

HIGIENE E DESINFECÇÃO DOS TETOS POR MEIO DE UM FILME PROTETOR DO EPITÉLIO PARA REDUZIR A INCIDÊNCIA DE MASTITE BOVINA.

GONÇALVES, D.^{1(*)}, SOCCOL, C.R.², Parada, J.L.³.

Correspondência: dicezar.zmv@uol.com.br e jose.parada@terra.com.br.

4.1

A presença de infecções bacterianas e fúngicas em conexão com o grau de higiene do úbere e o manejo da ordenha, ocorrem pela penetração de microorganismos contagiosos. Estes colonizam sites teciduais na glândula mamária, canais dos tetos, e parênquima secretor de leite, durante o processo de ordenha e estão comumente presentes nas fezes, solo, matérias vegetais, camas e na água. Esta incidência é reduzida por meio do uso de formulações antimicrobianas, que permitem a desinfecção dos tetos por imersão ou *spray* após a ordenha. A ação irritante dos desinfetantes e corantes aplicados continuamente, com frequência não preserva a integridade do epitélio dos tetos, permitindo a colonização pelos microorganismos, deixando manchas não removíveis. Neste trabalho, testou-se uma nova e efetiva formulação *Tet-Dip* que preserva os tetos, apresentando viscosidade capaz de formar um filme protetor, facilmente removível e, de baixo custo ao ser comparado a preparações similares. Os resultados obtidos a campo envolveram fazendas leiteiras com baixos e altos níveis tecnológicos, que praticaram manejo correto da ordenha e tratamento de animais infectados, visando reduzir a carga microbiana. O uso diário do produto contribuiu para reduzir significativamente a carga bacteriana e o número de células somáticas, por um período de 6 meses de experimentos. Observaram-se visível preservação dos tetos, fácil marcação da superfície desinfetada, mas sem manchá-los de forma permanente. A associação destas práticas melhorou a produção leiteira em qualidade e quantidade, revelando a efetividade do produto.

Palavras chave: Desinfecção, preservação dos tetos, controle mastite.

¹Universidade Federal do Paraná e FEPAR, ² e ³ Universidade Federal do Paraná.

INTRODUÇÃO

A característica da mastite é atribuída a sinais clínicos como edema, calor, vermelhidão, dor e distúrbio da função produtora de leite. Esta condição é exclusivamente iniciada pela ação patogênica de microrganismos que penetraram pelo canal dos tetos durante ou após o processo de ordenha, prejudicando o fluxo e a produção do leite. Outro fator agravante importante é a presença de leveduras, fazendo parte da microbiota normal do úbere, e que favorece a adesão das principais bactérias aos tecidos do úbere. A incidência desta doença geralmente é reduzida por meio do uso de composições antimicrobianas (“*teat-dips*”) que permitem a desinfecção dos tetos após a ordenha. Estas composições contêm iodo, compostos de amônia quaternária, compostos de cloro como hipocloritos alcalinos, compostos oxidativos, como peróxido de hidrogênio e perácidos, ácidos carboxílicos protonados, como o heptanóico, octanóico, nonanóico, decanóico, undecanóico. Ácidos aniônicos como o alquilaril sulfônico, clorite, dióxido clorado, assim como biguanidas como a clorhexidina. Estas composições são administradas topicamente, nos tetos, desinfetando por imersão ou na forma de “*spray*” logo depois de terminada a ordenha. Estes agentes variam seus graus de efetividade, limitam a transmissão de mastite, por meio da redução de patógenos presentes nos tetos dos bovinos. Seu uso contínuo, após cada ordenha, promove irritação da pele sensível do teto bovino. Para reduzir este problema, aditivos emolientes como a glicerina e a lanolina têm sido incluídas nas formulações. Recentemente, a calosidade, enrugamentos e rachaduras dos tetos mostraram ter relação com mastites clínicas e a solução destes problemas também é importante para o controle das mastites.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilização a campo do “*Tet-dip*”:

