

Microrganismos de interesse sanitário em sushis

Microrganisms of sanitary interest in sushi

RIALA6/1662

Thiago José Ferreira Flor de SOUZA^{1*}, Joelinton do Nascimento SILVA¹, Carlos Roberto Marinho da SILVA FILHO¹, Jeronimo Galdino dos SANTOS²

*Endereço para correspondência: ¹Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal da Paraíba, Campus de Bananeiras, Rua Benjamim Sobrinho, 378, Centro, Pilões, Paraíba, PB, Brasil. CEP 58393-000. Tel: 83 9608-6482. E-mail: thiago-flor@hotmail.com

²Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal da Paraíba, Campus de Bananeiras, PB, Brasil

Recebido: 04.05.2015 - Aceito para publicação: 27.08.2015

RESUMO

Com o crescente consumo de comidas típicas da culinária japonesa, a preocupação com a saúde pública tem sido constante. Neste estudo a qualidade sanitária de sushis servidos na cidade de João Pessoa/PB foi investigada seguindo-se as recomendações microbiológicas para pesquisas de coliformes totais e termotolerantes, estafilococos coagulase positiva, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, mesófilos e fungos filamentosos e não filamentosos. As amostras foram coletadas de cinco restaurantes (A, B, C, D e E) que servem comida japonesa na cidade de João Pessoa/PB, e analisadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba. Das amostras estudadas, 80 % apresentaram contagem de coliformes termotolerantes acima dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, 6,6 % tinham contagem de estafilococos coagulase positiva acima do limite, e em 13,3 % foram detectadas espécies potencialmente patogênicas de *Salmonella*. Em nenhuma amostra houve isolamento de *B. cereus*. Apesar da inexistência de padrão estabelecido para sushi na legislação vigente, quanto à contagem de bactérias aeróbias mesófilas e fungos filamentosos e não filamentosos, a pesquisa foi realizada com o intuito de avaliar as condições higiênico-sanitárias do produto. Considerando-se os resultados obtidos, os alimentos analisados apresentam risco potencial para a saúde dos consumidores.

Palavras-chave. pescado cru, segurança alimentar, microbiologia de alimentos.

ABSTRACT

Considering the growing consumption of typical foods of Japanese cuisine, it has been of constant concern for public health. In this study, the sanitary quality of sushi served in the city of João Pessoa/PB was investigated following the recommendations for the microbiological analyses of total and fecal coliforms, coagulase-positive staphylococci, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, mesophilic and filamentous and non-filamentous fungi. The samples were collected from five restaurants (A, B, C, D and E) serving Japanese food in the city of João Pessoa/PB; and they were analyzed in the Food Microbiology Laboratory of Federal University of Paraíba. Among the analyzed samples, 80 % showed fecal coliform counts above the limits established by Brazilian legislation, 6.6 % had coagulase positive staphylococci counts above the limit, and in 13.3 % potentially pathogenic species of *Salmonella* sp were isolated. *B. cereus* was not isolated from any analyzed sample. In spite of the unavailability of a pattern for sushi in the current legislation for mesophilic aerobic bacteria and filamentous and non-filamentous fungi counting, the present study was carried out in order to assess the sanitary conditions of this food. Considering the achieved results, the analyzed food showed a potential risk to the consumers health.

Keywords. raw fish, food protection, food microbiology.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o hábito de ingerir peixe cru sob a forma de sushi transformou-se num verdadeiro modismo alimentar nos grandes centros urbanos. O consumo crescente desse tipo de alimento vem se tornando uma preocupação para a saúde pública, não só pelo fato de ser um produto altamente perecível, mas também, devido aos aspectos higiênicosanitários de sua preparação e conservação. Com o crescimento desses serviços, observa-se que os alimentos ficaram mais expostos a uma série de perigos e/ou oportunidades de contaminações microbianas associadas a práticas incorretas de manipulação e processamento.

Na preparação de iguarias como o sushi, preparadas manualmente, além da contaminação do pescado, o contato direto do alimento com as mãos pode levar ao aumento da incidência de patógenos como *Staphylococcus aureus* e coliformes termotolerantes. Segundo Silva¹, preparações muito manipuladas são consideradas de alto risco, especialmente quando elaboradas por pessoas que não possuem treinamento adequado. Além disso, preparações a base de pescado cru oferecem risco ainda maior à saúde pelo fato de não serem submetidos a tratamentos bactericidas como a cocção.

