

Mikrobiološko djelovanje pripravaka za spriječavanje mastitisa na bazi aktivnog joda («Blinal» i «Zlatol Jodip-F»)

(Microbiological Effect of Preparations for Preventing of Mastitis, Based on Active Iodine («Blinal» and «Zlatol Jodip-F»)

Dr. Ante JELIĆ, Marinko PAPONJA, dipl. vet., Karmen BOTKA-PETRAK, dipl. inž., Veterinarski fakultet Zagreb; mr. Dušan ZAVRŠNIK, Matjaž KOREN, dipl. inž., Tovarna »Zlatorog«, Maribor; dr. Milutin RISTIĆ, Tehnološki fakultet, Novi Sad

Stručni rad — Professional Paper

UDK: 637.133.7

Prispjelo: 30. 3. 1988.

Sažetak

Istraživanjem smo ustanovili da zbog sigurnosti djelovanja dezinficijensa u laboratorijskim uvjetima radna koncentracija za ZLATOL JADIP-F i BLINAL, koja bi zaustavila rast bakterijskih kultura u vremenu ekspozicije od 180 sekundi, ne bi smjela biti manja od 2,00‰.

Uzimajući u obzir bjelančevinastu grešku (utjecaj bjelančevina), radna koncentracija za oba dezinficijensa ne bi smjela biti manja od 5,00‰. Tom koncentracijom mogu se uništiti mikroorganizmi prilikom dezinfekcije vimena i sisa krava muzara, samo ako se radi precizno ili pod kontrolom, što potvrđuju praktična istraživanja na gospodarstvu muzara u Sađilovcu.

Zbog često nepreciznog rada ili mogućih grešaka u somom postupku »teat dip«, moramo uzeti »faktor sigurnosti« 2,5. Tada se dobiva koncentracija od 12,5‰ koju preporučujemo za primjenu u praksi.

Summary

With our research we can state that for security of the influence of disinfection in laboratory conditions, the concentration for ZLATOL JODIP-F and BLINAL which would stop the growth of bacterial culture in the exposition time of 180 sec should not be less than 2.00‰.

Considering the protein mistake, the working concentration for both disinfectants should not be less than 5.00‰. By that concentration microorganisms can be destroyed during disinfection of cow udder only if the work is precise or under control which is proved in the practical research on the milker farm in Sađilovac.

Owing to the inadequate work or possible mistakes in the »teat dip« procedure we have to take into consideration the »security factor« 2.5‰; then we come to a concentration of 12.5‰ which we advise for practical usage.

Uvod

Različiti izvori uzrokuju zaraze i zagađenost vimena odnosno mlijeka, pa je zbog liječenja neophodno poznavati sve činioce tehničko-tehnološke i higijenske prirode koji utječu na higijensku kakvoću mlijeka.

Najznačajniji i najvažniji izvor zagađenosti mlijeka bakterijama je mužnja. Nepravilna mužnja provedena primitivnim postupkom i nepoznavanje osnovnih higijenskih načela i funkcionalnosti tehničkog dijela strojne mužnje mogu utjecati na kakvoću mlijeka, a time i na samu potrošnju mlijeka.

Problemi higijene mlijeka sve više su problemi zdravstvene, socijalne i privredne važnosti. Masovni uzgoj i veći broj grla zahtijevaju unapređenje i modernizaciju mužnje i prve obrade mlijeka i sustavnu borbu protiv svih bolesti muzara, osobito protiv bolesti mamarnog kompleksa.

Zbog svega toga već se više godina intenzivno pazi na čistoću vimena i sisa: upotrebljavaju se dezinficijensi s proračunatim sadržajem aktivnog joda koji prodire u kanale sisa i uništava uzročnike mastitisa. Površine su zaštićene tankim dezinfekcijskim slojem koji dulje štiti od zaraze. Posebni dodaci osiguravaju, pak, mekoću kože i štite je od sušenja. Pripravci takvog ili uglavnom sličnog djelovanja, kojima smo se u ovim istraživanjima bavili, su Zlatol Jodip-F i Blinal.

Željeli smo da prvenstveno »in vitro« pokusima, koje smo proveli u mikrobiološkom laboratoriju »Zlatorog« Maribor i u laboratoriju Centra za tehnologiju animalnih proizvoda Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, gdje smo se služili svim suvremenim dostignućima mikrobiološke struke i znanosti, dokažemo i predložimo stručnjacima na terenu sigurne, uporabne koncentracije i ekspozicije ta dva pripravka.

