

ENUMERAÇÃO DE *Bacillus cereus* EM FUBÁ DE MILHO (*Zea mays*. L.)*

*Marcelita Portilho de Oliveira***
*Doracy Soares Moreira Sant'Ana***
*Albenones José de Mesquita****
*José Leonides Ribeiro*****

RESUMO

Foram examinadas 100 amostras de fubá de milho, em relação à incidência de *Bacillus cereus*, obtidas através de processamento tecnológico diferentes (fubá comum e fubá pré-cozido) e comercializadas no mercado varejista de Goiânia - GO.

Os resultados revelaram que 23% das amostras estavam contaminadas, deste percentual, 39,1% das contaminações ocorreram em amostras de fubá pré-cozido e 60,9%, em amostras de fubá comum. Esta considerável diferença, observada em termos percentuais em relação aos dois produtos evidenciou o processamento tecnológico mais rigoroso a que foi submetido o fubá pré-cozido.

Observou-se, também, que a totalidade das amostras analisadas apresentaram enumerações abaixo do limite estabelecido pelo padrão microbiológico brasileiro que determina um limite de 10^3 células de *B. cereus* por grama do alimento.

INTRODUÇÃO

Dentre os atributos que definem a qualidade de um alimento, vem crescendo em importância a preocupação com suas características microbiológicas.

* Aceito para publicação em novembro/87.

** Farmacêuticas-bioquímicas do Convênio FAE/FUNAPE/FF-UFG.

*** Prof. Adjunto da EV/UFG - Orientador deste trabalho.

**** Prof. Adjunto do IPT/UFG - Coordenador do Curso de Especialização em Microbiologia dos Alimentos.

Tratando-se de condições de efeito imediato sobre a população, não se pode correr o risco de lançar ao comércio um gênero alimentício sem que se tenha previamente a certeza, dentro de uma alta probabilidade, de que este não seria responsável por surtos de toxinfecções alimentares.

JAWETZ *et alii* (1968), citando as características do *B. cereus* descreveram-no como um bastonete Gram positivo, esporogênico aeróbio que se multiplica na faixa de temperatura compreendida entre 10 e 49°C, com temperatura ótima de crescimento de 30°C. Sobrevive em faixas de pH variando de 4,9 a 9,3. Está amplamente distribuído na natureza, tendo como habitat principal o solo e vegetais, daí alcançando os alimentos.

Embora o número de trabalhos publicados sobre essa bactéria seja um pouco menor, em relação às outras consideradas importantes em alimentos, sabe-se que desde o início do século presente, ela tem sido relacionada com casos ou surtos de toxinfecções alimentares.

O primeiro relato de casos confirmados de intoxicações por *B. cereus*, segundo KIM & GOEPFERT (1970), foi aproximadamente em 1950, nos anos seguintes, vários trabalhos vieram confirmar a ocorrência desse bacilo em alimentos.

Atualmente, sabe-se que o processo mórbido acarretado pelo *B. cereus* pode se manifestar sob duas formas clínicas distintas: a clássica, caracterizada por um período de incubação de aproximadamente 10 a 13 horas, evidenciando-se sintomas típicos de enterocolite (dores abdominais, diarreia intensa, náuseas moderadas) e raramente provocando vômito. Observa-se que essa sintomatologia se assemelha muito àquela provocada por *Clostridium perfringens*; a segunda forma, a emética, caracterizada por um período de incubação curto, comumente entre 1 a 5 horas, e quadro clínico de gastroenterite aguda, no qual, o vômito e a diarreia são intensos, evidenciando semelhanças com a intoxicação alimentar estafilocócica, ICMSF* (1983).

Ainda segundo a ICMSF (1983), a maioria dos surtos tipo clássico têm sido relatados na Europa (Noruega, Dinamarca, Suécia) e, mais recentemente na América do Norte (Estados Unidos e Canadá).

Por suas características, alguns produtos alimentícios estão associados com a presença de determinados microrganismos. Entre elas incluem-se a procedência, a acidez, a umidade e o potencial de oxi-redução, ou seja, condições que permitam ou favoreçam a contaminação e/ou multiplicação do agente. Assim, cereais e alimentos que contêm amido de milho estão associados à presença de *Bacillus cereus*, GELLI (1985).

* ICMSF: Comissão Internacional para Especificações Microbiológicas dos Alimentos.

HAUGE citado por NYGREN (1962), observando casos de envenenamento por *B. cereus* destacou como fonte de contaminação, a vinilina presente nos molhos, sobremesas, creme de ovos e molhos de carnes preparados antes do consumo.

MOSSEL *et alii* (1967), citam o purê de batatas, a carne moída, a linguiça de fígado, o arroz, os pudins e sopas, como alimentos comumente incriminados em casos de intoxicações por *B. cereus*.

