



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE/ UNB
CURSO DE FARMÁCIA

KAROLINA OLIVEIRA GOMES

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SASHIMIS E SUSHIS
COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL

BRASÍLIA, DF

2019

KAROLINA OLIVEIRA GOMES

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SASHIMIS E SUSHIS
COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito para obtenção do grau de Bacharel
em Farmácia, na Universidade de Brasília,
Faculdade de Ceilândia.

Orientador: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

Co-orientador: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA, DF

2019

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G633a Gomes, Karolina Oliveira
Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis e sushis comercializados no Distrito Federal. / Karolina Oliveira Gomes; orientador Daniela Castilho Orsi; co-orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva. -- Brasília, 2019.
45 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2019.

1. sushi. 2. sashimi. 3. qualidade higiênicossanitária. 4. Salmonella enterica. I. Orsi, Daniela Castilho, orient. II. Silva, Izabel Cristina Rodrigues da, co-orient. III. Título.

KAROLINA OLIVEIRA GOMES

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SASHIMIS E SUSHIS
COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL**

BANCA EXAMINADORA



Profª Dra. Daniela C. Orsi
UnB FCE Farmácia
Matrícula FUB 1055445

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi
(FCE/ Universidade de Brasília)

Farmacêutica Erika da Silva Monteiro
(FCE/ Universidade de Brasília)

Farmacêutica Sabrina Lunara Santos Pavelquesi
(FCE/ Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, DF

2019

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus que em seu infinito amor e bondade me conduziu durante minha trajetória até chegar aqui.

Aos meus pais e alicerces, Lúcia e Luiz que sempre me incentivaram e estiveram ao meu lado nos momentos bons e ruins.

Aos meus irmãos, Rejane e Gecimar por todo amparo e alegria.

Aos meus amigos de curso, gratidão pela força e compreensão nos vários momentos. Aos meus professores da Universidade que estiveram sempre comigo nessa jornada.

A minha orientadora professora Daniela, pelo ser humano incrível que é e todo carinho e dedicação demonstrados no decorrer da convivência. A professora Izabel pelas oportunidades, ajudas e por compartilhar comigo seu conhecimento de um modo tão generoso.

RESUMO

Atualmente a culinária japonesa tem agradado cada dia mais o consumidor brasileiro, sendo caracterizada principalmente pelos alimentos preparados à base de peixe cru como sushis e sashimis. Alimentos elaborados com peixe cru necessitam de um cuidado especial, pois dentre os produtos de origem animal, o peixe é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração, podendo ter uma elevada contaminação bacteriana. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de sashimis e sushis comercializados no Distrito Federal. Os resultados das análises microbiológicas das 54 amostras de sashimis e sushis analisadas neste estudo mostraram que 44,4% dos sashimis (12/27) e 11,1% das amostras de sushis (3/27), ou seja, 27,8% do total de amostras (15/54) estavam impróprias para o consumo de acordo com a legislação brasileira. O resultado de maior destaque neste estudo foi o isolamento de *Salmonella* em 70,0% das amostras de sashimis (7/10) comercializados em embalagens dispostas em balcões refrigerados de supermercados e padarias. Nessas amostras as cepas de *Salmonella enterica* foram confirmadas geneticamente através da presença do gene *invA*. Nenhuma das 17 amostras de sashimis comercializadas nos restaurantes especializados em culinária oriental teve presença de *Salmonella*. E nenhuma das 27 amostras de sushis teve presença de *Salmonella*. Coliformes termotolerantes tiveram resultado positivo em 25 amostras de sashimis (92,5%) e 20 amostras de sushis (74,0%), sendo que uma amostra de sashimi estava imprópria para o consumo por exceder o limite aceitável para coliformes termotolerantes (valor máximo de 2,00 log NMPg⁻¹). Foi possível isolar *E. coli* em 9 amostras de sashimis (33,3%) e 2 amostras de sushis (7,4%), com as cepas confirmadas geneticamente através da amplificação do gene *MalB*. Bactérias *S. aureus* foram detectadas em 16 amostras de sashimis (59,3%) e 16 amostras de sushis (59,3%), sendo que 2 amostras de sashimis (7,4%) e 3 amostras de sushis (11,1%) excederam o limite aceitável para *S. aureus* de 3,69 log UFCg⁻¹. A presença de bactérias *S. aureus* na maioria das amostras de sashimis e sushis analisadas indicam condições higiênicas inapropriadas, por se tratar de uma bactéria procedente de manipulação humana inadequada. O aparecimento de *E. coli* em alimentos representa problemas de qualidade na matéria-prima, manipulação e conservação. Apesar da maioria das amostras de sashimis deste estudo estarem aceitáveis para o consumo, a presença

de *Salmonella enterica* em 7 amostras de sashimis evidencia problemas higienicossanitários no processos de produção, processamento e comercialização desse alimento, pois a bactéria *Salmonella* spp. não faz parte da microbiota natural do peixe e sua presença pode ser justificada pela manipulação inadequada nas etapas da cadeia produtiva ou pelo contato do pescado com águas contaminadas com esgoto e material fecal, representando uma via de transmissão dessas bactérias.

Palavras-chave: sushi, sashimi, qualidade higiênicossanitária, *Salmonella enterica*

ABSTRACT

Nowadays Japanese cuisine has been pleasing the Brazilian consumer more and more, being characterized mainly by the raw fish foods like sushi and sashimi. Foods prepared with raw fish need special care, as among the products of animal origin, fish is one of the most susceptible to spoilage and may have a high bacterial contamination. This study aimed to evaluate the microbiological quality of sashimi and sushi marketed in the Federal District. The results of the microbiological analyzes of the 54 sashimi and sushi samples analyzed in this study showed that 44.4% of sashimi (12/27) and 11.1% of sushi (3/27), ie 27.8% of the total samples (15/54) were unfit for consumption according to Brazilian law. The most prominent result of this study was the isolation of *Salmonella* in 70.0% of the samples of sashimi (7/10) marketed supermarket and bakery. In these samples *Salmonella enterica* strains were genetically confirmed by the presence of the *invA* gene. None of the 17 samples of sashimi sold in restaurants specializing in oriental cuisine had *Salmonella*. And none of the 27 sushi samples had *Salmonella*. Thermotolerant coliforms were positive in 25 sashimi samples (92.5%) and 20 sashimi samples (74.0%), and one sashimi sample was unfit for consumption because it exceeded the acceptable limit for thermotolerant coliforms (maximum value 2.00 log NMPg⁻¹). It was possible to isolate *E. coli* in 9 samples of sashimi (33.3%) and 2 samples of sushi (7.4%), with strains genetically confirmed by amplification of the *MalB* gene. *S. aureus* bacteria were detected in 16 sashimi samples (59.3%) and 16 sushimi samples (59.3%), with 2 sashimi samples (7.4%) and 3 sushi samples (11.1%)

exceeded the acceptable limit for *S. aureus* of 3.69 log UFCg⁻¹. The presence of *S. aureus* bacteria in most of the sashimi and sushi samples analyzed indicates inappropriate hygienic conditions, since it is a bacterium coming from inadequate human manipulation. The appearance of *E. coli* in food represents quality problems in the raw material, handling and preservation. Although most of the sashimi samples in this study are acceptable for consumption, the presence of *Salmonella enterica* in 7 sashimi samples shows hygienic problems in the production, processing and commercialization of this food, since *Salmonella* spp. is not part of the natural microbiota of fish and its presence can be justified by improper handling in the production chain stages or by the contact of fish with waters contaminated with sewage and fecal material, representing a route of transmission of these bacteria.

Keywords: sushi, sashimi, sanitary hygienic quality, *Salmonella enterica*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sequência dos primers e tamanho dos produtos amplificados na PCR para identificação dos genes <i>Nuc</i> , <i>invA</i> e <i>MalB</i>	24
Tabela 2 - Análises microbiológicas das amostras de sashimis.....	25
Tabela 3 - Análises microbiológicas das amostras de sushis	26

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A - Normas de submissão para a revista higiene alimentar.....	42
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

CLSI	Clinical & Laboratory Standards Institute
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
FA	Phenylalanine
g	gramas
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods
LB	Luria Bertani
LIA	Lisine Iron
mL	mililitros
NMP	Número Mais Provável
°C	grau Celsius
PCR	Polymerase Chain Reaction
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SS	Salmonella Shigella
TSI	Três Açúcares e Ferro
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
XLD	Xilose Lisina Desoxicolato

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS.....	17
3. JUSTIFICATIVA	17
4. ARTIGO ELABORADO CONFORME AS NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA HIGIENE ALIMENTAR	18
5. MATERIAL E MÉTODOS	22
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO ARTIGO	31
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DE LITERATURA.....	35
9. ANEXOS	42

1. INTRODUÇÃO

1.1. Culinária japonesa e o consumo de sushi e sashimi no Brasil

A dieta baseada no consumo de pescado cru originária da cultura japonesa foi globalizada recentemente, sendo oferecida no Brasil em restaurantes especializados, não especializados e em redes de *fast food*. Este tipo de alimentação se popularizou por promover melhorias na saúde do consumidor e conter baixas calorias. Conforme reportado por Sousa (2015), no Japão, as tradições alimentares são importantes ferramentas para promoção de um aumento na vitalidade e longevidade dos japoneses.