Para realização dos testes a campo, selecionaram-se fazendas com alta e baixa produção de leite, e com diferentes padrões genéticos de animais onde se utiliza toda gama de antibióticos possível, sem obter a cura do processo infeccioso. O controle da produção de leite e os exames clínicos foram realizados em vacas (SWINKELS *et. al.*, 2005), previamente selecionadas, dispostas em dois grupos nos quais, um foi medicado com “*Tet-dip*” e o outro com o “*post-dip*” usado na propriedade. Os animais diagnosticados com a doença foram medicados, para cura e redução da mastite. Observaram-se a simetria e a consistência do úbere, odor e aspectos físicos do leite produzido, e realizaram-se o *Califórnia Mastitis Test* (CMT), (SCHALM & NOORLANDER, 1957), e exames laboratoriais como pH do leite produzido, densidade e viscosidade. As soluções de “*Tet-dip*” e do “*post-dip*” comercial, foram aplicadas após cada ordenha, diariamente e verificados o estado do epitélio do teto.

Isolamento de microrganismos, sua identificação e caracterização.

A contagem de microrganismos foi realizada por meio de contador Infravermelho automatizado. Os testes de resistência a antibióticos usados comumente na clínica veterinária, foi por meio da prova de Kirby-Bauer, e foram testados: amoxicilina, penicilina, gentamicina, cefalexina, lincomicina, eritromicina, cefoxitina e oxacilina (ROSSI & ANDREAZZI, 2005; XAVIER *et. al.*, 2005). A Concentração Inibitória Mínima (CIM), foram realizadas de acordo com as normas de *National Clinical Laboratory Standard Institut* (NCCLS) e os

sais de antibióticos usados foram da marca *Sigma-Aldrich Products, USA*. As amostras de leite para as análises anteriores, foram colhidas no horário “0” (zero), aos 8, 20, 30 e 180 dias após tratamento. Foram realizadas culturas em meios de cultura Baird-Parker, e PDA, e as colônias foram examinadas quanto a sua morfologia, por meio de coloração de Gram e de testes bioquímicos segundo (KONEMANN *et al.*, 2001). As análises foram submetidas a testes estatísticos como desvio padrão, médias e logaritmizadas.

Exames físico-químicos e contagem de células somáticas (CCS) no leite colhido como amostra

Estas análises foram realizadas no laboratório da Associação de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa, Curitiba-PR. As concentrações percentuais de proteínas, lactose, gordura, foram determinadas por absorção infravermelha em equipamento da marca *Bentley 2000*, e as células somáticas por meio de um *Somacount 300* e de citometria fluxométrica (BRITO *et al.*, 1997).

Análise da manutenção da qualidade dos tetos

Foi realizada pela observação da preservação dos epitélios, de calosidades, de irritações e de rachaduras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Agentes patogênicos isolados

Os microrganismos isolados apresentaram 53,9% de isolados de *Staphylococcus aureus*, responsáveis por infecções subclínicas e crônicas. Igualmente ocorreu o isolamento de leveduras, *Candida spp.*, em 40,8% dos casos estudados. A presença de leveduras elevou a aderência das bactérias ao úbere (HENSEN *et al.*, 2000). Os resultados encontrados quanto ao isolamento de microrganismos, podem ser visualizados na tabela 1.

Tabela 1. Microrganismos causadores de mastite bovina, nos casos pesquisados (n=152).

Microrganismos	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	53,9
Cocos isolados	3,9
<i>Streptococcus spp.</i>	1,4
Leveduras	40,8

O impedimento da contaminação do úbere por estes agentes infecciosos é muito importante, pois após invadirem o parênquima secretor de leite, se encapsulam, (HENSEN *et al.*, 2000) para se proteger de agentes antimicrobianos.

Efeitos dos princípios ativos observados no úbere bovino

A utilização dos produtos da fórmula eliminou o ressecamento e as rachaduras (figura 1), assim como pequenos ferimentos presentes pelo uso de “*post-dip*” comerciais (HENSEN *et al.*, 2000) e por pequenos traumas ocasionados por outros agentes traumáticos existentes no ambiente. Não houve redução da produção de leite no período estudado. A região onde foi aplicado o “*Tet-dip*” fica nitidamente observada, graças à coloração azul-escura, conferida pela cor “natural” do produto, figura 1.

