

Isolamento e identificação de microrganismos fúngicos em alimentos em grãos conservados e expostos em feiras livres e supermercados das cidades de Cuiabá e Várzea Grande/MT.

Hellen Karin de Carvalho¹, Débora Lemos Martins¹, Diniz Pereira Leite Júnior²

¹Alunas do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Várzea Grande (UNIVAG), Várzea Grande, Mato Grosso, Brasil

² Faculdade de Medicina - Pós-graduação em Ciências da Saúde na universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

RESUMO

Fungos são organismos oportunistas encontrados em alimentos, grãos, devido à contaminação por sua presença no solo, conhecido pela sua alta capacidade de produzir toxinas; como aflatoxinas, que prejudicam a saúde humana principalmente o trato respiratório e no sangue, com o objetivo de realizar análise de possíveis presenças fungicas em grãos de amendoim, azeitona e milho em conserva e exposto comercializada em feiras livres e supermercados nas cidades de Cuiabá e Várzea. Os alimentos adquiridos dos estabelecimentos comerciais foram semeados utilizando o método em duplicata, de estriamento básico e o de alça de Drigalski; em meio Ágar Sabourraud adicionado de cloranfenicol e para a identificação dos espécimes fúngicos foi utilizada a técnica de Ridell (microcultivo). As amostras testadas dos alimentos conservados e expostos apresentaram crescimento para contagem de fungos. Foram isoladas 217 colônias de fungos micelianos e leveduriformes. As análises permitem concluir que é importante alertar a existência de fungos nos alimentos e sua importância na contaminação alimentar; onde estes microrganismos podem apresentar características patogênicas e toxigênicas em elevada concentração e dependendo das condições imunológicas do consumidor.

Palavras-chave: Aflatoxinas, Micotoxinas, fungos, intoxicação alimentar.

Isolation and identification of fungal microorganisms in food grain preserved and exposed in open fairs and supermarkets in the cities of Cuiabá and Várzea Grande / MT.

Hellen Karin de Carvalho¹, Débora Lemos Martins¹, Diniz Pereira Leite Júnior²

¹Students of the Biomedicine Course of the University Center of Varzea Grande (UNIVAG), Varzea Grande, Mato Grosso, Brazil.

² Federal University of Mato Grosso, Faculty of Medical Sciences, Research Laboratory, Cuiabá, Mato Grosso, Brazil.

SUMMARY

Fungi are opportunistic organisms found in food, grains, due to contamination by their presence without soil, known for their high capacity to produce toxins; As aflatoxins, which harm human health mainly by the respiratory tract and without blood, with the objective of analyzing possible fungal presences in peanuts, olives and maize and preserved corn marketed in open markets and supermarkets in the cities of Cuiabá and Várzea . Food purchased from commercial establishments without the duplicate, basic studios and Drigalski strap methods; Agar Sabourraud medium added with chloramphenicol for identification of fungal specimens for a Ridell technique (microculture). As tested samples of preserved and exposed foods presented growth for fungal counts. 217 colonies of mycelial and yeast fungi were isolated. The analyzes allow to conclude that it is important to alert the existence of fungi in food and its importance in food contamination; Where these microorganisms can present pathogenic and toxicological characteristics in high concentrations and dependent on the immunological conditions of the consumer.

Key words: Aflatoxins, Mycotoxins, fungi, food poisoning.

INTRODUÇÃO

Os fungos são sapróbios de vida livre, extremamente comum na natureza. São encontrados na superfície do corpo como colonizadores ambientais transitórios, sem obter benefícios. Causam numerosos efeitos sobre os seres humanos, entretanto, pode ser difícil a determinação de seu papel em uma infecção (MURRAY *et al.*, 2002) .

As infecções e contaminações fúngicas são causadas por diversos gêneros fúngicos, conhecidos pela sua alta capacidade de produzir micotoxina resultando em aflatoxinas, prejudicando principalmente o trato respiratório, pulmões e corrente sanguínea. Normalmente estas toxinas em pequena quantidade não causam patologias, porém são fungos oportunistas que acometem pessoas com deficiência no sistema imunológico. Estes são encontrados em grãos de difícil identificação em níveis baixos de toxicidade, porém, não significa obrigatoriamente risco imediato para consumo. Os alimentos estão sujeitos à contaminação por substâncias tóxicas, e sua ingestão é capaz de ocasionar sérios transtornos ao organismo humano (FERREIRA *et al.*, 2006).

Os alimentos em grãos conservados ou expostos pode apresentar sua qualidade comprometida pela presença fungica, sendo assim as contaminações podem variar de acordo com as condições ambientais, processamento e armazenamento, assim como o tipo de alimento, uma vez que determinados grãos são substratos aptos para o crescimento de determinados fungos (BENTO *et al.*, 2012).

Características dos fungos micelianos

Atualmente, para além de aspectos morfológicos e reprodutores, consideram-se também na classificação novos dados relacionados com a ultra-estrutura das paredes celulares e com sequências de genes de RNA ribossomal. A nova classificação mantém as divisões *Zigomycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota*, desaparecendo a divisão *Deuteromycota* (sendo esta distribuída pelas anteriores). Surge, também, uma nova divisão: a *Chitridiomycota*, onde se encontram organismos com esporos móveis e que são sobretudo parasitas de algas e sem importância clínica. *Zigomycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota* são as divisões consideradas com importância clínica (RIPPON *et al.*, 1992; ZAITZ *et al.*, 1998; FREITAS, 2000; SIDRIM & ROCHA, 2004).

