

**LIGA DE ENSINO DO RIO GRANDE DO NORTE
FACULDADE NATALENSE PARA O DESENVOLVIMENTO DO RIO GRANDE DO
NORTE
CURSO DE NUTRIÇÃO**

RENATA CARVALHO PALHANO

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE *SUSHIS* E *SASHIMIS* COMERCIALIZADOS
EM RESTAURANTES JAPONESES NA CIDADE DE NATAL/RN**

**NATAL / RN
2011**

RENATA CARVALHO PALHANO

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE *SUSHIS* E *SASHIMIS* COMERCIALIZADOS
EM RESTAURANTES JAPONESES NA CIDADE DE NATAL/RN**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Nutrição da
Faculdade Natalense para o
Desenvolvimento do Rio Grande do
Norte, como requisito final para a
obtenção do grau de bacharel em
Nutrição.

Orientadora: Monique Silveira Rosa.

**NATAL / RN
2011**

RENATA CARVALHO PALHANO

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE *SUSHIS* E *SASHIMIS* COMERCIALIZADOS
EM RESTAURANTES JAPONESES NA CIDADE DE NATAL/RN**

Monografia apresentada ao curso de Nutrição da Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte, examinada pela banca composta pelos seguintes membros:

Aprovado em: ____/____/ 2011

Profª Monique Silveira Rosa
Orientadora

Profª Célia Regina
Membro da banca

Profª Manuela Alves
Membro da banca

Dedico esta monografia aos meus familiares, maiores responsáveis pela luz dos meus olhos. Admiráveis em essência, caráter e humildade, sempre me impulsionaram na busca dos meus mais intensos sonhos. Sou muita grata a vocês, painho, mainha, Leo e Paty, por fazerem parte da minha vida. A conclusão do meu curso é uma importante conquista e, por isso, quero compartilhar com vocês esta grande vitória.

AGRADECIMENTOS

A meus pais, que não foram apenas pais, mas amigos e companheiros, sempre me incentivando e mostrando o caminho, desde os meus primeiros passos. Obrigada por dedicarem suas vidas, muitas vezes renunciando aos seus sonhos em favor dos meus. Obrigada por me darem tanto orgulho, que parece não caber em mim. O conforto de suas palavras, o carinho dos abraços, a esperança estampada no sorriso, a cumplicidade nos momentos de fraqueza, a proteção quando tudo parecia perdido fizeram-me tão grande quanto o meu amor por vocês. Obrigada por tornarem este momento tão importante e por darem a essa conquista um sentido maior.

A meus irmãos, Leonardo e Patrícia, por mostrarem que gestos, às vezes, valem mais que palavras. Sinto-me verdadeiramente agradecida e orgulhosa por ter vocês como cúmplices, parceiros de longas datas.

A meu namorado, amigo e companheiro de todas as horas, Nizário Queiroz, que me incentivou durante toda essa caminhada, vibrou com minhas conquistas, torceu pelo meu sucesso e comemorou as minhas vitórias como se fossem suas. Obrigada por proporcionar doçura, cor e beleza em meus dias, e por despertar em mim os sentimentos mais verdadeiros e puros, mesmo que em dias opacos. Obrigada por compreender minha ausência em dias corridos, por ser meu porto seguro e meu refúgio em momentos de hesitação.

À querida professora Monique Rosa, minha orientadora, que com sua paciência, dedicação e conhecimento levou-me a novas reflexões e à concretização deste trabalho. Muito obrigada por me conceder a oportunidade de ser sua orientanda e de crescer com seus ensinamentos.

Agradeço, também, a todos os professores que compartilharam comigo os seus conhecimentos, transformando ideais em realizações e por colocar em minhas mãos ferramentas necessárias para vislumbrar novos horizontes.

À Verússia Rocha, por não poupar esforços e ser meu braço direito durante todo o período de análises, no laboratório de microbiologia, o que foi decisivo para a elaboração deste trabalho.

À Maria Rihan, pela amizade verdadeira que construímos durante o curso. Uma das maiores figuras que a vida colocou em meu caminho, dando-me a certeza

de que ainda existem pessoas amigas, sinceras e companheiras. Sem ela, a luta teria sido mais árdua e sofrida.

Às minhas amigas e colegas de faculdade, que estiveram comigo durante esses quatro anos, dividindo alegrias, angústias, conquistas, decepções, ainda haverão de me aturar por muito tempo. Muito obrigada por terem se tornado parte da minha vida.

A todos os funcionários que, mesmo indiretamente, ajudaram-me a concretizar esse sonho.

Finalmente, agradeço a Deus, nosso Pai, por ser tão bom e generoso, permitindo que eu seja capaz de ver o brilho do sol todas as manhãs. Não fosse sua grandiosidade, não teria o privilégio de concluir mais uma etapa tão importante da minha vida com pleno sucesso.

Muito obrigada!

“Sem sonhos, a vida não tem brilho. Sem metas, os sonhos não têm alicerces. Sem prioridades, os sonhos não se tornam reais. Sonhe, trace metas, estabeleça prioridades e corra riscos para executar seus sonhos”

Augusto Cury

RESUMO

A pesca é uma das atividades mais primitivas do homem na obtenção de proteína de origem animal para a alimentação. Desde os primórdios da civilização, o pescado faz parte da alimentação humana. Porém, o Brasil apresenta um dos mais baixos índices de consumo de pescado. Nos últimos anos, todavia, tem-se observado uma mudança no perfil nutricional da população e a oferta de pescado de qualidade, no mercado interno, pode direcionar o consumo, em especial pela disponibilidade de novas formas de apresentação deste alimento perecível que não seja a tradicional enlatada. O hábito de ingerir peixes, em especial crus, é de introdução recente no cardápio dos estabelecimentos de alimentos nas grandes cidades brasileiras. O amplo consumo de peixe, sob a forma de *sushi* e *sashimi*, faz crescer proporcionalmente a preocupação com a qualidade higiênico-sanitária deste alimento, uma vez que os peixes crus podem veicular toxinfecções alimentares. Considerando o consumo crescente de produtos crus por uma parcela significativa de potiguaras, aliado à possibilidade do surgimento de doenças decorrentes da ingestão desses alimentos, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de *sushis* e *sashimis*, comercializados na cidade de Natal/RN, a fim de recomendar medidas que minimizem os riscos inerentes, garantindo a saúde do consumidor. Para tal, foram analisadas quatro amostras de *sushis* e quatro de *sashimis* de três restaurantes distintos, sendo todas prontas para o consumo, totalizando 24 amostras. As análises realizadas contemplaram a pesquisa de *Salmonella sp.*, a determinação de número mais provável (NMP) de coliformes à 45°C e a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, que são os microorganismos determinados pela Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Anvisa. Além da análise microbiológica, foi realizado um diagnóstico das condições sanitárias em que se encontram os estabelecimentos. Das amostras analisadas, foi observado que 5% apresentaram uma contaminação por bactérias do grupo coliformes à 45°C, encontrando-se acima do padrão legal permitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com um NMP ≥ 240 /g. Não foi encontrada a presença *Salmonella sp.* e *Staphylococcus* coagulase positiva em nenhuma amostras. Com relação às condições sanitárias do local, foi observada a falta de conhecimentos de higiene por parte dos manipuladores, a ausência do uso de luvas descartáveis e a possibilidade de contaminação cruzada. Através dos resultados encontrados, conclui-se que as amostras de *sushis* e *sashimis* estão em boas condições sanitárias. Porém, 100% das amostras apresentaram contaminação por outros microrganismos não identificados, o que indica que apenas os parâmetros considerados para qualidade higiênico-sanitária podem não ser suficientes para garantir a inocuidade de um alimento. Desta forma, ressalta-se a necessidade da adoção de boas práticas de manipulação destes alimentos, visando uma melhoria da qualidade dos mesmos e consequentemente da saúde da população.

