

OCORRÊNCIA DE FUNGOS EM LEITE CRU PROVENIENTE DE TANQUES DE REFRIGERAÇÃO E LATÕES DE PROPRIEDADES LEITEIRAS, BEM COMO DE LEITE COMERCIALIZADO DIRETAMENTE AO CONSUMIDOR

P.A. Melville, M. Ruz-Peres, E. Yokoia, N.R. Benites

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal. Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP:05508-000, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: melville@usp.br

RESUMO

Os fungos filamentosos e leveduras podem estar associados a diferentes patologias no homem e animais. O leite e seus derivados contaminados com estes microrganismos podem constituir potenciais vias de transmissão de zoonoses a eles relacionadas. Foram analisadas 70 amostras de leite, sendo 50 de tanques de refrigeração, 10 de latões de propriedades de exploração leiteira e 10 de latões de distribuidores que comercializam leite informal, visando a comparação da qualidade destes produtos quanto à presença e quantidade de fungos. Foram isolados, em diferentes percentagens, fungos filamentosos e leveduras a partir de todas as amostras de leite das diferentes procedências: *Candida* spp. (*C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, dentre outras), *Geotrichum* spp., *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp., *Aureobasidium* spp., *Penicillium* spp., *Acremonium* spp., *Chrysosporium* spp., *Mucor* spp. e *Aspergillus* spp. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as medianas das quantidades de unidades formadoras de colônias de fungos/mL de leite das diferentes procedências, indicando que o nível de contaminação por fungos nas amostras destas três origens foi similar. Pode-se verificar que em todas as amostras de leite cru havia a presença de fungos, todos passíveis agentes de micoses oportunistas.

PALAVRAS-CHAVE: Leite cru, leveduras, fungos filamentosos.

ABSTRACT

OCCURRENCE OF FUNGI IN RAW MILK FROM BULK TANKS, MILK CANS OF DAIRY FARMS AND MILK SOLD DIRECTLY TO THE CONSUMER. Filamentous fungi and yeasts can be associated to various pathologies in man and animals. It must be considered that milk and dairy products when contaminated with these microorganisms can represent a potential means of zoonosis transmission. In the present study, 70 samples of raw milk were analysed, 50 from bulk tanks, 10 from milk cans from dairy farms, and 10 from cans of distributors that store and sell milk sold on the informal (unregulated) market, comparing the quality of these products as to the presence and quantity of fungi. Moulds and yeasts were isolated in different percentages from all of the samples of the different sources: *Candida* spp. (*C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* etc.), *Geotrichum* spp., *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp., *Aureobasidium* spp., *Penicillium* spp., *Acremonium* spp., *Chrysosporium* spp., *Mucor* spp. and *Aspergillus* spp. No statistically significant difference was observed between medians of the quantity of colonies forming units of fungi/mL of milk from the different sources, indicating that the level of contamination by fungi was similar when the three sources were compared. The presence of fungi was observed in all samples of raw milk, all these microorganisms able to cause opportunistic mycoses.

KEY WORDS: Raw milk, yeasts, filamentous fungi.

INTRODUÇÃO

Os fungos são microrganismos comuns na natureza, estando presentes em ambientes aquáticos, terrestres e no ar. O desenvolvimento destes microrganismos pode determinar doenças infecciosas ou tóxicas, em vegetais e animais, incluindo o homem. A

simples presença do fungo não é fator determinante de doença, a qual depende da relação parasita/hospedeiro (LACAZ *et al.*, 2002).

Os reservatórios habituais dos fungos que infectam o homem e o animal podem ser o próprio homem e o animal, ou um sítio na natureza, onde o fungo se desenvolve como saprófita. As micoses são classifica-

das como: (1) micoses superficiais, que se localizam nas camadas mais superficiais da pele ou dos pelos e desencadeiam uma resposta inflamatória, (2) micoses cutâneas, as quais se localizam na pele, pelo ou unhas e mucosas em maior extensão, (3) micoses subcutâneas, encontradas na pele e tecidos subcutâneos, (4) micoses sistêmicas, que atingem os órgãos internos e vísceras, podendo abranger muitos tecidos e órgãos diferentes (TRABULSI *et al.*, 1999). Dentre as manifestações clínicas em animais associadas aos fungos pode-se citar a mastite micótica.

