

CONTAGEM BACTERIANA DA SUPERFÍCIE DE TETAS DE VACAS SUBMETIDAS A DIFERENTES PROCESSOS DE HIGIENIZAÇÃO, INCLUINDO A ORDENHA MANUAL COM PARTICIPAÇÃO DO BEZERRO PARA ESTIMULAR A DESCIDA DO LEITE

BACTERIAL COUNTS ON THE SURFACE OF THE TEATS OF COWS MILKED UNDER DIFFERENT METHODS OF UDDER PREPARATION, INCLUDING COWS MILKED BY HAND AND STIMULATED BY SUCKLING A CALF

José Renaldi Feitosa Brito¹ Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito² Rui da Silva Verneque²

RESUMO

A pele da teta é uma das principais fontes de contaminação microbiana do leite cru, além de ser uma fonte de infecção da glândula mamária. Este estudo comparou diferentes métodos de preparação do úbere, incluindo a participação do bezerro para estimular a descida do leite, em relação à contaminação microbiana da pele da teta. Um experimento com 36 vacas ordenhadas mecanicamente foi conduzido para comparar três procedimentos (A, B, C) de preparação do úbere. Duas tetas de cada vaca foram amostradas para contagem total de bactérias (CTB) e de coliformes, antes e após lavagem com água e secagem com papel toalha descartável (A); procedimento A, mais imersão das tetas em solução de iodo (4.000ppm) e secagem com papel toalha descartável (B); higienização com toalha de papel embebida em solução desinfetante contendo clorexidina (C). O segundo experimento incluiu 16 vacas ordenhadas manualmente, na presença do bezerro. Permitiu-se a cada bezerro mamar as quatro tetas por alguns segundos, de acordo com o manejo do rebanho. Amostras para bacteriologia de duas tetas de cada vaca foram coletadas, antes, após a mamada do bezerro, e após higienização semelhante ao procedimento C, citado acima. Os tratamentos foram analisados usando-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, considerando-se os dados de tCTB após o uso de um dos métodos de preparação do úbere ou da mamada do bezerro. Usou-se a transformação das contagens bacterianas para a escala logarítmica em base 10, com a fórmula $tCTB = \log_{10}(CTB + 0.5)$. Para os grupos A, B e C (primeiro experimento), os valores médios de diminuição de tCTB foram 1,8, 2,2 e 2,4, respectivamente. No segundo experimento, as CTB's aumentaram significativamente ($P < 0,05$) de 3,2 para 4,3 após a mamada do bezerro, mas houve uma redução ($P < 0,01$) de mais de dez vezes após a aplicação do desinfetante (2,0). Os resultados indicaram que: (a) lavagem das tetas com água seguida de secagem com papel toalha reduz o número de microrganismos da

superfície das tetas, mas a redução é muito maior quando se emprega um desinfetante; (b) a mamada do bezerro antes da ordenha aumenta em mais de dez vezes o número de bactérias na superfície das tetas; (c) o número de bactérias na pele das tetas pode ser reduzido em mais de 90% após a mamada do bezerro, se as tetas forem cuidadosamente desinfetadas. Nas condições dos experimentos realizados, a presença de coliformes foi insignificante.

Palavras-chave: ordenha, higiene, antissepsia das tetas, preparação para ordenha, estimulação à descida do leite, mastite, tetas, contagem total de bactérias.

SUMMARY

The teat skin is one of the main sources of microbial contamination of raw milk as well as a source of mastitis infection. This study assessed the microbial load of the teat skin following the application of the different practices for preparing the udder, including the use of calf suckling to stimulate the letdown of milk. Thirty-six cows milked by machine were included in one experiment. Two teats of each cow were sampled for bacteriology before and after using one of three methods of udder preparation, as follows: rinsing with water and drying with single paper towels (A); method A plus pre-dipping with an iodine teat dip (4,000ppm) and drying with single paper towels (B); wiping teats using a commercial wet non-woven wipe pre-soaked with a solution containing chlorhexidine (C). The second experiment included 16 cows milked by hand. The calf of each cow was allowed to suck the four teats for a few seconds, and then two teats per cow were sampled for bacteriology. Samples were collected before, after calf suckling and following teat pre-milking treatment (as for group C, above). Statistical analysis was conducted on transformed (\log_{10}) data with $tTBC = \log_{10}(TBC + 0.5)$ using a Kruskal-Wallis test. Each

¹Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610, 36038-330, Juiz de Fora, MG, Bolsista do CNPq. E-mail: jrfbrito@cnpq.embrapa.br. Autor para correspondência.

