

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
FACULDADE DE NUTRIÇÃO  
MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE *SUSHIS* E *SASHIMIS*  
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE MACEIÓ-AL**

**WALÉRIA DANTAS PEREIRA**

MACEIÓ

2008

**WALÉRIA DANTAS PEREIRA**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE *SUSHIS* E *SASHIMIS*  
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE MACEIÓ-AL**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Nutrição da Universidade Federal de Alagoas  
como requisito à obtenção do título de Mestre  
em Nutrição.

Orientadora:

Profa. Dra. Ângela Froehlich

MACEIÓ

2008

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de Waléria Dantas Pereira, apresentada à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas, em 24 de outubro de 2008.

Comissão:

---

**Dra. Ângela Froehlich (Orientadora)**

---

Titular

---

Titular

---

Suplente

**MACEIÓ**  
**2008**

# DEDICO

*A meu filho **Victor**, razão da minha vida, minha maior alegria e grande motivo para conseguir superar as dificuldades, fazendo todo sacrifício valer a pena.*

*A **Ademir e Maria**, meus pais, que me amaram incondicionalmente, ensinaram-me o valor das coisas importantes: família, respeito e harmonia, sendo capazes de proporcionar a mim a maior herança: a educação.*

*A meu cúmplice **Niceas**, pelo amor, incentivo e apoio irrestrito em todos os momentos difíceis pelo os quais passei e por entender minha presença ausente durante a efetivação deste trabalho.*

***“Nada é impossível, o impossível só demora a acontecer”.***

**Leonardo da Vinci**

## AGRADECIMENTOS

A Deus por guiar meus caminhos, dando-me coragem para superar os obstáculos e força para conseguir realizar este sonho.

A Profa. Dra. Ângela Froehlich, pela sua orientação possibilitando-me a oportunidade de crescer cientificamente, e especialmente pela sua amizade, paciência e exemplo de mãe, pessoa humana e profissional.

A Profa. Msc. Ana Cristina Normande por promover o gosto pela ciência da microbiologia, que se tornou a minha área de atuação profissional.

A Mauro Guilherme de Barros Quirino Martins pelo apoio, compreensão, amizade e torcida, que me estimulou e não me deixou desistir.

A Marilene Gomes da Silva, por sua preciosa contribuição na fase de análises deste trabalho, bem como pela disposição em ajudar sempre que solicitada.

A Andréa Aragão Francelino, Annelise Costa Machado Gomes e Fabiana Palmeira Melo pela amizade e incentivo para a conquista de mais esta etapa de vida.

A Ana Lydia Vasco de Albuquerque Peixoto pelo incentivo, ajuda na resolução de problemas e suporte profissional marcante quando me ausentei para a elaboração deste trabalho.

A todos os funcionários dos laboratórios da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde do Centro de Estudos Superiores de Maceió (CESMAC) pelo auxílio contínuo, apoio e carinho.

À Universidade Federal de Alagoas por possibilitar a realização do Curso de Mestrado em Nutrição.

Ao CESMAC, por financiar a pesquisa, disponibilizar sua infra-estrutura e dispensar-me do trabalho todas às vezes que se fizeram necessárias.

A todas as pessoas que contribuíram para a realização desse sonho... MUITO OBRIGADA.

*Waléria Dantas Pereira*

## RESUMO

---

Os pescados são os alimentos muito propícios à deterioração, devido ao pH próximo à neutralidade, à alta atividade de água e ao elevado teor de nutrientes. Por refletirem a microbiota dos mananciais e serem excessivamente manipulados, sem sofrerem nenhum tratamento térmico quando usados para preparar *sushis* e *sashimis*, representam risco potencial de transmitir doenças de origem alimentar. Desta forma objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica de *sushis* e *sashimis* comercializados na cidade de Maceió-AL, para alertar as autoridades sanitárias e os consumidores sobre as condições de sanidade destes alimentos. Foram coletadas 60 amostras, sendo 30 (trinta) de *sushis* e 30 (trinta) de *sashimis*, comercializadas em 05 (cinco) restaurantes especializados e 05 (cinco) não-especializados em comida japonesa, nas quais se pesquisou coliformes a 35°C, coliformes a 45°C, *E. coli*, *Salmonella* spp, *S. aureus* e *B. cereus*, de acordo com métodos de análise determinados pela APHA (2001) e FDA (2005). Os resultados demonstraram isolamento de todos os microrganismos analisados, indicando má qualidade da matéria-prima, falhas durante manipulação ou preparo dos pratos e distribuição inadequada em tempo ou temperatura das refeições. Um total de 90% dos *sushis* e 93,33% dos *sashimis* continham altas enumerações de coliformes a 45°C, presença de *Salmonella* spp ou contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva acima dos padrões determinados pela RDC n.º 12 da ANVISA (2001). Sendo assim, considerando o potencial patogênico dos microrganismos identificados nas amostras, sugere-se que medidas urgentes, como a implantação de Boas Práticas de Fabricação, sejam implementadas no processo produtivo de *sushis* e *sashimis* na cidade de Maceió, para que a segurança alimentar seja garantida.

**Palavras-chave:** contaminação, microbiológica, pescados, *sushis*, *sashimis*.

## ABSTRACT

---

The fishes are foods very propitious to deterioration, for have the pH next to the neutrality, the water high activity and the elevated content of nutritious. For they reflect the contamination of the springs and to are excessively manipulated, without suffering no thermal treatment when used to prepare *sushis* and *sashimis*, represent potential risk of transmit alimentary origin diseases. Thus this search objective to evaluate the microbiological quality of *sushis* and *sashimis* commercialized in Maceió-Al, to alert the sanitary authorities and the consumers on the sanity conditions of these victuals. They were going collected 60 samples, being 30 (thirty) of *sushis* and 30 (thirty) of *sashimis*, commercialized in 05 (five) specialized restaurants and 05 (five) not specialized restaurants in japanese food, in which searched coliforms to 35°C, coliforms to 45°C, *E. coli*, *Salmonella* spp, *S. aureus* and *B. cereus*, according with analysis methods by APHA (2001) and FDA (2005). The results demonstrated isolation of all of microrganisms analyzed, indicating that the raw material is bad quality, it suffer imperfect manipulation or prepare and it is inadequate distribution in time or meals temperature. A total of 90% of the *sushis* and 93,33% of *sashimis* contained enumerations of coliformes to 45°C, presence of *Salmonella* spp or countings of *Staphylococcus* coagulase positive above of the certain standards by RDC n.º 12 of ANVISA (2001). Being thus, considering microrganisms pathogenic potential identified in the samples, it suggests that urgent measures, as the Production Good Practices implantation, be implemented in the *sushis* and *sashimis* productive process in the city of Maceio, so that the alimentary safety be guaranteed.

**Keywords:** contamination, microbiological, fishes, *sushis*, *sashimis*.



## LISTA DE GRÁFICOS – ARTIGO 2

	<b>TÍTULO</b>	<b>Página</b>
Gráfico 1.	<b>Variação do Número Mais Provável por grama de Coliformes a 35°C em <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> comercializados em restaurantes não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.</b>	55
Gráfico 2.	<b>Variação do Número Mais Provável por grama de Coliformes a 35°C em <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> comercializados em restaurantes especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.</b>	56
Gráfico 3.	<b>Médias percentuais e número absoluto de amostras com Coliformes a 45°C acima de 10<sup>2</sup>NMP/g e presença de <i>E. coli</i> em <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> comercializados em restaurantes especializados e não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008</b>	57
Gráfico 4.	<b>Médias percentuais e número absoluto de <i>sushis</i> e <i>sashimis</i>, contendo <i>Salmonella</i> spp, comercializados em restaurantes especializados e não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.</b>	60
Gráfico 5.	<b>Médias percentuais e número absoluto de amostras com <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva acima de 5x10<sup>3</sup> UFC/g em <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> comercializados em restaurantes especializados e não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.</b>	63
Gráfico 6.	<b>Médias percentuais e número absoluto de amostras contendo <i>Bacillus cereus</i> em <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> comercializados em restaurantes especializados e não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.</b>	66

## LISTA DE FIGURAS – ARTIGO 2

	<b>TÍTULO</b>	<b>Página</b>
Figura 1.	Fluxograma de preparo de <i>sushis</i> .	44
Figura 2.	Fluxograma de preparo de <i>sashmis</i> .	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

AL	Alagoas
ABP	Ágar <i>Baird Parker</i>
AMYP	Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos
BHI	Caldo de Enriquecimento de Infusão de Cérebro e Coração
BS	Ágar Bismuto Sulfito
CE	Ceará
CESMAC	Centro Universitário de Ensino Superior de Maceió
cm	Centímetros
DINAL	Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos
DNase	Ácido desoxiribonuclease
DTA	Doença Transmitida por Alimento
EC	Caldo <i>Escherichia coli</i>
EMB	Ágar Eosina Azul de Metileno seg. <i>Levine</i>
FCBS	Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde
g	Gramma
h	Hora
H <sub>2</sub> S	Sulfeto de hidrogênio
HE	Ágar <i>Hektoen Enteric</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMVIC	Indol, Vermelho de Metila, <i>Voges-Proskauer</i> e Citrato
KS	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>
LIA	Ágar Lisina Ferro
LILACS	Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
LST	Caldo Lauril Sulfato Triptose
MEDLINE	Literatura Internacional em Ciências da Saúde
min	Minutos
mL	Mililitro
mm	Milímetros
MT	Mato Grosso
NMP	Número Mais Provável
°C	Graus Celsius
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
PI	Piauí
PRISMA	<i>Software</i> Estatístico
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RE	Restaurantes Especializados
RNE	Restaurantes Não Especializados

RV	Caldo de Enriquecimento <i>Rappaport-Vassiliadis</i>
SP	São Paulo
SPSS	<i>Software</i> Estatístico
SS	Ágar <i>Salmonella-Shigella</i>
TSI	Ágar Três Açúcares e Ferro
TT	Caldo de Enriquecimento Tetracionato
UFC	Unidade Formadora de Colônia
VM	Vermelho de Metila
VP	<i>Voges-Proskauer</i>

# SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	vii
<b>ABSTRACT</b>	viii
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	15
<b>OS ARTIGOS DA COLETÂNEA.....</b>	19
1º Artigo - <b>Riscos biológicos do consumo de pescados: uma revisão.</b>	21
2º Artigo - <b>Avaliação microbiológica de <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> comercializados na cidade de Maceió-AL.</b>	41
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	70
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	72
<b>APÊNDICES.....</b>	83
<b>APÊNDICE 1- Metodologia Ilustrada</b>	84
<b>APÊNDICE 2- Ilustrações</b>	94

***INTRODUÇÃO***

## 1 INTRODUÇÃO

Como a alimentação é uma das necessidades básicas de todo ser humano, a produção de alimentos quantitativa, qualitativa e nutricionalmente segura é um constante desafio. A cadeia produtiva, nos dias de hoje, está voltada ao alcance da excelência organoléptica, bromato e microbiológica dos alimentos, dando maiores garantias de segurança aos consumidores finais.

A qualidade higiênico-sanitária é fundamental para a prevenção de doenças transmitidas por alimentos, devendo ser observada desde a aquisição da matéria-prima, durante a produção e na comercialização das refeições. Devido à necessidade atual de se alimentar em curto período de tempo e o mais próximo possível do local de trabalho, o hábito alimentar de consumir preparações rápidas ou previamente prontas, tem aumentado substancialmente em *fast foods* ou *self-services*; o que determina o papel importante que os estabelecimentos comerciais assumem na sanidade dos alimentos consumidos pela população<sup>1,2</sup>.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) já alerta para a necessidade de restringir a contaminação de alimentos por microrganismos com potencial de causar danos à saúde dos consumidores há algum tempo.

No ano de 1992, em Roma, ficou assegurado na Conferência Internacional de Nutrição que “o acesso ao alimento nutricionalmente adequado e seguro é um direito de todo indivíduo”<sup>3</sup>. Tal posicionamento mundial teve como precursora a certeza de que um grande número de agentes biológicos veiculados por consumo de água ou alimentos são capazes de causar doenças aos homens, a depender das condições de higiene do meio e da susceptibilidade dos comensais<sup>4</sup>.

No Brasil, a inocuidade de alimentos teve um grande avanço a partir da criação, em 1999, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) pelo Ministério da Saúde; mas práticas inadequadas de higiene no local de produção e manipuladores com baixo nível de educação e treinamento, ainda podem provocar a contaminação dos alimentos<sup>5</sup>.

O termo seguridade quando empregado a um alimento remete as seguintes características: 1) legalidade, ou seja, ausência de adulterações ou defeitos; 2) integridade, inexistência de falsificações ou fraudes; e 3) idoneidade, entendida como ausência de perigos para a saúde. Sendo assim, alimento seguro é aquele que não contém perigos físicos, químicos ou biológicos capazes de causar dano ao consumidor ou os contém em limites abaixo do permitido pela legislação do país de origem.

Quando um alimento está alterado organolepticamente, diminui o seu valor comercial. Do ponto de vista de saúde pública, entretanto, o risco real se dá quando o alimento está contaminado com microrganismos capazes de provocar toxinfecções alimentares, oferecendo risco aos consumidores quando há: poluição ambiental, uso inadequado de aditivos químicos, degradação de nutrientes, contaminação microbiana, uso de matérias-primas cruas ou contaminadas e manipulação inadequada<sup>6</sup>.

Em todo o mundo, especialmente nos países pobres e em desenvolvimento, a contaminação das preparações alimentares constitui-se em problema de saúde pública. Agravado pela escassez de fiscalização efetiva e permanente dos processos de produção, conservação e comércio de alimentos<sup>7</sup>. No Brasil, as doenças veiculadas por alimentos não são de notificação compulsória, o que dificulta sobremaneira o dimensionamento real do problema<sup>8</sup>.



As infecções alimentares estão diretamente relacionadas com contaminações e a multiplicação de microrganismos em alimentos, seja pela carga microbiana inicial ou pela contaminação cruzada entre gêneros alimentícios, bem como pelo abuso do tempo e temperatura inadequados no armazenamento ou distribuição<sup>9</sup>.

Vários estudos microbiológicos já isolaram diversas espécies de bactérias, parasitas e toxinas patogênicas ao homem em vários tipos de preparações alimentícias, das quais se destacam: carnes, pescados crus, ovos, leite e derivados, alimentos com molho e sobremesas. Estudo de revisão realizado por Novotny et al<sup>10</sup> confirma tal dado, quando atesta que a maior parte dos surtos de origem alimentar está relacionada com pescados e seus derivados consumidos crus ou insuficientemente cozidos.

Após a globalização e com a tendência atual de consumir uma alimentação mais saudável, estão difundidos e apreciados por todo o mundo, apesar de tipicamente orientais, os *sushis* e *sashimis*, preparados à base de pescados crus; sendo comercializados em restaurantes japoneses, chineses, ocidentais, em *self-services*, em supermercados ou lojas das principais ruas ou de *shopping centers* em todos os países<sup>11,12</sup>.

Exatamente por constituírem-se de pratos preparados com alimentos crus, são muito perecíveis e passíveis de contaminação tanto por serem consumidos sem nenhum tratamento térmico, a não ser refrigeração ou congelamento, quanto por sua condição de higiene depender diretamente dos aspectos sanitários das condições de pesca, do local do preparo e do manipulador<sup>13</sup>.

Tendo em vista os inúmeros surtos ocasionados pelo consumo de pescados e preparações que os contêm, e considerando a importância para a saúde pública da região Nordeste do Brasil, elaborou-se dois artigos, um de revisão da literatura

intitulado *“Riscos biológicos do consumo de pescados: uma revisão”* e o outro apresentando os resultados de uma pesquisa laboratorial denominada *“Avaliação microbiológica de sushis e sashimis comercializados na cidade de Maceió-AL”*.

Os artigos propostos têm por objetivo revisar e sistematizar os principais estudos a respeito desse tema, assim como descrever os resultados obtidos após avaliação da qualidade microbiológica de *sushis* e *sashimis*, visando alertar a comunidade em geral e os órgãos sanitários quanto aos riscos da população que consome esse tipo de iguaria.

***ARTIGOS DA COLETÂNEA***

## 2 ARTIGOS DA COLETÂNEA

O primeiro artigo intitulado: ***“Riscos biológicos do consumo de pescados: uma revisão”*** faz uma abordagem geral sobre as doenças veiculadas por alimentos, a contaminação biológica de pescados, os surtos relacionados com o consumo de pratos que os têm por base; enfatizando o risco da ingestão destes alimentos se contiverem microrganismos. Um aspecto destacado é o atual avanço da ingestão das preparações com pescados, por serem encaradas como saborosas e benéficas à saúde.

O segundo artigo denominado: ***“Avaliação microbiológica de sushis e sashimis comercializados na cidade de Maceió-AL”*** trata-se de uma pesquisa laboratorial que se propôs a avaliar a qualidade bacteriológica e inocuidade dos *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes especializados ou não em culinária nipônica; bem como os possíveis fatores envolvidos na contaminação dos alimentos.

Em seqüência, encontram-se o **“Apêndice 1”** que consiste em esquemas organizados da metodologia utilizada no decorrer do trabalho laboratorial; e o **“Apêndice 2”** onde se apresentam fotos ilustrativas de análises executadas e placas infectadas com colônias dos microrganismos isolados durante as avaliações microbiológicas de *sushis* e *sashimis*.

**1º artigo:**

PEREIRA, WD; FROELICH, A.

**Riscos biológicos do consumo de pescados: uma revisão.**

## 1. INTRODUÇÃO

A preocupação em promover à saúde através da sanidade dos alimentos acompanha os homens ao longo dos tempos, o que induziu a concepção de leis para avaliar a qualidade dos alimentos. A legislação alimentar no Brasil teve início em 1906 com a fundação do Ministério dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio, que estudava e normatizava tudo que dissesse respeito à indústria de produtos de origem animal. Em 1990, surgiu o Código de Defesa do Consumidor, para assegurar o direito do consumidor caso houvesse algum defeito ou fraude no produto adquirido.

O Ministério da Saúde, a partir de 1993, recomendou aos produtores adotarem as Boas Práticas na Fabricação e a Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle em locais de produção e comercialização de alimentos. Em 1999, foi instituída a Agência Nacional de Vigilância Sanitária com o desafio de proteger a saúde do consumidor, por regulamentar leis visando a garantia da segurança alimentar<sup>14</sup>.

Como as doenças de origem alimentar constituem ameaça constante para todos os segmentos da coletividade mundial, entidades internacionais como o *Codex Alimentarius*, a *Food and Agriculture Organization* e a *World Health Organization* estão empenhadas em desenvolver pesquisas e sistemas de análises de risco que visam proteger os consumidores e normatizar o comércio seguro de alimentos<sup>15,16</sup>.

Deste modo, a segurança alimentar tornou-se um dos onze tópicos considerados prioritários pela OMS<sup>17</sup>, sendo a produção de alimento seguro prioridade para a comercialização e consumo populacional<sup>18</sup>.

Um surto de doenças transmitidas por alimentos (DTA) é caracterizado quando dois ou mais casos de uma sintomatologia clínica similar, têm correlação em tempo, espaço e ingestão de um alimento em comum<sup>19,20</sup>.

As DTAs são patologias tóxicas ou infecciosas, causadas por agentes que tem acesso ao organismo humano por meio da ingestão de água ou alimentos<sup>21</sup>. As intoxicações são provocadas usualmente pela ingestão de toxinas pré-formadas nas preparações alimentares por bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Clostridium botulinum*. Enquanto as infecções alimentares são causadas pelo consumo de alimentos que contenham células vegetativas de microrganismos patogênicos<sup>22</sup>. As últimas causam adesão, proliferação, colonização e invasão da mucosa do intestino com dano tecidual (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli invasora*, *Yersinia enterocolitica*) ou produção de toxinas no próprio trato gastrointestinal dos indivíduos acarretando funcionamento anormal das células epiteliais do órgão (*Escherichia coli enterotoxigênica*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*)<sup>22</sup>.

A sintomatologia de uma patologia veiculada por alimento geralmente é uma síndrome constituída por anorexia, vômitos e/ou diarreia, sendo atribuídas ao consumo de bactérias, vírus, parasitas, toxinas, príons, agrotóxicos, produtos químicos e metais pesados junto com a alimentação<sup>23</sup>. Todo indivíduo pode desenvolver uma DTA, entretanto os imunologicamente comprometidos, seja por má nutrição, por imunodepressão, por imunossupressão, por amadurecimento insuficiente do sistema imune (crianças) ou por declínio de sua função (idosos) são os mais susceptíveis.

A incidência total das DTAs é desconhecida, de acordo com Forsythe<sup>24</sup> o número de doenças de origem alimentar é subestimado, quer pela não notificação aos órgãos de inspeção ou agências de saúde competentes, quer pelo descuido da

população em procurar atendimento médico, já que a maioria dos sintomas são brandos e auto-limitados. Há, entretanto, DTAs que progridem para casos graves com sintomas de desidratação, diarreia muco-sanguinolenta, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória. Só a cólera, DTA provocada pelo *Vibrio cholerae*, é de notificação obrigatória, junto a OMS<sup>17,23</sup>.