O pescado é uma alternativa de alimentação saudável, pois representa uma excelente fonte de proteína animal (ALCÂNTARA, 2009). Em tal contexto, esse produto se destaca quanto à qualidade e quantidade de suas proteínas, vitaminas A e D, minerais como cálcio, fósforo, ferro, cobre, selênio e, no caso dos peixes de água salgada, iodo, além de ser fonte de ácidos graxos essenciais (SARTORI; AMANCIO, 2012).

Popularmente, os pratos da culinária japonesa são os sushis, compostos de arroz cozido temperado com vinagre e enrolado com recheios variados, e os sashimis, que são constituídos de pedaços de peixes *in natura* cortados em filés finos (CARROLL, 2009). É provável que os brasileiros já consumam pescado na média mínima recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), de 12 quilos por habitante/ano (BRASIL, 2013). Assim, a opção por comida japonesa, com seus pratos leves e nutritivos tais como sushi e sashimi, cresceu na decisão do consumidor (SILVA, 2014). Mas do ponto de vista de saúde pública, o uso dos ingredientes *in natura* gera preocupação relacionada com a qualidade microbiológica desses alimentos (SATO, 2013).

1.2. Qualidade microbiológica de sushis e sashimis e as doenças transmitidas por alimentos

De acordo com Argenta (2012), as matérias primas e o manipulador requerem medidas higiênicas eficientes a fim de prevenir a contaminação do sashimi e sushi por microrganismos patogênicos. Estes são considerados produtos de risco à saúde do consumidor devido ao fato de serem consumidos sem tratamento térmico e de serem muito manipulados no seu preparo (MIRANDA; BAIÃO, 2011).

As doenças transmitidas por alimentos conhecidas por DTA são um dos grandes problemas de saúde pública (SILVA *et al.*, 2017). Apesar das DTAs não terem quadro clínico específico, elas se manifestam na maioria das vezes por náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia, dependendo de cada tipo de patógeno (BRASIL, 2018). Conforme Brasil (2018) os patógenos mais prevalentes associados às DTAs são: *Salmonella* (35,0%), *Escherichia coli* (28,2%) e *Staphylococcus aureus* (18,2%). O perfil epidemiológico das DTAs no Brasil ainda é pouco conhecido (BRASIL, 2010). A falta de notificação dos casos dificulta a adoção de medidas de prevenção (PRADO *et al.*, 2014).

Entre os microrganismos patogênicos, a *Salmonella* spp. tem sido identificada como agente causador de surtos relacionados ao consumo de pescado em diferentes países do mundo (AMAGLIANI *et al.*, 2012). O principal habitat das salmonelas é o trato gastrointestinal de animais de sangue quente, com destaque para as aves (SANTOS *et al.*, 2013), e embora *Salmonella* spp. já tenha sido encontrada no intestino de diferentes espécies de peixes tropicais (GAERTNER *et al.*, 2008), peixes capturados em águas não poluídas estão isentos de *Salmonella*, pelo fato desta não fazer parte da microbiota natural do peixe (LINDER *et al.*, 2011).

Assim, o pescado pode ser contaminado através de águas contaminadas ou poluídas. O pescado vivo apresenta contaminação bacteriana principalmente na pele, brânquias e escamas, passando aos demais tecidos após a morte do animal (SANTIAGO *et al.*, 2013). Outro importante fator na contaminação do pescado é seu manejo desde o momento da captura e em todas as fases do processamento até seu destino final (GERMANO; GERMANO, 2011).

Coliformes termotolerantes são bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* capazes de fermentar a lactose em 24 horas na temperatura de

44,5 a 45,5°C. *Escherichia coli* é a principal bactéria representante do grupo dos coliformes termotolerantes, sendo considerada um indicador de contaminação fecal na água e nos alimentos. Ela possui um fácil isolamento nos meios de cultura convencionais e apresenta resistência por um período longo fora do trato intestinal do homem e dos animais (SILVA; MENÃO, 2015). A presença da bactéria *Escherichia coli*, indica contaminação com fezes humanas ou animais, revelando que as condições higiênico-sanitárias estão inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (BLANES; PEIXOTO; PYRRHO, 2013).

O contágio por *E. coli* se dá através da ingestão de água ou alimentos que não foram processados e tiveram algum tipo de contaminação fecal durante a sua produção (OLIVEIRA, 2013). Várias linhagens de *E. coli* adquiriram fatores de virulência específicos, que conferem uma maior capacidade em se adaptar a novos nichos e ocasionar um amplo espectro de doenças (CARDOZO, 2014). As linhagens patogênicas de *E. coli* são divididas de acordo com os sintomas clínicos e com os mecanismos da patogenicidade em seis grupos: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) e *E. coli* difusamente adesiva (DAEC) (FIB, 2011).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva, presente em diversas partes do corpo humano como fossas nasais, garganta e pele, podendo causar infecções quando há rompimento de barreira cutânea (GELATTI, 2009). A maioria das cepas de *S. aureus* contém o fator de coagulação (coagulase ligada), que se liga ao fibrinogênio e o converte em fibrina insolúvel, sendo um importante fator de virulência (MURRAY, 2009). O pH ideal para seu desenvolvimento varia entre 7,0 a 7,5, mas é possível a multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,2 e 9,3. Este microrganismo ainda tem a capacidade de sobreviver e se multiplicar em uma concentração de cloreto de sódio de até 15% e a produção de enterotoxina acontece em concentrações de sal de até 10% (SANTANA *et al.*, 2010).

O homem e os animais são os principais reservatórios de *S. aureus*, sendo a cavidade nasal do homem seu principal habitat e pode ser encontrado em 30 a 50% dos indivíduos saudáveis. Os portadores nasais de *S. aureus* ao manipularem alimentos podem se tornar importante fonte de contaminação para os alimentos. Os alimentos que requerem considerável manipulação para seu preparo, que

permanecem em temperatura ambiente elevada e por longo tempo após sua preparação são, geralmente, considerados de alto risco (SANTANA *et al.*, 2010).

1.3. Legislação brasileira e limites microbiológicos para sushis e sashimis

A segurança alimentar é um desafio atual à saúde pública, uma vez que visa oferecer alimentos inócuos e manter a integridade da saúde do consumidor (PILLA, 2009). Em 1961 foi regulamentado o Código Nacional de Saúde que estabeleceu as normas gerais a respeito da defesa e proteção da saúde, em que coube ao Ministério da Saúde a atuação na regulação dos alimentos, produtos e pessoas (BAICERE, 2009).

O objetivo da Vigilância Sanitária (VISA) em relação aos alimentos é fiscalizar, licenciar e cadastrar os estabelecimentos que produzem, comercializam, distribuem e/ou armazenam alimentos; bem como a fiscalização do transporte dos produtos alimentícios (GERMANO; GERMANO, 2011). Outra atividade típica da VISA é a investigação de surtos de toxinfecção alimentar, geralmente essa ação é realizada em conjunto com a Vigilância Epidemiológica e com os Laboratórios de Saúde Pública (COSTA; KOBAYASHI, 2012).

No Brasil, o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos nº 12 de 2001, da ANVISA define os padrões microbiológicos para alimentos. O item 22 e subitem b, que é classificado como “Pratos Prontos para o Consumo (Alimentos Prontos de Cozinha, Restaurantes e Similares)” a base de carnes, pescados e similares crus a base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, sushi, sashimi, etc.)”, estabelece valores máximos permitidos de: coliformes a 45°C $\leq 10^2$ UFC/g, estafilococos coagulase positiva $\leq 5 \times 10^3$ UFC/g e ausência de *Salmonella* sp. em 25 g de alimento.

1.4. Uso da PCR na identificação de bactérias patogênicas

O surgimento da reação em cadeia da polimerase (PCR) trouxe imensa contribuição ao ramo da biologia molecular e atualmente a técnica de PCR é bastante aplicada em diagnósticos clínicos. A amostra usada para amplificar parte do material genético pode ser sangue, biópsia de qualquer tecido, cabelo, unha, líquidos corpóreos, entre outros (SANTOS *et al.*, 2014).

A amplificação de DNA por PCR é uma técnica que permite obter milhões de cópias de um segmento específico de DNA por meio da ação da enzima termoestável Taq DNA polimerase e de oligonucleotídeos iniciadores (primers) sobre um DNA molde. É realizada em um equipamento automatizado e computadorizado, denominado termociclador, que promove a alternância de temperaturas por determinados períodos, possibilitando a ocorrência de ciclos repetitivos de desnaturação e síntese do DNA (GANDRA *et al.*, 2008). Por meio da PCR é possível a produção de muitas cópias de sequências específicas de ácidos nucleicos (ANDRADE *et al.*, 2010).

O termociclador divide a reação de PCR em três etapas, que são: desnaturação, anelamento e extensão (SANTOS *et al.*, 2014). A desnaturação é caracterizada pelo aumento da temperatura (91 a 95°C) com a finalidade de romper as pontes de hidrogênio e, assim permitir a abertura da dupla fita de DNA. O anelamento está relacionado com a ligação dos primers na região específica que se deseja amplificar e é caracterizada pelo abaixamento da temperatura (55 a 62°C) (NASCIMENTO; SUAREZ; PINHAL, 2010). O aumento da temperatura para 72°C, leva à síntese das fitas novas por uma DNA polimerase termoestável, que permite que o ciclo se repita 30 vezes sem sua desnaturação (HEPP; NONOHAY, 2016).