Palavras-chave: Pescado. *Sushi*. *Sashimi*. Análise microbiológica.

ABSTRACT

Fishing is one of the man's most primitive activity on obtaining animal protein for food. Since the beginning of civilization, fish is part of human food. But Brazil has one of the lowest rates of fish consumption. On recent years, however, there has been a change in the nutritional profile of population and fish supply in direct consumption from our domestic market, especially the availability of new forms of presentation of perishable food which is not traditional canned. The habit of eating fish, especially raw, is a recent introduction on the *menu* of food establishments in large cities. Large fish consumption, in the form of *sushi* and *sashimi*, grows proportionally along the concern for sanitary quality of food, as raw or undercooked fish may serve food poisoning. Considering the increasing consumption of raw products for a significant portion in Rio Grande do Norte, along with the possibility of emergence of diseases caused by these foods, this study aims to assess the microbiological quality of *sushi* and *sashimi*, sold in Natal / RN, to recommend measures to minimize the risks, ensuring consumer's healthcare. To this end, were analysed four *sushi* samples and four *sashimi* of three distinct restaurants, all being ready for consumption, total of 24 samples. The research analyzes the contemplated *Salmonella* sp., The determination of the most probable number (MPN) of coliforms at 45 ° C and counting *Staphylococcus* coagulated-positive microorganisms that are determined by Brazilian resolution RDC No. 12 of January 2, 2001 Anvisa. In addition to microbiological analysis, a diagnosis was also carried out concerning establishments health conditions as well. From those chosen samples it was observed that 5% showed a contamination coliform bacteria at 45 ° C, being above the legal standard permitted by the National Sanitary Surveillance Agency (ANVISA), with a MPN $\geq$ 240/g. There was no presence of positive *Salmonella* sp. and *Staphylococcus* coagulates in any samples. It was clear the respect of sanitary conditions in those sites, there was a lack of knowledge of hygiene by handlers, the absence in usage of disposable gloves and the possibility of cross contamination. Through, the results have concluded that the samples of *sushi* and *sashimi* are in good sanitary condition. However, 100% of the samples contemned by other microorganisms were not identified, indicating that only considered parameters for sanitary quality can not be sufficient to ensure safety in food consumption. In this way, it emphasizes the need for adopting best practices in handling these food in order to improve their quality and consequently health of population.

Keywords: Seafood. *Sushi*. *Sashimi*. Microbiological analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma simplificado da coleta das amostras submetidas às análises microbiológicas de <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> comercializados em restaurantes japoneses na cidade de Natal/RN, no período compreendido entre julho e setembro de 2011.....	26
Figura 2: Fluxograma do preparo de amostras dos <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> analisados.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Quantidade de microorganismos tolerada para pratos prontos para o consumo a base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, sushi, sashimi, etc), segundo RDC nº12 de janeiro de 2001.....	35
Tabela 2: Número Mais Provável de coliformes a 45°C dos <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> comercializados em restaurantes japoneses na cidade do Natal/RN, no período de julho a setembro de 2011.....	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
3.1 PESCADO.....	15
3.2 IMPORTÂNCIA DO PEIXE NA ALIMENTAÇÃO.....	16
3.3 CONSUMO DE PESCADOS CRUS.....	17
3.4 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA'S).....	18
3.5 SEGURANÇA ALIMENTAR.....	19
3.6 HIGIENE DE ALIMENTOS.....	20
3.7 LEGISLAÇÃO SANITÁRIA PARA <i>SUSHIS</i> E <i>SASHIMIS</i>	21
3.8 PRINCIPAIS BACTÉRIAS EM <i>SUSHIS</i> E <i>SASHIMIS</i>	22
4 METODOLOGIA.....	26
4.1 MATERIAL.....	26
4.1.1 Amostragem	26
4.2 MÉTODOS.....	27
4.2.1 Diagnóstico das condições de comercialização de <i>sushis</i> e <i>sashimis</i> nos estabelecimentos analisados.....	27
4.2.2 Preparo das amostras.....	27
4.2.3 Determinação do NMP de Coliformes à 45°C.....	28
4.2.4 Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.	29
4.2.5 Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>.....	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1 CONDIÇÕES DE COMERCIALIZAÇÃO DE <i>SUSHIS</i> E <i>SASHIMIS</i> NOS LOCAIS DAS COLETAS.....	32
5.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	34
6 CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS.....	40
ANEXO	

1 INTRODUÇÃO

A pesca é uma das atividades mais primitivas do homem na obtenção de proteína de origem animal para a alimentação. Desde os primórdios da civilização, o pescado faz parte da alimentação humana (SANTOS, 2006). Porém, o Brasil apresenta um dos mais baixos índices de consumo de pescado. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2001), cada brasileiro consome em média 6,5kg, metade dos 13kg recomendados pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

Nos últimos anos, todavia, tem-se observado uma mudança no perfil nutricional da população e a oferta de pescado de qualidade, no mercado interno, pode direcionar o consumo, em especial pela disponibilidade de novas formas de apresentação deste alimento perecível que não seja a tradicional enlatada (GERMANO; GERMANO, 2008).

O hábito de ingerir peixes, em especial crus, é de introdução recente no cardápio dos estabelecimentos de alimentos nas grandes cidades brasileiras. As lojas especializadas em *sashimi* e *sushi*, anteriormente restritas a regiões onde predominavam imigrantes asiáticos, tornaram-se comuns nos bairros das classes mais altas, estando presentes em quase todos os *shoppings* dentro da categoria dos *fast food*, existindo até lojas especializadas na modalidade de entregas em domicílio (GERMANO; GERMANO, 2008).

O crescente consumo de pratos orientais na sociedade moderna está relacionado a fatores como a busca por uma alimentação mais saudável, baixos teores de lipídios saturados e riqueza em lipídios insaturados, baixa digestibilidade, aliados à sofisticação gastronômica (MÁRSICO et al., 2006).

O amplo consumo de peixe, sob a forma de *sushi* e *sashimi*, faz crescer proporcionalmente a preocupação com a qualidade higiênico-sanitária deste alimento, uma vez que os peixes crus ou malcozidos podem veicular toxinfecções alimentares (SATO e col., 2005). O pescado é um dos alimentos mais susceptíveis à deterioração devido à atividade de água elevada, a sua composição química que varia em função da espécie, época do ano e condições de alimentação, ao teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, principalmente, ao pH próximo da neutralidade, o que favorece o desenvolvimento microbiano (GONÇALVES, 2004).

Segundo Jay (2005), a microbiota do pescado reflete a água onde vivem, visto que os tecidos internos de um peixe sadio são estéreis, sendo a qualidade sanitária da água de onde os animais são retirados fundamental à qualidade microbiológica do produto final. Os microorganismos também podem ser veiculados nas várias etapas do processamento, como o descasque, a descamação, a evisceração e as demais manipulações (MALAVOTA et al., 2009).

Devido à composição e condições de higiene, transporte e armazenamento do pescado fresco, o alimento se torna vulnerável à ação de patógenos, estando amplamente associado com enfermidades de origem alimentar (SILVA JR., 2001).

Considerando o crescente consumo de produtos crus por uma parcela significativa de potiguares, aliado à possibilidade do surgimento de doenças decorrentes da ingestão desses alimentos, é de grande importância investigar a qualidade microbiológica de *sushis* e *sashimis*, comercializados na cidade de Natal/RN, a fim de recomendar medidas que minimizem os riscos inerentes, garantindo a saúde do consumidor.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade microbiológica de *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes japoneses de Natal/RN.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os procedimentos realizados pelos manipuladores durante o ato de comercialização, bem como as condições higiênico-sanitárias e estruturais dos locais de venda dos *sushis* e *sashimis*;
- Realizar a determinação de coliformes à 45°C;
- Identificar a presença de *Salmonella* sp.;
- Realizar a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PESCADO

Pescado é definido como o conjunto de animais aquáticos que vive normalmente em água doce ou salgada, e que é aproveitado na alimentação. Considera-se pescado fresco aquele que não sofreu qualquer processo de conservação, exceto pelo resfriamento e que mantém suas características sensoriais essenciais inalteradas (SÃO PAULO, 1978).