A despeito da baixa notificação e da sintomatologia quase sempre tênue, as DTAs são um problema de saúde pública, e durante as últimas décadas, vêm crescendo progressivamente em diversos países. A agilidade de meios de locomoção, a pressa constante, as mudanças de hábitos alimentares e a globalização do planeta são apontadas como responsáveis pela disseminação destes tipos de patologias<sup>25,26</sup>.

Estatísticas norte-americanas demonstram que 30% da população sofre anualmente com doenças de origem alimentar, sendo as salmoneloses e campilobacterioses as mais comuns. Já em países em desenvolvimento, as principais doenças transmitidas por alimentos registradas são parasitoses<sup>9</sup>.

Dados revelam que os alimentos ou ingredientes crus foram responsáveis por 23% dos 766 surtos de origem alimentar ocorridos nos Estados Unidos entre 1977 e 1982, com aumento significativo nos anos subsequentes<sup>9</sup>.

Grande parte dos surtos de doenças veiculadas por alimentos está associada ao consumo de pescados marinhos. Segundo Lindquist & Westoo *apud* Summer & Ross<sup>27</sup> há um risco efetivo de contaminação por *Listeria monocytogenes* se houver consumo de truta e salmão defumados da Suécia, bem como por *Listeria monocytogenes* e *Vibrio parahaemolyticus* em moluscos nos Estados Unidos.

Na Nova Zelândia, a bactéria mais incriminada em surtos alimentares envolvendo pescados é a *Samonella* spp, inclusive em alimentos industrializados. A



origem da água de piscicultura ou do local de captura é determinante para a contaminação dos pescados com salmonelas<sup>28</sup>.

No Brasil, a Coordenação de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, entre 1999 e 2002, registrou 878 surtos de DTA, com um total de 20.471 indivíduos acometidos. Destes, 40,7% foram de origem não identificada, 26,8% virais, 24,6% bacterianas, 2,5% parasitárias, 0,7% químicas e 4,7% por múltiplos agentes. Cento e treze surtos (12,6%) foram relacionados a restaurantes, sendo as bactérias as principais responsáveis, com maior frequência de *Salmonella* spp, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus aureus*<sup>29,30</sup>.

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) divulgou que 12,5% das mortes ocorridas em hospitais da cidade de São Paulo, no ano de 2004, foram causadas por doenças infecciosas e parasitárias<sup>31</sup>. Confirmando a importância não só para a saúde pública, como também na geração de ônus financeiro para o país pelo custo do tratamento, diminuição da força de trabalho e comprometimento das exportações.

No panorama atual, a segurança alimentar deve ser encarada de forma holística, quebrando o paradigma de meramente prover nutrientes para ser foco de possível transmissão de doenças ao homem, elevando a necessidade de controlar microbiologicamente os alimentos.

## **2. METODOLOGIA**

O presente artigo se fundamentou em referências indexadas das bases de dados eletrônicas Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Literatura Internacional em Ciências da Saúde (MEDLINE), obtidas

através dos descritores: qualidade microbiológica de pescados, contaminação, *sushis* e *sashimis*. O período de busca foi limitado aos últimos 10 anos, escolhendo-se os artigos de maior relevância, entretanto alguns artigos anteriores a esse período com grande contribuição na área também foram utilizados. Os trabalhos considerados foram nas línguas portuguesa e inglesa; com o objetivo de traçar um panorama da situação de risco de consumir estes alimentos, especialmente no Brasil.

### **3. REVISÃO DA LITERATURA**

#### **PESCADOS**

Os pescados são alimentos provenientes de água salgada ou doce, representando um quinto da alimentação de origem animal consumida no mundo e incluem os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos aquáticos<sup>32</sup>. No Brasil, são considerados pescados, todos os animais de sangue frio, os seres invertebrados e os anfíbios aquáticos de águas doces e salgadas frias ou quentes, destinados à alimentação humana<sup>33,34</sup>.

Há séculos, em muitos países, os pescados fazem parte da dieta alimentar, e atualmente são consumidos por um número cada vez maior de pessoas como fonte saudável de proteína animal. Entretanto, diferem dos outros produtos alimentares por serem retirados de uma população quase sempre “selvagem” e os pescadores por terem pouca ou nenhuma influência no manejo das suas presas antes da captura. Assim, não é possível selecionar apenas os espécimes mais adequados<sup>35</sup>.

O consumo de pescado corresponde a um terço do total de proteína alimentar no mundo, sendo uma excelente fonte deste nutriente, com aproximadamente 60% menos calorias que a carne bovina, além de ser de fácil digestão e rica em lipídios insaturados<sup>22,36,37,38</sup>.

A produção brasileira de pescado atingiu a marca de 1 milhão de toneladas em 2003, e a produtividade só tem a crescer. Atualmente o país é considerado o 25º maior produtor de pescado do mundo<sup>39,40</sup>. Entretanto, o consumo médio de pescado, no Brasil, ainda é baixo, 6,5 quilos por pessoa/ano, se comparado à média mundial, que é de aproximadamente 15 quilos<sup>41</sup>.

Por apresentarem características intrínsecas peculiares como pH próximo ao neutro, alta atividade de água e excelente quantidade de nutrientes; os pescados reúnem qualidades, tanto no estado fresco quanto refrigerado, que os tornam um dos alimentos mais susceptíveis à contaminação e proliferação de microrganismos deterioradores e patogênicos<sup>42,43</sup>. Por conter proteínas de alto valor biológico e uma estrutura tecidual frágil, com pouco tecido conjuntivo; o pescado se deteriora rapidamente, razão pela qual é necessário conservá-lo em condições de higiene adequadas e em baixas temperaturas para que mantenha a qualidade sensorial e microbiológica determinada pelos órgãos fiscalizadores federais, com a finalidade de não promover risco à saúde do consumidor<sup>44,45,46</sup>.

A microbiota encontrada nos pescados está relacionada com o ambiente terrestre e hídrico onde os animais vivem, bem como as condições de captura as quais são submetidos. Tanto a carga bacteriológica, quanto à parasitológica é diretamente dependente da qualidade hídrica da região onde os peixes são capturados<sup>47</sup>. A musculatura dos pescados recém-capturados é praticamente estéril, mas há grande quantidade de microrganismos no trato digestório, nas brânquias e na superfície dos mesmos, o que significa que a contaminação pode acontecer durante

seu processamento. Deste modo, é conveniente salientar que a quantidade e as espécies microbianas encontradas correlacionam-se com a localização geográfica, salinidade da água, estação do ano, modo de captura e cuidados de manipulação na fase de beneficiamento<sup>45,48</sup>.

A velocidade de deterioração dos pescados é influenciada pela carga microbiana inicial, pela forma de manipulação e condições de estocagem, com destaque especial para temperatura, umidade do ar e atmosfera gasosa a que o produto é submetido durante o armazenamento. São principalmente estes aspectos que vão determinar a vida de prateleira do produto<sup>49</sup>.

A grande disseminação de patologias virais, bacterianas e parasitárias, brandas ou graves, originadas pelo consumo de pescados, têm sua maior incidência correlacionada ao peixe cru, fresco ou refrigerado, mal cozido ou defumado a frio<sup>43</sup>. Diante dos fatos, a qualidade microbiológica dos pescados, e formas para aumentar sua vida de prateleira, têm sido exaustivamente estudadas<sup>50</sup>.

## MICROBIOTA DOS PESCADOS

Com uma microbiota bem diversificada, estudos realizados subdividem a microbiota do pescado em dois grandes grupos patogênicos:

1. bactérias indígenas - mundialmente distribuídas nos ecossistemas hídricos, tendo a temperatura da água como um efeito ambiental seletivo. As bactérias psicrófilas como *Clostridium botulinum* e *Listeria monocytogenes* são comuns no Ártico e nos climas mais frios; enquanto as mesófilas como *Vibrio cholerae* e *V. parahaemolyticus* são freqüentes em ambientes temperados ou tropicais quentes. Apesar das preparações com pescados não submetidas a processamento bactericida, podem conter microrganismos patogênicos; as contagens são baixas,

sendo improvável que ocasionem patologias. Contudo, altos níveis bacterianos podem ser encontrados nos produtos derivados de pescado, como resultado de multiplicação, e constituindo-se em risco elevado de causar doenças<sup>35</sup>.

Os principais microrganismos indígenas são o *Clostridium botulinum* (presente no solo, sedimento aquático e pescado, pode ser eliminado se o produto for cozido a 121°C/3min.); *Vibrio cholerae* e *V. parahaemolyticus* (comuns no mar, precisam de sódio para proliferar, toleram baixas temperaturas e são facilmente destruídos pelo calor); *Plesiomonas* sp (vivem em água doce ou salgada, preferem clima quente e a *Plesiomonas shigelloides* é típica do intestino de peixes); *Listeria monocytogenes* (existe no solo, vegetação, produtos alimentares, cozinhas domésticas e industriais, é capaz de formar biofilme, prolifera sob refrigeração e é tolerante a até 10% de sal); por fim, há a *Aeromonas* sp. (sobrevive em água doce e salgada, é a principal deterioradora de peixe de águas tropicais e do salmão, vive em temperatura de até 0°C, mas é eliminada com pH inferior a 6,5 e teor de sal superior a 3,0%)<sup>35</sup>.

2. bactérias não indígenas - amplamente distribuídas na natureza, incomuns em mananciais limpos, mas facilmente encontradas em águas poluídas onde podem multiplicar e sobreviver durante semanas.

As principais representantes nos pescados são a *Salmonella* spp. (prolifera em águas poluídas por esgotos e os portadores assintomáticos infectados podem contaminar alimentos crus ou previamente cozidos durante a preparação); a *Shigella* sp. (sobrevive em água contaminada por até 6 meses); *Escherichia coli* (sobrevive e multiplica-se em mananciais poluídos por fezes ou esgotos durante longo período, contamina água e alimentos devido a manipulação inadequada); e *Staphylococcus aureus* (isolado de água, ar, poeira, leite, esgotos, chão, superfícies e humanos, é halotolerante, desenvolve-se com atividade da água de

até 0,86, multiplica-se com pH de 4,5, e produz toxinas muito resistentes a enzimas proteolíticas e ao calor)<sup>35</sup>.

Os intestinos de peixes e crustáceos de águas tropicais e subtropicais são reservatórios de *Plesiomonas shigelloides*, bactérias capazes de causar gastroenterites em seres humanos. A *Yersinia enterocolitica*, apesar de não ter nenhum registro de doença relacionada a estes tipos de alimentos, também merece destaque, por ter sido encontrada em víveres marinhos crus, mesmo naqueles mantidos sob refrigeração<sup>22,49</sup>. Existem ainda, microrganismos patogênicos que estão espontaneamente no solo ou na água como *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Vibrios* e *Aeromonas*<sup>25</sup>.

Em condições tropicais, como é o caso do Brasil, os microrganismos que normalmente estão presentes no ecossistema hídrico são: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Cytophaga*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Moxarella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Vibrio* e bactérias corineformes. Estes são transpostos para os pescados através da água, na captura e durante o processo de manipulação. Como a carga microbiológica é capaz de se proliferar rapidamente, estes alimentos devem ser devidamente manuseados, preparados e armazenados, com o objetivo de diminuir o risco de contaminar o consumidor final<sup>51,52</sup>.

Vários microrganismos podem ser citados como contaminantes de pescados, dentre eles: *Vibrio* (*V. parahaemolyticus* e *V. cholerae*), *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Aeromonas* spp. Justamente por estas espécies serem encontradas em águas infectadas por detritos orgânicos e esgotos, e terem capacidade de causar doenças em indivíduos, com maior ou menor gravidade, a depender da forma de preparação do alimento, da dose inoculante e da capacidade imunológica do consumidor; o cuidado durante o processamento é fundamental<sup>22,53</sup>.

Assim, com a disseminação do hábito de ingerir peixe cru, inserido no mundo por culturas asiáticas, alarga-se a preocupação com a garantia da qualidade higiênico-sanitária de pescados, uma vez que os mesmos são potenciais veiculadores de patógenos para os homens através da alimentação<sup>18</sup>.

## PARASITAS EM PESCADOS

A presença de parasitas em pescados é extremamente freqüente, entretanto poucos são capazes de causar problemas verdadeiramente preocupantes à saúde dos indivíduos<sup>35</sup>.

Na Ásia, contudo, há doenças parasitárias consideradas endêmicas, comuns na região devido ao hábito de consumir peixe cru, haja vista que na crença oriental, coccionar os alimentos incorre em destruir suas características naturais e diminuir seu valor nutritivo<sup>54</sup>.

Dos parasitos de interesse clínico, destacam-se três grupos, a saber:

1. Céstodos ou tênia dos peixes, são parasitas capazes de medir de 1 até 10 metros quando infestam humanos. O *Diphyllobothrium latum* é o principal representante do grupo, sendo endêmico no hemisfério norte; e no sul já foi encontrado na Austrália, em Madagascar, no Chile, na Argentina, no Brasil e no Peru<sup>47,55</sup>. O *Diphyllobothrium pacificum* é típico do Japão, do Peru e do Chile. O salmão é o peixe normalmente contaminado com estes parasitas, mas outros também podem transmiti-lo aos humanos<sup>56</sup>.

2. Nemátodos ou vermes redondos, são parasitas não segmentados com 1 a 6cm de comprimento. Os componentes deste grupo são *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, *Gnathostoma* sp., *Capillaria* sp. e *Angiostrongylus* sp.;

estes já causaram infecções em indivíduos de comunidades européias, sul americanas e asiáticas, especialmente japonesas<sup>35,57</sup>.

Os vermes da família *Anisakidae* quando têm suas larvas ingeridas por humanos em peixes crus, mal cozidos ou insuficientemente congelados estas causam, uma ou duas horas após o consumo, cólicas, vômitos, ulcerações nas paredes estomacais ou intestinais podendo alcançar o fígado ou até os pulmões. Os sintomas clínicos mais comuns são: problemas gástricos que vão desde uma simples dor epigástrica, náuseas e vômitos até necessidade de remoção cirúrgica do parasita; ou reações alérgicas caracterizadas por urticária, angiodema ou mesmo choque anafilático. Como medida de prevenção os pescados devem ser eviscerados imediatamente após a captura, congelados por pelo menos 7 dias, irradiados ou cozidos a 60°C por 10 minutos<sup>57,58</sup>.

Apesar de já existirem relatos de identificação do parasito em peixes da costa brasileira como dourado, anchovas, pargo e peixe-espada, não há casos clínicos identificados<sup>58</sup>. Os parasitas *Gnathostoma* sp., *Capillaria* sp. e *Angiostrongylus* sp. são endêmicos da Ásia e por ocasionarem problemas entéricos e sistêmicos graves ou mesmo fatais, constituem grave problema de saúde pública na região<sup>35</sup>.

3. Trematódeos ou fascíloas, têm como componentes *Clonorchis* sp., *Opisthorchis* sp., *Metagonimus yokagawai*, *Heterophyes* sp., *Paragonimus* sp. e *Echinostoma* sp.; são parasitos que podem infestar peixes de água doce, tendo como hospedeiros intermediários caracóis e como definitivos várias espécies de mamíferos, inclusive os seres humanos; desde que haja o consumo de peixe cru originário de águas contaminadas<sup>35,59</sup>.

A clonorquíase é uma zoonose causada pelo *Clonorchis sinenses*, endêmica na China meridional onde atinge aproximadamente 40% dos habitantes e se



difundiu pelo mundo a partir de imigrantes; sua sintomatologia está relacionada à infestação do fígado e alteração das funções hepáticas. O *Opisthorchis felineus* próprio de lagos e rios, é comum na Sibéria central, Europa meridional e central, Índia, Vietnã, Coréia, Japão e Filipinas, contaminando aproximadamente um milhão de pessoas; já o *Opisthorchis (Amphinerus) Pseudofelineus* ou *Opisthorchis guayaquilensis* predomina no Equador e Brasil<sup>35,47,55</sup>.

O *Paragonimus* sp. mede de 8 a 12mm e pode ser encontrado encapsulado na forma de cisto nos pulmões dos infectados, sendo expelidos quando tosem e excretados nas fezes. O *Metagonimus yokagawai* e *Heterophyes* sp. são fascíolas muito pequenos, medindo de 1 a 2mm de comprimento, que vivem definitivamente nos intestinos dos indivíduos ocasionando dores abdominais, inflamações e diarréias intercorrentes<sup>35</sup>.

Outro trematódeo também encontrado como contaminante de pescados é o *Phagicola longa* que provoca a fagicolose. Tal parasito tem como hospedeiros primários, crustáceos e moluscos; como secundários peixes do gênero *Mugil*; e como definitivos os mamíferos e as aves que se alimentam destes peixes. Em humanos, o *Phagicola longa* é capaz de se reproduzir sexualmente, liberando seus ovos nas fezes do hospedeiro. A sintomatologia é composta por mal-estar, emagrecimento, dores abdominais, flatulência e diarréia<sup>35</sup>.

Desse modo, as parasitoses zoonóticas também se constituem em risco eminente para o consumidor de pescados, desde que os mesmos não sejam de áreas livres dos parasitas ou sejam preparados de forma inadequada à eliminação dos organismos infectantes.

## PESCADO COMO VEÍCULO DE DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Na maior parte das vezes, os pescados são representantes da contaminação ambiental dos mananciais doces e dos oceanos, pois a microbiota que estes apresentam, no momento da captura, é diretamente relacionada com a poluição das águas; e através de seu consumo os humanos podem adquirir doenças pela ingestão de microrganismos patogênicos. Outra forma de contaminar os pescados é por meio de manipulação inadequada na pesca, no transporte, na comercialização e no preparo do alimento<sup>60,61</sup>.

Os pescadores e manipuladores de pescados devem ser cautelosos no manuseio, pois os microrganismos presentes nas escamas, couro, guelras e vísceras podem ser fontes de contaminação da parte comestível do animal, podendo transmitir diversas patologias ao consumidor<sup>62</sup>.

Os pescados frescos ou consumidos crus são normalmente portadores de bactérias dos gêneros *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Escherichia*, *Listeria*, *Shigella*, *Vibrio*, além de vários parasitos<sup>9</sup>. Todavia não contêm *Staphylococcus*, estes são introduzidos depois que manejados pelos indivíduos, como resultado de manipulação e estocagem inapropriadas ou contaminação cruzada<sup>63</sup>.

Além de gêneros bacterianos deterioradores, há, em pescados, espécies patogênicas. O *Clostridium botulinum* tipo E, por exemplo, foi isolado de pescados de mares de vários países, inclusive o Brasil, e apesar de não se ter relatos de botulismo ocasionado pelo consumo de pescado fresco ou congelado, a toxina botulínica é instável à temperatura sendo facilmente destruída por cocção, o risco de acontecer algum caso aumentou a partir do hábito de consumir alimentos crus<sup>45</sup>.

Outra bactéria patogênica já identificada em pescados, contaminando salmão cru embalado a vácuo ou em atmosfera modificada e peixes de águas tropicais, é a *Aeromonas hydrophila*, produtora de enterotoxinas<sup>35,51</sup>. Há também, relato de isolamento de *S. aureus* e *Salmonella* spp em tilápias criadas na cidade de Campina Grande, Paraíba, no nordeste do Brasil<sup>45</sup>.

Artigo de revisão redigido por Novotny et al.<sup>10</sup> afirma que a maior parte dos surtos de origem alimentar está relacionada com pescados e seus derivados consumidos crus ou insuficientemente cozidos. Das espécies bacterianas elencadas como fontes de risco destacam-se: *C. botulinum* tipo E, *V. parahaemolyticus*, *C. perfringens*, *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *V. cholerae* dentre outros. As principais formas de contaminação referidas nos trabalhos constituem-se na ingestão dos peixes crus ou na contaminação cruzada destes com alimentos prontos para consumo; bem como na manipulação higienicamente inadequada.

Na cidade de Fortaleza (CE) foram avaliadas bacteriologicamente 48 amostras de peixes, sendo 24 de água doce e 24 de água salgada. Os pescados de água doce apresentaram contaminação de 58,3% e os de água marinha de 62,5% acima do limite de  $10^2$  NMP/g estabelecido pelo DINAL para coliformes fecais<sup>64</sup> demonstrando claramente que os alimentos estavam em condições de sanidade insatisfatórias para o consumo humano<sup>65</sup>.

González-Rodríguez et al<sup>66</sup> alertaram para a contaminação de 12 lotes de filés de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e 10 lotes de salmão (*Salmo salar*) empacotados e estocados a 3°C em dois supermercados da Espanha. Em 8 pacotes analisados foram detectados *L. innocua* e em 1 foi isolada *L. monocytogenes*. Apesar de pesquisar a presença de *Samonella* spp, esta não foi encontrada em nenhuma das amostras. Altas contagens de bactérias do gênero *Aeromonas* foram encontradas em filés de trutas, algumas espécies, inclusive,

capazes de produzir toxinas e causar intoxicações nos consumidores; representando assim risco relativo à saúde da população.

Trabalho realizado para detecção de *Salmonella* spp. em 66 amostras de pescados tropicais, detectou a incidência do microrganismo em diferentes locais de exposição do produto, sendo a contaminação baixa (8%) nos locais de descarga dos barcos pesqueiros, maior (19,4%) nos mercados de peixes e ainda superior (40%) nos centros de beneficiamento de pescados, indicando que quanto mais manipulado maior o risco de estar contaminado com esta enterobactéria<sup>67</sup>.