A presença de fungos no leite pode estar associada à ocorrência de casos de mastite infecciosa no rebanho, ou pode estar relacionada ao nível de higiene da ordenha e do ambiente (COUSINS & BRAMLEY, 1981).

A contaminação do leite por microrganismos indesejáveis, como os fungos, pode causar alterações físico-químicas no mesmo, limitando sua durabilidade e de seus derivados, além de determinar problemas econômicos e de saúde pública (ANDRADE, 2001).

O tratamento térmico do leite (pasteurização ou fervura) permite a redução da ocorrência de doenças causadas por microrganismos, veiculadas pelo leite e seus derivados. Entretanto, torna-se importante atentar para o risco que constitui a presença de fungos no leite, principalmente considerando-se que, em diversas localidades, é comum o hábito do consumo de leite e produtos lácteos crus. O leite cru, muitas vezes é comercializado nas periferias das cidades, constituindo o chamado "leite informal ou clandestino", não submetido a qualquer tipo de tratamento para redução de sua carga microbiana e eliminação dos principais patógenos.

Segundo QUEIROZ (1995), embora exista a proibição legal imposta à comercialização do leite cru no Brasil (Lei n. 1.283 de 18/12/1950 e Decreto número 30.691 de 29/03/1952), a venda deste tipo de leite tem sido amplamente realizada na periferia da Cidade de São Paulo, e em diversas cidades do interior, muitas das quais com elevado nível socioeconômico e cultural. Em Minas Gerais, estima-se que 47% do leite consumido pela população seja proveniente da comercialização clandestina do leite cru (BRANDÃO, 1994).

Na Comunidade Européia, as políticas que estabelecem as diretrizes para o comércio de leite "in natura" variam consideravelmente entre os países, sendo que, na maioria, este comércio é oficialmente proibido. A Inglaterra é uma das exceções, não possui normas que proíbam o comércio deste tipo de produto, sendo a inspeção realizada na propriedade de origem através do controle da qualidade do leite nos tanques de refrigeração e do monitoramento periódico da sanidade do rebanho. Em 1997 foi realizada uma pesquisa neste país, onde foram analisadas 1.097 amostras de leite cru comercializadas legalmente,

oriundas de 242 estabelecimentos comerciais, tendo-se verificado que 41 amostras de 21 pontos de venda estavam contaminadas com microrganismos potencialmente patogênicos. Nesta mesma pesquisa, observou-se também que a frequência de doenças relacionadas ao consumo de leite "in natura" é maior nos países onde sua comercialização é permitida, demonstrando que a realização da avaliação da qualidade higiênica do leite e o monitoramento sanitário do rebanho não constituem garantia da segurança alimentar do produto final (FONSECA & SANTOS, 2000).

Em cidades do interior de São Paulo, e mesmo nas periferias das grandes cidades ou em locais de difícil acesso ao produto fiscalizado pela inspeção sanitária, existe um hábito comum da ingestão de produtos adquiridos diretamente do produtor, como ovos e frangos caipiras, frutas, verduras e legumes, queijo fresco, leite cru etc, alimentos que são produzidos pelos próprios proprietários, envolvendo um número muito pequeno de funcionários, geralmente sem maior experiência técnica.

Assim sendo, deve-se atentar para a presença de microrganismos, dentre os quais os fungos filamentosos e leveduras no leite, o que pode representar potencial risco à saúde humana.

