

Vol. 9 N° 1 • Enero - Junio 2019



AGENTES FÚNGICOS (MICELIALES Y LEVADURIFORMES) EN LECHE DE CABRINA DISTRIBUIDA EN SITIOS AMBULANTES DEL OCCIDENTE DE VENEZUELA

Fungal agents myceliales and levaduriformes in goat's milk distributed in ambulancing sites of
the west of Venezuela

Douglenny Montero, Gasmelys Mavares, Ricardo Silva

Unidad de Investigación en Microbiología Ambiental-Sección Microbiología de los Alimentos y Micología(UIMA),
Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Venezuela douglennytrinidad-montero@hotmail.com

RESUMEN

La leche de cabra es un producto lácteo de alto valor alimenticio, el cual aporta vitaminas, minerales y proteínas de la dieta básica. El objetivo de esta investigación es analizar la presencia de agentes fúngicos (miceliales y levaduriformes) en leche de cabra distribuida en tres sitios ambulantes del municipio Cabimas, estado Zulia-Venezuela. Se seleccionaron tres sitios de venta ambulante, y se tomaron muestras por duplicado de cada sitio. Durante la adquisición del producto, las mismas se colocaron en una cava provista con hielo y se trasladaron a la Unidad de Investigaciones en Microbiología Ambiental (UIMA), de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia para su respectivo análisis, para lo cual, se siguieron los protocolos sugeridos por la Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN (1337-1990). En relación a los hongos miceliales, los valores promedios cuantificables en el punto (I) fueron de 18×10^3 , no obteniendo cuantificación para el punto II pero si un valor de $4,20 \times 10^3$ UFC/mL en las muestras correspondientes al punto III. En cuanto a los géneros encontrados, se registró en mayor prevalencia *Mucor* (60%), seguido de *Aspergillus* (35%), *Trichophyton* (14%) y *Microsporum* (1%). Con respecto a la cuantificación de hongos levaduriformes, no se obtuvo valor para el punto (I) en tanto que para el punto (II) el valor fue de $6,30 \times 10^1$, seguido del punto (III) con $6,27 \times 10^3$ UFC/mL. El género predominante correspondió a *Cándida* (95%); seguido de *Sacharomyces* (5%).

En relación a las especies encontradas se obtuvo para el punto (II) *Cándida lusitanae* y *Candida tropicalis*; mientras que en el punto (III) fueron *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Cándida pseudotropicalis* y *Sacharomyces cerevisiae*. Este estudio permitió demostrar que la inocuidad en el producto evaluado necesita ser controlada, ya que refleja un riesgo de salud pública para el consumidor.

Palabras clave: Leche caprina, fúngicos, miceliales, levaduriformes.

ABSTRACT

Goat's milk is a dairy product with a high nutritional value, which provides vitamins, minerals and proteins to our basic diet. The objective of this investigation is analyze the presence of fungal agents (mycelial and yeast) in goat's milk distributed in three ambulatory sites of Cabimas municipality, Zulia State-Venezuela. Three street vending sites were selected, and samples were taken in duplicate from each site. During the acquisition of the product, they were place in a cava provided with ice and moved to the Research Unit in Environmental Microbiology (UIMA), of the Experimental Faculty of Sciences of the University of Zulia for their respective analysis, taking into account the protocols suggested by the Venezuelan Industrial Standards Commission COVENIN (1337-1990). In relation to mycelial fungi, the quantifiable average values in point (I) were 18×10^3 , not obtaining quantification for point II but a value of 4.20×10^3 CFU / mL in the samples corresponding to point III. Regarding the genera found, *Mucor* (60%) was the most prevalent, followed by *Aspergillus* (35%), *Trichophyton* (14%) and *Microsporum* (1%).

Recibido:08-04-2018 Aceptado:27-06-2018.

