



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA

ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *SUSHIS*
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE FORTALEZA - CE

LARISSA OLIVEIRA CAMINHA

FORTALEZA
2011

LARISSA OLIVEIRA CAMINHA

**ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *SUSHIS*
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE FORTALEZA - CE**

Monografia de Graduação submetida à Coordenação do Curso de Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Engenheiro de Pesca.

Área de Concentração: Microbiologia Ambiental e do Pescado.

Orientador(a): Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira.

**FORTALEZA
2011**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Rui Simões de Menezes

-
- C191a Caminha, Larissa Oliveira.
Análise da qualidade microbiológica de *sushis* comercializados na cidade de Fortaleza – Ce /
Larissa Oliveira Caminha. – 2011.
40 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,
Departamento de Engenharia de Pesca, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2011.
Orientação: Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira.
1. Pescado. 2. Microbiologia. 3. Indústria pesqueira. I. Título.

CDD 664.9497

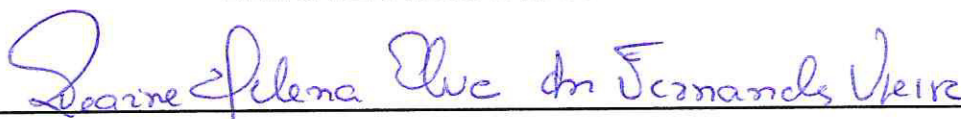
LARISSA OLIVEIRA CAMINHA

**ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SUSHIS
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE FORTALEZA - CE**

Monografia de Graduação submetida à Coordenação do Curso de Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Engenheiro de Pesca. Área de Concentração de Microbiologia Ambiental e do Pescado.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dra. Oscarina Viana de Sousa (Membro)
Instituto de Ciências do Mar - LABOMAR



Edirsana Maria Ribeiro de Carvalho, M. Sc. (Membro)

AGRADECIMENTOS

A Deus.

A minha querida mãe Tharcília Maria Josino de Oliveira e minha tia Thársia Josino de Oliveira, por sempre terem cuidado tão bem de mim.

Ao meu irmão Vithor Oliveira Caminha.

A toda minha família que sempre me apoiou e ajudou em todos os momentos.

À Cristiane e Edirsana por sempre terem me ajudado, e me aguentado em todos os momentos de sufoco na realização desse projeto.

À Renata por ter me ajudado com a identificação do *Vibrio parahaemolyticus*

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado.

Aos amigos de faculdade, que fiz durante esses cinco anos.

À minha orientadora Regine Helena Silva Fernandes Vieira pelo ensino, a oportunidade, orientação e dedicação. Com ela descobri meu interesse pela microbiologia.

Aos professores do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, por todo ensino durante esse tempo.

As minhas amigas Iara Pimentel, Mariana Coimbra, Maiara Avelar, Manuella Gazzineo, Georgiani Castro, Patrycia Cabral, Mayara Barreto pelas conversas, amizade, e por todos os momentos incríveis que passei na faculdade.

RESUMO

Pratos à base de pescado cru em pouco tempo se tornaram moda sendo sinônimo de “comida saudável”, no entanto, são necessários os devidos cuidados na sua ingestão em função de sua excessiva manipulação e seu armazenamento, muitas vezes em condições inadequadas de temperatura. O presente estudo objetivou avaliar a qualidade de produtos da culinária oriental “*sushis*” comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza, através da pesquisa de bactérias constantes na legislação brasileira vigente: coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella*. Em cada estabelecimento foram coletadas 40 amostras de *sushi* (20 de salmão e 20 de camarão), totalizando 120 amostras distribuídas em 12 coletas. As cepas de *Vibrio* foram quantificadas através do método do número mais provável (NMP) e a identificação de *Vibrio parahaemolyticus* foi realizada de acordo com o esquema de Noguerola; Blanch (2008). *Staphylococcus* coagulase positiva foi quantificado através da Contagem Padrão em Placas e os coliformes termotolerantes através da técnica dos tubos múltiplos. Nas amostras analisadas, não foi constatada a presença de *Salmonella*, e nem observada quantidades significativas de *Vibrio parahaemolyticus* e *Staphylococcus* coagulase positiva de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2001). Estavam contaminadas com coliformes termotolerantes, as amostras de salmão (50%) e as de camarão (75%) do estabelecimento C.

Palavras- chaves: Pescado, DTA, Consumidor

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Pirâmide que ilustra a relação entre casos notificados e não-notificados de enfermidades transmitidas por alimentos.....	14
FIGURA 2. Amostra de <i>sushis</i> de salmão e camarão coletadas em três estabelecimentos comerciais de Fortaleza, CE.....	19
FIGURA 3. Maceramento e pesagem das amostras de <i>sushis</i> de salmão e camarão coletadas em três estabelecimentos comerciais de Fortaleza, CE.....	20
FIGURA 4. Esquema de identificação de coliformes termotolerantes a partir de amostras de <i>sushis</i> comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza – Ceará.....	22
FIGURA 5. Esquema de identificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva a partir de amostras de <i>sushis</i> comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza – Ceará.....	25
FIGURA 6. Esquema de identificação de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> a partir de amostras de <i>sushis</i> comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza – Ceará.....	27
FIGURA 7. Esquema de identificação de <i>Salmonella</i> a partir de amostras de <i>sushis</i> comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza – Ceará.....	30
FIGURA 8. Percentual encontrado do NMP/ g dos coliformes termotolerantes do estabelecimento C.....	32

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Os resultados do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes (CT) a 45° C/g nas amostras de <i>Sushi</i> de salmão e camarão em três estabelecimentos da cidade de Fortaleza-Ce.....	31
TABELA 2: Os resultados de CPP/g <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva nas amostras de <i>Sushi</i> de Salmão e Camarão em três estabelecimentos da cidade de Fortaleza-Ce.....	33

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1. Qualidade de pescado.....	11
2.2. Consumo de <i>sushi</i> e sua importância para a saúde pública.....	12
2.3. Doenças transmitidas por alimentos (DTAs).....	13
2.4. Coliformes termotolerantes.....	15
2.5. <i>Salmonella</i>	15
2.6. <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	16
2.7. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1. Coleta das amostras.....	19
3.2. Análises microbiológicas.....	20
3.2.1. Preparo das amostras.....	20
3.2.1.1. Pesquisa de coliformes termotolerantes.....	20
3.2.1.2. Prova presuntiva.....	21
3.2.1.3. Prova confirmatória.....	21
3.2.2. Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	23
3.2.2.1. Preparação das amostras.....	23
3.2.2.2. Isolamento e identificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	23
3.2.2.3 Prova da catalase.....	23
3.2.2.4. Prova da coagulase.....	24
3.2.2.5. Cálculos das contagens de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	24
3.2.3 Estimativa do Numero Mais Provável de Vibrios	26
3.2.3.1 Isolamento e identificação de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	26
3.2.4. Pesquisa de <i>Salmonella</i>	28
3.2.4.1 Etapa de Pré-enriquecimento.....	28
3.2.4.2 Etapa de Enriquecimento Seletivo.....	28
3.2.4.3 Isolamento em Meios Seletivos.....	28
3.2.4.4 Seleção de Colônias Suspeitas, provas bioquímicas.....	28

3.2.4.5 Sorologia.....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
5. CONCLUSÕES.....	34
REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

A importância do pescado como veiculador de patógenos vai depender das condições de seu armazenamento (tempo e temperatura) e da sua forma de preparo (condições de higiene na sua manipulação). No Japão, onde o peixe é importante parte da dieta, sendo muitas vezes consumido cru, a proporção de doenças transmitidas por alimentos oriunda desse tipo de alimento é elevada (HUSS; REILLY; EMBAREK, 2000).

O pescado, dentre as fontes de proteína animal, é suscetível às alterações devido a algumas características particulares. A presença de proteínas de alto valor biológico, a elevada atividade de água e o pH próximo à neutralidade proporcionam o desenvolvimento microbiano; a ação dos sucos digestivos e enzimas do tecido, junto com o teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis, promovem a deterioração química do alimento (OETTERER, 1991; HANASHIRO, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2003; PHILIPPI, 2003). As baixas temperaturas podem favorecer a diminuição do metabolismo bacteriano, ocorrendo assim a inibição e favorecendo a conservação dos alimentos. A refrigeração não pode ser considerada como um processo bactericida, pois muitos patógenos se multiplicam na temperatura de refrigeração, tais como: *Salmonella* sp a 6°C, *Vibrio cholerae* a 5°C e *Bacillus cereus* a 5°C (SILVA JR., 2002).

De acordo com Martins (2006), o grande número de microrganismos indicadores de contaminação e potencialmente patogênicos detectados em *sushi* independe do tipo de estabelecimento que o comercializa (especializados ou não na culinária nipônica) e a temperatura de exposição. Na comercialização de pescado cru é observado que esses alimentos ficam mais expostos a perigos ou oportunidades de contaminações microbianas associadas a práticas incorretas de manipulação e processamento. A fim de minimizar possíveis riscos potenciais à saúde do consumidor, é recomendado aos profissionais responsáveis pela manipulação e distribuição de produtos a base de pescado cru, medidas higiênico- sanitárias mais rigorosas através da adoção e aplicação das Boas Práticas de Fabricação (ALMEIDA *et al.*, 1995; LIMA *et al.*, 2009).

De acordo com a Resolução – RDC N°. 012, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA no item (22) que trata dos produtos à base de carnes, pescado e similares crus (quibe cru, *carpaccio*, *sushi*, *sashimi* etc.) o limite máximo para coliformes termotolerantes a 45°C é de 10² NMP/g; para *Staphylococcus* coagulase

positiva, a tolerância é de 5×10^3 UFC/g; *Vibrio parahaemolyticus* tem limite de 10^3 NMP/g e *Salmonella* deve estar ausente em qualquer 25g da amostra (BRASIL, 2001).

