

Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva em insufladores de teteiras no sul do Rio Grande do Sul

Larissa da Silva Pereira Domingues¹; Gustavo Fernandes dos Santos²; Juliana Fernandes Rosa²; Jéssica Dal Vesco²; Helenice de Lima Gonzalez²; Natacha Deboni Cereser³

¹Universidade Federal de Pelotas – domingueslarissa@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas

³Universidade Federal de Pelotas – natachacereser@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, existem aproximadamente 5,2 milhões de estabelecimentos rurais, sendo 25% destes, dedicados à produção leiteira. A produção de leite no Brasil é caracterizada por ser majoritariamente de agricultura familiar, esta correspondendo a 91,5% dos estabelecimentos – que produzem até 100 litros por dia – totalizando 47% da produção total anual de leite (IBGE, 2011; ZOCCAL, 2015).

Em 2014 a produção de leite alcançou 34 milhões de litros, dos quais 46% foram produzidos na região Sul. Tendo em vista que, 91,5% das propriedades atingem somente 47% da produção, fica evidente a necessidade do aumento de produtividade e qualidade, para que produtores desse sistema consigam permanecer na produção, podendo competir com grandes produtores, que possuem sistemas mais especializados. Além disso, a crescente demanda por leite fluido e produtos lácteos, exige que o sistema se enquadre para atingir os mercados externos e reverter a balança comercial, passando a exportar mais do que importar. Um dos fatores que atravancam o aumento da produtividade é a mastite.

A mastite é a denominação do processo inflamatório da glândula mamária. Sua etiologia é diversa, sendo causas infecciosas as principais, destacando-se as de origem bacteriana, com origem ambiental ou contagiosa. A presença de mastite no rebanho significa, para o produtor, perdas econômicas significativas devido à redução na produção, aos gastos com medicamentos e também às penalidades aplicadas pelos laticínios. Dentre os patógenos contagiosos se encontra-se o gênero *Staphylococcus*, isolado com frequência nos rebanhos do país. Possui diversos fatores de virulência que permitem sua permanência no tecido mamário e é importante causador da mastite contagiosa (FREITAS et al., 2005; RIBEIRO et al., 2014).

Levando-se em conta que o conjunto de teteiras é um potencial fômite a carrear contaminação, devido a ineficiência de higienização ou uso incorreto de sanitizantes e detergentes, o não respeito do tempo correto de manutenção do equipamento e troca de borrachas e ainda, a utilização de água contaminada para lavagem, o objetivo deste trabalho foi realizar contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva em insufladores de teteiras de propriedades com ordenha do tipo mecanizada balde ao pé, da região sul do Rio Grande do Sul.

2. METODOLOGIA

Primeiramente, as unidades produtoras de leite foram caracterizadas utilizando-se um questionário como instrumento de coleta de dados, aplicado

durante a primeira visita à propriedade rural, levantando dados referentes às características estruturais da propriedade, sanidade animal, manejo e higiene durante a ordenha.

Foram pesquisadas 11 propriedades com sistema de ordenha do tipo balde ao pé da região sul do Rio Grande do Sul, integrantes do Programa de Desenvolvimento da Bovinocultura Leiteira – PDBL. Para obtenção das amostras, a atividade de ordenha foi acompanhada em cada propriedade, durante quatro visitas semanais seguidas, momento esse em que foi possível também acompanhar as práticas higiênicas adotadas convencionalmente pelo produtor.

Foram coletados 46 amostras de insufladores de teteiras, após o processo de higienização e momentos antes de iniciar a ordenha. Foram utilizadas zaragatoas estéreis, sendo amostrada uma área de 6 cm² de cada insuflador, sendo os mesmos depositados em 12 mL de água peptonada tamponada 0,1% e analisadas conforme BRASIL (2003).

As amostras foram alocadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e encaminhadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – LIPOA da Universidade Federal de Pelotas, onde as análises foram realizadas. As amostras foram inoculadas em ágar Baird-Parker suplementado com gema de ovo e incubadas em estufa a 37°C por 48 horas.

