

Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas¹

Luiz A. do Amaral^{2*}, Hinig Isa³, Laila T. Dias³, Oswaldo D. Rossi Jr² e Antonio Nader Filho²

ABSTRACT.- Amaral L.A, Isa H., Dias L.T., Rossi Jr. O.D. & Nader Filho A. 2004. [Efficiency of the disinfection of teatcups and teats during mechanic milking of dairy cows.] Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 24(4):173-177. FCAV, Universidade Estadual Paulista, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900, Brazil. E-mail: lamaral@fcav.unesp.br

The purpose of this investigation was to evaluate the efficiency of the teatcup disinfection process by immersion into a disinfectant solution, using sodium hypochlorite and organic chlorine, to verify the residual chlorine dynamics in both solutions during milking time, and to evaluate three premilking disinfection methods: immersion, spray and sponge. Total coliforms, fecal coliforms, *Staphylococcus* sp and mesophilic microorganism counting was done. The results showed that the disinfecting clusters between individual cows, using immersion in sodium hypochlorite or organic chlorine solutions with a concentration of 150ppm, was not efficient for the rubber teatcup microorganism reduction. The organic chlorine solution showed more stability. Teatcup is a potential microorganism vehicle for milk and the mammary gland. Disinfection of the teats reduced the number of the microorganisms studied in all treatments, showing to be a simple method that can be used to reduce the microorganism transmission risks during milking and to increase the microbial quality of the milk.

INDEX TERMS: Disinfection, milking, chlorine, teatcups, pre-dipping.

RESUMO.- O presente trabalho teve como objetivos avaliar a eficiência do processo de desinfecção de teteiras por imersão em solução desinfetante utilizando duas fontes de cloro, hipoclorito de sódio e cloro orgânico, a dinâmica de cloro residual nesses dois tipos de soluções, ao longo do processo de ordenha, e a eficiência de três métodos de desinfecção: imersão, spray e esponja na remoção de microrganismos dos tetos de vacas em lactação, utilizando o cloro como desinfetante. Foram determinados os números de coliformes totais, coliformes fecais, *Staphylococcus* sp e microrganismos mesófilos nas amostras colhidas das teteiras, dos tetos e da solução desinfetante. Os resultados obtidos demonstraram que a prática da desinfecção de teteiras entre vacas, utilizando-se hipoclorito de sódio ou dicloroisocianurato de sódio como fontes de cloro, na concen-

tração em torno de 150ppm não foi eficiente na redução dos microrganismos presentes nas teteiras. A solução desinfetante a base de dicloroisocianurato de sódio apresentou maior estabilidade. Os métodos de desinfecção dos tetos proporcionaram redução nos números de microrganismos pesquisados, em todos os tratamentos utilizados, mostrando ser uma ferramenta simples para minimizar o risco de transmissão de patógenos durante a ordenha e aumentar a qualidade microbiológica do leite produzido.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Desinfecção, ordenha, cloro, teteiras, pre-dipping.

INTRODUÇÃO

Várias medidas devem ser tomadas durante o processo de ordenha mecânica com a finalidade de minimizar a transmissão de agentes mastitogênicos e diminuir o número de microrganismos que podem ser transferidos ao 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 microrganismos patogênicos contagiosos sendo esses microrganismos transmi-

¹ Recebido em 25 de julho de 2003.

Aceito para publicação em 10 de fevereiro de 2004.

² Depto Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV, Unesp, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900. *Autor para correspondência. E-mail: lamaral@fcav.unesp.br

³ Acadêmicas da FCAV, Unesp, Campus de Jaboticabal.

tidos de animais infectados para não infectados durante o processo de ordenha.

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.

Medidas de higiene, inclusive a desinfecção de teteiras, entre vacas, aplicadas durante a ordenha em propriedades com grande incidência de mastite subclínica em vacas lactantes, reduziram a prevalência da enfermidade de 96% para 47% (Queiroga et al. 1997).

Neave et al. (1966), determinaram que a incidência de infecções intra-mamárias está correlacionada ao número de patógenos causadores da mastite nas extremidades dos tetos. Portanto, o modo como os tetos são limpos é de fundamental importância para prevenir a ocorrência de mastite (Brito & Bressan 1996). Ainda, de acordo com Rasmussen et al. (1991), a desinfecção pré-ordenha pode estimular a ejeção do leite e diminuir a contagem bacteriana no leite e nos tetos.