O desenvolvimento de técnicas moleculares como a PCR viabilizou a aplicação dessa ferramenta para detecção da sequência dos genes responsáveis pela produção de enterotoxinas pelos estafilococos (SANTANA *et al.*, 2010). Entre as técnicas disponíveis, a PCR é muito mais rápida e pode ser aplicada para detectar enterotoxinas estafilocócicas na maioria dos alimentos (WU *et al.*, 2013).

Um obstáculo para se obter o controle das contaminações por *Salmonella* é o diagnóstico rápido e preciso tanto do alimento quanto da pessoa que está contaminada (SANTOS *et al.*, 2013). Métodos de diagnóstico molecular para a detecção e caracterização de *Salmonella* têm sido formulados e empregados em laboratórios, objetivando complementar a sorotipagem. Análises moleculares, como a reação em cadeia da polimerase, possibilitam a detecção direta de sorotipos de *Salmonella* (IKUTA; FONSECA; LUNGE, 2009; MALORNY *et al.*, 2009). A técnica de PCR destaca-se técnica da convencional de identificação microbiana devido ao curto prazo, sendo mais precisa para confirmação do resultado (MONTEIRO, 2015).

E conforme Sá (2013), a partir dos métodos de detecção fenotípicos e uso da reação em cadeia da polimerase em tempo real (*real-time* PCR) é possível identificar o sorotipo enterohemorrágico mais relevante de *E. coli* nas DTAs: a *E. coli* O157:H7.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral:

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de sashimis e sushis comercializados no Distrito Federal.

2.2. Objetivos específicos:

- Realizar as análises bacteriológicas: contagem total dos microrganismos mesófilos e psicrótróficos, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes, contagem de *Staphylococcus aureus*, pesquisa de *Escherichia coli* e pesquisa de *Salmonella* spp.
- Realizar genotipagem através da técnica de PCR para confirmação dos microrganismos *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* spp.

3. JUSTIFICATIVA

Atualmente a culinária japonesa tem agradado cada dia mais o consumidor brasileiro, sendo caracterizada principalmente pelos alimentos preparados à base de peixe cru, tendo como destaque os diferentes tipos de sushis e sashimis. Alimentos elaborados com peixe cru necessitam de um cuidado especial, pois dentre os produtos de origem animal, o peixe é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração, podendo ter um elevado crescimento de bactérias que causam alterações e levam a deterioração. Os sashimis estão sujeitos à contaminação por vários microrganismos patogênicos, sendo alimentos com potencial risco de transmissão de doenças para o homem, devido ao fato de serem bastante manipulados no preparo, de serem consumidos crus e de exigirem correta refrigeração. As análises microbiológicas das amostras de sushis e sashimis coletadas no Distrito Federal têm por objetivo determinar se se esses alimentos prontos para consumo estão sendo comercializados com segurança alimentar para o consumidor.

4. ARTIGO ELABORADO CONFORME AS NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA HIGIENE ALIMENTAR

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SASHIMIS E SUSHIS COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL

Karolina Oliveira Gomes, Daniela Castilho Orsi, Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Universidade de Brasília (UNB/FCE), Faculdade de Farmácia, Laboratório de Controle de Qualidade, Ceilândia, Brasília - DF, Brasil.

RESUMO

Atualmente a culinária japonesa tem agradado cada dia mais o consumidor brasileiro, sendo caracterizada principalmente pelos alimentos preparados à base de peixe cru como sushis e sashimis. Alimentos elaborados com peixe cru necessitam de um cuidado especial, pois dentre os produtos de origem animal, o peixe é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração, podendo ter uma elevada contaminação bacteriana. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de sashimis e sushis comercializados no Distrito Federal. Os resultados das análises microbiológicas das 54 amostras de sashimis e sushis analisadas neste estudo mostraram que 44,4% dos sashimis (12/27) e 11,1% das amostras de sushis (3/27), ou seja, 27,8% do total de amostras (15/54) estavam impróprias para o consumo de acordo com a legislação brasileira. O resultado de maior destaque neste estudo foi o isolamento de *Salmonella* em 70,0% das amostras de sashimis (7/10) comercializados em embalagens dispostas em balcões refrigerados de supermercados e padarias. Nessas amostras as cepas de *Salmonella enterica* foram confirmadas geneticamente através da presença do gene *invA*. Nenhuma das 17 amostras de sashimis comercializadas nos restaurantes especializados em culinária oriental teve presença de *Salmonella*. E nenhuma das 27 amostras de sushis teve presença de *Salmonella*. Coliformes termotolerantes tiveram resultado positivo em 25 amostras de sashimis (92,5%) e 20 amostras de sushis (74,0%), sendo que uma amostra de sashimi estava imprópria para o consumo por exceder o limite aceitável para coliformes termotolerantes (valor

máximo de $2,00 \log \text{NMPg}^{-1}$). Foi possível isolar *E. coli* em 9 amostras de sashimis (33,3%) e 2 amostras de sushis (7,4%), com as cepas confirmadas geneticamente através da amplificação do gene *MalB*. Bactérias *S. aureus* foram detectadas em 16 amostras de sashimis (59,3%) e 16 amostras de sushis (59,3%), sendo que 2 amostras de sashimis (7,4%) e 3 amostras de sushis (11,1%) excederam o limite aceitável para *S. aureus* de $3,69 \log \text{UFCg}^{-1}$. A presença de bactérias *S. aureus* na maioria das amostras de sashimis e sushis analisadas indicam condições higiênicas inapropriadas, por se tratar de uma bactéria procedente de manipulação humana inadequada. O aparecimento de *E. coli* em alimentos representa problemas de qualidade na matéria-prima, manipulação e conservação. Apesar da maioria das amostras de sashimis deste estudo estarem aceitáveis para o consumo, a presença de *Salmonella enterica* em 7 amostras de sashimis evidencia problemas higienicossanitários no processos de produção, processamento e comercialização desse alimento, pois a bactéria *Salmonella* spp. não faz parte da microbiota natural do peixe e sua presença pode ser justificada pela manipulação inadequada nas etapas da cadeia produtiva ou pelo contato do pescado com águas contaminadas com esgoto e material fecal, representando uma via de transmissão dessas bactérias.

Palavras-chave: sushi, sashimi, qualidade higiênicossanitária, *Salmonella enterica*

ABSTRACT

Nowadays Japanese cuisine has been pleasing the Brazilian consumer more and more, being characterized mainly by the raw fish foods like sushi and sashimi. Foods prepared with raw fish need special care, as among the products of animal origin, fish is one of the most susceptible to spoilage and may have a high bacterial contamination. This study aimed to evaluate the microbiological quality of sashimi and sushi marketed in the Federal District. The results of the microbiological analyzes of the 54 sashimi and sushi samples analyzed in this study showed that 44.4% of sashimi (12/27) and 11.1% of sushi (3/27), ie 27.8% of the total samples (15/54) were unfit for consumption according to Brazilian law. The most prominent result of this study was the isolation of *Salmonella* in 70.0% of the samples of

sashimi (7/10) marketed supermarket and bakery. In these samples *Salmonella enterica* strains were genetically confirmed by the presence of the *invA* gene. None of the 17 samples of sashimi sold in restaurants specializing in oriental cuisine had *Salmonella*. And none of the 27 sushi samples had *Salmonella*. Thermotolerant coliforms were positive in 25 sashimi samples (92.5%) and 20 sashimi samples (74.0%), and one sashimi sample was unfit for consumption because it exceeded the acceptable limit for thermotolerant coliforms (maximum value 2.00 log NMPg⁻¹). It was possible to isolate *E. coli* in 9 samples of sashimi (33.3%) and 2 samples of sushi (7.4%), with strains genetically confirmed by amplification of the *MalB* gene. *S. aureus* bacteria were detected in 16 sashimi samples (59.3%) and 16 sushi samples (59.3%), with 2 sashimi samples (7.4%) and 3 sushi samples (11.1%) exceeded the acceptable limit for *S. aureus* of 3.69 log UFCg⁻¹. The presence of *S. aureus* bacteria in most of the sashimi and sushi samples analyzed indicates inappropriate hygienic conditions, since it is a bacterium coming from inadequate human manipulation. The appearance of *E. coli* in food represents quality problems in the raw material, handling and preservation. Although most of the sashimi samples in this study are acceptable for consumption, the presence of *Salmonella enterica* in 7 sashimi samples shows hygienic problems in the production, processing and commercialization of this food, since *Salmonella* spp. is not part of the natural microbiota of fish and its presence can be justified by improper handling in the production chain stages or by the contact of fish with waters contaminated with sewage and fecal material, representing a route of transmission of these bacteria.

Keywords: sushi, sashimi, sanitary hygienic quality, *Salmonella enterica*

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se observado nas grandes cidades brasileiras, uma mudança no perfil alimentar da população, pois o hábito de consumir pratos orientais contendo peixe cru, como sushi e sashimi, tem se tornado cada vez mais frequente. A busca por um padrão alimentar saudável favorece o consumo de pratos japoneses, pois os mesmos são coloridos, com grande variedade de vegetais e pouca ou nenhuma cocção, o que ajuda na preservação do valor nutritivo dos alimentos (RODRIGUES *et al.*, 2012).