As espécies do gênero *Aspergillus* são de grande importância econômica graças a suas propriedades bioquímicas de produzir enzimas que são utilizadas na indústria. Algumas espécies, porém podem produzir metabólitos secundários tóxicos, denominados de “micotoxinas”, que são altamente nocivos para a saúde humana e animal. As propriedades bioquímicas das espécies do gênero *Penicillium* foram amplamente estudadas a partir de sua descoberta em 1929, com advento da penicilina (CHALFOUN & BATISTA, 2003).

Características dos fungos leveduriformes

As leveduras constituem um grupo de microrganismos unicelulares, que se reproduzem assexuadamente por brotamento ou por cissiparidade e que desenvolvem a fermentação alcoólica. São largamente encontradas na natureza: são comuns no solo, nas superfícies de órgãos dos vegetais, principalmente em flores e frutos, no trato intestinal de animais, em líquidos açucarados, em uma grande série de outros locais (UFSC, 2010).

De acordo com Lacaz *et al* (2009) as leveduras apresentam com coloração branca, vermelha ou preta, caracterizadas por reprodução através de brotamento ou cissiparidade, raramente formando micélio rudimentar. Algumas leveduras podem apresentar anelídeas (anelzinho) enquanto outras possuem colaretes (formato oval). Muitas vezes, a cultura é butirosa, com certo brilho, de textura cremosa ou membranosa. Não há formação de hifas aéreas que caracterizam as colônias de fungos filamentosos. As expressões levedo e levedura também são utilizadas.

Segundo Kwon-Chung & Bennett, as leveduras englobam estruturas somáticas globosas, ovais ou alongadas, reproduzindo-se por brotamento ou cissiparidade. Algumas vezes, as gêmulas forma cadeias de células alongadas, denominadas pseudo-hifas, com constrições no local dos septos.

Este trabalho de pesquisa foi realizado com intuito de avaliar o conteúdo de alimentos conservados e expostos, observando suas características organolépticas como: odor dos alimentos, coloração e possivelmente detectar os que apresentarem contaminação com auxílio do cultivo do líquido da conserva de grãos e de alimentos expostos.

Através deste cultivo temos um esclarecimento que contribui para uma melhor caracterização dos fatores de risco a saúde humana representada pelo consumo de

alimentos contaminados com aflatoxinas, além de informar a tolerância de humanos a estas toxinas (FERREIRA *et al.*, 2006).

Por esse motivo o presentou-se este trabalho com o objetivo de isolar as possíveis os alimentos avaliados, que são de extrema importância, visto que, as aflatoxinas em grande quantidade são de alto risco para saúde humana e ate mesmo animal visando evitar o consumo do mesmo.

MATERIAL E MÉTODOS

Casuística: Entre março e novembro de 2016, amostras de alimentos em grãos em conservas e expostos foram coletadas de supermercados e feiras livres nas cidades de Cuiabá e Várzea Grande, no estado de Mato Grosso. A realização deste estudo não foi apresentado ao Comitê de ética por não demonstrar característica invasiva, somente sendo aprovado pela coordenação do curso de biomedicina do Centro Universitário de Várzea Grande – UNIVAG.

Características dos alimentos armazenados: Foram registradas das amostras locais, lote e armazenamento, servindo para os registros, juntamente com os dados relativos ao tempo de fabricação e validade dos mesmos, tais como o possível contato com animais, variação de temperatura e a exposição em locais abertos.

Análise Laboratorial: Foram analisadas três amostras de azeitona em conserva ensacada, três amostras de milho enlatado, uma amostra de milho exposto e uma amostra de amendoim exposto. Os materiais expostos coletados foram macerado com água destilada em cadinho e utilizado a sua extração. As amostras em conserva foram utilizadas a sedimentação de seu líquido após ter sido centrifugado. Os materiais coletados foram colocados em placas de Petri estéreis previamente registrados com informações referentes aos produtos analisados.

Isolamento em cultura: Utilizando a técnica de Drigalski e a de semeadura básica o isolamento primário dos espécimes fúngicos foram realizadas simultaneamente em meios de cultura específicos contendo Ágar Sabouraud dextrose acrescido de Cloranfenicol (100mg/mL), utilizados com intuito de inibir o crescimento de bactérias. As amostras, após semeadas, foram incubadas em estufas BOD entre

25°C a 27°C no período de sete a dez dias sendo observadas diariamente, até a formação completa das colônias (SILVA *et al.*, 2010).

CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA E ISOLAMENTO DE COLÔNIAS

A microbiota fúngica foi quantificada por unidade formadora de colônia (UFC). Realizaram-se os isolamentos das colônias a partir do crescimento e cultivo dos microrganismos contido nas placas de Petri primárias, onde as colônias crescidas foram semeadas em tubos com rolhas de gaze contendo Agar Sabouraud dextrose (DIFCO™) inclinados, acrescido de Cloranfenicol (100mg/mL), objetivando o isolamento e posterior identificação em técnica de microcultivo (técnica de Ridell) (De HOOG *et al.*, 2007).

IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS MICELIANOS

Técnica de Ridell (microcultivo):

Para a identificação dos fungos filamentosos, foi utilizada a técnica de Ridell (1950) com cultivo em lâminas coradas pelo lactofenol azul-algodão.

Foram utilizadas câmaras para microcultivos estéreis preparadas pela colocação, em placas de Petri, de suporte de vidro, lâmina, lamínula e algodão hidrófilo. Em ambiente asséptico, a cada lâmina foi transferido um cubo de ágar fubá (DIFCO). O meio foi adquirido no comércio, preparado como recomendado pelo fabricante e, após esterilização, distribuídos em placas de Petri estéreis e estocados em geladeira.

Fragmentos das colônias dos fungos a serem identificados foram semeados em superfície, nos quatro cantos do cubo de ágar. A montagem foi coberta com lamínula estéril, o algodão umedecido com água destilada estéril e a câmara fechada e incubada a temperatura de 25-27°C. Após crescimento do fungo (5 à 7 dias) a lâminula foi retirada com auxílio de pinça e colocada sobre uma lâmina limpa contendo uma gota de azul de lactofenol. Foi retirado o cubo de ágar com colônias do fungo da lâmina do conjunto, e adicionada uma gota de azul de Lactofenol. Em seguida, a preparação foi coberta com uma lamínula limpa e observadas ao microscópio.

IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS LEVEDURIFORMES:

Técnica de Ridell (microcultivo)

As colônias com aspecto leveduriformes foram removidas das placas semeadas (colônia primária) passando por um processo de purificação em solução aquosa acrescida de Cloranfenicol e semeadas em Agar Sabouraud em Chromagar Candida, conforme característica das colônias e incubadas por 5-7 dias à temperatura de 37° e após o crescimento estas foram submetidas à identificação através de provas morfofisiológicas.

A aparência das leveduras da cultura primária é primordial sempre que se tratar deste grupo fúngico. O procedimento foi realizado por esgotamento da alça, em meio e temperatura idênticos aos usados para o cultivo primário.

O microcultivo ou técnica de Riddel (LACAZ *et al.*, 2009) foi realizado com o objetivo de visualizar as estruturas morfológicas típicas de cada espécie do gênero. Foram transferido cada lamina para o Ágar fubá, acrescido de Tween 80, com pH ajustado entre 5,8 e 6,2, distribuído com auxílio de pipeta estéril, em camada fina sobre lâminas previamente preparadas em câmara de microcultivo. Após solidificação do meio, cada amostra foi semeada em 03 linhas finas, horizontais e paralelas na superfície do ágar e coberta com lamínula. Após a adição de água destilada estéril ao algodão presente na placa, para obtenção de câmara úmida, o sistema fechado foi incubado a 25° C, até 72 horas. Esta técnica é semelhante utilizada para a identificação de fungos micelianos, porém aqui há uma diferença na implantação do fungo sobre o meio, onde os fungos micelianos são semeados em superfície, nos quatro cantos do cubo de ágar (RIDELL, 1950; LACAZ *et al.*, 2009).

RESULTADOS

De 08 amostras de alimentos conservados e expostos adquiridos em feiras livres e supermercados das cidades de Cuiabá e Várzea Grande/MT; foram observados 217 colônias fúngicas as quais cresceram nas placas inoculadas e semeadas por amostras de amendoim (25,34%), milho verde (69,13%) e azeitona verde (5,53%). O número de isolamentos foram distribuídas em 14 espécies de microrganismos fúngicos; sendo 10 (33,63%) referentes aos fungos micelianos e 04 (66,37%) aos fungos leveduriformes. Em relação aos gêneros fúngicos, foram totalizados 09 taxas, sendo 07 (33,63%) caracterizados como micelianos e 02 (66,37%) sendo leveduriformes (tabela01).

Tabela 01: Resultados obtidos após observação das características macro e micro-morfológicas dos cultivos.

Tipo de produto	Placa	N° de Colonias	%	Tipo de Fungo	Espécie Identificada
Exposto	Amendoim	43	19,82	Miceliano	<i>Eurotium amstelodami</i>
Exposto	Amendoim	03	1,38	Miceliano	<i>Penicillium citrinum</i>
Exposto	Amendoim	03	1,38	Miceliano	<i>Aspergillus terreus</i>
Exposto	Amendoim	03	1,38	Miceliano	<i>Talaromyces funiculosos</i>
Exposto	Amendoim	03	1,38	Miceliano	<i>Aspergillus flavus</i>
Conserva	Azeitona	02	0,92	Miceliano	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
Conserva	Azeitona	04	1,85	Levedura	<i>Sacharomyces ellipsoideus.</i>
Conserva	Azeitona	03	1,38	Miceliano	<i>Aspergillus japonicus</i>
Conserva	Azeitona	01	0,46	Miceliano	<i>Aspergillus niger</i>
Conserva	Azeitona	02	0,92	Miceliano	<i>Rhizopus stolonifer</i>
Conserva	Milho	60	27,65	Levedura	<i>Sacharomyces cerevisae</i>
Conserva	Milho	60	27,65	Levedura	<i>Sacharomyces ellipsoideus</i>
Exposto	Milho	10	4,61	Miceliano	<i>Paecilomyces virides</i>
Exposto	Milho	10	4,61	Levedura	<i>Candida kefyr.</i>
Conserva	Milho	10	4,61	Levedura	<i>Candida krusei</i>
TOTAL	-	217	100	-	-

