencial antibacteriano do extrato hidrossolúvel de própolis obtido por hidrólise alcalina para a inibição de cultivos de *Staphylococcus aureus* e higienização de pré e pós - imersão de tetos de vacas leiteiras.** Curitiba, 2010. f. 85. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos.

BARIONI, G.; BORSOI, A. B.; BELTRAME, M. A. V.; OLIVEIRA, R. O. C.; JÚNIOR, R. R. A. Eficácia de diferentes métodos de aplicação do *pré-dipping* sobre a contagem de bactérias na superfície dos tetos. **Scientia: Revista do Centro Universitário Vila Velha**, Vila Velha (ES), v. 7, n. 1/2, p. 7-17, 2006.

BENEDETTE, M. F.; SILVA, D.; ROCHA, F. P. C.; SANTOS, D. A. N.; COSTA, E. A. D' A.; AVANZA, M. F. B. Mastite bovina. **Revista Científica Eletônica De Medicina Veterinária**. Ano VI, Número 11, 2008.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; VERNEQUE, R. S. Contagem bacteriana da superfície de tetos de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 847-850. 2000.

BHUTTO, A. L.; MURRAY, R. D.; WOLDEHIWET, Z. Udder shape and teat-end lesions as potential risk factors for high somatic cell counts and intra-mammary infections in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 183, p. 63–67, 2010.

COENTRÃO. C. M.; SAUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; PAIVA E BRITO, M. A. V.; LILENBAUM, W. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p.283-288, 2008.

COUTINHO, L. C. A., MEDEIROS, E. S.; SILVEIRA, N. S. S.; SILVA, L. B. G.; MOTA R.A. Eficácia *in vitro* de desinfetantes utilizados na anti-sepsia dos tetos frente a leveduras isoladas do leite de vaca com mastite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 61-65, 2012.

FAGAN, E. P.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; MULLER, E. E.; NERO, L. A.; SANTANA, E. H. W.; MAGNANI, D. F. M.; VACARELLI, E. R.; SILVA, L. C.; PEREIRA, M. S. Evaluation and implementation of good practices in main points of microbiological contamination in milk production. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 83-92, 2005.

FRANZO, V. S.; VULCANI, V. A. S. Barreiras morfológicas contra infecção da glândula mamária de ruminantes. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 16, Ed. 121, Art. 816, 2010.

MEDEIROS, E. S.; SANTOS, M. V.; PINHEIRO JR, J. W.; FARIA, E. B.; WANDERLEY, G. G.; TELES, J. A. A.; MOTA, R. A. Avaliação *in vitro* da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 71-75. 2009.

MENDES, M. H. A. F. **Produção higiênica do leite: boas práticas agrícolas**. Brasília, 2006. 44 f. Dissertação (Pós-graduação em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal). Universidade Castelo Branco.

OLIVEIRA, J. M. B.; VANDERLEI, D. R.; MORAES, W. S.; BRANDESPIM, D. F.; MOTA, R. A.; OLIVEIRA, A. A. F.; MEDEIROS, E. S.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W. Fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Garanhuns, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n. 5, p. 391-395, 2012.

OLIVEIRA, M. R.. Mastite bovina. **Saber Digital: Revista Eletrônica do CESVA**, Valença, v. 1, n. 1, p. 244, mar./ago. 2008. Disponível em: <http://www.faa.edu.br/revista/v1_n1_rtcc07.pdf>. Acesso em: 30 de Maio de 2012.

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. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 4, p. 391-395, 2003.

SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; MOREIRA, E. C.; BRITO, M. A. V. P.; BASTOS, R. R. Fatores de risco associados à alta contagem de células somáticas do leite do tanque em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. n. 57, p. 251-260. 2005.

TOZZETTI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – revisão de literatura. **Revista Científica Eletônica De Medicina Veterinária**. Periodico semestral, Ano VI, n. 10, Janeiro de 2008.

VALLIN, V. M.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P. P.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; ANGELA, H.L.; SILVA, L. C. C. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 30, n. 1, p. 181-188, 2009.

WATTS, J. I. **Etiological agents of bovine mastitis**. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378113588901265>> Acesso em: 03 de Junho de 2012.

ZAFALON, L. F.; POZZI, C. R.; CAMPOS, F. P.; ARCARO, J. R. P.; SARMENTO, P.; MATARAZZO, S. V. Boas práticas de ordenha [Recurso eletrônico]. São Carlos: **Embrapa Pecuária Sudeste**, 2008. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/876545/1/documentos78.pdf>> Acesso em: 01 de junho de 2012.