A higienização prévia dos tetos, além de prevenir doenças como a mastite tem papel importante na qualidade microbiológica do leite. A higienização prévia dos tetos, mãos do ordenhador e do local de ordenha são de grande importância para reduzir o número de microrganismos patogênicos no leite, e também para melhorar as condições higiênicas do mesmo (Nader Filho et al. 1982).

A utilização do cloro como agente desinfetante é prática comum nas propriedades leiteiras do Brasil, uma vez que o produto é bom agente desinfetante e apresenta baixo custo. Entretanto, tem como desvantagem a sua pouca estabilidade, além da não observação dos produtores dos critérios de uso, sem análise do efeito residual ou da sua eficiência, o que pode interferir na qualidade do processo de desinfecção das teteiras, fator este muito importante na prevenção da mastite.

Margatho et al. (1998) indicam a utilização da concentração de 150 ppm de cloro ativo para desinfecção de teteiras, entre a ordenha de uma vaca e outra, como um das ações importantes no controle da mastite de ordenha, uma vez que as mastites, cuja infecção ocorre durante a ordenha, são transmitidas por fômites contaminados com destaque para as teteiras da ordenhadeira mecânica.

Tendo em vista a importância da mastite na exploração leiteira, e a busca cada vez maior da qualidade do leite produzido, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de verificar a eficiência da desinfecção da extremidade dos tetos de vacas em lactação, através de três métodos de aplicação de desinfetante, e nas teteiras durante o processo de ordenha mecânica.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no setor de bovinocultura de leite da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal, onde as vacas eram ordenhadas mecanicamente, em equipamento com quatro conjuntos de teteiras, e se utilizava solução à base de cloro para a desinfecção das teteiras entre as ordenhas das vacas. O sistema de criação era realizado em piquetes e os animais trazidos ao estábulo no momento da ordenha.

Duas fontes de cloro foram utilizadas no preparo da solução desinfetante das teteiras: o hipoclorito de sódio e comprimidos efervescentes à base de cloro orgânico, nas quantidades necessárias para se obter soluções com concentração aproximada de 150ppm de cloro ativo.

Os tetos anterior direito e posterior esquerdo de cada vaca foram tratados com solução de hipoclorito de sódio a 150ppm no *pre-dipping* e os outros tetos, anterior esquerdo e posterior direito, foram mantidos como controle, resultando em 32 tetos tratados e 32 tetos controle para cada método. A desinfecção foi realizada por três métodos: imersão, *spray* e esponja. Os tetos tratados e controles eram lavados com água antes do animal entrar na sala de ordenha.

As amostras de solução desinfetante foram colhidas em frascos estéreis, com auxílio de seringas esterilizadas (aprox. 250 ml da solução) 15min. Após o seu preparo e 5min. após a desinfecção das teteiras.

As amostras das teteiras foram colhidas por meio de *swabs* esterilizados, friccionando-os no interior dos bocais das teteiras, por toda extensão que entra em contato com o teto do animal, os *swabs* foram colocados em frascos com 50 ml de solução de água peptonada com tiosulfato de sódio, esterilizada. Foram colhidas amostras nas teteiras posterior esquerda e anterior direita antes de sua imersão na solução desinfetante como controle, e da posterior direita e anterior esquerda após a desinfecção por imersão no desinfetante por 30 segundos como tratado. As colheitas foram realizadas após as teteiras terem sido utilizadas em 2, 4, 6, 8, 10 e 12 animais.

As amostras dos tetos desinfetados e os controles foram colhidos utilizando-se *swabs* previamente imersos em solução salina com tiosulfato de sódio para neutralizar o efeito do cloro, friccionando-os na extremidade dos tetos, com movimentos rotativos, após 30 segundos da desinfecção e da secagem dos mesmos (Rendos et al. 1975). Em seguida, os *swabs* foram colocados em tubos contendo 10 ml de água peptonada 0,1%.