Após a incubação, foram contadas nas placas contendo 20 a 200 colônias, separadamente, as colônias negras, brilhantes, com zona de precipitação ao redor e circundadas por halo claro e, as que se apresentaram somente negras e brilhantes.

A seguir, três colônias de cada tipo foram semeadas em tubos com caldo BHI (Brain Heart Infusion) e estes incubados a 37°C por 24 horas. Após a incubação foram preparados esfregaços corados pelo método de Gram e as cepas que se apresentaram em forma de cocos Gram-positivos foram submetidas às provas da catalase, para a confirmação do gênero.

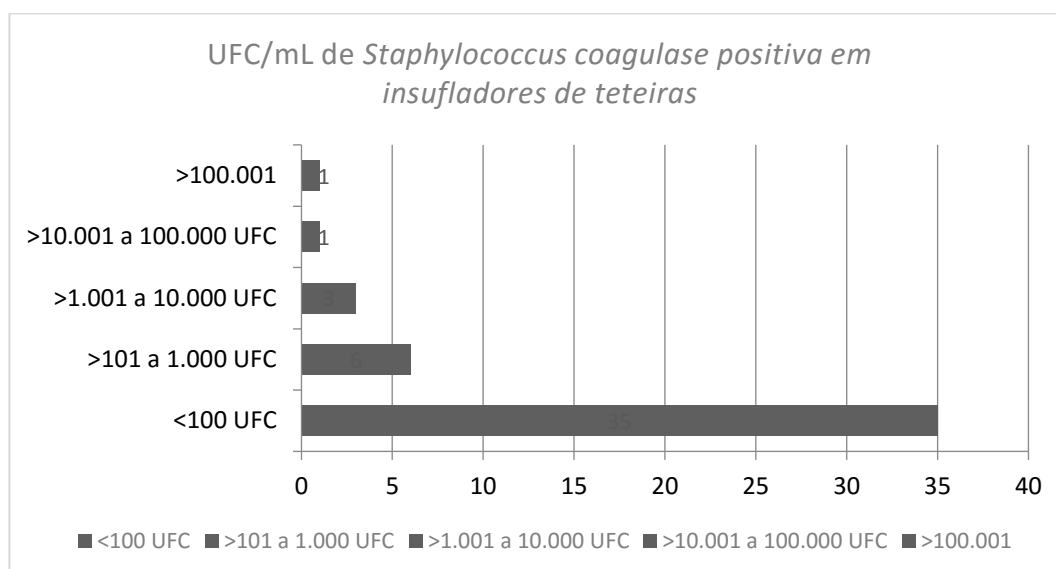
As cepas que apresentaram resultados positivos nas provas confirmativas do gênero *Staphylococcus* foram submetidas à prova da coagulase livre. O resultado final da contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi obtido com base no resultado desta prova, proporcionalmente ao número de colônias contados na placa, multiplicando pelo fator de diluição.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No gráfico abaixo, estão demonstrados os valores, em unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL), de *Staphylococcus* coagulase positiva de isolados de insufladores de teteiras em propriedades com ordenha do tipo balde ao pé de onze propriedades do Sul do Rio Grande do Sul.

Podemos observar que, 4% dos isolados têm altas contagens, sendo elas entre 10.001 e mais de 100.000 UFC/mL. Estes isolados estão presentes em três das onze propriedades estudadas. Com contaminação mediana, se encontraram 20% das amostras, estando num intervalo de 101 a 10.000 UFC/mL e presentes em quatro propriedades. Em todas as propriedades, em alguma das quatro coletas, as amostras tiveram baixas contagens de até <100 UFC/mL.

Apesar de 76% das amostras apresentarem baixas contagens, é importante observar que em sete das onze propriedades pesquisadas em, pelo menos, uma coleta houve contagens de média a altas, demonstrando que os insufladores de teteiras são fontes de contaminação em propriedades leiteiras com ordenha balde ao pé.



Não existe um padrão estabelecido para estas contagens, mas SCABIN et al. 2012, obtiveram resultados aproximados às altas contagens observadas no presente trabalho sendo, $1,75 \times 10^7$ UFC/mL. E ressaltam a importância deste micro-organismo como potencial formador de biofilme, permanecendo no equipamento mesmo após a lavagem e ainda, a formação de enterotoxinas, que ocorre a partir de contagens de 10^5 UFC/mL, que podem ter significado epidemiológico e causar intoxicação alimentar.