Peixes e frutos do mar representam um terço do consumo mundial de proteína (DIAZ, 2004) e, em muitos países, principalmente da Europa e da Ásia, o pescado é a principal proteína animal consumida (HUSS; REILLY; EMBAREK, 2000).

Desde o final da Segunda Guerra Mundial, em 1945, o consumo de pescado vem aumentando ano após ano. A produção mundial de pescado cresceu de 19 milhões de toneladas em 1950, para 39 milhões em 1961 e mais de 130 milhões em 2001. Isto representa um crescimento anual contínuo de 3,84% por cinquenta anos (FAO, 2005; WIEFELS, 2003).

Considerando somente os tipos de carne, no ano de 2000 foram produzidas 130,5 milhões de toneladas de produtos pesqueiros no mundo, dos quais 74% foram destinados ao consumo humano direto. Este número supera qualquer tipo de carne proveniente do ambiente terrestre (WIEFELS, 2003). O Brasil produzia 150 mil toneladas de pescados em 1950 e, no ano de 2003, produziu mais de 1 milhão de toneladas (FAO, 2005). Hoje, é o 25º maior produtor de pescado (FRITSCH, 2004), e sua produção vem crescendo. Apesar de o Brasil ser grande produtor de pescados, a ingestão de peixes foi reduzida pela metade (BARCIOTTE; BADUE, 2007).

O consumo per capita relativamente pequeno no Brasil pode ser explicado pela composição da população brasileira, de diversas origens e, portanto tradições; e por um deficiente sistema de distribuição. O custo relativamente elevado dos pescados para os brasileiros também colabora para um menor consumo, mas não é o principal fator, já que as espécies mais consumidas no Brasil são importadas e

caras, como bacalhau norueguês, merluza argentina e salmão chileno. A partir de 1991, observa-se um relativo estacionamento da quantidade de processamento de produtos pesqueiros e um crescimento no consumo de pescado fresco (WEIFELS, 2003).

3.2 IMPORTÂNCIA DO PEIXE NA ALIMENTAÇÃO

O consumo de peixe vem sendo cada vez mais estimulado por médicos, nutricionistas e até mesmo pela mídia, devido às inúmeras vantagens que este alimento oferece (SANTOS, 2006).

O pescado é uma fonte de proteína tão importante para o homem quanto a carne bovina e com, aproximadamente, 60% menos calorias (HANASHIRO, 2002).

Com relação à quantidade e à qualidade das proteínas do pescado, pode-se dizer que essa carne é excelente fonte protéica; considerando uma variação entre as espécies, o teor é sempre alto, da ordem de 15% a 25%. O pescado apresenta todos os aminoácidos essenciais, tem elevado teor de lisina, aminoácido *starter* do processo digestivo e necessário na dieta brasileira à base de arroz. A digestibilidade é alta, conforme a espécie (geralmente acima de 95%), e maior que a das carnes em geral e a do leite. O valor biológico é próximo de 100, determinado pela alta absorção dos aminoácidos essenciais (OETTERER; REGITANO-D'ÁRCE; SPOTO, 2006).

O pescado, de maneira geral, tem gordura muito mais insaturada e com maior conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) n-3 do que da carne, sendo, por isso, um alimento muito mais saudável do ponto de vista nutritivo em relação aos níveis de colesterol sérico e de ecosanóides dos consumidores. Por essa razão, em muitos países, seu consumo vem aumentando. São os PUFA que, de fato, diferenciam a gordura dos peixes da gordura dos animais terrestres e que, portanto, conferem suas características particulares (ORDÓÑEZ e col., 2005).

Deve-se destacar que o valor biológico das gorduras é importante na prevenção de ateroma, devido à presença de grande número de PUFA, além dos ácidos palmitoléico, linoléico, linolênico e araquidônico (GERMANO; GERMANO, 2008).

O pescado tem grande variedade de minerais, dos quais os mais abundantes são cálcio, fósforo, sódio, potássio e magnésio. Em quantidades residuais, pode-se encontrar iodo, ferro, cobre, flúor, cobalto e zinco (ORDÓÑEZ e col, 2005).

3.3 CONSUMO DE PESCADOS CRUS

A oferta de peixe fresco é cada vez maior e, no intuito de estimular o consumo, hoje existem novas formas de apresentação desse alimento perecível, anteriormente oferecido apenas de maneira enlatada ou em conserva (GERMANO; GERMANO, 2003).

Sushi e *sashimi* são alimentos típicos da culinária nipônica, a base de pescado cru, e/ou arroz japonês e/ou alga marinha, preparados manualmente. Esses pratos estão tornando-se populares em outros países, além do Japão (YANO et al., 2004; HAMADA-SATO et al., 2005; WATANABE et al., 2005).

O *sushi* originou-se no século VI, no sudeste asiático, expandindo-se posteriormente pela China e Japão. O peixe limpo e eviscerado era guardado sobre uma porção de arroz e a fermentação natural do arroz ajudava a preservar o peixe. Em cada região, as maneiras peculiares de se preparar o *sushi* foram transmitidas até os dias de hoje, graças às tradições. O *sashimi* é um dos pratos mais típicos da cozinha japonesa, elaborado a partir de peixes e frutos do mar frescos e fatiados manualmente e saboreados crus (MÁRSICO et al., 2006).

Com a popularização do consumo de peixe cru (*sushi* e *sashimi*) aumentou também a forma de preparação e os ingredientes utilizados nestes pratos. Preparações que antes incluíam apenas peixes, arroz e alga, estão sendo montadas utilizando frutas e legumes. Porém, os pescados crus ainda são presença obrigatória em pratos japoneses. Os mais utilizados são o atum, o salmão, namorado, o carapau, o camarão e as lulas (MATTÉ et al., 2006).

O hábito de consumir peixe cru vem aumentando gradativamente, sendo cada vez maior a oferta deste alimento para consumo “in natura”, tanto em restaurantes, quanto nos próprios pontos de venda, como peixarias, até mesmo em regiões onde não predominam imigrantes asiáticos (SANTOS, 2006).

Associado ao crescente consumo de *sushis* e *sashimis*, aumenta a preocupação com a qualidade higiênico-sanitária dos pescados e de suas preparações, uma vez que pescados crus são veículos de agentes causadores de toxinfecções alimentares (MARTINS, 2006).

3.4 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA's)

Doenças de origem alimentar são todas as ocorrências clínicas que decorrem da ingestão de alimentos que podem estar contaminados com microrganismos patogênicos (infecciosos ou toxinogênicos), substâncias químicas ou que contenham em sua constituição estruturas naturalmente tóxicas (SILVA JR., 2005). Segundo o Manual ABERC de Práticas de Elaboração e Serviço de Refeições para Coletividades (2009), existem quatro divisões para as DTA's: toxínose, caracterizada pelo quadro clínico decorrente da ingestão de toxinas bacterianas pré-formadas nos alimentos; infecção, quando o quadro clínico provém da ingestão de microrganismos patogênicos que se multiplicam no trato gastrointestinal, produzindo toxinas ou agressão ao epitélio; infestação, que são parasitoses não invasivas de interesse médico, sendo representados pelos helmintos e protozoários com ação patogênica intestinal; e intoxicação química, que seria causado pela ação de substâncias químicas.