O presente trabalho foi delineado considerando-se a importância e relevância deste grupo de microrganismos, fungos filamentosos e leveduras, tendo em vista sua participação como agentes de importantes patologias muitas das quais com caráter zoonótico. Deve-se considerar ainda que o leite e seus derivados contaminados com estes microrganismos podem constituir potenciais vias de transmissão de zoonoses a eles relacionadas. Neste trabalho pretendeu-se analisar amostras de leite cru dos tipos A, B e C colhidas nas próprias propriedades leiteiras, bem como amostras de leite comercializadas diretamente ao consumidor, procedendo-se ao isolamento, identificação e contagem de unidades formadoras de colônias (U.F.C.) de fungos filamentosos e leveduras, visando-se a comparação da qualidade destes produtos quanto à presença de fungos.

MATERIAL E MÉTODOS

As propriedades envolvidas nesta investigação localizam-se essencialmente nas regiões de Campinas, Itu e Pirassununga, todas pertencentes ao Estado de São Paulo, Brasil. Foram avaliadas amostras de leite oriundas de 50 tanques de refrigeração que armazenam leite de propriedades de exploração leiteira de leite cru dos tipos A, B e C, cujo destino final é o processamento em estabelecimento industrial. Foram colhidas, ainda, amostras de leite de 10 propriedades produtoras de leite cru dos tipos B e C, as quais

armazenam o leite em latões (vasilhames com 50 L de capacidade) e que participam efetivamente do mercado de leite "informal ou clandestino".

Além das amostras de leite obtidas diretamente das propriedades, também foram examinadas amostras provenientes de 10 latões de transportadores e distribuidores (automóveis do tipo perua) que armazenam e comercializam diretamente ao consumidor o leite cru obtido das propriedades produtoras de leite tipo C.

Cada amostra de leite (volume de aproximadamente 100 mL) foi colhida em frasco de vidro esterilizado e transportada sob refrigeração (2 a 8° C) ao laboratório onde foram preparadas diluições seriadas da mesma em solução fisiológica (0,85%) esterilizada.

A partir de cada diluição foi colhida uma alíquota de 0,1 mL para cultivo (utilizando-se a técnica de *spread plate* ou, espalhamento em superfície) em duplicata, tanto em ágar Sabouraud-dextrose com cloranfenicol (100 mg/L) como em ágar batata-dextrose acidificado com solução esterilizada de ácido tartárico a 10% (ARAÚJO *et al.*, 2001).

Para a pesquisa de *Cryptococcus neoformans*, procedeu-se à semeadura da amostra de leite (0,1 mL utilizando-se a técnica de *spread plate*) em meio de cultura seletivo ágar Niger (LARONE, 1995). Para identificação das espécies de *Candida* o meio seletivo e diferencial utilizado foi o ágar Pagano-Levine (CRUZ, 1985), também se tendo realizado a semeadura de 0,1 mL de leite utilizando-se a técnica de *spread plate*.

Todos estes meios foram incubados a 25° C em estufa microbiológica, por um período mínimo de sete dias, visando o isolamento, identificação e contagem de unidades formadoras de colônias de fungos filamentosos e leveduras/mL.

As leveduras foram identificadas de acordo com LODDER (1970) e KREEGER-VAN-RIG (1984) e os fungos filamentosos foram identificados de acordo com a chave de BARNETT & HUNTER (1972) e VON ARX (1974), utilizando-se a descrição das características macroscópicas e microscópicas.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o "software". Foram utilizados os seguintes testes estatísticos: Fischer, Dunn e Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

De um total de 50 amostras de leite cru provenientes de tanques de refrigeração de propriedades de exploração leiteira, foram isolados os seguintes fungos filamentosos e leveduras: *Aureobasidium* spp., *Candida* spp. (*C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. tropicalis*), *Rhodotorula* spp., *Geotrichum* spp., *Trichosporon* spp.,

Mucor spp., *Aspergillus* spp., *Chrysosporium* spp., *Acremonium* spp., *Penicillium* spp. (Tabela 1). As frequências de isolamentos de *C. krusei*(70%), *C. tropicalis* (54%), *C. guilliermondii* (52%), *C. kefyr*(34%), *Geotrichum* spp. (52%) e *Rhodotorulaspp.* (40%), foram estatisticamente maiores ($p < 0,05$) quando comparadas com as dos demais fungos isolados (Tabela 1). Observou-se a presença de fungos em todas as amostras de leite oriundas de tanques de refrigeração.