A avaliação microbiana do peixe “pintado” (*Pseudoplatystoma fasciatum*) oriundo do pantanal matogrossense em Cuiabá (MT), evidenciou que das 120 amostras, sendo 60 de feiras livres comercializadas à temperatura ambiente e 60 de supermercados expostas sob refrigeração, 56,66% (68) estavam contaminadas com *S. aureus* coagulase positiva acima do permitido pela legislação brasileira<sup>68</sup>; das quais 48,53% (33) eram vendidas em feiras livres e 30,88% (21) em supermercados. Na mesma pesquisa, 14,16% (17) dos peixes, sendo 20%(12) de feiras livres e 8,33% (5) de supermercados continham *Salmonella* spp, agravando sobremaneira a possibilidade de surgimento de toxinfecção alimentar<sup>69</sup>.

Estudo microbiológico de 20 amostras de tilápia (*Orochromis niloticus*) congeladas e comercializadas em Alfenas (MG), foi realizado para enumerar coliformes fecais, contar estafilococos e identificar salmonela. Os resultados obtidos foram de 15% (1-110 NMP/g), 50% (10 – 21 x 10<sup>3</sup> UFC/g) e 60% (presença) respectivamente, acima dos padrões recomendados pelos órgãos fiscalizadores oficiais brasileiros, atestando que as condições higiênico-sanitárias dos pescados eram deficientes e um risco aos consumidores<sup>70</sup>.

Muratori et al<sup>52</sup> com o objetivo de avaliar as condições higiênico-sanitárias de branquinhas (*Curimatus ciliatus*) realizaram análises de coliformes termotolerantes e *E. coli* em 34 amostras comercializadas no cais do rio Parnaíba em Teresina (PI). Em se tratando de coliformes, 47,1% (16) encontravam-se impróprias para o consumo humano. A *E. coli* foi isolada de 41,1% (14) amostras, o que as caracteriza como potencialmente patogênicas aos homens.

Análises de 168 produtos de peixes e 87 de pescados processados numa fábrica da Índia revelaram que 17% (21) e 62% (54) das amostras, respectivamente, continham a enterotoxina estafilocócica. Condições inadequadas de refrigeração, higiene pessoal dos manipuladores e procedimentos inapropriados de armazenamento foram relacionados com o crescimento de *S. aureus* e produção de suas toxinas<sup>63</sup>.

Álvares et al<sup>71</sup> analisaram a qualidade microbiológica de 88 amostras de atum e pescada, comercializadas em estabelecimentos da Grande São Paulo (SP), pesquisando coliformes totais, coliformes fecais, *E. coli* e *Salmonella* spp. No geral, 91% das amostras de pescada e 96,9% das de atum estavam contaminadas com *E. coli* ou *Salmonella* spp.

Como agravante à saúde dos consumidores, os pescados podem transmitir também, além de patologias bacterianas, infecções por parasitas. Convém relatar que em 1980, ocorreu em *Los Angeles*, um surto de difilobotríase que acometeu 39 indivíduos após o consumo de *sushis* de atum e salmão<sup>56</sup>. No hemisfério sul, os lagos chilenos são os locais de persistência do *D. latum*, tanto pela disseminação dos ovos dos parasitas como também pela contaminação das águas com esgotos humanos não tratados. No Chile, a infecção parasitária de salmões é uma constante, ocorrendo inclusive em piscicultura na região dos lagos andinos, que é

atualmente área endêmica de difilobotríase, uma vez que a população costuma consumir peixes crus ou defumados<sup>72</sup>.

No Brasil, dois casos foram observados; um na Bahia, num marinheiro da Escandinávia em 1915, e outro em São Paulo, em uma francesa. Outro relato da doença aconteceu no início de 2004, em Porto Alegre, um brasileiro viajou para Europa e Estados Unidos; alimentou-se de pescados da região e ao retornar ao Brasil, desenvolveu os sintomas da parasitose<sup>56</sup>.

Os surtos da doença que ocorreram originalmente no Brasil, envolveram o consumo de *sushis* e *sashimis* elaborados a partir de salmões chilenos<sup>72</sup>. O Estado de São Paulo registrou entre março de 2004 e março de 2005, 27 casos de difilobotríase relacionados ao consumo de peixes crus ou mal cozidos na forma de *sushis*, *sashimis* ou *ceviche*<sup>73</sup>. A prevenção da disseminação do *D. latum* consiste em consumir pescados bem cozidos, ou se consumidos crus, congelados por no mínimo 7 dias ou 15 horas, se forem usadas, respectivamente, temperaturas de –20°C e –35°C<sup>73</sup>. De acordo com a Associação Brasileira de Culinária Japonesa, em 2005, os casos de difilobotríase foram responsáveis pela diminuição de 60% na frequência de clientes em restaurantes japoneses na cidade de São Paulo.

Outras espécies de parasitas como o *Anisakis simplex* e o *Pseudoterranova decipiens* já foram encontradas na musculatura de 64% de 11 amostras de bacalhaus importados das cidades do Porto e Zarbo e comercializados em São Paulo<sup>58</sup>. Trabalho semelhante desenvolvido por Pereira et al<sup>74</sup>, tinha detectado que 27,3% das 22 amostras avaliadas continham larvas de nematóides da família *Anisakidae*.

Há ainda, relatos de vários casos de fagicolose envolvendo tainhas em São Paulo, Cananéis e Registro. A melhor forma de prevenção da zoonose é a não

ingestão de pescados crus ou mal cozidos. A cocção de peixes a 100°C/60min, a salmoura 24° Bé ou a irradiação são formas eficientes para inativar larvas do *Phagicola longa*<sup>75</sup>.

Há trabalhos, por sua vez, que indicam a aplicação de Boas Práticas de Fabricação ou a implementação do método da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle nos locais de captura, peixarias, estabelecimentos produtores de refeições e indústrias de beneficiamento de pescados como a única forma eficaz de prevenir o surgimento de patologias nos consumidores, o que reforça que as condições e técnicas de manipulação são essenciais para a qualidade higiênico-sanitária dos pescados<sup>76</sup>.

Desta forma, considerando que é hábito alimentar altamente difundido o consumo de pescados crus, especialmente na forma de *sushis* e *sashimis*, a qualidade da matéria-prima, com baixas contagens microbianas, manipulador devidamente treinado, local de produção efetivamente higienizado e a comercialização sob condições de refrigeração, tornam-se essenciais para garantir o frescor, a qualidade sanitária e comercial dos produtos, sendo indispensáveis para manutenção da saúde dos consumidores.

#### **4. CONCLUSÃO**

Mediante o exposto, pode-se concluir que:

- O consumo de pescados vem sendo estimulado por suas características nutricionais, entretanto, sua composição rica em nutrientes favorece a deterioração do alimento e a proliferação microbiana; podendo representar risco biológico real, especialmente se consumidos crus ou mal cozidos.

- A contaminação dos pescados depende diretamente do manancial onde foram capturados, da localização geográfica, da salinidade, da estação do ano e das condições de processamento a que forem submetidos.
- O acompanhamento rigoroso das técnicas de captura, manipulação, processamento e distribuição dos pescados pode garantir a qualidade organoléptica e microbiológica, minimizando a veiculação de doenças de origem alimentar aos indivíduos.



**2º artigo:**

PEREIRA, WD; SILVA, GM; FROEHLICH, A.

**Avaliação microbiológica de *sushis* e *sashimis* comercializados na cidade de Maceió-AL.**

## 1. INTRODUÇÃO

A ingestão de pescados tem crescido nos últimos anos, especialmente devido à valorização de seu teor nutricional, alta digestibilidade e baixa quantidade calórica<sup>76</sup>. O incentivo ao consumo de peixes tem sido amplamente estimulado por nutricionistas, médicos e pelos meios de comunicação, especialmente por ser fonte de ácidos graxos insaturados, ômega 3 e 6, vitaminas e minerais<sup>77</sup>.

Somado a isso, há uma disseminação da culinária oriental com a teoria de que os alimentos minimamente processados são benéficos à saúde. Desta forma, o consumo de *sushis* e *sashimis*, preparações típicas da cozinha nipônica, que têm por base os peixes crus, tem se popularizado em muitos países, inclusive no Brasil<sup>78</sup>.

O *sushi* consiste em bolinho de arroz prensado, temperado com vinagre e guarnecido, no alto, com pescados crus. É originário do sudeste da Ásia, por volta do século VI; sendo seu consumo expandido e arraigado na China e no Japão. Há algumas variações com legumes, ovos, ovas, frutas ou pescados no centro do bolinho de arroz envolto lateralmente em folha de alga.

O *sashimi*, por sua vez, é uma elaboração de frutos do mar, ovas de peixes ou filés de peixes marinhos, crus, limpos, eviscerados e fatiados artesanalmente, típico da culinária japonesa<sup>11,12</sup>

Ambos os pratos, apesar de orientais, após a globalização e com a tendência atual de consumir uma alimentação mais saudável, estão difundidos e apreciados por todo o mundo; sendo comercializados em restaurantes japoneses, chineses, ocidentais, em *self-services*, em supermercados ou lojas das principais ruas ou de *shopping centers*<sup>11,12</sup>.

O Sindicato de hotéis, restaurantes, bares e similares de São Paulo aponta que há atualmente mais estabelecimentos japoneses que churrascarias, sendo os primeiros aproximadamente 600 restaurantes, quando em 1993 eram apenas 80<sup>79</sup>. Só entre 2001 e 2002, por exemplo, houve aumento de 20% do consumo de pratos japônicos em Brasília<sup>80</sup>.

No Nordeste brasileiro o consumo de iguarias japonesas também cresceu substancialmente. A Vigilância Sanitária Municipal de Maceió, relatou haver até início de 2006, aproximadamente 24 estabelecimentos registrados para comercialização estes tipos de pratos. Entretanto, como a maioria dos *self-services* tem alvará para produzir e distribuir alimentos prontos para o consumo, o número real de estabelecimentos que os estão comercializando pode ser ainda maior.

A forma de preparo das iguarias japonesas é tradicionalmente realizada do modo descrito abaixo, e por se constituírem em pratos preparados à base de pescados crus, extremamente perecíveis, e por serem consumidos sem nenhum tratamento térmico, a não ser em cadeia fria, os aspectos sanitários da matéria-prima, do manipulador e da distribuição devem ser seriamente considerados durante o processo produtivo<sup>13</sup>. Segue maneira de produção:

1) *sushis* - iniciam seu preparo com a cocção do arroz, que depois é resfriado e temperado com vinagre e açúcar, sendo depois moldado em formas ou manualmente dependendo da escala de produção. Pescados, ovas, ovos, legumes, frutas, são adicionados no alto ou no centro dos bolinhos de arroz, tendo alguns tipos algas na lateral. Estes podem ser servidos imediatamente ou resfriados (**Figura 1**).

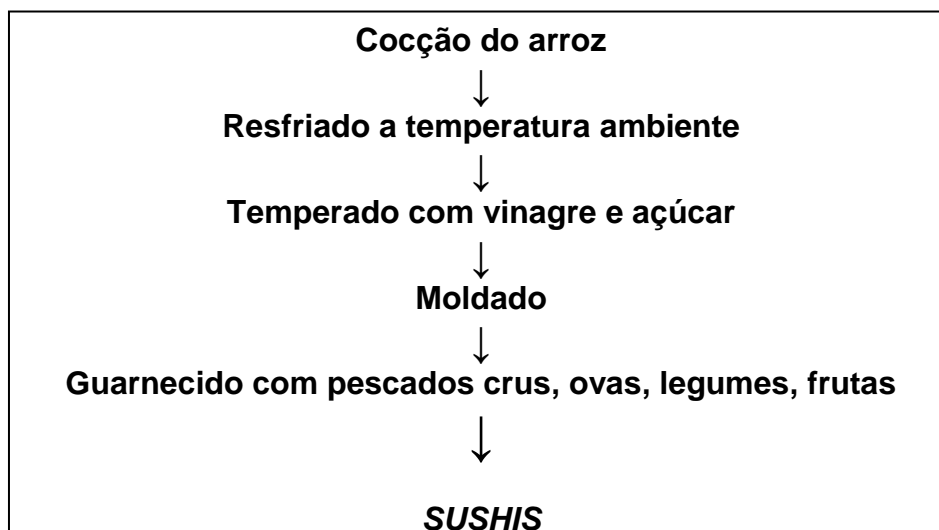


Figura 1. Fluxograma de preparo de *sushis*.

2) *sashimis* - após o recebimento, os pescados são estocados sob refrigeração ou congelamento; na véspera, são descongelados sob refrigeração; no dia do preparo, são lavados e cortados em filés, fatias ou cubos; sendo imediatamente servidos como *sashimis*<sup>12</sup> (Figura 2).

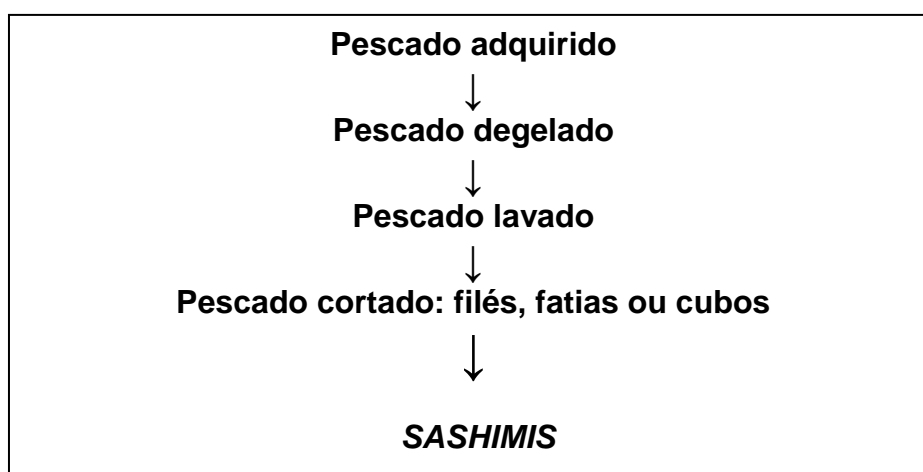


Figura 2. Fluxograma de preparo de *sashimis*.

Como o hábito de consumir *sushis* e *sashimis* aumentou expressivamente nos últimos anos, também houve um acréscimo do número de ingredientes usados no preparo destes pratos. Tradicionalmente eram utilizados peixes crus, arroz e algas;

recentemente além destes, vêm sendo usados legumes, frutas, queijos, camarões, polvo e *kani kama*.

O risco da diversificação de ingredientes deve-se a ampliação das probabilidades de contaminação, pois quanto maior o número de matérias-primas, maior será a possibilidade dos funcionários que manipulam os alimentos incorrerem em erros quanto à higienização de gêneros, utensílios e superfícies, contaminação cruzada, higiene pessoal e inadequação de local, tempo e temperatura de exposição<sup>76</sup>.

Um fator importante de contaminação de *sushis* e *sashimis* é o contato direto com as mãos dos manipuladores. Tais alimentos são confeccionados manualmente, e pela tradição japonesa não é indicado o uso de luvas para não alterar a temperatura nem o sabor das preparações, sendo assim, o risco de veicular *Staphylococcus aureus*, da microbiota da pele, e coliformes termotolerantes, próprios da microbiota normal do trato digestivo; é uma probabilidade eminente<sup>37,81</sup>.

Trabalho desenvolvido em Hong Kong demonstrou que há vários microrganismos deterioradores envolvidos no processo de contaminação dos *sushis* e *sashimis*, mas são principalmente os patogênicos como o *Vibrio parahaemolyticus*, encontrado em pescados crus; o *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella* spp., introduzidos pelos manipuladores que causam doenças aos consumidores. O Departamento de Saúde deste país indicou como responsáveis pelo maior número de surtos de origem alimentar, no período de 1997 a 1999, *Vibrio parahaemolyticus*, acometendo 100 pessoas em 28 surtos; o *Staphylococcus aureus* afetando 17 indivíduos em 7 diferentes casos e a *Salmonella* spp atingindo 15 pessoas em 5 surtos<sup>12</sup>.

Desta forma, devido ao aumento geométrico do consumo de preparações japonesas no Brasil, especialmente as confeccionadas com pescados crus, gerou-se ampliação proporcional da preocupação com a qualidade higiênico-sanitária de *sushis* e *sashimis*, que por não serem coccionados, tornam-se veículos importantes de microrganismos aos consumidores quer do local da pesca, da manipulação da matéria-prima ou da distribuição dos pratos em condições inadequadas.

Um fator primordial para o alto risco de toxinfecção decorrente do consumo de *sushis* e *sashimis* resulta da forma de preparo destas iguarias. Os utensílios usados tradicionalmente na culinária japonesa são de madeira, sendo de difícil higienização. É comum o uso de panos de tecido para facilitar a formação dos *sushis* e o arroz utilizado no preparo é cozido e mantido a temperatura ambiente para permitir a liga suficiente para formação dos bolinhos, o que permite a germinação de esporos. O risco de contaminação aumenta vertiginosamente se as preparações forem expostas ao consumo em condições inadequadas por tempo e temperatura acima do ideal <sup>18</sup>.

Uma vez que *sushis* e *sashimis* são amplamente consumidos pela população mundial e por representarem risco potencial elevado para veicular doença de origem alimentar, justifica-se a realização de estudo que indique a qualidade higiênico-sanitária destes alimentos e que possa alertar os consumidores e as autoridades sobre a possibilidade de dano à saúde relacionada ao consumo destas preparações da tradicional culinária japonesa. Sendo assim, esta pesquisa teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de *sushis* e *sashimis* comercializados na cidade de Maceió-AL, através da enumeração de coliformes a 35°, coliformes a 45°C, estafilococos coagulase positiva, *Bacillus cereus* e pesquisa de *E. coli* e *Salmonella* spp.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 AMOSTRAS

Foram coletadas 60 amostras, sendo 30 (trinta) de *sushis* e 30 (trinta) de *sashimis*, comercializadas em 05 (cinco) restaurantes especializados e 05 (cinco) não-especializados em comida japonesa da cidade de Maceió (AL). Os restaurantes foram divididos em: especializados, que comercializam apenas preparações de culinária nipônica; e não especializados aqueles que têm cardápio variado e também servem preparações típicas da culinária japonesa.

Nenhum dos estabelecimentos foi desconsiderado, na análise estatística, haja vista que não houve fechamento nem exclusão deste tipo de alimento durante o período de coleta e análise das amostras.

As amostras foram coletadas em horário de grande movimentação nos restaurantes, ou seja, durante o horário reservado ao almoço (11:30 às 15h). Em cada estabelecimento comercial foram adquiridas, em um mesmo dia, 100g de *sushi* e 100g de *sashimi* em embalagem íntegra, disponibilizada pelo restaurante para transporte (“para viagem”), sendo os recipientes utilizados de isopor, de alumínio ou de plástico; e devidamente identificada quanto a local, hora e dia da coleta. Os *sashimis* analisados foram de salmão, robalo ou atum, e os *sushis* escolhidos foram recheados apenas com peixe cru ou os que tinham recheio de *kani kama*, polvo, camarão, manga com legumes ou pele de peixe assada.

Depois de coletadas, as amostras foram acondicionadas sob refrigeração, em caixas térmicas higienizadas contendo bolsas industriais de gelo, e transportadas até o Laboratório de Pesquisa da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde

(FCBS) do Centro Universitário de Estudos Superiores de Maceió (CESMAC), onde foram imediatamente analisadas.

O método utilizado para preparo das amostras para análise microbiológica foi o de diluição decimal seriada, que tanto pode ser usado para contagem quanto para isolamento de bactérias. Para obter-se a diluição inicial, pesou-se assepticamente uma porção de 25g do alimento, sendo a mesma homogeneizada com 225mL de solução salina-peptonada por 03 (três) minutos num agitador de *Erlenmeyer* em velocidade reduzida; esta correspondeu à diluição de  $10^{-1}$ . Subseqüentemente foram realizadas diluições nas quais 1mL da diluição  $10^{-1}$  foi adicionado a 9mL de solução salina, obtendo a diluição  $10^{-2}$  e assim sucessivamente até se obter a diluição  $10^{-3}$ , conforme descrito pela APHA<sup>42,82</sup>.

## 2.2 MÉTODOS

### 2.2.1 Enumeração de Coliformes 35°C e Coliformes a 45°C.

A enumeração de coliformes a 35 e coliformes a 45°C foi realizada pela Técnica do Número Mais Provável (NMP), apresentada pela APHA<sup>42</sup>; modificada apenas em relação à temperatura de incubação dos coliformes a 45°C. A técnica de análise de coliformes a 35°C dividiu-se em duas etapas: 1) a etapa presuntiva que consistiu na inoculação de 1mL de alíquota das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  das amostras em três tubos de ensaio contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubo de *Durham* invertido, os tubos foram devidamente identificados, homogeneizados e incubados em estufa a 35°C por 48h. Quando observada a produção de gás no interior dos tubos de *Durham*, estas foram consideradas amostras positivas; 2) a etapa confirmativa iniciou-se com a transferência de uma alçada de cada tubo LST positivo para um outro, previamente identificado, contendo



Caldo Verde Brilhante Lactose Bile 2% com tubo de *Durham* invertido. Os tubos foram incubados em estufa a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 48 horas e considerados positivos aqueles que apresentaram o caldo turvo e com produção de gás dentro do tubo de *Durham*; os resultados foram expressos, utilizando-se a tabela de NMP, em coliformes por grama de alimento<sup>42,82</sup>.

