

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**“AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS RESIDUAIS EM CRECHES DE SUÍNOS
APÓS LAVAGEM, DESINFECÇÃO E VAZIO SANITÁRIO”**

LIGIANI MION

PORTO ALEGRE

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

“AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS RESIDUAIS EM CRECHES DE SUÍNOS
APÓS LAVAGEM, DESINFECÇÃO E VAZIO SANITÁRIO”

Autor: Ligiani Mion

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de Sanidade Suína.

Orientador: Prof. Dr. David Emilio S. N.
Barcellos

PORTO ALEGRE

2017

CIP - Catalogação na Publicação

Mion, Ligiani
AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS RESIDUAIS EM
CRECHES DE SUÍNOS APÓS LAVAGEM, DESINFECÇÃO E VAZIO
SANITÁRIO / Ligiani Mion. -- 2017.
50 f.

Orientador: David Emilio Santos Neves Barcellos.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Sanidade de suínos. 2. Lavagem e desinfecção .
3. Creches de suínos. 4. Contagem de coliformes. 5.
Vazio sanitário. I. Santos Neves Barcellos, David
Emilio, orient. II. Título.

Ligiani Mion

AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS RESIDUAIS EM CRECHES DE SUÍNOS
APÓS LAVAGEM, DESINFECÇÃO E VAZIO SANITÁRIO.

Aprovada em 03 de Março de 2017.

APROVADO POR:

Prof. Dr. David Emilio Santos Neves Barcellos
Orientador e Presidente da Comissão

Prof^a. Dr^a. Ana Paula Gonçalves Mellagi
Membro da Comissão

Dr^a. Caroline Pissetti
Membro da Comissão

Prof. Dr. Eraldo Lourenso Zanella
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e pelas oportunidades que me foram dadas.

À minha mãe Roselei, por me dar o maior exemplo de amor e perseverança, sendo constantemente meu porto seguro e o maior motivo para não desistir dos meus sonhos. Obrigada pelo apoio, pela lição de vida, conselhos, esforços, compreensão e dedicação.

Ao meu pai Luiz, por me ensinar a acreditar na bondade do ser humano. Obrigada por iluminar meus caminhos de onde estiver.

Às minha irmãs, Magliani e Gabrieli, por fazerem parte da minha história. Agradeço pelas vezes em que dividimos momentos de intensa alegria, tristeza e ironia.

Às minhas mães de Porto Alegre: Maria Inês, Marni e Rosângela, pela acolhida e companhia durante estes dois anos.

Ao meu afilhado Bernardo, por me renovar todos os dias. A sua inocência, ensinou o valor dos pequenos gestos e importância de voltar a ser criança de vez em quando.

Ao meu namorado Felipe, pelo apoio e carinho, por me motivar diariamente, pela compreensão nas minhas ausências e por ver o melhor de mim.

Ao meu orientador, professor David E. S. N. Barcellos por ter aceitado me orientar, pelas dicas, correções, ajuda durante todo o mestrado e pelo exemplo de caráter, profissionalismo e dedicação à suinocultura brasileira.

À professora Mari L. Bernardi, pela realização das análises estatísticas e esclarecimentos referentes aos resultados gerados.

Aos professores Ivo Wentz, Fernando P. Bortolozzo e Ana Paula G. Mellagi pelo exemplo e experiências profissionais compartilhadas.

Aos meus colegas Fernanda, Jamil, André, pelo companheirismo, risadas, rodadas de cafezinho e troca de conhecimentos.

Às amigas Aline e Tila, pela amizade, cumplicidade, ajuda, carinho, almoços, companhia e atenção em todas as horas.

Às gurias da sanidade: Amanda, Karine e Luciane, pela recepção calorosa no início do mestrado e pelos inúmeros conselhos.

Aos colorados do Setsui: Rafael e Matheus, pela companhia em nossa sala, mates compartilhados e momentos de descontração.

Aos mestrandos, estagiários e funcionários do Setor de Suínos, pelo trabalho desenvolvido e pela ajuda em todas as atividades práticas.

Às professoras Laura B. Rodrigues e Luciana R. dos Santos, por disponibilizarem o Laboratório de Bacteriologia da UPF para realização do meu trabalho e ao grupo Gemicro da Med. Veterinária da UPF, em especial à Juliana Orsato, pelo imenso auxílio durante as análises.

Aos produtores de suínos, pela compreensão durante o período em que estive nas granjas e pelas inúmeras caronas.

À Ouro Fino Saúde Animal pelo apoio financeiro durante o período experimental.

À JBS pela confiança e oportunidade, foi indispensável para execução do experimento. A todos os veterinários e técnicos que auxiliaram nas coletas.

Ao CNPq por conceder a bolsa de mestrado.

RESUMO

AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS RESIDUAIS EM CRECHES DE SUÍNOS APÓS LAVAGEM, DESINFECÇÃO E VAZIO SANITÁRIO

Autor: Ligiani Mion

Orientador: Prof. Dr. David Emilio Santos Neves de Barcellos

A colonização por micro-organismos patogênicos em creches de suínos é um fator importante na disseminação de doenças e surtos no rebanho. O controle desses patógenos se dá principalmente por medidas de biossegurança, como a prática da limpeza, desinfecção e vazio sanitário das instalações. O presente estudo avaliou a carga bacteriana após o processo de limpeza e desinfecção, durante o período de 3 dias de vazio sanitário, em duas creches de suínos, pelo uso de placas de contato com meio seletivo para coliformes totais. As contagens bacterianas foram analisadas considerando três fatores (água, detergente e desinfetante) em dois níveis para cada (água: fria/quente, detergente e desinfetante: presença/ausência). Foram usadas 4 baias em cada tratamento, 4 pontos de cada baia e cada ponto foi amostrado em triplicata. Foi feita a média de crescimento bacteriano das 3 placas e pontuada em escala de 5 escores. Após limpeza e desinfecção, no primeiro dia de vazio sanitário, houve efeito da interação da água com o detergente ($P < 0,05$), em que o uso do detergente aumentou a chance de diminuir a contaminação quando usado com água quente, mas não com água fria. Na ausência de detergente, a água fria foi mais eficaz em reduzir a contaminação do que a água quente. Houve, também, efeito da interação do detergente com o desinfetante ($P < 0,05$), em que a presença de ambos foi mais eficaz em reduzir a contaminação do que na sua ausência ou quando apenas um dos dois foi utilizado. No terceiro dia, foi verificado que a ausência de desinfetante diminuiu a chance de reduzir a contaminação ($P < 0,0001$) em comparação com o uso de detergente. A água quente não representou ganho adicional quando comparada a água fria. As evidências aqui observadas reiteram a importância da lavagem, desinfecção e vazio sanitário na redução da carga bacteriana em creche de suínos. A metodologia usada no presente trabalho pode servir como um sistema simples de monitoria dos processos de lavagem e desinfecção de instalações usadas para criação de suínos.

Palavras-chave: limpeza, desinfecção, água quente, detergente, desinfetante, creches de suínos

ABSTRACT

EVALUATION OF TOTAL COLIFORMS CONTAMINATION IN NURSERY PIGS FACILITIES AFTER WASHING, DISINFECTION AND DOWNTIME

Author: Ligiani Mion

Advisor: Prof. Dr. David Emilio Santos Neves de Barcellos

The colonization by pathogenic microorganisms in nursery pig units is an important factor in the spread and outbreaks of diseases in the herds. Pathogens are mainly controlled by biosecurity measures, such as cleaning, disinfection and downtime on facilities. The present study evaluated the bacterial load after the cleaning and disinfection process, during the three days of vacancy, in two pig nurseries, by the use of contact plates selective for enterobacteria. Data were analyzed considering three factors (water, detergent and disinfectant) in two levels (water: cold / hot, detergent and disinfectant: presence / absence). Were used 4 pen for each treatment, and 3 plates for 4 points of the pen. A mean of the 3 bacterial growths was calculated and scored on a 5 point scale. After cleaning and disinfection, there was no detergent - water effect ($P < 0.05$) with cold water. In the absence of detergent, cold water was more effective in reducing contamination than hot water. There was also an effect of the interaction of detergent and disinfectant ($P < 0.05$), where a presence of both was more effective in reducing contamination than in its absence or when only one was used. On the third day, it was found that the absence of disinfectant decreased a chance of reducing contamination ($P < 0.0001$) when compared with the use of detergent. Addition of detergent decreased the chance of contamination when combined with disinfectant, as detergent helps in removing dirt and exposes bacteria which were protected by organic matter and biofilms. The use of hot water did not have advantage when compared with cold water. As there was a fall on contamination between the 1st and 3rd day, the time of action of the disinfectant must be considered to calculate the time of vacancy to permit the action on surviving microorganisms. The results of the present work reinforce the importance of cleaning, disinfection and downtime to reduce bacterial load in swine nurseries. The methodology used in this work may serve as a practical system for monitoring cleaning and disinfection of pig facilities.

Key-words: cleaning, disinfection, hot water, detergent, disinfectant, nursery pig

LISTA DE TABELAS

Tabela inserida na revisão bibliográfica

Tabela 1. Características dos principais desinfetantes utilizados na suinocultura 18

Tabelas inseridas no artigo

Tabela 1. Características da granja e dos equipamentos utilizados no estudo..... 23

Tabela 2. Resultados da análise de regressão logística para a chance das interações entre água e detergente serem mais efetivas no primeiro dia e terceiro de vazão sanitário..... 28

Tabela 3. Resultados da análise de regressão logística para a chance das interações entre detergente e desinfetante serem mais efetivas no primeiro dia e terceiro de vazão sanitário.. 29

LISTA DE FIGURAS

Figura inserida na revisão bibliográfica

Figura 1. Placa de contato RODAC..... 16

Figuras inseridas no artigo científico

Figura 1. Disposição das baias segundo cada tratamento aplicado na instalação..... 24

Figura 2. Pontos amostrados..... 25

Figura 3. Local de coleta no piso ripado..... 25

Figura 4. Frequência de escores de contaminação para a interação entre água e detergente, no primeiro dia de vazio sanitário..... 28

Figura 5. Frequência de escores de contaminação para a interação entre detergente e desinfetante, no primeiro dia de vazio sanitário..... 29

Figura 6. Frequência de escores de contaminação para o efeito do desinfetante no terceiro dia de vazio sanitário..... 29

Figura 7. Frequência de escores de contaminação para a interações entre água e desinfetante e entre água, detergente e desinfetante, no primeiro dia de vazio sanitário..... 42

Figura 8. Frequência de escores de contaminação para a interações entre água e detergente, água e desinfetante, detergente e desinfetante e entre água, detergente e desinfetante, no terceiro dia de vazio sanitário..... 43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Limpeza das instalações.....	11
2.2 Uso de água quente	13
2.3 Desinfecção das instalações	14
2.4 Vazio sanitário	15
2.5 Contagem de coliformes totais para medir a contaminação residual de instalações	16
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	19
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXO I.....	42

1 INTRODUÇÃO

O desmame caracteriza-se por ser um momento estressante para os leitões, pois são submetidos ao transporte, hierarquização, adaptação ambiental e da ração. Além disso, a microbiota intestinal não está bem desenvolvida, tornando os animais altamente suscetíveis principalmente a doenças entéricas (Morés e Barcellos, 2012). A colibacilose da terceira semana, causada pela *Escherichia coli*, está fortemente associada a esses fatores. O leitão adquire o agente por via feco-oral, mais por contato com fezes de leitões doentes, mas a colonização intestinal pode ser influenciada também pela contaminação residual do ambiente e má desinfecção entre os lotes. Adicionalmente, o fornecimento de ração em comedouros sujos ou ingestão de ração já fermentada podem contribuir para a multiplicação do agente no intestino delgado (Morés e Moreno, 2012). Uma das estratégias para evitar a infecção do leitão alojamento de novos lotes consiste em romper a cadeia de infecção pela limpeza e desinfecção das baias e adoção de um período de vazio sanitário, (Ferreira et al. 2014).