A identificação foi feita através do isolamento fungos, que foram encontrados espécies de micelianos sendo eles, *Eurotium amstelodami*, *Penicillium citrinum*, *Aspergillus terreus*, *Talaromyces funiculosos*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Paecilomyces virides* (figura 02) e leveduriformes sendo eles, *Sacharomyces cerevisae*, *Sacharomyces ellipsoideus*, *Candida kefyr*, *Candida krusei* spp (figura 03).

A entidade fúngicas micelial mais prevalente foi a espécie de *Eurotium amstelodami* (19,82 %) e o menor índice de prevalência sendo a espécie *Aspergillus*

niger (0,46%) (tabela 01). E entre os fungos leveduriformes o gênero mais prevalente foi *Sacharomyces ellipsoideus* (29,65%) e com menor índice de prevalência *Candida spp.* (9,9%) (figura 03).

Figura 02: Fungos miceliano encontrados nas amostras de azeitona, milho e amendoim, comercializados em feiras/supermercados da cidade de Várzea Grande e Cuiabá.

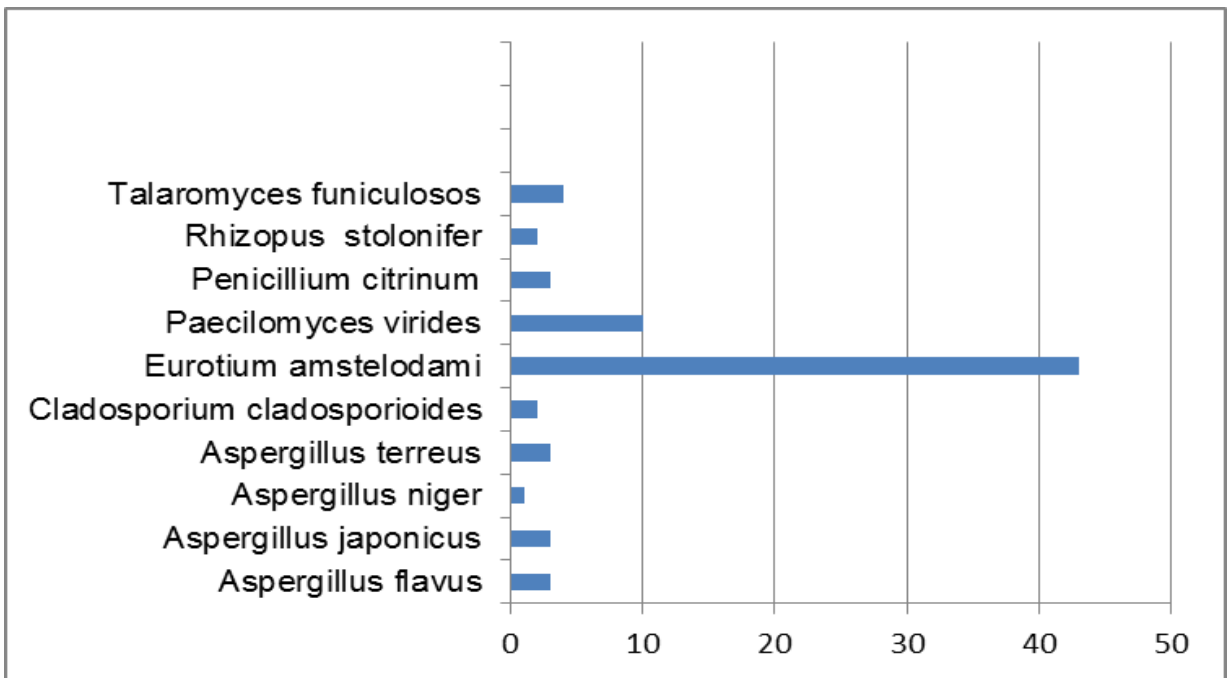


Figura 03: Porcentagem dos fungos leveduriforme encontrados nas amostras de azeitona e milho, que comercializados em feiras/supermercados da cidade de Várzea Grande e Cuiabá.