O sushi é um alimento tradicional japonês elaborado a base de arroz acidificado e peixe cru popular em muitos países além do Japão (SANTOS *et al.*, 2012). Com o passar do tempo, essa técnica sofreu modificações e devido ao longo tempo de espera para que a fermentação do sushi ocorresse, começou a ser acrescentado vinagre ao arroz (FENG, 2011).

A palavra sashimi significa “carne cortada”. O sashimi é uma iguaria da culinária do Japão consistindo de peixes e frutos do mar frescos, cortados em fatias finas (MUSCOLINO *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2012). No Brasil os peixes mais utilizados para a elaboração de sashimi são: salmão, atum e anchova (pescado de água salgada), além da tilápia (pescado de água doce) (RODRIGUES *et al.*, 2012; VALLANDRO *et al.*, 2011).

A preocupação com a segurança alimentar de alimentos como sashimi é grande, principalmente pelo fato desses alimentos serem perecíveis e consumidos sem processamento térmico, requerendo condições higiênico-sanitárias adequadas para seu preparo (RODRIGUES *et al.*, 2012; VALLANDRO *et al.*, 2011). O sushi é um prato a base de peixe cru. A matéria prima de boa qualidade é essencial para a segurança desses alimentos, pois a microbiota do pescado reflete a água onde ele vive (SOUZA *et al.*, 2015).

Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde (BRASIL, 2010), os alimentos prontos para o consumo (como é o caso do sushi e sashimi) são um dos principais responsáveis por surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) no país (GERMANO; GERMANO, 2011).

Assim, o presente estudo teve como objetivo a avaliação da qualidade microbiológica de sashimis e sushis comercializados no Distrito Federal.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Coleta, preparo das amostras e análises microbiológicas

Para as análises microbiológicas, foram coletadas 27 amostras de sashimis (17 amostras de restaurantes e 10 amostras de embalagens dispostas em balcões refrigerados de supermercados e padarias) e 27 amostras de sushis (17 amostras de restaurantes e 10 amostras de embalagens dispostas em balcões refrigerados de supermercados e padarias) em 25 diferentes estabelecimentos comerciais do Distrito Federal. As amostras foram adequadamente acondicionadas e conduzidas ao Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia (UNB/FCE), onde foram imediatamente analisadas.

Todas as amostras foram analisadas em três repetições, ou seja, foram retiradas três alíquotas de cada embalagem e os resultados foram expressos como média em log de UFC/g. Para o preparo das amostras, foram pesadas 25 g de cada amostra e diluídas em 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v). O material foi homogeneizado, obtendo-se desta forma a primeira diluição (10^{-1}). A partir da primeira diluição obtiveram-se as demais diluições decimais (até 10^{-3}).

Para a contagem total de bactérias mesófilas e psicotróficas, as diluições de cada amostra foram semeadas, pelo método de superfície, em placas de Petri contendo o meio de cultivo Ágar Padrão para Contagem. As placas foram incubadas a 37°C por 24 h para bactérias mesófilas e a 7°C \pm 1°C por 7 dias para bactérias psicotróficas. Os resultados obtidos foram expressos em log UFC/g.

Para a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes as amostras foram analisadas conforme a técnica de tubos múltiplos, iniciando-se com o teste presuntivo, que consiste na inoculação de cada diluição das amostras em caldo Lactosado. Os tubos foram incubados a 37°C por 24 h. A positividade do teste caracterizou-se pela turvação do caldo com a produção de gás nos tubos de Durham. Alíquotas dos tubos positivos no teste presuntivo foram inoculadas, simultaneamente, em tubos de ensaio contendo caldo verde brilhante bile lactose a 2% (para a confirmação de coliformes totais) e caldo *Escherichia coli* (para a confirmação de coliformes termotolerantes). Os tubos foram incubados em

estufa bacteriológica a 37°C por 24 h para o teste de coliformes totais e em banho-maria a 45°C por 24 h para o teste de coliformes termotolerantes. Os resultados obtidos foram expressos em log NMP/g.

Para a contagem de *Staphylococcus aureus*, cada uma das diluições das amostras foi semeada, pelo método de superfície, em placas de Petri contendo o meio de cultivo Agar Sal. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. As colônias suspeitas de *S. aureus* foram reisoladas em tubos de Agar Sal Manitol e submetidas à coloração de gram. As colônias suspeitas de *S. aureus* foram submetidas à identificação molecular através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR).

Para a pesquisa de *Salmonella* spp., a diluição 10⁻¹ das amostras foi incubada à 37°C por 24 h. Após a incubação, pipetou-se 1 ml das alíquotas do caldo de enriquecimento para tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo seletivo tetrionato com iodo. As amostras foram homogeneizadas e incubadas a 37°C por 24 h. Após a incubação, procedeu-se à técnica de isolamento, onde a partir de cada tubo, semearam-se placas de Petri contendo o meio de cultivo Ágar Salmonella Shigella (SS) e/ou Ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD). As placas foram incubadas a 37°C por 24 h. As colônias suspeitas de *Salmonella* spp. foram transferidas para tubos inclinados contendo o meio de cultivo Agar TSI (três açúcares e ferro). A partir dos tubos positivos em ágar TSI avaliaram-se as características da *Salmonella* spp. por testes bioquímicos em Ágar Ferro Lisina (LIA) e Ágar Fenilalanina (FA) a 37°C em 48h.

5.2. Identificação molecular de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*

As bactérias isoladas suspeitas de serem *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* spp. foram identificadas através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Para a identificação de *S. aureus* foi utilizado o fragmento de 105 pares de base referente ao gene *Nuc*. Para a identificação de *Salmonella* spp. foi utilizado o fragmento de 445 pares de base referente ao gene *invA*. E para a identificação de *E. coli* foi utilizado o fragmento de 113 pares de base referente ao gene *MalB*. Os primers construídos para este estudo estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Sequência dos primers e tamanho dos produtos amplificados na PCR para identificação dos genes *Nuc*, *invA* e *MalB*

Primer	Sequência 5´ - 3´	Produto amplificado	Espécie
<i>Nuc</i> foward	TGTTTGTGATGCATTTGCTG		
<i>Nuc</i> reverse	AAAGGGCAATACGCAAAGAG	105 pb	<i>S. aureus</i>
<i>invA</i> foward	GCTGATGCCGGTGAAATTAT		
<i>invA</i> reverse	CGACAAGACCATCACCAATG	445 pb	<i>Salmonella</i> spp.
<i>MalB</i> foward	TCTATGGGCTGTGACTGCTG		
<i>MalB</i> reverse	GGCATCCCCATGATGTAGTT	113 pb	<i>E. coli</i>

As colônias isoladas suspeitas de serem *S. aureus* ou *Salmonella* spp. ou *E. coli* foram inoculadas, individualmente, em caldo Brain Heart Infusion e incubadas a 37°C por 18 h. A extração do DNA foi realizada de acordo com o protocolo proposto no kit comercial Plasmid DNA purification MACHEREY-NAGEL®. A qualidade e a quantidade de DNA extraído foram determinadas por eletroforese em gel de agarose, em comparação com o padrão de massa molecular DNA/HindIII marcador de 100 pb (JENA®). Após a extração do DNA, a amplificação de fragmentos de genes foi realizada utilizando o termociclador Techne® modelo TC-512. As condições de termo ciclagem foram 50°C por 2 min., 95°C por 2 min. e 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 seg., seguida de 60°C por 30 seg., para o anelamento dos oligonucleotídeos e 72°C por 30 seg. para a extensão dos fragmentos. Foram utilizados 2,5 µL de tampão (10 mM de Tris e 50 mM de KCl), 0,7 µL de MgCl₂, 1,5 µL de dNTPs (2,5 mM), 0,5 µL de Taq-Polimerase (Cenbiot®, 5 U/µL), 1,5 µL de oligonucleotídeos forward e reverse (10 µM), completando com água Milli-Q para um volume final de 25 µL por reação, com a amplificação de 10 ng de DNA extraído da amostra bacteriana. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose, contendo brometo de etídeo e visualizados sob iluminação ultravioleta. O marcador de massa molecular utilizado foi o 100 pb DNA/HindIII (JENA®).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas das amostras de sashimis e sushis analisadas neste estudo estão descritos nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 - Análises microbiológicas das amostras de sashimis