Os números de coliformes totais, coliformes fecais e estafilococos foram determinados pela filtração em membrana filtrante esterilizada, com 47mm de diâmetro e porosidade de 0,45mm, depositadas sobre a superfície do meio M-Endo para coliformes totais, M-FC para coliformes fecais, e Baird-Parker para estafilococos. Para a determinação do número de microrganismos mesófilos foi utilizada a técnica de semeadura em profundidade no ágar padrão para contagem. O teor de cloro residual na solução desinfetante foi determinado por método colorimétrico.

As médias dos valores das contagens de microrganismos foram comparadas aplicando-se o Teste de Tukey, ao nível 5% e 1% de significância (Steel & Torrie 1960).

RESULTADOS

Os valores médios das contagens de coliformes fecais e *Staphylococcus* sp nas amostras da solução dos *swabs* colhidos das teteiras utilizadas como controle e tratadas com as soluções cloradas após a ordenha de diferentes conjuntos de vacas são apresentados nos Quadros 1 e 2.

A desinfecção das teteiras não reduziu significativamente os números de coliformes fecais e *Staphylococcus* sp, destacando-se que em algumas teteiras, após o tratamento, ocorreu o aumento no número de microrganismos isolados.

As demandas de cloro da solução desinfetante à base de hipoclorito de sódio e cloro orgânico foram de 94,7% e 48,6%, respectivamente. Nas soluções desinfetantes foi observado crescimento de microrganismos mesófilos apenas nas soluções com

Quadro 1. Médias dos números de coliformes fecais e *Staphylococcus* sp por 10ml de solução que continham os swabs colhidos das teteiras controles e tratadas segundo o número de vacas ordenhadas utilizando hipoclorito de sódio como desinfetante

Número de vacas ordenhadas	Coliformes fecais		<i>Staphylococcus</i> sp	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado
2	2,2 x 10 ² A*	1,5 x 10 ² A	3,3 x 10 ^B	0,045 x 10 ^B
4	4,0 x 10 ² A	5,4 x 10 ² A	1,0 x 10 ^B	0,65 x 10 ^B
6	1,1 x 10 ³ A	3,2 x 10 ² A	3,2 x 10 ^B	0,018 x 10 ^B
8	6,8 x 10 ^A	7,9 x 10 ^A	3,3 x 10 ^B	3,3 x 10 ² B
10	9,3 x 10 ^A	4,4 x 10 ^A	2,2 x 10 ^B	1,2 x 10 ² B
12	1,1 x 10 ² A	2,1 x 10 ^A	0,7 x 10 ^B	2,7 x 10 ^B

*Para cada grupo de microrganismos na mesma linha letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 %.

Quadro 2. Médias dos números de coliformes fecais e *Staphylococcus* sp por 10ml de solução que continham os swabs colhidos das teteiras controles e tratadas segundo o número de vacas ordenhadas utilizando cloro orgânico como desinfetante

Número de vacas ordenhadas	Coliformes fecais		<i>Staphylococcus</i> sp	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado
2	3,7 x 10 ² A*	4,1 x 10 ² A	5,4 x 10 ^B	1,9 x 10 ^B
4	5,7 x 10 ² A	5,4 x 10 ² A	9,3 x 10 ^B	1,0 x 10 ^B
6	1,2 x 10 ³ A	9,7 x 10 ² A	9,0 x 10 ^B	4,0 x 10 ^B
8	9,2 x 10 ^A	5,5 x 10 ² A	2,5 x 10 ^B	3,3 x 10 ^B
10	4,0 x 10 ² A	2,4 x 10 ² A	1,0 x 10 ^B	2,3 x 10 ^B
12	2,5 x 10 ² A	3,3 x 10 ² A	0,7 x 10 ^B	7,3 x 10 ^B

*Para cada grupo de microrganismos na mesma linha letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 %.

Quadro 3. Valores médios do número de *Staphylococcus* sp nos tetos controle e tratado com solução de hipoclorito de sódio a 150 ppm, segundo o método de aplicação e valores das reduções após os tratamentos

Método	Controle	Tratado	%Redução
Imersão	5,1x10 ² A*	9,4x10 ^B	82,8%
Spray	1,6x10 ² A	2,5x10 ^B	84,2%
Esponja	4,3x10 ² A	3,0x10 ^B	92,9%

* Em cada linha valores seguidos de letras diferentes apresentam diferenças significativas no teste de Tukey ao nível de 1 %.