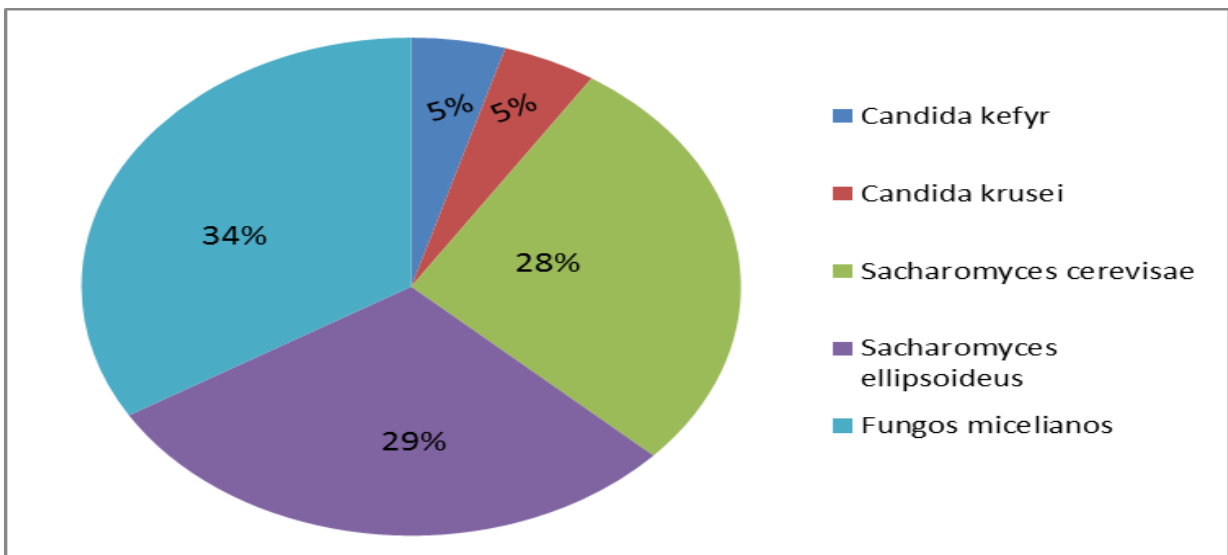
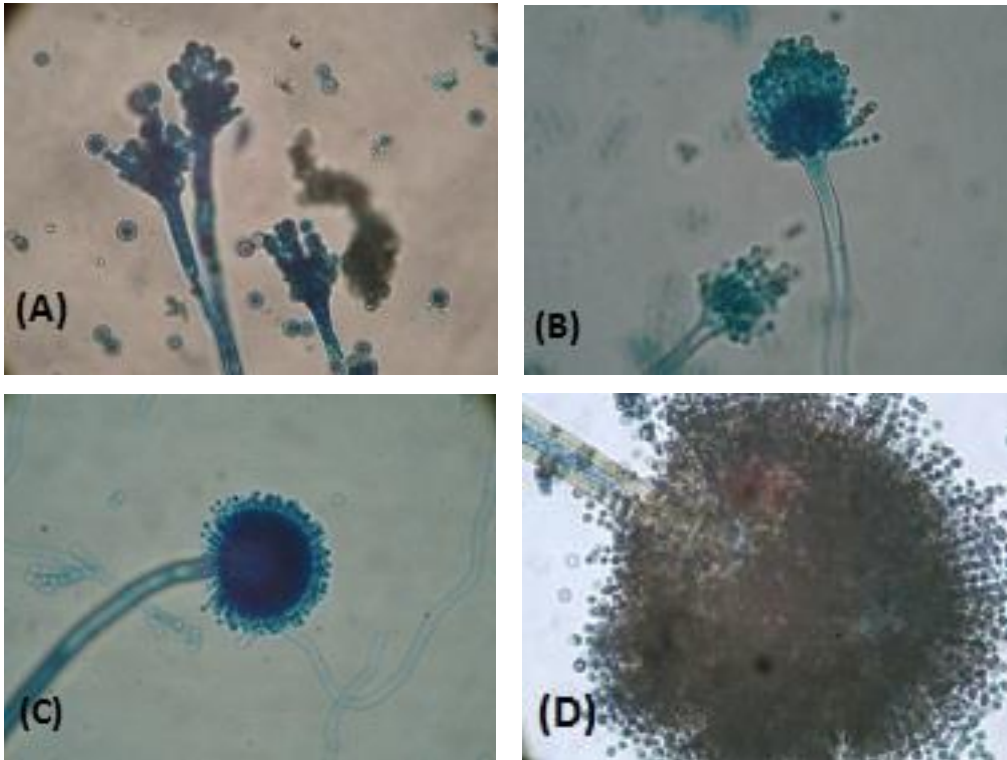


Figura 04: Aspecto micromorfológico de *Aspergillus japonicus* (A), *Aspergillus flavus* (B), *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger* (D) encontrado nos alimentos de amendoim e azeitona.



Imagens: Leite-Jr, D.P.

Figura 05: Aspecto micromorfológico de *Penicillium citrinum*, encontrada no amendoim exposto.

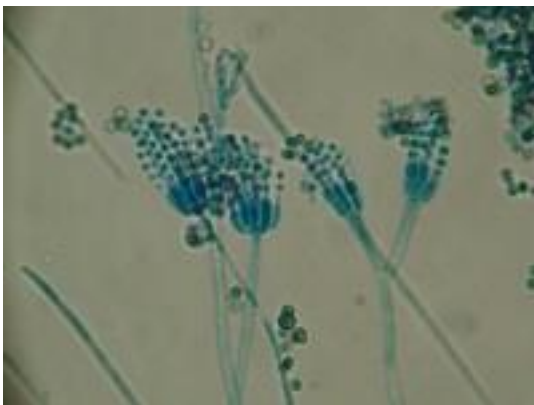


Imagem: Leite-Jr, D.P.