De um total de 10 amostras de leite provenientes de latões de propriedades leiteiras, foram isolados os seguintes fungos: *Candida* spp. (*C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. tropicalis*), *Rhodotorula* spp., *Geotrichum* spp., *Mucor* spp., *Chrysosporium* spp., *Trichosporon* spp. e *Penicillium* spp. (Tabela 1). Observou-se a presença de fungos em todas as amostras de leite oriundas de latões de propriedades de exploração leiteira.

Das 10 amostras de leite oriundas de latões presentes em transportadores e distribuidores que armazenam e comercializam leite informal, foram isolados os seguintes fungos filamentosos e leveduras: *Aureobasidium* spp., *Candida* spp. (*C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*), *Rhodotorula* spp., *Geotrichum* spp., *Trichosporon* spp., *Mucor* spp., *Aspergillus* spp., *Chrysosporium* spp., *Penicillium* spp. Observou-se a presença de fungos em todas as amostras de leite oriundas de latões dos transportadores e distribuidores de leite informal.

Considerando-se as 50 amostras de leite oriundas de tanques de refrigeração, a mediana das contagens de U.F.C. de fungos/mL foi de $28,5 \times 10^2$ /mL ($0,16$ a $332,50 \times 10^2$ /mL) de leite. Em relação as 10 amostras de leite oriundas de latões de propriedades de exploração, a mediana das contagens de U.F.C. de fungos/mL foi de $12,91 \times 10^2$ /mL ($0,22$ - $138,66 \times 10^2$ /mL) de leite. Com relação as 10 amostras de leite oriundas de latões presentes em transportadores e distribuidores que armazenam e comercializam leite informal, a mediana das contagens de U.F.C. de fungos/mL foi de $14,07 \times 10^2$ /mL ($2,2$ - 78×10^2 /mL) de leite.

Das 70 amostras de leite de diferentes procedências analisadas, as leveduras estiveram presentes em 100% delas. Por sua vez, os fungos filamentosos foram isolados de 26% das amostras de tanque, 60% das amostras de latões de distribuidores e 30% de latões de propriedades leiteiras.

Quando comparadas as medianas entre as quantidades de unidades formadoras de colônias de fungos/mL de leite entre as amostras colhidas de tanques de refrigeração ($28,5 \times 10^2$ U.F.C./mL), latões de propriedades de exploração leiteira ($12,91 \times 10^2$ U.F.C./mL), e latões de distribuidores ($14,07 \times 10^2$ U.F.C./mL), não houve diferença estatisticamente significativa.

Tabela 1 - Frequências de isolamentos de leveduras e fungos filamentosos em amostras de leite colhidas de 50 tanques de refrigeração, 10 latões de propriedades leiteiras e 10 latões de transportadores e distribuidores que armazenam e comercializam leite informal.

Fungos isolados	Origem da amostra					
	Tanque de refrigeração (N=50)		Latão de distribuidor (N=10)		Latão de propriedade de exploração leiteira (N=10)	
	N	%	N	%	N	%
<i>Aureobasidium</i> spp.	4	8	1	10	0	0
<i>C. albicans</i>	2	4	1	10	0	0
<i>C. krusei</i>	35	70*	6	60	7	70
<i>C. parapsilosis</i>	15	30	3	30	3	30
<i>C. guilliermondii</i>	26	52*	7	70	7	70
<i>C. tropicalis</i>	27	54*	4	40	5	50
<i>C. kefir</i>	17	34*	5	50	2	20
<i>C. lusitaniae</i>	9	18	2	20	2	20
<i>Geotrichum</i> spp.	26	52*	4	40	5	50
<i>Trichosporon</i> spp.	4	8	6	60	4	40
<i>Rhodotorula</i> spp.	20	40*	7	70	6	60
Presença de Leveduras nas origens	50	100**	10	100	10	100**
<i>Penicillium</i> spp.	4	8	1	10	2	20
<i>Acremonium</i> spp.	5	10	0	0	0	0
<i>Chrysosporium</i> spp.	2	4	4	40	1	10
<i>Mucor</i> spp.	3	6	1	10	1	10
<i>Aspergillus</i> spp.	1	2	1	10	0	0
Presença de Fungos filamentosos nas origens	13	26	6	60	3	30