Quadro 4. Valores médios do número de coliformes totais nos tetos controle e tratado com solução de hipoclorito de sódio a 150ppm, segundo o método de aplicação e os valores das reduções após os tratamentos

Método	Controle	Tratado	%Redução
Imersão	2,8x10 ² A*	6,6x10 ^B	74,7%
Spray	1,7x10 ^A	0,3x10 ^B	84,3%
Esponja	2,9x10 ^A	0,5x10 ^B	84,2%

* Em cada linha valores seguidos de letras diferentes apresentam diferenças significativas no teste de Tukey ao nível de 1 %.

Quadro 5. Valores médios do número de microrganismos mesófilos nos tetos controle e tratado com solução de hipoclorito de sódio a 150ppm, segundo o método de aplicação e os valores das reduções após os tratamentos

Método	Controle	Tratado	%Redução
Imersão	2,4x10 ⁴ A*	2,5x10 ³ B	89,6%
Spray	1,6x10 ¹² A	4,1x10 ⁴ B	99,9%
Esponja	1,1x10 ⁹ A	3,4x10 ⁴ B	99,9%

* Em cada linha valores seguidos de letras diferentes apresentam diferenças significativas no teste de Tukey ao nível de 1 %.

hipoclorito de sódio, com números que variaram de 1,8x10 a 7,2x10 UFC/10 ml de solução.

Os Quadros 3, 4 e 5 apresentam os números de *Staphylococcus* sp, coliformes totais e microrganismos mesófilos nos tetos utilizados como controle e tratados com solução à base de cloro segundo o método de aplicação. Pode-se observar que todos os métodos foram eficientes na diminuição dos microrganismos pesquisados, com reduções expressivas nos números dos microrganismos após o tratamento.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A desinfecção das teteiras com hipoclorito de sódio ou dicloroisocianurato de sódio não foi eficiente como método preventivo de redução da ação das teteiras como veículo de microrganismos para o úbere e para o leite (Quadros 1 e 2). As variações nos números dos microrganismos pesquisados nas teteiras se apresentaram de maneira casual após a desinfecção, sem demonstrar tendência concreta de diminuição ou aumento ($p > 0,05$). O curto tempo de contato, a alta instabilidade do cloro frente à matéria orgânica e ausência de efeito mecânico, são fatores que contribuem para a ineficiência do processo. O ato de imersão pode ter facilitado o desprendimento dos microrganismos aderidos à superfície interna das teteiras, o que aumenta a chance desses microrganismos chegarem ao leite e/ou glândula mamária durante o processo de ordenha.

Um dos fatores que deve ter contribuído para a obtenção desses resultados é a adesão dos microrganismos à superfície interna das teteiras, o que dificulta a ação do cloro pois, apenas uma face da superfície da bactéria está exposta ao desinfetante, sendo que as outras faces estão em contato com a superfície da teteira ou com a célula ao lado (Matson & Characklis 1976). Lechevallier et al. (1988) verificaram aumento da resistência dos microrganismos ao cloro quando estavam aderidos à superfície, constituindo-se o primeiro mecanismo para as bactérias sobreviverem à ação desse desinfetante. Esses autores verificaram ainda que bactérias heterotróficas aderidas aumentaram a resistência a desinfetantes em 2.400 a 3.000 vezes. Segundo Mafu et al. (1990), citados por Rossoni & Gaylarde (2000), os microrganismos tendem a se acumular nas irregularidades das superfícies, o que com certeza dificulta o contato da célula microbiana com o agente desinfetante.