Figura 06: Aspecto micromorfológico de *Cladosporium cladosporioides* encontrada na azeitona em conserva.



Imagem: Leite-Jr, D.P.

Figura 07: Aspecto macroscópico dos espécimes fúngicos. Crescimento primário de colônias fúngicas, isoladas da conserva de azeitona a vácuo, comercializados em feiras/supermercados da cidade de Várzea Grande.



Imagem: Leite-Jr, D.P.

Figura 08: Aspecto macroscópico dos espécimes fúngicos. Crescimento primário de colônias fúngicas, isoladas de amostras de amendoim exposto comercializado em feiras/supermercados da cidade de Várzea Grande.



Imagem: Leite-Jr, D.P.

DISCUSSÃO

Os alimentos comercializados em supermercados, a varejo, em feiras livres, são motivo de grande preocupação e cautela devido às deficiências de higiene e saneamento (LUNDGREN *et. al.*, 2009). Neste estudo avaliamos produtos alimentícios de amendoim, azeitonas e milho verde em exposição e em conservas comercializados nos mercados da cidade de Várzea Grande/Cuiabá que apresentaram resultados de crescimento microbiano em todas as amostras analisadas.

Entre as 150 espécies de fungos descritas como patogênicas aos seres humanos estão às leveduras, as quais podem causar diversos quadros infecciosos com formas clínicas localizadas ou disseminadas (FERREIRA & AVILA, 2001).

Neste trabalho a importância das leveduras do gênero *Sacharomyces* isoladas dos alimentos conservados, chama a atenção, pela existência destas leveduras nos mais diversos ambientes e produtos. De acordo com Ostergaard *et al*, (2000) a levedura *Sacharomyces cerevisiae* é um microrganismo atrativo de se trabalhar por ser não-patogênico, e devido a sua longa história de aplicação na produção de produtos consumíveis como o etanol e o pão, ela foi classificada como microrganismo geralmente considerado seguro. Foram isoladas nas amostras de milho nesta casuística *Saccharomyces ellipsoideus* (29,5%) e *Saccharomyces cerevisiae* (27,65%), porém o elevado número de crescimento de colônias destas

espécies fúngicas leveduriformes geram preocupação devido seu alto índice encontrado nos alimentos conservados avaliados.

De acordo com SANSON & PIIT (2000), três gêneros de fungos são de importância mundial para a produção de micotoxinas: *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*. isolados nas amostras de amendoim (4,14%) (tabela 01) e azeitonas verdes (2,76%) (tabela 01). Além do problema reconhecido de ingestão de micotoxinas de alimentos e rações, a possibilidade de inalação de micotoxina com conídios do fungo também existe, e, na opinião de algumas autoridades, constitui um grande problema. Há de se chamar atenção que estas entidades fúngicas, foram isoladas nos materiais analisados e constam de devida atenção em se tratando de alimentos para consumo humano.

As aflatoxinas são produzidas por certas espécies de fungos, tais como *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Estes fungos crescem em vários tipos de alimentos como nozes, pistache, amendoins e outras oleaginosas, incluindo as sementes de algodão e os cereais como milhos, trigo e centeio (ACHESON, 2000). *Aspergillus flavus*, juntamente com *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* (figura 04), são considerados pela literatura científica como agentes contaminantes de alimentos e incriminados como principais desencadeadores de infecções fúngicas, principalmente respiratórias.

Essas entidades fúngicas foram encontradas neste trabalho sendo *Aspergillus flavus* (1,38%) e *Aspergillus terreus* (1,38%) (tabela 01) isolados nas amostras de amendoim (figura 08), ainda foram encontrados outros fungos micelianos anemofílicos como *Eurotium amstelodami*, *Penicillium citrinum*, *Talaromyces funiculosos* (figura 02). As amostras de azeitona apresentaram *Sacharomyces ellipsoideus* (1,85%), *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus japonicus* e *Aspergillus niger*. As amostras de milho representam significativamente a maior parte de *Sacharomyces ellipsoideus* e *Sacharomyces cerevisae* (27,65%) respectivamente e *Paecilomyces virides* (4,61%) e as espécies de *Candida krusei* (4,61%) e *Candida kefyr* (4,61%) (figura 03).

Os *Aspergillus* negros, conhecidos na literatura mundial como “*Black Aspergilli*” estão entre os fungos mais comuns que causam a deterioração dos alimentos e biodeterioração de outros materiais (ABARCA, 2004). Eles também têm sido amplamente utilizados para vários fins biotecnológicos, incluindo produção de

enzimas e ácidos orgânicos (SCHUSTER *et al*, 2002). As espécies do gênero são predominante do grupo, neste estudo estes agentes aflatoxigênicos foram isolados e são consideradas por Leite-Jr, (2015) como espécies produtoras de micotoxinas e agentes de infecção humana. Foram isolados nas amostras de azeitonas verdes, isolando 03 colônias de *Aspergillus japonicus* (1,38%) e 01 colônia de *Aspergillus niger* (0,46%) (tabela 01), mostrando serem esses microrganismos presentes e permanecendo ativos em substâncias com alta salinidade.