Dosadašnji prikazi i objavljeni rezultati u stručno-znanstvenoj literaturi su, zbog određenih nedosljednosti u istraživanju i u samoj primjeni, izazvali velike rasprave među proizvođačima tih preparata i među krajnim korisnicima.

Važnost dezinfekcije vimena i sisa u govedarskoj proizvodnji

Bolesti mliječne žlijezde dosta su česte u svih domaćih životinja, a posebno kod goveda. Posljednjih godina ukazuje se na još veću važnost zaraza vimena, osobito stafilokokima. Na nekim gospodarstvima postotak stafilokokima zaraženih četvrti penje se i na 55%. Ocijenjeno je da na poljoprivrednim dobrima u nas svaka krava daje godišnje u prosjeku 211 l mlijeka manje zbog kroničnih upala vimena. Daljnje štete od bolesti vimena nastaju zbog prijevremenog izdvajanja krava iz uzgoja i zbog slabije kakvoće mlijeka, koje nije pogodno ni za uporabu ni za preradu.

Mlijeko može biti opasno po ljudsko zdravlje zbog zaraza i zbog prisutnosti antibiotika u njemu (s njima se nekontrolirano postupa u liječenju mliječne žlijezde).

Poremećeno izlučivanje mliječne žlijezde očituje se najčešće povećanjem broja leukocita u mlijeku, te eventualno blažim promjenama u okusu mlijeka (slano mlijeko). I iritacija vimena vrlo često uzrokuje poremećenost u izlučivanju. Latentne zaraze često su samo povremene zaraze i time se u neku ruku znak smanjene otpornosti mliječne žlijezde, odnosno predstadij mastitisa, do kojeg ipak u velikom broju slučajeva ne dolazi. Da bi se sve to spriječilo, jedna od najvažnijih preventivnih mjera je obavezna dezinfekcija sisa i vimena prije, a osobito poslije mužnje.

Postupcima dezinfekcije vimena i sisa pripravcima na bazi aktivnog joda, kojima smo se služili, uspjeli smo povećati mliječnost na istraživanim poligonima i do 33,8%.

Podaci iz literature

U radovima koji su nam iz literature do sada poznati, najčešće su bili zastupljeni slijedeći tipovi proizvoda upotrebljenih za sanitaciju vimena, nakon mužnje.

1. jodofori; 2. kvarterni amonijevi spojevi; 3. klorheksidin; 4. Na hipoklorit; 5. dodecil benzen sulfonska kiselina (DDBSA); 6. akrilni latex (fizikalna barijera).

Navedeni tipovi sredstava za sanitaciju vimena najčešće se upotrebljavaju u SAD, a njihova zastupljenost u većini ostalih zemalja data je u tablici 1.

Tablica 1. Sredstva za sanitaciju vimena koja se upotrebljavaju u većini zemalja i mjesto zastupljenosti koje u dotičnoj zemlji ima isti dezinficijens

Država	Farme %	Rangiranje po mjestu zastupljenosti					J ₂ %
		1.	2.	3.	4.	5.	
		A	B	C	D	E	
Australija	40	1.	2.	3.	—	—	0,50
Austrija	10	1.	—	2.	—	—	0,12
Danska	10	1.	—	1.	—	—	0,25
Engleska	60	1.	5.	3.	4.	2.	0,25—1,00
Francuska	20	1.	2.	—	—	—	0,50
Irska	30	2.	—	1.	—	—	0,50—0,60
Nizozemska	23	2.	1.	—	—	—	0,50
Norveška	10	1.	—	—	—	—	0,25—0,40
Novi Zeland	66	2.	1.	—	3.	—	0,25—0,50
Njemačka	30	1.	—	—	—	—	0,20—0,50
Poljska	100	1.	—	—	—	—	0,76
Svedska	40	1.	—	—	—	—	0,26—0,40

Dezinficijensi: A — jodofori; B — klorheksidin; C — akt. klor; D — kvart. amonijevi spojevi; E — DDBSA; (—) ne upotrebljava se

Kakvoća sredstava za sanitaciju ovisi o: sastavu i formulaciji; načinu djelovanja; sigurnosti; prednostima i manama i o efikasnosti.

JODOFOR

Sastav i formulacija

Jodofor je kombinacija joda i kompleksnog agensa ili molekule nosača (propilenoksid, etilenoksid polimeri, kvarterni amonijevi spojevi ili polivinil-pirolidon (Gershenfeld, 1977).