Desta maneira, a saúde dos leitões na fase de creche depende do gerenciamento de diversos desafios inter-relacionados. Segundo Madec et al. (1998) o manejo alimentar na primeira semana após o desmame e o grau de higiene (33,6 e 7,8 de razão de chance, respectivamente) foram os dois fatores de risco mais importantes associados com as doenças entéricas na creche. Este e outros trabalhos foram claros em definir a grande importância de reduzir a pressão de infecção através da adoção de práticas higiênicas eficazes, sendo que o objetivo primário é diminuí-la sobre os animais.

A produção de suínos em sistemas confinados permite uma melhoria em resultados produtivos como ganho de peso, conversão alimentar e maior número de animais produzidos e pode potencialmente minimizar a ocorrência de doenças. A utilização do manejo “todos dentro - todos fora” possibilita limpeza e desinfecção adequada das instalações. Entretanto, no mesmo ainda pode ocorrer de maneira significativa a transmissão de microrganismos patogênicos que podem sobreviver ao ambiente, como a *E. coli*. As falhas que determinam a multiplicação anormal dos microrganismos podem ser atribuídas a fatores relacionados com o treinamento dos funcionários quanto à importância de procedimentos de higienização, limpeza e desinfecção apropriados (Dritz, 2002).

Os procedimentos de lavagem e desinfecção são componentes críticos e indispensáveis para o controle de patógenos no ambiente, estando fortemente associados ao tipo de manejo, características e qualidade das instalações, condição sanitária dos suínos e natureza dos patógenos circulantes na população. A principal origem da contaminação do ambiente das

criações de suínos é a própria população alojada, pela excreção das bactérias entéricas patogênicas e comensais nas fezes, as quais podem refletir a condição de saúde dos suínos, especialmente nas fases precoces da produção (Sella, 2008).

O efeito do vazio sanitário em 10 dias foi avaliado por Luyckx et al. (2016) em creches, sobre o crescimento de *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), mesófilos totais e coliformes fecais. A única diferença foi na contagem de mesófilos, que foi mais baixa no 4º dia após a desinfecção. Os autores sugerem que pequenas flutuações possam resultar na redução na contagem e estar relacionadas com a capacidade de algumas bactérias sobreviverem em condições adversas, mas em estado não cultivável. A microbiota residual poderia proliferar após a desinfecção pela inibição competitiva com outras bactérias, sobrevivendo ao processo de lavagem e desinfecção pela presença de mecanismos de resistência (McDonnell e Russell, 1999).

Há poucos estudos na literatura consultada sobre a utilização de água quente e sua interação com o uso de detergente e desinfetante. Na maioria dos mesmos (Madec et al., 1999; Hurnik, 2005; Mannion et al., 2007) não foram avaliados diferentes dias de vazio sanitário ao mesmo tempo e nas mesmas instalações. Na suinocultura, poucos estudos tem sido voltados para a monitoria da limpeza e desinfecção das instalações como forma de controle de doenças no rebanho. No Brasil, não há dados sobre o melhor protocolo a ser utilizado para a limpeza e desinfecção, nem sobre técnicas padronizadas para quantificar a contaminação residual após os processos. Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar a carga bacteriana após a limpeza e desinfecção de baias de duas creches de suínos, analisando a interação entre diferentes variáveis envolvidas no processo de lavagem e desinfecção, medindo o crescimento bacteriano pelo uso de placas de contato.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Limpeza das instalações

A umidificação da instalação deve começar imediatamente após a retirada dos animais e a utilização do detergente facilita a remoção da matéria orgânica, principalmente nos locais de difícil acesso do operador e nas superfícies rugosas (Madec et al., 1999). Ao avaliar a presença de matéria orgânica após a limpeza e desinfecção de instalações de frangos de corte, Luyckx et al. (2015a) não encontraram diferença ao umidecer as instalações antes de realizar o processo de limpeza e desinfecção, nos valores de trifosfato de adenosina (ATP) para medir a concentração de matéria orgânica, porém houve redução na contagem de mesófilos totais.

Os detergentes são formulados para remover proteínas, lipídios, carboidratos e minerais, não sendo indicados para eliminar microrganismos. Gibson et al. (1999) avaliaram o uso de detergentes neutros, alcalinos e ácidos na remoção de biofilmes formados por *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. O seu uso não diminuiu significativamente a remoção, porém os produtos alcalinos e ácidos afetaram a viabilidade das bactérias avaliadas, minimizando assim o potencial de disseminação da contaminação. No entanto, no estudo em que Kelly et al. (2001) avaliaram o impacto da ação do detergente, não foi notada diferença significativa entre a utilização ou não do mesmo. Os autores atribuíram aos respingos da matéria orgânica do fosso e a recontaminação que pode ocorrer durante o processo de limpeza. Madec et al. (1999) avaliaram a contaminação residual em salas de 129 creches na França, após a limpeza e desinfecção. Os autores ressaltaram a importância de remover apropriadamente as fezes da canaleta abaixo do piso (ou então a distância da superfície deve ser alta) e a ventilação deve ser tal que evite que o ar poluído saia do poço, para diminuir a chance de contaminação residual alta na instalação.

O processo prévio de adição de detergente à lavagem pode favorecer a atuação dos desinfetantes sobre os agentes causadores das doenças dos suínos, visto que tem ação umedecedora e surfactante que, ao serem adicionadas à água, reduzem a tensão superficial e podem aumentar a capacidade de penetração da água e o poder de remoção da sujeira e biofilmes aderidos ao piso, nos equipamentos e nas paredes (Rohr, 2014). Um biofilme é uma população de células microbianas que cresce sobre uma superfície, fechadas numa matriz extracelular amorfa e determina maior resistência aos processos de limpeza e desinfecção (Stepanović et al., 2004). Uma vez formado, representa um ponto constante de contaminação, podendo liberar fragmentos de matéria orgânica e bactérias viáveis (Fuster-Valls et al., 2008).

No trabalho de Amass et al. (2001), ao avaliar o uso de pedilúvio com desinfetante a base de agentes oxidantes, foi constatada eficiência somente após a completa remoção da matéria orgânica. Posteriormente, os autores realizaram um estudo para relacionar o potencial da equipe de funcionários de transferir infecções entre os lotes de suínos (Amass et al., 2003). Os autores utilizaram uma cepa enterotoxigênica de *E. coli* como modelo de desafio para mensurar a qualidade dos procedimentos de biossegurança na creche e observaram que a mudança parcial de roupa e higienização das mãos não preveniram a transferência da bactéria entre os lotes de suínos. Entretanto, a troca completa de roupas e o banho preveniram a transmissão. Esta informação ilustra a importância de programas de higiene para a prevenção da transmissão de patógenos.

Segundo Madec et al. (1999) e Dritz (2002) algumas práticas básicas de higiene podem diminuir a transmissão de patógenos através da contaminação ambiental de lote para lote:

- No momento da construção da instalação, optar por estruturas que sejam de fácil higienização, como metal e plástico, ao invés de superfícies abrasivas como concreto;
- As operações de desinfecção não devem ser atrasadas quando a lavagem tiver sido concluída;
- Deve ser realizada completa limpeza e remoção da matéria orgânica como fezes e ração, incluindo a canaletas de dejetos. Em geral, os microrganismos ficam protegidos contra os desinfetantes na matéria orgânica;
- Uso apropriado dos desinfetantes, incluindo diluição correta e aplicação em toda a área da instalação, certificando-se que a mesma está completamente seca para que não haja diluição do desinfetante;
- Usar um vazio sanitário adequado. Certificar-se de que os animais estão sendo alojados em instalações secas mesmo nos períodos de clima mais frio e úmido.

Na prática, a retirada total da matéria orgânica é prejudicada pela dificuldade de acessar algumas estruturas das instalações. Luyckx et al. (2015a) compararam a inspeção visual da limpeza com o uso de suabes de trifosfato de adenosina (ATP) em vários pontos após a limpeza e desinfecção de instalações de frangos de corte. As amostras com valores maiores de ATP foram os bebedouros pendulares, espaços para drenagem e fissuras no piso, apesar de apresentarem bons escores na avaliação visual. Isto demonstra que a avaliação visual pode não ser um bom indicador de limpeza, que a limpeza e desinfecção deve ser

voltada para pontos críticos, e que para realizar o monitoramento da contaminação ambiental deve-se amostrar diferentes pontos da instalação.

No estudo realizado por Mannion et al. (2007) em granjas de terminação da Irlanda, avaliou-se o nível residual de coliformes totais em 14 granjas, que foram selecionadas por terem programas de limpeza que utilizavam água sobre alta pressão e desinfetantes. Pela legislação do país, as granjas são classificadas conforme categorias de porcentagem para *Salmonella* como 1 (baixa porcentagem) e 3 (alta porcentagem). O trabalho destacou que houve redução significativa de *Enterobacteriaceae* após a limpeza na maioria das granjas, principalmente as baias das granjas da categoria 3. Porém, os comedouros e bebedouros apresentaram pouca ou nenhuma redução nas contagens, indicando problemas na limpeza destes itens, talvez devido à negligência do operador ou dificuldade de acesso a todas as fendas. Os autores sugeriram que para a melhoria na aplicação de programas de higiene, limpeza e desinfecção de granjas seria essencial o treinamento adequado dos funcionários, para a máxima eficiência em tomar medidas para reduzir a dissipação de coliformes e patógenos, bem como evitar a contaminação cruzada entre lotes.

2.2 Uso de água quente

É comum o uso de água quente na limpeza de granjas e suínos na Europa e Estados Unidos (Luyckx et al., 2016). Gibson et al. (1999) recomendaram o uso de água quente na indústria alimentícia pelo possível efeito na remoção de biofilmes. Na prática, Luyckx et al. (2015b) não encontraram diferença entre os protocolos de limpeza com água quente ou fria em instalações de frangos de corte, pois a combinação entre água fria e os produtos utilizados nas mesmas foram suficientes para dissolver gorduras. Como ponto positivo, o uso de água quente diminuiu a quantidade de água, o tempo de serviço e contribuiu para o conforto dos operadores durante a lavagem.