With regard to the quantification of yeast fungi, no value was obtained for point (I), while for point (II) the value was 6.30×10^1 , followed by point (III) with 6.27×10^3 CFU / mL. The predominant gender corresponded to *Candida* (95%); followed by *Sacharomyces* (5%). In relation to the species found, it was obtained for point (II) *Candida lusitanae* and *Candida tropicalis*; whereas in point (III) they were *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida pseudotropicalis* and *Sacharomyces cerevisiae*. This study demonstrated that the safety of the evaluated product needs to be controlled, since it reflects a public health risk for the consumer.

Keywords: Goat milk, fungal, mycelial, levaduriformes.

INTRODUCCIÓN

La leche del ganado caprino contiene una alta proporción de nutrientes, además de presentar menor cantidad de lactosa, por lo que es más digestiva y de mayor adsorción por individuos con intolerancias a la leche y sus derivados. Asimismo, contiene mayor cantidad de ácidos grasos esenciales, que ayudan a disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos, por lo que se considera más idónea para el consumo, debido a que previene enfermedades cardiovasculares, considerándose incluso beneficiosa para el consumidor (Sánchez *et al.* 2011).

Este producto caprino, por ser de menor producción en comparación con la leche del ganado vacuno, no se destina a la industrialización. Sin embargo, en los estados de mayor concentración caprina, existen sitios ambulantes que ofrecen el producto de forma artesanal, sin pasar por tratamientos previos que determinen si cumple o no, con los parámetros microbiológicos establecidos por las normativas nacionales vigentes y la estandarización requerida por las normativas internacionales (Faría *et al.* 2000).

Los agentes fúngicos (miceliales y levaduriformes), de los cuales forman parte las levaduras, contribuyen al daño organoléptico del producto, alterando condiciones de sabor, olor, textura y apariencia. Algunos géneros de hongos miceliales, contribuyen a la acumulación de toxinas, generando un riesgo alarmante en la salud del consumidor (Sugar y Boston 2016).

Las principales micotoxinas que afectan a los alimentos son producidas por diferentes géneros de hongos: Aflatoxinas (*Aspergillus*), Ocratoxinas (*Aspergillus* y *Penicillium*), Tricotecenos, Fumonisin

y Zearalenona (*Fusarium*) y Patulina (*Penicillium*) (Henry *et al.* 2001, Elika 2005), las cuales pueden ocasionar una disminución de las defensas inmunitarias en el ser humano y en los animales, aumentando la susceptibilidad a determinadas infecciones. Asimismo actúan sobre el metabolismo de glúcidos y lípidos, y la actividad de diversas enzimas. También ejercen efectos sobre determinados órganos diana como el Sistema Nervioso Central (SNC), sistema gastrointestinal, hígado, riñón y piel (Henry *et al.* 2001) y se han asociado con efectos carcinogénicos. El principal órgano blando afectado es el hígado, produciendo hígado graso y pálido, necrosis moderada y extensiva, hemorragia y otras patologías como alargamiento de la vesícula, daño en el sistema inmune, nervioso o reproductivo (EFSA 2004).

En la mayoría de las investigaciones realizadas sobre la calidad microbiológica de la leche del ganado vacuno, ovino y caprino, se incluyen estudios de inocuidad en relación con los indicadores bacterianos, específicamente del grupo de los coliformes, entre otros patógenos de importancia en el producto lácteo. Estos microorganismos representan un riesgo para la salud del consumidor, principalmente en la población infantil y de adultos mayores, quienes por lo general incluyen dentro de su dieta un alto consumo de este producto alimenticio (Sánchez *et al.* 2011). No obstante, es necesario que en el producto lácteo, además de cumplir con los requisitos microbiológicos obligatorios (por ejemplo *Salmonella* y *Shigella*) se incluyan a los agentes fúngicos miceliales y levaduriformes, los cuales generan no solo cambios organolépticos en el producto sino que también contribuyen en la acumulación de toxinas; siendo necesario no solo su cuantificación, como lo establece la normativa legal; sino también la identificación de los géneros y especies involucradas. En este trabajo se caracteriza la presencia de agentes fúngicos (miceliales y levaduriformes) en leche cabrina distribuida en sitios ambulantes del occidente de Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