Os manipuladores de alimentos, ou seja, todas as pessoas que podem entrar em contato com um produto comestível em qualquer etapa da cadeia alimentar têm papel importante para a qualidade das preparações. A saúde e higiene destes profissionais são fundamentais para garantir um alimento seguro².

A qualidade higiênico-sanitária como fator de segurança alimentar tem sido amplamente estudada e discutida, uma vez que as doenças veiculadas por alimentos são um dos principais fatores que contribuem para os índices de morbidade nos países em desenvolvimento.

Sendo assim, no presente estudo, a qualidade sanitária de amostras de sushis comercializados na cidade de João Pessoa/PB foi investigada quanto aos parâmetros microbiológicos para pesquisas de coliformes totais e termotolerantes, estafilococos coagulase

positiva, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, mesófilos e fungos filamentosos e não filamentosos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas três coletas de amostras de sushis que estavam sendo comercializados sob refrigeração em cinco restaurantes especializados em comida japonesa (identificados como A, B, C, D e E), localizados na cidade de João Pessoa/PB, entre os meses de julho a setembro de 2014, totalizando 15 amostras.

Os sushis preparados (prontos para consumo) foram acondicionados em recipientes para viagem do próprio estabelecimento, sendo em seguida, identificados, lacrados e então, armazenados em caixas isotérmicas para manter a temperatura em torno de 10 °C. As caixas foram transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, campus III da Universidade Federal da Paraíba, num prazo máximo de duas horas.

Foram realizadas as seguintes avaliações microbiológicas: coliformes totais, coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positiva, *Bacillus cereus*, mesófilos, fungos filamentosos e não filamentosos e pesquisa de *Salmonella*, conforme descrito por *American Public Health Association*³.

Para a análise de coliformes totais e termotolerantes, alíquota de 25 g da amostra foi adicionada a 225 mL de água peptonada tamponada (10^{-1}) e a partir desta diluição, foram realizadas outras duas diluições (10^{-2} e 10^{-3}) em água peptonada tamponada. A avaliação foi realizada pelo método do Número Mais Provável; alíquotas de 1 mL de cada diluição foram inoculadas em três séries de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de Durham invertido (totalizando nove tubos), os quais foram incubados a 35 °C por 24-48 h. Quando positivo, tubo com turvação do meio e produção de gás, uma alçada deste meio de cultura foi transferida para tubos contendo Caldo Verde Brillante – incubados a 35 °C, por 24-48 h para a confirmação de coliformes totais – e para tubos contendo caldo EC – incubados em

banho-maria a 44,5 °C por 24-48 h para confirmação de coliformes termotolerantes.

Para a pesquisa de estafilococos coagulase positiva, alíquotas de 0,1 mL de cada uma das diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) foram semeadas na superfície de ágar Vogel Johnson, suplementado com solução de telurito de potássio, sendo as placas incubadas a 35 °C por 48 h, para posterior contagem das colônias típicas de estafilococos.

A contagem de bactérias mesófilas foi realizada por semeadura em profundidade de alíquotas de 1 mL de cada diluição seriada (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) em ágar para Contagem Padrão (Plate Count Agar). As placas foram incubadas a 35 °C por 48 h para posterior contagem das colônias, sendo o resultado expresso em UFC/g.

A contagem de fungos também foi realizada por semeadura em profundidade de alíquotas de 1 mL de cada diluição seriada em ágar Batata Dextrose (PDA), suplementado com solução de ácido tartárico a 10 %. As placas foram incubadas a 25 °C por 3 a 5 dias para contagem das colônias típicas de fungos e o resultado expresso em UFC/g.

A avaliação de *Bacillus cereus* foi realizada por semeadura de alíquotas de 0,1 mL de cada uma das diluições seriadas (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) em meio cromogênico ágar Hicrome *Bacillus*, seguido de incubação a 30 °C por 24 h, para posterior contagem das colônias típicas de *Bacillus cereus*.

