

INCIDÊNCIA DE *BACILLUS CEREUS* EM MARCAS COMERCIAIS DE ARROZ BRANCO POLIDO]

[Adriane Lettnin Roll Feijó¹; Tiago André Kaminski²; Taiane Medeiro Ciocheta³

Palavras-chave: [Oryza sativa, microrganismos, patógeno, intoxicação alimentar, cereais.]

INTRODUÇÃO

[O arroz (*Oryza sativa* L.) é considerado o principal alimento para grande parte da população mundial, constituindo-se em um dos cereais mais produzidos no mundo, juntamente com o trigo e o milho. No Brasil, a região sul é a principal região produtora, com destaque para o estado do Rio Grande do Sul, onde predomina o cultivo de arroz pelo sistema irrigado (FRITZ *et al.*, 2010). No entanto, esta forma de cultivo propicia umidade necessária para o desenvolvimento de diversos microrganismos ativos (SCAVINO *et al.*, 2010), que podem contaminar os grãos ainda no campo, permanecer e crescer quando estes não são adequadamente submetidos aos processos de secagem e armazenamento (ELIAS *et al.*, 2007).

Os microrganismos estão presentes no solo e na água durante o plantio, e a transferência destes para os grãos de cereais são comuns, devido às técnicas de manejo utilizadas (FRITZ *et al.*, 2010). Os *Bacillus* são um gênero de microrganismos encontrados em abundância no solo, sendo o *Bacillus cereus* o segundo em incidência (FRITZ *et al.*, 2010).

Bacillus cereus, ou *B. cereus*, é o patógeno mais comum nos grãos de arroz e a cocção do alimento não é garantia de sua inocuidade, pois este microrganismo pode formar esporos (COTO *et al.*, 2012). A contaminação do arroz por este microrganismo ocorre geralmente em baixas concentrações, em níveis considerados seguros para o consumo (SILVA *et al.*, 2010). Os sintomas apresentados durante uma intoxicação por *B. cereus*, geralmente vômitos e diarreias, assemelham-se aos desenvolvidos durante intoxicação por *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens* (MARTINO *et al.*, 2010).

Das doenças transmitidas por alimentos (DTA) no Rio Grande do Sul, estima-se que 14,4% são oriundas de contaminação por *B. cereus* (WELKER *et al.*, 2009). Considerando que as análises realizadas em alimentos suspeitos de DTA seguem os parâmetros microbiológicos de qualidade para alimentos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução-RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), e que a mesma não estabelece a obrigatoriedade da análise de *B. cereus* para o grupo em que o arroz é enquadrado (grupo 10 e subgrupo j), se faz necessário um monitoramento da incidência deste patógeno no arroz.

Neste contexto, o trabalho se propôs a avaliar bimestralmente a incidência de *B. cereus* em dez marcas de arroz branco polido comercializadas no estado do Rio Grande do Sul, durante o período de seis meses.]

MATERIAL E MÉTODOS

[Amostras: dez amostras de arroz do grupo beneficiado, subgrupo polido, classe longo fino e tipo 1, foram adquiridas em supermercados das cidades de Itaqui/RS e Santa Maria/RS, nos meses de janeiro, março e maio de 2014, conforme informações descritas na Tabela 1. Os meses de referência correspondem ao mês de coleta da amostra, sendo a

¹ Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa . campus Itaqui, Rua Luiz Joaquim de Sá Brito s/n, Bairro Promorar, Itaqui/RS, Brasil, 97650-000. E-mail: adrianeifeijo@unipampa.edu.br.

² Doutor, Universidade Federal do Pampa . campus Itaqui.

³ Graduanda do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa . campus Itaqui.

amostragem realizada com as embalagens disponíveis no mercado nos respectivos meses, independente de sua data de fabricação. As amostras foram mantidas em suas embalagens originais, acondicionadas em caixas plásticas e temperatura ambiente até o momento das análises microbiológicas.

Tabela 1. Informações das amostras de arroz avaliadas.

Amostra	Proveniência	Janeiro/2014	Março/2014	Maio/2014
		Lotes		
1	Pelotas/RS	06SET14 01A	28DEZ14 01A	14FEV15 03A
2	Itaqui/RS	091014	120115	080315
3	São Borja/RS	MT T1 18JBC	MT T1 00AFD	MT T1 11JFD
4	Capão do Leão/RS	CL 48201316	CL 09201414	CL 12201411
5	Santa Maria/RS	11 13	02 14	04 14
6	Camaquã/RS	024H3CAM4	021L3CAM4	024A4CAM4
7	Alegrete/RS	48 M08 M	09 M08 M	04 M09
8	Camaquã e Bagé/RS	5L4313 SLC	D1L/0814 CCB	N1L/1414 CCB
9	Nova Santa Rita/RS	51113	50214	30514
10	Itaqui/RS	36	36	36

Diluições seriadas: para a diluição 10^{-1} utilizou-se 25 g de amostra em 225 mL de água peptonada a 0,1%; após 25 minutos, realizaram-se diluições subsequentes até 10^{-3} (SILVA *et al.*, 2010).