As doenças de origem alimentar representam um perigo de grande relevância para a saúde humana. Com o aumento de viagens e comércio internacionais nos últimos anos, surge também o risco de disseminação de microrganismos patogênicos. Com isso, programas de controle de qualidade microbiológica são empregados em toda a cadeia de produção alimentar com o objetivo de minimizar o risco de infecção para o consumidor (FREITAS; LEMOS; MARIN, 2006).

As principais DTA's possuem como características comuns, um curto período de incubação e um quadro clínico gastrointestinal manifestado por diarreia, náuseas, vômitos e dor abdominal, acompanhado ou não de febre. Normalmente possuem curta duração, havendo recuperação total dos pacientes. Todavia, em indivíduos muito jovens ou idosos e debilitados, estas doenças podem originar complicações graves, conduzindo-os à morte (GERMANO; GERMANO, 2008).

3.5 SEGURANÇA ALIMENTAR

De acordo com a Portaria 710 de 10 de Junho de 1999 do Ministério da Saúde, da Política Nacional de Alimentação e Nutrição, o conceito aplicado à segurança alimentar que, anteriormente era limitado a abastecimento em quantidade apropriada, foi ampliado, incorporando também o direito de acesso universal aos alimentos, os aspectos nutricionais e, conseqüentemente, as questões relativas à composição, à qualidade e ao aproveitamento biológico. O Brasil adotou esse novo conceito a partir de 1986, com a I Conferência Nacional de Alimentação e Nutrição, o qual se consolidou a partir da realização da I Conferência Nacional de Segurança Alimentar, em 1994 (SILVA JR., 2005).

Segundo o Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA) – instrumento de articulação entre governo e sociedade civil na proposição de diretrizes para as ações na área da alimentação e nutrição – a Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) é conceituada como:

A realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde, que respeitem a diversidade cultural e que sejam ambiental, econômica e socialmente sustentáveis. (CONSEA, 2006).

Para Silva Jr. (2005), o controle higiênico-sanitário dos alimentos, bastante discutido e difundido com o tema “*food safe*”, que significa “alimento seguro”, pode ser conceituado como a garantia, ou a segurança de que o consumo de um determinado alimento não acarretará dano ao consumidor quando preparado ou consumido de acordo com seu uso intencional.

A questão da segurança alimentar é um dos sustentáculos dos problemas atuais no mundo, especialmente no Brasil. A alimentação dentro dos padrões higiênico-sanitários satisfatórios é uma das condições essenciais para a manutenção e promoção da saúde. As precárias condições higiênicas constituem-se em fatores responsáveis pela ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos,

podendo ocorrer por higienização incorreta de equipamentos e utensílios utilizados no processamento de refeições (PIRAGINE, 2005).

Portanto, a segurança alimentar, é fundamental para o desenvolvimento de sistemas que promovem a saúde do consumidor. Pois, além de atender as exigências legais também garantem a qualidade dos alimentos (PIRAGINE, 2005).

3.6 HIGIENE DE ALIMENTOS

No setor alimentício, quando se fala em qualidade, automaticamente também se fala em inocuidade, em ausência de perigos físicos, químicos ou biológicos em níveis que possam ocasionar dano à saúde do consumidor. Isso só reforça a idéia da importância da adoção de procedimentos de higienização adequados e eficazes.

Segundo Germano (2008), higiene é considerada a base para a qualidade e segurança dos alimentos. É de grande importância que os procedimentos e etapas da higienização não interfiram nas propriedades nutricionais e sensoriais dos alimentos, mas que possam garantir a integridade de sua pureza, de suas características microbiológicas e de seus aspectos naturais.

Assim, a utilização de cuidados rigorosos de higienização, seguindo normas adequadas, favorece eficazmente o controle de qualidade do alimento, viabiliza os custos de produção, satisfaz os consumidores, além de não oferecer risco à sua saúde, pois respeita normas e padrões microbiológicos recomendados pela legislação vigente (SILVA JR., 2005).

O processo de higienização tem como objetivo eliminar ou reduzir a contaminação, diminuindo assim, a probabilidade de transmissão de agentes causadores de doenças e, do ponto de vista conceitual, divide-se em duas diferentes e essenciais etapas: limpeza e desinfecção (ou sanificação).

Na limpeza, objetiva-se a remoção de resíduos orgânicos e minerais, proteínas, gorduras e sais minerais. Ou seja, sujidades de um modo geral. Na desinfecção, procura-se eliminar microrganismos patogênicos e reduzir o número de saprófitas ou alteradores a quantidades insignificantes, garantindo o nível de segurança (GERMANO; GERMANO, 2008)

3.7 LEGISLAÇÃO SANITÁRIA PARA *SUSHIS* E *SASHIMIS*

Com a crescente preocupação relacionada à qualidade de alimentos e suas respectivas repercussões na saúde dos consumidores, órgãos internacionais liderados pela OMS, a fim de possibilitar a coordenação de esforços para garantir a inocuidade dos alimentos e, conseqüentemente, a proteção à saúde do consumidor, a FAO juntamente com a OMS, criaram em 1963, o *Codex Alimentarius Comission* (CAC), que tem como objetivo desenvolver padrões para alimentos, guias e textos relacionados, como códigos de boas práticas, sob a gestão da *Joint FAO/ WHO Food Standards Programme*. O Brasil é signatário do Codex e tem participação ativa em suas reuniões, que são realizadas periodicamente sob os auspícios da OMS. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) é a representante do Ministério da Saúde, junto ao CAC, organismo internacional de máxima importância para a segurança alimentar (GERMANO; GERMANO, 2008).

Com relação à Anvisa, citada anteriormente, é relevante mencionar que este órgão foi criado em janeiro de 1999, no âmbito do Ministério da Saúde, e promulgada pela Lei nº 9.782 como agência reguladora, caracterizada pela independência administrativa, estabilidade de seus dirigentes enquanto perdurarem seus mandatos e autonomia financeira, gerando um verdadeiro tremor nos órgãos estaduais e municipais da saúde, devido às necessidades de promover a reestruturação dos serviços de vigilância sanitária, adequando-os à nova política federal. São de competências da Anvisa, ações sobre: o meio ambiente, a circulação de bens (produtos relacionados à saúde), a produção (serviços de saúde), e a vigilância sanitária do trabalho (GERMANO; GERMANO, 2008).

Com relação à legislação nacional, promulgou-se uma Resolução na qual estabelecem limites e critérios para fins de registro e fiscalização de produtos alimentícios. Trata-se da Resolução RDC N^o12, de 02 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001), que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos. Nesta resolução, os padrões específicos para os *sushis* e *sashimis* estão inseridos no grupo de alimentos designados como: "Pratos prontos para o consumo a base de carnes, pescados e similares crus, cuja tolerância máxima para amostra indicativa é de 10² NMP/g de coliformes a 45^oC, ausência de

Salmonella sp. em 25g, 5×10^3 UFC/g de Estafilococos coagulase positiva e 10^3 de *Vibrio parahaemolyticus*.

3.8 PRINCIPAIS BACTÉRIAS EM SUSHIS E SASHIMIS

COLIFORMES A 45°C

Coliformes totais e coliformes termotolerantes são grupos de bactérias indicadoras de contaminação utilizados na avaliação da qualidade sanitária de alimentos. A pesquisa destes microorganismos como indicadores deve-se ao fato de terem detecção e enumeração mais rápidas e com menor custo do que a pesquisa de cada patógeno (JAY, 2000).

Coliformes termotolerantes é um subgrupo de coliformes totais, definidos como aqueles capazes de continuar fermentando lactose com produção de gás, no período de 48 horas, quando incubados à temperatura de 45,5°C Este grupo inclui pelo menos três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais os dois últimos incluem também cepas de origem não fecal. (MARTINS, 2006).