*As frequências de isolamentos de *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *Rhodotorula*spp. e *Geotrichum* spp., em amostras colhidas de tanques de refrigeração, foram estatisticamente maiores ($p < 0,05$) quando comparadas com aos demais fungos isolados.

**A frequência de isolamento de leveduras a partir de tanques de refrigeração e latões de propriedades de exploração leiteira foi maior ($p < 0,05$) do que a ocorrência de fungos filamentosos.

DISCUSSÃO

No presente estudo, foi isolada uma grande variedade de fungos filamentosos e leveduras a partir de todas amostras de leite colhidas de tanques de refrigeração e latões de propriedades leiteiras, bem como de leite oriundo de latões presentes em transportadores e distribuidores que armazenam e comercializam leite informal.

Todos os microrganismos isolados, tais como *Aureobasidium* spp., *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *C. lusitaniae*, *Geotrichum* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp., *Penicillium* spp., *Acremonium* spp., *Chrysosporium* spp., *Mucor* spp. e *Aspergillus* spp. podem estar associados a quadros de micoses oportunistas (TRABULSI *et al.*, 1999), que são infecções causadas por fungos de baixa virulência, que convivem pacificamente com o hospedeiro mas que, ao encontrarem condições favoráveis, desenvolvem seu poder patogênico.

As micoses oportunistas podem estar associadas a fatores intrínsecos ao hospedeiro (neoplasias, diabetes, dentre outras, bem como todas as doenças que alteram a imunidade celular) ou fatores extrínsecos (antibioticoterapia, corticoidoterapia, etc.) (TRABULSI *et al.*, 1999).

De forma geral estes microrganismos estão associados a quadros patológicos como alergias, otomicoses, ceratomicoses, lesões do palato duro, meningites, endocardites, doenças sistêmicas, gastro-intestinais, pulmonares, geniturinárias, cutâneas, subcutâneas e ósseas (KERN & BLEVINS, 1999).

Assim sendo, pode-se observar que todos os fungos filamentosos e leveduras isolados das amostras de leite das diversas origens no presente estudo apresentam potencial patogênico, principalmente se o hospedeiro encontrar-se debilitado pelos fatores mencionados anteriormente. Desta forma, o consumo de leite contaminado por algum destes agentes, ou mesmo de toxinas por eles produzi-

das, poderia acarretar danos à saúde do consumidor.

Os dados obtidos no presente estudo permitem observar a grande variedade de gêneros e espécies de fungos isolados das amostras analisadas, que totalizaram 16 espécies, dentre leveduras e fungos filamentosos.

Todas as espécies de leveduras encontradas, foram isoladas amostras de tanques de refrigeração, latões de distribuidores de leite informal e latões de propriedades leiteiras, à exceção de *C. albicans*, *Aureobasidium* spp., *Acremonium* spp. e *Aspergillus* spp., os quais não foram isolados de amostras de latões de propriedades de exploração leiteira, e *Acremonium* spp. que não foi isolado de amostras oriundas de latões de distribuidores de leite informal. A frequência de isolamento de leveduras a partir de tanques de refrigeração e latões de propriedades leiteiras foi maior ($p < 0,05$) do que a de fungos filamentosos.

KLOSSOWSKA & MALINOWSKI (2001) realizaram exames microbiológicos em 66 amostras de leite provenientes de tanques de refrigeração de diferentes propriedades de exploração leiteira, tendo isolado, dentre outros microrganismos, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *Geotrichum* spp., *Trichosporon* spp. e *Aspergillus* spp, todos estes agentes também isolados no presente estudo.