Se seleccionaron tres sitios de ventas ambulantes, ubicados en el municipio Cabimas del estado Zulia, Venezuela, donde se obtuvieron muestras, por duplicado en el año 2017, de leche cruda recién ordeñada de cabra, quincenalmente por tres me-

ses. Estas fueron transportadas en cavas con hielo hasta la Unidad de Investigaciones en Microbiología Ambiental (UIMA) de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia. Para realizar los análisis correspondientes se tomó 1L de leche por cada muestra, según la norma venezolana COVENIN (1126:1989), que rige el manejo, identificación y preparación de la muestra para el análisis microbiológico.

Análisis microbiológico

Una vez en el laboratorio, se agitaron los envases de leche hasta que el contenido fuera homogéneo, posterior a ello, se midió con una pipeta 10 u 11mL de la muestra y se transfirió a un frasco de dilución con 90 o 99mL de diluyente respectivamente (agua peptonada al 0,1%). Luego se agitó hasta homogenizar la dilución correspondiente a 10^{-1} y a partir de esta se procedió a preparar las diluciones restantes. Posteriormente fueron sembradas en el agar selectivo Agar Rosa de Bengala (RB), (Hi media, India), previamente fundido y temperado a 45°C para cada dilución por duplicado. Se determinó la cuantificación fúngica (micelial y levaduriformes) siguiendo los protocolos sugeridos por la norma COVENIN (1337:1990). A las colonias típicas de hongos miceliales se le realizó una tinción con la técnica de cinta adhesiva con una gota de azul de lactofenol.

Se observó en el microscopio a 40X su estructura reproductora típica y se identificaron mediante claves dicotómicas sugeridas por Barnett y Hunter (1998) y Da Silva y Cardoso (2002). En el caso de

las levaduras se tocó el centro de una colonia típica del agar RB y se realizó una tinción diferencial de Gram. Posterior a la confirmación, se efectuaron pruebas fisiológicas y metabólicas para la identificación de levadura sugeridas por Linares y Solís (2007), las cuales incluyeron: Prueba de ureasa, prueba de Auxonograma y Zigmograma (se utilizó como base el caldo rojo de fenol, al cual previamente se le incorporaron su respectivos carbohidratos: D-Raffinosa, D-Galactosa, sacarosa, maltosa, lactosa, glucosa y dulcitol).

Análisis estadísticos descriptivos

Se obtuvieron los promedios y porcentajes de las cuantificaciones de los agentes fúngicos (miceliales y levaduriformes), utilizando el sistema operativo básico de Microsoft Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los niveles cuantificables de los hongos miceliales encontrados en los tres sitios de ventas ambulantes, permitiendo establecer de acuerdo a la normativa internacional (NOM-185-SSA1-2002), que los mismos irrumpen los parámetros establecidos (Tabla 1). Debido a que la normativa nacional (COVENIN 1337-1990), no establece un límite máximo como tal. En relación con los niveles promedios (%), los géneros más abundantes fueron *Aspergillus* (30%) y *Mucor* (55%) en el sitio I y III respectivamente. En el sitio II no se registró crecimiento (Tabla 2).

Tabla 1. Niveles cuantificables (UFC/ml) de hongos miceliales en leche de cabra distribuida en sitios ambulantes

Sitios	Valor	Límite máximo NOM-185- SSA1-2002
I	18×10^3	1×10^2
II	0	
III	$4,20 \times 10^3$	

UFC/mL= Unidad formadora de colonia por mililitro

Fuente: datos de la investigación (2018).