Para demonstrar a presença de coliformes a  $45^\circ\text{C}$ , uma alçada dos tubos LST positivos foi transferida, para outros, previamente identificados, contendo Caldo EC com tubo de *Durham* invertido e incubados em banho-maria a  $44,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$  por 24 horas, os tubos que apresentaram caldo turvo e produção de gás nos tubos de *Durham* foram considerados positivos e os resultados foram expressos, segundo a tabela de NMP, em coliformes a  $45^\circ\text{C/g}$  de amostra<sup>42,83</sup>.

### **2.2.2 Determinação da Presença de *Escherichia coli***

Para determinar a presença de *E. coli* foi utilizado o método de plaqueamento por esgotamento em Ágar Eosina Azul de Metileno seg. Levine (EMB), conforme indicado pela APHA<sup>42</sup>.

As amostras que apresentaram resultados positivos para coliformes a  $45^\circ\text{C}$ , no Caldo EC, foram transferidas por alçada cada uma em uma placa, previamente identificada, de Ágar EMB, na forma de estrias e incubadas em estufa a  $35^\circ\text{C}$  por 24 horas. Quando houve crescimento de colônias com diâmetro de 2 a 3mm, com brilho metálico esverdeado e com centro escuro abrangendo praticamente toda a dimensão da colônia, estas tinham 2 colônias características repicadas e inoculadas em tubo com ágar nutriente inclinado a  $35-37^\circ\text{C}$  por 24 horas. Para a identificação da *E. coli* típicas foram realizadas provas bioquímicas do grupo IMVIC, composto por provas do Indol (+), Vermelho de Metila-VM (+), Voges-Proskauer-VP (-) e

Citrato de Simmons (-) que depois de incubadas a 35°C por 24 horas; tiveram os resultados expressos, como positivos para *E. coli*<sup>83</sup>.

### 2.2.3 Determinação da Presença de *Salmonella spp.*

A determinação da presença de *Salmonella* foi realizada a partir da técnica descrita pela APHA, modificada em relação a substituição do Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) pelo Ágar *Salmonella-Shigella* (SS).

O procedimento inicia-se com enriquecimento, que se constitui em adicionar 25g da amostra em 225mL de Caldo Lactosado. A solução foi incubada a 35°C por 24 horas (enriquecimento não seletivo). Do caldo não seletivo, foram retirados, com pipeta automática, 0,1mL e 1mL para tubos contendo 10mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) e 10mL de Caldo de Enriquecimento Tetrionato (TT), respectivamente; sendo o primeiro incubado em banho-maria a 42,5°C por 24 horas, e o segundo a 35°C/24h. Após o enriquecimento, inoculações por esgotamento foram realizadas em placas duplicadas contendo Ágar Sulfito Bismuto (BS), Ágar *Salmonella-Shigella* (SS) e Ágar *Hektoen Enteric* (HE) e incubadas em estufa a 35-37°C por 24 horas.

Transcorrida a incubação, as colônias com características de *Salmonella* (colônias marrons ou pretas com ou sem brilho metálico – Ágar BS; colônias incolores com ou sem centro preto – Ágar SS; e colônias verde-azuladas com ou sem centro preto – Ágar HE) foram repicadas, semeadas em profundidade e no bisel do Ágar Três Açúcares e Ferro (TSI) e Ágar Lisina-Ferro (LIA) e incubadas a 35°C por 24 horas; com o objetivo de confirmar a presença destes microrganismos. As salmonelas típicas apresentaram-se com rampa alcalina (vermelha) e fundo ácido (amarelo) com ou sem produção de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S)

(escurecimento do ágar) no TSI e com fundo e rampa alcalinos (púrpura) com ou sem produção de H<sub>2</sub>S (escurecimento do meio) no LIA<sup>84</sup>.

Todas as cepas que reagem positivamente como *Salmonella* spp, no TSI ou no LIA, foram repicadas e a incubadas a 35°C por 24 horas para as provas de identificação: SIM- motilidade (+), a produção H<sub>2</sub>S (+), produção de indol (-); MILi - motilidade (+), a produção de indol (-) e produção de lisina descarboxilase (+); Uréia- produção de urease (-/+); e Citrato de Simmons produção de citrato (+); apresentando esses resultados, as amostras foram consideradas positivas para *Salmonella* spp<sup>83</sup>.

#### **2.2.4 Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva**

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi determinada pela inoculação de 0,1mL de cada uma das diluições das amostras na superfície do Ágar *Baird-Paker* com o auxílio de alça de *Drigalsky*. Após incubação a 35-37°C por 48 horas, transferiu-se 3 colônias típicas com características deste microrganismo (negras, lustrosas, convexas, com 1 a 5mm de diâmetro, contornadas por halo de 2 a 5mm de largura) cada uma para um tubo contendo caldo de enriquecimento de infusão de cérebro e coração (BHI), as mesmas foram incubadas a 35-37°C por 24 horas. Comprovou-se a presença de *S. aureus* através da identificação morfológica pela coloração de *Gram* e da posituação das provas bioquímicas da catalase (surgimento de borbulhas em cima do inóculo, quando em contato com peróxido de hidrogênio a 3%); da coagulase (formação de coágulo ao misturar cultura com plasma de coelho com EDTA - Ácido EtilenoDiamino Tetra-Acético) e da DNase termorresistente (aparecimento de halo transparente ao redor da colônia quando em contato com ácido clorídrico a 50%).<sup>83</sup>.

### 2.2.5 Contagem de *Bacillus cereus*

A contagem de *Bacillus cereus* foi realizada, segundo técnica indicada pela FDA<sup>85</sup>, pela inoculação de 0,1mL de cada uma das diluições das amostras na superfície do Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (AMYP) seletivo para *Bacillus cereus* com o auxílio de alça de *Drigalsky*. Depois da inoculação as placas foram incubadas invertidas em estufa a 30°C por 24 horas, transcorrido o tempo, transferiram-se 3 (três) colônias típicas com características deste microrganismo (rugosas, secas e com coloração de rosada até púrpura, rodeadas por halo branco) cada uma para um tubo com Ágar Nutriente inclinado e foram incubadas a 30°C por 24 horas. A presença de *B. cereus* foi comprovada por meio da realização das provas bioquímicas de crescimento rizóide (+) apresentando crescimento tipo raiz de cabelo quando semeado inóculo em placa de ágar nutriente; atividade hemolítica (+) formando halo de hemólise ao redor das colônias em placa de ágar TSA-sangue; e teste da catalase (+) surgimento de borbulhas em cima do inóculo, quando em contato com peróxido de hidrogênio a 3%<sup>83,85</sup>.

### 2.2.6 Divulgação dos resultados da pesquisa sobre a contaminação de *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes especializados e não-especializados em comida japonesa na cidade de Maceió.

Foram observados critérios éticos, não divulgando o nome dos estabelecimentos comerciais que participaram da amostragem. Na publicação e divulgação dos resultados os restaurantes foram identificados por letras do alfabeto e não por nomes; preservando o anonimato dos locais. Por se tratar, entretanto, de um interesse de saúde pública, foi emitido relatório geral, seguindo os preceitos

éticos de preservação de identidade, para as autoridades sanitárias municipais e estaduais revelando o nível de contaminação encontrado para que os órgãos fiscalizadores competentes investiguem e solicitem aos estabelecimentos que comercializam este tipo de alimentos tomem as providências para produzir alimentos seguros à saúde do comensal.

### **2.2.7 Análise Estatística**

Para verificar se houveram contrastes significativos nos achados quantitativos de Coliformes à 35°C, Coliformes à 45°C, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* utilizou-se, a princípio, o teste de normalidade *Kolmogorov-Smirnov Z* (KS), seguido do teste “t” de *Student*. Os achados qualitativos de *Salmonella* spp e *E. coli* foram avaliados pelo teste do Qui-Quadrado. Ambos os testes foram realizados no software SPSS versão 11.0 e os gráficos foram elaborados no Microsoft Office Excel 2003, sendo o nível de significância adotado de  $P < 0,05$  para comparar o nível de contaminação e o de segurança no consumo de comida japonesa nos diversos estabelecimentos investigados.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os *sushis* e *sashimis* como são alimentos preparados à base de pescados crus, por serem normalmente manipulados ou preparados em condições higiênico-sanitárias precárias podem estar contaminados. Os microrganismos veiculados nas preparações podem fazer parte da microbiota normal do alimento, podem ser

indicadores de higiene insatisfatória durante a fabricação ou podem ser patogênicos<sup>60</sup>.

Nos estabelecimentos que realizavam o preparo das iguarias de forma visível ao público pôde se observar que os *sushimen* usavam utensílios de madeira, pano para facilitar a montagem dos *sushis*, borrifador de plástico ou tigela com condimentos para temperar as preparações. Depois de prontas, às preparações eram encaminhadas ao consumo direto nas mesas ou eram colocadas num bufê. Os manipuladores faziam uso de avental, uma proteção para o cabelo e nenhum deles utilizava luvas.

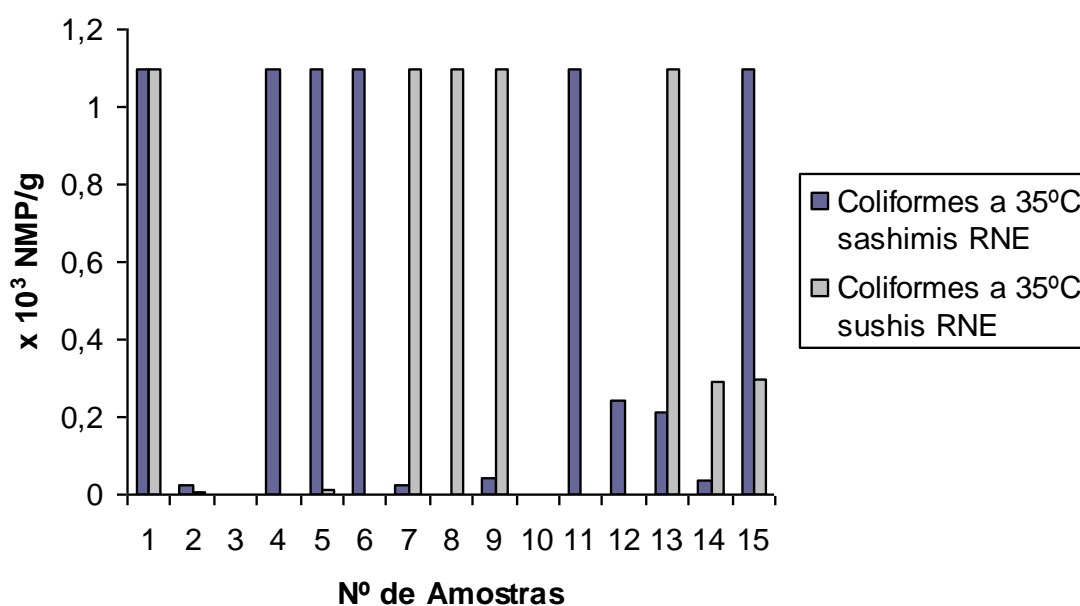
Em se tratando da forma de distribuição, 40% dos locais expunham para o consumo em balcões refrigerados, nos quais não foi possível verificar a temperatura, nem observar em nenhum dos momentos de coleta se os próprios restaurantes realizavam controle da temperatura de exposição dos alimentos; 40% comercializavam em bandejas em cima de pedaços de gelo e 20% distribuía em recipientes à temperatura ambiente, em média 25°C. Em todos estes restaurantes o tempo de distribuição era de aproximadamente 6 (seis) horas e o tempo de reabastecimento não pode ser observado.

Os resultados obtidos a partir das análises de *sushis* e *sashimis* comercializados na cidade de Maceió (AL), no período de novembro de 2007 a maio de 2008, estão descritos e comentados a seguir.

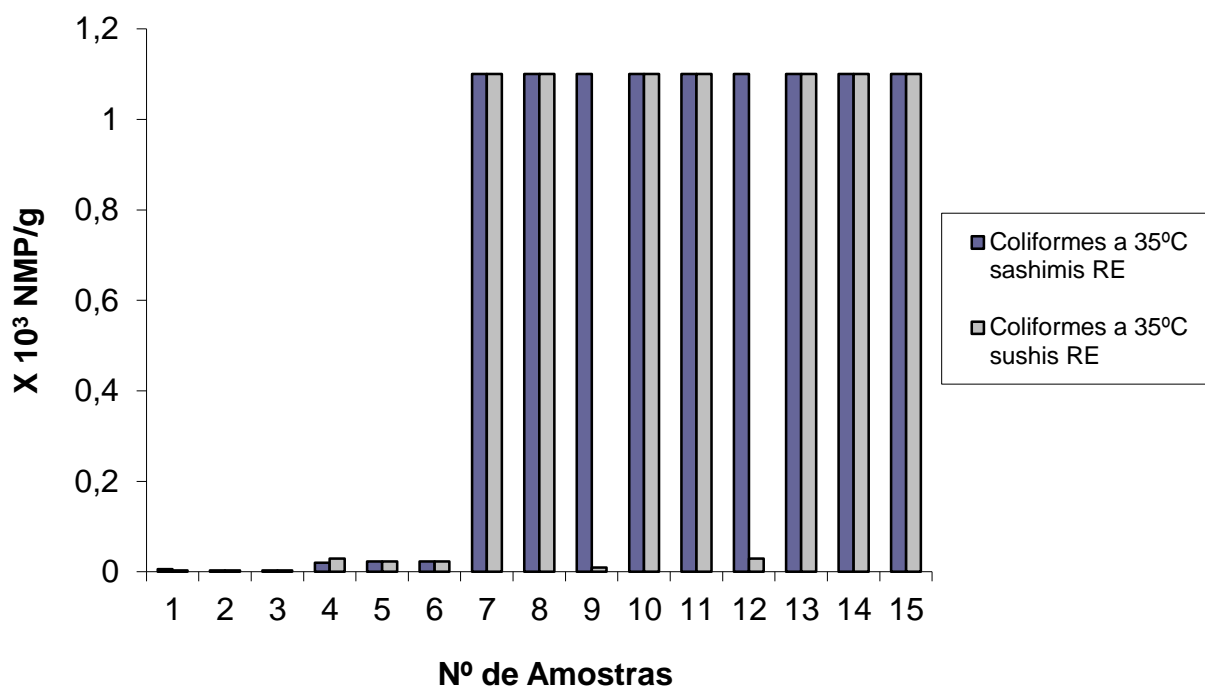
### **Coliformes a 35°C**

Os coliformes a 35°C são bactérias indicadoras, podendo ser usadas para inferir sobre as condições insatisfatórias de higiene após limpeza, sanitização ou processamento, quer através de tratamento térmico ineficiente ou multiplicação microbiana durante armazenamento inadequado<sup>86,87,88</sup>.

As contagens de coliformes a 35°C variaram de  $<3$  a  $>1,1 \times 10^3$  NMP/g em *sushis* e *sashimis* de restaurantes especializados e não especializados, conforme **Gráficos 1 e 2**. As enumerações de coliformes a 35°C foram  $>1,1 \times 10^3$  NMP/g em 27 (45%) amostras do total avaliado; contagens consideradas altas e indicativas de higiene ineficiente, sendo conveniente ressaltar que não houve diferença estatística significativa entre os dois tipos de restaurantes pesquisados ( $p < 0,005$ ).



**Gráfico 1. Variação do Número Mais Provável por grama de Coliformes a 35°C em *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.**



**Gráfico 2. Variação do Número Mais Provável por grama de Coliformes a 35°C em *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.**

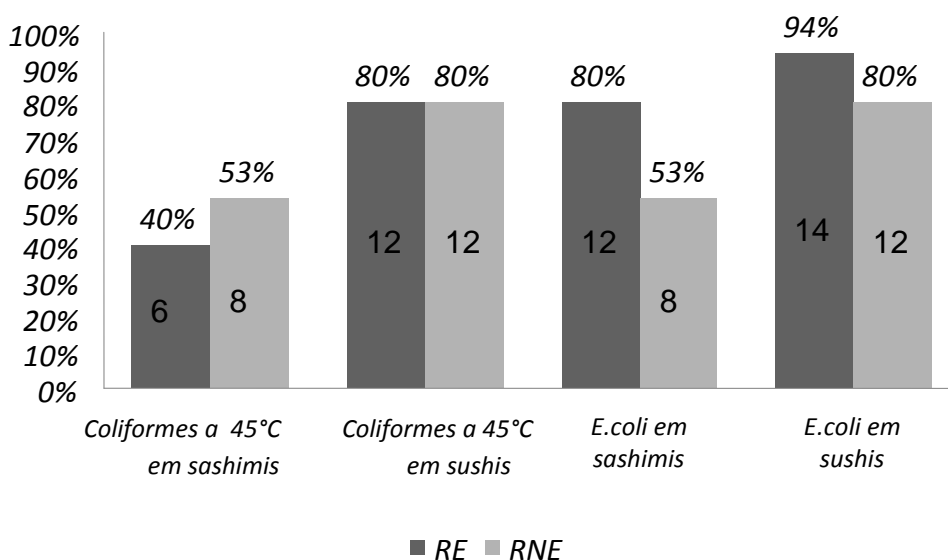
No Brasil, não há padrões legais estabelecidos para Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C por grama de *sushis* e *sashimis*; entretanto, por indicarem falhas durante o processamento, estas bactérias não são desejáveis em alimentos tão perecíveis quanto as iguarias japonesas. Como pode ser observado no **Gráfico 2**, as primeiras 12 amostras analisadas tiveram menores enumerações de coliformes a 35°C que as demais, tal fato se deve provavelmente a condições gerais de manipulação e distribuição praticadas nos estabelecimentos que estão permitindo crescimento microbiano. Tal inferência, no caso dos *sushis* e *sashimis*, pode refletir matéria-prima inadequada, manuseio inapropriado e utilização de superfícies e utensílios sem higienização adequada<sup>68</sup>.



### Coliformes a 45°C e *Escherichia coli*

A pesquisa de coliformes a 45°C é indicadora de condições higiênic-sanitárias de alimentos. Os coliformes a 45°C indicam especificamente contaminação de origem fecal, haja vista que grande parte da população bacteriana do grupo é de *E. coli*, sendo indicativa da eventual presença de enteropatógenos<sup>22,24,86</sup>. A contagem máxima de coliformes a 45°C permitida pela RDC n.º 12/2001 da ANVISA é de 10<sup>2</sup> NPM/g<sup>68</sup>.

No **Gráfico 3**, podem-se observar as médias percentuais de *sashimis* e *sushis* inadequados para o consumo de restaurantes especializados e não especializados; bem como o percentual médio de presença de *E. coli* nas amostras analisadas. Tais achados são indicativos de más condições de higiene e sanidade insatisfatórias, bem como possível presença de bactérias enteropatógenas.



**Gráfico 3. Médias percentuais e número absoluto de amostras com Coliformes a 45°C acima de 10<sup>2</sup>NMP/g e presença de *E. coli* em *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes especializados e não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.**

Das amostras avaliadas, 6 (40%) *sashimis* de RE e 8 (53%) de RNE e 12 (80%) *sushis* de RE e RNE estavam com contagens de coliformes a 45°C acima do

preconizado pela RDC nº. 12/2001 da ANVISA<sup>68</sup>, não havendo diferença significativa entre os restaurantes ( $p < 0,005$ )<sup>68</sup>.

Pode se observar, entretanto, que as contagens de coliformes a 45°C em *sushis* foram maiores que nos *sashimis*. Tal fato pode ser indicativo de matérias-primas com altas contagens de microrganismos, manipulação excessiva pela necessidade de serem moldados a mão; bem como condições inapropriadas de distribuição e armazenamento .

Em estudo realizado em Taiwan, por Fang et al<sup>89</sup> foram analisados 22 *sushis* dos quais 15 (68,2%) apresentavam coliformes a 45°C. Rezende<sup>80</sup> avaliando os mesmos alimentos em Brasília observou que 22 (25%) deles estavam acima do limite permitido pela legislação brasileira para coliformes termotolerantes. Soares & Germano<sup>8</sup> encontraram contagens de coliformes a 45°C entre  $1 \times 10$  a  $4 \times 10^3$  UFC/g nas 30 amostras de *sashimis* de peixes analisadas na cidade de São Paulo. No Diário Oficial de São Paulo, foi publicado um laudo de infração da Vigilância Municipal de Alimentos emitido a um estabelecimento que comercializava *sushis* com coliformes a 45°C acima do preconizado pela ANVISA<sup>30</sup> ( $< 10^2$  NMP/g).

Trabalho realizado por Martins<sup>18</sup> identificou 10 (50%) dos *sushis* e *sashimis* analisados, tanto de restaurantes não especializados quanto dos especializados, com coliformes a 45°C acima de  $10^2$  NMP/g, não havendo diferença estatisticamente significativa nas condições sanitárias dos pratos.