A pesquisa do grupo dos coliformes termotolerantes é empregada, sobretudo em saúde pública, como indicador das condições higiênicas - sanitárias de uma amostra. A presença de coliformes termotolerantes a 45°C em alimentos é um indicativo de contaminação fecal em alguma etapa de sua produção (FRANCO; LANDGRAF, 2003; WEBSTER *et al.*, 2004).

A bactéria *Staphylococcus aureus* tem uma grande importância nos surtos alimentares, estando relacionada diretamente com os efeitos causados ao consumidor, uma vez que se encontra presente nas mãos e gargantas de manipuladores de alimentos (EVANGELISTA-BARRETO, 2004a). A intoxicação causada pelo *S. aureus* é provocada pela ingestão do alimento com a toxina pré-formada, sendo os principais sintomas: náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia e sudorese (SILVA JR., 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2003).

As salmonelas são abundantemente distribuídas na natureza, sendo o trato intestinal dos homens e animais de sangue quente e de sangue frio o seu principal reservatório, exceto os peixes, moluscos e crustáceos, os quais podem contaminar-se após a pesca (JAKABI *et al.*, 1999). A infecção por *Salmonella* no organismo humano, dá-se pelo consumo de um alimento ou água contaminados (EVANGELISTA-BARRETO, 2004b).

Vibrio parahaemolyticus é responsável por surtos de toxinfecção alimentar, relacionados com o consumo de pescados e sendo naturalmente encontrado em águas estuarinas e costeiras em todo o mundo. Gastrenterites causadas por este microrganismo estão quase sempre relacionadas a alimentos marinhos consumidos crus ou mal cozidos (OLIVER; KAPER, 1997; FORSYTHE, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2003; MATTÉ, 2003; SOUSA, 2004).

O presente estudo objetivou avaliar a qualidade de produtos da culinária oriental “sushis” comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza, através da pesquisa de bactérias constantes na legislação brasileira vigente: coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Qualidade de pescado

Segundo Freitas *et al.* (2009), as mudanças ocorridas no cardápio alimentar da população brasileira, estão associadas às ofertas de pescado com uma melhor qualidade. A carne de pescado apresenta boa digestibilidade, pois contém menos tecido conjuntivo (3%) quando comparado à carne dos mamíferos (17%). Apresenta ainda, em média, 5% de gordura, 26% de proteína, todos os aminoácidos (1 a 5 mg de aminoácidos livres/grama de proteína), elevados teores de vitaminas do complexo B e menos do que 1,5% de matéria mineral, além disso, é o uma fonte de cálcio e fósforo. Devido a esses valores nutricionais, o pescado exige cuidados relacionados à manipulação e conservação, por ser um alimento susceptível a decomposição. Talvez a busca de um alimento seguro pelos consumidores seja uma forma de pressionar os mercados a oferecer produtos de qualidade e, assim, melhorar a higiene dos produtos vendidos (FOCAGA, 2010).

Com relação à Saúde Pública, os consumidores buscam alimentos de boa procedência, dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001), não apenas em valores nutricionais, mas também, em boas condições higiênico-sanitárias, livres de microrganismos patogênicos, agentes físicos ou químicos que, de alguma forma, possam afetar a saúde do consumidor (CORREIA; RONCADA, 2002).

No processo de deterioração, o pescado vai perdendo suas propriedades sensoriais. Quando fresco, o peixe contém as seguintes características: escamas brilhantes bem firmes à pele e nadadeiras com certa resistência aos movimentos; musculatura com consistência elástica; coloração própria à espécie; vísceras íntegras perfeitamente diferenciadas; musculatura da parede abdominal não deve apresentar autólise; odor específico; olhos transparentes, brilhantes e salientes; brânquias róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes; ventre roliço e firme, não deixando impressão duradoura à pressão dos dedos. (BRASIL, 1997).

Para o consumidor, o ideal seria adquirir pescado em estabelecimentos que garantam a sua origem de locais comprovadamente saneados. Assim, algumas medidas poderiam minimizar a sua contaminação, diminuindo o risco de ingestão de um produto contendo algum tipo de patógeno ou toxina (FOCAGA, 2010). Portanto, a aplicação das boas

práticas de manipulação e armazenamento, permitem controlar a qualidade do produto retardando as reações bioquímicas e atividades microbianas indesejáveis (BEATO, 2002).

2.2 Consumo de *sushi* e sua importância para a saúde pública.

O pescado pode ser consumido de duas formas: cozidos e crus. Segundo Germano (1993), o hábito de comer peixes crus vem aumentando no Brasil. Os pratos à base de pescado cru oriundos dos países asiáticos em pouco tempo se tornaram moda. Estabelecimentos especializados em pratos tipo *sashimi* (que são pedaços finos de músculo de peixe servidos crus) e *sushi* (*sashimi* moldado sobre arroz fermentado) são cada vez mais constantes nas grandes metrópoles ocidentais (LEAL, 1998). Na preparação desse prato, muitos são os peixes e mariscos utilizados, uma vez que, no Japão existe uma diversidade de pescado. Assim, o tipo de pescado utilizado varia com a época do ano, ou seja, utiliza-se o peixe da estação, pois além de serem mais baratos, seu sabor e textura são favoráveis na fabricação dessa iguaria (BARBER; TAKEMURA, 2008).

No Brasil, esse tipo de culinária também faz muito sucesso, e teve seu crescimento na década de 80, principalmente em cidades com grande fluxo de turistas. Esse tipo de iguaria tem sido cada vez mais encontrada em restaurantes comerciais de auto-serviço por quilo ou rodízio (PINHEIRO *et al.*, 2006).

Segundo Barber e Takemura (2008), o *sushi* é servido como refeição leve, entrada ou prato principal, e assumindo formas diferentes. É um prato japonês muito típico que teve origem antes do século XIV. Com o passar do tempo, essa iguaria tem sido apreciada em grande número de variedades; desde o mais simples e cotidiano, como o atum enrolado com arroz vinagrado e alga Nori, ao elegante *sushi* criado para ocasiões festivas.

O consumo elevado desse tipo de alimento vem se tornando uma preocupação para a saúde pública, não só pelo fato de ser um produto altamente perecível, mas também, devido aos aspectos higiênico-sanitários de sua preparação e conservação (PINHEIRO *et al.*, 2006). Os microrganismos representam uma ameaça à segurança alimentar, podendo ser causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). Entretanto, na legislação brasileira os parâmetros a serem observados em pratos prontos para o consumo, neste caso, incluído o *sushi*, estão relacionados com os microrganismos de interesse para a saúde pública, que são:

os coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* e *Vibrio parahaemolyticus* (BRASIL, 2001).

2.3 Doenças transmitidas por alimentos (DTAs)

As doenças gastrointestinais transmitidas por água e alimentos constituem, ainda hoje, um importante problema de saúde pública tanto para os países desenvolvidos como para os em desenvolvimento (LINDQVIST *et al.*, 2000; GUERRANT *et al.*, 2002). A incidência das DTAs atualmente parece ser consequência de inúmeros fatores, como: a produção e a distribuição de alimentos em larga escala, o crescimento populacional, a rápida urbanização de áreas sem infra-estrutura de saneamento básico, o aumento das viagens e exposição ao consumo de alimentos inseguros (MOTARJEMI; KAFERSTEIN, 1997).

Segundo Jay (2005), a grande maioria dos surtos das DTAs é causada por agentes biológicos ou químicos, como por exemplo, bactérias, vírus, *prions*, parasitas, toxinas, agrotóxicos, produtos químicos e metais pesados. No entanto, os vetores responsáveis por surtos gastrointestinais são os vírus e bactérias. A contaminação dos alimentos se inicia na produção da matéria-prima e se estende às etapas de transporte, recepção, armazenamento. Durante a manipulação pode ocorrer contaminação pela falta de higiene dos manipuladores, equipamentos, utensílios, ambientes e condições inadequadas de armazenamento dos produtos prontos para consumo (ZANDONADI *et al.*, 2007).

Os manipuladores constituem uma das mais importantes fontes de contaminação, e a manipulação inadequada pode, não somente, veicular microrganismos patogênicos, como também propiciar o desenvolvimento e a sobrevivência desses patógenos (LUCCA, 2000). Por esta razão, pode-se afirmar que os manipuladores se tornam, então, uma grande fonte causadora de intoxicações e/ou toxiinfecções alimentares, uma vez que, podem carrear naturalmente *Staphylococcus aureus* na pele, feridas sépticas, nariz, garganta e cabelo, ou *Salmonella* sp. este fato, associado aos maus hábitos de manipulação e higiene, podem se tornar fontes de transmissão de doenças entéricas humanas através da ocorrência de contaminação cruzada (HOBBS, 1999; VARNAM, 1991).

De acordo com Brasil (2005), são conhecidas mais de 250 tipos de DTAs, sendo que algumas doenças são consideradas emergentes, como a síndrome hemolítica urêmica (SHU), síndrome de Creutzfeld-Jacob e campilobacteriose.

O número de surtos notificados de DTAs representa apenas a ponta de um *iceberg*, quando comparado com o total de ocorrências (FORSYTHE, 2000). Em um estudo realizado na Inglaterra observou-se que para cada caso notificado, existem outros 136 casos não notificados na comunidade, como mostra a Figura 1.