²Pesquisador da Embrapa Gado de Leite.

treatment was analysed considering the difference in *t*TBC after the use of either method of preparation of the udder or calf sucking. For groups A, B and C (first experiment), *t*TBC values were reduced 1.8, 2.2 and 2.4, respectively. In the second experiment, *t*TBC increased significantly ($P < 0,05$) after calf sucking (from 3.2 to 4.3). After disinfection the *t*TBC was significantly reduced to 2.0. These results show that: (a) teat rinsing with water and wiping dry reduces the number of microorganisms on the teat skin, but the reduction is significantly higher when teats are disinfected; (b) calf sucking before milking increases significantly the number of microorganisms on teat skin; (c) the number of microorganisms on teat skin can be reduced more than 10 times after calf sucking if teats are disinfected. Very low numbers or no growth of coliforms were observed in all cases.

Key words: milking, calf sucking, calf stimulation, letdown of milk, hygiene, pre dipping, mastitis, total bacterial count, teats.

INTRODUÇÃO

Os critérios indicativos da alta qualidade higiênica do leite cru incluem baixo número de microrganismos saprófitas e ausência ou número muito pequeno de microrganismos patogênicos (HEESCHEN, 1996). Três fontes de contaminação microbiana do leite cru são reconhecidas: o interior da glândula mamária, o exterior do úbere e das tetas e os equipamentos de ordenha e de armazenamento do leite (SLAGHUIS, 1996). Diferenças na contaminação das tetas podem ser encontradas em vacas mantidas estabuladas ou a pasto, sendo consideradas importantes fontes de contaminação materiais usados como cama e ração (nos sistemas estabulados) e as fezes, nas duas situações (SLAGHUIS, 1996).

A higienização das tetas antes da ordenha contribui para melhorar a qualidade do leite e para prevenir e controlar as infecções da glândula mamária (PANKEY, 1989). Os cuidados higiênicos atualmente recomendados para o período da ordenha baseiam-se em estudos e procedimentos que contemplam o manejo e os equipamentos da ordenha mecanizada (HILLERTON, 1996). A maioria das vacas leiteiras do mundo são ainda ordenhadas manualmente (HOMAN & WATTIAUX, 1995), embora a ordenhadeira mecânica esteja em uso e em contínuo aperfeiçoamento por mais de cem anos.

No Brasil, além de a ordenha manual ser adotada em grande número de rebanhos, empregase, com frequência, a mamada do bezerro para estimular a descida do leite (BENEDETTI & PEDROSA, 1996; SAMARA *et al.*, 1996), sendo essa prática comum em outros países em desenvolvimento (AKHTAR & ALI, 1994; OUOLOGUEM *et al.*, 1994; SANYANG *et al.*, 1995; COULIBALY & NIALIBOULY, 1998). Há indicações de que os mesmos princípios higiênicos e de rotina de ordenha que são recomendados para a ordenha mecânica

devam ser aplicados nos sistemas de ordenha manual (HOMAN & WATTIAUX, 1995; BROWN *et al.*, 1998). No entanto, a prática de se colocar o bezerro para mamar, como parte da preparação do úbere e estímulo à descida do leite, pode contribuir para a contaminação das tetas e dificultar os procedimentos higiênicos da ordenha. Este estudo teve o objetivo de avaliar a contaminação microbiana da pele de tetas de vacas submetidas a diferentes condições de preparação para a ordenha, com ou sem a participação do bezerro.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho constou de dois experimentos. No primeiro, 36 vacas lactantes foram distribuídas em três grupos, de acordo com o método de preparação para a ordenha: (i) lavagem das tetas com água e secagem com papel toalha (grupo A); (ii) lavagem das tetas com água, secagem com papel toalha e imersão em solução comercial à base de iodo (4.000ppm) e secagem com papel toalha descartável (grupo B); (iii) higienização das tetas com auxílio de toalha de papel desinfetante contendo em sua formulação etanol, cetrimida, digluconato de clorexidina e água (Kacel)^a (grupo C). Um total de 76 tetas foram examinadas, antes e após cada processo de higienização, sendo amostradas duas tetas (anterior e posterior) por animal. Todas as vacas foram ordenhadas mecanicamente, respeitando-se os procedimentos adotados na rotina da fazenda.