No estudo realizado por Hurnik (2005), após a saída do lote de terminação, 20 baias foram lavadas, alternando água fria, água quente e detergente. O uso de água quente diminuiu o tempo de lavagem em cerca de 22%, foi mais prático de aplicar, mas criou um nevoeiro que tornou difícil a visualização das estruturas. O uso do detergente diminuiu o tempo de lavagem em 8 minutos por baia (cerca de 12%). Na comparação do desempenho dos animais, a água quente não teve efeito sobre a taxa de crescimento, mas o uso de detergente e desinfetante determinou o aumento do GPD. No trabalho, não foi especificado qual metodologia de contagem bacteriana usada, nem se houve interação da água quente e desinfetante na

redução da contaminação. Observaram apenas que o uso de detergente não diminuiu as contagens, mas pode ter tido relação com um melhor desempenho dos animais.

2.3 Desinfecção das instalações

A desinfecção consiste na eliminação de microrganismos indesejáveis de materiais inanimados limpos, através de processos químicos ou físicos, que atuam sobre a estrutura ou o metabolismo dos microrganismos (Sobestiansky *et al.*, 1999). Agentes desinfetantes são substâncias usadas para controlar, prevenir ou destruir microrganismos patogênicos (bactérias, fungos) e inativar vírus em objetos inanimados ou superfícies. É importante salientar que o processo de desinfecção não equivale à esterilização ou limpeza (Grezzi, 2007).

A desinfecção completa somente pode ser executada após a retirada dos animais das instalações. Ao adotar esse manejo obtêm-se o máximo de ação do desinfetante, uma vez que a ausência de animais e de equipamentos permite que o produto tenha um contato direto com os microrganismos e tempo suficiente para agir (Sobestiansky *et al.*, 1999).

Os desinfetantes não agem instantaneamente, e o tempo de ação depende essencialmente da temperatura e da natureza da superfície em que está sendo aplicado. Portanto, quanto mais baixa for a temperatura da superfície, maior deve ser o tempo necessário para a ação, visto que temperaturas baixas diminuem seus efeitos. Já nas paredes verticais, em função da aderência dos desinfetantes ser menor, existe uma piora da ação em função do baixo tempo de contato com os patógenos (Sobestiansky *et al.*, 1999).

Os desinfetantes não são igualmente eficientes quando usados como bactericidas, fungicidas ou viricidas, assim como diferenças em sua ação também ocorrem entre espécies dentro de grupos de microrganismos, visto que alguns desinfetantes destroem apenas determinadas categorias. Por isso, como forma de aumentar a eficácia da desinfecção, tem sido recomendada a rotação de desinfetantes para tentar aumentar o espectro de atividade e evitar a seleção de microrganismos que poderão servir como reservatórios para genes de resistência. A periodicidade recomendada para a troca de desinfetante varia de três a seis meses e depende do programa de limpeza e desinfecção adotado (Huber e Booth, 1992).

A qualidade da água é importante tanto para limpeza como para desinfecção. No caso do ângulo do jato, quanto maior, menor a pressão de impacto. O recomendado para uma boa limpeza é um ângulo de 25°. Já a melhor distância entre o bico e a saída do jato e o objeto deve ser de 10 a 30 cm. A utilização de água contaminada, maior concentração de sais como cálcio e magnésio (água dura) e pH alto diminui a eficácia do desinfetante, pois parte dele é

consumida para desinfetar a própria água poluída, antes da solução ser aplicada sobre as superfícies. Portanto, deve-se fazer uma análise físico-química da água previamente à escolha do desinfetante (Rohr, 2014).

O conhecimento do material ou superfície que se pretende desinfetar quanto à presença de matéria orgânica, tipo de material, e as características químicas e biocidas dos desinfetantes é muito importante para a escolha do produto a ser usado. Existem vários princípios ativos no mercado, os mais utilizados na suinocultura tem sido os compostos de amônia quaternária, glutaraldeído e fenólicos (Rohr, 2014). Na Tabela 1, estão as características dos principais desinfetantes utilizados na suinocultura.

A diluição e forma de estocagem dos produtos usados na limpeza e desinfecção também devem ser considerados. Stringfellow et al. (2009) investigaram a eficácia de desinfetantes que foram diluídos e estocados por 30 semanas. O armazenamento, em longo prazo, nas temperaturas de 4, 20, 32 e 43°C, não reduziu sua eficácia, porém, foi observada redução após a inclusão de matéria orgânica.

2.4 Vazio sanitário

O vazio sanitário é um complemento à desinfecção que permite a destruição de microrganismos não eliminados no processo de limpeza e desinfecção. A instalação deve ficar fechada e a passagem de pessoas e animais proibida, permitindo a secagem e efetiva atuação do desinfetante. O período de vazio sanitário varia conforme a fase de produção (gestação, maternidade, creche e terminação) e a disponibilidade de se fazer o manejo todos dentro-todos fora, nas creches brasileiras geralmente é usado um período de 5 a 10 dias. O sistema de manejo todos dentro- todos fora consiste na formação de grupos de suínos, que são transferidos simultaneamente de uma instalação para outra, durante as fases da produção (Sobestiansky et al., 1998). As instalações desocupadas possibilitam a limpeza e a desinfecção efetivas, o que evita a transmissão dos microrganismos de um lote para o outro (Rohr, 2014). O uso desse sistema pode potencialmente reduzir a mortalidade por doenças infecciosas e o gasto com medicamentos, além de melhorar o desempenho dos animais, compensando os investimentos para adoção do manejo (Sobestiansky et al., 1998). Porém, na prática, a realização deste manejo muitas vezes não é bem conduzida, pelo uso inadequado de produtos e de baixa qualidade durante a desinfecção, ocasionando perdas devido a doenças e gastos com medicamentos (Rohr, 2014).

2.5 Contagem de coliformes totais para medir a contaminação residual de instalações

Como forma de medir a contaminação residual de instalações após a realização de processos de lavagem, desinfecção e vazão sanitário, tem sido usadas placas RODAC (Replicate Organisms Direct Agar Plates) que permitem a contagem de colônias após contato (impressão) em superfícies contaminadas, como é demonstrado na Figura 1. Nas mesmas, é distribuído o meio de cultura *Violet Red Bilde Glucose* (VRBG) e após a amostragem nas superfícies usa-se o método de contagem de unidades formadoras de colônias. A técnica mostrou-se eficiente no estudo realizado por (Madec et al. 1999). Os principais critérios para seleção do meio VRBG foram:

1. A capacidade de permitir o crescimento e contagem de um grande número de bactérias presentes nas baias antes da limpeza;
2. Interpretação inequívoca na leitura das placas. O Ágar VRBG possui componentes que neutralizam o efeito residual do desinfetante, fazendo com que o crescimento bacteriano não seja inibido;.
3. O Ágar VRBG permite o crescimento de enterobactérias e apresentou menor diferença na contagem, em comparação com outros meios de cultura;
4. Há um custo baixo da placa para o número amostral.

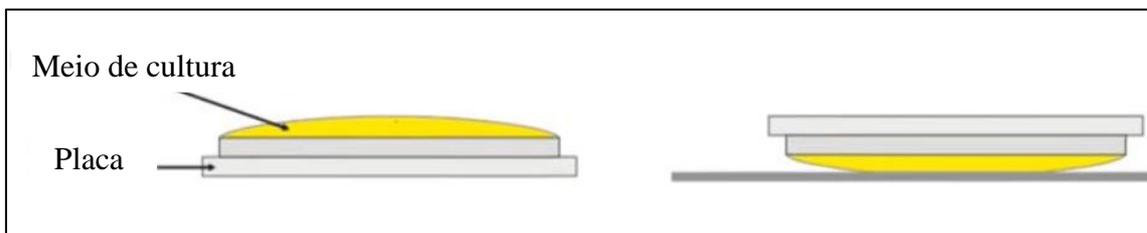


Figura 1. Placa de contato RODAC

Segundo Andrade *et al.* (2000), as placas Rodac tem sido recomendadas para quantificar a contaminação microbiana de superfícies, como chão, parede, mesa, cama e pele humana. O método de aplicação é simples, rápido e ideal para mensurar a contaminação de grandes áreas onde muitas amostras são necessárias para validação estatística.

Em programas de monitoramento da contaminação ambiental na indústria alimentícia, as placas Rodac podem ser utilizadas para determinar se os níveis bacterianos de superfícies lisas e não porosas estão em limites seguros. A utilização do método é aconselhada principalmente após a sanitização, quando as superfícies se encontram com menor contaminação, propiciando a leitura das placas após a incubação (Snyder Jr, 2003).

Placas de contato do tipo Rodac são úteis para avaliar superfícies por serem rápidas de aplicar e fáceis de processar, mas podem avaliar apenas 25 cm²/placa. Luyckx et al. (2015a), compararam o uso de suabes para quantificação de bactérias pelo método tradicional e placas Rodac para avaliar a limpeza e desinfecção. No trabalho, todas as placas foram incontáveis antes do processo e os autores sugerem que suabes são mais efetivos que as placas, porém, são mais trabalhosos de analisar no laboratório. Huneau-Salaün *et al.* (2010) encontrou apenas 36% das placas incontáveis (>200 UFC/cm²) antes da lavagem. Após a limpeza e desinfecção, os autores relatam que 82% e 62% das placas de contato foram negativas respectivamente. No entanto, estes estudos foram realizados em instalações de frango de corte e utilizaram meios de cultura seletivos para *Enterococcus* spp, *E. coli* e mesófilos totais.

Rodrigues (2009) ao avaliar a higienização de superfícies em salas de corte de abatedouros avícolas após a lavagem, comparou a utilização de esponjas como metodologia convencional para contagem de mesófilos aeróbios, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e placas Rodac com meios seletivos para as bactérias avaliadas. O estudo concluiu que a utilização das placas Rodac possibilitou melhor recuperação e quantificação de microrganismos do que a esponja e que, após o uso de água quente, houve redução da contaminação. Concluiu também que após o uso de desinfetante a base de amônia quaternária e ácido peracético não houve recuperação de *E. coli* e *S. aureus*.

No trabalho de Hacek *et al.* (2000), o uso de placas rodac foi comparado com meio seletivo para detecção de *Enterococci* resistente a vancomicina (VRE) e com meio seletivo para *Enterobacteriaceae* multirresistentes (MDRE) em superfícies hospitalares. A técnica de impressão de placas Rodac teve boa recuperação de VRE. Os autores sugerem que esta é uma opção simples e rápida para detecção destes microrganismos.

De Reu *et al.* (2006) ao utilizar placas de contato Rodac para avaliar a higienização de gaiolas de galinhas poedeiras encontrou contagens significativamente menores ($P > 0,05$), ao comparar o uso de meio de cultura para mesófilos totais (PCA, Oxoid) e *Enterobacteriaceae* (VRBG, Oxoid). Este trabalho indica que o uso do meio de cultura VRBG pode ser uma boa opção para ambientes mais contaminados, como é o caso de instalações com animais em confinamento.

Tabela 1: Características dos principais desinfetantes utilizados na suinocultura.

