

Contaminação ambiental por *Bacillus cereus* em unidade de alimentação e nutrição

Food service environmental contamination by Bacillus cereus

Renata Aparecida MENDES¹

Raquel Monteiro Cordeiro de AZEREDO²

Ana Íris Mendes COELHO²

Selma Silva de OLIVEIRA³

Maria do Socorro Lira COELHO⁴

RESUMO

Este trabalho foi realizado em uma Unidade de Alimentação e Nutrição de uma universidade pública, em Viçosa, MG, tendo como objetivo contribuir para a avaliação de riscos a que se expõem os usuários de cozinhas institucionais semelhantes, por meio da avaliação do potencial que superfícies de bancadas de aço inox representam como fontes de contaminação dos alimentos por *Bacillus cereus*. A presença do microorganismo em superfícies de 24 bancadas que eventualmente entram em contato com alimentos crus e cozidos foi analisada em duas ocasiões distintas, por meio da técnica do *swab* e semeadura em placas contendo meio MYP. A presença do microorganismo não foi detectada em 73% das amostras. Entre aquelas a partir das quais o patógeno foi recuperado, foram observadas contagens de até 60 UFC/cm², valor registrado no setor de pré-preparo de vegetais. A simples presença do patógeno reforça a necessidade de higienização adequada, especialmente em locais onde a contaminação pode atingir alimentos prontos para consumo, de forma a prevenir a ocorrência de surtos de doenças de origem alimentar devidas a esse microorganismo.

Termos de indexação: *Bacillus cereus*, contaminação bacteriana, higiene, microbiologia de alimentos, alimentação institucional.

¹ Bolsista de Iniciação Científica, Curso de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa.

² Departamento de Nutrição e Saúde, Curso de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa. Av. PH. Rolfs, s/n, Campus Universitário, 36571-000, Viçosa, MG, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: R.M.C. AZEREDO. E-mail: razeredo@ufv.br

³ Estudante, Curso de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa.

⁴ Técnica de Nível Superior, Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa.

ABSTRACT

This study reports an evaluation performed at Food Service Federal University Viçosa in Southeast Brazil, as a contribution to estimate the risks that users of similar public food services are exposed to, by identifying environmental surface areas from which *Bacillus cereus* may be transferred to food. Samples have been collected in order to evaluate the environmental contamination, using the "swab" technique and surface plating in MYP agar, for expressing the number of CFU/cm² in 24 stainless steel tables that may have contact with raw or cooked foods. Each table was analyzed twice. Although some samples did not exhibit contamination (73%), counts up to 60 CFU/cm² were found, with the higher values being obtained from the vegetable pre-preparation section samples. The presence of this pathogen reinforces the need of using adequate sanitary procedures, especially in places where contamination may occur in ready to eat foods, in order to prevent food borne disease outbreaks due to the microorganism.

Index terms: *Bacillus cereus*, bacterial contamination, hygiene, food microbiology, institutional feeding.

INTRODUÇÃO

Alimentos preparados em Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) têm sido frequentemente envolvidos em surtos de intoxicação e infecção alimentar¹. Registros epidemiológicos revelam que a maioria dos surtos de doenças de origem alimentar diagnosticados é atribuída a patógenos veiculados por alimentos preparados nesses locais². Ainda que o número de surtos registrados seja subestimado, sua relevância é reconhecida. Tais surtos originam-se da contaminação de alimentos por uma vasta gama de microorganismos, dentre os quais *Bacillus cereus*, uma bactéria Gram-positiva, anaeróbia facultativa, em forma de bastonete, formadora de esporos, que apresenta motilidade^{3,4} que tem sido reconhecida como agente etiológico de doenças de origem alimentar há mais de 40 anos⁵. Em se tratando desse microorganismo em particular, os relatos de doenças de origem alimentar que lhe são atribuídos são escassos, com muitas ocorrências não suspeitas ou não confirmadas⁶.

Este microorganismo tem o solo como o seu reservatório natural. Entretanto, devido à resistência de seus esporos, a bactéria pode ser isolada de uma grande variedade de pontos, estando amplamente distribuída na natureza^{5,7}. Por esta razão, contamina facilmente alimentos

como vegetais, cereais, condimentos, carne bovina, suína e de frango, laticínios, sorvetes, pudins, carne cozida, sopas, pratos à base de vegetais e arroz cozido³. A contaminação de alimentos por *B. cereus* constitui não somente uma importante causa de deterioração, mas também está associada com a ocorrência de dois tipos de síndrome, devidos à ingestão de alimentos contaminados com cepas patogênicas produtoras de toxinas, uma emética, outra diarréica^{7,8,9,10}. A toxina do tipo emético é pré-formada no alimento, enquanto a do tipo diarréico é, muito possivelmente, produzida no trato intestinal, sendo os fatores de virulência ainda não completamente caracterizados^{5,7,11}.