SWINNE *et al.* (1997) identificaram leveduras em 70 tanques de armazenamento de leite de fazendas na Bélgica, observando maior frequência de *C. kefyr*, *C. rugosa* e *Pichia kluyveri*. No presente estudo não foram isoladas *C. rugosa* e *Pichia kluyveri*.

Segundo HARIDY (1992) foram isoladas 126 espécies de leveduras de amostras de leite cru colhidas em fazendas de exploração leiteira na cidade de El Minia, norte do Egito, sendo que as mais frequentes foram *Trichosporon beigeli* e *Rhodotorula* spp., também observados no presente estudo.

JODRAL *et al.* (1993) isolaram e quantificaram fungos em 64 amostras de leite cru e 33 amostras de leite pasteurizado, sendo que os gêneros de fungos mais frequentemente isolados foram *Geotrichum* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp. no leite cru e os mesmos gêneros de microrganismos, à exceção de *Geotrichum* spp., em leite pasteurizado. A média da contagem no leite cru foi de 230 U.F.C./mL e no leite pasteurizado foi de 25 U.F.C./mL. No presente estudo, também foram isolados estes mesmos microrganismos à exceção de *Fusarium* spp. e, as medianas das quantidades de U.F.C.s de fungos/mL foram 28,5 (0,16 a 332,50) $\times 10^2$ /mL, 12,91 (0,22-138,66) $\times 10^2$ /mL e 14,07 (2,2 - 78) $\times 10^2$ /mL, respectivamente, nos tanques de refrigeração, latões de propriedades de exploração leiteira e latões de distribuidores, podendo-se observar que os valores obtidos foram superiores aos verificados por JODRAL *et al.* (1993).

MUTUKUMIRA *et al.* (1996) analisaram microbiologicamente 10 amostras de leite cru de tanques de 34 produtores. A contagem de leveduras e fungos filamentosos foi < 100 U.F.C./mL em 7 das 10 amostras analisadas. Por sua vez, DESMASURES *et al.* (1997) estudaram 39 amostras de leite cru refrigeradas de 20 fazendas leiteiras, observando que a média de contagem de leveduras foi de $6,9 \times 10$ U.F.C./mL de leite. A contagem de fungos no presente estudo mostrou-se mais elevada que a verificada pelos autores citados.

SABOIS *et al.* (1991) colheram amostras de leite de tanque de refrigeração de 17 fazendas. A contagem de leveduras e fungos filamentosos foi > 1.000 /mL de leite em todas as amostras. Segundo estes autores os altos níveis de fungos nos tanques indicaram uma higiene insatisfatória durante o processo de ordenha e deficiências do equipamento de ordenha. No presente estudo, por sua vez, observou-se uma mediana de $28,5 \times 10^2$ U.F.C. de fungos/mL nas amostras de tanque.

Neste trabalho, quando comparadas as medianas das quantidades de unidades formadoras de colônias de fungos/mL de leite entre as amostras colhidas de tanques de refrigeração ($28,5 \times 10^2$), latões de propriedades de exploração leiteira ($12,91 \times 10^2$), e latões de distribuidores ($14,07 \times 10^2$), pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa, o que permite concluir que, o nível de contaminação por fungos nas amostras destas três origens foi similar.

De acordo com a Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002), que dispõe sobre os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel, não é referida a contagem de unidades formadoras de colônias de fungos/mL de leite, havendo somente a contagem padrão em placas (CPP) de unidades formadoras de colônias da totalidade dos microrganismos isolados (bactérias e fungos). Com relação a esta última (CPP), a metodologia utilizada para sua realização emprega a temperatura de 32°C , bem como tempo máximo de incubação de 48h, fatores estes que poderiam impedir o isolamento de alguns fungos, particularmente, os filamentosos que requerem maior tempo para crescimento, bem como necessitam temperaturas mais baixas (em torno de 25°C) para desenvolvimento. No presente estudo, embora a contagem de unidades formadoras de colônias de fungos/mL verificada tenha sido baixa quando comparada com aquelas referidas nas determinações da Instrução Normativa nº 51 para contagem padrão em placas (BRASIL, 2002), deve-se atentar para o risco que constitui a presença destes microrganismos no leite, tendo

em vista que muitos deles são agentes de micoses oportunistas e/ou produtores de toxinas, fatores que podem comprometer a qualidade do leite.