A pesquisa de *Salmonella* envolveu as etapas: 1) de pré-enriquecimento, na qual 25 g da amostra foram transferidos a frasco contendo 225 mL de caldo Lactosado, seguido de incubação a 35 °C, por 18-20 h; 2) de enriquecimento seletivo, após o pré-enriquecimento, no qual alíquotas de 1 mL foram transferidas para dois meios de enriquecimento, caldo Selenito Cistina (SC) e caldo Tetracionado (TT), e incubados por 24 h a 43 °C; 3) seguida da etapa de plaqueamento seletivo diferencial, onde fez-se o plaqueamento em meio de cultura ágar *Salmonella* Diferencial (SD) e Ágar XLD, incubados por 18-24 h a 35 °C; e 4) de confirmação preliminar das colônias típicas de *Salmonella* por meio de provas bioquímicas em meio ágar Lisina Ferro (LIA) e ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora a legislação brasileira vigente⁴ não estabeleça limites toleráveis para coliformes totais em pratos “a base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, sushi, sashimi, etc.)”, foram observados, neste estudo, valores acima de 10^2 NMP/g em praticamente todas as amostras analisadas, exceto na amostra da segunda coleta no restaurante E (Tabela 1). Devido ao fato destes microorganismos estarem intimamente relacionados à baixa qualidade higiênicossanitária dos alimentos, estes resultados apontaram para a necessidade de realizar um controle mais rígido quanto à higiene durante a elaboração, armazenamento e comercialização destes produtos nos estabelecimentos comerciais visitados.

Em relação aos coliformes termotolerantes, 80 % das amostras analisadas apresentaram contagem acima do limite permitido pela legislação brasileira⁴ (10^2 NMP/g). Vale ressaltar que a presença de coliformes termotolerantes em alimentos processados é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós-processo, evidenciando práticas de higiene inadequadas e fora dos padrões requeridos para o processamento de alimentos. Uma porcentagem menor foi verificada por Sato⁵, ao analisar amostras de sushis coletadas em estabelecimentos que comercializam comida japonesa nas cidades de Jaboticabal, Ribeirão Preto e Monte Alto/SP, sendo que 33,3 % das suas amostras apresentavam valores acima do permitido em relação à população de coliformes termotolerantes.

O limite máximo estabelecido na legislação⁴ para a presença de estafilococos coagulase positiva em amostras de pratos “a base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, sushi, sashimi, etc.)” é de 5×10^3 UFC/g, sendo que apenas uma amostra analisada (6,6 %) apresentou estafilococos coagulase positiva acima do valor de referência. Em estudo feito por Vieira et al⁶, 28,1 % das 32 amostras de sushis estavam em desacordo com a legislação para este parâmetro. Considerando que este gênero de bactérias faz parte da microbiota normal

Tabela 1. Análises microbiológicas realizadas em amostras de sushis provenientes de cinco restaurantes especializados em culinária japonesa localizados na cidade de João Pessoa

