

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DO *Corynebacterium bovis*,
SOB TEMPERATURA DE REFRIGERAÇÃO.** Felipe Gazza Romão, Hélio
Langoni, Cassiano Victoria, Benedito Donizeti Menozzi – Inter-áreas – Medicina
Veterinária – Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu.

A carga bacteriana inicial do leite e as condições de armazenamento e transporte têm importância relevante para a manutenção de sua qualidade até o momento do seu processamento pela indústria. Estes fatores contribuíram para que o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) regulamentasse a coleta do leite cru refrigerado, bem como o seu transporte até a indústria. A este processo atribuiu-se o nome de granelização.

A granelização do leite, com o seu resfriamento na propriedade rural, visa a manutenção da carga microbiana inicial, permitindo assim um aumento no período de armazenamento, bem como a inibição da acidificação do leite, provocada pela multiplicação bacteriana. Porém, com a adoção deste procedimento, surgiram novas preocupações quanto aos microrganismos capazes de se multiplicar em temperaturas de refrigeração.

Alguns autores classificam os microrganismos do gênero *Corynebacterium* spp. como psicrotróficos; outros os consideram ainda como psicrotróficos termodúricos, ou seja, além de se multiplicar em temperaturas de refrigeração, resistem aos processos de pasteurização convencionais.

A mastite caracteriza-se como uma reação inflamatória da glândula mamária, responsável por alterações físicas e químicas do leite, pelo aumento na concentração de células somáticas, e por alterações patológicas na própria glândula mamária (DOMINGUES,1996). Há que se considerar ainda os aspectos de saúde pública, pois o leite pode ser veículo de microrganismos potencialmente patogênicos ao homem, seja pelo seu consumo direto “in natura”, seja pela ingestão de certos tipos de alimentos produzidos a partir do leite contaminado (MUCIOLLO,1997).

NGATIA et al. (1991) afirmaram que o *C. bovis* é o microrganismo mais freqüentemente recuperado de amostras de leite mastítico, o que está de acordo com COSTA et al. (1995) e BRITO et al. (1998). Os resultados obtidos por LANGONI et al. (1998), reforçam a importância deste agente, na medida em que obtiveram o seu isolamento em 16% dos casos de mastites subclínicas, e em 12% das clínicas, entre as 7902 amostras de leites de vacas com mastite subclínica e 850 com mastite clínica examinadas, procedentes de diferentes municípios do estado de São Paulo.

O processo de resfriamento do leite na propriedade rural controla a multiplicação bacteriana, aumentando assim o período de estocagem, porém propicia condições ideais para o desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos que podem produzir enzimas degradantes, prejudicando assim a qualidade dos subprodutos da indústria de laticínios armazenados por longos períodos de tempo. O gênero *Corynebacterium* spp., segundo alguns autores, faz parte deste grupo de microrganismos, porém não se encontram na literatura citações da multiplicação do *Corynebacterium bovis* em baixas temperaturas.

Em razão do exposto, foram estudadas 97 amostras do *Corynebacterium bovis* verificando o seu crescimento sob temperatura de refrigeração. Cultivou-se ao redor de 0,03 mL de cada amostra, em meio de ágar-sangue ovino 8%, incubando-se a 37°C, em condições de aerobiose, com leituras às 24, 48, 72 e 96 horas para avaliação microbiana. Após confirmação do gênero bacteriano e espécie, repicou-se colônias em meio BHI adicionado de 1% de Tween 80, até que a suspensão atingisse a concentração bacteriana correspondente à escala 1 de McFarland, realizando-se leituras espectrofotométricas em triplicatas, em 10 momentos (M0 a M9), em espectrofotômetro Multiskan EX – Labsystems®, com filtro de 405 nm, para a determinação da curva de crescimento do agente estudado.

Foram preparadas placas de ELISA de fundo chato pipetando-se 100 µL de cada amostra por orifício. Procedeu-se a primeira leitura (M0); as demais placas foram incubadas em condições de aerobiose a 4°C. A cada 24 horas, durante nove dias consecutivos, realizou-se as leituras dos M1 a M9. Isto permitiu a determinação da curva de crescimento do agente,

realizando-se as médias dos resultados obtidos nas três leituras. Como controle negativo utilizou-se 100 µl de meio BHI com 1% de Tween 80, e como controle positivo, 100 µl de uma suspensão bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC – 10145.