Em relação aos transportadores/distribuidores de leite informal, que recolhem o leite obtido na fazenda e o armazenam em latões dentro de refrigeradores domésticos, deve-se ressaltar que, durante a distribuição deste leite, que pode levar até 5h, este é mantido em temperatura ambiente e entregue acondicionado, geralmente, em garrafas de plástico.

Alguns países estão alertando as populações sobre os riscos relacionados ao consumo de leite cru, como, por exemplo, os Estados Unidos. No Estado da Califórnia 34% da população é de origem hispânica e possui o hábito de consumir leite cru e fabricar queijos frescos como uma prática tradicional e cultural (HEADRICK *et al.*, 1997).

Foram analisadas amostras de leite provenientes de propriedades leiteiras com grandes diferenças com relação às estruturas físicas, higiene de ordenha e de ambiente, manejo e sanidade dos animais. Algumas delas apresentavam sala de ordenha ou estábulo com acúmulo de sujidades e animais aparentemente debilitados, e outras eram altamente tecnificadas, apresentando boa higiene de ordenha e de ambiente. Embora tenham apresentado grandes diferenças com relação aos aspectos mencionados, de todas elas foram isolados fungos leveduriformes das amostras de leite analisadas.

Segundo COUSINS & BRAMLEY (1981), os microrganismos presentes em amostras de leite provenientes do tanque de refrigeração podem ter origem a partir de úberes infectados (acometidos por mastite infecciosa), da superfície dos úberes e/ou dos tetos ou do equipamento de ordenha (água de lavagem contaminada, manejo inadequado etc.). Tendo em vista que os fungos pertencem ao grupo dos microrganismos ambientais (segundo a classificação dos agentes etiológicos de mastite), a presença destes agentes em amostras de tanques de refrigeração, latões de fazendas e latões de distribuidores de leite, poderia estar associada a deficiências quanto às condições higiênicas de obtenção e acondicionamento do produto. Assim sendo, medidas de manejo adequado frente às mastites causadas por fungos, bem como a realização apropriada de manejo e higiene de ordenha e de ambiente, poderiam se constituir em fatores capazes de minimizar a ocorrência de mastites por fungos bem como reduzir a contaminação durante o processo de ordenha.

O presente estudo permitiu verificar que os fungos estão presentes no leite cru, o que representa um problema para o leite, bem como para seus derivados, pois estes agentes podem causar doenças, bem como podem interferir com os procedimentos de elaboração de produtos lácteos.