Tabla 2. Niveles promedios (%) de los géneros de hongos miceliales en leche de cabrina distribuida en sitios ambulantes

Microorganismos	Sitios		
	I	II	III
<i>Microsporum</i>	1	0	0
<i>Aspergillus</i>	30	0	5
<i>Mucor</i>	5	0	55
<i>Trichophyton</i>	0	0	14

Fuente: datos de la investigación (2018).

Los resultados de esta investigación difieren de los reportados en otros trabajos: Echeverría (2017) en queso de cabra, señala que la mayor proporción fue para *Aspergillus* (78,50%), siendo el resto de los géneros encontrados *Penicillium* (7,12%), *Alternaria* (3,57%), *Metarhizium* (3,57%), *Fusarium* (3,57%) y por último a *Cladosporium* (3,57%). Por su parte, Medina y col. (2014) obtuvieron en mayor proporción a *Penicillium* (57,50%), seguido por *Aspergillus* (24,75%), y *Cladosporium* (10,87%). No obstante, también registraron otros agentes fúngi-

cos en menor proporción como *Drechslera* (3,20%) *Aureobasidium* (2,85%) y *Curvularia* (0,78%).

En la cuantificación de las levaduras se obtuvieron valores que van desde $6,27 \times 10^3$ hasta $6,30 \times 10^1$ UFC/mL, permitiendo establecer de acuerdo a la normativa internacional (NOM-185-SSA1-2002), que los mismos irrumpen los parámetros establecidos (Tabla 3). Debido a que la normativa nacional (COVENIN 1337-1990), no establece un límite máximo como tal.

Tabla 3. Niveles cuantificables de levaduras (UFC/ml) en leche de cabrina distribuida en sitios ambulantes

Sitios	Valor	Límite
		máximo
		NOM-185- SSA1-2002
I	0	1×10^2
II	$6,30 \times 10^1$	
III	$6,27 \times 10^3$	

UFC/mL= Unidad formadora de colonia por mililitro
Fuente: datos de la investigación (2018).

Estos valores coinciden con los reportados por Echeverría (2017) en queso de cabra, analizados en los sitios de venta ambulante en la carretera Falcón-Zulia, Venezuela, quien señaló valores promedios de $2,4 \times 10^7$ UFC/g hasta $8,3 \times 10^6$ UFC/g, superando los criterios máximos establecidos por la Normativa Nacional. Sin embargo, difieren con los reportados por Medina *et al.* (2014), quienes determinaron la presencia de mohos y levaduras en cincuenta muestras de quesos artesanales semiduros procedentes de mercados ambulantes y charcuterías ubicados en cinco zonas de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, donde se obtuvieron resultados cuantificables de $2,5 \times 10^6$ hasta $3,2 \times 10^7$ UFC/g, encontrándose por encima de lo establecido en la Normativa COVENIN 3821 (2003).

En este estudio los géneros levaduriformes prevalentes en las muestras de leche de cabra, fueron *Cándida* (95%) y *Saccharomyces* en (5%). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Medina *et al.* (2014), quienes identificaron a *Cándida* en un 100% de la totalidad de las muestras analizadas. Este género es considerado un contaminante común de los quesos y de las plantas procesadoras, sumándole desde el punto de vista fisiológico su resistente a las altas concentraciones de cloruro de sodio (NaCl) y su procedencia, la cual está relacionada con el ambiente donde se procesa el producto lácteo. Echeverría (2017) analizó el queso de cabra de venta en la carretera Falcón-Zulia, registrando como géneros prevalentes a *Cándida* (72,72%), seguido de *Saccharomyces* (9,09%), *Cryptococcus* (9,00%), *Trichosporon* (4,54%), *Rhodotorulla* (3,40%) y *Geotrichum* (1,13%).

En este trabajo se detectaron seis especies de levaduras en la leche de cabra analizada, de las cuales solo *C. lusitaniae* y *C. tropicalis* se registraron en el sitio II. En el sitio III se observó la ma-

yor abundancia para *C. albicans* y *Sacharomyces cerevisiae* ($1,69 \times 10^3$). No se detectaron especies levaduras en el sitio I (Tabla 4).