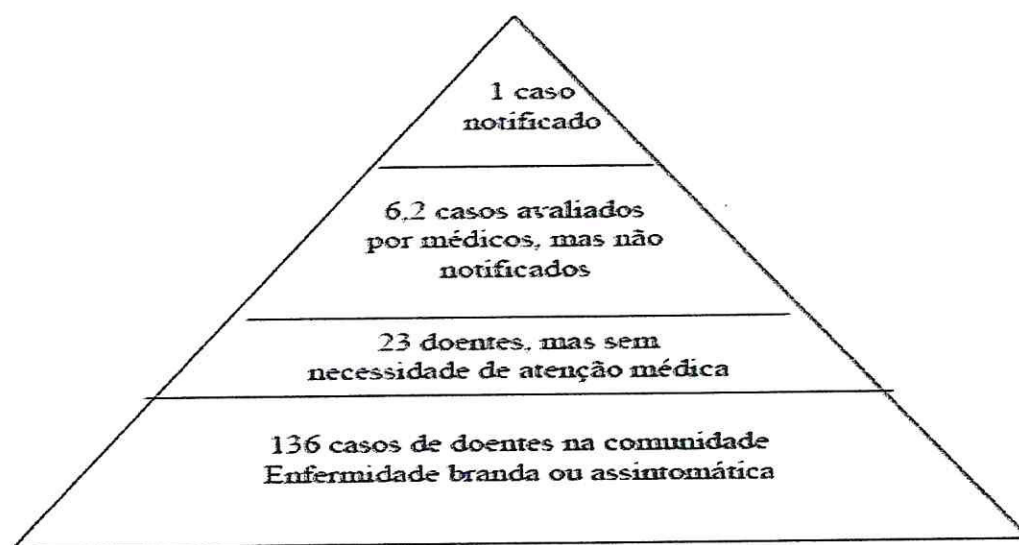


Figura 1. Pirâmide que ilustra a relação entre casos notificados e não-notificados de enfermidades transmitidas por alimentos. **Fonte:** adaptado de WHEELER *et al.*, 1999.

A pesquisa realizada por Mankee *et al.* (2003), em Trindade, mostra a alta prevalência de alimentos prontos não adequados para consumo. Da mesma maneira Garin *et al.* (2002) relatam que qualidade dos alimentos em cidades da África, América, Ásia e Oceania estão em condições insatisfatórias. No Brasil, também há relatos sobre a qualidade, inocuidade e condições de higiene dos alimentos vendidos em estabelecimentos comerciais. A ingestão de alimentos contaminados com microrganismos patogênicos se dá, muitas vezes, pelo fato de que eles apresentam aspecto, odor e sabor normais e o consumidor não está devidamente esclarecido ou ciente dos perigos envolvidos. Isso também dificulta a investigação dos surtos notificados, pois o consumidor não consegue identificar qual alimento poderia estar contaminado em suas últimas refeições (FORSYTHE, 2000).

2.4 Coliformes Termotolerantes

Segundo Franco; Landgraf (2005), quando se encontram presentes em alimentos microrganismos indicadores, fornecem informações sobre prováveis contaminações de origem fecal, da presença de patógenos ou sobre o potencial de deterioração do produto. Indicam se as condições sanitárias foram adequadas, ou não, durante o processamento, como também a produção ou o armazenamento de um alimento. Têm-se como principais indicadores as bactérias do grupo coliformes.

Os coliformes são bastonetes gram-negativos, não esporogênicos, que fermentam lactose dentro de 48h. O grupo está representado na família Enterobacteriaceae, e nos gêneros: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* (JAY, 2005).

2.5 Salmonella

Esse gênero é composto por bastonetes curtos, Gram-negativos, com metabolismo aeróbio, ou facultativamente anaeróbio pertencentes à família Enterobacteriaceae. Formam gás a partir da glicose, excetuando-se os sorovares *S. sev. Gallinarum* e *S. sev. Pullorum*. Apresentam características metabólicas bem definidas, como a produção de gás sulfídrico e utilização de citrato como única fonte de carbono (EVANGELISTA-BARRETO, 2004b; RODRIGUES, 2005).

A infecção por *Salmonella* é ocasionada pela ingestão de alimentos que contenham números significativos de espécies do gênero. Dentre os sintomas, estão náuseas, vômitos, dores abdominais, calafrios e diarreia (JAY, 2005). A bactéria também pode ser propagada por pessoas que estejam infectadas, durante a manipulação dos alimentos. Espécies de *Salmonella* podem produzir: febre tifóide, gastroenterite e problemas em órgãos específicos, sendo acompanhado de septicemia e não sendo tratada a doença, pode levar a óbito (FELDHUSEN, 2000).

Surtos de doenças alimentares envolvendo *sushis* são pouco descritos na literatura, mas Barralet *et al.* (2005), estudando um surto de *Salmonella* Singapore, na Austrália, registraram 12 casos associados ao consumo de *sushi*. Sendo somente possível determinar o

estabelecimento envolvido, mas não o tipo de *sushi* devido a vasta variedade e frequência no consumo.

Alimentos submetidos a altas temperaturas não costumam a oferecer riscos a saúde, pois o calor é uma forma eficiente para a destruição desta bactéria. A transmissão de *Salmonella* entérica ao homem, dá-se mediante a ingestão de alimentos crus ou mal-cozidos e juntamente com esta condição, a falta de higiene de equipamentos e utensílios, dos locais de processamento e armazenamento e a falta de treinamento dos manipuladores em boas práticas de fabricação. (FRANCO; LANDGRAF, 2004; GERMANO; GERMANO, 2008; SILVA JR., 2008).

2.6 *Staphylococcus coagulase positiva*

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, imóveis, agrupados semelhantemente a cachos de uva, pertencentes à família Micrococcaceae. Os estafilococos são divididos em duas categorias: coagulase positivos e coagulase negativos, tendo essa divisão baseada na capacidade de coagulação do plasma, que é considerada uma importante propriedade marcadora de sua patogenicidade (ICMFS, 1980; FORSYTHE, 2002; EVANGELISTA-BARRETO, 2004a.; SANTOS, 2006).

Segundo Silva *et al.* (2001), o estudo de *S. aureus* nos alimentos, possibilita a avaliação da qualidade higiênico- sanitária no processo da produção dos alimentos, servindo como um indicador de contaminação pós-processo. A produção de coagulase é uma característica importante usada para a identificação do *S. aureus*, portanto a legislação brasileira indica o estudo de estafilococos coagulase positiva como um indicativo de *S. aureus*. (BRASIL, 2001; MARTINS, 2006).

A presença de *S. aureus* no pescado ocorre essencialmente através da manipulação, pois pessoas que manipulam o pescado podem possuir a bactéria em suas mãos, cavidade oral e mucosa nasal. No decorrer do processamento podem contaminar o pescado, sem que este sofra alguma modificação em sua aparência ou sabor. Também podem estar presentes na água, ar, e em variados equipamentos e superfícies que tenham tido contato com portadores (FORSHYTHE, 2002; EVANGELISTA-BARRETO, 2004a; GERMANO; GERMANO, 2008).

De acordo com Martins (2006), os sintomas da intoxicação causada por estafilococos aparecem em torno de uma a seis horas após a ingestão do alimento contaminado. E a ocorrência desta bactéria é esperada em alimentos que não obtiveram tratamento térmico adequado para a sua destruição ou que foram refrigerados e manipulados inadequadamente.

2.7 *Vibrio parahaemolyticus*

De acordo com Matté (2003), *Vibrio parahaemolyticus* foi primeiramente relacionado à gastroenterite em 1950, em razão de sua identificação a partir de um surto de intoxicação alimentar ocorrido no Japão. Desde então, tem sido apontado como causa de intoxicação alimentar no Japão e em Taiwan.

Os sintomas típicos da doença alimentar causada por essa bactéria são: diarreias, dores abdominais, náuseas, vômitos, febre e temores, a doença geralmente é moderada e em apenas alguns casos podem necessitar de hospitalização (FORSHYTHE, 2002).

Os peixes e moluscos (ostras), quando consumidos crus ou mal cozidos, são associados à transmissão do *V. parahaemolyticus*. A bactéria patogênica ou não patogênica é habitualmente isolada de ambientes marinhos, de estuários, em peixes e moluscos que vivem nestes meios. Tanto a refrigeração inadequada dos alimentos contaminados, como sua permanência em temperatura ambiente, são fatores responsáveis pelo favorecimento da proliferação desses organismos (BUTT; ALDRIDGE; SANDRES, 2004; CVE, 2004).

O controle desse microrganismo pode ocorrer prevenindo-se a sua multiplicação após a pesca, pela cocção com temperatura interna maior que 65°C e pelo resfriamento abaixo de 5°C. Nos países onde existe o hábito de se consumir pescado cru ou insuficientemente cozido, torna-se difícil a prevenção da toxinfecção por esse tipo de *Vibrio* (GERMANO; GERMANO, 2008).

O gênero *Vibrio* pertence à família Vibrionaceae, existindo várias espécies patogênicas ao homem, sendo *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *Vibrio vulnificus* as mais importantes. *Vibrio parahaemolyticus* é uma bactéria em forma de bastonete curto e Gram-negativo, móvel, apresentando um flagelo polar. É anaeróbio facultativo e seu crescimento é favorecido em pH alcalino em torno de 7,5 a 8,5. Apresenta halofilismo restrito, precisando

de no mínimo 1% de cloreto de sódio para o seu crescimento (SOUSA, 2004; OPAS/INPPAZ, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta das Amostras

As amostras de *sushi* (Figura 2) analisadas foram procedentes de três estabelecimentos (A, B e C) sendo 2 (A e B) não-especializados e 1(C) especializado em comida oriental, na cidade de Fortaleza - CE, no período de maio a agosto de 2011.