Sashimis	Bactérias mesófilas (log UFCg ⁻¹)	Bactérias psicrotólicas (log UFCg ⁻¹)	Coliformes totais (log NMPg ⁻¹)	Coliformes termotolerantes (log NMPg ⁻¹)	<i>Salmonella enterica</i>	<i>S. aureus</i> (log UFCg ⁻¹)
Supermercados e padarias						
1	4,84 ± 0,09	6,08 ± 0,15	0,61 ± 0,16	ND	Negativo	ND
2	4,85*	5,31*	3,04 ± 0,00	1,26 ± 0,34	Presente	ND
3	3,49*	3,13*	2,82 ± 0,46	1,31 ± 0,01	Negativo	ND
4	3,42 ± 0,21	4,67 ± 0,21	0,84 ± 0,04	0,48 ± 0,00	Presente	ND
5	3,98 ± 0,20	5,51 ± 0,16	1,34 ± 0,40	1,11 ± 0,22	Presente	2,80 ± 0,35
6	4,35 ± 0,15	5,86 ± 0,06	0,93 ± 0,44	0,61 ± 0,16	Presente	3,16 ± 0,24
7	3,37 ± 0,18	5,28 ± 0,10	0,86 ± 0,00	ND	Negativo	2,72 ± 0,20
8	5,45 ± 0,65	6,21 ± 0,15	3,04 ± 0,00	0,58 ± 0,18	Presente	2,26 ± 0,24
9	2,39 ± 2,08	4,71 ± 0,15	0,58 ± 0,18	0,50 ± 0,04	Presente	2,60 ± 0,00
10	6,50 ± 0,48	7,07 ± 0,07	2,80 ± 0,41	0,48 ± 0,00	Presente	2,30 *
Restaurantes						
11	5,44 ± 0,17	6,48 ± 0,28	1,38 ± 0,19	0,79 ± 0,24	Negativo	2,95 ± 0,22
12	3,93 ± 0,27	5,74 ± 0,05	3,04 ± 0,00	1,00 ± 0,20	Negativo	ND
13	4,58 ± 0,35	4,78 ± 0,19	3,04 ± 0,00	1,39 ± 0,41	Negativo	2,10 ± 0,17
14	3,91 ± 0,67	5,04 ± 0,12	2,31 ± 0,12	1,21 ± 0,09	Negativo	2,72 ± 0,10
15	4,07 ± 0,34	5,28 ± 0,08	1,10 ± 0,29	0,71 ± 0,40	Negativo	3,73 ± 0,26
16	3,80 ± 0,10	4,74 ± 0,13	0,48 ± 0,00	0,48 ± 0,00	Negativo	ND
17	5,69 ± 0,42	6,64 ± 0,02	1,82 ± 0,55	1,82 ± 0,55	Negativo	3,80 ± 0,04
18	5,30 ± 0,97	5,61 ± 0,72	2,07 ± 0,15	0,67 ± 0,27	Negativo	ND
19	6,25 ± 0,16	3,97 ± 0,56	1,32 ± 0,19	0,67 ± 0,32	Negativo	2,48 ± 0,17
20	5,13 ± 0,22	6,15 ± 0,09	1,93 ± 0,96	0,69 ± 0,30	Negativo	2,22 ± 0,05
21	5,59 ± 0,11	6,19 ± 0,21	3,04 ± 0,00	3,04 ± 0,00	Negativo	ND
22	6,71 ± 0,40	4,46 ± 0,15	1,05 ± 0,54	0,80 ± 0,47	Negativo	ND
23	5,46 ± 0,15	ND	1,32 ± 0,03	0,67 ± 0,26	Negativo	ND
24	3,26 ± 0,24	4,05 ± 0,09	2,03 ± 0,86	0,51 ± 0,05	Negativo	ND
25	4,81 ± 0,54	5,49 ± 0,27	2,18 ± 0,86	1,25 ± 0,25	Negativo	1,82 ± 0,20
26	4,46 ± 0,15	4,17 ± 0,46	1,29 ± 0,22	0,96 ± 0,40	Negativo	1,52 ± 0,10
27	3,90 ± 0,78	5,72 ± 0,56	1,79 ± 0,53	1,00 ± 0,16	Negativo	2,75 ± 0,19

* = não foi possível calcular o desvio padrão, pois apenas uma placa ou uma bateria de tubos apresentou resultados positivos; ND = não detectado

Tabela 3 - Análises microbiológicas das amostras de sushis

Sushis	Bactérias mesófilas (log UFCg ⁻¹)	Bactérias psicotróficas (log UFCg ⁻¹)	Coliformes totais (log NMPg ⁻¹)	Coliformes termotolerantes (log NMPg ⁻¹)	<i>Salmonella</i> entérica	<i>S. aureus</i> (log UFCg ⁻¹)
Supermercados e padarias						
1	4,77 ± 0,04	4,30 ± 0,17	ND	ND	Negativo	3,72 ± 0,19
2	5,71 ± 0,27	4,69*	ND	ND	Negativo	ND
3	ND	3,74 ± 0,72	ND	ND	Negativo	ND
4	2,61 ± 0,28	4,76 ± 0,22	ND	ND	Negativo	ND
5	2,89 ± 0,19	2,92 ± 0,15	0,28 ± 0,50	ND	Negativo	ND
6	2,80 ± 0,70	4,89 ± 0,07	ND	ND	Negativo	ND
7	3,04 ± 0,08	4,39 ± 0,10	0,37 ± 0,32	ND	Negativo	2,66 ± 0,10
8	5,34 ± 0,33	4,99 ± 0,22	2,85 ± 0,33	0,58 ± 0,17	Negativo	2,99 ± 0,21
9	3,25 ± 0,32	4,57 ± 0,31	1,00 ± 0,55	0,48 ± 0,00	Negativo	2,46 ± 0,40
10	5,75 ± 0,88	5,66 ± 0,78	2,69 ± 0,33	0,61 ± 0,22	Negativo	2,92 ± 0,10
Restaurantes						
11	3,25 ± 0,23	ND	1,44 ± 0,17	ND	Negativo	2,72*
12	5,04 ± 0,23	2,95 ± 0,83	2,01 ± 0,89	ND	Negativo	ND
13	3,48 ± 0,47	3,64 ± 0,52	1,99 ± 0,67	1,08 ± 0,23	Negativo	ND
14	5,16 ± 0,28	6,25 ± 0,34	1,40 ± 0,20	1,39 ± 0,18	Negativo	2,71*
15	3,65 ± 0,22	ND	0,73 ± 0,23	0,60 ± 0,22	Negativo	ND
16	4,75 ± 0,50	3,62 ± 0,20	1,49 ± 0,06	0,74 ± 0,38	Negativo	2,96 ± 0,20
17	4,51 ± 1,06	4,36 ± 0,75	1,81 ± 0,44	1,26 ± 0,42	Negativo	ND
18	2,30 ± 0,30	2,76 ± 0,72	1,35 ± 0,84	0,97 ± 0,18	Negativo	2,30*
19	4,63 ± 0,83	4,04 ± 0,34	1,69 ± 0,35	1,26 ± 0,14	Negativo	2,76 ± 0,15
20	3,28 ± 0,24	3,17 ± 0,49	1,20 ± 0,65	1,03 ± 0,49	Negativo	2,45*
21	4,81 ± 0,14	5,46 ± 0,62	2,53 ± 0,45	ND	Negativo	5,30 ± 0,72
22	3,40 ± 0,17	5,44 ± 0,15	1,03 ± 0,12	0,53 ± 0,52	Negativo	ND
23	3,45 ± 0,14	3,82 ± 0,18	1,50 ± 0,69	1,11 ± 0,56	Negativo	2,45 ± 0,21
24	3,26 ± 0,31	4,08 ± 0,16	ND	ND	Negativo	ND
25	5,72 ± 0,06	6,06 ± 0,07	1,29 ± 0,25	1,38 ± 0,19	Negativo	4,57 ± 0,28
26	3,71 ± 0,14	4,69 ± 0,27	2,18 ± 0,56	0,57 ± 0,58	Negativo	2,96 ± 0,51
27	2,10 ± 0,17	3,52 ± 0,38	1,22 ± 0,22	0,37 ± 0,32	Negativo	3,15 ± 0,22

* = não foi possível calcular o desvio padrão, pois apenas uma placa ou uma bateria de tubos apresentou resultados positivos; ND = não detectado.

As bactérias aeróbias mesófilas são indicadores da qualidade dos alimentos. Elas se desenvolvem na presença de oxigênio, se multiplicam sob temperaturas de 20 a 45°C, tendo a temperatura ótima entre 30 a 45°C (PARIZ, 2011). De acordo com Silva *et al.* (2017), com base na contagem dos microrganismos mesófilos é possível apurar condições higiênicas dos alimentos considerando os processos de preparo até o ato de consumir o produto. Os microrganismos psicotróficos são

aqueles que possuem a capacidade de multiplicação a 7°C ou temperaturas mais baixas, mesmo não sendo temperaturas ideais para sua multiplicação (REIS *et al.*, 2013). Segundo Reis (2014), as identificações das bactérias psicotróficas no alimento auxiliam na avaliação da qualidade das condições higiênico-sanitárias dos procedimentos usados nos alimentos.

Neste estudo, as contagens totais de bactérias mesófilas e psicotróficas em sushis foram respectivamente 2,10 a 5,75 log UFCg⁻¹ e 2,76 a 6,25 log UFCg⁻¹, enquanto as bactérias mesófilas e psicotróficas em sashimis foram respectivamente entre 2,39 a 6,71 log UFCg⁻¹ e 3,13 a 7,07 log UFCg⁻¹. No agreste paraibano, Moura *et al.* (2015) estudaram a qualidade microbiológica de sushis e obtiveram contagem de mesófilos entre 2,90 a 5,65 log UFCg⁻¹, resultados similares a este estudo.

A legislação brasileira que dispõe sobre padrões microbiológicos para alimentos não estabelece padrões para as bactérias mesófilas e psicotróficas, porém, segundo ICMSF (2002) a contagem máxima para esses microrganismos em produtos à base de peixe deve ser de 7 log UFCg⁻¹. A literatura indica que a vida de prateleira estaria comprometida em valores de psicotróficos acima de 4 log UFC/g (FRANCO; LANDGRAF, 2008; MANFRIN *et al.*, 2013; MARCHI *et al.*, 2012) e consideram o início da deterioração contagens acima de 7 log UFC/g (JAY, 2005). Assim, a contagem de bactérias psicotróficas da amostra 10 de sashimi de mercado/padaria apresentou valor de 7,07 log UFCg⁻¹ fora do limite preconizado.