A síndrome diarréica é caracterizada basicamente por dor abdominal, diarréia aquosa e tenesmos retais que ocorrem entre 8 e 16 horas após a ingestão do alimento contaminado (normalmente >10⁵ microorganismos/g). Náuseas e vômitos, iniciando de 1 a 5 horas após a ingestão de alimento que contenha via de regra, >10⁷ microorganismos/g, caracterizam a síndrome emética^{3,7}.

A grande capacidade de multiplicação de *B. cereus* em diferentes substratos tem sido amplamente constatada e registrada na literatura. A simples presença do patógeno em locais e condições que possibilitem sua eventual transferência para alimentos prontos é, reconhe-

cidamente, um fator importante para desencadear episódios de intoxicações – muitos dos quais sequer vêm a ser diagnosticados¹².

Considerando suas características de disseminação, resistência de esporos e patogenicidade, o problema assume uma importância expressiva quando os produtos contaminados são destinados a milhares de pessoas, diariamente, como é o caso de restaurantes de instituições ou indústrias. Assim, o trabalho descrito foi desenvolvido com o propósito de contribuir para a prevenção de surtos de doenças de origem alimentar atribuídos a *B. cereus*, avaliando uma típica unidade institucional de alimentação, com relação a pontos ambientais onde se realizam operações de pré-preparo e preparo de alimentos. Nesses locais, as grandes quantidades de alimentos produzidas passam, freqüentemente, por lentas operações de resfriamento ou por períodos de espera, pós-cozimento, suficientemente longos para permitir que as populações microbianas alcancem níveis perigosos. Tal consideração ressalta a importância de se identificar os pontos do ambiente que possam representar fontes de contaminação, de forma a orientar medidas efetivas de controle do patógeno, em particular possíveis ações corretivas em processos de higienização.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma universidade pública, em Viçosa, MG. Avaliou-se a contaminação das superfícies de 24 bancadas de aço inoxidável, localizadas em diversos setores da UAN: bancadas dos setores de estocagem, seleção de grãos, pré-preparo (carnes, vegetais e massas), cocção, montagem e distribuição dos alimentos. Utilizou-se a técnica de coleta por *swabs* e foram adotados procedimentos oficiais da *Association of Official Analytical Chemists* de 1992 (AOAC)¹³ para a remoção dos microorganismos.

Os *swabs* foram esterilizados a 121°C por 15 minutos, mergulhados em tubos contendo 10mL de água peptonada a 0,1% (p/v), também esterilizada, e friccionados na superfície das bancadas a um ângulo de 30°, percorrendo cinco áreas de 50cm² em cada bancada, por três vezes consecutivas, mudando a direção ao final de cada passagem. A seguir, cada *swab* foi devolvido ao tubo com água peptonada, sendo a parte manuseada quebrada e descartada. As coletas foram desenvolvidas sempre posteriormente à higienização das bancadas, após o almoço, e antes de se iniciarem as atividades de preparo do jantar. Tomou-se a precaução de não interferir nos procedimentos habituais dos funcionários. Tais coletas foram feitas em duas ocasiões distintas, nos meses de outubro-novembro de 1999 (primeira coleta) e julho-agosto de 2000 (segunda coleta) totalizando, assim, 48 amostras.

As amostras foram imediatamente levadas ao laboratório onde foram preparadas diluições decimais seriadas com semeadura em placas de Petri contendo ágar vermelho de fenol-gema de ovo-manitol-polimixina B (Ágar MYP ou meio de Mossel). Após a incubação a 30°C por 18 a 24 horas, foram feitos a contagem e isolamento de exemplares típicos de *B. cereus*. O isolamento e a confirmação dos isolados foram feitos de acordo com a metodologia proposta pela FDA, descrita por Azeredo¹². Os resultados das contagens foram expressos em Unidades Formadoras de Colônia por cm²(UFC/cm²).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados evidenciou a presença de *B. cereus* em 27% do total de amostras de bancadas analisadas (Tabela 1), sendo o setor de preparo de massas o único ponto onde não houve o isolamento do microorganismo (Figura 1). Os valores encontrados expressaram desde a não detecção do microorganismo até uma contagem de 60 UFC/cm² (Tabela 1). Tal contagem foi observada exatamente em uma bancada localizada no setor de pré-preparo de vegetais, local