Em cada estabelecimento foram coletadas 40 amostras de *sushi* (20 de salmão e 20 de camarão), totalizando 120 amostras distribuídas em 12 coletas. As amostras eram colhidas no horário do almoço e posteriormente transportadas para o Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LMAP)- LABOMAR, sendo processadas dentro do período máximo de 1 hora desde o momento da coleta.

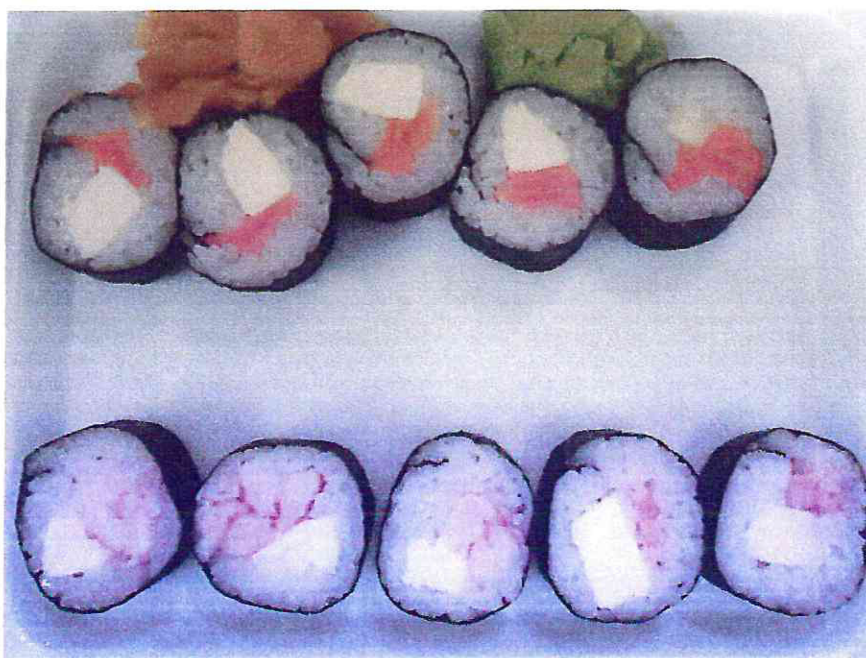


Figura 2 - Amostra de *sushis* de salmão e camarão coletadas em três estabelecimentos comerciais de Fortaleza, CE.

3.2 Análises Microbiológicas

3.2.1 Preparo das Amostras

Duzentos gramas de amostras de *sushi* foram maceradas separadamente. Após esse procedimento, pesou-se 25g das amostras (salmão e camarão) (Figura 3) que, em seguida foram homogeneizadas em 225 mL de solução salina a 0,85% NaCl (10^{-1}), a partir da qual foram realizadas as demais diluições seriadas (até 10^{-4}).

3.2.1.1 Pesquisa de Coliformes Termotolerantes

A pesquisa de Coliformes Termotolerantes (CTT) foi realizada pelo método do Número Mais Provável (NMP), e foram realizadas de acordo com a técnica de fermentação em tubos múltiplos (FENG; WEAGANT; GRANT, 1998).



Figura 3 – Maceramento e pesagem das amostras de *sushis* de salmão e camarão coletadas em três estabelecimentos comerciais de Fortaleza, CE.

3.2.1.2 Prova Presuntiva

A amostra foi inoculada em diluições distintas com 1,0 mL do inóculo, numa série de três tubos, contendo em cada um deles, 10 mL de caldo lauril sulfato triptose (Caldo LST) e tubos de Durham invertidos. Foram incubados em estufa a 35°C por 48h e após esse período, foram considerados positivos, aqueles que apresentaram turvação do meio e presença de gás (formação de bolhas) no interior dos tubos de Durham.

3.2.1.3 Prova Confirmatória

Dos tubos que deram positivo na prova presuntiva, foram tomados inóculos que foram repicados para tubos contendo caldo EC e tubos de Durham invertidos. Os tubos já inoculados foram incubados em banho-maria a 45°C por 48h. Os tubos que apresentaram turvação do meio e produção de gás, foram considerados positivos para o cálculo do NMP de coliformes termotolerantes (Figura 4). Os resultados obtidos foram anotados para a posterior consulta na Tabela de NMP, segundo edição mais recente do Bacteriological Analytical Manual online – FDA (FENG; WEAGANT; GRANT, 1998).

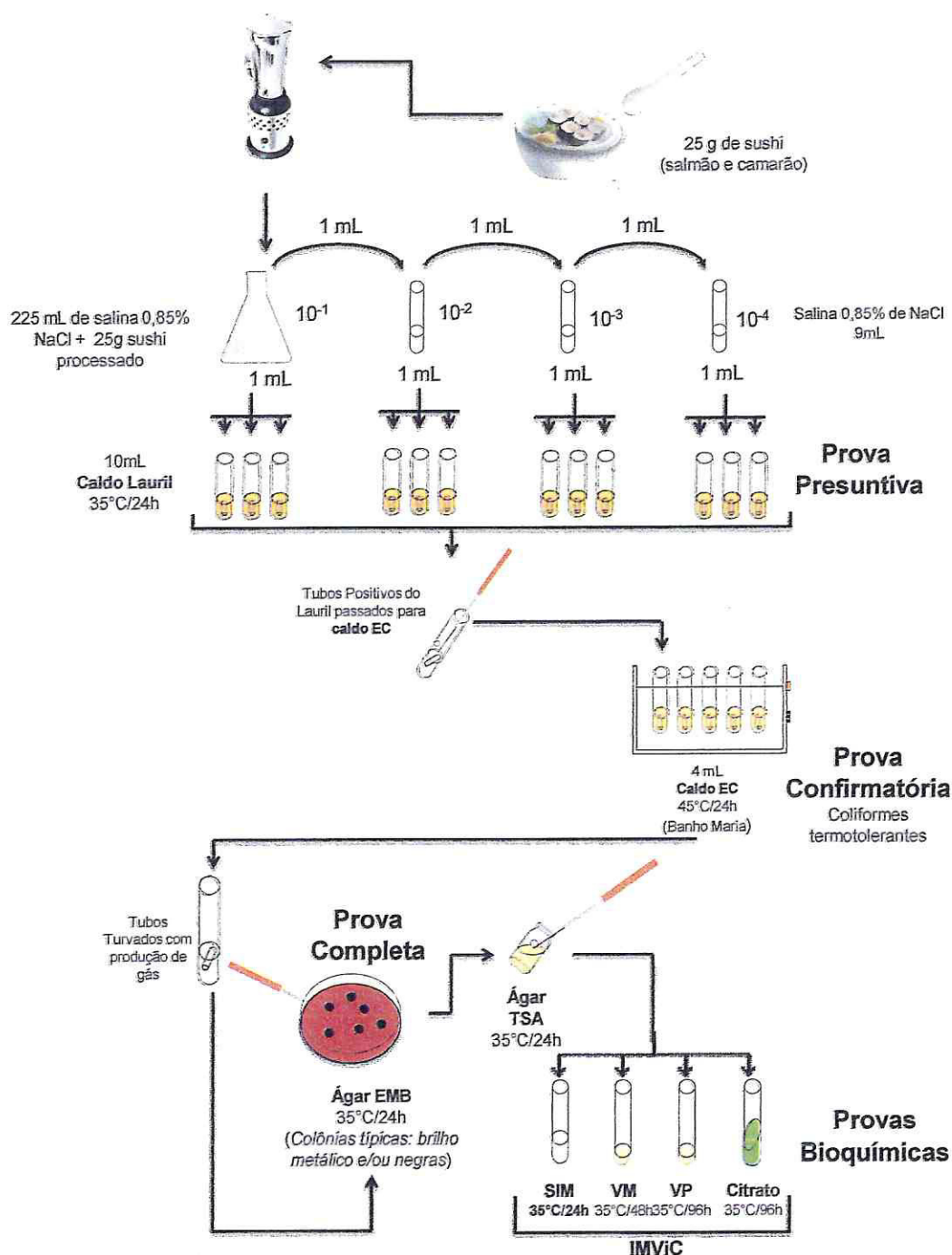


Figura 4: Esquema de identificação de coliformes termotolerantes a partir de amostras de *sushis* comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza – Ceará.

3.2.2 Pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva

3.2.2.1 Preparação das Amostras

A partir das salinas proveniente da pesquisa de coliformes, foram tomadas alíquotas de 0,1 mL que foram semeadas pela técnica “Spread Plate”, em duplicata, sobre a superfície do meio Agar Baird-Parker (BP) com o auxílio de uma alça de Drigalski esterilizada. As placas foram incubadas em estufa a 35° C por 48h (BENNET, 1998).

3.2.2.2 Isolamento e Identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada pelo método da Contagem Padrão em Placas (CPP). As colônias típicas (coloração negra, com 2 a 3 mm de diâmetro e com halo transparente) e atípicas foram contadas separadamente. As placas escolhidas foram aquelas que estavam com crescimento entre 20 a 200 colônias. Da placa escolhida foram isoladas 1 a 3 colônias que foram transferidas para tubos de ensaio contendo ágar triptona soja (TSA) e incubadas por 24h a 37°C . As culturas foram submetidas a coloração de Gram para verificação de morfologia característica de Cocos Gram-positivos. As culturas foram inoculadas no caldo infusão de cérebro e coração (BHI) que eram incubados em estufa de 35°C por 24h. A partir da cultura pura em TSA, foram realizadas as provas complementares e confirmatórias (Figura 5).