	Álcool	Aldeídos	Biguanidas	Hipoclorito	Iodo	Agentes oxidantes	Fenóis	Amônia Quaternária
Mecanismo de ação	Precipitação de proteínas; Desnaturação lipídica	Desnaturação proteica; Alquilação de ácidos nucleicos	Altera a permeabilidade de membranas	Desnaturação proteica	Desnaturação proteica	Desnaturação proteica e lipídica	Desnaturação proteica; Altera permeabilidade celular	Desnaturação proteica; Liga fosfolípídeos da membrana celular
Vantagens	Não deixa resíduos; Ação rápida	Amplo espectro	Amplo espectro	Amplo espectro; Tempo de contato curto; Custo baixo	Estável em estoque; Relativamente seguro	Amplo espectro	Boa eficácia com matéria orgânica; Estável em estoque	Estável em estoque; Não irritável à pele; Efetivo em altas temperaturas e pH (9-10)
Desvantagens	Evapora rapidamente; Inflamável	Carcinogênico; Irritação das mucosas; Usados somente em áreas com boa ventilação	Funciona apenas em pH limitado (5-7); Tóxico para peixes	Inativado pela luz solar; Requer aplicação frequente; Corrói metais Irrita as mucosas	Inativado por AQ; Requer aplicação frequente; Corrosivo; Mancha as superfícies e roupas	Corrosivo para alguns metais	Pode causar irritação ocular e na pele	Inativado em água dura
Bactérias vegetativas	Eficaz	Eficaz	Eficaz	Eficaz	Eficaz	Eficaz	Eficaz	Sim- G+; Limitado- G-
Micobactérias	Eficaz	Eficaz	Variável	Eficaz	Limitado	Eficaz	Variável	Variável
Vírus envelopados	Eficaz	Eficaz	Limitado	Eficaz	Eficaz	Eficaz	Eficaz	Variável
Vírus não-envelopados	Variável	Eficaz	Limitado	Eficaz	Limitado	Eficaz	Variável	Não eficaz
Esporos	Não eficaz	Eficaz	Não eficaz	Variável	Eficaz	Eficaz	Não eficaz	Não eficaz
Fungos	Eficaz	Eficaz	Limitado	Eficaz	Reduzido rapidamente	Variável	Variável	Variável
Eficácia com matéria orgânica	Reduzido	Reduzido	-	Reduzido rapidamente	Variável	Eficaz	Eficaz	Inativado
Eficácia com água dura	-	Reduzido	-	Eficaz	-	-	Eficaz	Inativado
Eficácia com sabão/detergentes	-	Reduzido	Inativado	Inativado	Inativado	-	Eficaz	Inativado

Adaptado de Dvorak *et al.* (2005).

3 ARTIGO CIENTÍFICO

ARTIGO A SER SUBMETIDO

Avaliação de coliformes totais residuais em creches de suínos após lavagem, desinfecção e vazio sanitário

Mion L.¹, Takeuti K.L.¹, Bernardi M.L.², Bortolozzo F.P.¹, Morés³ N., Barcellos D.E.S.N.^{1*}

¹*Setor de Suínos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9090, Porto Alegre, RS, Brasil;*

²*Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS, Brasil.*

³*Embrapa Suínos e Aves, Rodovia BR-153, Km 110, Concórdia, SC, Brasil;*

**Autor correspondente: davidbarcellos@terra.com.br*

RESUMO

A colonização por micro-organismos patogênicos em creches de suínos é um fator importante na disseminação de doenças e surtos no rebanho. O controle desses patógenos se dá principalmente por medidas de biossegurança, como a prática da limpeza, desinfecção e vazio sanitário das instalações. O presente estudo avaliou a carga bacteriana após o processo de limpeza e desinfecção, durante o período de 3 dias de vazio sanitário, em duas creches de suínos, pelo uso de placas de contato com meio seletivo para coliformes totais. As contagens bacterianas foram analisadas considerando três fatores (água, detergente e desinfetante) em dois níveis para cada (água: fria/quente, detergente e desinfetante: presença/ausência). Foram usadas 4 baias em cada tratamento, 4 pontos de cada baia e cada ponto foi amostrado em triplicata. Foi feita a média de crescimento bacteriano das 3 placas e pontuada em escala de 5 escores. Após limpeza e desinfecção, no primeiro dia de vazio sanitário, houve efeito da interação da água com o detergente ($P < 0,05$), em que o uso do detergente aumentou a chance de diminuir a contaminação quando usado com água quente, mas não com água fria. Na ausência de detergente, a água fria foi mais eficaz em reduzir a contaminação do que a água quente. Houve, também, efeito da interação do detergente com o desinfetante ($P < 0,05$), em que a presença de ambos foi mais eficaz em reduzir a contaminação do que na sua ausência ou quando apenas um dos dois foi utilizado. No terceiro dia, foi verificado que a ausência de desinfetante diminuiu a chance de reduzir a contaminação ($P < 0,0001$) em comparação com o uso de detergente. A água quente não representou ganho adicional quando comparada a água fria. As evidências aqui observadas reiteram a importância da lavagem, desinfecção e vazio sanitário na redução da carga bacteriana em creche de suínos. A metodologia usada no presente trabalho pode servir como um sistema simples de monitoria dos processos de lavagem e desinfecção de instalações usadas para criação de suínos.

Palavras-chave: limpeza, desinfecção, água quente, detergente, desinfetante, creches de suínos

ABSTRACT

The colonization by pathogenic microorganisms in nursery pig units is an important factor in the spread and outbreaks of diseases in the herds. Pathogens are mainly controlled by biosecurity measures, such as cleaning, disinfection and downtime on facilities. The present study evaluated the bacterial load after the cleaning and disinfection process, during the three days of vacancy, in two pig nurseries, by the use of contact plates selective for enterobacteria. Data were analyzed considering three factors (water, detergent and disinfectant) in two levels (water: cold / hot, detergent and disinfectant: presence / absence). Were used 4 pen for each treatment, and 3 plates for 4 points of the pen. A mean of the 3 bacterial growths was calculated and scored on a 5 point scale. After cleaning and disinfection, there was no detergent - water effect ($P < 0.05$) with cold water. In the absence of detergent, cold water was more effective in reducing contamination than hot water. There was also an effect of the interaction of detergent and disinfectant ($P < 0.05$), where a presence of both was more effective in reducing contamination than in its absence or when only one was used. On the third day, it was found that the absence of disinfectant decreased a chance of reducing contamination ($P < 0.0001$) when compared with the use of detergent. Addition of detergent decreased the chance of contamination when combined with disinfectant, as detergent helps in removing dirt and exposes bacteria which were protected by organic matter and biofilms. The use of hot water did not show advantage when compared with cold water. As there was a fall on contamination between the 1st and 3rd day, the time of action of the disinfectant must be considered to calculate the time of vacancy to permit the action on surviving microorganisms. The results of the present work reinforce the importance of cleaning, disinfection and downtime to reduce bacterial load in swine nurseries. The methodology used in this work may serve as a practical system for monitoring cleaning and disinfection of pig facilities.

Key-words: *cleaning, disinfection, hot water, detergent, disinfectant, nursery pig*

Introdução

O desmame é uma fase estressante para leitões, pois são submentidos ao transporte, hierarquização e adaptação ambiental e da ração. Além disso, a microbiota intestinal não está bem desenvolvida, tornando os animais altamente suscetíveis a doenças entéricas (Sobestiansky *et al.*, 2012). A principal causa de diarreia na creche é a colibacilose do desmame, que está fortemente associada ao estresse nesta fase. O leitão adquire a *Escherichia coli* pela via feco-oral, principalmente por contato com fezes de leitões doentes, mas a colonização intestinal pode ser influenciada também pela alta contaminação residual do ambiente resultante de uma má desinfecção entre o alojamento dos lotes. Adicionalmente, o fornecimento de ração em comedouros sujos ou ingestão de ração já fermentada podem contribuir para a multiplicação do agente no intestino delgado (Morés & Moreno, 2012). Uma das estratégias para evitar a infecção do leitão no alojamento de novos lotes consiste em romper a cadeia de infecção pela limpeza e desinfecção das baias e adoção de um adequado

vazio sanitário (Rohr, 2014). Há poucas informações sobre o melhor protocolo a ser usado, principalmente sobre as interações entre os diferentes manejos que podem ser adotados, sejam eles: lavagem com água quente ou fria, uso ou não de detergente e uso ou não de desinfetante.

O uso de detergente na limpeza das instalações é considerado como uma medida de apoio para a remoção da matéria orgânica e biofilme nas superfícies ou fissuras das baias, mas existem poucas informações sobre o real efeito da sua atuação no processo. Nos trabalhos de Gibson et al. (1999); Madec et al. (1999); Hurnik (2005) notou-se diminuição do tempo gasto para a lavagem, mas a ação bactericida não foi evidente. A utilização de água quente comparado à água fria poderia apresentar vantagens pela melhor remoção de gordura e biofilmes, mas os resultados da comparação entre as mesmas tem sido variáveis (Luyckx et al., 2015b).

Desinfetantes são amplamente usados na produção animal como forma de reduzir a contaminação residual após os processos de limpeza. Cada princípio ativo possui um tempo mínimo de ação e a diluição de uso indicadas pelo fabricante, que devem ser respeitados. Também deve-se considerar que muitos desinfetantes são inativados ou tem eficácia reduzida na presença de matéria orgânica e podem ser prejudicados pelo uso em conjunto com detergentes. Por isso, não podem ser negligenciados manejos como limpeza prévia das estruturas e enxague adequado após o uso do detergente (Rohr, 2014).

Em relação ao tempo do vazio sanitário após a lavagem e desinfecção, Luyckx et al. (2016) ao avaliarem o período de vazio sanitário em 6 creches mostraram redução da contagem de mesófilos (UFC/cm²) totais até o 4º dia, porém em outros parâmetros microbiológicos a diferença não foi significativa, indicando que o período prolongado de vazio sem medidas extras de biossegurança não reduz de forma significativa a população bacteriana na instalação.

Existem poucos trabalhos realizados com metodologia científica voltados para a monitoria da limpeza e desinfecção das instalações de espécies confinadas como suínos e aves (Madec *et al.*, 1999; Hurnik, 2005; Mannion *et al.*, 2007). Já questões práticas como as interações entre temperatura da água e uso de detergentes e desinfetantes não foram bem estudados, fazendo com que a maioria dos protocolos usados em avicultura e suinocultura sejam baseados em dados não cientificamente validados. Para medir a contaminação residual bacteriana em instalações após a aplicação de programas de lavagem e desinfecção tem sido usadas placas de contato em trabalhos realizados com suínos (Madec *et al.*, 1999) e frangos de corte (Luyckx et al., 2015a).

No Brasil, não há dados sobre o melhor protocolo a ser utilizado para a limpeza e desinfecção, nem sobre técnicas padronizadas para quantificar a contaminação residual após o uso do processo de descontaminação entre os lotes na suinocultura. Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar a carga bacteriana após a limpeza e desinfecção de baias de duas creches de suínos, analisando a interação entre uso de água quente e água fria, uso ou não de desinfetante, uso ou não de detergente e até 3 dias de vazio sanitário, medindo o crescimento bacteriano pelo uso de placas de contato Rodac.

Materiais e Métodos

Local, instalações e equipamentos

O experimento foi realizado no período de julho a setembro de 2016 em duas creches tecnificadas (A e B), situadas na cidade de Nova Bassano-RS. As instalações estavam em uso há cerca de um ano, apresentavam bons índices produtivos e seguiam normas de boas práticas de higiene e manejo da Agroindústria. As divisórias entre as baias eram formadas por barras de ferro, o corredor tinha piso de concreto, com presença de cortina dupla controlada automaticamente com termostato e tela de proteção nas aberturas. As características das creches, equipamentos e insumos usados na lavagem e desinfecção constam da Tabela 1.