KIM & GOEPFERT (1970), investigando os alimentos envolvidos em surtos, comprovaram que os produtos cárneos foram responsáveis por 53,8% dos casos, vegetais 10,6%, leite e cacau 9,6% e outros 17,6%.

BRYAN (1978), numa revisão dos principais fatores que contribuíram para os surtos de toxinfecções alimentares nos Estados Unidos da América no período de 1973 a 1976, em relação ao *B. cereus*, relacionou a cocção inadequada dos alimentos, o preparo um dia antes do consumo e o consumo de excedentes de alimentos em refeições posteriores.

GILBERT *et alii* (1974), estudando a sobrevivência do *B. cereus* em arroz cozido e frito observaram que os esporos continuam viáveis após esses processamentos culinários. Para prevenir ou impedir surtos, os autores sugerem que o arroz seja cozido em pequenas quantidades em diferentes ocasiões durante o dia, desse modo, reduz-se o tempo de armazenamento depois da cocção. Sugerem ainda, que cozido ou frito, o alimento não deve ser conservado em temperaturas compreendidas entre 15 e 50°C.

HOBBS citado por DELAZARI (1978), relata que o processo acarretado pelo *B. cereus* somente se evidencia quando essa bactéria tem a oportunidade de se multiplicar no alimento, atingindo números variáveis entre 10^6 e 10^7 UFC/g.

LEITÃO *et alii* citado por DELAZARI *et alii* (1978) examinando diferentes tipos de alimentos desidratados, verificaram a ocorrência do *B. cereus* em 26,9% das amostras e níveis de contaminação entre $1,0 \times 10^1$ e $3,0 \times 10^2$ UFC/g de produto.

EIROA *et alii* (1975), enumerando *B. cereus* em farinhas e amido obtiveram valores médios oscilando entre $7,0 \times 10^1$ UFC/g para a farinha de trigo e $6,0 \times 10^2$ UFC/g para a farinha de mandioca.

DELAZARI *et alii* (1978) estudando diferentes tipos de produtos alimentícios encontraram 20,4% das amostras contaminadas por *B. cereus*. A farinha de milho mostrou enumerações variando de 10^4 a 10^5 UFC/g e contaminações em 44% das amostras.

O presente trabalho objetivou a enumeração de *Bacillus cereus* em fubá de milho, obtido através de diferentes processamentos tecnológicos (fubá comum e fubá pré-cozido), comercializados no varejo em Goiânia - GO, visando a obtenção de dados adicionais sobre a incidência dessa bactéria no alimento

citado e em nosso meio, bem como verificar o estado de higiene e conservação do produto durante o seu processamento e vida comercial.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no período compreendido entre janeiro e outubro de 1987, no laboratório de microbiologia de alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás.

Foram examinadas 100 amostras de fubá de milho, obtidas através de processamento tecnológico diferentes, sendo 20 de fubá comum e 80 de fubá pré-cozido, colhidas a nível de mercado varejista na cidade de Goiânia - GO. De cada amostragem observou-se o número da partida para não haver repetições.

PREPARO DA AMOSTRA

De cada embalagem retirou-se assepticamente 25 g de fubá. A seguir, procedeu-se a homogeneização em agitador contendo 225 ml de solução salina peptonada estéril (0,1% de peptona e 0,85% de NaCl), durante um minuto, numa velocidade de 3000 r.p.m., obtendo, assim, uma diluição 10^{-1} .