Tabla 4. Niveles cuantificables (UFC/ml) de especies levaduras en leche de cabrina distribuida en sitios ambulantes

Microorganismos	Sitios		
	I	II	III
<i>Candida albicans</i>	0	0	1,69X10 ³
<i>Candida parapsilosis</i>	0	0	1,59X10 ³
<i>Candida pseudotropicalis</i>	0	0	1,30X10 ³
<i>Candida lusitaniae</i>	0	3,10X10 ³	0
<i>Candida tropicalis</i>	0	3,20X10 ³	0
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	0	0	1,69X10 ³

UFC/mL= Unidad formadora de colonia por mililitro
Fuente: datos de la investigación (2018).

En base a los resultados obtenidos en esta investigación, se puede evidenciar que este producto no cumple con las condiciones mínimas sanitarias en cuanto a la manipulación e higiene del mismo, debido a que supera los límites establecidos por la Normativa Nacional, lo cual no lo hace apto para el consumo humano. Por otro lado, la exposición al aire libre de la leche de cabra no es la más recomendada, ya que de esta forma permite la colonización de agentes miceliales y levaduras con mayor predisposición sobre el producto.

La candidiasis es una infección que puede ser aguda, sub-aguda o crónica pudiéndose localizar en las mucosas, uñas, pulmones y riñones; ocasionalmente puede provocar otras patologías tales como endocarditis, meningitis y septicemia. El agente etiológico es un hongo del género *Candida*, siendo la especie más frecuente *C. albicans*, junto con *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. Kéfir*, *C. parapsilosis*, *C. viswanathii*. Estas levaduras están ampliamente distribuidas en el medio ambiente, pudiendo *C. albicans* ser encontrada en el agua y objetos contaminados por material orgánico humano y de animales (Ramos *et al.* 2014).

Los agentes levaduras en los alimentos lácteos, contribuyen al daño de las condiciones organolépticas, acondicionando el medio para que otros microorganismos de índole patógeno puedan utilizar los elementos presentes en el producto. Además las levaduras, pueden utilizar determinados compuestos que ocasionan el daño del producto en cuanto al color, sabor entre otros, haciendo que el

mismo no sea de agrado para el consumidor, provocando incluso rechazo total del mismo (Medina *et al.* 2014).

Sacharomyces cerevisiae no se considera un patógeno común, no obstante actualmente cobra importancia su papel como oportunista, en pacientes con leucemia y sida. Se ha señalado recientemente como causante del Auto-brewery síndrome Síndrome de Fermentación Intestinal Walter *et al.* (2004).

La mayor abundancia promedio (%) de especies levaduras en las muestras de leche de cabra se registró para *C. tropicalis* (44%) y *C. lusitaniae* (40%), siendo el restante 16% representado por *C. albicans* (5%), *C. parapsilosis* (4%), *C. pseudotropicalis* (2%) y *Sacharomyces cerevisiae* (5%). Estos resultados difieren a los reportados por Echeverría (2017) en queso de cabra en la carretera Falcón-Zulia, quien señaló como especies presentes a *C. rugosa* (18,80%), *Sacharomyces cerevisiae* (12,90%), *C. stellatoidea* (11,70%), *C. parasilopsis* (9,40%) y otras de menor incidencia.

Los resultados obtenidos en esta investigación confirman que la calidad microbiológica de la leche de cabra distribuida en sitios ambulantes, es deficiente y en algunos casos pueden representar un riesgo a la salud en los consumidores, debido a que presenta fallas en la manipulación del alimento y se ubica por encima de los valores establecidos en la Normativa Nacional COVENIN (1989).