Coliformes totais são constituídos pela família *Enterobacteriaceae* e são bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, são capazes de fermentar lactose com produção de gás a 35°C entre 24 e 48 horas (BARBOSA *et al.*, 2009). O grupo dos coliformes termotolerantes tem a mesma definição dos coliformes totais, porém restringem-se a bactérias capazes de fermentar a lactose produzindo gás, em 24 horas a 44,5-45,5°C (CARDOSO *et al.*, 2001).

A legislação brasileira não estabelece valores padrões em relação ao grupo dos coliformes totais, entretanto, de acordo com o ICMSF (2002), o valor máximo preconizado é de 3 log NMPg⁻¹. O presente estudo obteve em todas as 27 amostras de sushis (restaurantes especializados ou não) conformidade aos limites aceitáveis para coliformes totais, enquanto 11,1% das 27 amostras de sashimis (2 de

restaurantes especializados e 1 de local não especializado) apresentaram valor inadequado de 3,04 NMPg⁻¹ de coliformes totais.

A contaminação dos sashimis e sushis por coliformes pode ocorrer tanto na captura e transporte da matéria prima, como durante o processamento nos restaurantes, sendo de grande importância o uso de técnicas corretas de manipulação (VALLANDRO *et al.*, 2011). No estudo de Vallandro *et al.* (2011), a higiene deficiente dos utensílios e equipamentos foi um ponto frequentemente observado nos restaurantes analisados e o uso de panos não descartáveis pelos “*sushimen*” durante a manipulação dos *sashimis* foi observado em 100% dos restaurantes analisados. No estudo de Bartz (2008), através da avaliação da contaminação microbiológica de panos não descartáveis utilizados em serviços de alimentação, verificou-se a presença de bactérias coliformes nesses panos e também se observou que estes panos foram capazes de transferir bactérias de forma significativa para as superfícies de trabalho. A ausência de cuidado em relação aos panos se torna mais um fator responsável pela contaminação cruzada no ambiente de manipulação.

Coliformes termotolerantes tiveram resultado positivo em 25 amostras de sashimis (92,5%) e 20 amostras de sushis (74,0%). As amostras de sushis estavam menos contaminadas com coliformes termotolerantes do que as amostras de sashimis, sendo que uma amostra de sashimi estava imprópria para o consumo por exceder o limite aceitável para coliformes termotolerantes (valor máximo de 2 log NMPg⁻¹) (BRASIL, 2001). Foi possível isolar *E. coli* em 9 amostras de sashimis (33,3%) e 2 amostras de sushis (7,4%), com as cepas confirmadas geneticamente através da amplificação do gene *MalB*.

Alguns estudos realizados em diferentes cidades do Brasil (Ji-Paraná, Fortaleza e Brasília), relataram contagens elevadas de coliformes termotolerantes em amostras de sashimis, com resultados de 25 a 50% das amostras em desacordo com os parâmetros permitidos pela legislação brasileira, indicando que existem problemas de qualidade na matéria-prima, manipulação e conservação desses alimentos (MONTANARI *et al.*, 2015; PINHEIRO *et al.*, 2006; RESENDE *et al.*, 2009).

Bactérias *S. aureus* foram detectadas em 16 amostras (59,3%) de sashimis e sushis. Segundo a legislação vigente, alimentos prontos para o consumo como o

sushi e o sashimi com valores de *S. aureus* superiores a 3,69 log UFCg⁻¹ são classificados como impróprios para o consumo (BRASIL, 2001). Assim 2 amostras de sashimis (7,4%) e 3 amostras de sushis (11,1%) excederam o limite aceitável para *S. aureus*. Foi possível isolar cepas de *S. aureus* de 20 amostras de sashimis (74,0%) e 13 amostras de sushis (48,1%), com as cepas confirmadas geneticamente através da amplificação do gene *Nuc*.

Vieira *et al.* (2007) avaliaram 32 amostras de sushi e sashimis coletadas em dois restaurantes da cidade de Fortaleza, Ceará. Os resultados detectaram que 28,1% das amostras de sushi e 15,6% das amostras de sashimi estavam com contagens de *S. aureus* acima do permitido. Nesses estudos, foram analisadas amostras provenientes de restaurantes não especializados em culinária japonesa ou de preparações servidas em bufê, o que proporcionou manipulação errada, contaminação cruzada e a proliferação de bactérias por estocagem em temperaturas abusivas.

No caso da presença de bactérias *S. aureus* nos alimentos, um fator de extrema importância diz respeito aos manipuladores, pois muitas vezes eles são responsáveis pela contaminação do alimento. Hábitos de higiene pessoal durante a manipulação e comercialização, tais com a lavagem das mãos, uso de máscaras e ausência de objetos de adorno são medidas que podem contribuir para a obtenção de produtos de melhor qualidade microbiológica (GERMANO; GERMANO, 2008).

O resultado de maior destaque neste estudo foi o isolamento de *Salmonella* em 70,0% das amostras de sashimis (7/10) comercializados em embalagens dispostas em balcões refrigerados de supermercados e padarias. Nenhuma das 17 amostras de sashimis comercializadas nos restaurantes especializados em culinária oriental teve presença de *Salmonella*. E nenhuma das 27 amostras de sushis teve presença de *Salmonella*.

No Brasil, em sashimi ou sushi não se tolera a presença de *Salmonella* spp. (BRASIL, 2001), portanto as sete amostras de sashimis comercializadas em supermercados e padarias contendo *Salmonella* estavam impróprias para o consumo. Nessas amostras as cepas de *Salmonella enterica* foram confirmadas geneticamente através da presença do gene *invA*.

No estudo de BRAGHINI *et al.* (2015), as análises de 15 amostras de sashimis coletadas de cinco restaurantes da cidade de Maringá, PR, revelaram que

3 amostras (20%) tiveram resultados positivos para *Salmonella sp.*, sendo consideradas inadequadas para o consumo. No estudo de Malavota *et al.* (2009), pôde-se constatar a presença de *Salmonella sp.* em oito das 64 amostras de sashimis analisadas (12,5% das amostras coletadas de 2 restaurantes da cidade do Rio de Janeiro, RJ). E no estudo de Vieira *et al.* (2007) 18,8% das amostras de sashimis coletadas em restaurantes da cidade de Fortaleza/CE estavam impróprias para o consumo devido a presença de *Salmonella*.

A *Salmonella spp.* tem se mostrado um importante fator relacionado às doenças transmitidas por alimentos. O principal habitat das salmonelas é o trato gastrointestinal de animais de sangue quente, com destaque para as aves (KOWALSKI *et al.*, 2011), e embora *Salmonella spp.* já tenha sido encontrada no intestino de diferentes espécies de peixes tropicais (GAERTNER *et al.*, 2008), peixes capturados em águas não poluídas estão isentos de *Salmonella*, pelo fato desta não fazer parte da microbiota natural do peixe (AMAGLIANI *et al.*, 2012; LINDER *et al.* 2011). Uma possível fonte para a contaminação do pescado cultivado com *Salmonella spp.* pode estar relacionada com a alimentação fornecida aos cardumes durante a cadeia de produção. Uma vez introduzida matérias-primas contaminadas nas fábricas de rações, as cepas de *Salmonella* ali presentes poderiam persistir por anos como uma “linhagem doméstica” (NESSE *et al.*, 2003). Adicionalmente, o uso de camas de frango como alimentação direta aos cardumes também leva à contaminação, dado que esta por ser matéria orgânica proveniente de fezes de animais representa um risco para o meio aquático (MLEJNKOVA; SOVOVA, 2012) uma vez que as concentrações de microrganismos se tornam elevadas em tanques de aquicultura com pouca troca de água (LEIRA *et al.*, 2017).

CONCLUSÃO

De acordo com ICMSF e a legislação brasileira, os resultados das análises microbiológicas das 54 amostras de sashimis e sushis analisadas neste estudo mostraram que 44,4% dos sashimis (12/27) e 11,1% das amostras de sushis (3/27), ou seja, 27,8% do total de amostras (15/54) estavam impróprias para o consumo. O resultado de maior destaque neste estudo foi o isolamento de *Salmonella* em 70,0%

das amostras de sashimis (7/10) comercializados em embalagens dispostas em balcões refrigerados de supermercados e padarias. Nessas amostras as cepas de *Salmonella enterica* foram confirmadas geneticamente através da presença do gene *invA*. Nenhuma das 17 amostras de sashimis comercializadas nos restaurantes especializados em culinária oriental teve presença de *Salmonella*. E nenhuma das 27 amostras de sushis teve presença de *Salmonella*. A presença de *Salmonella enterica* em 7 amostras de sashimis evidencia problemas higienicossanitários no processos de produção, processamento e comercialização desse alimento, pois a bactéria *Salmonella* spp. não faz parte da microbiota natural do peixe e sua presença pode ser justificada pela manipulação inadequada nas etapas da cadeia produtiva ou pelo contato do pescado com águas contaminadas com esgoto e material fecal, representando uma via de transmissão dessas bactérias.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO ARTIGO

AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, G. F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research International**, Londres, v. 45, n. 2, p. 780-788, 2012.