Dentre as bactérias de habitat reconhecidamente fecal, *Escherichia coli* – componente natural da flora intestinal humana – é a mais conhecida e a mais facilmente diferenciada dos membros não fecais, sendo o melhor indicador de contaminação fecal conhecido (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001).

A ocorrência de números elevados de organismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae* em alimentos frescos de origem animal, pode indicar falhas de higiene durante a manipulação e/ou armazenamento inadequado. Já a contagem de coliformes termotolerantes indica a possibilidade da presença de microorganismos patogênicos entéricos (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001; FRANCO & LANDGRAF, 2003).

STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são coco gram-positivos, anaeróbicos facultativos, pertencentes à família Micrococcaceae. Algumas cepas produzem uma

enterotoxina termoe estável, responsável, no homem, pelos quadros de intoxicação alimentar (FORSYTHE, 2002).

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são mesófilas com crescimento entre 7°C e 46°C, sendo 37°C a temperatura ótima de desenvolvimento. Enterotoxinas termorresistentes são produzidas em alimentos que permanecem neste intervalo de temperatura por tempo viável. Em temperatura ótima, a enterotoxina se torna evidente em quatro a seis horas (FRANCO & LANDGRAF, 2003; FDA, 2005).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são habitantes usuais da pele, das membranas mucosas, do trato respiratório superior e do intestino do homem e animais. A partir destes, as bactérias podem atingir ar, água, solo, leite, esgoto e qualquer superfície ou objeto que tenha entrado em contato com infectados. Dessa forma, todos os alimentos ficam sujeitos à contaminação; e se os mesmos apresentarem boas condições para o crescimento do patógeno, serão uma fonte de intoxicação (FORSYTHE, 2002; FRANCO & LANDGRAF, 2003).

A espécie *S. aureus* é a mais resistente de todas as bactérias patogênicas não formadora de esporos, e está entre as mais frequentemente associadas a surtos de intoxicações, devido ao importante papel desempenhado pelos manipuladores durante o processamento dos alimentos, somado aos riscos de contaminação das matérias-primas desde sua origem (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

A intoxicação em decorrência do *S. aureus* é provocada pela ingestão do alimento com a toxina pré-formada. O período de incubação médio é de duas a quatro horas, e os sintomas variam com o grau de suscetibilidade do indivíduo, concentração da enterotoxina no alimento e quantidade deste ingerido. Os principais sintomas são náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia e sudorese, e a recuperação dá-se, na maior parte dos casos, em 24 a 48 horas (SILVA JR, 2002; FRANCO & LANDGRAF, 2003).

Quando a contagem de *S. aureus* no alimento é superior a 10^4 células por grama, uma quantidade suficiente de enterotoxina pode ser produzida para causar intoxicação no consumidor (JAY, 2000).

A pesquisa de *S. aureus* em alimentos permite avaliar a qualidade higiênico-sanitária dos processos de produção de alimentos, servindo como indicador de contaminação pós-processo (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001).

SALMONELLA SP.

O gênero *Salmonella*, pertencente também à família das Enterobacteriaceae, é constituído por bactérias gram-negativas, geralmente móveis, não-formadora de esporos, anaeróbias facultativas, catalase positivas, oxidase negativas, desenvolvendo-se no intervalo de temperatura entre 5° e 47°, porém idealmente na faixa de 35°C a 37°C (FRANCO e LANDRAF, 2003). As bactérias do gênero *Salmonella* são amplamente distribuídas na natureza, porém são preferencialmente localizadas no trato intestinal de animais e seres humanos (KONEMAN et al., 2001).

Devido ao fato de estar presente especialmente em águas contaminadas de regiões próximas à costa marítima, em rios ou lagos, as salmonelas podem ser isoladas a partir de peixes frescos capturados nestes locais. De modo geral, o pescado é um veículo de *Salmonella* spp muito menos frequente do que outros produtos alimentares. Em conjunto com os denominados frutos do mar, ostras, mariscos e lagostas, são responsáveis apenas por uma pequena porcentagem do número total de casos de salmonelose (CVE, 2005).

A transmissão da *Salmonella* spp ao homem, com maior frequência, dá-se por produtos alimentares, sobretudo os de origem animal (GERMANO e GERMANO, 2003). Como o calor é eficiente na destruição desta bactéria, alimentos submetidos a altas temperaturas não costumam oferecer risco. Alimentos contaminados ingeridos crus ou malcozidos – aliados às más condições de higiene dos locais de armazenamento e processamento, de utensílios e de equipamentos, bem como à falta de treinamento dos manipuladores em boas práticas de fabricação, que facilita a contaminação cruzada – constituem fatores determinantes de surtos de salmonelose (GERMANO e GERMANO, 2003; SILVA JR., 2002; FRANCO e LANDGRAF, 2003; CVE, 2005).

A grande maioria das salmonelas é patogênica, razão pela qual é uma das mais importantes causas de DTAs e grande responsável por surtos de origem alimentar no Brasil. A sua patogenicidade varia de acordo com a idade, condições de saúde do hospedeiro, o tipo de alimento e a susceptibilidade do indivíduo (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Os principais sintomas das salmoneloses provocados pelos sorotipos não-tifóides são diarreia, dor abdominal, febre, náuseas e vômitos que ocorrem, em geral, de 12 a 36 horas após a ingestão do alimento infectante. Contudo, os

sintomas e a evolução do quadro clínico podem variar, consideravelmente, desde uma infecção assintomática até uma doença grave com complicações mais sérias (GERMANO e GERMANO, 2003; SILVA JR., 2002; FRANCO & LANDGRAF, 2003).

A detecção da *Salmonella* ainda é realizada, sobretudo, a partir de métodos tradicionais de bacteriologia, como os testes bioquímicos e sorológicos. O primeiro consiste na diferenciação em espécies distintas a partir da habilidade, de cada uma delas, fermentarem uma grande variedade de carboidratos selecionados. O segundo consiste no emprego de diferentes anti-soros conhecidos, a partir dos quais a bactéria aglutina quando misturada a anticorpos que são produzidos em reposta àquelas espécies ou gênero, configurando, desta forma, um resultado positivo (MORITA, 2005).

VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS

O gênero *Vibrio* é composto por bacilos gram-negativos, retos ou curvos, móveis, catalase e oxidases positivas, fermentadoras de glicose sem produção de gás e sensíveis às temperaturas superiores a 43°C. Pertencem à família *Vibrionaceae*, que agrupa inúmeras bactérias patogênicas ao homem, que causam desde gastroenterites autolimitantes até quadros graves de septicemia, podendo levar os pacientes ao óbito (FORSYTHE, 2002; FRANCO & LANDGRAF, 2003; MATTÉ, 2003).

O *Vibrio parahaemolyticus* é responsável por surtos de toxinfecção alimentar, intimamente relacionada ao consumo de pescados. Ocorre em água de estuários de todo o mundo, sendo facilmente encontrada em águas costeiras, no sedimento, em partículas suspensas, plâncton e uma variedade de peixes e frutos do mar. Vive em temperaturas que variam de 5° a 43°C e pH entre 5 e 11. Gastroenterites ocasionadas por *Vibrio parahaemolyticus* estão quase sempre relacionadas a alimentos marinhos consumidos crus ou insuficientemente cozidos. Os principais sintomas da doença alimentar gerada por tal espécie são diarreias, dores abdominais, náuseas, vômitos, dores de cabeça, febres e calafrios, durante 3 dias. O *Vibrio parahaemolyticus* é bastante sensível à desidratação e ao calor, logo, os surtos devem-se, frequentemente, à ingestão de alimentos marinhos crus submetidos a processos de manipulação inadequados (FORSYTHE, 2002; FRANCO & LANDGRAF, 2003; MATTÉ, 2003).