CONCLUSIONES

Las muestras analizadas presentaron valores que se encontraron por encima de lo establecido en la normativa venezolana COVENIN, los cuales representan un peligro para la salud del consumidor, debido a que algunas especies de estos géneros pueden causar infecciones en los sistema respiratorio, nervioso, digestivo y renal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barnett H., Hunter B. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. St. Paul, Minnesota, USA: The American Phytopathological Society. pp.20-25.
- Da Silva J., Cardoso E. (2002). Micorrizas arbusculares en cupuacu e purpunta cultivados em sistema agroforestal e em monocultivo na Amazonia Central. Pesquisa Agropecuaria Brasileira. pp.51-52.
- Echeverría J. (2017). Evaluación de la calidad microbiana del queso de cabra comercializado en sitios ambulantes de la Falcón-Zulia, Venezuela. Trabajo Especial de Grado. Universidad de Zulia. Facultad Experimental de Ciencias. Maracaibo. 2017.
- EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed, The EFSA Journal (2004) 39:1-2 (Request N° EFSA-Q-2003035). http://www.efsa.eu.int/science/contam/contam_opinions/294/opinio_contam_02_en_final1.pdf.
- Elika J. (2005). Aflatoxina M1 en leche. Fundación vasco para la seguridad agroalimentaria.
- Faría J., García A., Allara M., García A., Olivares Y., Ríos, G. (2000). Algunas características físico-químicas y microbiológicas de la leche de cabra producida en Quisiro. Revista Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia. 16: 99-106.
- Henry S., Whitaker T., Rabbani I., Bowers J., Park D., Price W., Bosch F., Pennington J., Verger P., Yoshizawa T., Van Egmond H., Jonker M., Coker R. (2001). Aflatoxin M1. Joint Expert Committee on food additives- JECFA 47. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je02.htm>.
- Linares M., Solís, F. (2007). Capítulo 11. Identificación de levaduras. Revista Iberoamericana de Micología - ISBN: 978-84-611-8776-8.
- Ramos M., Pizarro J., Mojica M., Pereira N., Solís M. Tópicos Selectos de Química - ©ECORFAN-Bolivia. Sucre, Bolivia (2014). Identificación de las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital Gineco-obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel Sucre-2011. Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence N° 51, Sucre. Bolivia.
- Medina Z., León Y., Delmonte M., Fernández P., Silva R., Salcedo A. (2014). Mohos y Levaduras en queso artesanal semiduro expandido en la ciudad de Maracaibo estado Zulia, Venezuela. Ciencia 22(4):197 – 204.
- Norma Oficial Mexicana NOM-185- SSA1-2002, Productos y servicios. Leche, Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias.
- Norma venezolana COVENIN 1126. (1989). Alimentos Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. Fondonorma. Caracas. Venezuela.
- Norma venezolana COVENIN 1337. (1990). Método para el recuento de colonias de hongos y levadura. Fondonorma. Caracas. Venezuela.
- Norma venezolana COVENIN 3821. (2003) Norma Revisada por Comité Técnico de Normalización CT 10. Productos Alimenticios. Queso blanco. Fondonorma. Caracas. Venezuela.
- Sánchez M., Jiménez M., Fuster C., Raya C., Díaz A., Carvajal J. (2011). Un estudio científico demuestra que la leche de cabra puede considerarse un alimento funcional. Universidad de Granada . AGR 20(6):1-2.
- Sugar A., Boston M. (2016). Introducción a las infecciones por hongos. University School of Medicine; Cape COD Healthcare. USA. Disponible en http://www.msmanuals.com/es/hogar/introduccion_a_las_infecciones_por_hongos.
- Walker, L. J.; Aldhous, M. C.; Drummond, H. E.; Smith, R. K.; Nimmo, E. R.; Arnott, ID. R.; Satsangi, J. 2004. «Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) in Crohn's disease are associated with disease severity but not NOD2/CARD15 mutations». Clinical and Experimental Immunology 135 (3): 490-6. PMC 1808965. PMID 15008984. doi:10.1111/j.1365-2249.2003.02392.x.