BARBOSA D. B. et al. Qualidade microbiológica da água dos bebedouros de um Campus universitário de Ipatinga, Minas Gerais. **NUTRIR GERAIS – Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga, v. 3, n. 5, p. 505-517, 2009.

BARTZ S. **Contaminação microbiológica e avaliação de métodos de higienização de panos de limpeza utilizados em serviços de alimentação**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS); 2008.

BRAGHINI, F. et al. Análise microbiológica de sashimis a base de salmão, comercializados na cidade de Maringá-PR. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 22, p. 1-11, 2015.

BRASIL. 2010. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por**

alimentos. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. 160p. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf. Acesso em: 4 mar. 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões Microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União. 2001.

CARDOSO A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I.; GAMA, N. M. S. Q. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de descavado. **Arq. Inst. Biol.**, v. 68, n. 1, p. 19-22, 2001.

FENG, C. H. The tale of *sushi*: history and regulations. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.11, 2011.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

GAERTNER, J.; WHEELER, P.E.; OBAFEMI, S. et al. Detection of *Salmonella* from fish in a natural river system. **Journal of Aquat. Anim. Health**, v.20, n.3, p.50–157, 2008.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos**. 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2011.

ICMSF. Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microrganisms in Foods 7: Microbiological testing in food safety management**. New York: Kluwer Academic, 2002.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

KOWALSKI, L. H. *et al.* Salmoneloses emergentes de origem aviária. **PUBVET**, v. 5, n. 34, p. 1-22, 2011.

LEIRA, M. H. *et al.* Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **PUBVET**, v. 11, p. 11-17, 2017.

LINDER, C. E. *et al.* *Salmonella* spp. em sistema intensivo de criação de peixes tropicais de água doce. **Revista Higiene Alimentar**, v. 25, n. 192/193, p. 126-133, 2011.

MALAVOTA, L. C. M. *et al.* Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* spp. em “sashimis” comercializados em restaurantes no município do Rio de Janeiro, **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 16, n. 2, p. 89-94, 2009.

MANFRIN, L. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de carne moída bovina comercializada nos supermercados das cidades de Brasília e Taguatinga – DF.** Brasília: Universidade de Brasília, 2013. 62 p. (Monografia de Conclusão de Curso de Farmácia).

MARCHI, P. G. F.; ROSSI JUNIOR, O. D.; CERESER, N. B.; SOUZA, V.; LAGO, N. C. M. R.; FARIA, A. A. Avaliação microbiológica e físicoquímica da carne bovina moída comercializada em supermercados e açougues de Jaboticabal – SP. **Revista Interdisciplinar: Eletrônica da Univar**, São Paulo, n.7, p. 81 – 87, 2012.

MLEJNKOVA, H; SOVOVA, K. Impact of fish pond manuring on microbial water quality. **Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis**, v. 60, n. 3, p. 117-124, 2012.

MONTANARI, A. S. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis de salmão, preparados e comercializados em restaurantes Japonês no município de Ji-Paraná - RO. **South American: Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 2, n.1, p. 4-16, 2015.

MOURA et al. Avaliação microbiológica de sushis a base de salmão preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa da região do agreste paraibano. **Alimentação Humana**. v. 21. 2015.

MUSCOLINO, D. *et al.* Hygienic-sanitary evaluation of sushi and sashimi sold in Messina and Catania, Italy. **Italian Journal of Food Safety**, v.3, n. 1701, p.134 – 136, 2014.

NESSE, L. L. *et al.* Molecular analyses of *Salmonella* enterica isolates from fish feed factories and fish feed ingredients. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 2, p. 1075-1081, 2003.

PARIZ, K. L. **Avaliação da qualidade microbiológica de polpas de frutas**. 2011. 47 p. Monografia (Tecnologia em Alimentos), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IFRS. Bento Gonçalves, 2011.

PINHEIRO, H. M. C. *et al.* *Salmonella* sp. e coliformes termotolerantes em *sushi* e *sashimi* comercializados na cidade de Fortaleza- Ceará. **Boletim Técnico Científico do CEPENE**, v. 1, n. 1, p. 23-31, 2006.

REIS, D. L.; COUTO, E. P.; RIBEIRO, J. L.; NERO, L. A.; FERREIRA, M. A. Qualidade e segurança microbiológica de derivados lácteos fermentados de origem bovina produzidos no Distrito Federal, Brasil. **Semina, Ciências Agrárias**, v. 35, n. 6, p. 3161-3172, 2014.

REIS, K. T. M. G. *et al.* Qualidade microbiológica do leite cru e pasteurizado produzido no Brasil: revisão. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**: Londrina. 2013.

RESENDE, A.; SOUZA, J. R.; OLIVEIRA, Y. S. Análise microbiológica de *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes de Brasília no período de 2001 a 2004. **Revista Higiene Alimentar**, v. 23, p. 164-70, 2009.

RODRIGUES, B. L. *et al.* Qualidade físico-química do pescado utilizado na elaboração de *sushis* e *sashimis* de atum e salmão comercializados no município do

Rio de Janeiro, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1847-1854. 2012.

SANTOS, A. A. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de sushi comercializado em restaurantes de Aracaju, Sergipe. **Scientia Plena**, v. 8, n. 3, 2012.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5. ed, São Paulo: Blucher, 2017. 560 p.

SOUZA, T. J. F. F. de et al. Microrganismos de interesse sanitário em sushis. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 3, n. 74, p.274-279, 2015.

VALLANDRO, M. J. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de *sashimis* a base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 2, p. 144-50. 2011.

VIEIRA, R. H. S. F.; SILVA, C. M.; CARVALHO, F. C. T.; SOUZA, D. B. R.; MENEZES, F. G. R.; REIS, E. M. F, RODRIGUES, D. P. *Salmonella* e *Staphylococcus* coagulase positiva em sushi e sashimi preparados em dois restaurantes da cidade de Fortaleza, Ceará. **Boletim Técnico Científico do CEPENE**, v. 15, n. 1, p. 9-14, 2007.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DE LITERATURA

ALCÂNTARA, B. M. **Qualidade higiênico-sanitária de sushi e sashimi servidos em restaurantes da cidade de fortaleza: modismo alimentar e risco à saúde**. 84 f. Tese (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2009.

AMAGLIANI, G; BRANDI, G; SCHIAVANO, G.F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research Internacional**, v.45, n.2, p.780-788, 2012.

ANDRADE, R. et al. Métodos diagnósticos para os patógenos alimentares: *Campylobacter* sp, *Salmonella* spp e *Listeria monocytogenes*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p.741-750, dez. 2010.

ARGENTA, F. F. **Tecnologia de Pescado: Características e Processamento da Matéria Prima**. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal). Faculdade de Veterinária - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 63 p. 2012.

BAICERE, M. R. de M. **Formação e prática segundo os egressos do curso técnico em vigilância sanitária e saúde ambiental da baixada cuiabana**. Tese (Mestrado em Saúde Pública). Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca – Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 99 p. 2009.

BLANES, M. E.C.; PEIXOTO, S. T.; PYRRHO, A. S.; Surtos de toxinfecções alimentares ocorridos em municípios de Minas Gerais. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 27, n 226/227, p. 84-89, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. 2018. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos>. Acesso em: 08 fev. 2019.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Consumo de pescado no Brasil aumenta 23,7% em dois anos**. 2013. Disponível em: <https://www.pescamadora.com.br/2013/10/consumo-de-pescado-no-brasil-aumenta-237-em-dois-anos/>. Acesso em: 03 mar. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. 160p. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf. Acesso em: 4 mar. 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões Microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União. 2001.

CARDOZO, M. V. **Detecção de *Escherichia coli* shigatoxigênica (STEC) e enteropatogênica (EPEC) em peixes de pisciculturas e de vida livre**. Repositório Unesp, 2014. Tese de Doutorado. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/122015>

CARROLL, W.F. Sushi; Globalization through food culture; towards study of global food networks. **Education Research**, v.2, p.451-456, 2009.

COSTA, F. C.; KOBAYASHI, L. P. M. **A vigilância sanitária no Sistema Único de Saúde: trajetória e área de atuação**. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Saúde Coletiva e Saúde da Família). Centro Universitário Filadélfia. Londrina, 37 p. 2012.

FENG, C. H. The tale of *sushi*: history and regulations. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.11, 2011.

FIB. Microorganismos causadores de doenças de origem alimentar. **Food Ingredients Brasil**, v. 19, p. 51-59, 2011.

GAERTNER, J.; WHEELER, P.E.; OBAFEMI, S. et al. Detection of *Salmonella* from fish in a natural river system. **Journal of Aquat. Anim. Health**, v.20, n.3, p.50–157, 2008.

GANDRA, E. Á. et al. Técnicas moleculares aplicadas à microbiologia de alimentos. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 30, n. 1, p.109-118, 2008.

GELATTI L. C. *et al.* Sepsis por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina adquirida na comunidade no Sul do Brasil, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 42, n. 4, p. 458-60, 2009.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos**. 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2011.

HEPP, D.; NONOHAY, J. S. de. A importância das técnicas e análises de DNA. **Scientia Tec: Revista de Educação, Ciência e Tecnologia do IFRS**. Porto Alegre, v. 3, n. 2, p. 114-124, 2016.

IKUTA, N.; FONSECA, A.; LUNGE, V. **Doenças das aves**. 2ª ed. Campinas: Facta, p. 105 - 119, 2009.