Os percentuais de contaminação por coliformes a 45°C encontradas nas iguarias japonesas de Maceió indicam que os alimentos apresentam falhas de higiene e manipulação, o que reforça que a qualidade do manancial, o tradicional preparo aos costumes japoneses e manipuladores inadequados são, em grande parte, responsáveis pela contaminação.

Em se tratando de *E. coli*, bactéria comumente encontrada na microbiota intestinal de animais de sangue quente, e quando detectada em alimentos é indicativa de contaminação microbiana de origem fecal, deficiência na qualidade higiênico-sanitária e risco potencial à saúde dos indivíduos, se linhagem patogênica de *E. coli* estiver contida no alimento<sup>18,22</sup>.

A presença de *E.coli*, conforme **Gráfico 3**, foi identificada em 12 (80%) e 8 (53%) *sashimis* comercializados, respectivamente, em RE e RNE; já os *sushis*, 14 (94%) dos vendidos em RE e 12 (80%) dos de RNE, continham a enterobactéria. Neste caso, sua presença pode expressar contaminação do local de captura, da água usada na fabricação do gelo para refrigeração do pescado, dos fômites utilizados durante o manuseio e das condições de higiene dos manipuladores.

Mesmo que a legislação do Brasil não exija a identificação de *E.coli* como parâmetro para segurança das iguarias japonesas, as análises foram realizadas tendo em vista que o isolamento da *E. coli* é reconhecidamente o melhor indicador de contaminação fecal em alimentos, pois apesar de comensal do trato gastrointestinal de homens e animais alguns sorotipos são patogênicos especialmente para imunocomprometidos como crianças, idosos e indivíduos com patologias imunodepressoras<sup>24, 81</sup>.

No ano de 1998, ocorreu no Japão um surto que acometeu 49 indivíduos com sintomas clínicos, de infecção por *E.coli* O157:H7, sendo identificado como causador *sushis* de ovas de salmão (*Ikura-sushi*)<sup>90</sup>. Entre os anos de 1997 e 1999, foram avaliados, em Hong Kong, 1926 amostras de *sushis* e *sashimis*, estando 13,8% dos *sushis* (141 do total de 1020) e 11,1% dos *sashimis* (101 do total de 906) contaminados com *E.coli*<sup>12</sup>.

Fang et al<sup>89</sup> em estudo realizado em Taiwan, identificaram 1 (4,6%) dos 22 *sushis* analisados com *E. coli*. Outra pesquisa realizada para avaliar 30 amostras de

*sashimis* de peixes marinhos comercializados em *shoppings centers* de São Paulo, não isolou *E. coli*<sup>8</sup>.

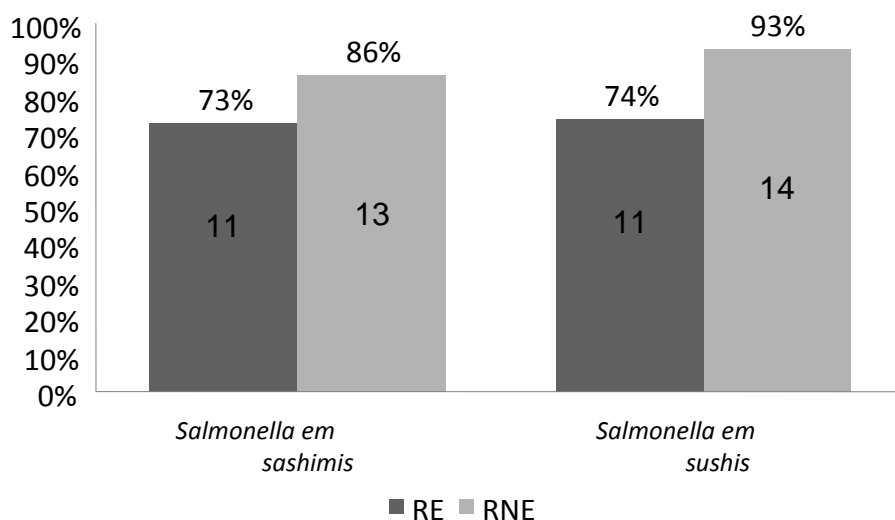
A *E. coli* foi isolada, por Martins<sup>18</sup>, em 10 (50%) amostras de restaurantes especializados e em 8 (41,7%) alimentos dos estabelecimentos não especializados em *sushis* e *sashimis* da cidade de São Paulo.

De forma geral, a detecção de coliformes a 45°C e *E. coli* foi relevante para indicar risco à saúde de indivíduos, que consumissem os alimentos contaminados sem nenhum tratamento térmico, devido à possibilidade de conter cepas enteropatogênicas.

### ***Salmonella* spp**

É um bacilo que têm como reservatórios naturais o trato digestório de aves, répteis e mamíferos; quando lançadas na natureza podem alcançar as águas e solo, já tendo sido isoladas de pescados, carnes, leite cru, hortaliças, ovos e seus produtos.

De acordo com o **Gráfico 4**, a contaminação por *Salmonella* spp foi de 13 (86%) e 11 (73%) *sashimis* comercializados, respectivamente, em RE e RNE; já os *sushis*, 11 (74%) dos vendidos em RE e 14 (93%) dos de RNE, continham a bactéria; significando que estavam impróprios para o consumo humano, uma vez que a legislação brasileira, RDC nº 12/2001 da ANVISA<sup>68</sup>, preconiza que deva haver ausência de *Salmonella* spp em 25g do alimento.



**Gráfico 4. Médias percentuais e número absoluto de sushis e sashimis, contendo *Salmonella* spp, comercializados em restaurantes especializados e não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.**

Sua identificação em iguarias japonesas indica possivelmente que os mananciais estavam contaminados, presença de indivíduos portadores assintomáticos manipulando alimentos, gêneros alimentícios mal higienizados, preparações insuficientemente cozidas e fômites contendo salmonelas (contaminação cruzada). O risco à saúde dos indivíduos que consumam *Salmonella* em alimentos é eminente, tendo em vista que estão envolvidas na maioria dos surtos de origem alimentar, e causam sintomatologias de alta gravidade e até óbitos.<sup>22,67</sup>.

Zhao et al<sup>93</sup> afirmaram que nos Estados Unidos ocorrem em média 1,4 milhões de casos de salmonelose anualmente, das quais 95% são de origem alimentar, com maior proporção de contaminação nos alimentos crus. No Brasil, o Centro de Vigilância Epidemiológica de São Paulo notificou, entre 1999 e 2003, 325 surtos de origem bacteriana dos quais 140 (43,1%) foram associados à *Salmonella*. Estimativas epidemiológicas inferem que ocorram aproximadamente 50 mil casos e 6 mil internações relacionadas a este microrganismo por ano<sup>94</sup>.

Millard & Rockliff<sup>91</sup>, Rezende<sup>80</sup> e Martins<sup>18</sup> não isolaram *Salmonella* spp em nenhuma das amostras de *sushis* e *sashimis* analisadas. Em contrapartida, Kumar et al<sup>67</sup> e Zaho et al<sup>93</sup> identificaram a bactéria em peixes, mas acreditam que a contaminação se deva a manipulação e processamento inadequados. Tal inferência é corroborada por Basti et al<sup>60</sup> que não detectaram *Salmonella* natural na microbiota de peixes recém-pescados.

Estudo com a finalidade de detectar *Salmonella* em dois restaurantes da cidade de Fortaleza (CE), isolou a bactéria no restaurante A em 2 (20%) *sushis* e 4 (40%) *sashimis*; já no restaurante B a presença do microrganismo foi detectada em 3 (30%) e 1 (10%) das preparações, respectivamente<sup>13</sup>.

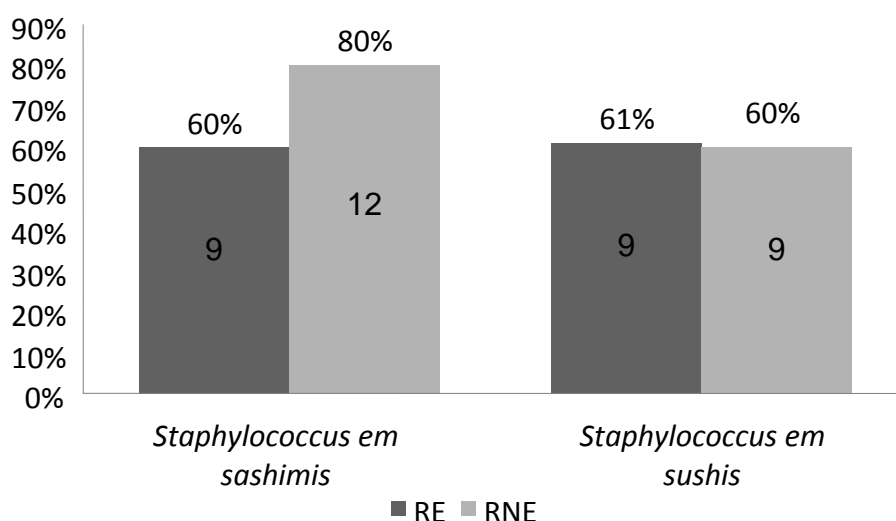
No presente estudo, a presença de salmonela nas amostras foi bastante expressiva, mas sem diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,005$ ) entre *sushis* e *sashimis*; inferindo que o manancial de captura podia estar poluído, a manipulação pode ter sido inadequada, com contaminação cruzada, ou havia nos estabelecimentos portadores assintomáticos da bactéria nos intestinos. Um dos motivos que pode ser relacionado como marcante é a probabilidade de contaminação cruzada com frangos ou ovos durante a manipulação de pescados nos estabelecimentos, já que todos produziam refeições quentes com base nestes alimentos; bem como a temperatura e o tempo a que os alimentos ficavam expostos antes de serem consumidos.

### ***Staphylococcus* spp**

Os estafilococos saprófitos da pele, mucosas, trato respiratório e digestório do homem e animais; são produtores de enterotoxinas termoestáveis e podem facilmente contaminar alimentos<sup>22,24</sup>. O manipulador de alimentos é a principal fonte de contaminação para as preparações; e o microrganismo em contagem de  $10^4$  já é

capaz de produzir toxina suficiente que pode provocar sintomas nos consumidores<sup>37,32</sup>.

No **Gráfico 5**, estão ilustrados os índices de estafilococos coagulase positiva detectados nos *sushis* e *sashimis* da cidade de Maceió – AL. Nas amostras, a contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva foi de 9 (60%) e 12 (80%) *sashimis* comercializados, respectivamente, em RE e RNE; já os *sushis*, 9 (61%) dos vendidos em RE e 9 (60%) dos de RNE, continham a bactéria; significando que estavam impróprios para o consumo humano, uma vez que a legislação brasileira, RDC nº 12/2001 da ANVISA<sup>68</sup>, preconiza que a contagem máxima deste microrganismo é de  $5 \times 10^3$  UFC/g.



**Gráfico 5. Médias percentuais e número absoluto de amostras com *Staphylococcus* coagulase positiva acima de  $5 \times 10^3$  UFC/g em *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes especializados e não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.**

No Brasil, a quantidade de *Staphylococcus* coagulase positiva é indicativa da presença de *S. aureus* em alimentos. Basti et al<sup>60</sup> não detectaram a bactéria em peixes recém-capturados, inferindo que este não é parte da microbiota normal, sendo, se encontrado, indicativo de contaminação na captura, manipulação ou

processamento. Martins<sup>18</sup> isolou o microrganismo em 9 (45%) dos *sushis* e *sashimis* avaliados em São Paulo.

A pesquisa de estafilococos, segundo a RDC nº. 12 da ANVISA<sup>68</sup>, é indicadora de contaminação pós processamento por mãos, secreções de orofaringe dos manipuladores ou fômites, significando qualidade inadequada de produção de alimentos. O valor limítrofe legal de contagem desta bactéria no país é de  $5 \times 10^3$  UFC/g em *sushis* e *sashimis*<sup>81</sup>.

Merece destaque a contagem bacteriana encontrada, evidenciando que a possibilidade de desencadeamento da intoxicação estafilocócica é alta, pois  $10^4$  UFC/g já são suficientes para a produção de toxinas, e foram achadas 14 (23,33%) amostras com contagens  $>6,5 \times 10^6$  UFC/g.

No Japão, o *S. aureus* é o agente etiológico responsável por 20 a 25% das DTAs, sendo o bolinho de arroz, usado no preparo do *sushi* (*nigiri*), o maior foco de contaminação<sup>95</sup>. Análises realizadas em *sushis* de atum, carapau, salmão e peixe pedra de 50 restaurantes de *Seattle*, nos Estados Unidos, revelaram que 6 (12%) estabelecimentos tinham arroz contaminado com *S. aureus*<sup>96</sup>.

No estudo de Fang et al<sup>89</sup> foi isolado *S. aureus* em 22 (13,6%) amostras de *sushis* de Taiwan. Millard & Rockliff<sup>91</sup> identificaram contagem entre  $10^3$  e  $10^4$  UFC/g de *S. aureus* coagulase positiva em 3 (5,4%) *sushis* analisados na Austrália. No Brasil, Rezende<sup>80</sup> encontrou 1 (1,14%) *sushi* com UFC/g de *S. aureus* acima do que preconiza a legislação de alimentos da ANVISA<sup>68</sup>.

No trabalho de Martins<sup>18</sup> 2 (25%) amostras de restaurantes especializados se encontravam com *S. aureus* e desta 1 (12,5%) estava acima do limite. Nos restaurantes não especializados, 12 (58,3%) foram positivas para estafilococos, das quais 2 (16,7%) estavam acima do limite permitido pela RDC nº. 12/2001 da ANVISA<sup>68</sup>.



Estudo desenvolvido por Albuquerque et al<sup>97</sup> pesquisaram 30 amostras de *sushis* comercializados em Fortaleza, das quais 17 (57%) apresentaram estafilococos coagulase positiva e 13 (43%) estavam acima do limite permitido pela ANVISA<sup>68</sup>.

Segundo Albuquerque et al<sup>97</sup> o limite de permissibilidade de estafilococos coagulase positiva em alimentos consumidos crus ( $5 \times 10^3$  UFC/g) onde se incluem os *sushis*, pode ser considerado alto se comparado com o artigo 7º da própria legislação que estabelece dose de apenas  $10^3$  UFC/g para pescados *in natura* resfriados ou congelados. Por serem produzidos por meio de intensa manipulação e conterem pescados crus, os *sushis* podem facilmente causar toxinfecções alimentares.

Os percentuais de contaminação por estafilococos detectados neste trabalho foram significantes, tanto em número de amostras contendo a bactéria quanto nas contagens de UFC/g encontradas; sugerindo que os utensílios usados no preparo dos alimentos e os manipuladores estão constituindo fonte de contaminação de *sushis* e *sashimis*. A situação é agravada pelos alimentos serem distribuídos em condições de tempo e temperatura precárias, o que gera risco de intoxicação estafilocócica.

### ***Bacillus cereus***

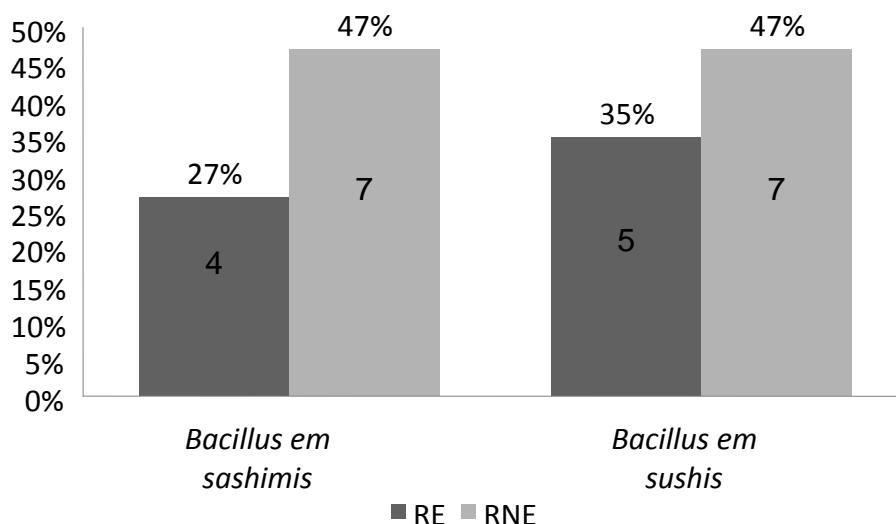
São microrganismos formadores de esporos e produtores de enterotoxinas durante o crescimento microbiano e se a bactéria atingir contagens de  $10^6$  é indício de risco à saúde do consumidor<sup>22</sup>. O *Bacillus cereus* tem como reservatório natural o solo, sendo amplamente distribuído na natureza. Preparações à base de cereais ou com porções de proteínas, se cozidos ou mantidos sob

refrigeração inadequada (10 a 50°C) irão permitir que os esporos germinem e a multiplicação de bacilos aconteça<sup>98</sup>.

A RDC nº12 da ANVISA<sup>68</sup>, não determina como necessário o isolamento de *B. cereus* em *sushis* e *sashimis*, mas considerando que os *sushis* são pratos prontos para o consumo e são elaborados à base de arroz; sendo este cereal é o principal incriminado em intoxicações bacilares; foram realizadas as determinações.

O **Gráfico 6** representa as amostras de preparações nipônicas que continham *B. cereus* comercializadas em Maceió – AL. Nas amostras, a contaminação por *B. cereus* foi de 4 (27%) e 7 (47%) *sashimis* comercializados, respectivamente, em RE e RNE; já os *sushis*, 5 (35%) dos vendidos em RE e 7 (47%) dos de RNE, continham a bactéria; sugerindo que se forem oferecidas às condições de tempo e temperatura ideais para o crescimento microbiano poderia haver a possibilidade de produção das toxinas eméticas ou diarréicas, próprias do *Bacillus cereus*.

Apesar das metodologias de isolamento desta bactéria determinar as contagens de *B. cereus*, nos resultados do estudo foi considerada a presença do microrganismo nas amostras como preditor de qualidade e inocuidade alimentar, pois a legislação brasileira não determina esta bactéria como parâmetro para análise de alimentos nipônicos. Convém ressaltar, no entanto, que neste trabalho, o microrganismo foi considerado e isolado devido ao seu potencial toxigênico e patogenicidade em humanos.



**Gráfico 6. Médias percentuais e número absoluto de amostras contendo *Bacillus cereus* em *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes especializados e não especializados em culinária nipônica de Maceió-AL, no período de 2007 e 2008.**

Nos Estados Unidos as análises realizadas por Adams et al<sup>96</sup> em amostras de *sushis* de 50 restaurantes, 6 (12%) continham *B. cereus*. No estudo de Millard & Rockliff<sup>91</sup> 1 (1,8%) amostra teve contagem de bacilos superior a  $10^4$  UFC/g e outras 2 (3,6%) tiveram contagens entre  $10^3$  e  $10^4$  UFC de *B. cereus* por grama. Em Taiwan, foi detectado *B. cereus* em 4 (18,2%) *sushis*<sup>89</sup>.

Na pesquisa de Martins<sup>18</sup> os restaurantes não especializados apresentaram 2 (16,7%) amostras contaminadas; já nos especializados, 1 (12,5%) tinha *Bacillus cereus*. A contaminação por *B. cereus* em alimentos não é tão disseminada, mas como os sintomas são significativamente graves, a prevenção contra sua presença em alimentos é de suma importância epidemiológica.

De forma geral, as investigações apontam como principais motivos para o surgimento da contaminação de *sushis* e *sashimis*: condições inadequadas de pesca, manejo e comercialização dos pescados; manipuladores sem certificado de exames de saúde periódico; alimentos crus mal manuseados; higienização

inadequada do local de preparação; intervalo amplo de tempo entre a preparação dos pratos e o consumo; temperatura alta na área de preparo; e *sushimen* e auxiliares sem equipamentos de proteção individual. Nenhum dos itens citados, relacionados com o local de produção das iguarias, puderam ser considerados satisfatórios durante a coleta das amostras do atual estudo.

Somando os indícios, os resultados da pesquisa demonstraram um alto nível de contaminação dos pratos nipônicos comercializados em Maceió, 27 (90%) *sushis* e 28 (93,33%) *sashimis*, estavam impróprios para consumo humano por apresentarem Coliformes a 45°C, *Salmonella* ou *Staphylococcus* coagulase positiva acima do permitido pela RDC nº12/2001 da ANVISA. É conveniente salientar que o consumo destas iguarias deve ser contra-indicado para pessoas com deficiência imunológica como gestantes, crianças, idosos, indivíduos portadores de doenças crônicas ou imunologicamente comprometidos.