Particularmente, no que tange ao leite cru comercializado de forma informal, considerando-se a inexistência de qualquer tipo de fiscalização e/ou controle higiênico-sanitário dos animais que estão envolvidos com a produção deste tipo de leite, assim como do processo de obtenção, transporte e comercialização. Os achados deste estudo constituem-se em motivo de preocupação, principalmente em função do risco representado pelo consumo deste produto sem que tenha sido previamente submetido à fervura, particularmente quando considerados indivíduos debilitados ou imunossuprimidos que são os mais susceptíveis às micoses oportunistas.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M.A. Mastite bovina sub-clínica: prevalência, etiologia e testes de sensibilidade a drogas antimicrobianas. *Revista VetNews*, n.49, p.10-16, 2001.
- ARAÚJO, W.N.; SILVA, M.H.; MARTINEZ, T.C.N; BANAS, S.L.B.; SILVEIRA, V.F. Determinação do número de fungos filamentosos e leveduras no queijo Minas comercializado na região metropolitana de Salvador - Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.2, n.1, p.10-14, 2001.
- BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 3.ed., Minneapolis: Burgess Publishing, 1972.
- BRANDÃO, S.C.C. Leite: legislação, responsabilidade e saúde pública. *Revista Balde Branco*, v.360, p.68-71, 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº51, de 18 de setembro de 2002. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos a esta Instrução Normativa. Publicado no Diário Oficial da União de 20/09/2002. Disponível em: <http://200.252.165.21/das/dipoa/in_51b_2002.htm>. Acesso em: 20 out. 2004.
- COUSINS, C.M. & BRAMLEY, A.J. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R.K. (Ed.). *Dairy microbiology*, 1981. v.1, p.119-163.
- CRUZ, L.C.H. *Micologia veterinária*. Itaguaí: Imprensa Universitária, 1985. p.191-192.
- DESMASURES, N.; OPPORTUNE, W.; GUEGUEN, M. *Lactococcus* spp., yeasts and *Pseudomonas* spp. on teats and udders of milking cows as potential sources of milk contamination. *International Dairy Journal*, v.7, p.643-646, 1997.
- FONSECA, L.F.L.F. & SANTOS, M.V. *Qualidade do leite e controle de mastite*. São Paulo: Ed. Lemos, 2000. 175p.
- HARIDY, M.S.A. Yeast flora of raw milk in El Minia City-Egypt. *Cryptogamie-Mycologie*, v.13, n.4, p.321-326, 1992.
- HEADRICK, M.L.; TIMBO, B.; KLONTZ, K.C.; WERNER, S.B. Profile of raw milk consumers in California. *Public Health Reports*, v.112, n.5, p.418-422, 1997.

- JODRAL, M.; LINAN, E.; ACOSTA, I.; GALLEGU, C.; ROJAS, F.; BENTABOL, A. Mycoflora and toxigenic *Aspergillus flavus* in Spanish milks. *International Journal of Food Microbiology*, v.18, p.171-174, 1993.
- KERN, M.E. & BLEVINS, K.S. *Micologia médica*. 2.ed. São Paulo: Premier, 1999. 256p.
- KLOSSOWSKA, A. & MALINOWSKI, E. Pathogens in raw milk which affect humans. *Medycyna Weterynaryjna*, v.57, n.1, p.28-31, 2001.
- KREEGER-VAN-RIG, N.J.W. *The yeasts: a taxonomic study*. 3.ed. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1984. 1082p.
- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N.T. *Tratado de micologia médica*. 9.ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1104 p.
- LARONE, D.H. *Medically important fungi. A guide to identification*. 3.ed. Washington: ASM Press, 1995. 230p.
- LODDER, L. *The yeast: a taxonomic study*. 2.ed. Amsterdam: North Holland Publishing, 1970. 1385p.
- MUTUKUMIRA, A.N.; FERESU, S.B.; ABRAHANSEN, R.K. Chemical and microbiological quality of raw milk produced by smallholder farmers in Zimbabwe. *Journal of Food Protection*, v.59, n.9, p.984-987, 1996.
- QUEIROZ, J.C. *Avaliação sanitária do leite cru distribuído nos Municípios de Juituba e Itapeçerica da Serra, São Paulo, 1990-1992: estudo experimental*. 1995. 75f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.
- SABOIS, A.; BASILICO, J. C.; SIMONETTA, A. Microbiological quality of raw milk: incidence of aerobic and anaerobic spore-forming bacteria, yeasts and fungi. *Revista Argentina de Lactologia*, v.3, n.5, p.79-90, 1991.
- SWINNE, D.; DEKA, K. E.; ASSOGBA, A.; DESMET, P. Identification of yeasts from individual farm tank milk samples in Belgium. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, v.66, n.3, p.129-130, 1997.
- TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J.A.N. *Microbiologia*. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 718p.
- VON ARX, J. A. *The genera of fungi sporulating in pure culture*. 2 ed. Vaduz: Journal Cramer, 1974. 315p.

Recebido em 7/4/06

Aceito em 31/8/06