LINDER, C. E. et al. *Salmonella* spp. em sistema intensivo de criação de peixes tropicais de água doce. **Revista Higiene Alimentar**, v. 25, n. 192/193, p. 126-133, 2011.

MALORNY, B., HUEHN, S., DIECKMANN, R. KRÄMER, N., HELMUTH, R. Polymerase Chain Reaction for the Rapid Detection and Serovar Identification of *Salmonella* in Food and Feeding Stuff. **Food Analytical Methods**, New York, v. 2, p. 81-95, 2009.

MIRANDA, A. C. B.; BAIÃO, R. C. L. Avaliação das boas práticas na fabricação de preparações à base de pescados crus em restaurante japonês. **Revista Eletrônica da Fainor**, v.4, n.1, p.52 - 61, 2011.

MONTEIRO, F. C. **Avaliação de *Listeria monocytogenes* como controle de qualidade no processamento de carnes**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Produção - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2015.

MURRAY, P. R. **Microbiologia Médica**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

MUSCOLINO, D. *et al.* Hygienic-sanitary evaluation of sushi and sashimi sold in Messina and Catania, Italy. **Italian Journal of Food Safety**, v.3, n. 1701, p.134 – 136, 2014.

NASCIMENTO, S.; SUAREZ, E. R.; PINHAL, M. A. da S. Tecnologia de PCR e RT em tempo real e suas aplicações na área médica. **RBM**, v. 10, p. 7–19, 2010.

OLIVEIRA, M. A. F. M. **Infecções Alimentares por *Escherichia Coli***. Repositório UNESP – Rio Claro, 2013. Texto para Discussão. Disponível em: <http://www.rc.unesp.br/ib/ceis/mundoleveduras/2013/InfeccoesAlimentaresporEscherichiacoli.pdf>

PILLA, C. S. **Perfil das denúncias recebidas pelo programa de alimentos da Vigilância Sanitária de Viamão/RS**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 45 p. 2009.

PRADO, D. M. A. *et al.* **Padronização da notificação de doenças transmitidas por alimentos para vigilância sanitária: fluxograma descritivo**. Belo Horizonte, 2014.

RODRIGUES, B. L. *et al.* Qualidade físico-química do pescado utilizado na elaboração de *sushis* e *sashimis* de atum e salmão comercializados no município do Rio de Janeiro, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1847-1854. 2012.

SÁ, T. F. F. C. e. **Estudo da presença de *E. coli* O157:H7 em vegetais pela técnica neutrongráfica**. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia). Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 64 p. 2013.

SANTANA, E. H. W. *et al.* Estafilococos em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 77, n.3, p.545–554, 2010.

SANTIAGO, J. A. S. *et al.* Bactérias patogênicas relacionadas à ingestão de pescados-revisão. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 46, n. 2, p. 92-103, 2013.

SANTOS, E. A. *et al.* Influência da temperatura ambiente na análise do termociclador. **XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica**, p. 1522–1525, 2014.

SANTOS, J. R.; MEZA, S. K. L.; MARTINI, K. C.; NUNES, R. V. A importância do controle da *Salmonella* na cadeia produtiva de frango de corte. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 3, p. 167-174, 2013.

SANTOS, A. A. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de sushi comercializado em restaurantes de Aracaju, Sergipe. **Scientia Plena**, v. 8, n. 3, 2012.

SARTORI, A.G.O.; AMANCIO, R.D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.19, p.83-93, 2012.

SATO, R. A. **Características microbiológicas de *sushis* adquiridos em estabelecimentos que comercializam comida japonesa**. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus Jaboticabal - Universidade Estadual Paulista. São Paulo, p. 55. 2013.

SILVA, C. A. E. **Mercado de comida japonesa no Distrito Federal: análise das oportunidades de negócio por meio de geomarketing e máquinas de suporte vetorial**. Brasília: Universidade de Brasília, 2014.

SILVA, J. C. G *et al.* Incidência de doenças transmitidas por alimentos (DTA) no Estado de Pernambuco um acompanhamento dos dados epidemiológicos nos últimos anos. **Ciências Biológicas e de Saúde**. v.3, n.1, p.23-24, 2017.

SILVA, K. R. C., MENÃO, M.C. Avaliação microbiológica de cortes de frangos comercializados na cidade de São Paulo. **Atas de Saúde Ambiental**, São Paulo, v.3, n.2, p. 17-23, 2015.

SOUSA, M. M. **Análise dos hábitos alimentares e de consumo de pescado das populações de Leiria e Peniche**. Tese (Mestrado em Gestão de Qualidade e Segurança Alimentar). Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e Instituto Politécnico de Leiria. Leiria, 2015.

SOUZA, T. J. F. F. de et al. Microrganismos de interesse sanitário em sushis. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 3, n. 74, p.274-279, 2015.

VALLANDRO, M. J. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de *sashimis* a base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz.**, v. 70, n. 2, p. 144-50. 2011.

WU, L.Y. *et al.* A novel electrochemical immunosensor based on magnetosomes for detection of staphylococcal enterotoxin B in milk. **Talanta**. v.106, p.360–366, 2013.

9. ANEXOS

ANEXO A - Normas de submissão para a revista higiene alimentar

01. As colaborações enviadas à Revista Higiene Alimentar na forma de artigos, pesquisas, comentários, revisões bibliográficas, notícias e informações de interesse para toda a área de alimentos, devem ser elaboradas utilizando *softwares* padrão IBM/PC (textos em *Word nas mais variadas versões do programa*; gráficos em *Winword, Power Point* ou *Excel*) ou *Page Maker 7*, ilustrações em *Corel Draw* nas mais variadas versões do programa (verificando para que todas as letras sejam convertidas para curvas) ou *Photo Shop*.
02. Os trabalhos devem ser digitados em caixa alta e baixa (letras maiúsculas e minúsculas), evitando títulos e/ou intertítulos totalmente em letras maiúsculas e em negrito. Tipo da fonte *Times New Roman*, ou similar, no tamanho 12.
03. Do trabalho deverão constar as seguintes partes: Título, Resumo, Palavras-chave, *Abstract*, keywords, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão e Referências Bibliográficas. Os gráficos, tabelas e figuras devem fazer parte do corpo do texto e o tamanho total do trabalho deve ficar entre 6 e 9 laudas (aproximadamente 9 páginas em fonte TNR 12, com espaçamento entre linhas 1,5 e margens superior e esquerda 3 cm, inferior e direita 2 cm).
04. Resultados de pesquisas relacionados a seres humanos deverão ser apresentados acompanhados do número do parecer junto ao Comitê de Ética da instituição de origem ou outro relacionado ao Conselho Nacional de Saúde.
05. Do trabalho devem constar: o nome completo do autor e co-autores (respeitando o máximo de quatro), e-mail de todos (será publicado apenas o e-mail do primeiro autor, o qual responde pelo trabalho) e nome completo das instituições às quais pertencem, com três níveis hierárquicos (Universidade, Faculdade, Departamento), também a cidade, estado e país.

06. As referências bibliográficas devem obedecer às normas técnicas da ABNT-NBR-6023 e as citações conforme NBR 10520 sistema autor-data.

07. Para a garantia da qualidade da impressão, são indispensáveis as fotografias e originais das ilustrações a traço. Imagens digitalizadas deverão ser enviadas mantendo a resolução dos arquivos em, no mínimo, 300 pontos por polegada (300 dpi).

08. Será necessário que os colaboradores mantenham seus programas anti-vírus atualizados

09. Todas as informações são de responsabilidade do primeiro autor com o qual faremos os contatos, através de seu e-mail que será também o canal oficial para correspondência entre autores e leitores.

10. Juntamente com o envio do trabalho deverá ser encaminhada declaração garantindo que o trabalho é inédito e não foi apresentado em outro veículo de comunicação. Na mesma deverá constar que todos os autores estão de acordo com a publicação na Revista.

11. Não será permitida a inclusão ou exclusão de autores e co-autores após o envio do trabalho. Após o envio do trabalho, só será permitido realizar mudanças sugeridas pelo Conselho Editorial.

12. Os trabalhos deverão ser encaminhados exclusivamente *on-line*, ao e-mail autores@higienealimentar.com.br.

13. Recebido o trabalho pela Redação, será enviada **declaração de recebimento** ao primeiro autor, no prazo de dez dias úteis; caso isto não ocorra, comunicar-se com a redação através do e-mail autores@higienealimentar.com.br

14. As colaborações técnicas serão devidamente analisadas pelo Corpo Editorial da

revista e, se aprovadas, será enviada ao primeiro autor declaração de aceite, via *e-mail*.

15. As matérias serão publicadas conforme ordem cronológica de chegada à Redação. Os autores serão comunicados sobre eventuais sugestões e recomendações oferecidas pelos consultores.

16. Para a Redação viabilizar o processo de edição dos trabalhos, o Conselho Editorial solicita, a título de colaboração e como condição vital para manutenção econômica da publicação, que pelo menos um dos autores dos trabalhos enviados seja assinante da Revista. Neste caso, por ocasião da publicação, será cobrada uma taxa de R\$ 50,00 por página diagramada. Não havendo autor assinante, a taxa de publicação será de R\$ 70,00 por página diagramada.

17. Quaisquer dúvidas deverão ser imediatamente comunicadas à Redação através do *e-mail*

autores@higienealimentar.com.br