#### 4. CONCLUSÃO

Mediante o exposto, pode-se concluir que:

- Houve enumeração elevada de Coliformes a 35 °C, Coliformes a 45°C e alta presença de *E. coli*, sugerindo forma inadequada de manipulação e distribuição a que estes alimentos estão sujeitos tanto nos restaurantes especializados quanto não especializados, bem como possível presença de outras bactérias entéricas;
- A contaminação foi de 27 (90%) *sushis* e 28 (93,33%) *sashimis* por apresentarem Coliformes a 45°C, *Salmonella* ou *Staphylococcus* coagulase positiva acima do permitido pela RDC nº12/2001 da ANVISA;

- O microrganismo mais freqüente nas amostras de *sushis* e *sashimis* analisadas foi *Salmonella spp.*, seguido de estafilococos coagulase positiva e *B. cereus*. A primeira passível de ocasionar infecções entéricas, e as últimas capazes de causar toxinfecções alimentares;
- Há indícios de que a matéria-prima, manipulação e distribuição dos *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes especializados ou não em culinária japonesa na cidade de Maceió–AL estejam inadequadas, haja vista que foi detectada alta presença de *Salmonella spp* e elevadas contagens de estafilococos coagulase positiva, capazes de contaminar alimentos, pode ser potencialmente causadoras de doenças transmitidas por alimentos.

**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No decorrer deste trabalho, procurou-se evidenciar, através do artigo de revisão da literatura e de resultado, o risco a que a população está submetida ao consumir *sushis* e *sashimis* preparados à base de pescados crus, tanto pela microbiota da matéria-prima utilizada quanto pela introduzida durante a manipulação a que são submetidos. Verificou-se que durante a distribuição são proporcionados tempo e temperatura suficientes para que os microrganismos tenham condições de se multiplicarem e até produzirem toxinas, se forem toxigênicos.

Em função da pesquisa, constatou-se que os hábitos tradicionais de preparo das iguarias japonesas são um dos principais responsáveis pelo alto nível de contaminação. Desta forma, faz-se necessário que os estabelecimentos que produzem e comercializam refeições nipônicas tenham consciência da sua responsabilidade social e com a saúde pública; e busquem através da implantação das Boas Práticas de Fabricação, minimizar a probabilidade de contaminação destes alimentos altamente manipulados e consumidos crus, com o objetivo de preservar a segurança alimentar e nutricional dos consumidores.

**REFERÊNCIAS**



## REFERÊNCIAS

1. Souza SS, Pelicioni MCF, Pereira IMTB. A vigilância sanitária de alimentos como instrumento de promoção de saúde: relato de experiência de educação em saúde para o comércio varejista de alimentos e construção de um projeto de parceria. *Higiene Alimentar*, São Paulo, 2003; 17(113): 33-37.
2. Germano MIS, Germano PML, Castro PA, Andrighetto C, Babadopulos P, Koshio S, Pedro SCM, Combari V. Comida de rua: prós e contras. *Higiene Alimentar*, São Paulo, 2000a; 14 (76): 27-29.
3. World Declaration on Nutrition. In: FAO/WHO International Conference on Nutrition; 1992 Rome, Italy. Available from <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/economic/esn/icn/icnonts.htm>.
4. CDC (Centers for Disease Control). Outbreak of *Salmonella* serotype Muenchen infections associated with unpasteurized orange juice: United States and Canada. *JAMA*, 1999; 282:726-8.
5. Oliveira AM, Gonçalves MO, Shinohara NKS, Stamford TLM. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. *Higiene Alimentar*, São Paulo, 2003; 17(114/115):12-18.
6. Sousa CP de. *Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. Revista de APS, Minas Gerais, 2006; 9(1):83-88.*
7. Balbini APS & Butugan O. Contaminação biológica de alimentos. *Pediatria*. São Paulo, 2001; 23 (4): 320-8.
8. Soares CM & Germano PML. Análise da qualidade microbiológica de *sashimis*, comercializados em *shopping centers* da cidade de São Paulo, Brasil. *Revista Higiene Alimentar*, 2004; 18 (116/117):88-92.
9. Molins RA, Motarjemi Y e Käferstein FK. Irradiation: a critical control point in ensuring the microbiological safety of raw foods. *Food Control*, 2001; 12: 347-356. Washington, USA. Available on line at [www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro](http://www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro).
10. Novotny L, Dvorska L, Lorencova A, Beran V, Pavlik I. Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. *Vet. Med. – Czech*, 2004; 49 (9): 343-358.

11. Mársico ET, Oliveira CM de, Ferreira PV, Antunes L, Sobreiro LG. Avaliação da qualidade de *Sushis* e *Sashimis* Comercializados em *Shopping Centers*. *Revista Higiene Alimentar*, 2006; 20 (147): 63-65.
12. HKSAR (Risk Assessment Studies of Hong Kong). Food and Environmental Hygiene Department. *Sushi & sashimi* in Hong Kong. Report nº 2. Microbiological Hazards Evaluation. Hong Kong, april, 2000.
13. Menezes FGR, Silva CM, Carvalho FCT, Sousa DBR & Vieira RHSF. *Salmonella* e *Staphylococcus* coagulase positiva em *sushis* e *sashimis* comercializados na cidade de Fortaleza, Ceará. In: II Simpósio de Controle do Pescado: Segurança Alimentar, 2006, São Vicente. Resumo Expandido do II Simpósio de Controle do Pescado: Segurança Alimentar, 2006. Available online at <ftp://ftp.sp.gov.br/ftpescallsimcope/402.pdf>.
14. Abe, LT, Prado, SPT, Iha, MH. Alimentos: uma preocupação constante. *Boletim do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, 2002; 12 (2): 12-13.
15. Kruse H. Globalization of the food supply-food safety implications special regional requirements: future concerns. *Food Control*, 1999, 10:315-320.
16. CDC (Centers of Disease Control). Preventing Emerging Infections Diseases: A Strategy for the 21<sup>st</sup> Century. [on line] Available from: <URL: <http://www.cdc.gov/ncidod>>.
17. Schlundt J. New directions in foodborne disease prevention. *Internacional Journal of Food Microbiology*, 2002; 78: 3-17.
18. Martins F de O. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (*sushi* e *sashimi*) a base de pescado cru servidas em bufês na cidade de São Paulo. São Paulo, 2006. [Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública].
19. Hall JÁ, Goulding JS, Bean NH, Tauxe RV, Hedberg CW. Epidemiologic Profiling: Evaluation of foodborne outbreaks for which no pathogen was isolated by routine laboratory testing: United States, 1982-1989. *Epidemiology and infection* 2002; 127:381-387. Available from <<http://www.euro.who.int/document/fos/news72e.pdf>>.
20. CDC (Centers of Disease Control). Foodborne illness, 2005a [on line] Available from: <URL: <http://www.cdc.gov/ncidod>>.

21. WHO (World Health Organization) 2002b. WHO Fact sheet 237: Food Safety and Foodborne Illness. Available from: <[URL:http://www.who.int/inffs/en/fact237.html](http://www.who.int/inffs/en/fact237.html)> .
22. Franco BDGM & Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 1996.
23. FDA (Food and Drug Administrations). Center for food safety and applied nutrition. Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook, 2005. [on line]. Available from <[URL:http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html](http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html)>.
24. Forsythe SJ. Microbiologia da Segurança Alimentar. Trad. de MCM Guimarães e C Leonhardt. Porto Alegre: Artmed; 2002.
25. Huss HH, Reilly A, Embarek PKB. Prevention and control of hazards in seafood. Food Control 2000; 11:149-156.
26. Tauxe RV. Emerging foodborne pathogens. International Journal of Food Microbiology 2002; 78 (1-2):31-41.
27. Summer J & Ross T. A semi-quantitative seafood safety risk assessment. International Journal of Food Microbiology, Tasmania, Australia, 2002; 77: 55-59. Available [on line] [www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro](http://www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro) .
28. Bremer PJ, Fletcher GC & Osborne C. Salmonella in seafood. New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited. New Zealand, 2003.
29. Eduardo MB de P, Katsuya EM, Bassit NP. Características dos surtos de doenças transmitidas por alimentos associados a restaurantes no Estado de São Paulo – 1999-2002. [on line]. In: CVE – Inquéritos e Estudos epidemiológicos. São Paulo; 2003b. Available from <[URL:http://www.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/hidrica/restaur\\_mbpe3.doc](http://www.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/restaur_mbpe3.doc)> .
30. CVE (Centro de Vigilância Epidemiológica). Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Dados de surtos de DTA por semana epidemiológica e municípios (dados preliminares) revisados em agosto/2004. [on line]. In: Surtos de doenças transmitidas por alimentos notificados ao CVE; 2004. Available from [URL:http://cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dta\\_estat.htm](http://cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dta_estat.htm).

31. IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) Óbitos hospitalares, São Paulo-SP, 2006. [on line] Available from: <  
[URL:http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php](http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php)>.
32. SILVA Jr EA da. Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos, 5ª Ed. São Paulo: Varela, 2002.
33. Brasil. Decreto nº 30691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Diário Oficial da União, Brasília/DF, 07 jul. 1952. Seção I, p. 10785. Available from:  
<[URL:http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/rispoa.html#decreto30691](http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/rispoa.html#decreto30691)  
≥ [2003 oct 8]
34. Brasil. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado). Diário Oficial da União, Brasília, 19 maio 1997. Seção I, p. 10282.
35. Huss HH. Garantia da qualidade dos produtos da pesca. FAO Documento técnico sobre as pescas, nº 334. Roma, 1997.
36. Diaz JH. Is fish consumption safe? Journal of the Louisiana State Medical Society 2004; 156(1):42-9.
37. Jay JM. Modern Food Microbiology. 6ª Ed. Gaithersburg: Aspen Publishers; 2000.
38. Hanashiro A. Avaliação da Qualidade Higiênico-Sanitária e Nutritiva de Bentôes Comercializados no Bairro da Liberdade, São Paulo. São Paulo, 2002. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública (FSP)/USP].
39. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), FAOSTAT: *Database Fisheries Data 2005*. Available from:  
<[URL:http://faostat.fao.org/faostat/collections?version=ext&hasbulk=0&subset=fisheries](http://faostat.fao.org/faostat/collections?version=ext&hasbulk=0&subset=fisheries)>
40. Fritsch J. A hora e a vez do peixe. Revista Higiene Alimentar 2004; 116/117. [on line] Available from:  
<[URL:http://www.higienealimentar.com.br/revista/ed117/edito.htm](http://www.higienealimentar.com.br/revista/ed117/edito.htm)>.
41. Wiefels R. El consumo de pescado y las estrategias de comercialización. Infopesca Internacional 2003; 16:11-19.

42. APHA (American Public Health Association). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3<sup>a</sup> ed. Washington, DCC Vanderzant & DF Splittstoesser, 2001.
43. Soares CM & Germano PML. Características Microbiológicas e Físico-químicas do Salmão (*Salmo salar*) utilizado em *sashimis*. Revista Higiene Alimentar, 2005; 19 (135): 59-63.
44. Gaspar JR, Vieira RHS, Taipa MRS. Aspectos sanitários do pescado de origem de água doce e marinha, comercializados na feira de Gentilândia, Fortaleza-Ceará. Revista Higiene Alimentar, 1997; 11 (51): p.20-23.
45. Vieira KVM, Maia DCC, Janebro DI, Vieira RHSF, Ceballos BSO. Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de tilápias (*Oreochromis niloticus niloticus*) em filés congelados. Revista Higiene Alimentar, 2000; 11 (71):37-40.
46. Martins CVB, Vaz SK, Minozzo MG. Aspectos sanitários de pescados comercializados em “pesque-pagues” de Toledo - PR. Revista Higiene Alimentar, 2002; 16 (98):51-56.
47. Oliveira EO de; Pinheiro, Le da L. Projeto de Implantação do sistema APPCC na produção de peixe. Revista Higiene Alimentar, vol.20, nº 139, março, p.20-26, 2006.
48. Hayes, PR. Microbiologia e Higiene de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1993
49. Nickelson II R, Mccarthy S e Finne G. Fish, crustaceans and precooked seafoods. In: Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods. APHA, 4 ed., 2001; 48:497-505.
50. Rasmussen SKJ, Ross T, Olley J e McMeekinT. A process risk model for the shelf life of Atlantic salmon fillets. International Journal of Food Microbiology, Tasmania, Australia, 2002; 73:47-60. Available on line at [www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro](http://www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro).
51. Gonçalves, PMR. O pescado e as bactérias do meio ambiente. Revista Higiene Alimentar, 2004; 18 (116/117): 29-32.
52. Muatori MCS, Costa APR, Viana CM, Rodrigues PC, Podestá Jr RL de. Qualidade Sanitária de Pescado “in natura”. Revista Higiene Alimentar, 2004; 18 (116/117): 50-54.

53. Barboni SAV. Ocorrência de *Vibrio* spp potencialmente patogênicos em moluscos bivalves comestíveis comercializados nos anos 2000 a 2002, nos municípios da área de influência da Baía de Todos os Santos e Valença, Bahia – Brasil. São Paulo, 2003. [Tese de doutorado – Faculdade de Saúde Pública (FSP)/USP].
54. Nascimento M. Parasitos associados aos alimentos exóticos. Revista Higiene Alimentar, Brasília, 1997; 11 (48): 44-55.
55. Kubitz F. Principais Parasitoses e Doenças dos Peixes Cultivados. Jundiaí, Acribia. São Paulo, 1994.
56. Emmel VE, Inamine E, Secchi C, Brodt TCZ, Amaro MCO, Cantarelli VV, Spalding S. *Diphyllobothrium latum*: relato de caso no Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2006; 39:82-84.
57. Doyle E. Foodborne parasites. A review of the scientific literature. Food research institute briefings. Outubro 2003. Available at <http://www.wisc.edu/fri/briefs.htm>.
58. Prado S de PT e Capuano DM. Relato de nematóides da família *Anisakidae* em bacalhau comercializado em Ribeirão Preto, SP. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2006; 39(6): 580-581.
59. Arthurs C. Parasitos encontrados em peixes que afetam pessoas no Sul e Leste da Ásia. Saúde & Tecnologia. Vietnã, Agosto de 2002. Available at [www.bbcuk./portuguese/ciência](http://www.bbcuk./portuguese/ciência).
60. Basti AA, Misaghi A, Salehi TZ, Kamkar A. Bacterial pathogenes in fresh, smoked and salted Iranian fish. Food Control, 2006; 17: 183-188.
61. Reij MW, Den Aantrekker ED. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. International Journal of Food Microbiology, 2004; 91:1-11.
62. Morita M. Avaliação da qualidade sanitária e ocorrência de *Aeromonas* spp. em lagoas de pesque-pesque da região metropolitana de São Paulo. São Paulo, 2005. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública (FSP)/USP].
63. Simon SS & Sanjeev S. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. Food Control, 2007; 18:1565-1568. Available at [www.elsevier.com/locate/foodcont](http://www.elsevier.com/locate/foodcont).

64. BRASIL. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria n o1: aprova padrões microbiológicos para alimentos. In: Associação Brasileira Das Indústrias Da Alimentação. Compêndio da legislação de alimentos. São Paulo: ABIA, 1989.
65. Gaspar Jr JC, Vieira RHS dos F e Tapia MSR. Aspectos sanitários do pescado de origem de água doce e marinha, comercializado na feira da Gentilândia, Fortaleza – Ceará. *Revista Higiene Alimentar*, 1997; 11(51): 20-23.
66. González-Rodríguez MN, Sanz JJ, Santos JA, Otero A, García-López ML. Foodborne pathogenic bacteria in prepackaged fresh retail portions of farmed rainbow trout and salmon stored at 3°C. *International Journal of Food Microbiology*, León, Spain, 2002; 76:135-141. Available at [www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro](http://www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro)
67. Kumar, HS, Sunil R, Venugopal, MN, Karunasagar Indrani, Karunasagar Iddya. Detection of *Salmonella* spp. in tropical seafood by polymerase chain reaction. *International Journal of Microbiology*, 2003; 88:91-95. Available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com).
68. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 10 de jan 2001. [on line]. Available at <http://e-legis.bvs.br/leiref/public/showAct.php?id=144&word=sushi>.
69. Almeida Filho ES de, Sigarini C de O, Lindner AL, Sales KG, Eustáquio E, Stelatto E, Ribeiro JN, César APR. Avaliação microbiana de “pintado” (*Pseudoplatystoma fasciatum*), proveniente da região do pantanal matogrossense e comercializado na cidade de Cuiabá, MT, Brasil. *Revista Higiene Alimentar*, 2003; 17(114/115): 81-84.
70. Pacheco T de A, Leite RGM, Almeida AC de, Silva N de MO, Fiorini JE. Análise de coliformes e bactérias mesofílicas em pescado de água doce. *Revista Higiene Alimentar*, 2004; 18 (116/117): 68-72.
71. Álvares PP, Martins L, Borghoff T, Silva WA da, Abreu TQ de, Gonçalves FB. Análise das características higiênico-sanitárias e microbiológicas de pescado comercializado na grande São Paulo. *Revista Higiene Alimentar*, 2008; 22 (161): p.88-93.

72. Cabello FC. Salmon Aquaculture and Transmission of the Fish Tapeworm. *Emerging Infectious Diseases*, New York, 2007; 13 (1):169-170.
73. ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Alerta e recomendações referentes a casos de difilobotríase no município de São Paulo. Brasil, 2005. [on line].
74. Pereira AD, Atui MB, Torres DMAGY, Mangini ACS, Zamboni CQ. Incidência de parasitos da família *Anisakidae* em bacalhau (*Gadus morhua*) comercializado no Estado de São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 2000; 59:45-9.
75. Okumura MPM. *Sushi e sashimi x segurança para o consumidor*, 2005. Available at <http://www.bichoonline.com.br/artigos/Xmp007.htm>.
76. Matté MH, Baldassi L, Barbosa ML, Malucelli MIC, Nitrini SMOO, Matté GR. Virulence factors in *Vibrio metschnikovii* strains isolated from fish in Brazil. *Food Control*, 2006; Article in press. Available on line.
77. Santos RM dos. Avaliação da qualidade higiênico-sanitárias de peixes comercializados em mercados municipais da cidade de São Paulo-SP. São Paulo, 2006. [Dissertação de Mestrado - Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública].
78. Hamada-Sato N, Usui K, Kobayashi T, Imada C, Watanabe E. Quality assurance of raw fish base on HACCP concept. *Food Control*, 2005; 16:301-307.
79. Canecchio O. Chegamos a 278 *sushis* por minuto. *Veja São Paulo*, 2003; 23:14-22.
80. Rezende A. Análise microbiológica, de metais contaminantes (Hg e Pb), e metais nutricionais (Zn e Cu) em *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes de Brasília. Brasília, 2004. [Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília, Instituto de Química].
81. Silva N da, Junqueira VCA, Silveira NF de A. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 2ª edição. São Paulo: Varela, 2001.
82. Vermelho AB, Pereira AF, Coelho R, Souto-Pradrón T. *Práticas de Microbiologia*. 1ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
83. Siqueira RS de. *Manual de microbiologia de alimentos*. Brasília: SPI-EMPRABA, 1995.



84. Andrews WH & Hammack TS. *Salmonella*. In: *Food and Drug Administration. Bacterial Analytical Manual. Revision A. 8ª ed.* Arlington: AOAC Internacional, 1998:501-519.
85. USA. U. S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Processing Parameters Needed to Control Pathogens in Cold Smoked Fish: Description of the Situation. USA, 2001.
86. Webster LF, Thompsonbc, Fulton MH, Chestnut DE, Dolah RFV, Leighy AK. Identification of sources of *Escherichia coli* in South Carolina estuaries using antibiotic resistance analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 2004; 298:179-195.
87. Mouchrek Filho VE, Nascimento AR, Mouchrek Filho JE, Santos AA dos, Marinho SC, Martins, AGL de A, Garcias Júnior AV, Chaar J sa S. Avaliação da qualidade microbiológica e bromatológica do pirarucu (*Arapaima gigas*) salgado-seco, comercializado nas feiras-livres da cidade de Manaus – AM. *Revista Higiene Alimentar*, 2003; 17 (111):66-72.
88. Meays CL, Broersma K, Nordin R, Mazumder A. Source tracking fecal bacteria in water: a critical review of current methods. *Journal of Environmental Management*, 2004; 73: 71-79.
89. Fang TJ, Wei Q-K, Liao C-W, Hung M-J, Wang T-H. Microbiological quality of 18°C ready-to eat food products sold in Taiwan. *Internacional Journal of Foods Microbiology* 2003; 80: 241-250.
90. Terajima J, Izumiya H, Iyoda S, Tamura K, Watanabe H. Detection of a multiprefectural *E. coli* O157:H7 outbreak caused by contaminated Ikura-sushi ingestion. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 1999; 52 (2): 52-53.
91. Millard G, Rockliff S. Microbiological quality of *sushi*. [on line]. In: Health services – Food Survey Reports 2002-2003. Australia; 2003. Available at <  
[URL:http://www.health.act.gov.au/c/health?a=da&did=10060511&pid=1094601516](http://www.health.act.gov.au/c/health?a=da&did=10060511&pid=1094601516)>.
92. Heinitz ML, Ruble RD, Wagner DE, Tatini SR. Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. *Journal of Food Protections* 2000; 63(5):579-92.