onde se manipulam alimentos que, na maioria das vezes, não recebem tratamento térmico de acabamento. Na maioria dos casos, os números encontrados ficaram abaixo de 2 UFC/cm², limite máximo recomendado por Sveum *et al.*¹⁴ para a contagem de microorganismos mesófilos aeróbios em superfícies de processamento de alimentos. Em quatro amostras (8,3%), os resultados encontrados foram superiores a esse valor. Considerando a patogenicidade desse microorganismo, sua capacidade de multiplicação em ampla faixa de temperatura, possivelmente esse limite – em se tratando de *B. cereus* - revele uma tolerância que merece ser revista.

Os resultados observados quanto à presença de *B. cereus* nos setores estudados

assemelham-se aos registrados por Azeredo *et al.*¹⁵ que, em estudo para a detecção e avaliação da incidência de *B. cereus* em amostras de ar coletadas em Unidades de Alimentação e Nutrição, verificaram que em todos os setores analisados de um Restaurante Universitário as amostras coletadas exibiam contaminação pelo microorganismo.

Um estudo de análise de risco, desenvolvido em um restaurante universitário por Nascimento¹⁶, levou a concluir serem as bancadas do setor de pré-preparo de frutas e hortaliças um ponto crítico expressivo. Esses resultados também são semelhantes àqueles relatados por Rêgo *et al.*¹⁷, nos quais se evidenciou que, dentre as áreas que

Tabela 1. Contagens de *Bacillus cereus* em superfícies de bancadas. Restaurante Universitário, Viçosa, MG, 2000.

Setores	Bancadas	Coleta 1		Coleta 2	
		UFC/50cm ²	UFC/cm ²	UFC/50cm ²	UFC/cm ²
Estocagem	1	—	—	20	0,40
Seleção de grãos	1	—	—	2,67 x 10 ²	5,33
Pré-preparo de carnes	1	—	—	20	0,40
	2	—	—	—	—
	3	—	—	—	—
	4	—	—	—	—
Pré-preparo de vegetais	1	10	0,2	—	—
	2	20	0,4	—	—
	3	—	—	—	—
	4	10	0,2	—	—
	5	—	—	—	—
	6	—	—	3 x 10 ³	60,00
	7	—	—	—	—
Pré-preparo de massas	1	—	—	20	0,40
	2	—	—	—	—
	3	60	1,2	20	0,40
Cocção	1	—	—	—	—
	2	—	—	1,05 x 10 ²	2,10
	3	5	0,1	—	—
Preparo de massas	1	—	—	—	—
	2	—	—	—	—
Distribuição	1	1,2 x 10 ²	2,4	—	—
	2	—	—	—	—
	3	—	—	—	—

— a presença da bactéria não foi detectada.

apresentaram elevados níveis de contaminação, destacaram-se as áreas de preparação de frutas e hortaliças. Entretanto, Azeredo *et al.*¹⁵ encontraram níveis mais altos de contaminação pelo microorganismo nos setores de cocção e distribuição.

O isolamento do microorganismo em bancadas dos setores de pré-preparo demonstra a importância desses locais como fontes potenciais de *B. cereus* para o ambiente da Unidade de Alimentação e Nutrição onde o estudo foi realizado, bem como a possibilidade de ocorrer contaminação cruzada para os alimentos. Vale ressaltar que a contaminação cruzada é frequentemente relatada como fator responsável pela ocorrência de enfermidade de origem alimentar^{18,19}. A bactéria pode ser transferida para os alimentos, a partir destas fontes, e aí sobreviver, em forma de esporos, a tratamentos térmicos que reduzem a população competitiva, o que lhe proporciona condições ideais de multiplicação, podendo resultar em surto de doença de origem alimentar¹¹. A característica de formar esporos torna o microorganismo resistente à inativação por métodos químicos, irradiação ou tratamentos térmicos, sendo que esta capacidade de sobrevivência torna a bactéria um problema em todos os setores de processamento de alimentos⁹.