3.2.2.3 Prova da Catalase

Com a ajuda de uma alça de platina, foi removida uma alíquota do cultivo em ágar triptona soja (TSA) e transferida para uma placa de Petri esterilizada, contendo uma gota de peróxido de hidrogênio. A formação de bolhas indicava a positividade do teste de catalase.

3.2.2.4 Prova da coagulase

Para o teste de coagulase foi retirada uma alíquota de 0,1 mL de uma cultura de 24h em caldo BHI, que foram transferidos para tubos de ensaio estérelizados contendo 0,5 mL de plasma de coelho. Os tubos foram incubados a 35°C e a leitura foi realizada de 4 a 8 horas. Havendo a formação de coágulos, a prova da coagulase era considerada positiva.

3.2.2.5 Cálculos das contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva

De acordo com o número de colônias típicas e atípicas contadas, das diluições inoculadas e da porcentagem de colônias confirmadas, os cálculos foram realizados da seguinte maneira:

Cálculo:

CPP = N de colônias típicas x Inverso da diluição x Fator de diluição

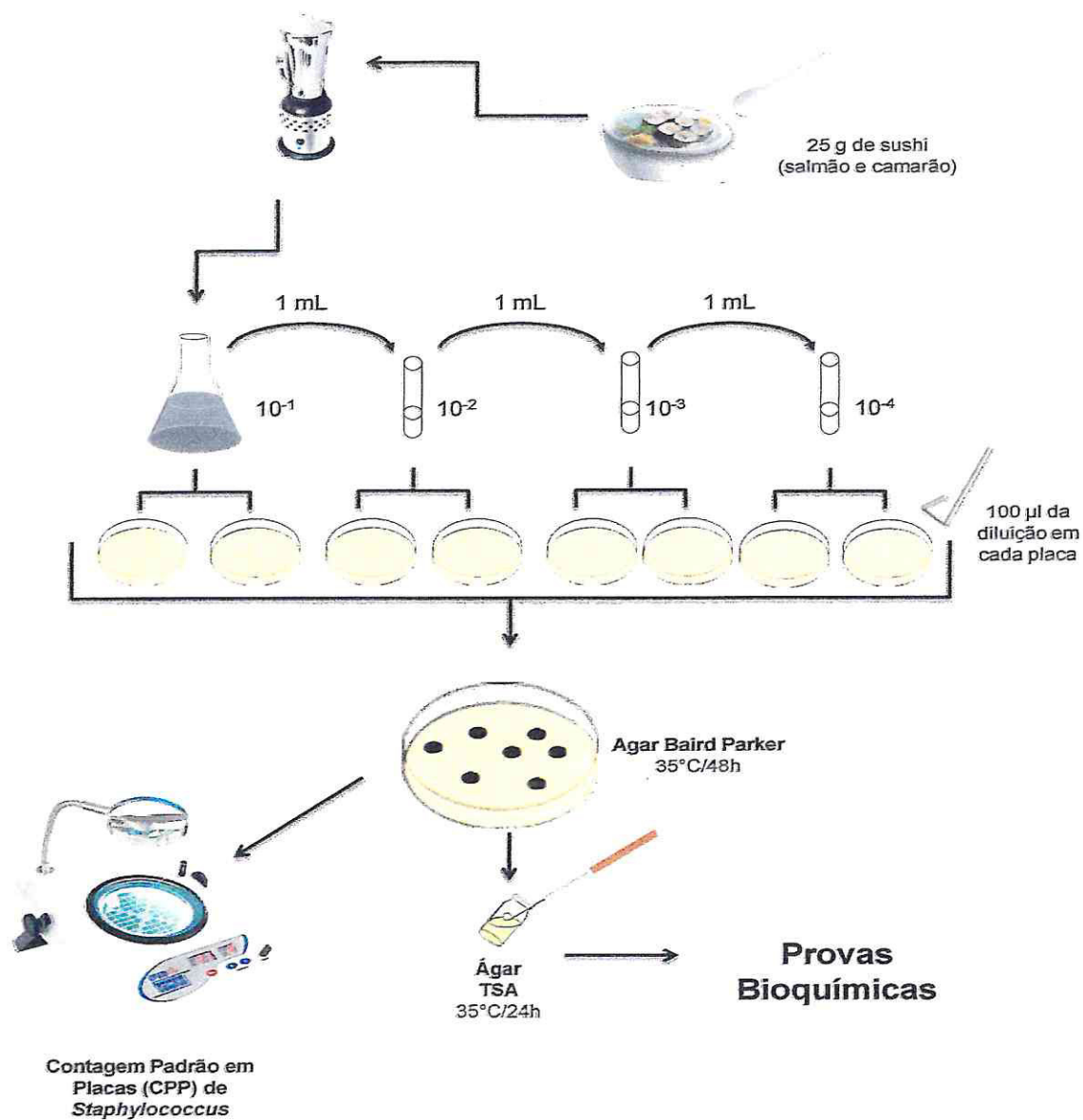


Figura 5: Esquema de identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva a partir de amostras de *sushis* comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza – Ceará.

3.2.3 Estimativa do Numero Mais Provável de Vibrios

A partir das diluições 10^{-1} a 10^{-4} , previamente preparadas, foram inoculadas porções de 1 mL em tubos (3 tubos por diluição) contendo Água Peptonada Alcalina (APA/pH 8,5) e em seguida, incubados em estufa a 35°C por 16 a 18 horas. Após este período, os tubos positivos (meio de cultura turvo) foram submetidos ao teste confirmatório.

O teste confirmatório consiste na inoculação (estriamento) dos tubos positivos em placas contendo meio TCBS que, em seguida, foram incubadas em estufa a 35°C por 24 horas. Depois da incubação, as placas consideradas positivas (crescimento de colônias sacarose negativa) foram utilizadas para consulta à tabela e determinação do NMP de *Vibrio* nas amostras de *sushi*.

3.2.3.1 Isolamento e identificação de *Vibrio parahaemolyticus*

De cada amostra foram isoladas de 3 a 5 colônias do meio TCBS em tubos de ágar triptonsoja (TSA) contendo 1% de NaCl. Posteriormente esses tubos foram incubados a 35 °C por 24 horas.

Para a realização do teste de oxidase, foi usada uma fita embebida com solução salina de 1% de NaCl. Uma alíquota do cultivo em ágar TSA 1% foi retirada e colocada na fita. Após 1 minuto foi observada se a reação foi positiva ou negativa. A mudança de coloração para roxo indicou **que a reação foi oxidase positiva**.

Do crescimento do meio TSA 1% foi realizada a identificação fenotípica de *Vibrio parahaemolyticus* de acordo com o esquema de Noguerola ; Blanch (2008), que recomenda as provas bioquímicas de hidrólise da arginina (A) e descarboxilação da lisina (L) e ornitina (O). As cepas que fecharam na chave A(-)L(+)O(+) foram submetidas às provas de Indol, Produção de H₂S, ONPG (o-nitrofenil B- D- galactopiranosídeo), Manitol, Voges-Proskauer (VP), D-glucosamina e crescimento a 0% e 8% de NaCl (Figura 6).

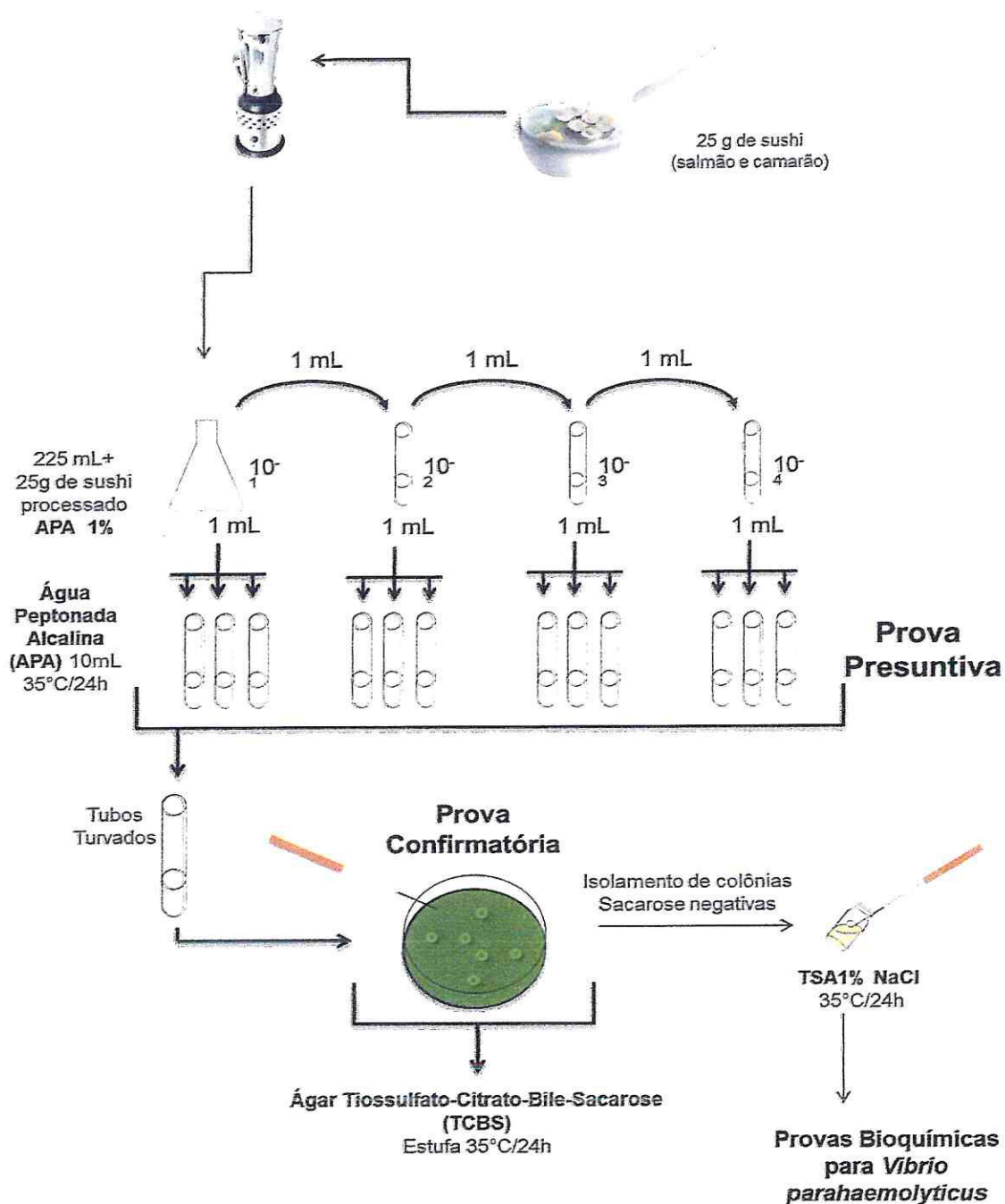


Figura 6: Esquema de identificação de *Vibrio parahaemolyticus* a partir de amostras de *sushis* comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza – Ceará.