PROCEDIMENTO BACTERIOLÓGICO

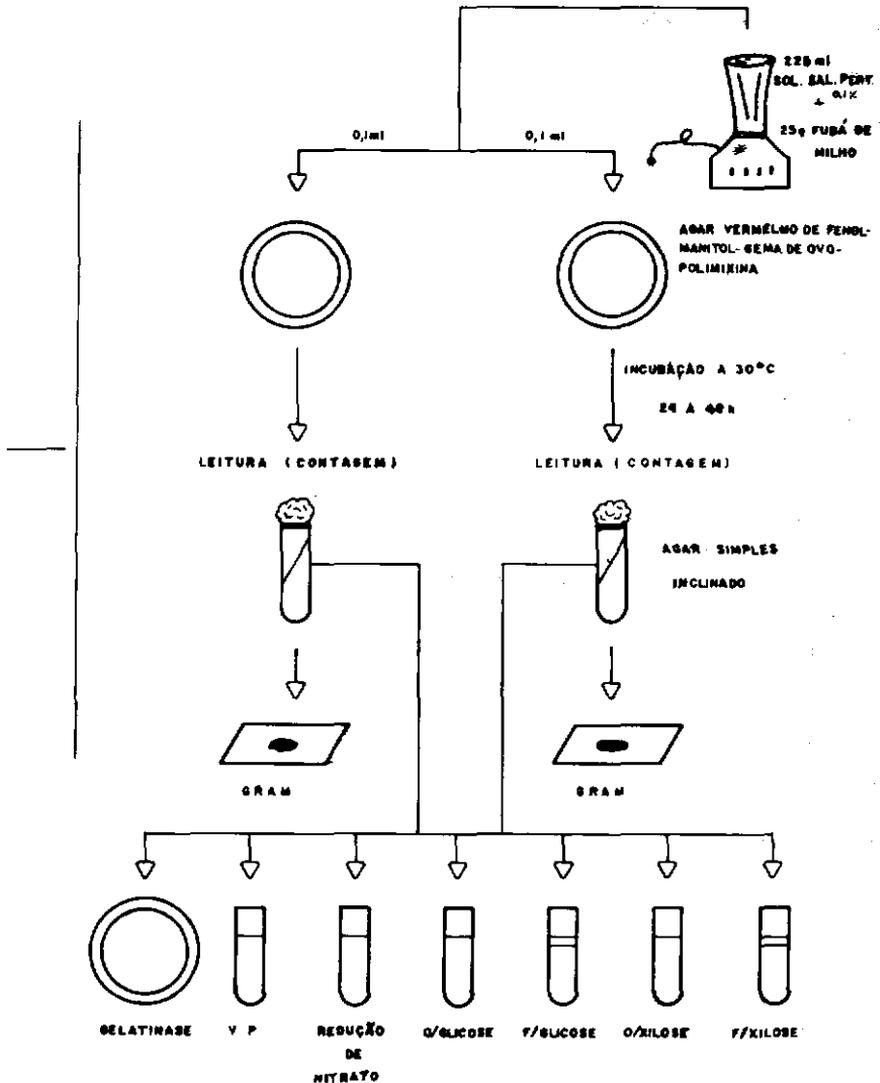
Posteriormente inoculou-se da diluição 10^{-1} , alíquotas distintas de 0,1 ml em duas placas contendo o meio agar vermelho de fenol-manitol-gema de ovo-polimixina**, espalhando-se o inóculo com auxílio de alça de Drigalski.

Após a absorção do inóculo pelo agar, incubou-se as placas a 30°C durante 24 a 48 horas. A seguir, realizou-se a leitura das mesmas contando as colônias com características morfológicas de *B. cereus*. Finalmente, efetuou-se a confirmação do bacilo através da coloração pelo método de Gram e dos seguintes caracteres fenotípicos: (Bioquímicos) redução do nitrato a nitrito, hidrólise da gelatina, produção de acetil-metil carbinol e oxidação e fermentação de açúcares (glicose e xilose). Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) de *Bacillus cereus* por grama de alimento, de acordo com as recomendações técnicas da FAE*** (1985).

** Merck Laboratório.

*** FAE: Fundação de Assistência ao Estudante.

ESQUEMA DA METODOLOGIA EMPREGADA PARA A ENUMERAÇÃO DO BACILLUS CEREUS



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observando a Tabela 1, nota-se que 23% das amostras examinadas apresentaram-se contaminadas por *Bacillus cereus*. Desse percentual, 39,1% das contaminações ocorreram em fubá pré-cozido e 60,9% em fubá comum. As amostras, a despeito dos diferentes processamentos tecnológicos a que foram submetidas, apresentaram resultados relativamente homogêneos, variando de $1,0 \times 10^2$ a $9,0 \times 10^2$ UFC/grama.

Tabela 1 - Incidência de *Bacillus cereus* em fubá de milho.

Tipo de Produto	Nº de Amostras	Nº	%	AMOSTRAS CONTAMINADAS			
				Intensidade de Contaminação (UFC/g)			
				$1,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$
		Nº	%	Nº	%		
Fubá pré-cozido	80	09	39,1	04	44,4	05	55,5
Fubá comum	20	14	60,9	12	85,7	02	14,2
TOTAL	100	23		16		07	

Esses resultados coincidem parcialmente com os obtidos por LEITÃO *et alii* citados por DELAZARI (1978), EIROA *et alii* (1978) embora eles tenham trabalhado com alimentos desidratados. Coincidem ainda, em parte, com os achados de DELAZARI *et alii* (1978). No entanto, diferem em relação à farinha de milho na qual esses autores detectaram índices de contaminações, bem como enumerações acima dos resultados obtidos para o fubá de milho.