4 METODOLOGIA

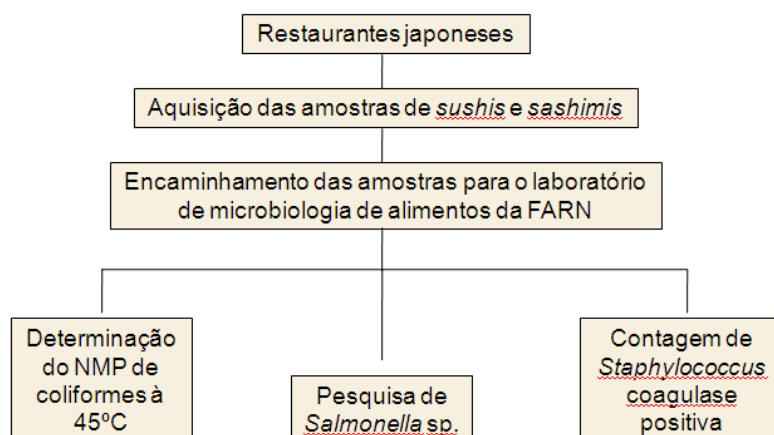
4.1 MATERIAL

Foram utilizadas amostras de *sushis* e *sashimis* comercializadas em 3 restaurantes japoneses de Natal/RN, meios de cultura, vidraria e equipamentos necessários para a realização do trabalho, disponíveis no laboratório de microbiologia da Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte - FARN.

4.1.1 Amostragem

Foram analisadas 4 amostras de *sushis* e 4 de *sashimis* de cada restaurante, sendo todas prontas para o consumo, totalizando 24 amostras. Tais amostras foram acondicionadas em recipientes isotérmicos e encaminhadas ao laboratório de microbiologia da FARN, onde seriam analisadas imediatamente após a recepção (Figura 1).

Figura 1: Fluxograma simplificado da coleta das amostras submetidas às análises microbiológicas de *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes japoneses na cidade de Natal/RN, no período compreendido entre julho e setembro de 2011.



Fonte: Dados da pesquisa (2011)

4.2 MÉTODOS

Para verificar as condições de higiene, manipulação e qualidade dos *sushis* e *sashimis*, foram feitas análises de determinação do NMP de coliformes a 45°C, pesquisa de *Salmonella sp.* e contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, que são os microorganismos determinados pela Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Anvisa (BRASIL, 2001), para produtos à base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, *sushi*, *sashimi*, etc). Não foi possível analisar a presença de *Vibrio parahaemolyticus*, devido à falta de recursos necessários para o procedimento.

Além da análise microbiológica, foi realizado um diagnóstico das condições sanitárias em que se encontram os estabelecimentos.

4.2.1 Diagnóstico de condições de comercialização de *sushis* e *sashimis* nos estabelecimentos analisados

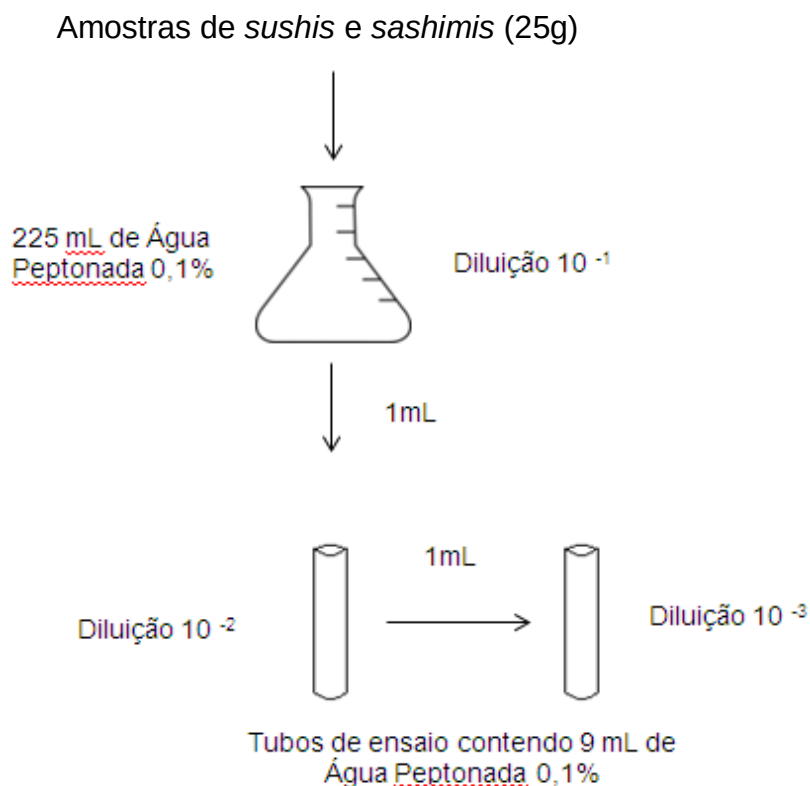
No momento da coleta das amostras, foram observadas as condições higiênico-sanitárias de venda dos *sushis* e *sashimis*, além das condições gerais referentes às instalações físicas, higiene ambiental, equipamentos/utensílios, higiene dos manipuladores e os procedimentos técnico-operacionais desenvolvidos pelos manipuladores (anexo A).

4.2.2 Preparo das amostras

As amostras foram preparadas de acordo com as normas da *International Commission on Microbiological Specification* (ICMSF) de 1978, na qual 25g de *sushi* e *sashimi*, respectivamente, foram adicionados em 225 mL de água peptonada 0,1%, sendo homogeneizados por 2 minutos. Partindo-se dessa emulsão de concentração

10^{-1} , foi preparada uma série de diluições decimais consecutivas de 10^{-2} a 10^{-3} , usando 9 mL de água peptonada 0,1% como diluente.

Figura 2: Fluxograma do preparo de amostras dos *sushis* e *sashimis* analisados.



Fonte: Dados da pesquisa (2011)

4.2.3 Determinação do NMP de Coliformes à 45°C (ICMSF, 1978)

- PROVA PRESUNTIVA

De cada diluição decimal da amostra, foram tomadas três porções de 1,0mL e transferidas para tubos contendo 10mL de caldo lauril com tubos Durham invertidos. Após completa homogeneização, os tubos foram inseridos

na estufa à 35°C por 24 horas. Passado esse tempo, foi realizada a leitura. Os tubos que apresentaram turvação com produção de gás (positivos) foram submetidos à prova confirmatória.

- PROVA CONFIRMATÓRIA

A partir dos tubos positivos da prova presuntiva, foi semeada uma alíquota de cada cultura, com uma alça de platina, para tubos contendo 10 mL de caldo E.C. com tubos de Durham invertidos e incubados em banho-maria à 45°C por 24 horas. Os tubos com turvação e produção de gás, após a incubação seriam tidos como positivos. Para cada diluição, foi anotado o número de porções positivas e, através da tabela de Hoskins (APHA, 1975), foi determinado o NMP de coliformes fecais por grama de alimento analisado.

4.2.4 Pesquisa da *Salmonella sp.* (ICMSF, 1978)

- PRÉ-ENRIQUECIMENTO

Na etapa do pré-enriquecimento, o meio utilizado possibilita o reparo das injúrias sofridas pelas células, sendo, portanto, de extrema importância para o isolamento.

Foram pesados 25g da amostra e transferidos para erlenmeyer estéril contendo 225 mL de caldo lactosado e incubados por 24 horas à 35°C.

- ENRIQUECIMENTO SELETIVO

Nesta etapa, 1 mL de caldo lactosado de cada amostra foi inoculado assepticamente em um tubo contendo 10 mL de caldo selenito - cistina e mais 1 mL em um tubo com 10 mL de caldo tetrationato. Logo após, os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas.