U proizvodima na bazi jodofora molekule nosača vezane su s molekulama (J_2) i ionima (J). U otopinama jodofora dio molekula joda (J_2) je u ravnoteži s kompleksnim agensom, ali na njega nije vezan. Te molekule nazivaju se »slobodni« jod (J_2) i u aktivnoj su, germicidnoj formi. Kompleksni jod i slobodni jod nazivaju se »raspoloživi« jod. Ako je J_2 u otopini iskorišten ili inaktiviran, dodatni jod se oslobađa iz kompleksnog stanja u J_2 (Favero, 1982).

Stabilne formulacije jodofora moraju sadržavati najmanje 0,1% joda.

Tragovi jodata (JO_3) inkorporiraju se i reagiraju polako s jodidom u formu J_2 (Berkelman, 1981; Windholz, 1976).

Način djelovanja

Jodofori djeluju destruktivno na mikroorganizme kemijskom, a ne biološkom akcijom. Jod djeluje »spaljujuće« na bakterije putem oksidoredukcijskog mehanizma. Akcija uništenja je brza (Prince, et. al., 1978).

Sigurnost

Jodofori se smatraju razmjerno netoksičnima (Winicov, 1982).

Prednosti i mane

Jod u obliku tinkture ili jodofora dugo je poznat kao efikasni antiseptik i dezinficijens. Ima široki spektar antimikrobnog djelovanja prema vegetativnim bakterijama, gljivicama, virusima i sporogenim bakterijama (Gershenfeld, 1977; King, et. al., 1981; Lewin et. al., 1980). Svojstva elementarnog joda su: slaba topivost u vodi; alkoholne otopine djeluju iritirajuće; obojenost; neugodan — jak miris (Winicov, 1982). No, ti problemi smanjuje se kombiniranjem joda s topivim agensima ili nosačima, koji obrazuju jodoforne spojeve.

Jodofori imaju pojačano baktericidno djelovanje i niži tlak para koji smanjuje intenzitet mirisa i obojenost, a moguć je postanak čitavog niza stabilnih otopina (Windholz, 1976).

Jodofori razmjerno ne iritiraju kožu. Upotreba jodofora na gospodarstvima ostavlja trag (boja), te se tako kontrolira provođenje »teat dip« kao mjere u sanitaciji vimena i sisa (Gershenfeld, 1977).

Jod nije selektivan u načinu djelovanja, već jodira svaki materijal. Prema tome, reagirat će s raznim organskim tvarima, a taj se problem rješava formulacijama s dovoljnim sadržajem »raspoloživog« joda.

Efikasnost

Efikasnost jodofora kao sredstva za sanitaciju vimena dokumentirana je u našem radu, a rezultati su predloženi u tablicama.

Tablica 2.

Rezultati bakteriološke analize briseva uzetih sa sisa 8 krava na »Farmi Sadilovac«

Red. br.	Vrste mikroorganizama	Prije dezinfekcije								Nakon dezinfekcije*								
		1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	
1.	<i>Streptococcus agalactiae</i>	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2.	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3.	<i>Streptococcus uberis</i>	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4.	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5.	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

* Nakon dezinfekcije ZLATOL JODIPOM, konc. 5%, ekspoz. 60 sek.

Uz pomoću »teat dip« s pripravcima na bazi jodofora može se uspješno spriječiti pojava novih intramamarnih zaraza uzrokovanih *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus agalactiae*, koji su izolirani kao najčešći uzročnici mastitisa, dok je efikasnost na okolnu (štalsku) mikrofloru jednaka kao za ostale aktivne tvari.

Materijal i metode

Testirani uzorci: Zlatol Jodip-F (Zlatorog)
Blinal (Lek)

Metodologija rada:

- Za određivanje antibakterijske aktivnosti upotrijebljen je kvalitativni suspenzijski test MKD-8, Borneff et. al. 1981. modificiran za pripravke koji sadrže antimikrobnu tvar — jodofore, kako slijedi;
 - bakterijsku kulturu i dezinfekcijsko sredstvo nasaditi na hranjivi bujon koji sadrži inhibitore, inkubacija 24 sata na 37 °C.
 - nakon inkubacije, iz hranjivog bujona nasaditi na krvni agar ezom Ø 4 mm, inkubirati 24 sata na 37 °C.

Tablica 3.