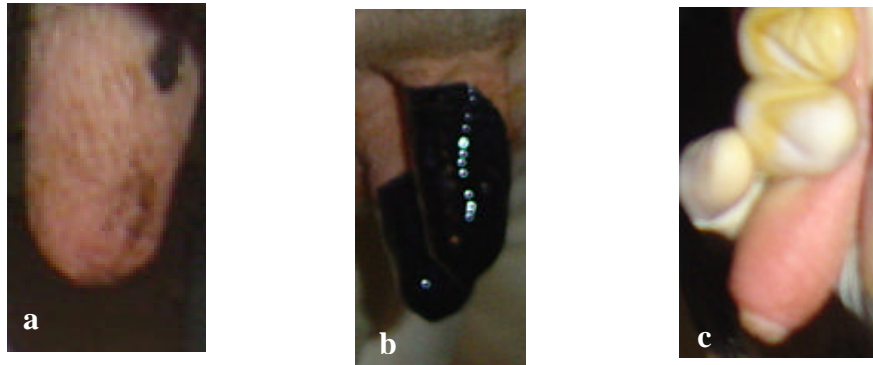


Fig. 1 a) Teto ressecado, com rachaduras e manchas provocadas por “*post-dip*” comercial; b) Tetos após a aplicação de “*Tet-dip*” mostrando a cor azul-escuro do produto, e c) Textura lisa, macia e com coloração normal do epitélio do teto, obtida com o uso do produto “*Tet-dip*”.

Redução observada dos quadros de Mastite Infecciosa Bovina (MIB)

O nível de CCS (Contagem de Células Somáticas), no grupo medicado com a invenção, decresceu em 72,5% dos casos (3.806 para 388 ± 1424 CCS x 1000/mL). Em comparação o grupo controle, medicado com placebo esteve entre 646 e 550 ± 564 CCS x 1000/mL). Os demais tiveram redução significativa em CCS, e visível melhora do quadro infeccioso. O decréscimo nos grupos pode ser analisado na figura 5.

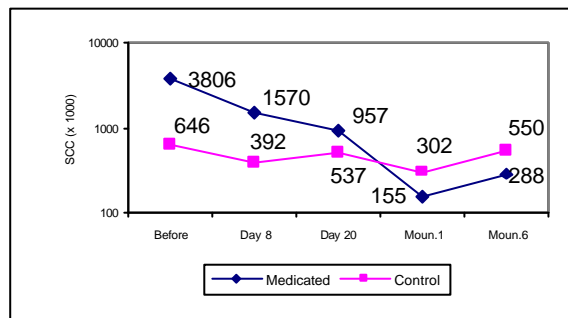


Fig. 5 Níveis de CCS (x 1000) em animais medicados e controles antes do tratamento, aos 8, 20, 30 e 180 dias após a medicação, $p < 0,01$ (n= 152).

Manutenção dos níveis protéicos e aumento dos níveis de gordura e lactose no leite.

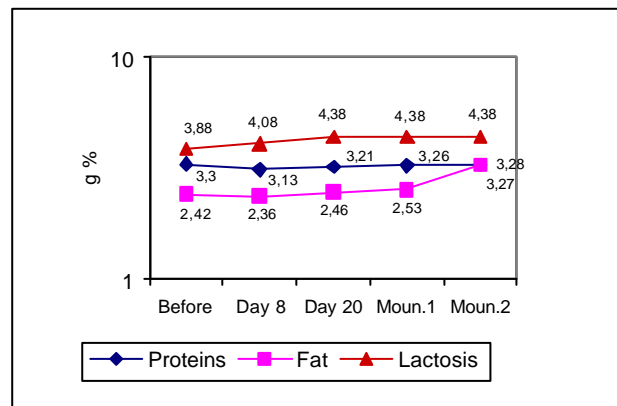


Fig. 6 Níveis de Proteínas, Gordura e Lactose (g %) no grupo medicado antes do tratamento, aos 8, 20, 30 e 180 dias após a medicação $p < 0,01$ (n= 76).