A biologia e ecologia de espécies de *Penicillium* entre outras atividades produzidas por estes fungos podem ser observadas em vários trabalhos (SAMSON & PITT, 2000; DIGHTON, 2003; ESQUIVEL *et al.*, 2003; DOMSCH *et al.*, 2007). Estes autores relatam que muitas espécies de *Penicillium* produzem micotoxinas (figura 05). A importância destes compostos tóxicos varia muito, e é regida tanto pela biologia e ecologia da espécie em questão, pela toxicidade intrínseca dos compostos em si, dessa forma essas entidades foram isoladas neste trabalho tendo como representantes *Penicillium citrinum* (1,38%) e *Talaromyces funiculosus* (1,38%) (tabela 01).

Os zigomicetos, atualmente glomeromicetos, constituem grupo de fungos sapróbios por excelência em matéria orgânica em decomposição vivendo ainda em uma gama de substratos vegetais, flores, grãos, frutos, flores e agáricos carnosos (TRUFEM, 1995; ALEXOPOULOS *et al*, 1996). São representados por cerca de 50 gêneros sendo os mais conhecidos: *Mucor*, *Rhizopus*, *Cunninghamella*, *Absidia*, *Rhizomucor*, *Saksenaea*, *Apophysomyces*, *Cokeromyces* e *Syncephalastrum*. São responsáveis por doenças em humanos (SEVERO *et al*, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2011).

Os Zigomicetos foram representados neste trabalho pela espécie *Rhizopus stolonifer* (0,92%) (tabela 01). Recentes relatos de mucormicose foram descritos provocando úlcera causada por fungos do gênero *Rhizopus* (GARDINER *et al*, 2015), assim como o estudo retrospectivo de Kursun *et al.*, (2015) abordando casos de mucormicoses rinocerebrais causadas por membros da ordem dos mucorales e ainda podemos destacar a pesquisa realizada por Ribeiro e seus colaboradores (2011), quando os mesmos isolaram essas entidades fúngicas causando quadro clínico de micoses rinocerebral em pacientes com diabetes mellitus em Mato Grosso.

A presença de microrganismos em alimentos não significa necessariamente um risco para o consumidor ou uma qualidade inferior destes produtos. Excetuando-se um número reduzido de produtos submetidos à esterilização comercial, os diferentes alimentos podem conter bolores, leveduras, bactérias e outros microrganismos. Muitos alimentos tornam-se potencialmente perigosos ao consumidor somente quando os princípios de sanitização e higiene são violados. Se o alimento tem estado sujeito a condições que poderiam permitir a entrada e/ou crescimento de agentes infecciosos ou toxigênicos, pode se tornar um veículo de transmissão de doenças (ICMSF, 2009).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) adotou o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos, Resolução - RDC nº 12/01/2001, na qual aceita para o controle microbiológico de alimentos a tolerância de 5×10^2 /g de Coliformes Termotolerantes, porém não demonstra valores permitidos para bolores e leveduras (ANVISA, 2001).

De acordo com Leite *et al.*, (2006), existem grupos de alto risco para as DTAS (Doenças Transmitidas por Alimentos): idosos, gestantes, indivíduos que fazem uso de terapia medicamentosa (quimioterapia), transplantados e portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) devido à depressão da função imune. Podemos observar que diante desta resolução, os alimentos para imunossuprimidos e imunocomprometidos devem apresentar ausência microbiológica e valores iguais à para bolores e leveduras (ANVISA, 2001).

Diante das expressões, relatadas pelos autores supracitados em relação à conservação e manutenção dos alimentos conservados e expostos, podemos observamos que neste estudo as amostras analisadas não se encontram dentro dos padrões sanitários adequados para esta classe populacional, sendo que possivelmente estas amostras estiveram em contato com agentes contaminantes durante o processo de transporte e estocagem, de acordo com o ICMSF (2009).

Este estudo evidencia a quantidade e a diversidade fúngicas isolada nestas amostras de alimentos conservados e expostos (figura 07 e 08), chamando atenção para medidas de controle e manipulação alimentar e de anti-sepsia e assepsia contra as formas vegetativas; advertindo que os alimentos apresentam períodos transitórios de estocagem, onde estas atividades propiciam as condições redundante que favorecem o crescimento e proliferação destes microrganismos e ainda

associados aos substratos disponíveis, desta forma facilitando o desenvolvimento dos fungos.

CONCLUSÕES

Através desta pesquisa foi possível verificar que o alimento em grão conservado ou exposto, adquirido em supermercados ou feiras da cidade de Várzea Grande e Cuiabá/MT, contem uma alta variedade de espécimes fúngicos, sendo maior a concentração dos fungos micelianos. Este estudo pode contribuir de forma para o enriquecimento e conhecimento da biodiversidade fúngicas identificada neste alimento, que são de extrema importância, visto que, as aflatoxinas em grande quantidade são de alto risco para saúde humana e ate mesmo animal visando evitar o consumo do mesmo.