3.2.4 Pesquisa de *Salmonella*

3.2.4.1 Etapa de Pré-enriquecimento

Foram pesadas 25g das amostras e adicionadas a 225 mL de Caldo Lactosado contidos em Erlenmeyers, posteriormente incubados em estufa a 35°C por 24h.

3.2.4.2 Etapa de Enriquecimento Seletivo

Após esse período, foram retiradas alíquotas de 0,1 mL e 1,0 mL do Caldo Lactosado e inoculadas em tubos contendo 10 ml do Caldo Rappaport (RV) e Caldo Tetracionato (TT), respectivamente. Os tubos inoculados foram incubados em banho-maria a 42°C e em estufa a 35°C por 24h, respectivamente.

3.2.4.3 Isolamento em Meios Seletivos

Dos tubos contendo crescimento bacteriológico, foi retirado uma alíquota de cada meio e em seguida, estriadas em placas de Petri contendo os meios seletivos ágar Verde Brillante (AVB) e ágar Entérico de Hektoen (HE). As placas foram incubadas por 24h em estufa a 35°C.

3.2.4.4 Seleção de Colônias Suspeitas, provas bioquímicas

As colônias suspeitas de *Salmonella* nos meios seletivos ágar Entérico Hecktoen (HE) e ágar Verde Brillante (AVB) eram isoladas em ágar Triptona Soja (TSA) e incubadas a 35°C por 24h. Após esse período, foram retirados inóculos e semeados com

agulha de níquel-cromo no ágar triplo açúcar ferro (TSI) e ágar lisina ferro (LIA) que foram incubadas a 35°C por 24h. As colônias que apresentavam crescimentos nos tubos (base ácida e ápice alcalino com ou sem produção de gás e de H₂S para o meio TSI, e base alcalina com a maioria produzindo H₂S no meio LIA), uma nova alíquota era retirada e semeada em ágar triptona soja (TSA) para o posterior teste de sorologia (Figura 7).

3.2.4.5 Sorologia

Para o teste de soroaglutinação rápida em placa foi utilizado o soro somático polivalente. Foi colocado 1 mL de salina 0,85% de NaCl sobre as culturas puras. Após esse procedimento foram retiradas três gotas da suspensão salina e colocadas numa placa previamente esterilizada. Logo após foram colocadas sobre a suspensão bacteriana de três a cinco gotas do antígeno. Homogeneizou-se a mistura por 1 minuto, e verificou-se a formação de grumos indicando a reação antígeno-anticorpo.

As cepas que aglutinavam no anti-soro O:H polivalente eram, posteriormente, enviadas ao Laboratório de Referência da FIOCRUZ – RJ para serem identificadas. (WALLACE; HAMMACK, 2007).

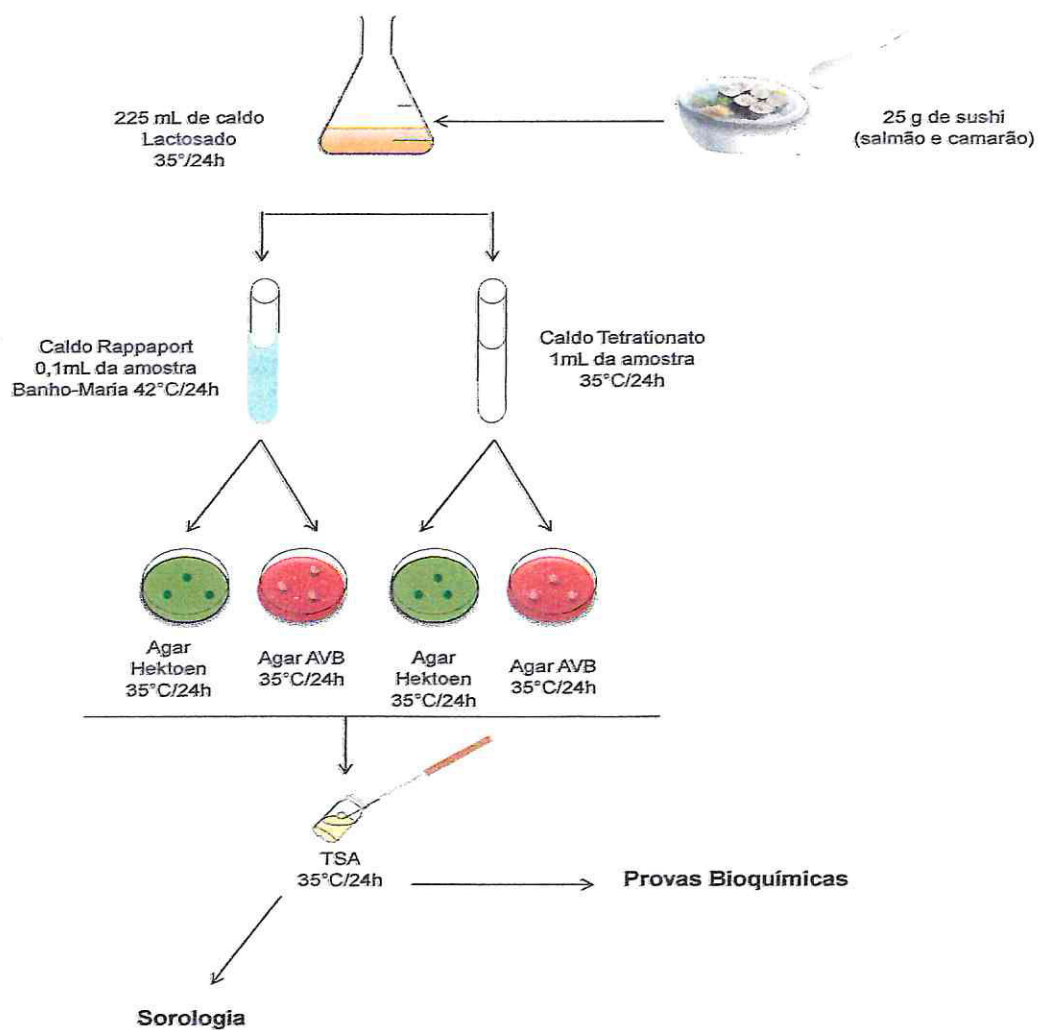


Figura 7: Esquema de identificação de *Salmonella* a partir de amostras de *sushis* comercializados em três estabelecimentos na cidade de Fortaleza – Ceará.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O NMP de CT das amostras de salmão do estabelecimento C variou de 9,2 a $2,4 \times 10^3$ g e do camarão variou de 27 a $1,5 \times 10^3$ g (Tabela 1).

Tabela 1- Os resultados do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes (CT) a 45° C/g nas amostras de *Sushi* de salmão e camarão em três estabelecimentos da cidade de Fortaleza-Ce.

NMP/g de Coliformes Termotolerantes a 45° C						
Coletas	Estabelecimento A		Estabelecimento B		Estabelecimento C	
	Salmão	Camarão	Salmão	Camarão	Salmão	Camarão
1° Coleta	<3,0	15	30	11	$1,5 \times 10^2$	$2,7 \times 10^2$
2° Coleta	<3,0	<3,0	<3,0	9,2	9,2	$2,3 \times 10^2$
3° Coleta	<3,0	3,6	<3,0	3,6	23	$1,5 \times 10^3$
4° Coleta	<3,0	11	3,6	9,2	$2,4 \times 10^3$	27

A presença de coliformes termotolerantes nas amostras analisadas indica baixas condições sanitárias, podendo haver veiculação de patógenos uma vez que o *sushi* teve contacto com fezes de animais de sangue quente. O limite permitido pela legislação brasileira (BRASIL, 2001) para CT em *sushi* é de 10^2 coliformes a 45°/g, portanto, as amostras do estabelecimento C encontraram-se fora do padrão vigente, representando risco sanitário para os consumidores.

As amostras de *sushi* de salmão e camarão não apresentaram contaminação por Coliformes Termotolerantes (CT) nos estabelecimentos A e B. No estabelecimento C houve contaminação de 50% das amostras de salmão e 75% das amostras de camarão (figura 8).