Contagem de *B. cereus* em placas: foi realizado plaqueamento direto pelo método da American Public Health Association (APHA) descrito pela Instrução normativa nº62 (BRASIL, 2003) em placas vertidas com Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP), preparadas conforme instruções do fabricante. Das diluições seriadas, foram inoculados 0,1 mL de cada em superfície utilizando alça de Drigalski. As colônias típicas de *B. cereus* foram inoculadas em tubos com ágar nutriente inclinados, com posterior confirmação pelo teste de Holbrook e Anderson, conforme descrito por SILVA *et al.* (2010).

Análise estatística: as amostras foram analisadas em triplicata, os resultados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância no programa Statistica versão 8.0 (STATSOFT, 2007).]

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas informações descritas para as amostras na Tabela 1, pode-se observar que a amostra 10 apresenta o mesmo lote (36) nos três meses avaliados. Neste caso, embora as amostras apresentassem o mesmo lote, as embalagens descreviam datas de fabricação. Tais constatações, preliminares aos resultados, já demonstram diferenças de tratamento ao produto, pois enquanto algumas marcas de arroz permitiam identificar lotes diários (amostras 1 e 2), semanais (amostra 4) ou mensais (amostra 5), a empresa responsável pela amostra 10 embalou o mesmo lote durante, pelo menos, cinco meses. Outro detalhe importante é a proveniência da amostra 8, que informa diferentes cidades, no entanto as embalagens dos produtos descrevia que as três letras finais do lote indicam o local de produção em Bagé/RS (CCB) ou Camaquã/RS (SLC).

Na Tabela 2 estão demonstrados os resultados das contagens de *B. cereus* nas amostras. Enquanto que as contagens das amostras 1, 5 e 10 estiveram abaixo do limite de detecção do método (100 UFC.g^{-1}), as amostras 3, 4, 8 e 9 tiveram contagens nos três meses em que foram analisadas.

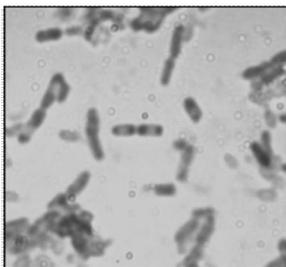
No mês de janeiro, sete amostras apresentaram contagens de *B. cereus*, sendo maior para a amostra 8, seguida da 9 e menor para as demais amostras (2, 3, 4, 6 e 7). Nos meses de março e maio, a incidência de *B. cereus* foi observada em apenas quatro amostras, com maiores contagens nas amostras 8 e 9, respectivamente, e sem diferença significativa ($P > 0,05$) entre as demais amostras nesses meses (Tabela 2).

Tabela 2. *Bacillus cereus* nas amostras de arroz.

Amostra	Janeiro/2014	Março/2014	Maio/2014
	UFC.g ⁻¹		
1	ND	ND	ND
2	6,7.10 ¹ ± 57,74 ^C	ND	ND
3	6,7.10 ¹ ± 57,74 ^{Ca}	6,7.10 ¹ ± 57,74 ^{Ba}	6,7.10 ¹ ± 57,74 ^{Ba}
4	6,7.10 ¹ ± 57,74 ^{Ca}	6,7.10 ¹ ± 57,74 ^{Ba}	1,0.10 ² ± 100,00 ^{Ba}
5	ND	ND	ND
6	3,3.10 ¹ ± 57,74 ^C	ND	ND
7	3,3.10 ¹ ± 57,74 ^C	ND	ND
8	5,2.10 ³ ± 420,36 ^{Aa}	5,6.10 ² ± 183,30 ^{Ab}	2,0.10 ² ± 100,00 ^{Bb}
9	8,6.10 ² ± 83,87 ^{Ba}	1,6.10 ² ± 115,47 ^{Bc}	4,3.10 ² ± 57,74 ^{Ab}
10	ND	ND	ND

Valores numéricos expressos como média ± desvio padrão seguidos por letras que indicam diferença estatística significativa em nível de 5% pelo teste de Tukey; letras maiúsculas correspondem às diferenças estatísticas entre as médias das colunas e minúsculas das linhas. ND: não detectado (limite de detecção = 100 UFC.g⁻¹).