O segundo experimento foi conduzido para avaliar a contribuição para o aumento da contagem total de bactérias da superfície das tetas, em razão da estimulação táctil (mamada) pelo bezerro. Avaliou-se, também, o efeito da antisepsia das tetas, após a mamada, para reduzir a contaminação bacteriana. Dezesesseis vacas foram incluídas no estudo. Elas eram ordenhadas manualmente e seus bezerreros eram colocados a mamar em uma ou mais tetas para estimular a descida do leite. Duas tetas de cada vaca (anterior e posterior) foram amostradas antes, após a mamada do bezerro e, novamente, após a antisepsia, totalizando 96 exames.

O material para exame bacteriológico de cada teta foi obtido com auxílio de "swab" esterilizado com raios gama (Cecon)^b, recomendado para coleta de amostras para bacteriologia. Foram realizados quatro movimentos cruzados sobre uma área de 1cm² na região mediana da teta (GALTON *et al.*, 1986). Após a coleta, cada "swab" foi colocado imediatamente em um tubo de ensaio esterilizado, contendo 10mL de soro fisiológico (NaCl 0,85%). Desde o momento da coleta até a realização dos exames no laboratório, as amostras foram mantidas em recipiente isotérmico, com gelo. Os exames

bacteriológicos consistiram da contagem total de bactérias (CTB) e de coliformes e foram realizados dentro de uma hora após a coleta das amostras (MARSHALL, 1992). Considerou-se a diluição inicial de 1:10, obtendo-se daí as diluições 1:100 e 1:1.000, a partir das quais se fez a semeadura em placas de ágar-métodos-padronizados e de ágar MacConkey (Biobrás)⁶, ambas em duplicatas. As contagens foram realizadas após 48 horas de incubação a 37°C em condições de aerobiose, considerando-se as diluições em que se obtiveram entre 30 e 300 unidades formadoras de colônias (UFC), calculando-se a média aritmética das duas placas de cultura, exceto para as de MacConkey, em que se contaram todas as colônias, em razão do reduzido crescimento bacteriano.

Para comparar os resultados entre os diferentes métodos de preparação das tetas, os níveis de contaminação foram determinados considerando-se as diferenças da CTB e de coliformes antes e após cada procedimento. Para a análise estatística, as contagens bacterianas foram transformadas para a escala logarítmica em base 10, usando-se a fórmula $tCTB = \log_{10}(CTB + 0,5)$. Os tratamentos foram analisados usando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, considerando-se os dados de tCTB após o uso de desinfetante, toalha desinfetante ou mamada do bezerro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de água corrente e a secagem com papel toalha reduziram o número de bactérias na pele das tetas, mas a redução foi significativamente maior ($p < 0,05$) com o uso de qualquer um dos métodos de antissepsia usados (iodo ou toalha com clorexidina), sendo que esses dois métodos não diferiram ($P > 0,05$) entre si (Tabela 1). A redução da contaminação bacteriana das tetas observada em qualquer um dos casos foi de aproximadamente 90%, resultado semelhante aos relatados por McKINNON *et al.*, (1983), GALTON *et al.*, (1986) e SLAGHUIS (1996), demonstrando que o processo de higienização adotado era adequado e eficiente em rebanhos comerciais. A contagem de coliformes apresentou reduzido número de UFC e, mesmo assim, de forma esporádica, não sendo observado um padrão uniforme de contaminação por esse grupo de microrganismos. A contaminação por coliformes reduzida, mesmo em situações em que as tetas são consideradas muito sujas e não lavadas, tem sido relatada (McKINNON *et al.*, 1983). Os microrganismos isolados das tetas são, principalmente, dos grupos dos micrococos e ba-

Tabela 1 - Médias dos dados transformados (\log_{10}) das contagens totais de bactérias, de 1cm² da superfície da teta de vacas submetidas a diferentes procedimentos de preparação para ordenha