CONCLUSÕES

A invenção nas dosagens testadas, constantes do item de reivindicações a seguir permite boa desinfecção dos tetos após a ordenha, mantendo o epitélio normal, com baixo desperdício de produto, pela sua maior viscosidade. Um maior aproveitamento do leite fluído para seres humanos bem como a sua industrialização, porque demonstrou estabilidade dos níveis protéicos, e incremento dos níveis de gordura e lactose. O improvemento na qualidade do leite, e o aumento de gordura para a indústria, permitirão a elaboração de produtos mais saudáveis e marcante melhoria na saúde humana e animal. Por outro lado os princípios ativos usados na invenção reduziram as CCS, a aderência microbiana ao úbere bovino, e o tempo de descarte do leite, reduzindo prejuízos econômicos (OLIVER *et al.*, 2004, a e b, MORONI *et. al.*, 2006).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), a Fazenda Santa Cecília e a Cooperativa de Laticínios São José pelas suas colaborações a este trabalho. Agradecem ao Departamento de Biotecnologia e Bioprocessos da UFPR, pelo suporte material.

REFERÊNCIAS.

- BRITO, J.R.F., CALDEIRA, G.A.V., VERNEQUE, R.S., BRITO, M.A.V.P. Sensibilidade e especificidade do Califórnia Mastitis Test como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação a contagem de células somáticas. *Pesq. Vet. Bras.* v.17, n.2, p. 49-53, 1997.
- CRIST, W. L. *et al.*, *Mastitis and Its Control, University of Kentucky Extension Service--College of Agriculture*, 1997.
- HENSEN, S.M., PAVIC, J. A. M.P., LOHUIS, J.A.C.M., POUTRELI, B. Use of Bovine Primary Mammary Epithelial Cells for the Comparison of Adherence and Invasion Ability of *Staphylococcus aureus* Strains. *J. Dairy Sci* 83:418–429, 2000.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Bovine mastitis: definition and guidelines for diagnosis. *IDF Bulletin* 211. 24p., 1987.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION MILK: Enumeration of somatic cells. *IDF Standard* 148. 8p., 1991.
- KONEMANN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECHENBERGER, P. C.; EINN, W. C. *Diagnostic Microbiology*, 5th Ed. Lippincott Company, Philadelphia, p.539-576, 2001.
- MORONI, P., PISONI, G. , ANTONINI, M., VILLA, R., BOETTCHER, P., E CARLI, S. *Short Communication: Antimicrobial Drug Susceptibility of Staphylococcus aureus* from Subclinical Bovine Mastitis in Italy. *J. Dairy Sci.* 89:2973-2976, 2006.
- OLIVER, S. P., GILLESPIE, B. E. , HEADRICK, S. J. , MOOREHEAD, H. , LUNN, P., DOWLEN, H. H. , JOHNSON, D. L. , LAMAR, K. C. , CHESTER, S. T. E MOSELEY, W. M. Efficacy of Extended Ceftiofur Intramammary Therapy for Treatment of Subclinical Mastitis in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 87:2393–2400, 2004.
- OLIVER, S. P. , ALMEIDA, R. A., GILLESPIE, B. E. , HEADRICK, S. J. , DOWLEN, H. H., JOHNSON, D.L., LAMAR, K. C., CHESTER, S. T. E

MOSELEY, W. M. Extended Ceftiofur Therapy for Treatment of Experimentally-Induced *Streptococcus uberis* Mastitis in Lactating Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 87:3322–3329, 2004.

ROSSI, F., ANDREAZZI, D.B. Resistência Bacteriana. Interpretando o antibiograma. Ed Ateneu. São Paulo, 2005, 188p.

SCHALM, O. W. & NOORLANDER, D. D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 130:199-204, 1957.

SWINKLES, J.M., HOGVEEN, H., ZADOKS, R.N. A partial Budget Model to Estimate Economic Benefits of Lactational Treatment of Subclinical *Staphylococcus aureus* Mastitis. *J. Dairy Sci.*, n. 88, p. 4273-4287, 2005.

XAVIER, R.M., ALBUQUERQUE, G.C., BARROS, E. Laboratório na Prática Clínica. Ed. Artmed. Porto Alegre, 2005, 701p.