Também contribuiu para que o processo em estudo não apresentasse eficiência, o fato de que a concentração de cloro necessária para conseguir manter uma boa higiene depende do tem-

po de contato (Bessems 1998), sendo a concentração e o tempo de contato o binômio fundamental para o sucesso do efeito desinfetante de compostos à base de cloro. A esse respeito, a Organização Mundial da Saúde recomenda a concentração de 200 ppm de cloro ativo por um tempo de contato de 60 min. na desinfecção por imersão (WHO 1993) e, Pitt et al. (1992) afirmam que para desinfecção de superfícies recomenda-se concentração de cloro de 1.000 a 2.000 ppm e tempo de contato de 2 minutos. Ressalta-se ainda que o preconizado para a desinfecção de equipamentos de ordenha, após sua higienização manual, em geral, é uma solução de hipoclorito de sódio com 300 ppm de cloro ativo (Dodd 1987). Nota-se, portanto, que esses valores estão bem distantes do que se verificou no processo estudado, uma vez que o contato é de alguns segundos e a concentração inicial em torno de 150-200 ppm, que decresce à medida que a solução desinfetante é usada, e que foi utilizada no presente trabalho, pois é a concentração que se aplica em muitas propriedades e inclusive é a indicada pelo próprio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) nas Normas para Produção de Leite B para a higiene da ordenha. A ausência de um efeito mecânico durante o processo de imersão, como aquele que ocorre devido à pressão nos mecanismos automáticos, como o *backflushing*, dificulta em muito o sucesso do processo de desinfecção manual das teteiras.

A utilização da desinfecção das teteiras entre uma vaca e outra durante a ordenha, utilizando-se as concentrações de cloro livre de 150 a 200ppm, que é a concentração preconizada por Margattho et al. (1998) e indicada pelo MAPA (1984) para higiene da ordenha (150ppm), não foi capaz de reduzir o número dos microrganismos pesquisados na superfície interna das teteiras. Portanto, é um procedimento que não contribui para prevenir a transferência de microrganismos para o leite e/ou glândula mamária.

Na análise da solução desinfetante, os microrganismos mesófilos foram os únicos a apresentar crescimento significativo em presença de hipoclorito de sódio, demonstrando maior resistência a este desinfetante. O cloro orgânico impediu o desenvolvimento dos microrganismos pesquisados na solução desinfetante, mostrando-se mais eficiente em evitar que a própria solução desinfetante se tornasse veículo de contaminação para as teteiras.

A alta demanda de cloro, 94,7%, quando foi utilizada desinfecção em solução à base de hipoclorito de sódio, demonstrou que o hipoclorito de sódio é um desinfetante com menor estabilidade, quando comparado ao cloro orgânico, cuja solução desinfetante apresentou demanda máxima de 48,6%. A quantidade de cloro livre presente na solução desinfetante ao final da ordenha é muito pequena, chegando quase a zero, no caso do hipoclorito de sódio, ou seja, a ação do desinfetante foi praticamente inexistente após a ordenha de 12 vacas.

As médias geométricas das contagens de *Staphylococcus* sp. nos tetos não tratados e tratados com solução de hipoclorito de sódio (150 ppm de cloro ativo) e porcentagem de redução destes microrganismos, utilizando-se os métodos de imersão, *spray* e esponja, apresentadas no Quadro 3, demonstram que o método da esponja foi o mais eficiente na redução do número de *Staphylococcus* sp - 92,9% ($p < 0,01$), enquanto que os métodos de

imersão e *spray* reduziram em 82,8% e 84,2%, respectivamente ($p < 0,01$), o número desses microrganismos. Este resultado é muito importante, uma vez que esses agentes são os principais causadores da mastite bovina e contribuem também para elevar o número de microrganismos mesófilos do leite.

Observa-se no Quadro 4 as médias geométricas das contagens de coliformes totais nos tetos não tratados e tratados com solução de hipoclorito de sódio (150ppm de cloro ativo) e a porcentagem de redução destes microrganismos, utilizando-se os três métodos estudados. A redução de coliformes totais, indicadores da condição higiênica, foi praticamente a mesma nos métodos do *spray* e da esponja, 84,4% e 84,2%, respectivamente ($p < 0,01$), enquanto que o método de imersão apresentou uma redução de 74,7% ($p < 0,01$).

O Quadro 5 mostra que tanto o método de *spray*, quanto o da esponja reduziram em 99,9% ($p < 0,01$) o número de microrganismos mesófilos, enquanto que com o método da imersão a redução foi de 89,6% ($p < 0,01$).