SMITH et al. (1998) estudando surtos de mastite em vacas leiteiras estabuladas, verificaram que dentre as medidas para controlar a ocorrência da doença, tem grande importância um programa de higiene durante a ordenha, pois seus agentes causais são transmitidos principalmente nesse momento.

AMARAL et al. (2004) identificaram que, em propriedades analisadas no interior de São Paulo, a desinfecção das teteiras não reduziu significativamente os números de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* spp, destacando-se que em algumas teteiras, após o tratamento, ocorreu o aumento no número de micro-organismos isolados. Esse resultado comprova que é necessário não só realizar a sanitização dos equipamentos, mas também atentar para a eficiência desse processo, ajustando tempo de ação e concentração do produto escolhido, para uma correta higienização dos equipamentos de ordenha.

Mesmo em baixas contagens bactérias do gênero *Staphylococcus* podem causar mastite, principalmente se o animal apresenta baixa imunidade ou lesões nos tetos, que servem de porta de entrada para este patógeno, que se instala no tecido mamário, por ter vários fatores de virulência.

Além de causar mastites, *Staphylococcus* spp. são importantes causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTA's). MARTINS et al. (2009) demonstram que os surtos de contaminação por bactérias desse gênero são provenientes de falhas no processo de higiene e contaminação decorrente de incorreta manipulação de alimentos, visto que os principais reservatórios destes micro-organismos são fossas nasais, boca e diversas áreas da pele, podendo atingir qualquer superfície ou objeto que entre em contato com essas zonas.

4. CONCLUSÕES

Em observação aos resultados obtidos neste trabalho, fica evidente a necessidade da elaboração de um plano de boas práticas, incluindo esforços

maiores para a higiene. É necessário atentar para a qualidade, concentração e tempo de ação dos sanitizantes empregados nesse processo e, ainda, a conscientização do ordenhador como parte importante no fluxograma de ordenha, já que também é fonte de contaminação, a fim de minimizar as perdas por mastite no rebanho e aumentar a qualidade do leite produzido, gerando um alimento mais seguro para a população consumidora e possibilitando o produtor a alcançar bonificação pela qualidade do leite, aumentando sua renda.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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. **Pesq. Vet. Bras.** Jaboticabal, v. 24, n. 4, p 173-177, 2004.

FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; STAMFORD, T. L. M.; RABELO S. S. A.; SILVA, D. R.; SILVEIRA FILHO, V. M.; SANTOS, F. G. B.; SENA, M. J.; MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v. 72, n. 2, p 171-177, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da Pecuária Municipal, Rio de Janeiro, v.39, p. 1-63, 2011.

MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M.; ALBUQUERQUE, L. M. B.; FONTELES, T. V.; REGO, S. L.; FAHEINA JUNIOR, G. S. Perfil de resistência de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas de manipuladores de alimentos. **B. Ceppa.** Curitiba, v. 27, n. 1, p. 45 – 52, 2009.

RIBEIRO, W. O.; OLIVEIRA, R. L.; MARTINS, M. L.; MARTINS, J. M.; ARCANJO, A. H. M.; ALMEIDA NETO, O. B. A. Enumeração de microrganismos causadores de mastite bovina e estudo da ação de antimicrobianos. **Rev. Inst. Laticínio Cândido Tostes.** Juiz de Fora, v. 69, n. 1, p 45-52, 2014.

SCABIN, K. E. M.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I.; FRIAS, D. F. R. Qualidade microbiológica do leite in natura durante o processo de obtenção e após o resfriamento. **Ces. Med. Vet. Zootec.** Fernandópolis, v. 7, n.1, p. 11-21, 2012.

SMITH, T. H.; FOX, L. K. Outbreak of mastitis caused by one strain of *Staphylococcus aureus* in closed dairy herd. **Vet. Med. Assoc.** v.212, n. 4 p 533, 1998.

ZOCCAL, Rosangela. Panorama do Leite. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, ano 7, nº75. 2015.