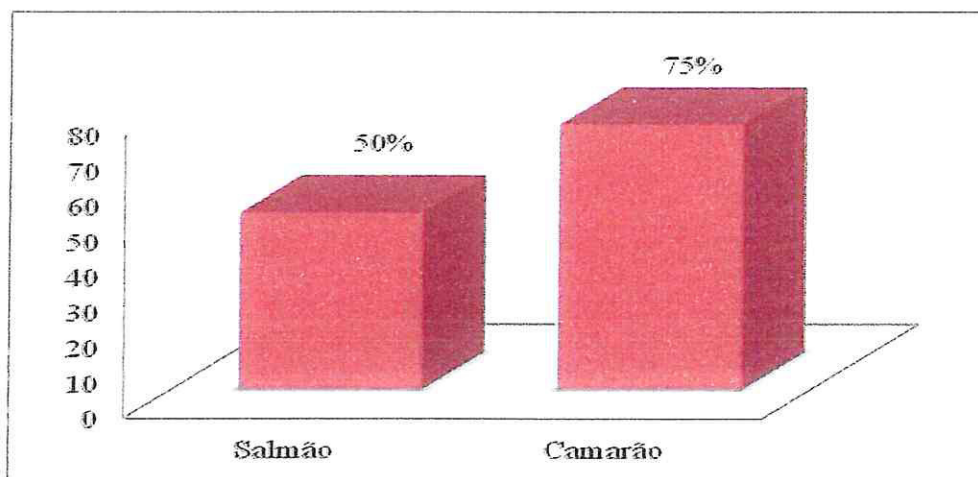


Figura 8: Percentual encontrado do NMP de coliforme/ g do produto no estabelecimento C.

Resultados similares ao das amostras analisadas foram encontrados por Vallandro (2010) ao avaliar a qualidade microbiológica de *sashimis* a base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa na cidade de Porto Alegre-RS, que encontrou valores acima do permitido pela legislação de coliformes termotolerantes em quatro estabelecimentos.

Martins (2006) em pesquisa de *sushi* e *sashimi* na cidade de São Paulo reportou valores acima do permitido pela legislação vigente concordando com os resultados acima citados.

Costa *et al* (2007), analisando a qualidade bacteriológica de *sushis* (camarão e salmão) comercializados na cidade de Sobral- Ceará, observaram ausência de coliformes termotolerantes nas amostras analisadas. Os resultados encontrados pelos autores discordam da presente pesquisa, uma vez que, a presença de coliformes em produtos de origem marinha é indicativo de contaminação fecal.

Segundo Jay (2005) a espécie *S. aureus* coagulase-positiva produz toxinas frequentemente implicadas em infecções e intoxicações humanas. Aproximadamente metade das espécies conhecidas desse gênero infectam ou têm como habitat somente os seres humanos, algumas outros animais, não sendo indígenas da microbiota natural do pescado.

A tabela 2 mostra a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de *sushi* proveniente de dois estabelecimentos (A e B) onde se serve a comida japonesa.

Tabela 2- Os resultados de CPP/g *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de *Sushi* de salmão e camarão em três estabelecimentos da cidade de Fortaleza-Ce.

CPP/g <i>Staphylococcus</i> coagulase Positiva						
Coletas	Estabelecimento A		Estabelecimento B		Estabelecimento C	
	Salmão	Camarão	Salmão	Camarão	Salmão	Camarão
1° Coleta	<10	<10	<10	<10	<10	<10
2° Coleta	2,28 x10 ²	<10	<10	<10	<10	<10
3° Coleta	<10	<10	<10	<10	<10	<10
4° Coleta	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Vieira *et al.* (2007) avaliando a qualidade microbiológica de 32 amostras de *sushi* e *sashimi* coletadas em dois restaurantes especializados encontraram 28,1% contaminadas com *Staphylococcus* coagulase positiva. Albuquerque *et al* (2006) avaliando a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva em cinco estabelecimentos de *sushi* comercializado em Fortaleza-Ceará encontrou 43% de *Staphylococcus* coagulase positiva acima do permitido pela legislação vigente, diferindo dos resultados obtidos na pesquisa.

Vibrio parahaemolyticus estava ausente em 100% das amostras analisadas nos três estabelecimentos, o que indica que os resultados estão de acordo com a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2001). Resultados semelhantes foram encontrados por Malavota *et al* (2009), em amostras de *sashimi* comercializados em restaurantes no município do Rio de Janeiro - RJ. Outrossim, Vallandro (2010) avaliando a qualidade microbiológica de *sashimis* a base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa na cidade de Porto Alegre-RS, encontrou valores similares aos da pesquisa. Em contrapartida, Albuquerque *et al.* (2006) e Costa *et al.* (2007) encontraram *Vibrio* spp. em amostras de *sushi* em estabelecimentos localizados em Fortaleza e Sobral (Ceará), respectivamente.

Não foi constatada a presença de *Salmonella* nas amostras de *sushis*, o que vale afirmar que se fosse avaliado somente esse parâmetro bacteriológico as amostras do produto estariam aptas ao consumo, uma vez que, a legislação vigente no país, (BRASIL, 2001), preconiza ausência desse gênero bacteriano em 25g de alimento.

Pinheiro *et al* (2005) investigando bactérias da legislação em amostras de *sushi* e *sashimi* comercializadas na cidade de Fortaleza- Ceará também encontraram *Salmonella* sp e *Salmonella* Newport, o que discorda dos valores obtidos na pesquisa.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que as amostras analisadas de *sushis* originados dos estabelecimentos A e B (não especializado) estão dentro dos padrões ditados pela legislação vigente, o que não foi observado para o estabelecimento C (especializado). Neste restaurante os *sushis* preparados com camarão e salmão estavam fora das recomendações da ANVISA para Coliformes termotolerantes a 45° C.

Recomenda-se que o estabelecimento C adote medidas higiênicas sanitárias mais rigorosas para controlar os riscos potenciais à saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. C. C.; KUAYE, A. Y; SERRANO, A. M.; ALMEIDA, P. F. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Rev. Saúde Públ.**, v. 29, n.4, p. 290-294, 1995.
- ALBUQUERQUE, W. F.; BARRETO, N. S. E.; SILVA, A. I. M.; VIEIRA, R. H. S. F. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* e *Estafilococos* coagulase positivo, em sushis comercializados em alguns estabelecimentos de Fortaleza-CE. **Hig. Aliment.**, São Paulo: v. 20, n. 116, p. 58-61, 2006.
- BAIXAS-NOGUERAS, S.; BOVER-CID, S.; VIDAL-CAROU, M. C.; VECIANA-NOGUÉS, M. T.; MARINÉ-FONT, A. Trimethylamine and total volatile basic nitrogen determination by flow injection/gas diffusion in mediterranean hake (*Merluccius merluccius*). **J. Agric. Food Chem.**, v.49, p.1681-1686, 2001.
- BARBER, K.; TAKEMURA, H. **Sushi – Taste and Technique**. Dorling Kindersley – Civilização Editores, Lda. Porto. 2008.
- BARRALET, J.; STAFFORD, R.; TOWNER, C.; SMITH, P. Outbreak of Salmonella Singapore associated with eating sushi. **Comm. Diseas. Intell.** Canberra, v. 28, p. 527-528, 2005.
- BEATO, P. G. **Características organolépticas e físico-químicas da carne de piramutaba, *Brachyplatistoma vaillanti* (*Siluriformes, Pimelodidae*), congelada comercializada em Belo Horizonte, MG**. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.
- BENNETT, R. W.; LANCETTE, G. A. **Food and Drug Administration (FDA – USA)**, publicada no Bacteriological Analytical Manual, 8ª ed. 1998. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm071429.htm>. Acesso em: 26 out. 2011
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto número 30.691 de 29 de março de 1952, alterado pelos decretos número 1255 de 25 de julho de 1962, número 1.236 de 02 de setembro de 1994, número 1812 de 08 de fevereiro de 1996 e número 2.224 de 04 de junho de 1997. Aprova o novo Regulamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - R.I.I.S.P.O.A. **Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 1997.

BRASIL - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução Nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 janeiro. 2001. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm. Acesso em: 26 out. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim eletrônico epidemiológico – vigilância epidemiológica de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004, ano 5, n.06, 2005.** Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/svs>>, Acesso em: 26 out. 2011.

BUTT, A. A.; ALDRIDGE, K. E.; SANDRES, C. V. Infections related to the ingestion of seafood Part I: viral and bacterial infections. **Lancet. Infect. Dis.**, v. 4, n. 4, p. 201–212, 2004.

CORREIA, M.; RONCADA, M. J. Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da Cidade de São Paulo. **Rev. Saúde Públ.**, v. 31, p. 296-301, 2002.

COSTA, R. A.; VIEIRA, G. H. F.; SILVA, G. C.; PEIXOTO, J. R. O.; BRITO, M. V. Bactérias de interesse sanitário em *sushi* comercializado em Sobral – Ceará. **Bol. Técn. Cient. CEPENE**, v. 15, n. 1, p. 15-19, 2007.

CVE (Centro de Vigilância Epidemiológica). Secretaria de Estado as Saúde de São Paulo. Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Dados de surtos de DTA por semana epidemiológica e municípios (dados preliminares) revisados em ago/2004. [on line]. In: **Surto de doenças transmitidas por alimentos notificados ao CVE; 2004.** Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dta_estat.htm. Acesso em: 1 Nov. 2011.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. *Staphylococcus aureus*. In: VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática.** São Paulo: Livraria Varela, 2004a. cap.8, p. 95-104.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S., *Salmonella*. In: VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática.** São Paulo: Livraria Varela, 2004b. cap10, p. 111-124.

FELDHUSEN, F. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. **Microb. Infect**, v. 2, n. 13, p. 1651-1660, 2000.

FENG, P.; WEAGANT, S. D; GRANT, M. A. **Food and drug Administration (FDA – USA)**, publicada no Bacteriological Analytical Manual, 8ª ed.1998. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm064948.htm#conventional>>. Acesso em: 28 out. 2011.