As discrepâncias de resultados observadas em relação ao fubá comum e fubá pré-cozido, verificadas no presente trabalho, podem ser explicadas, em parte, pelo fato do fubá comum ser preparado a partir do grão de milho integral não sofrendo qualquer tipo de aquecimento, enquanto o fubá pré-cozido passa por um tratamento térmico durante o seu preparo, o que eventualmente reduz o teor de microrganismos na dependência do tempo e da temperatura.

CONCLUSÕES

Analisando os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- o fubá pré-cozido mostrou qualidade bacteriológica superior ao fubá comum, provavelmente, isto se deveu ao processamento tecnológico a que foi submetido;

- b) todas as amostras de fubá de milho examinadas, apresentaram níveis de contaminação abaixo de 10^3 UFC/g, estando portanto, dentro dos limites estabelecidos pela C.N.N.P.A.****, Resolução 13/78.

ABSTRACT

ENUMERATION OF *Bacillus cereus* IN "FUBÁ" OF CORN (*Zea mays*. L.)

A hundred (100) samples of "fubá" were examined, in relation to the incidence of *Bacillus cereus*, obtained by different technological processes (common "fubá" and previously cooked "fubá") and sold in the retail market in Goiânia - GO.

The results of the examination showed that 23% of the samples was contaminated, of this percentual, 39,1% of the contaminations occurred in samples of previously cooked "fubá" and 60,9% in samples of common "fubá". This in relation of the two products clearly showed the more accurate technological process that the previously cooked "fubá" was brought under.

It was also observed that the totality of the analyzed samples showed enumerations below the limit established by the Brazilian microbiologic standard that establishes a limit of 10^3 cells of *Bacillus cereus* for a gram of the food.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL, Ministério da Agricultura. Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos. **Resolução nº 13**. 1978.
- BRASIL, Ministério da Educação. Fundação de Assistência ao Estudante. **Manual Técnico Administrativo Operacional de Controle de Qualidade**. Venão II, Brasília - DF., Set./1985.
- BRYAN, F. L. Factors that contribute to out breaks of food borne disease. **Journal Food Protection**. 41:816-27. 1978.
- DELAZARI, I.; LEITÃO, M. F. F.; GERALDINI, A. M. & EIROA, M. N. U. *Bacillus cereus* em alimentos desidratados. **Bol. ITAL(GO)**: 31-9, 1978.
- EIROA, M. N. V.; LEITÃO, M. F. F.; LEITÃO, R. F. F. & VITTI, P. Caracterização microbiológica de farinhas e amidos. **Coletânea do ITAL**, Campinas - SP., 6:459-73, 1975.

**** C.N.N.P.A.: Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos.

- GELLI, D. S. Toxinfecções alimentares. In: **Curso de atualização em microbiologia dos alimentos**. Anais. . . Curitiba, 18/11 a 06/12, 1985.
- GILBERT, R. J.; STRINGER, M. F. & PEACE, T. C. The survival and out growth of *Bacillus cereus* in boiled and fried rice in relation to outbreakers of food poisoning. **Journal of Hygiene Cambridge**, 73:433-43, 1974.
- HAUGE, S. *Bacillus cereus* as a cause of food poisoning. **Nordisk Hygiene Tidskn.** 31:189-206. 1950. Apud. NYGREN, B. Phospholipase C - producing bacteria and food poisoning. **Acta patologica et microbiologica Scandinava** (suplementum) 160:13-16, 1962.
- HOOPS, B. C. *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus* infections. In: Food Borne Infections and Intoxications. REIMANN, H (ed.) Academic Press, New York, USA, 698 p., 1969. Apud. DELAZARI, I; LEITÃO, M. F. F.; GERALDINI, A. M. & EIROA, M. N. U. *Bacillus cereus* em alimentos desidratados. **Bol. ITAL**, 60:31-9, 1978.
- ICMSF. Comissão Internacional para Especificações Microbiológica dos Alimentos. **Técnicas de análises microbiológicas** 2ª ed. v. 1. 1983. 431 p.
- JAEWITZ, E.; MELNICK, L.; JOSÉPH, A. & EDWARD, A. **Microbiologia geral** 13ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 1968. 191 p.
- KIM, H. U. & GOEPFERT, J. M. Occurrence of *Bacillus cereus* in seleted dry food products. **Journal Milk Food Technology**. 34:12-15, 1970.
- LEITÃO, M. F. F. & DELAZARI, I. *Bacillus cereus* em alimentos desidratados. **Coletânea do ITAL**, Campinas, 60, 1973.
- MERCK, E. **Manual de medios de cultivos**. Preparados para microbiologia. Celsu's 1982.
- MOSSSEL, D. A. A.; KOOPMAN, M. J. & JONGERIUS, E. Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. **Applied Microbiology**, 15(3):650-53. 1967.