Tabela 1. Características da granja e dos equipamentos utilizados nas creches A e B

Itens	Características
Tamanho da baia	15 m ²
Lotação do lote anterior	15 leitões
Tipo de piso	Piso misto de concreto (compacto, 30%) e polipropileno (vazado, 70%)
Tipo de comedouro	Automático
Tipo de bebedouro	Chupeta
Modelo/ pressão/vazão da lavadora 1	WAP 500/200 bar/800L
Temperatura da água	Ambiente
Modelo/pressão/vazão da lavadora 2	KARCHER HDS 10_18-4 S/140 bar/1000L
Temperatura da água	90°C
Tipo do detergente usado	Alcalino/umectante a 1%
Princípio ativo do desinfetante	Composto de amônia quaternária**

*Cloreto de alquil dimetil benzil amônio CB-30 T.A. Ouro Fino: Concentração indicada pelo fabricante (1 : 2000 – 10mL em 20L de água)

No lote mantido nas instalações no período imediatamente anterior à realização do experimento, ocorreram apenas casos esporádicos de diarreia, sem diagnóstico de surto de doença infecciosa.

Tratamentos

Foram utilizadas 32 baias de cada creche, divididas em 8 tratamentos. Além das baias tratadas, uma baia a direita e outra a esquerda, também recebiam os tratamentos. Essas baias e o corredor foram usados para separar um tratamento de outro, conforme mostrado na Figura 1.

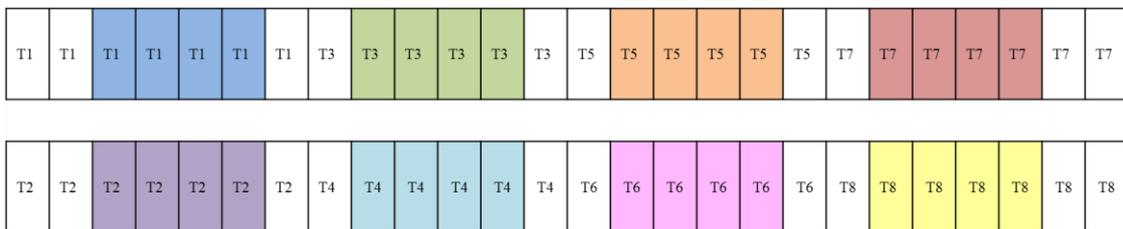


Figura 1. Disposição das baias segundo cada tratamento aplicado na instalação.

Foram usadas duas lavadoras de alta pressão: lavadora 1, para a água fria, e lavadora 2, para água quente. A lavadora 1 foi usada inicialmente nas baias de todos os tratamentos para retirar o excesso de matéria orgânica e os pisos foram desmontados para facilitar a lavagem do fosso de dejetos. A seguir, as baias foram novamente lavadas com água fria ou quente com a adição ou não do detergente, conforme o tratamento estipulado. Logo após o enxague e secagem das baias, em média 12 horas após finalizado o processo de lavagem, o desinfetante foi aplicado com pulverizador costal manual.

Os tratamentos utilizados foram os seguintes:

- **Tratamento 1:** água fria;
- **Tratamento 2:** água quente;
- **Tratamento 3:** água fria e detergente;
- **Tratamento 4:** água quente e detergente;
- **Tratamento 5:** água fria, detergente e desinfetante;
- **Tratamento 6:** água quente, detergente e desinfetante;
- **Tratamento 7:** água fria e desinfetante;
- **Tratamento 8:** água quente e desinfetante.

Coleta de amostras

A metodologia de coleta de amostras por placas de contato (RODAC) e pontos amostrados foram baseados no trabalho de Madec *et al.* (1999). Antes da lavagem e desinfecção, foram coletadas 4 placas de cada baia (por contato durante 5 segundos), nos seguintes pontos: A (parte central da parede do fundo a 30 cm do piso); B (parte interna central do comedouro); C (piso a 15 cm do centro do cocho) e D (piso a 30 cm da parte central do fundo da baia), sendo utilizadas 128 placas. Após a aplicação dos tratamentos, a impressão das placas foi feita pelo contato do ágar, por 5 segundos, nos 4 locais (A, B, C e D) de cada baia conforme a Figura 2. No primeiro e terceiro dia de vazão sanitário foram coletadas 3 placas em cada ponto, totalizando 768 placas por granja. No piso ripado, a impressão foi feita em dois encaixes da placa de plástico (Figura 3), contemplando assim a área central de 16cm² da placa.



Figura 2. Pontos amostrados.

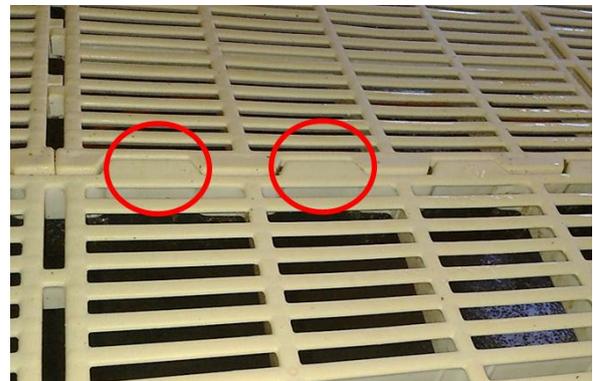


Figura 3. Local de coleta no piso ripado.

Exame bacteriológico

Para a avaliação do crescimento bacteriano, foram usadas placas com o meio seletivo VRB (Violet Red Bile agar, Difco®) dispensados em placas RODAC (Replicate Organism Detection and Counting). Para neutralizar o efeito do desinfetante no crescimento bacteriano, estão presentes no meio de cultivo das placas 0,5% de Tween® 80 (Sigma), 0,07% de Lecitina de soja (Dinâmica) e 1% de Tiosulfato de sódio (Synth) no ágar. Após a impressão, as placas foram refrigeradas imediatamente em caixa isotérmica com gelo, transportadas ao laboratório* e incubadas, logo após a chegada, a 37°C. A contagem do número de unidades

*Laboratório de Bacteriologia da Universidade de Passo Fundo

formadoras de colônias (UFC) foi realizada após 24 h de incubação em um contador de colônias, considerando apenas as colônias dentro dos 16 cm² centrais da placa (4 × 4 cm). Foi realizada a média de crescimento bacteriano, observado nas três placas de cada ponto da baia, e pontuada em escala de 5 escores: Escore 1: ≤50 UFC; Escore 2: 51 - 100 UFC; Escore 3: 101 - 150 UFC; Escore 4: 151-300 UFC e Escore 5: > 300 - incontável.

Análise estatística

As análises estatísticas foram efetuadas com o uso do software SAS[®] (Statistical Analysis System; versão 9.3; 2011). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas ao nível de probabilidade de 95% ($P < 0,05$). Os dados foram analisados considerando um delineamento fatorial $2 \times 2 \times 2$, com três fatores (água, detergente e desinfetante) em dois níveis para cada um deles (água: fria/quente, detergente e desinfetante: presença/ausência).

A resposta de crescimento bacteriano, expressa em escores, foi analisada por regressão logística ordinal (procedimento GLIMMIX). Todos os modelos de análise continham o efeito fixo dos três fatores estudados (água, detergente e desinfetante) e de suas interações, além do efeito aleatório da granja e local de coleta na baia. Os períodos após a aplicação dos tratamentos são referidos nas análises como "vazio sanitário". Os efeitos dos fatores estudados e de suas possíveis interações foram comparados pela razão de chance de diminuir a contaminação.

Resultados

Em todas as placas de contato, coletadas antes da limpeza, não foi possível realizar a contagem de UFC, devido ao crescimento bacteriano abundante. Após limpeza e desinfecção, no primeiro dia de vazio sanitário, não houve efeito individual do detergente e do desinfetante, da interação entre água e desinfetante, nem da interação tripla entre água, detergente e desinfetante ($P > 0,05$).

Houve efeito da interação da água com o detergente ($P < 0,05$), em que o uso do detergente aumentou a chance de diminuir a contaminação quando usado com água quente, mas não com água fria (Tabela 2; Figura 4). Na ausência de detergente, a água fria foi mais eficaz em reduzir a contaminação do que a água quente (Tabela 2; Figura 4). Houve efeito da interação do detergente com o desinfetante ($P < 0,05$), em que a presença de ambos,

detergente e desinfetante, foi mais eficaz em reduzir a contaminação do que na sua ausência ou quando apenas um dos dois foi utilizado (Tabela 3; Figura 5).

No terceiro dia, não houve efeito individual da água e do detergente, das interações duplas (água e detergente, água e desinfetante, detergente e desinfetante) nem da interação tripla entre água, detergente e desinfetante ($P > 0,05$). Houve efeito do desinfetante ($P < 0,0001$) em que a sua ausência diminuiu a chance de reduzir a contaminação (Figura 6) em comparação com o uso de detergente (razão de chance= 0,29; intervalo de confiança 95%: 0,18-0,47).

As Figuras 7 e 8 (Anexo I), são mostradas as frequências dos escores de contaminação para as interações que não tiveram efeito na chance de redução da contaminação das baias, no primeiro e terceiro dia de vazio sanitário, respectivamente.

Tabela 2. Resultados da análise de regressão logística para a chance de redução da contaminação de acordo com a interação entre água e detergente no primeiro dia de vazão sanitário.

Tratamentos	Razão de chance (IC 95%)
AF/Sem Det x AF/Com Det	1,39 (0,73-2,63)
AF/Sem Det x AQ/Sem Det	3,37 (1,69-6,71)
AF/ Sem Det x AQ/Com Det	1,45 (0,77-2,76)
AF/Com Det x AQ/Sem Det	2,42 (1,21-4,84)
AF/Com Det x AQ/Com Det	1,05 (0,55-2,00)
AQ/Sem Det x AQ/Com Det	0,43 (0,22-0,86)

IC= Intervalo de confiança; AF= Água fria; AQ= Água quente; Sem Det= Sem detergente; Com Det= Com detergente.

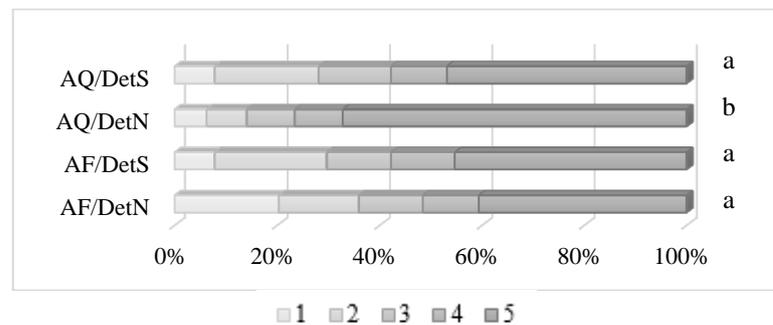


Figura 4. Frequência de escores de contaminação para a interação entre água e detergente, no primeiro dia de vazão sanitário. Os diferentes preenchimentos das colunas estão de acordo com a seguinte escala: escore 1: ≤ 50 UFC; escore 2: 51 - 100 UFC; escore 3: 101 - 150 UFC; escore 4: 151-300 UFC e escore 5: > 300 - considerado incontável. Os dados foram analisados com regressão logística ordinal e letras diferentes indicam diferença na chance da baía estar menos contaminada.