A legislação brasileira não estabelece limites para a contagem de microorganismos em superfícies de processamento de alimentos¹. Enquanto Sveum *et al.*¹⁴ propõem 2 UFC/cm², para aeróbios mesófilos, Silva Jr.¹⁸ recomenda, para equipamentos e utensílios de preparação - dentre os quais podem ser incluídas as bancadas de manipulação de alimentos - a ausência de *B. cereus* em 50cm² da amostra. Considerando este autor, 27% das amostras analisadas encontravam-se fora da recomendação.

Embora muitos considerem baixos os riscos de intoxicações por esse patógeno, Doyle²⁰ alerta para o fato de que o problema pode ser agravado quando os alimentos, especialmente aqueles previamente cozidos - desprovidos da maioria dos competidores - são mantidos a temperaturas entre 10°C e 55°C por períodos maiores do que duas horas. Num estudo realizado para investigar as causas de um surto ocorrido na Itália, que envolvia 173 pessoas com sintomas de intoxicação (náusea e diarreia aquosa), os autores identificaram *B. cereus* como o agente etiológico e as bancadas de trabalho como fonte de contaminação dos alimentos envolvidos⁵.

Considerando o tempo de geração de aproximadamente 30 minutos, frequentemente encontrado em exemplares de *B. cereus*, e a

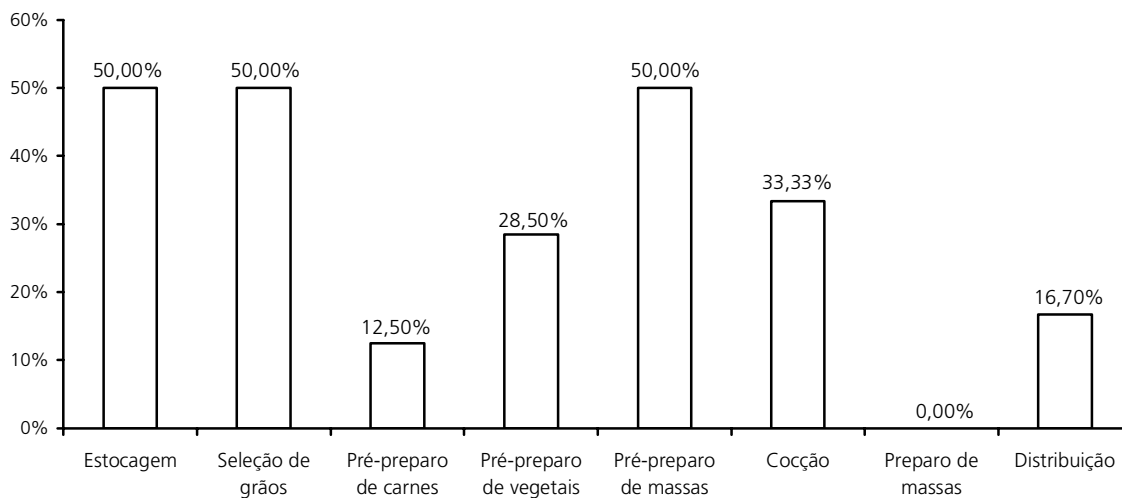


Figura 1. Porcentagens de amostras de bancadas contaminadas com *Bacillus cereus*. Restaurante Universitário, Viçosa, MG, 2000.

amplitude da faixa de temperatura que permite seu crescimento, estendendo-se facilmente entre 15°C e 45°C, uma contaminação inicial de 1 UFC/g, após um período de 8 horas, pode transformar-se em população de 10⁵ UFC/g, suficiente para causar toxinfecção alimentar¹². Daí se conclui que a simples detecção do microorganismo no ambiente de uma unidade de alimentação é suficiente para sugerir a adoção de medidas para o seu controle.

CONCLUSÃO

No estudo realizado, a detecção de *B. cereus* em superfícies que entram em contato com os alimentos demonstrou a importância desses locais como fontes potenciais de transmissão do microorganismo para o alimento, o que sugere a necessidade de medidas efetivas para o seu controle, principalmente nos locais onde a contaminação pode atingir alimentos prontos para o consumo, nas bancadas dos setores de pré-preparo de vegetais, onde, freqüentemente, são preparados alimentos que não sofrem tratamento térmico.

A simples detecção do microorganismo, em etapas posteriores à higienização e anteriores às operações de manipulação dos alimentos, reforça a importância de procedimentos adequados de sanitização durante todas as etapas do processamento, para prevenir a ocorrência de surtos de doenças de origem alimentar causadas pelo patógeno.