| Restaurantes/ Coletas ^a | Parâmetro | | | | | | | |
|--|---------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | CT (NMP/g) | CTT (NMP/g) | ECP (UFC/g) | <i>B. cereus</i> (UFC/g) | <i>Salmonella</i> spp. | Mesófilos (UFC/g) | FFNF (UFC/g) | |
| A | 1 | 9,3x10 ² | 2,4x10² | 4x10 ² | 0 | AUS | 3,2x10 ⁵ | 2,6x10 ³ |
| | 2 | 2,4x10 ³ | 4,6x10² | 4x10 ² | 0 | AUS | 1,2x10 ⁵ | 1,1x10 ⁴ |
| | 3 | 1,1x10 ⁴ | 1,2x10³ | 1x10 ³ | 0 | AUS | 2,5x10 ⁴ | 3,3x10 ³ |
| B | 1 | 2,4x10 ³ | 1,5x10² | 1x10 ³ | 0 | AUS | 1,2x10 ⁵ | 1,0x10 ³ |
| | 2 | 2,3x10 ² | 2x10 | 9x10 ² | 0 | AUS | 2,9x10 ⁵ | 1,0x10 ⁴ |
| | 3 | 1,1x10 ³ | 1,1x10³ | 4,5x10 ³ | 0 | AUS | 1,8x10 ⁴ | 4,3x10 ³ |
| C | 1 | 9,3x10 ² | 9,3x10² | 0 | 0 | AUS | 2,5x10 ⁵ | 1,8x10 ³ |
| | 2 | 9,3x10 ² | 2,4x10² | 4x10 ² | 0 | AUS | 3,6x10 ⁵ | 1,0x10 ⁵ |
| | 3 | 4,6x10 ² | 4,6x10² | 5x10 ² | 0 | AUS | 6,8x10 ⁴ | 8,5x10 ⁴ |
| D | 1 | 4,3x10 ² | 4,3x10² | 5x10 ² | 0 | AUS | 8,6x10 ⁴ | 2,2x10 ³ |
| | 2 | 4,6x10 ³ | 4,6x10² | 9x10³ | 0 | AUS | 6,9x10 ⁴ | 1,9x10 ³ |
| | 3 | 1,1x10 ⁴ | 1,1x10⁴ | 9x10 ² | 0 | AUS | 5,2x10 ⁴ | 1,5x10 ³ |
| E | 1 | 2,3x10 ² | 4,3x10 | 2x10 ² | 0 | PRES | 3,1x10 ³ | 2,1x10 ³ |
| | 2 | 4,3x10 | 1,5x10 | 2,4x10 ³ | 0 | PRES | 2,7x10 ³ | 5,6x10 ³ |
| | 3 | 4,6x10 ³ | 4,6x10³ | 0 | 0 | AUS | 9,4x10 ⁴ | 6,6x10 ⁴ |
| Limite estabelecido ^(a) | ND | 10 ² NMP/g | 5x10 ³ UFC/g | ND | AUS | ND | ND | |
| % de amostras em desacordo com a legislação ^(a) | - | 80 % | 6,6 % | - | 13,3 % | - | - | |

Legenda: ^(a)RDC nº 12/2001, para pratos prontos “a base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, sushi, sashimi, etc.)”; valores em negrito indicam resultados em desacordo com a legislação vigente (a); CT = Coliformes totais; CTT = Coliformes termotolerantes; ECP = Estafilococos Coagulase Positiva; FFNF = Fungos Filamentosos e Não Filamentosos; NMP/g = Número Mais Provável por grama; UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama; ND = parâmetro não definido pela legislação vigente (a) para este tipo de alimento

da pele humana, pode ter acontecido a contaminação devido à falta de higiene dos manipuladores, principalmente quando não se utilizam equipamentos de proteção e formas de assepsias adequadas.

Em nenhuma das amostras analisadas foi verificada a presença de *Bacillus cereus*, assim como ocorreu em estudo realizado por Alcântara⁷, em amostras de sushis comercializados na cidade de Fortaleza/CE, porém diferente do que foi verificado por Martins⁸, em amostras de sushis servidos em bufês na cidade de São Paulo.

Por outro lado, em duas amostras analisadas (13,3 %) foram confirmadas a presença de *Salmonella*, podendo indicar a falta de um controle rígido de higiene dos manipuladores e o descumprimento das Boas Práticas de Manipulação (BPM) na preparação desses alimentos. Estes resultados estão coerentes com aqueles apresentados por Vieira et al⁶ que, ao analisarem o risco microbiológico do consumo de sushi em estabelecimentos da cidade de Fortaleza/CE, detectaram presença de *Salmonella*; porém, estão diferentes do relatado por Alcântara⁷, que não isolou o patógeno em nenhuma das amostras de pratos prontos para consumo à base de pescados crus e cereais.

A legislação vigente⁴ não estabelece limites máximos permitidos para contagem de bactérias mesófilas e para contagem de fungos neste tipo de produto. Neste estudo, foram detectadas contagens de bactérias aeróbias mesófilas entre $2,7 \times 10^3$ a $3,6 \times 10^5$ UFC/g. Segundo Jay⁹ e Forsythe¹⁰, contagens acima de 10^6 UFC/g por amostra, podem ser responsáveis pelo desencadeamento de doenças de origem alimentar, porém nenhuma das amostras analisadas apresentou contagens superiores a 10^6 UFC/g. Os aeróbios mesófilos são considerados como índice de sanidade e, sua ausência indica que as condições de conservação foram adequadas⁹. Uma população elevada desses microrganismos pode indicar contaminação excessiva da matéria-prima ou durante a preparação, bem como condições inadequadas de limpeza e sanitização. Erros no processo de conservação e transporte também contribuem para

aumentar as populações desses microrganismos.