Tabela 3. Resultados da análise de regressão logística para a chance de redução da contaminação de acordo com a interação entre detergente e desinfetante no primeiro dia de vazio sanitário.

Tratamentos	Razão de chance (IC 95%)
Sem Det/Sem Des x Sem Det/Com Des	1,14 (0,59-2,21)
Sem Det/Sem Des x Com Det/Sem Des	1,32 (0,68-2,57)
Sem Det/Sem Des x Com Det/Com Des	0,56 (0,30-1,07)
Sem Det/Com Des x Com Det/Sem Des	1,15 (0,59-2,26)
Sem Det/Com Des x Com Det/Com Des	0,49 (0,26-0,94)
Com Det/Sem Des x Com Det/Com Des	0,43 (0,22-0,82)

IC= Intervalo de confiança; AF= Água fria; AQ= Água quente; Sem Det= Sem detergente; Com Det= Com detergente; Sem Des= Sem desinfetante; Com Des= Com desinfetante

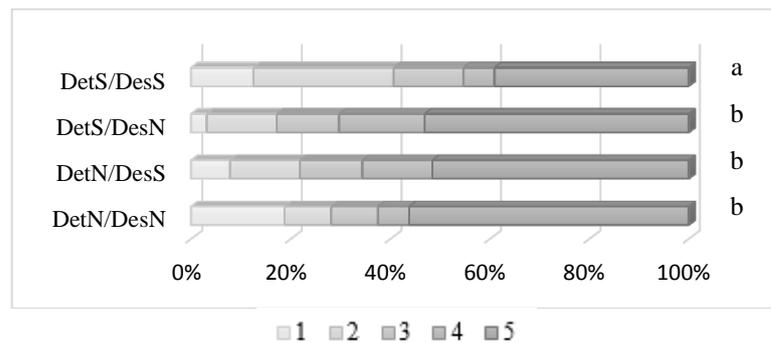


Figura 5. Frequência de escores de contaminação para a interação entre detergente e desinfetante, no primeiro dia de vazio sanitário. Os diferentes preenchimentos das colunas estão de acordo com a seguinte escala: escore 1: ≤ 50 UFC; escore 2: 51 - 100 UFC; escore 3: 101 - 150 UFC; escore 4: 151-300 UFC e escore 5: > 300 - considerado incontável. Os dados foram analisados com regressão logística ordinal e letras diferentes indicam diferença na chance da baía estar menos contaminada.

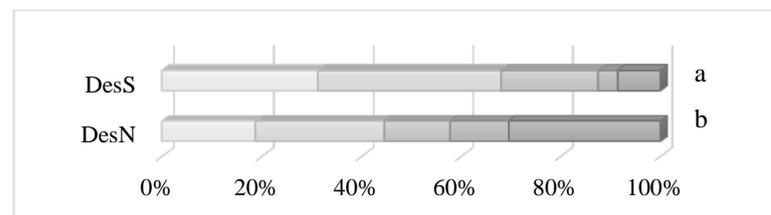


Figura 6. Frequência de escores de contaminação para o efeito do desinfetante no terceiro dia de vazio sanitário. Os diferentes preenchimentos das colunas estão de acordo com a seguinte escala: escore 1: ≤ 50 UFC; escore 2: 51 - 100 UFC; escore 3: 101 - 150 UFC; escore 4: 151-300 UFC e escore 5: > 300 - considerado incontável. Os dados foram analisados com regressão logística ordinal e letras diferentes indicam diferença na chance da baía estar menos contaminada.

Discussão

Existem poucos trabalhos tratando da eficácia do processo de limpeza e desinfecção em granjas de suínos. Os estudos realizados usaram metodologias diferentes e, por isto, na análise dos mesmos, não foi possível concluir sobre um parâmetro microbiológico padronizado para determinar a eficácia dos processos usados.

A principal estratégia usada no sul do Brasil para a remoção de sujidades e crostas na limpeza das creches é o uso de lava jato com água quente ou fria, pois promove uma efetiva remoção da sujeira acumulada e, ao finalizar o processo, a superfície lavada apresenta-se visualmente limpa. O equipamento é de fácil manuseio e com resultados mais rápidos do que a lavagem convencional com água com baixa pressão e vassoura. Além da remoção de sujidades grosseiras, a lavagem com lavadora auxilia na remoção dos biofilmes formados durante o período de alojamento nas creches.

Com relação à comparação entre água fria ou quente na lavagem, no estudo atual houve maior efeito na redução da contaminação com o lava jato de água fria do que com o de água quente, no primeiro dia de vazão sanitário. Algumas hipóteses podem ser levantadas para explicar a superioridade da água fria. A primeira refere-se à quantidade de calor capaz de inativar coliformes, que morrem após exposição a 60°C por 15 a 20 minutos (Wilson e Miles, 1975). Segundo (Andrade, 2008), para efeito bactericida, a temperatura da água deveria estar em torno de 80°C e permanecer em contato direto com a superfície molhada por 5 minutos. Em piso vazado, como no presente experimento, a água da lavagem escoava rapidamente para a fossa abaixo do piso, fazendo com que o calor atue e nas bactérias por poucos segundos. Por isso, é improvável, nessas condições, a existência de efeito bactericida significativo. Em segundo lugar, a superioridade da lavagem com água fria poderia teoricamente ser explicada pela maior pressão do jato de água do aparelho de água fria (200 bar) ao ser comparado com o de água quente (140 bar), resultando numa melhor remoção mecânica de sujidades e biofilmes. No presente experimento as pressões variaram de 200 bar (água fria) a 140 bar (água quente). Como não há relatos sobre os diferentes para avaliar o efeito de desses e de outros níveis de pressão na limpeza de instalações de suínos, novos estudos devem ser realizados avaliando diferentes pressões nas duas temperaturas avaliadas para melhorar o entendimento das diferenças encontradas.

Placas de contato são úteis para avaliar superfícies por serem rápidas de aplicar e fáceis de contar, mas pode ser avaliado apenas um espaço limitado nas mesmas (25 cm²).

Antes da limpeza, todas as placas tiveram crescimento bacteriano incontável, assim como no trabalho de Luyckx et al. (2015a). E, mesmo após três dias de vazio sanitário, poucas foram negativas, apesar da pequena área de contato.

Gibson *et al.* (1999) recomendaram o uso de água quente na indústria alimentícia pelo efeito na remoção de biofilmes. Em outros países, é comum o uso de água quente na limpeza de granjas e suínos (Luyckx *et al.*, 2016). Na prática, Luyckx et al. (2015b) não encontraram diferença entre os protocolos de limpeza com água quente ou fria em instalações de frangos de corte, pois a combinação entre água fria e os produtos utilizados nas mesmas foram suficientes para dissolver gorduras. Entretanto, o uso de água quente diminuiu a quantidade de água necessária para a limpeza, o tempo de serviço e contribuiu para o conforto dos operadores durante a lavagem.

No primeiro dia de vazio sanitário foi possível observar um efeito positivo das interações do detergente com a água e com o desinfetante. Hurnik (2005) relatou que o uso do detergente diminuiu o tempo de lavagem em 8 minutos por baia (cerca de 12%). Já na comparação do desempenho dos animais, a água quente não teve efeito sobre o ganho de peso diário, mas o uso associado de detergente e desinfetante melhorou. Nesse trabalho não é especificada a metodologia de contagem bacteriana, apenas que o uso de detergente não diminuiu as contagens bacterianas, mas que pode ter tido efeito positivo no desempenho dos suínos. Diferentemente, no presente trabalho, a adição do detergente reduziu a carga bacteriana quando associado a desinfetante.

Luyckx *et al.* (2016) avaliaram o efeito do vazio sanitário de 10 dias em creches sobre o crescimento de *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), mesófilos totais e coliformes fecais. A carga microbiana foi medida antes e nos dias 1, 4, 7 e 10 após a desinfecção. A única diferença foi na contagem de mesófilos, mais baixa no 4º dia após a desinfecção. Os autores sugeriram que pequenas flutuações na contagem podem estar relacionadas com a capacidade de algumas bactérias sobreviverem em condições adversas, mas em estado não cultivável. Outra explicação seria a de que a microbiota residual poderia proliferar após a desinfecção pela inibição competitiva em relação a outras bactérias, sobrevivendo ao processo de lavagem e desinfecção pela presença de mecanismos de resistência (McDonnell e Russell, 1999). Com relação à duração do período de vazio sanitário, deve ser considerado que existem pontos negativos, como o fato de que um longo período sem usar a instalação pode ter impacto financeiro negativo, pode ocorrer a recontaminação por vetores como moscas e roedores, especialmente quando outros salas

ainda estiverem ocupadas com animais, ou por resíduos de matéria orgânica, como água de lavagem acumulada dentro de comedouros ou em desníveis do piso (Meerburg *et al.*, 2007).

O conhecimento preciso da dose de *E. coli* capaz de causar doença em leitão após o contato com uma superfície de baia contaminada seria importante para determinar o limite aceitável de contaminação residual das baias por ocasião do alojamento dos animais. Em suínos, utiliza-se a dose de 10^8 UFC para testes de avaliação de eficiência vacinal para *E. coli* enterotoxigênicas (Fairbrother *et al.*, 2017). Como todas as referências encontradas para suínos foram expressas em UFC em diluições em escala logarítmica de meios líquidos ou fezes, não foi possível estabelecer correlação entre os valores necessários para causar doença e os observados nas superfícies analisadas após a aplicação dos diferentes protocolos de lavagem e desinfecção.

Em avaliações sobre a atividade antibacteriana *in vitro* dos desinfetantes mais usados em abatedouros suinícolas, todos foram efetivos na ausência de matéria orgânica (Kich *et al.*, 2004). No entanto, a eficácia de produtos à base de amônia quaternária, hipoclorito de sódio (0,1%), glutaraldeído/cloreto benzalcônio e iodóforo foi reduzida na presença de matéria orgânica. Os derivados de fenol, ácido peracético e hipoclorito 1% foram eficientes para amostras de *Salmonella* Typhimurium (Kich *et al.*, 2004). A retirada total ou quase total da matéria orgânica das instalações de suínos é difícil pelas dificuldades de manejo e em acessar algumas estruturas das creches, o que deve ser considerado na escolha dos produtos a serem usados. No caso de dificuldade na higienização, devem ser usados produtos ativos na presença de matéria orgânica. O desinfetante usado no presente estudo (amônia quaternária) foi eficaz na redução da contaminação por coliformes totais, apesar de ter sido ineficaz contra *Salmonella* spp., em testes realizados *in vitro* na presença de matéria orgânica em comparação com outros princípios ativos (Kich *et al.*, 2004; Colla *et al.*, 2012; Colla *et al.*, 2014; Scur *et al.*, 2014; Mion *et al.*, 2016). No entanto, nesses trabalhos a eficácia do desinfetante foi avaliada em 20 minutos no máximo, desconsiderando a ação residual. Desinfetantes à base de amônia quaternária são estáveis em armazenamento, mas facilmente inativados por matéria orgânica, detergentes, sabões e água com grau elevado de cálcio e magnésio (Dvorak *et al.*, 2005). Considerando que ao terceiro dia existiam placas incontáveis nos tratamentos em que foi aplicado o desinfetante, sua ação pode ter sido prejudicada pela presença de matéria orgânica e detergente. Porém, o uso do desinfetante reduziu a chance de contaminação, esta informação enfatiza a importância de respeitar o tempo de ação do desinfetante, que pode variar conforme o princípio ativo.