- ISOLAMENTO

Com uma alça de níquel-cromo, foram semeados os caldos de enriquecimento seletivo, em placas de ágar verde brilhante (VB) e ágar *Salmonella-Shigella* (SS), em seguida, incubadas a 35°C por 24 horas. As colônias suspeitas, no VB que se apresentaram com coloração rosa ou avermelhadas e no SS que se mostraram incolores, com centro negro ou não, foram submetidas aos testes bioquímicos.

- TRIAGEM

Após o isolamento, foram transferidas três colônias típicas de cada placa de VB e SS para tubos contendo ágar inclinado tríplice açúcar - Ferro (TSI) e lisina - ferro (LIA). As cepas a serem identificadas foram inoculadas na base por picada profunda e na superfície inclinada do ágar TSI e LIA, e incubadas a 35°C por 24 horas. A prova seria considerada positiva para *Salmonella* quando no TSI apresentasse o ápice alcalino (vermelho) e a base ácida (amarela), com ou sem produção de H₂S e no LIA, tanto o ápice como a base alcalina (púrpura).

4.2.5 Contagem de *Staphylococcus aureus* (ICMSF, 1978)

- SEMEADURA INICIAL

Inicialmente, foi semeado, em placas de ágar Bair – Pokerm 1mL de cada diluição da amostra, na superfície do meio que foram espalhadas com um Drigalsk estéril. Em seguida, as placas foram levadas à estufa e incubadas à 35°C por 24 horas.

- CONTAGEM E ISOLAMENTO DE COLÔNIAS TÍPICAS

Após o período de incubação, foram realizadas as contagens das colônias típicas de *Staphylococcus aureus*, caracterizadas pela cor negra brilhante, com zona de precipitação branca roseada por um halo claro transparente. Após a

contagem, foram isoladas e semeadas no caldo infusão de cérebro e coração (BHI) e levadas para a estufa à 35°C por 24 horas.

- IDENTIFICAÇÃO DAS CEPAS ISOLADAS

Para a identificação das cepas, foi realizada a Prova da Coagulase (ICMSF, 1978).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CONDIÇÕES DE COMERCIALIZAÇÃO DE *SUSHIS* E *SASHIMIS* NOS LOCAIS DE COLETA

No período de aquisição das amostras nos estabelecimentos, foi possível verificar alguns aspectos higiênico-sanitários relacionados ao preparo e comercialização de *sushis* e *sashimis*. Tais aspectos incluíram as condições das instalações físicas, higiene do manipulador e de utensílios/equipamentos.

Os restaurantes selecionados para amostragem (RI, RII e RIII) apresentavam decorações típicas japonesas e os funcionários, a maioria com feições orientais, trajavam roupas também típicas. Em todos os locais de coleta, o *sushiman* (pessoa que prepara os pratos nipônicos) preparava os *sushis* e os *sashimis* em um balcão de inox próximo ao bufê de exposição, de forma visível aos consumidores.

Nos três restaurantes, os *sushiman* utilizavam proteção para o cabelo, porém, nenhum utilizava luvas ou aventais. No RI, a vestimenta utilizada pelo manipulador era de cor preta, já no RII e RIII, o uniforme era da cor branca. De acordo com as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos - BPF (BRASIL, 1997) e com o Manual ABERC de Práticas de Elaboração e Serviço de Refeições para Coletividades (2009), os uniformes devem ser, preferencialmente, de cor clara, sem bolsos acima da cintura. Além disso, deve ser feito o uso de avental plástico, quando o trabalho em execução propiciar que os uniformes sujem ou molhem rapidamente. Os cabelos devem ser totalmente cobertos e protegidos, através de rede própria, touca gorro ou similar, não utilizando grampos para sua fixação. Com relação às luvas, sua adoção deve ocorrer no preparo e manipulação de alimentos prontos para o consumo, que não serão submetidos a tratamento térmico. Deve-se atentar para a adequada troca de luvas novas toda vez que se retornar a uma função previamente interrompida.

A não utilização de luvas torna-se um fator de risco, pois os contaminantes mais comuns do peixe, de acordo com Vieira (2004), são bactérias do grupo Coliforme, Enterococos e Estafilococos, que têm como fonte de contaminação o próprio manipulador e suas mãos. *Sushi* e *sashimi* são alimentos preparados basicamente com as mãos e este fato pode constituir, segundo Santos (2006), um

importante foco de microrganismos deteriorantes, patogênicos e de origem fecal, principalmente quando as mãos são mal higienizadas. O cabelo também é um importante veículo de microrganismos indesejáveis, portanto faz-se necessário o uso da touca.

Nos três estabelecimentos, os balcões eram refrigerados, estando em consonância com Silva Jr (2005), que preconiza que o armazenamento adequado dos alimentos é um fator determinante para a qualidade final do produto. Porém, em um deles (RI), o balcão era protegido com vidro, sendo aberto apenas para consumo ou reposição do alimento. Nos demais (RII e RIII), eram desprovidos de qualquer tipo de proteção, tornando os alimentos expostos a uma possível contaminação. Tal fator torna-se agravante para uma contaminação alimentar, pois, segundo Silva (2007), pode ocorrer caso não haja a conservação dos alimentos em tempo, temperatura e local adequado. Santos (2006) afirma que microrganismos provenientes da boca e vias nasais dos consumidores podem causar contaminação no local de exposição dos alimentos.

Os três restaurantes dispunham de sabão bactericida, papel toalha não reciclado, pia com acionamento automático, lixeira em boas condições, provida de saco plástico e acionamento com pedal. No entanto, foi observado que a higienização das mãos durante a manipulação era feita utilizando um pano descartável tipo “perfex”, não sendo possível precisar a periodicidade de troca deste pano no estabelecimento. O uso de panos na área de manipulação de alimentos, para enxugar utensílios ou as mãos dos manipuladores, não é recomendado pela Vigilância Sanitária, devido ao alto risco de contaminação que ele oferece. Além disso, havia um recipiente contendo água, no qual o manipulador constantemente molhava suas mãos pra poder moldar de forma mais precisa os *sushis* e essa água não era trocada constantemente. Zardonadi (2007) afirma que as mãos são importante veículo de contaminação, quando em contato com indivíduos, alimento, equipamento, utensílio e ambiente.

Os manipuladores não apresentavam lesão na pele, possuíam unhas aparentemente limpas, curtas e sem esmalte, não faziam uso de adornos e não entravam em contato direto com dinheiro, o que possibilitou constatar que todos estão de acordo com as normas da RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004 (BRASIL, 2004).

Os utensílios destinados ao preparo de *sushis* e *sashimis* em todos os locais de coleta eram utilizados exclusivamente para esse fim, porém, foi possível visualizar que era utilizada a mesma faca para manipular diferentes preparações, inclusive cruas ou cozidas. De acordo com Vieira (2004), os contaminantes mais comuns, durante a fase de processamento, são os utensílios e equipamentos aparentemente sanitizados, que podem transmitir contaminação de forma cruzada para outros alimentos.

Caso a manipulação não seja gerenciada e controlada, pode provocar contaminações, comprometer a segurança dos alimentos e, conseqüentemente, a do consumidor, podendo gerar toxinfecções, comprometimento da imagem e até fechamento do estabelecimento.