Com relação à contagem de fungos, as amostras apresentaram variação entre $1,0 \times 10^3$ e $1,0 \times 10^5$ UFC/g, porém a legislação vigente⁴ não estabelece limites para esses microrganismos neste tipo de produto. Em virtude da dificuldade para encontrar trabalhos científicos sobre contagem de bolores em sushis, foi utilizado como parâmetro de comparação estudo feito por Oliveira et al¹¹, que avaliaram a qualidade microbiológica de peixes *in natura* comercializados em feiras livres do município de Vitória da Conquista/BA e verificaram níveis de contaminação por bolores e leveduras variando entre $1,1 \times 10^2$ e $5,0 \times 10^3$ UFC/g. Segundo Rodrigues¹², altas contagens de bolores e leveduras indicam sanitização pobre no processamento do alimento ou uma seleção mal feita da matéria-prima introduzindo produtos contaminados. Eles são indicadores de uma má técnica de processamento e falha na higiene da planta processadora.

CONCLUSÃO

Os dados desta pesquisa podem servir de parâmetro para avaliar a qualidade sanitária de sushis comercializados na cidade de João Pessoa/PB, considerando que este alimento pode representar risco potencial à saúde dos consumidores. Os resultados obtidos indicaram a importância do monitoramento dos restaurantes especializados em servir comida japonesa, em João Pessoa, por parte das autoridades sanitárias e da necessidade de conscientizar os proprietários dos estabelecimentos e manipuladores de alimentos, assim como da importância de esclarecer o público sobre os riscos aos quais estão sendo submetidos ao consumir esse tipo de alimento servido sem tratamento térmico.

REFERÊNCIAS

1. Silva ML. Pesquisa de *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp. e da qualidade sanitária de peixes comercializados na cidade de São Paulo [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2007.

2. Freitas IMS, Shinohara NKS, Silva GD, Demetrio AA, Agnani JAT, Siqueira LP. Boas práticas de manipulação na culinária japonesa. Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão; 2009; Recife (PE). Disponível em: [<http://eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0625-1.pdf>].
3. American Public Health Association – APHA. Committee on Microbiological for Foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4ª ed. Washington; 2001.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, nº7-E. p.45-53.
5. Sato RA. Características microbiológicas de sushis adquiridos em estabelecimentos que comercializam comida japonesa [dissertação de mestrado]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2013.
6. Vieira RHSE, Silva CM, Carvalho FCT, Sousa DBR, Menezes FGR, Reis EMF, et al. *Salmonella* e *Staphylococcus* coagulase positiva em sushi e sashimi preparados em dois restaurantes da cidade de Fortaleza, Ceará. *Bol Tecn Cient CEPENE*. 2007;15(1): 9-14.
7. Alcântara BM. Qualidade higiênico-sanitária de sushi e sashimi servidos em restaurantes da cidade de Fortaleza: modismo alimentar e risco à saúde [dissertação de mestrado]. Fortaleza (CE): Universidade Estadual do Ceará; 2009.
8. Martins FO. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (sushi e sashimi) a base de pescado cru servidos em bufês na cidade de São Paulo [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2006.
9. Jay JM. Microbiologia de Alimentos. 6º ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
10. Forsythe SJ. Microbiologia da Segurança Alimentar. Porto Alegre: Artmed, 2002.
11. Oliveira AS, Pinto Júnior WR, Zanuto ME, Brito DS, Porto SS, Dias HS. Qualidade microbiológica de peixes in natura comercializados em feira livre do município de Vitória da Conquista no estado da Bahia. V Congresso Latino Americano e XI Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos; março de 2011; Salvador (BA): v. 25.
12. Rodrigues PM. Microbiologia dos Processos Alimentares. São Paulo: Varela, 2005.