Analisando conjuntamente os Quadros 3, 4 e 5 pode-se afirmar que os três métodos de desinfecção de tetos estudados apresentaram bons resultados quanto à redução dos microrganismos pesquisados. Assim, pode-se concluir que a desinfecção *pre-dipping*, nas condições em que foi realizada a presente pesquisa, pode ser uma ferramenta importante na prevenção da mastite bovina e na melhora da qualidade do leite produzido.

Jorgensen (1990) recomenda, no *pre-dipping*, o uso de solução de hipoclorito de sódio com 300 ppm de cloro ativo. Os resultados obtidos, na presente pesquisa, mostram que o produtor poderá economizar utilizando menor quantidade de princípio ativo. Além do que, com a concentração de 150ppm, certamente ocorrerá menor agressão à pele das mãos do ordenhador, o que facilitará a aceitação do método e diminuirá o risco de produzir lesões nos tetos, pois o teto lesionado favorece a instalação de microrganismos.

Agradecimento.- Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, pelo financiamento do presente estudo.

REFERÊNCIAS

- Bessems E. 1998. The effect of practical conditions on the efficacy of disinfectants. *Int. Biodeter. Biodegr.* 41(3-4):177-183.
- Brito J.R.F. & Bressan M. 1996. Controle Integrado da Mastite Bovina. Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, Minas Gerais.
- Dodd F.H. 1987. Milk hygiene and the control of udder disease. *Bull. Int. Dairy Fed.* (221):28-31.
- Jorgensen K. 1990. Teat Udder Cleaning. *Bull. Int. Dairy Federation*, p.247.
- Lechevallier M.W., Cawthon C.D. & Lee R.G. 1988. Factors promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (3):649-654.
- MAPA 1984. Normas Técnicas e Higiênico-Sanitárias para Produção de Leite Tipo B. Divisão de Inspeção de Leite e Derivados, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, p.6.
- Margattho L.F., Hipolito M. & Kaneto C.N. 1998. Métodos de prevenção e controle da mastite bovina. *Bolm Téc. no. 9, Inst. Biológico, São Paulo*, p.5-35.
- Matson J.V. & Characklis W.G. 1976. Diffusion into microbial aggregates. *Water Res.* 10: 877-885.
- Nader Filho A., Schocken-Iturrino R.P., Ávila F.A. & Montanholi R.A. 1982.

- Efeito de várias medidas higiênico-sanitárias durante a ordenha na contagem microbiana do leite. Revta Inst. Lat. Cândido Tostes, Juiz de Fora, 37:13-15.
- Neave F.K. , Kingwill R.G. & Dood F.K.A. 1966. Method on controlling udder disease. Vet. Rec. 78:521.
- Pitt J.J., Hocking A.D., Samson R.A. & King A.D. 1992. Recommended methods for mycological examination of foods, p.365-368. In: Samson R.A. (ed.) Modern Methods in Food Mycology. Elsevier Science, Amsterdam,.
- Queiroga M.C., Canaipa C.M. & Vilela C.L. 1997. Controle de mamites subclínicas em bovinos: ensaio sobre a eficácia das medidas de higiene durante a ordenha. Vet. Técn. 7(3):48-50.
- Rasmussen M.D., Galton D.M. & Petersson L.G. 1991. Effects of premilking teat preparation on spores of anaerobies bacterias and iodine residues in milk. J. Dairy Sci. 74:2472-2478.
- Rendos J.J., Eberhart R.J. & Kesler E.M. 1975. Microbial population of teat ends of dairy cows, and bedding materials, J. Pennsylvania Agric. Exper. Statn, p.492-1500.
- Rossoni E.M.M. & Gaylarde C.C. 2000. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitising agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscops. Int. J. Food Microbiol. 61:81-85.
- Smith T.H., Fox L.K. & Middleton J.R. 1998. Outbreak of mastitis caused by one strain of *Staphylococcus aureus* in closed dairy herd. J. Am. Vet. Med. Assoc. 212(4):553.
- Steel R.G.D. & Torrie J.H. 1960. Principles and Procedures of Statistics. McGraw, New York, p.481.
- WHO 1993. Guidelines on Cleaning Disinfection and Vector Control in *Salmonella enteritidis* Infected Poultry Farms. World Health Organization, Genève, p.33.