93. Zhao S, Datta AR, Ayers S, Friedman S, Walker RD, White DG. Antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from imported foods. *International Journal of Food Microbiology* 2003; 84(1):87-92.
94. Eduardo MB de P. Katsuya EM, Bassit NP, Mello MLR de. *Salmonella enteritidis* – uma importante causa de surtos bacterianos veiculados por alimentos e a necessidade de uma nova regulamentação sanitária para os alimentos implicados. São Paulo, Brasil, 1999-2003. *Boletim Epidemiológico Paulista* 2004 ago 8. [on line]. Available from < [URL:http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dta\\_estat.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dta_estat.htm) >
95. Jablonski LM, Bohach GA. *Staphylococcus aureus*. In: Doyle MP, Beuchat LR, Thomas JM. *Food Microbiology: fundamentals and frontiers*. Washington: ASM Press; 1997.
96. Adam AM, Leja LL, Jinneman K, Beeh J, Yuen GA, Wekell MM. *Anisakid* parasites, *Staphylococcus* and *Bacillus* in *sushi* and *sashimi* from Seattle area restaurants. *Journal of Food Protection* 1994; 57(4):311-317.
97. Albuquerque WF, Evangelista-Barreto NS, Silva AIM e, Vieira RHS dos F. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* e Estafilococos coagulase positivo, em *sushis* comercializados em alguns estabelecimentos de Fortaleza – CE. *Revista Higiene Alimentar*, 2006; 20 (146):58-61.
98. Netten PV, Kramer JM. Media for the detection and enumeration of *Bacillus cereus* in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology* ,1992; 17:85-99.

## **APÊNDICES**

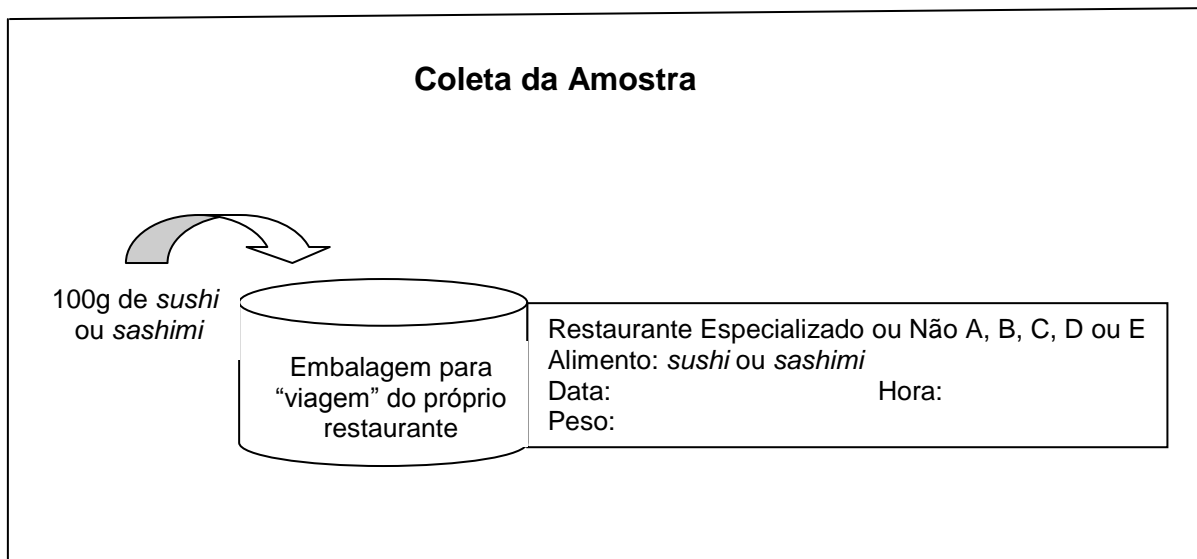
## **APÊNDICE 1**

***METODOLOGIA ILUSTRADA***

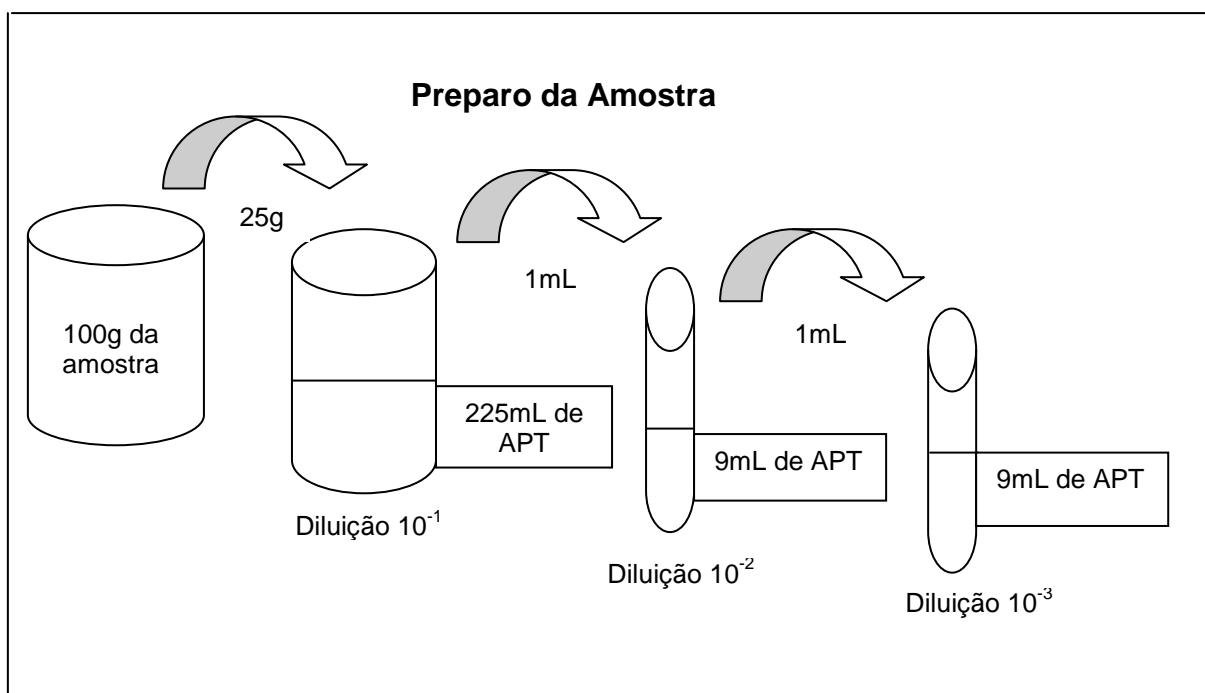
## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 AMOSTRAS

**Esquema 1.** Técnica de coleta das amostras

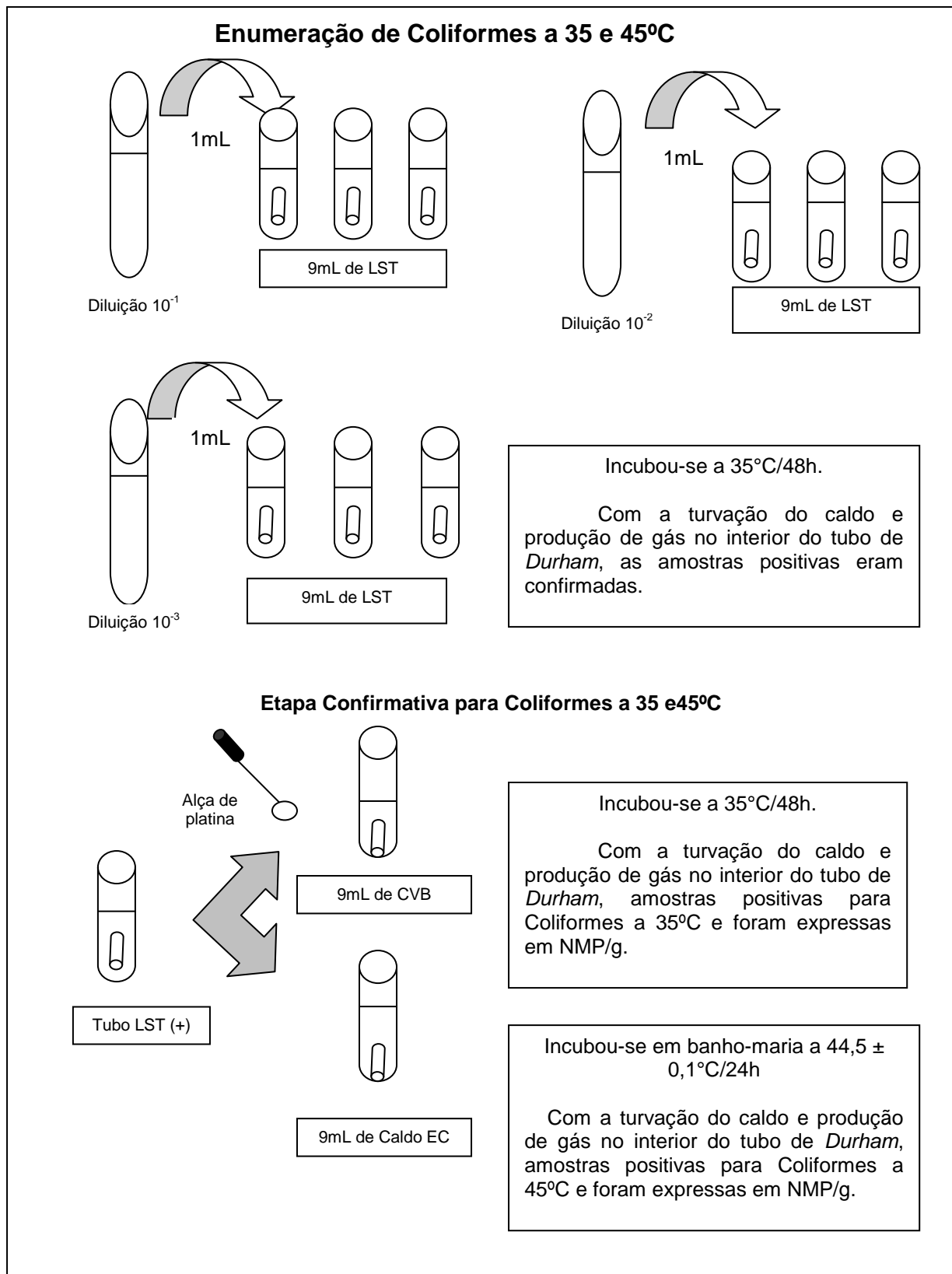


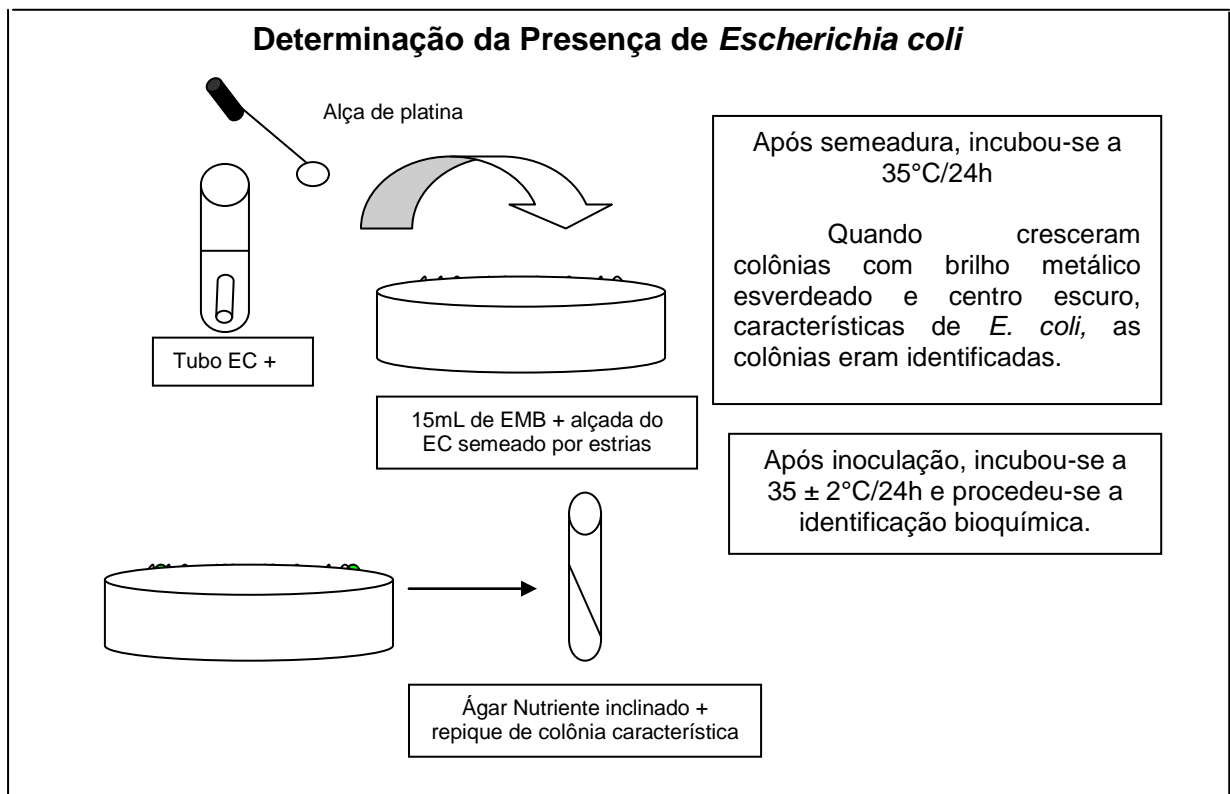
**Esquema 2.** Técnica de preparo das amostras para análise microbiológica: diluição decimal seriada



## 2.2 MÉTODOS

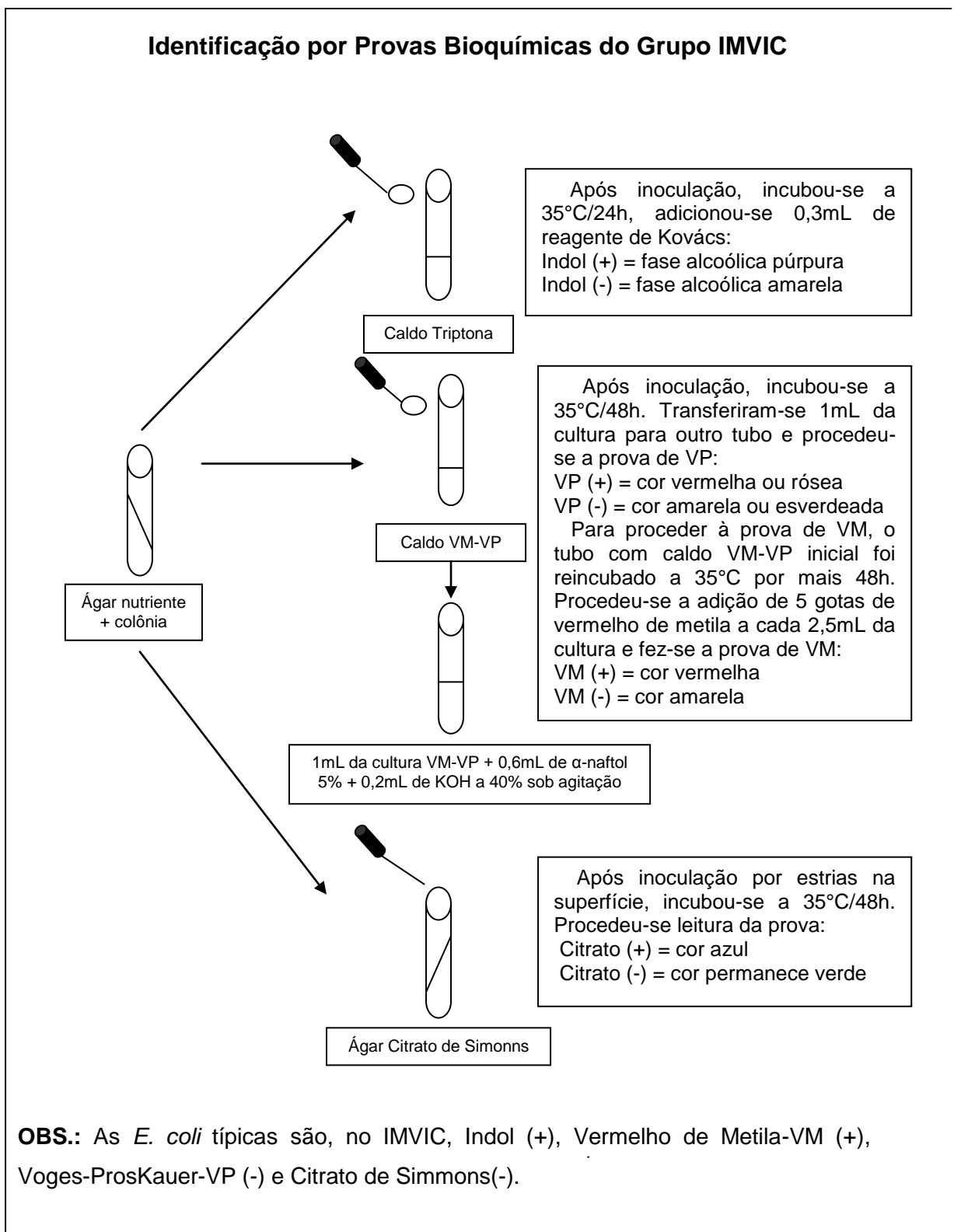
**Esquema 3.** Técnica de Isolamento de Coliformes totais e fecais em alimentos



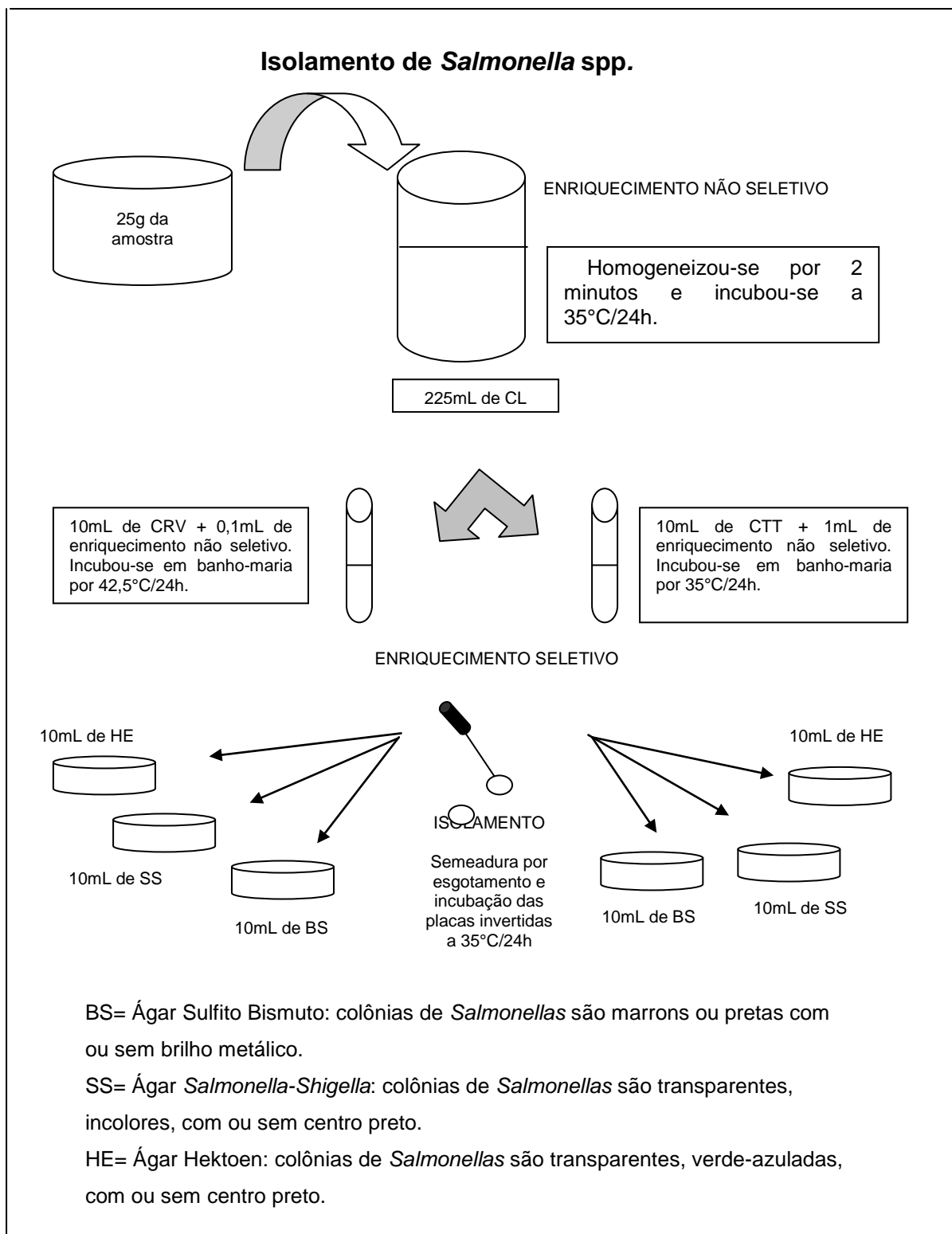
**Esquema 4.** Técnica de Isolamento de *Escherichia coli* em alimentos.