Verifica-se, ainda, a necessidade de uma legislação no Brasil que regulamente padrões aceitáveis de contaminação por *B. cereus* em superfícies de processamento de alimentos.

REFERÊNCIAS

1. Lisboa SC. Bactérias Gram-negativas e *S. aureus* em Serviço de Alimentação Hospitalar [dissertação]. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa; 1997.
2. Bryan FL. Hazard Analysis Critical Control Point – HACCP. Systems for retail food and restaurant operations. *J Food Protec* 1990; 53(11):978-83.
3. Harmon SM, Goepfert JM, Bennett RW. *Bacillus cereus*. In: Vanderzant C, Splittstoesser F. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd ed. Washington DC: American Public Health Association; 1992. p.593-604.
4. Chen CH, Ding HC, Chang TC. Rapid Identification of *Bacillus cereus* Based on the Detection of a 28,5 Kilodalton Cell Surface Antigen. *J Food Protec* 2001; 64(3):348-54.
5. Ghelardi E, Celandroni F, Salvetti S, Barsotti C, Baggiani A, Senesi S. Identification and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* isolates responsible for two food-poisoning outbreaks. *FEMS Microbiology Letters* 2002; 208(1):129-34.
6. Radhika B, Padmapriya BP, Chandrashekar A, Keshava N, Varadaraj MC. Detection of *Bacillus cereus* in foods by colony hybridization using PCR-generated probe and characterization of isolates for toxins by PCR. *Int J Food Microbiol* 2002; 74:131-8.
7. Minnaard J, Humen M, Pérez PF. Effect of *Bacillus cereus* Exocellular Factors on Human Intestinal Epithelial Cells. *J Food Protec* 2001; 64(10): 1535-41.
8. Agata N, Ohta M, Yokoyama K. Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereulide) in various foods. *Int J Food Microbiol* 2002; 73:23-7.
9. McElroy DM, Jaykus LA, Foegeding PM. Validation and Analysis of Modeled Predictions of Growth of *Bacillus cereus* Spores in Boiled Rice. *J Food Protec* 2000; 63(2):268-72.
10. Tsen HY, Chen ML, Hsieh YM, Sheu SJ, Chen YL. *Bacillus cereus* Group Strains, their Hemolysin BL Activity, and their Detection in Foods Using a 16s RNA and Hemolysin BL Gene-Targeted Multiplex Polymerase Chain Reaction System. *J Food Protec* 2000; 63(11):1496-502.
11. Granum PE. *Bacillus cereus* and its toxins. *J Appl Bacteriol* 1994; 76 Suppl:61s-6s.

12. Azeredo RMC. Estimativa de riscos relacionados à contaminação de preparações de arroz por *Bacillus cereus* [dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 1998.
 13. Association of Official Analytical Chemists International. Bacteriological Analytical Manual. 7th ed. Arlington; 1992.
 14. Sveum WH, Moberg LJ, Rude RA, Frank JF. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: Vanderzant C, Splittstoesser F. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd ed. Washington, DC: American Public Health Association; 1992. p.51-74.
 15. Azeredo RMC, Soares CM, Kuaye AY, Leitão MFF. Detecção e avaliação da incidência de *Bacillus cereus* em amostras de ar, coletadas em Unidades de Alimentação e Nutrição. Rev Hig Alim 2001; 15(80/81):135.
 16. Nascimento D. Análise de Risco e Pontos Críticos de Controle (ARPC) de uma Planta de Processamento de Alimentos (Restaurante Universitário) em Ouro Preto-MG. Bol CEPPA 1992; 10(2):170-85.
 17. Rêgo JC, Guerra NB, Pires EF. Influência do treinamento no Controle Higiênico-sanitário de Unidades de Alimentação e Nutrição. Rev Nutr PUCCAMP 1997; 10(1):50-62.
 18. Silva Jr EA. Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos. 4.ed. São Paulo: Varela; 2001.
 19. Bryan FL. Risks of practices, procedures and processes that lead to outbreaks of foodborne diseases. J Food Protec 1988; 51(8):663-73.
 20. Doyle MP. *Bacillus cereus*. Food Technol 1988; 42(4):199-200.
- Recebido para publicação em 2 de outubro de 2002 e aceito em 25 de junho de 2003.