Baktericidni test

Testirana bakter. kultura	Konzentracija dezinfekcionog sredstva (‰)																	
	0,25			0,50			5,00			25,00								
	30	60	300	60	300	600	30	60	300	60	300	600	30	60	300	60	300	600
Streptococcus agalactiae	Zlatol	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Blinal	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Streptococcus dysgalactiae	Zlatol	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Blinal	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Streptococcus uberis	Zlatol	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Blinal	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Zlatol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	Blinal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Escherichia coli ATCC 11229	Zlatol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	Blinal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Legenda: + prisutan rast (dezinf. sredstvo ne djeluje)

— nema rasta (dobro djeluje)

Tablica 4.

Baktericidni test

Testirana bakter. kultura	Koncentracija dezinfekcionog sredstva (%)														
	1		2		3		4		5						
	30	60	150	300	600	30	60	150	300	600	30	60	150	300	600
	Ekspozicija (sekunda)														
Staph. aureus ATCC 6538 (bez seruma)	Zlatol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Blinal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Staph. aureus ATCC 6538 (sa serumom)	Zlatol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Blinal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E. coli ATCC 11229 (bez seruma)	Zlatol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Blinal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E. coli ATCC 11229 (sa serumom)	Zlatol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Blinal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: + prisutan rast (dezinf. sredstvo ne djeluje)

— nema rasta (dobro djeluje)

C — kulturu i dezinfekcijsko sredstvo nasaditi izravno na krvni agar ezom Ø 4 mm, inkubirati 24 sata na 37 °C.

- Zbog utjecaja bjelančevina na baktericidno djelovanje dodali smo 10⁰/₀ govedeg seruma
- Jodometrijskom titracijom mjerili smo sadržaj aktivnog joda.

Radne koncentracije

S obzirom na preporuku proizvođača u primjeni pripravka (uputa o upotrebi) priređene su slijedeće koncentracije: 0,25⁰/₀; 0,50⁰/₀; 5,00⁰/₀ i 25,00⁰/₀.

Dodatkom 10⁰/₀ seruma otopinama koncentracije 1,00⁰/₀; 2,00⁰/₀; 3,00⁰/₀; 4,00⁰/₀; 5,00⁰/₀, opazili smo utjecaj bjelančevina na baktericidno djelovanje.

Radna temperatura: 27 °C

Testne kulture: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *Streptococcus agalactiae*; *Streptococcus dysgalactiae*; *Streptococcus uberis*; *Escherichia coli* ATCC 11229.

Zbog utjecaja bjelančevina te razmjerno veće otpornosti prema jodoformima, testirali smo samo *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* pri koncentraciji otopine 1,00⁰/₀; 2,00⁰/₀; 3,00⁰/₀; 4,00⁰/₀, a pri koncentraciji od 5,00⁰/₀ testirali smo sve navedene kulture.

Mjerenje količine aktivnog joda

Originalni uzorci sadrže, prema deklaraciji, 1,00⁰/₀ aktivnog joda; jodometrijskom titracijom dobili smo slijedeće rezultate:

Zlatol Jodip-F — 0,939⁰/₀ akt. J₂; pH = 2,58
Blinal — 0,945⁰/₀ akt. J₂; pH = 2,63

Količina aktivnog joda izmjerena u testnim radnim otopinama:

konc. otopine (‰)	Jodip-F (‰ akt. J ₂)	Blinal
0,25	0,0020	0,0020
0,50	0,0043	0,0038
1,00	0,0076	0,0076
2,00	0,0164	0,0152
3,00	0,0228	0,0228
4,00	0,0320	0,0380
5,00	0,0480	0,0460
25,00	0,2070	0,1930

Količina aktivnog joda u otopinama kojima smo dodavali 10 ‰ seruma:

1,00	0,0065	0,0055
2,00	0,0130	0,0110
3,00	0,0138	0,0165
4,00	0,0264	0,0191
5,00	0,0350	0,0252

Tvrdoća vode koju smo upotrebljavali u pripremi testnih radnih koncentracija izmjerena je u analitičkim laboratorijima TOZD Institut — Maribor i Centra za tehnologiju animalnih proizvoda Veterinarskog fakulteta Zagreb: — karbonska tvrdoća 4,6 °N; ukupna tvrdoća 8,25 °N; Ca tvrdoća 4,25 °N; Mg tvrdoća 4,0 °N.