Conclusões

Para monitorar a contaminação residual de instalações de suínos, as placas Rodac mostraram-se eficientes para a contagem bacteriana. O conceito de muitos técnicos de ligados à suinocultura de que a água quente funciona melhor do que água fria para os processos de pré lavagem e lavagem não se confirmou no presente trabalho. Entretanto, como existia maior pressão no lava jato de água fria do que no de água quente, esse dado deve ser melhor avaliado. Considerando os resultados, o detergente teve um efeito melhor do que a água quente no processo de lavagem. E nas análises realizadas, a melhor alternativa para lavagem-desinfecção das instalações seria o uso combinado de lavagem com água fria em pressão elevada com detergente, seguido do uso de desinfetante.

Agradecimentos

Os autores são gratos à empresa JBS por proporcionar instalações para realização do trabalho, à Ouro Fino Saúde Animal pelo apoio financeiro e aos funcionários do Laboratório de Bacteriologia da Universidade de Passo Fundo pelo auxílio durante o período experimental.

Referências

ANDRADE, D. D.; ANGERAMI, E. L.; PADOVANI, C. R. A bacteriological study of hospital beds before and after disinfection with phenolic disinfectant. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 7, n. 3, p. 179-184, 2000. ISSN 1020-4989.

ANDRADE, N. J. D. Higiene na indústria de alimentos. **São Paulo: Varela**, v. 400, 2008.

COLLA, F. L. et al. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e eficácia de sanitizantes frente aos isolados de *Salmonella* spp. oriundos de carcaças suínas no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras**, v. 34, n. 4, p. 320-324, 2014.

COLLA, F. L. et al. Avaliação in vitro de clorexidina, amônia quaternária e ácido peracético frente a amostras de *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola em 2005 e 2009.

Pesquisa veterinária brasileira. Vol. 32, n. 4 (abr. 2012), p. 289-292, 2012. ISSN 0100-736X.

DVORAK, G. et al. Disinfection 101. **Center for Food Security and Public Health, Iowa State University, Ames, IA, 2005.**

FAIRBROTHER, J. M. et al. Immunogenicity and protective efficacy of a single-dose live non-pathogenic *Escherichia coli* oral vaccine against F4-positive enterotoxigenic *Escherichia coli* challenge in pigs. **Vaccine**, v. 35, n. 2, p. 353-360, 2017. ISSN 0264-410X.

GIBSON, H. et al. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. **Journal of applied microbiology**, v. 87, n. 1, p. 41-48, 1999. ISSN 1365-2672.

HURNIK, D. Investigations into optimal washing and disinfection techniques for pig pens. LONDON SWINE CONFERENCE, 2005, Citeseer. p.135.

KICH, J. D. et al. Avaliação da atividade antibacteriana de seis desinfetantes comerciais frente a amostras de *Salmonella typhimurium* isoladas de suínos. **Acta scientiae veterinariae. Porto Alegre, RS. Vol. 32, n. 1 (2004), p. 33-39, 2004. ISSN 1678-0345.**

LUYCKX, K. et al. Comparison of sampling procedures and microbiological and non-microbiological parameters to evaluate cleaning and disinfection in broiler houses. **Poultry science**, v. 94, n. 4, p. 740-749, 2015a. ISSN 0032-5791.

LUYCKX, K. et al. A 10-day vacancy period after cleaning and disinfection has no effect on the bacterial load in pig nursery units. **BMC veterinary research**, v. 12, n. 1, p. 236, 2016. ISSN 1746-6148.

LUYCKX, K. et al. On-farm comparisons of different cleaning protocols in broiler houses. **Poultry science**, v. 94, n. 8, p. 1986-1993, 2015b. ISSN 0032-5791.

MADEC, F. et al. Measurement of the Residual Contamination of Post-Weaning Facilities for Pigs and Related Risk Factors. **Zoonoses and Public Health**, v. 46, n. 1, p. 47-56, 1999. ISSN 1439-0450.

MANNION, C. et al. Efficacy of cleaning and disinfection on pig farms in Ireland. **The Veterinary Record**, v. 161, n. 11, p. 371-375, 2007. ISSN 0042-4900.

MCDONNELL, G.; RUSSELL, A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 1, p. 147-179, 1999. ISSN 0893-8512.

MEERBURG, B.; VERMEER, H.; KIJLSTRA, A. Controlling risks of pathogen transmission by flies on organic pig farms: a review. **Outlook on AGRICULTURE**, v. 36, n. 3, p. 193-197, 2007. ISSN 0030-7270.

MION, L. et al. Effect of Antimicrobials on Salmonella Spp. Strains Isolated from Poultry Processing Plants. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 18, n. 2, p. 337-342, 2016. ISSN 1516-635X.

MORÉS, N. & MORENO, A.M. Colibacilose da terceira semana. **Doenças dos suínos**, v. 2, p. 115, 2012.

ROHR, S. Programas de limpeza e desinfecção na suinocultura. *Produção de Suínos: Teoria e Prática*. **Brasília: Associação**, p. 615, 2014.

SCUR, M. C. et al. Atividade in vitro de desinfetantes comerciais no controle de duas espécies de bactérias de interesse avícola. **Boletim de Indústria Animal**, v. 71, n. 2, p. 147-153, 2014. ISSN 1981-4100.

SOBESTIANSKY, J. et al. Classificação das doenças. **Doenças dos suínos**, v. 2, p. 14-20, 2012.

WILSON, G. S.; MILES, A. A. **Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology and immunity**. 1975. ISBN 0713142022.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso da água quente na limpeza e nas interações mostrou-se menos eficiente do que a água fria em relação à diminuição da carga bacteriana. Este fato pode ter sido determinado pela diferença de pressão entre os dois aparelhos usados (aparelho de água fria com maior pressão do que o de água quente), o que pode ter determinado uma melhor remoção de sujidades e biofilmes pela lavadora com maior pressão. A água quente poderia ser justificada por seu efeito na remoção de gorduras e biofilmes e talvez num equipamento de maior pressão, mas isso não foi especificamente avaliado no presente experimento;

Os desinfetantes tiveram ação positiva em todas as associações. Novos trabalhos com maior número de princípios ativos poderiam contribuir para a definição de protocolos mais adequados à redução de coliformes totais após lavagem e desinfecção de instalações de suínos.

O estudo avaliou apenas coliformes totais e um desinfetante de amônia quaternária. Por isso, não pode-se afirmar que os protocolos avaliados venham a ser aplicáveis a outros patógenos relevantes para suínos na fase de creche.

O método bacteriológico utilizando placas de contato Rodac mostrou-se eficiente para a medida da contaminação residual das instalações após a adoção dos manejos de limpeza e desinfecção.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMASS, S. et al. Evaluation of biosecurity procedures to prevent mechanical transmission of enterotoxigenic *Escherichia coli* by people. **Swine Health and Production**, v. 11, p. 61-68, 2003.

AMASS, S. F.; RAGLAND, D.; SPICER, P. Evaluation of the efficacy of a peroxygen compound, Virkon (R) S, as a boot bath disinfectant. **Journal of Swine Health and Production**, v. 9, n. 3, p. 121-123, 2001.

ANDRADE, D. D.; ANGERAMI, E. L.; PADOVANI, C. R. A bacteriological study of hospital beds before and after disinfection with phenolic disinfectant. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 7, n. 3, p. 179-184, 2000. ISSN 1020-4989.

ANDRADE, N. J. D. Higiene na indústria de alimentos. **São Paulo: Varela**, v. 400, 2008.

COLLA, F. L. et al. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e eficácia de sanitizantes frente aos isolados de *Salmonella* spp. oriundos de carcaças suínas no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras**, v. 34, n. 4, p. 320-324, 2014.

COLLA, F. L. et al. Avaliação in vitro de clorexidina, amônia quaternária e ácido peracético frente a amostras de *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola em 2005 e 2009. **Pesquisa veterinária brasileira**. Vol. 32, n. 4 (abr. 2012), p. 289-292, 2012. ISSN 0100-736X.

DA SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário em serviços de alimentação**. Varela, 2010.

DRITZ, S. Nursery management: hygiene and feeding management practices to ensure healthy pigs. Manitoba Swine Seminar, 2002. p.1-12.

DVORAK, G. et al. Disinfection 101. **Center for Food Security and Public Health, Iowa State University, Ames, IA**, 2005.

FAIRBROTHER, J. M. et al. Immunogenicity and protective efficacy of a single-dose live non-pathogenic *Escherichia coli* oral vaccine against F4-positive enterotoxigenic *Escherichia coli* challenge in pigs. **Vaccine**, v. 35, n. 2, p. 353-360, 2017. ISSN 0264-410X.

FERREIRA, A. H. et al. *Produção de Suínos: Teoria e Prática*. **Brasília: Associação**, 2014.

FUSTER-VALLS, N. et al. Effect of different environmental conditions on the bacteria survival on stainless steel surfaces. **Food Control**, v. 19, n. 3, p. 308-314, 2008. ISSN 0956-7135.

GIBSON, H. et al. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. **Journal of applied microbiology**, v. 87, n. 1, p. 41-48, 1999. ISSN 1365-2672.

GREZZI, G. Limpeza e desinfecção na avicultura. CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 2007, FACTA Campinas^eSP. p.161-182.

HACEK, D. M. et al. Comparison of the Rodac imprint method to selective enrichment broth for recovery of vancomycin-resistant enterococci and drug-resistant Enterobacteriaceae from environmental surfaces. **Journal of clinical microbiology**, v. 38, n. 12, p. 4646-4648, 2000. ISSN 0095-1137.

HUBER, G.; BOOTH, N. Anti-sépticos e Desinfetantes. **Booth NH, McDonald LE. Farmacologia e terapêutica em veterinária**, v. 6, p. 617-632, 1992.

HUNEAU-SALAÜN, A. et al. Evaluation of common cleaning and disinfection programmes in battery cage and on-floor layer houses in France. **British poultry science**, v. 51, n. 2, p. 204-212, 2010. ISSN 0007-1668.

HURNIK, D. Investigations into optimal washing and disinfection techniques for pig pens. LONDON SWINE CONFERENCE, 2005, Citeseer. p.135.

KELLY, J. A. et al. Analysis of Lightning and BioClean tests for assessment of sanitation levels in pork production facilities. **Journal of Swine Health and Production**, v. 9, n. 5, p. 207-213, 2001.

KICH, J. D. et al. Avaliação da atividade antibacteriana de seis desinfetantes comerciais frente a amostras de *Salmonella typhimurium* isoladas de suínos. **Acta scientiae veterinariae. Porto Alegre, RS. Vol. 32, n. 1 (2004), p. 33-39**, 2004. ISSN 1678-0345.