REFERÊNCIAS

- ABARCA, M.L, ACCENSI, F, CANO, JICABANES, F, J. Taxonomy and significance of black aspergilli. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 2004.
- ACHESON, DWK- *Pediatric Gastrointestinal Disease- 3ª edition- 2000 – pp 485- 501.*
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITARIA (ANVISA). *Condimentos ou Temperos. Resolução – CNNPA nº 12, de 1978.*
- ALEXOPOULOS, C.J; MIMS, C.W. & BLACKWELL. *Introductory Micology. 4 edição. New York: Jonh Wiley e Sons, 1996.*
- ANVISA-Agência Nacional de Vigilância Sanitaria-RDC nº12 – 02/01/2001, Disponível em < www.anvisa.gov.br> acesso em: 08 julho 2016.
- B.CEPPA, *Artigos Acadêmicos - Curitiba, v. 20, n. 1, p. 141-156, jan/jun. 2002.*
- BENTO, *et al.* P.J. *Artigos Acadêmicos - Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. Revista Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, 2012.*
- CHALFOUN, S. M.; BATISTA, L. R. *Fungos associados a frutos e grãos de café Aspergillus & Penicillium. Brasília, DF: Embrapa, 2003.*
- De HOOG, GS; GUARRO, J. GENÉ, J. FIGUERAS, MJ. 3ª. Edição. *Atlas of Clinical fungi. Utrecht: 2007; Central bureau voorschimmel cultures.*

DIGHTON, J. Fungal interactions with humans. In: Fungi in ecosystems processes. Dighton, J. (Ed), Marcel Dekker Inc., New York, p. 305-390, 2003.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. Compendium of Soil Fungi. 2nd Ed. Eching, The Netherlands: IHW-Verlag. p. 860, 2007.

ESQUIVEL, P; MANGIATERRA, M; GIUSIANO, G; SOSA, M. A. Microhongos anemofilos em ambientes abiertos de dos ciudades del nordeste argentino. Bol. Micol. 18: 21-8, 2003.

FERREIRA,A.W.;AVILA,A.LM.Diagnostico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imune.2ºed.Rio de Janeiro:Guanabara Koogon,2001.

FERREIRA, *et al.* AMBIÊNCIA – Revista do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais V.2 N° 1 Jan/Jun. 2006.

Gardner, et al.The genetical theory of multilevel selection.6 jan, 2015.

ICMSF.International Comiission on Microbiological Specfications for Foods. New Yourk, 2009.

LACAZ CS, PORTO E, MARTINS JEC, HEINS-VACCARI EM, MELLO NT. Tratado de Micologia Médica Lacaz. 9ª edição. São Paulo: Savier; 2009.

KWON-CHUNG K J e BENNETT JE. Medical Mycology. Philadelphia: Lea e Fibiger, p.866, 1992.

LEITE LHM, WAISSMANN W. Doenças Transmitidas por Alimentos na População Idosa: Riscos e Prevenção. Revista Ciência Médica de Campinas, v. 15, n. 6, p. 525-530, nov./dez, de 2006.

LEITE-JR DP. Avaliação Eco-Epidemiológica da Aerobiologia Fungica em Acervos Bibliográficos de Cuiabá e Várzea Grande: Impacto na saúde humana e ocupacional. (Tese Doutorado) Faculdade de Medicina – Pós-graduação em Ciências da Saúde. Cuiabá (Mato Grosso): Universidade Federal de Mato Grosso, 2015.

LUNDGREN PU, SILVA JÁ, MACIEL JF, FERNANDES TM. Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa/PB-Brasil; Revista Alim. Nutr., Araraquara v.20, n.1, p. 113-119, jan./mar, 2009.

MURRAY, PR.; ROSENTHAL, KS.; KOBAYASHI, GS.; PFALLER, MA. Microbiologia médica. 4a. Ed. Rio de Janeiro: 2002, Guanabara Koogan.

OSTERGAARD, S.; OLSSON, L.; NIELSEN, J. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 34-50, 2000.

RIBEIRO, M. G.; GERALDO, J. S.; LANGONI, H.; LARA, G. H. B.; SIQUEIRA, A. K.; SALERNO, T.; FERNANDES, M. C. Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. Rio de Janeiro, 2009.

RIDDELL, R.W. 1950. Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. *Mycologia* 42:265-270. 2002.

SAMSON, RA & PITT, JI. Integration of Moderns Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. Harwood Academic, 2000, p 510.

SCHUSTER, E.; DUNN-COLEMAN, N.; FRISVAD, JC.; VAN DIJCK, PWM. On the Safety of *Aspergillus niger* – a review. *Appl Microbiol Biotechnol*, 59: 426-435, 2002.

SEVERO CB, GUAZZELLI LS, SEVERO LC. Capítulo 7 – Zigomicose; *J Bras Pneumol*. 2010; 36 (1): 134-141.

SILVA N, JUNQUEIRA VCA, SILVEIRA NFA. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 4ª Edição. São Paulo: Editora Varela, 2010.

TRUFEN,SFB. Aspectos ecologicos de fungos miconizicos arbusculares na rizosfera de plantas de resting da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Botanica*, 1995.

UFSC (2010). Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em <http://www.enq.ufsc.br>. Acesso em 05 Abril 2016.