Etapa	Preparação higiênica das tetas antes da ordenha ¹		
	A ²	B	C
Antes da preparação (AP)	4,5 (3,7 - 5,2)	4,4 (2,5 - 5,5)	4,3 (2,0 - 5,5)
Depois da preparação (DP)	2,7 (1,7 - 3,4)	2,2 (-0,3 - 4,4)	1,9 (-0,3 - 4,4)
Diferença (DP-AP)	1,8 (1,0 - 2,5)	2,2 (-0,2 - 3,7)	2,4* (-0,1 - 5,6)

¹ A: tetas foram lavadas com água e secadas manualmente com toalha de papel descartável; B: produto à base de iodo foi usado para higienizar as tetas, após a lavagem tradicional, secando-se manualmente com toalha de papel descartável, após 30 segundos; C: usou-se toalha de papel embebida em antisséptico (clorexidina) para higienização das tetas.

² Média e valores mínimos e máximos entre parênteses.

*(C>A) ($P < 0,05$).

cilos aeróbios formadores de esporos (SLAGHUIS, 1996). Esses resultados são, aparentemente, contraditórios em relação à recomendação de se realizar a antissepsia antes da ordenha com o objetivo de reduzir as mastites causadas por microrganismos do ambiente, no qual se incluem os coliformes; mas podem ser explicados pelo fato de grande número de estreptococos serem incluídos no grupo de patógenos do ambiente (GALTON *et al.*, 1988; PANKEY, 1989).

Os resultados do segundo experimento são apresentados na tabela 2. Nota-se que a mamada do bezerro para estimular a descida do leite contribuiu para aumentar em mais de dez vezes o número de microrganismos da superfície das tetas. Tem sido reconhecido que a lavagem com desinfetante e secagem com papel toalha são requisitos essenciais para se reduzir a contagem de bactérias das tetas e do leite (McKINNON *et al.*, 1983; GALTON *et al.*, 1986; McKINNON *et al.*, 1990). A preparação do úbere com ajuda do bezerro umedece a superfície

Tabela 2 - Contagem total de bactérias (em unidades formadoras de colônias/cm²) (UFC/cm²) e em dados transformados (\log_{10}), em 1cm² da superfície da teta de vacas ordenhadas manualmente e cujos bezerreros eram colocados a mamar para estimular a descida do leite

	Antes da mamada	Após a mamada	Após antissepsia
UFC/cm ²	4.300	56.200	2.500
\log_{10}	3.2b ¹	4.3a	2,0c

¹a>b>c ($p < 0,05$).

das tetas e cria duas situações de risco: o aumento da contaminação pelas bactérias próprias da cavidade oral do bezerro e o fato de a superfície das tetas molhadas propiciar maior facilidade de colonização por bactérias. Dessa forma, a participação do bezerro pode dificultar a implementação de práticas higiênicas, tais como a de ordenhar tetas limpas e secas, que são importantes do ponto de vista de garantia da qualidade e do controle da mastite (PANKEY, 1989). A superfície das tetas não é a única fonte de microrganismos no leite, mas é reconhecida como um dos principais contribuintes (PANKEY, 1989; SLAGHUIS, 1996; MURPHY, 1997). Os dados apresentados na tabela 2 mostram, todavia, que é possível reduzir a contagem de bactérias adotando-se a higienização das tetas com um antisséptico apropriado. Os dados obtidos neste trabalho demonstram ser possível reduzir em mais de dez vezes o número de microrganismos da superfície das tetas após a higienização, mesmo considerando-se o aumento significativo de bactérias após o bezerro ter mamado.