LUYCKX, K. et al. Comparison of sampling procedures and microbiological and non-microbiological parameters to evaluate cleaning and disinfection in broiler houses. **Poultry science**, v. 94, n. 4, p. 740-749, 2015a. ISSN 0032-5791.

LUYCKX, K. et al. A 10-day vacancy period after cleaning and disinfection has no effect on the bacterial load in pig nursery units. **BMC veterinary research**, v. 12, n. 1, p. 236, 2016. ISSN 1746-6148.

LUYCKX, K. et al. On-farm comparisons of different cleaning protocols in broiler houses. **Poultry science**, v. 94, n. 8, p. 1986-1993, 2015b. ISSN 0032-5791.

MADEC, F. et al. Measurement of digestive disorders in the piglet at weaning and related risk factors. **Preventive veterinary medicine**, v. 35, n. 1, p. 53-72, 1998. ISSN 0167-5877.

MADEC, F. et al. Measurement of the Residual Contamination of Post-Weaning Facilities for Pigs and Related Risk Factors. **Zoonoses and Public Health**, v. 46, n. 1, p. 47-56, 1999. ISSN 1439-0450.

MANNION, C. et al. Efficacy of cleaning and disinfection on pig farms in Ireland. **The Veterinary Record**, v. 161, n. 11, p. 371-375, 2007. ISSN 0042-4900.

MCDONNELL, G.; RUSSELL, A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 1, p. 147-179, 1999. ISSN 0893-8512.

MEERBURG, B.; VERMEER, H.; KIJLSTRA, A. Controlling risks of pathogen transmission by flies on organic pig farms: a review. **Outlook on AGRICULTURE**, v. 36, n. 3, p. 193-197, 2007. ISSN 0030-7270.

MION, L. et al. Effect of Antimicrobials on Salmonella Spp. Strains Isolated from Poultry Processing Plants. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 18, n. 2, p. 337-342, 2016. ISSN 1516-635X.

MORÉS, N. & BARCELLOS, D.E.S.N. Colibacilose neonatal. **Doenças dos suínos**, v. 2, p. 116-122, 2012.

MORÉS, N. & MORENO, A.M. Colibacilose da terceira semana. **Doenças dos suínos**, v. 2, p. 115, 2012.

RODRIGUES, L. B. Avaliação da formação de biofilmes e das condições higiênico-sanitárias em superfícies de contato com alimentos em sala de cortes de matadouro de aves. Tese. 2009.

ROHR, S. Programas de limpeza e desinfecção na suinocultura. Produção de Suínos: Teoria e Prática. **Brasília: Associação**, p. 615, 2014

SCUR, M. C. et al. Atividade in vitro de desinfetantes comerciais no controle de duas espécies de bactérias de interesse avícola. **Boletim de Indústria Animal**, v. 71, n. 2, p. 147-153, 2014. ISSN 1981-4100.

SELLA, A. B. Presença residual de coliformes totais e salmonella sp., em granjas de terminação de suínos após vazão sanitário. Dissertação. 2008.

SNYDER JR, O. P. HACCP and regulations applied to minimally processed foods. **Microbial Safety of Minimally Processed Foods**, p. 127-150, 2003.

SOBESTIANSKY, J. et al. Clínica e Patologia suina. **UFGO, Goiania**, 1999.

SOBESTIANSKY, J. et al. Classificação das doenças. **Doenças dos suínos**, v. 2, p. 14-20, 2012.

SOBESTIANSKY, J. et al. **Suinocultura intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**. Embrapa Producao de Informacao, 1998. ISBN 8573830360.

STEPANOVIĆ, S.; ĆIRKOVIĆ, I.; RANIN, L. Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. **Letters in applied microbiology**, v. 38, n. 5, p. 428-432, 2004. ISSN 1472-765X.

STRINGFELLOW, K. et al. Evaluation of disinfectants commonly used by the commercial poultry industry under simulated field conditions. **Poultry science**, v. 88, n. 6, p. 1151-1155, 2009. ISSN 0032-5791.

WILSON, G. S.; MILES, A. A. **Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology and immunity**. 1975. ISBN 0713142022.

ANEXO I

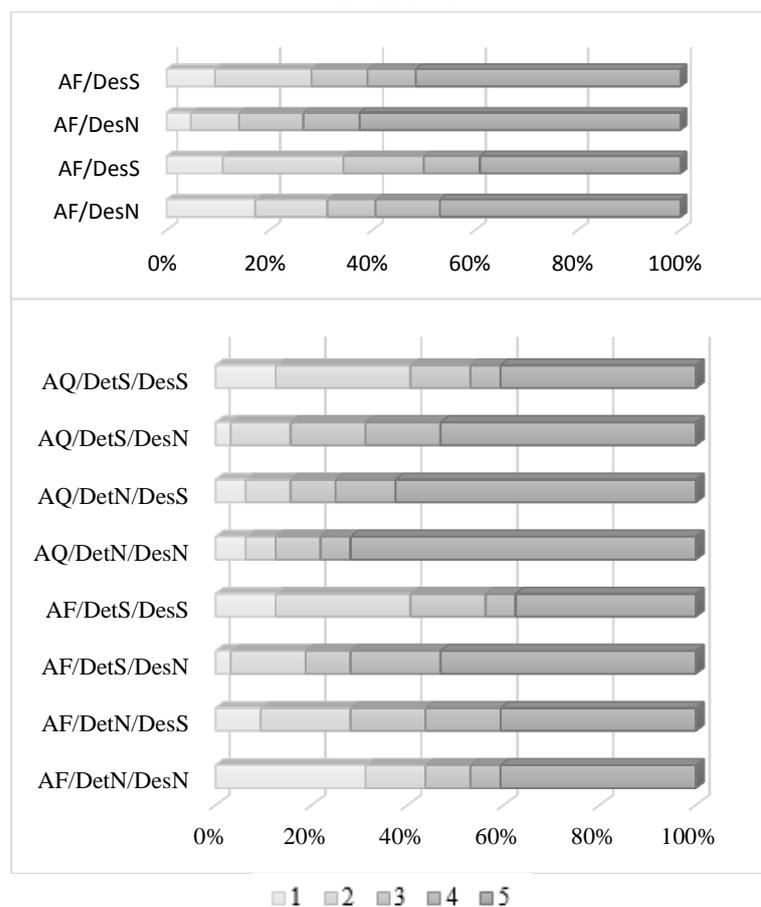


Figura 7. Frequência de escores de contaminação para as interações entre água e desinfetante e entre água, detergente e desinfetante, no primeiro dia de vazão sanitário. Os diferentes preenchimentos das colunas estão de acordo com a seguinte escala: escore 1: ≤ 50 UFC; escore 2: 51 - 100 UFC; escore 3: 101 - 150 UFC; escore 4: 151-300 UFC e escore 5: > 300 - considerado incontável. Os dados foram analisados com regressão logística ordinal e não foram observados efeitos dessas interações ($P > 0,05$) na chance da baía estar menos contaminada.

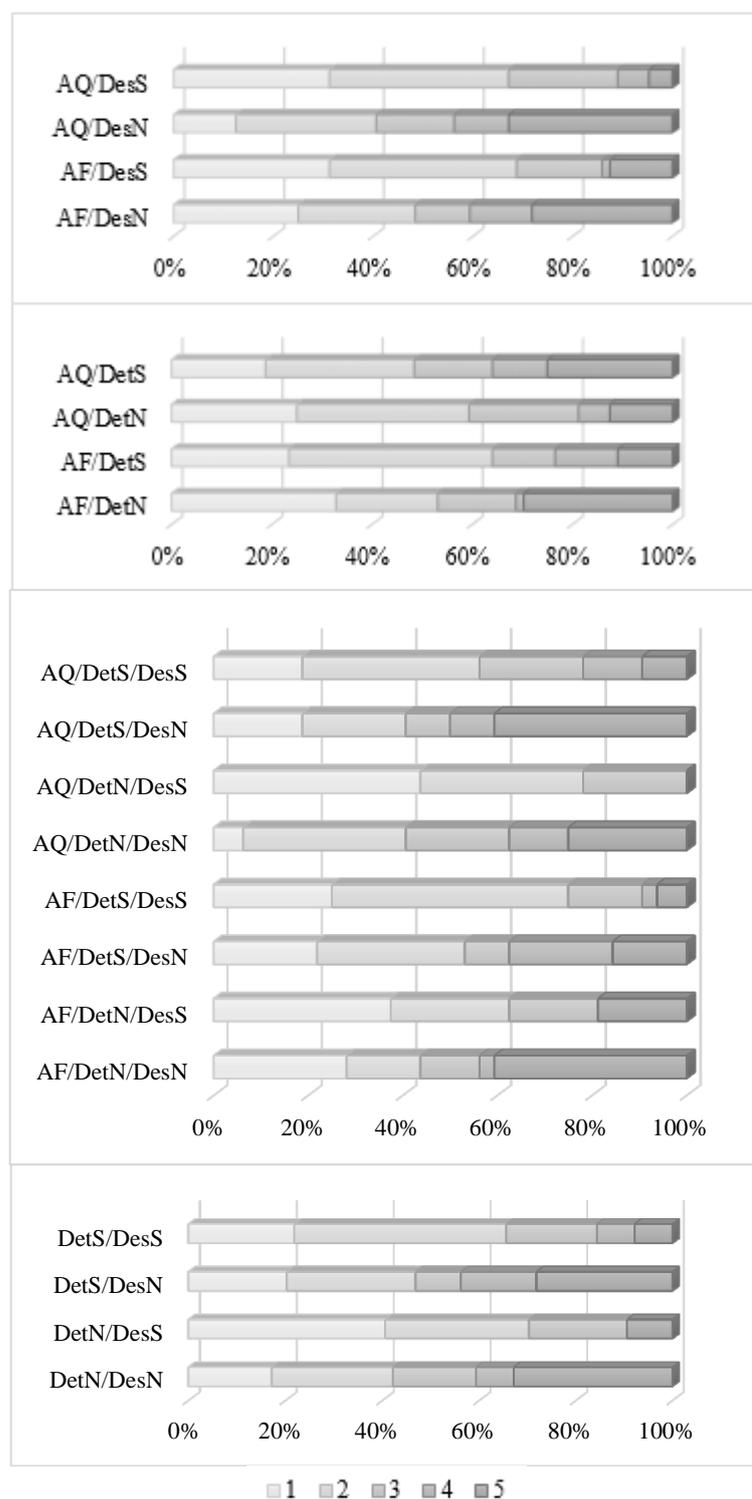


Figura 8. Frequência de escores de contaminação para a interações entre água e detergente, água e desinfetante, detergente e desinfetante e entre água, detergente e desinfetante, no terceiro dia de vazio sanitário. Os diferentes preenchimentos das colunas estão de acordo com a seguinte escala: escore 1: ≤ 50 UFC; escore 2: 51 - 100 UFC; escore 3: 101 - 150 UFC; escore 4: 151-300 UFC e escore 5: > 300 - considerado incontável). Os dados foram analisados com regressão logística ordinal e não foram observados efeitos dessas interações ($P > 0,05$) na chance da baía estar menos contaminada.