Rezultati rada

ZLATOL JADIP-F (A);

BLINAL (B)

1. baktericidno djelovanje

- pri koncentraciji otopine A i B od 0,25% preživljavaju sve testne kulture
- pri koncentraciji otopine A i B od 0,50% nema rasta u vremenu od 30 sekundi *Streptococcus agalactiae*, u vremenu od 150 sekundi *Streptococcus dysgalactiae* i u vremenu od 300 sekundi *Streptococcus uberis*. *Staphylococcus aureus* i *E. coli* preživljavaju u svim testnim vremenima pri koncentraciji od 0,50%
- pri koncentraciji otopine A i B od 5,00% i 25,00% nema rasta testnih bakter. kultura u vremenu od 30 sekundi

2. bjelančevinasta greška

- pri koncentraciji otopina A i B bez seruma od 1,00%, u vremenu od 300 sekundi, nema rasta *E. coli*. Preživljava *Staphylococcus aureus*. U otopinama A i B s dodatkom seruma prisutan je rast testnih kultura
- pri koncentraciji otopina A i B bez seruma od 2,00%; 3,00%; 4,00%, nema rasta u vremenu od 30 sekundi *E. coli* i *Staphylococcus aureus*. U otopinama A i B s dodatkom seruma prisutan je rast testnih kultura.
- pri koncentraciji otopina A i B od 5,00% s dodatkom seruma i bez seruma, nema rasta testnih kultura.

Zaključak

1. Preparati ZLATOL JODIP-F i BLINAL ne zadržavaju rast mikroorganizama pri koncentraciji otopine od 0,25%, kao što to preporučuje firma »Lek« za preparat Blinal.
2. *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* preživljavaju pri koncentraciji otopine ZLATOL JODIP-F i BLINAL od 0,50%.
3. Kulture otporne prema Jodoforu, kao što su *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*, preživljavaju djelovanje otopine Zlatol Jodip-F i Blinal pri koncentraciji od 1,00%.
4. Uzimajući u obzir bjelančevinastu grešku, praktično su upotrebljive koncentracije otopine ZLATOL JODIP-F i BLINALA od 5,00%.
5. Baktericidno djelovanje istraživanih pripravaka je razmjerno izjednačeno.

Istraživanjem smo ustanovili da zbog sigurnosti djelovanja dezinficijensa u laboratorijskim uvjetima, radna koncentracija za ZLATOL JODIP-F i

BLINAL, koja bi zaustavila rast bakterijskih kultura u vremenu ekspozicije od 180 sekundi, **ne bi smjela biti manja od 2,00%**.

Uzimajući u obzir bjelančevinastu grešku (utjecaj bjelančevina), radna koncentracija za oba dezinficijensa **ne bi smjela biti manja od 5,00%**. Tom koncentracijom mogu se uništiti mikroorganizmi prilikom dezinfekcije vime-na i sisa krava muzara, samo ako se radi precizno ili pod kontrolom, što potvrđuju praktična istraživanja na gospodarstvu muzara u Sadilovcu (tablica 2).

Zbog čestog nepreciznog rada ili mogućih grešaka u samom postupku »teat dip«, moramo uzeti »faktor sigurnosti« 2,5. Tada se dobiva koncentracija od 12,5% koju preporučujemo za primjenu u praksi.

Literatura

- BERKELMAN, R. L.: Pseudobacteremia Atributed to Contamination of Povidone — Iodine With Pseudomonas Cepacia. *Ann. Int. Med.* 95:32, 1981.
- FAVERO, M. S.: Iodine — Champagne in a Tin Cup. *Infect. Control* 3:31, 1982.
- GERSHENFELD, L.: Iodine in Desinfection, Sterilization, and Preservation. 2nd ed. S.S. Black, ed. Lea & Febiger, PA, 1977.
- KING, J. S., GODINHO, K. S. and BRAMLEY, A. J.: Testing and Efficacy of Teat Skin Disinfectans. H. C. Collins, ed. Academic Press, New York, NY, 159, 1981.
- LEWIN, S., SOLDIVIERO, R. HOLTZMAN, R and FLORMAN A.: Contaminated Povidone — Iodine Solution — Northeastern United States. *Morbidity Mortality Weekly Rep. (CDC)*, 29(46):553, 1980.
- PRINCE, H., HERBERT, H., NONEMAKER, W. S., NORGARD, R. C., PRINCE, D L.: Iodophors. *J. Pharm. Sci.* 67; 1629, 1978.
- WINDHOLZ, M.: The Merck Index. 9th ed. Merck & Co., Rahway, NJ, 4903, 1976.
- WINICOV, M.: Diluted Povidone — Iodine Kills Bacteria Faster. *Hosp. Infect. Control.* 9:1, 1982.