FONTES DE AQUISIÇÃO

a Kacel Indústria e Comércio de Produtos de Higiene Ltda.; Estrada das Nações, 450, Jd. Belval, Barueri, SP.
 b Cecon Centro de Controle e Produtos para Diagnóstico Ltda. Rua Maranguape, 84, Vila Sônia, São Paulo, SP
 c Biobrás - Bioquímica do Brasil S.A Av. C, 1413, Montes Claros, MG.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Luiz Ricardo da Costa e Eder S. dos Reis pela ajuda na coleta das amostras; a Marco Antônio S. Silva, pela ajuda nas análises laboratoriais; e a Kacel Indústria e Comércio de Produtos de Higiene Ltda.; Barueri, SP, pelo fornecimento das toalhas desinfetantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKHTAR, S., ALI, S. Monitoring of bovine health problems of small dairy herds in Islamabad capital territory: design, data and disease frequencies. **Tropical Animal Health and Production**, v.26, p.193-198, 1994.
- BENEDETTI, E., PEDROSO, D.S. G. Efeitos da ordenha mecânica sobre a saúde do úbere. **Veterinária Notícias**, v.2, p.51-60, 1996.
- BROWN, D.F., ARDAYA, V.D.H., RIBERA, C.A.M. *et al.* Mastitis control programme in the developing dairy industry of Tropical Lowland Bolivia. **Tropical Animal Health and Production**, v.30, p.3-11, 1998.
- COULIBALY, M., NIALIBOULY, O. Effect of suckling regime on calf growth, milk production and offtake of Zebu cattle in Mali. **Tropical Animal Health and Production**, v.30, p.179-189, 1998.
- GALTON, D.M., PETERSSON, L.G., MERRILL, W.G. Effects of premilking udder preparation practices on bacterial counts in milk and on teats. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.260-266, 1986.
- GALTON, D.M., PETERSSON, L.G., MERRILL, W.G. Evaluation of udder preparations on intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.1417-1421, 1988.
- HEESCHEN, W.H. Bacteriological quality of raw milk: legal requirements and payment systems. Situation in the EU and IDF member countries. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION SYMPOSIUM ON BACTERIOLOGICAL QUALITY OF RAW MILK. 1996, Wolfpassing. **Proceedings...** Wolfpassing, Austria : IDF, 1996. 178p. p.1-18.
- HILLERTON, J.E. Controle da mastite bovina. In: BRITO, J.R. F., BRESSAN, M., (ed). **Controle integrado da mastite bovina**. Juiz de Fora : Embrapa-CNPGL, 1996. p.10-52.
- HOMAN, E.J., WATTIAUX, M.A. **Lactation and milking**. Madison : Babcock Institute for International Dairy Research and Development/University of Wisconsin, 1995. 94p.
- MARSHALL, R.T. (ed). **Standard methods for the examination of dairy products**. 16. ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 546p.
- McKINNON, C.H., FULFORD, R.J., COUSINS, C.M. Effect of teat washing on the bacteriological contamination of milk from cows kept under various housing conditions. **Journal of Dairy Research**, v.50, p.152-162, 1983.
- McKINNON, C.H., ROWLANDS, G.J., BRAMLEY, A.J. The effect of udder preparation before milking and contamination from the milking plant on bacterial numbers in bulk milk of eight dairy herds. **Journal of Dairy Research**, v.57, p.307-318, 1990.
- MURPHY, S.C. Raw milk bacteria tests: standard plate count, preliminary incubation count, lab pasteurization count and coliform count - what do they mean for your farm? In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL REGIONAL MEETING, 1997, Syracuse. **Proceedings...** Syracuse, New York : NMC, 1997. 43p. p.34-42.
- OUOLOGUEM, B., REESE, A.A., TRAORÉ, B., *et al.* Profitability of replacing milk with a concentrate for calves of cows requiring calf at foot for milking. **Tropical Animal Health and Production**, v.26, p.37-48, 1994.
- PANKEY, J.W. Hygiene at milking time in the prevention of bovine mastitis. **British Veterinary Journal**, v.145, p.401-409, 1989.
- SAMARA, S.I., PRATA, L.F., DUTRA, I.S. Diagnóstico da situação sanitária do gado leiteiro em Pitangueiras-SP: III. Mastite. **Ars Veterinária**, v.12, p.141-147, 1996.
- SANYANG, F.B., WAGNER, H.G.R., CLIFFORD, D.J. Influence of suckling on calving interval of N'Dama cows in the Gambia. **Tropical Animal Health and Production**, v.27, p.191-192, 1995.
- SLAGHUIS, B. Sources and significance of contaminants on different levels of raw milk production. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION SYMPOSIUM ON BACTERIOLOGICAL QUALITY OF RAW MILK, 1996, Wolfpassing. **Proceedings...** Wolfpassing, Austria: IDF, 1996. 178p. p.19-27.