5.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

A análise para a verificação qualitativa e quantitativa dos microrganismos nos alimentos é fundamental para se conhecer as condições de higiene em que ele foi preparado, os riscos que ele pode oferecer à saúde do consumidor e se terá ou não a vida útil pretendida. Além disso, a análise laboratorial é indispensável para verificar se os padrões e especificações microbiológicos, nacionais ou internacionais, estão sendo atendidos adequadamente (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Para a interpretação dos dados, foi feita uma análise comparativa com a Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Anvisa (BRASIL, 2001), que dispõe sobre padrões microbiológicos sanitários em produtos à base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, *sushi*, *sashimi*, etc). A Resolução determina que o limite máximo aceitável de coliformes a 45°C é de 10^2 NMP/g, de *Staphylococcus* coagulase positiva é 5×10^3 UFC/g e, para *Salmonella* sp., deve-se ter ausência desse microrganismo (tabela 1).

Tabela 1: Quantidade de microorganismos tolerada para pratos prontos para o consumo a base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, *sushi*, *sashimi*, etc), segundo RDC nº12 de janeiro de 2001.

Microorganismo	Tolerância para amostra indicativa
Coliformes a 45°C	10 ² NMP/g
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	5 x 10 ³ UFC/g
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência/25g

Fonte: BRASIL, 2001.

A pesquisa do grupo coliformes termotolerantes é tradicionalmente empregada, sobretudo em saúde pública, como indicador das condições higiênico-sanitárias de uma amostra. A presença de coliformes termotolerantes em alimentos é um indicativo de contaminação fecal durante alguma etapa de sua produção (WEBSTER et al., 2004). A pesquisa desses microorganismos nos alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Tabela 2: Número Mais Provável de coliformes a 45°C dos *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes japoneses na cidade do Natal/RN, no período de julho a setembro de 2011.

AMOSTRA (Nº)	Coliformes a 45°C	
	<i>Sushis</i>	<i>Sashimis</i>
01	<3 (NMP/g)	<3 (NMP/g)
02	<3 (NMP/g)	<3 (NMP/g)
03	<3 (NMP/g)	<3 (NMP/g)
04	<3 (NMP/g)	<3 (NMP/g)
05	<3(NMP/g)	<3(NMP/g)
06	240 (NMP/g)	<3 (NMP/g)

07	<3(NMP/g)	<3 (NMP/g)
08	<3(NMP/g)	<3 (NMP/g)
09	<3 (NMP/g)	<3 (NMP/g)
10	<3(NMP/g)	<3(NMP/g)
11	<3 (NMP/g)	<3 (NMP/g)
12	<3(NMP/g)	<3(NMP/g)

Fonte: Dados da pesquisa (2011)

De acordo com a Tabela 2, pôde-se constatar que apenas uma amostra de *sushi* apresentou contaminação por bactérias do grupo coliformes à 45°C, encontrando-se acima do padrão legal permitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com um número mais provável (NMP) ≥ 240 /g.

Os resultados obtidos na presente pesquisa foram inferiores aos encontrados por Resende (2004) no qual, ao analisar amostras de *sushi* e *sashimi* em restaurantes de Brasília, observou quantificação de coliformes termotolerantes acima dos limites máximos recomendáveis em 25% das amostras. Já Pinheiro et al (2006), trabalhando com *sushi* e *sashimi* comercializado em estabelecimentos da cidade de Fortaleza-CE, encontraram 30% das amostras analisadas com valores acima do permitido para coliformes termotolerantes.

Martins (2006) verificando a qualidade microbiológica de *sushis* e *sashimis* na cidade de São Paulo encontrou 50% das amostras analisadas acima da contagem permitida, fato que se contrapõe aos resultados do presente estudo.

Os números elevados do grupo de coliformes termotolerantes em alimentos podem estar relacionados às condições gerais da matéria-prima utilizada, dos utensílios, dos manipuladores, do ambiente e do tempo e temperatura de armazenamento. Segundo Franco e Landgraf (2003), são ainda um indicativo de contaminação fecal durante alguma etapa do processamento, entre elas, linhagens patogênicas de *E. coli*.

Quando em número reduzido nos alimentos, os coliformes termotolerantes não são capazes de causar problema ao homem, torna-se apenas indicativo de que as condições de manipulação durante o processamento necessitam ser revistas, devido a falhas nos pontos críticos de controle (SILVA JR, 2005).

Em relação às análises de *Staphylococcus* coagulase positiva, o resultado da contagem deu negativa para todas as amostras. Diferente do que foi encontrado no estudo em questão, Menezes et al (2006), ao analisar vinte amostras de *sushi* e *sashimi* de dois restaurantes na cidade de Fortaleza, constatou que 50% das amostras de *sushis* e 40% das amostras de *sashimis* apresentaram *Staphylococcus* coagulase positiva acima do permitido pela Legislação brasileira.

Já em pesquisa feita utilizando *sushi* e *sashimi* comercializados em restaurantes de Brasília, Resende (2004) observou que apenas 1% das amostras apresentou resultado positivo para *Staphylococcus* coagulase positiva. Valores semelhantes foram obtidos por Millard e Rockliff (2003) que pesquisando *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras de *sushis* em estabelecimentos da Austrália encontraram 2,9% das amostras impróprias.

Albuquerque et al (2006), estudando supermercados e restaurantes especializados em comida japonesa na cidade de Fortaleza-CE, observaram que todos os cinco estabelecimentos, em pelo menos uma amostragem apresentaram contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva acima dos permitidos pela legislação.

No que diz respeito à pesquisa de *Salmonella* sp., não foram isolados microrganismos deste gênero em nenhuma das 24 amostras analisadas, estando estas 100% de acordo com o parâmetro preconizado pela RDC nº 12 (BRASIL, 2001). Millard e Rockliff (2003) também não isolaram este microrganismo ao analisarem amostras de *sushis* em estabelecimentos na Austrália, o que mostra um resultado satisfatório. Todavia, em estudo feito por Menezes et al (2006) que investigou a presença de *Salmonella* sp. em 10 pares de *sushis* e *sashimis* em dois restaurantes de Fortaleza-CE, detectou a presença deste microrganismo em 50% amostras de *sushi* e em 50% amostras de *sashimi*.

Consoante ao presente estudo, Resende (2004) ao avaliar *sushi* e *sashimi* comercializados em restaurantes de Brasília, também não encontrou células de *Salmonella* sp. em nenhuma das amostras analisadas. Porém, em estudo realizado na cidade de Fortaleza-CE por Pinheiro et al (2006), houve o isolamento

de cepas de *Salmonella* sp. em duas amostras de *sushi* e *sashimi*, de um total de 30 (6%), provenientes de dois diferentes estabelecimentos.

De acordo com Franco e Landgraf (2003), deve-se dar total importância a ocorrência deste microrganismo uma vez que todas as cepas de *Salmonella* sp. são patogênicas ao homem. Além disso, a legislação brasileira (ANVISA, 2001) determina que as salmonelas devam estar ausentes em qualquer produto alimentar.

6 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados indicam que as amostras de *sushis* e *sashimis* estão em boas condições sanitárias por não apresentarem contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva nem por *Salmonella* sp., e por conter quantidades mínimas de coliformes a 45°C. Vale ressaltar, porém, que 100% das amostras apresentaram contaminação por outros microrganismos não identificados, o que indica que apenas os parâmetros considerados para a qualidade higiênico-sanitária podem não ser suficientes para garantir a inocuidade de um alimento.

Os dados obtidos sugerem que condições inadequadas de manipulação e higiene por parte dos manipuladores contribuíram para a contaminação dos produtos. A identificação de coliformes a 45°C é uma importante ferramenta para a segurança alimentar dos consumidores destes produtos, uma vez que a presença de microorganismos pode acarretar efeitos prejudiciais à saúde do consumidor.

Desta forma, ressalta-se a necessidade da adoção de boas práticas de manipulação destes alimentos, visando a melhoria da qualidade dos mesmos e, consequentemente, da saúde da população. Estudos mais aprofundados devem ser conduzidos, a fim de desenvolver estratégias para garantir a qualidade e a segurança alimentar.