FOCAGA, F. H. S. A importância do manejo higiênico-sanitário na qualidade do pescado. **A Lavoura**, p. 23-25. 2010. Disponível em: <http://www.sna.agr.br/artigos/677/ALAV677-manejopeixes.pdf>

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2000. 424 p.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424 p.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 196p.

FRANCO, B. D.G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004. 196p.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 196p.

FREITAS, I. M. S.; SHINOHARA, N. K. S.; SILVA, G. D.; DEMETRIO, A. A.; AGNANI, J. A. T.; SIQUEIRA, L. P. Boas Práticas de Manipulação na Culinária Japonesa. Anais: **IX Jornada de ensino, pesquisa e extensão UFRPE**, Recife, 2009. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0625-1.pdf>. Acesso em: 28 out. 2011.

GARIN, B.; AIDARA, A.; SPIEGEL, A.; ARRIVE, P.; BASTARAUD, A.; CARTEL, J. L.; AISSA, R. B.; DUVAL, P.; GAY, M.; GHERARDI, C.; GOUALI, M.; KAROU, T. G.; KRUY, S. L.; SOARES, J. L.; MOUFFOK, F.; RAVAONINDRINA, N.; RASOLOFONIRINA, N.; PHAM, M. T.; WOUAFO, M.; CATTEAU, M.; MATHIOT, C.; MAUCLERE, P.; ROCOURT, J. Multicenter study of street foods in 13 towns on four continents by the food and environmental hygiene study group of the International Network of Pasteur and associated institutes. **J. Food Prot.**, v. 65, p. 146-52, 2002.

GERMANO, P. M. L.; OLIVEIRA, J. C. F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. **Hig. Aliment.**, v.7, n. 28, p. 40-45, 1993.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária De Alimentos**. São Paulo: Manole, 2008. 986p.

GUERRANT, R. L.; KOSEC, M.; MOORE, S.; LORNTZ, B.; BRANTLEY, R.; LIMA, A. A. M. Magnitude and impact of diarrheal diseases. **Arch. Med. Res.**, v. 33, n. 4, p. 351-355, 2002.

HANASHIRO, A. **Avaliação da Qualidade Higiênico - Sanitária e Nutritiva de Bentôes Comercializados no Bairro da Liberdade, São Paulo**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Saúde Pública – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiênico sanitário de alimentos**, 6ª ed. São Paulo: Varela, 375p, 1999.

HUSS, H. H.; REILLY, A.; EMBAREK, P. K. B. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control**, v.11, p. 149-156, 2000.

ICMSF – INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Ecologia microbiana de los alimentos**, vol.1: factores que afetam a la sobrevivencia de los microorganismos en los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1980.

JAKABI, M.; BUZZO, A. A.; RISTORI, C. A.; TAVECHIOI, A. T.; SAKUMA, H.; PAULA, A. M. R.; GELLI, D. S. Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* sp. ocorridos na grande São Paulo, no período de 1994 a 1997. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 58, n. 1, p. 47-51, 1999.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 711p, 2005.

LEAL, M. L. M. S. **A história da gastronomia**. Rio de Janeiro: Senac Nacional, 1998.144p.

LIMA, R. M. T.; SHINOHARA, N. K. S.; SIQUEIRA, L. P.; LIMA, R. C. T.; XIMENES, G. N. C.; BARBOSA, V. B. Avaliação Microbiológica de *Sushis* e *Sashimis* Comercializados na Cidade do Recife - PE . Anais: **IX Jornada de ensino, pesquisa e extensão UFRPE**, Recife, 2009. Disponível em:
<<http://www.eventosufrpe.com.br/eventosufrpe/jepex2009/cd/resumos/R0620-1.pdf>>.
Acesso em: 28 out. 2011.

LINDQVIST, R.; ANDERSON, Y.; JONG, B.; NORBERG, P. A summary of reported foodborne disease incidents in Sweden, 1992-1997. **J. Food Prot.**, v. 63, n. 10, p. 1315-1320, 2000.

LUCCA, A. **Alimentos Vendidos nas Ruas**. 2000. Disponível em: http://www.saudenainternet.com.br/especial/especial_16.shtml. Acesso em: 28 out. 2011.

MALAVOTA, L. C. M.; COSTA, J. C. B.; JARDIM, M. F.; OLIVEIRA, L. A. T.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, V. M. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* spp. em “sashimis” comercializados em restaurantes no município do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Cien. Vet.**, v. 16, n. 2, p. 89-94, 2009.

MALAVOTA, L. C. M. **Avaliação dos pontos críticos no processamento de “sashimis” em restaurantes: análises bacteriológicas e pesquisa de sensibilidade a antimicrobianos**. 2008. 117f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, 2008.

MANKEE, A.; ALI, S.; CHIN, A.; INDALSINGH, R.; KHAN, R.; MOHAMMED, F.; RAHMAN, R.; SOOKNANAN, S.; TOTA-MAHARAJ, R.; SIMEON, D.; ADESIYUN, A. A.; Bacteriological quality of "doubles" sold by street vendors in Trinidad and the attitudes, knowledge and perceptions of the public about its consumption and health risk. **Food Microbiol.**, v. 20, n. 6, p. 631-639, 2003.

MARTINS, O. F. de. **Avaliação da qualidade higiênico- sanitária de preparações (sushi e sashimi) a base de pescado cru servidos em bufês na cidade de SP**. 2006. 142f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

MATTÉ, G. R. **Estudo de *Vibrio* ssp. potencialmente patogênicos através de métodos moleculares**. 2003. Tese. Faculdade de Saúde Pública – Universidade de São Paulo, São Paulo; 2003.

MOTARJEMI, Y.; KAFERSTEIN, F. K. Global estimation of foodborne disease. **World Health Stat Quart.**, v. 50, n. 1-2, p.5-23, 1997

NOGUELORA, I.; BLANCH, A. R. Identification of *Vibrio* ssp. with a set of dichotomous keys. **J. Appl. Microbiol.**, Oxford, v. 105, n.1, p. 175-185, 2008.

OETTERER, M. **Matéria- prima alimentar: pescado**. São Caetano do Sul: Centro de pesquisas do Instituto Mauá de Tecnologia, 1991. 29p.

OLIVER, J. D.; KAPER J. B. *Vibrio* species. In: DOYLE M. P, BEUCHAT, L. R.; THOMAS, J. M. **Food Microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press; p. 228-260, 1997.

OPAS/INPPAZ - ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAUDE. HACCP: **Ferramentas essenciais para inocuidade dos alimentos**. Buenos Aires, Argentina. 2005.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e Técnica Dietética**. 1ª ed. São Paulo: Manole; 2003. p129.

PINHEIRO, H. M. C.; VIEIRA, R. H. S. F.; CARVALHO, F. C. T.; REIS, E. M. F.; SOUSA, O. V.; VIEIRA, G. H. F.; RODRIGUES, D. P. *Salmonella* sp. e Coliformes Termotolerantes em *Sushi* e *Sashimi* comercializados na cidade de Fortaleza-Ceará. **Bol. Técn. Cient. CEPENE**, v. 1, n. 1, p. 23-31, 2006.

RODRIGUES, D. P. Ecologia e prevalência de *Salmonella* spp. em aves e material avícola no Brasil. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. **Anais: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia avícolas**. Santos, v.2, p. 223-237, 2005.

SANTOS, R. M. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de peixes comercializados em Mercados Municipais da cidade de São Paulo, SP**. 2006. 96f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

SILVA, N da; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F de A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Varela, 2001.

SILVA, JR. E. A. da. **Manual de controle higiênico- sanitário em alimentos**. 5ª ed. São Paulo: Varela, 2002.

SILVA, JR. E. A. da. **Manual de controle higiênico sanitário em serviços de alimentação**. 6ª ed. São Paulo: Varela, 2008.

SOUSA, O. V. de. *Vibrio parahaemolyticus*. In: VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Livraria Varela, 2004. cap 12, 388p.

VALLANDRO, M. J. **Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis a base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa na cidade de Porto Alegre – RS**. 2010. 69f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

VARNAM, A. H.; EVANS, M. G. **Foodborn Pathogens**. London, Wolfe Publishing, 1991, 557p.

VIEIRA, R. H. S. F.; SILVA, C. M.; CARVALHO, F. C. T.; SOUSA, 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 – Ce. **Bol. Técn. Cient. CEPENE**, Tamandaré, v. 15, n. 1, p. 9-14, 2007.

ZANDONADI, R. P.; BOTELHO, R. B. A.; SÁVIO, K. E. O.; AKUTSU, R. C.; ARAÚJO, W. M. C. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 20, n.1, p.19-26, 2007.

WALLACE, H. A.; HAMMACK, T. S. *Salmonella*. In: **U.S. Food and Drugs Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition**. Bacteriological Analytical Manual on line. FDA/CFSAN. 2007. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~bam/bam-4a.html>>. Acesso em: 25 out. 2011.

WEBSTER, L. F.; THOMPSON, B. C.; FULTON, M. H.; CHESTNUT, D. E.; DOLAH R. F. V.; LEIGHY, A. K. Identification of sources of *Escherichia coli* in South Carolina estuaries using antibiotic resistance analysis. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, v.298, p. 179-195, 2004.

WHEELER, J. G.; SETHI, D.; COWDEN, J. M.; WALL, P. G.; RODRIGUES, L. C.; TOMPKINS, D. S.; HUDSON, M. J.; RODERICK, P. J. Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. **Br. Med. J.**, London, v. 318, p.1046-1050, 1999.