Vale ressaltar que os resultados foram considerados positivos apenas após os esfregaços serem submetidos ao teste confirmatório de Holbrook e Anderson (Silva *et al.*, 2010), no qual os *B. cereus* apresentam glóbulos de lipídeos corados de azul escuro dentro do citoplasma das células, esporos centrais e subterminais corados de verde pálido e células vegetativas coradas de vermelho (Figura 1).

**Figura 1.** *B. cereus* na amostra 8 coletada no mês de janeiro de 2014.

A determinação de *B. cereus* no arroz é importante, pois esse cereal é um dos alimentos mais propícios ao seu desenvolvimento, devido ao elevado teor de amido em sua composição. Embora a cocção do alimento inviabilize o crescimento do microrganismo, não inativa os esporos que podem se desenvolver e produzir toxinas, acarretando em intoxicações alimentares. A contaminação por *B. cereus* é preocupante em valores acima de 10⁵ UFC.g⁻¹ no alimento (SILVA *et al.*, 2010). Sob esta perspectiva, todas as amostras analisadas apresentaram-se dentro dos limites aceitáveis de *B. cereus* para consumo humano (Tabela 2).

A Resolução da Diretoria Colegiada-RDC n°12 de 2001 (BRASIL, 2001) não prevê limites máximos para este microrganismo na classe 10 e subgrupo j; porém, outros produtos similares, como amidos e farinhas (classe 10 e subgrupo a) têm um limite máximo de 3.10³ UFC.g⁻¹, enquanto que farelos e fibras de cereais (classe 10 e subgrupo i) têm limite máximo de 5.10³ UFC.g⁻¹. Se considerados os valores estabelecidos para estes grupos, a média das contagens de *B. cereus* da amostra 8 no mês de janeiro (5,2.10³ UFC.g⁻¹) superaria os limites (Tabela 2).

Considerando que nem todas DTA ϕ são relatadas aos órgãos competentes (SCHLUNDT, 2002) e que o arroz não é analisado para este microrganismo em relatos de surtos alimentares, acredita-se que as incidências de DTA ϕ decorrentes da intoxicação por

B. cereus sejam superiores às estimadas.]

CONCLUSÃO

[Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que todas as amostras de arroz avaliadas são seguras ao consumo quanto à incidência por *B. cereus*. Porém, devido à relação deste microrganismo com diversos casos de intoxicação alimentar, é necessário um monitoramento mais amplo e contínuo, visando à manutenção da saúde pública.]

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001. Seção 1, p. 45-53.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003, Seção 1, p. 14-51.
- COTO, R. *et al.* Calidad bacteriológica y detección de *Bacillus cereus* toxigénicos en arroz blanco cocido expendido en el área metropolitana de la provincia de San José, Costa Rica. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 62, n. 3, p. 283-289, set. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222012000300011&lng=es&nrm=iso>. Acesso em junho de 2014.
- ELIAS, M. C. **Pós-colheita de arroz: secagem, armazenamento e qualidade**. Pelotas, RS: Editora e Gráfica Universitária, 2007.
- FRITZ, L. L. *et al.* Frequência de *Bacillus* spp. em solos de diferentes sistemas de cultivo de arroz irrigado em Cachoeirinha, RS. **Bragantia**, Campinas, SP, v. 69, n. 2, p. 405-412, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052010000200020&lng=en&nrm=iso>. Acesso em junho de 2014.
- MARTINO, T. K *et al.* *Bacillus cereus* y su implicación en la inocuidad de los alimentos. Parte II. **Revista Cubana de Salud Pública**, La Habana, v. 36, n. 1, p. 139-148, mar. 2010. Disponível em: <http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662010000100014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em maio de 2015.
- SCAVINO, A. F. *et al.* Bacterial community analysis of the water surface layer from a rice-planted and an unplanted flooded field. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, SP, v. 41, n. 2, p. 411-419, jun. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822010000200023&lng=en&nrm=iso>. Acesso em maio de 2014.
- SCHLUNDT, J. New directions in foodborne disease prevention. **International Journal of Food Microbiology**, v. 78, n. 1-2, p. 3-17, 2002. Disponível em: <http://www2.esb.ucp.pt/twt/seg_alim/artigosCientificos/LeonGorris/Schlundt_2002.pdf>. Acesso em maio de 2014.
- SILVA, N. *et al.* **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. São Paulo, SP: Editora Varela, 2010.
- STATSOFT. **Statistica**: data analysis software system. Versão 8.0. Tulsa: StatSoft Inc, 2007.
- WELKER, C. A. D. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, RS, v. 8, n. 1, p. 44-48, jan./mar. 2010. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1322/911>>. Acesso em maio de 2015.]

[