Os resultados são apresentados na Figura 1 e Tabela 1 a seguir, que mostram a concentração bacteriana e os valores de média e desvio-padrão obtidos nos diferentes momentos (M0 a M9)

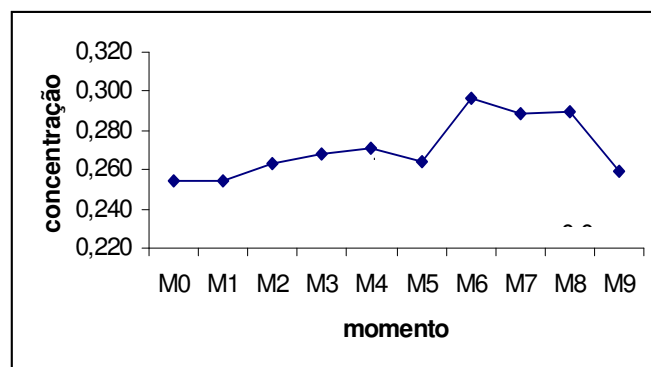


Figura 1: Concentração bacteriana média obtida nos momentos estudados (M0 a M9). Botucatu 2006

Tabela 1: Média e desvio-padrão da concentração bacteriana obtidos das três leituras realizadas do momento 0 (M0) ao momento 9 (M9). . Botucatu 2006

Momento	Média e desvio- padrão	
M0	0,254±0,092	C
M1	0,254±0,098	C
M2	0,263±0,096	C
M3	0,268±0,101	C
M4	0,271±0,097	BC
M5	0,264±0,098	C
M6	0,297±0,107	A
M7	0,289±0,115	AB
M8	0,290±0,122	AB
M9	0,259±0,101	C

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente

Percebe-se pelos dados demonstrados que não houve crescimento bacteriano significativo até o momento 6 (M6), quando houve um aumento da concentração bacteriana, a qual manteve-se elevada até o momento 8 (M8), decrescendo novamente no momento 9 (M9) a níveis semelhantes estatisticamente aos momentos 0, 1, 2, 3, 4 e 5 (M0, M1, M2, M3, M4 e M5).

Pode-se concluir que houve crescimento do *Corynebacterium bovis* sob temperatura de refrigeração em determinados momentos da observação (M6, M7 e M8), o que já era esperado por se tratar de uma bactéria psicrófila, ou seja, que cresce nas condições estudadas no presente projeto; portanto, o processo de granelização proposto pelo governo federal que consiste no resfriamento do leite na propriedade rural, não possui efeito nenhum contra o agente em questão.

O ideal seria a realização de adequada limpeza e desinfecção pré-ordenha para evitar a contaminação do leite obtido na ordenha; além disso, seria necessário um maior controle sobre o rebanho para evitar a infecção não só pelo *Corynebacterium bovis*, mas por qualquer outro agente causador de mastite.

Referências bibliográficas

BRITO, M., A., V., P. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de

agentes contagiosos da mastite bovina. **Pesq. Vet. Brás.**, v. 18, n. 1, p. 30 – 44, 1998.

COSTA, E. O., BENITES, N. R., MELVILLE, P. A., PARDO, R. B.,
RIBEIRO, A.R.,
WITANABE, E. T. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Rev. Brás. Méd.Vet.**,
v. 17, p.156 – 8, 1995.

DOMINGUES, P. F. Novas tendências no tratamento da mastite bovina. In:
ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITE BOVINA DO
ESTADO DE SÃO PAULO, 2, 1996, Nova Odessa. **Anais...** Nova
Odessa, 1996, p.33 – 43.

LANGONI, H., DA SILVA, A. V., CABRAL, K.G., DOMINGUES, P.F.
Aspectos
etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbica. **Ver. Brás. Méd. Vet.**, v.20,
n.5, p.204 – 9, 1998.

MUCIOLLO, P. Aspecto da Inspeção e Fiscalização Higiênico-Sanitária do
Leite.
Rev. ILCT, nov-dez., p. 15 – 9. 1997.

NGATIA, T.A., JENSEN, N.E., BERG, B.B. Changes in the Bovine Udder
Quarts
Naturally Infected by *Corynebacterium bovis*. **Br.Vet.J.**, v.147, p.463 – 8,
1991.

Bolsa: CNPq