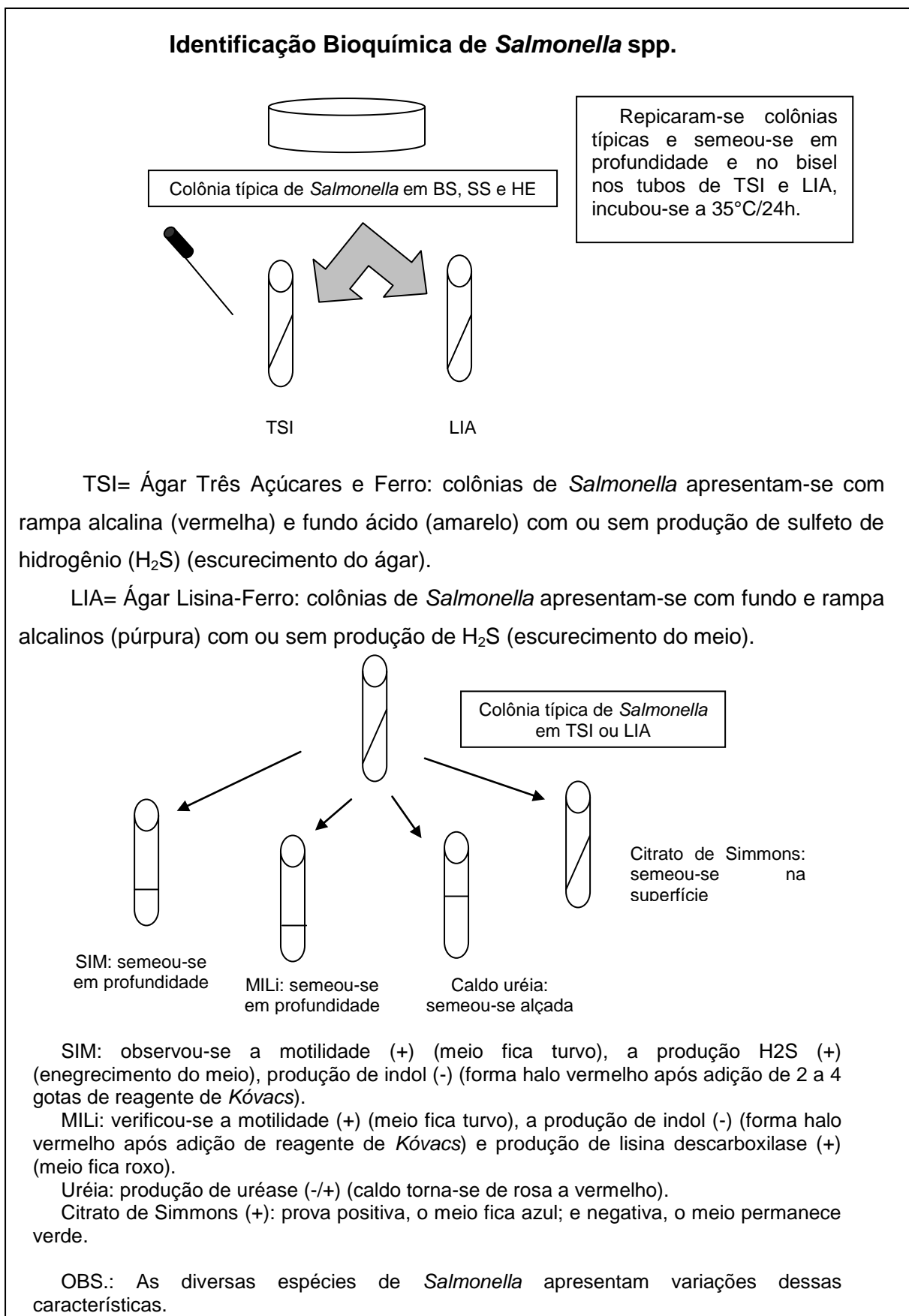
### Esquema 5. Técnica de Identificação de *Escherichia coli* em alimentos

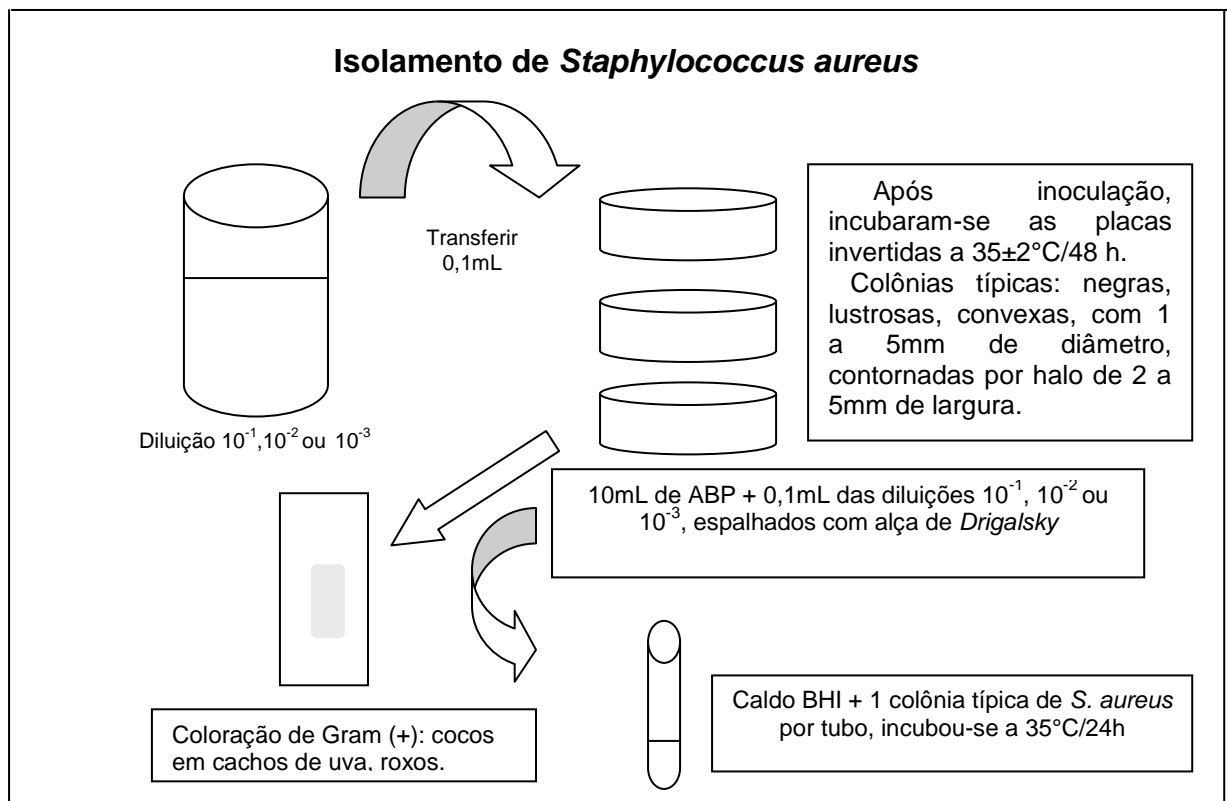
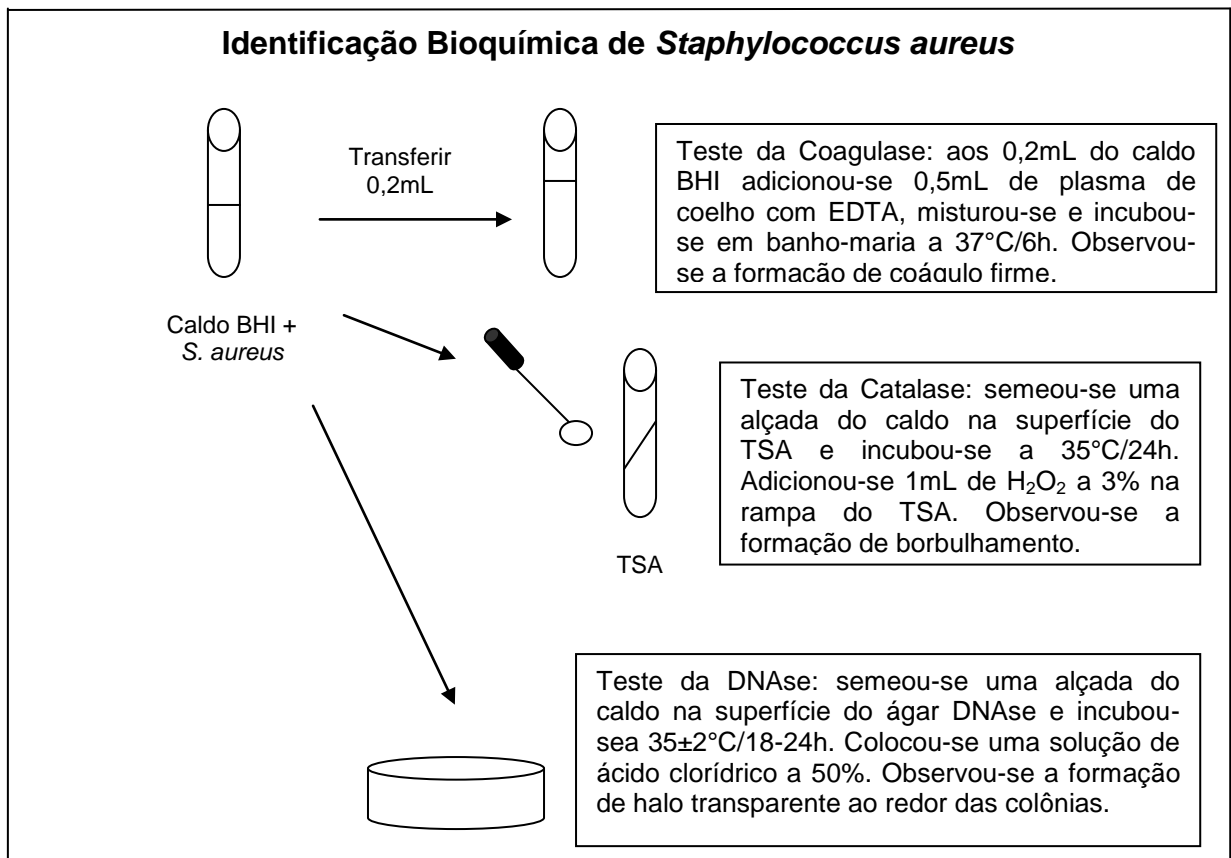


### Esquema 6. Técnica de Isolamento de *Salmonella* spp. em alimentos

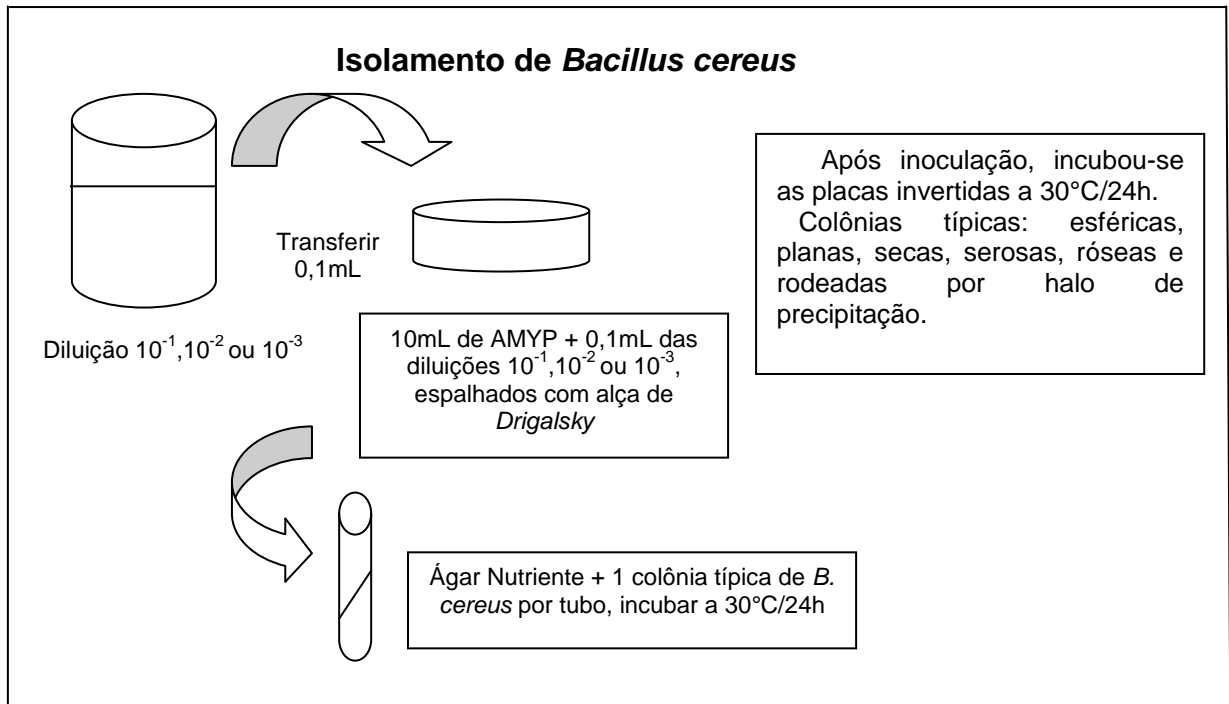


## Esquema 7. Técnica de Identificação de *Salmonella* spp. em alimentos

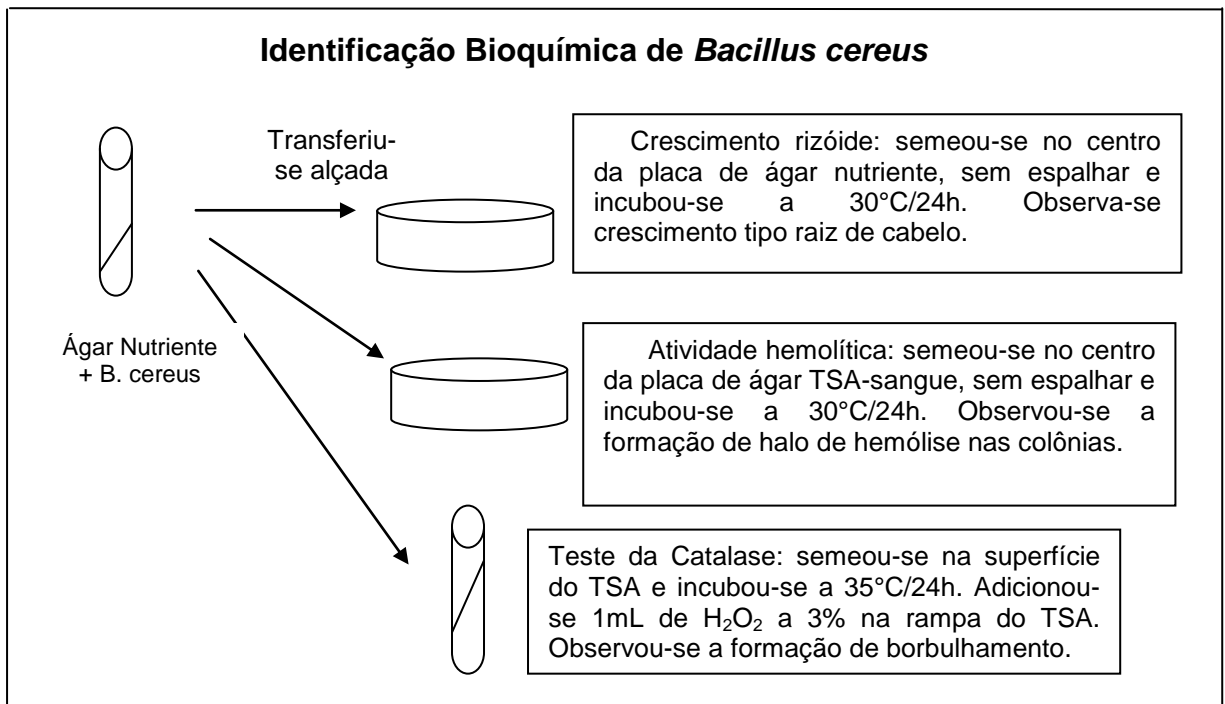


**Esquema 8.** Técnica de Isolamento de *Staphylococcus aureus* em alimentos**Esquema 9.** Técnica de Identificação de *Staphylococcus aureus* em alimentos.

**Esquema 10.** Técnica de Isolamento de *Bacillus cereus* em alimentos



**Esquema 11.** Técnica de Identificação de *Bacillus cereus* em alimentos.



## **APÊNDICE 2**

***ILUSTRAÇÕES***



**Foto 1.** Amostras de *sushis* e *sashimis* coletadas.



**Foto 2.** Amostras de *sushis* e *sashimis* coletadas, a serem diluídas para análise.



**Foto 3.** Amostras de *sashimis* em H<sub>2</sub>O peptonada e caldo lactosado.



**Foto 4.** Amostras de *sashimis* em H<sub>2</sub>O peptonada em diluição decimal seriada.

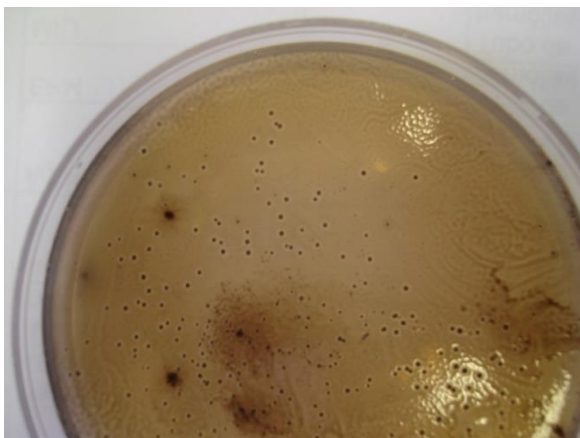




**Foto 5.** Amostra de *sashimi* a ser incubada em Ágar Baird Parker.



**Foto 6.** Amostra de *sashimi* a ser incubada em Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina.



**Foto 7.** Colônias típicas de *Staphylococcus* coagulase positiva, no Ágar Baird-Parker, isoladas de *sushis* e *sashimis*.



**Foto 8.** Colônias típicas de *B. cereus*, no Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina, isoladas de *sushis* e *sashimis*.



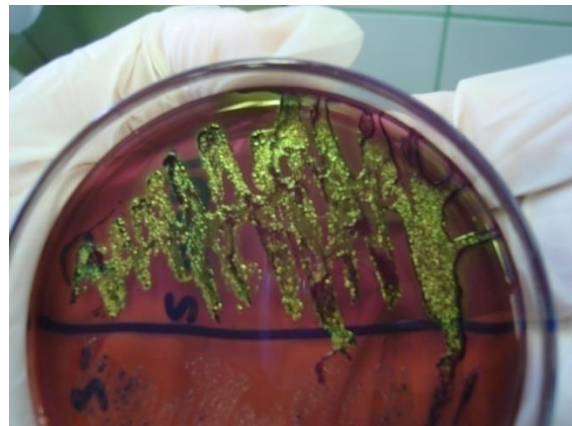
**Foto 9.** Inoculação de diluição decimal seriada em Caldo Lauril Sulfato Triptose, Caldo Verde Brilhante e Caldo EC.



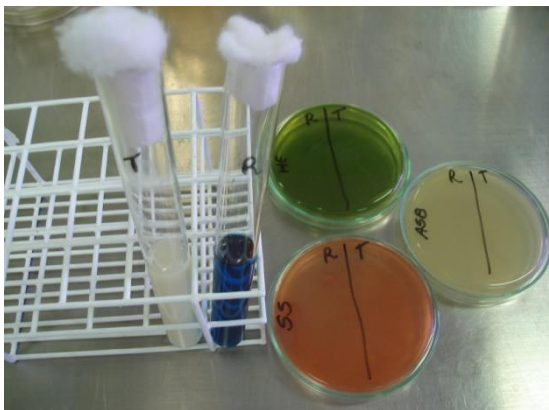
**Foto 10.** Resultado positivo no Caldo Verde Brilhante.



**Foto 11.** Resultado positivo no Caldo EC.



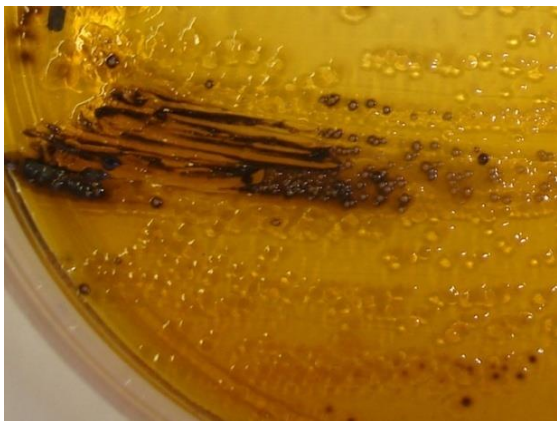
**Foto 12.** Colônias típicas de *Escherichia coli*, no Ágar EMB, isoladas de sushis e sashimis.



**Foto 13.** Caldo de enriquecimento seletivo e placas para isolamento de *Salmonella* spp.



**Foto 14.** Colônias típicas de *Salmonella* spp. no Ágar Bismuto Sulfito.



**Foto 15.** Colônias típicas de *Salmonella* spp. no Ágar *Salmonella-Shigella*.



**Foto 16.** Colônias típicas de *Salmonella* spp. no Ágar *Hectoen Enteric*.

