

## ***Salmonella* sp. E COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM SUSHI E SASHIMI COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE FORTALEZA- CEARÁ**

Hilda Maria de Castro Pinheiro<sup>1</sup>

Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira<sup>2</sup>

Fátima Cristiane Teles Carvalho<sup>1</sup>

Eliane Maria Falavina dos Reis<sup>3</sup>

Oscarina Viana de Sousa<sup>4</sup>

Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira<sup>5</sup>

Dália dos Prazeres Rodrigues<sup>3</sup>

### **RESUMO**

O consumo de pratos orientais prontos à base de pescado cru vem aumentando rapidamente na cidade de Fortaleza, Estado do Ceará. O objetivo desse trabalho foi quantificar coliformes termotolerantes e investigar a presença de *Salmonella* em *sushi* e *sashimi*, com base nos produtos servidos em cinco restaurantes. Foram isoladas as seguintes bactérias da família Enterobacteriaceae: *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* e *Escherichia coli* tipo II. Também foram isoladas das amostras, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*, bactérias características de alimentos em deterioração. Foram detectados *Salmonella* sp. e *Salmonella* Newport nas amostras de dois estabelecimentos, indicando uma baixa qualidade microbiológica desses produtos.

**Palavras-chave:** *Salmomella*, comercialização, *sushi sashimi*, Fortaleza

### **ABSTRACT**

#### ***Salmonella* sp. and thermotolerant coliforms in *sushi* and *sashimi* marketed at Fortaleza city, Ceará State**

The consumption of uncooked fish-based ready-to-eat oriental foods is growing rapidly at Fortaleza city, Ceará State, Brazil. The aim of this study was to estimate thermotolerant coliforms and to investigate the presence of *Salmonella* in *sushi* and *sashimi*, based on products served in five restaurants. The following bacteria belonging to Enterobacteriaceae family were isolated: *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* and *Escherichia coli* type II. acteria characteristic of rotten food such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis* were also isolated. *Salmonella* sp. and *Salmonella* Newport were detected in samples from two restaurants, showing their lack of hygiene in serving this kind of exotic dishes.

**Key words:** *Salmomella*, marketing, *sushi sashimi*, Fortaleza

<sup>1</sup> Pesquisadora do Instituto de Ciências do Mar/LABOMAR-UFC

<sup>2</sup> Professora da UFC e Pesquisadora do Instituto de Ciências do Mar/LABOMAR-UFC

<sup>3</sup> Pesquisadora da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

<sup>4</sup> Pesquisadora do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes/IMPPG – UFRJ

<sup>5</sup> Professor da Universidade Vale do Acaraú-Sobral

## INTRODUÇÃO

Existe atualmente um acelerado processo de globalização de costumes e hábitos alimentares. Prova disso foi a rápida difusão do tipo de alimentação anteriormente praticado, principalmente, em países orientais. Os pratos à base de pescado cru originários dos países asiáticos em pouco tempo se tornaram moda. Locais especializados em pratos tipo *sashimi* (pedaços finos de músculo de peixe servidos crus) e *sushi* (*sashimi* moldado sobre arroz fermentado) são cada vez mais freqüentes nas cidades ocidentais.

Em um rápido período, esse tipo de alimento tornou-se moda nos países ocidentais, sendo sinônimo de “comida saudável”. Vários estabelecimentos especializados nesse tipo de prato exótico surgiram nas cidades do ocidente. No Brasil, esse tipo de culinária também faz muito sucesso, principalmente, em cidades com grande fluxo de turistas como é o caso de Fortaleza (Ceará).

O consumo crescente desse tipo de alimento vem-se tornando uma preocupação para a saúde pública, não só pelo fato de ser um produto altamente perecível mas também devido aos aspectos higiênico-sanitários de sua preparação e conservação.

Além de parasitas, a ingestão de pratos não cozidos pode veicular outros patógenos humanos. Bactérias que fazem parte da microbiota natural do pescado ou originárias da manipulação também são causas de doenças. Segundo Collins (1997), os patógenos bacterianos são a principal causa de surtos alimentares.

Dados coletados pelos programas de vigilância de doenças veiculadas por alimentos, em países industrializados, têm demonstrado a prevalência e incidência de surtos alimentares de origem microbiana sobre aqueles de origem química, como também o papel dos manipuladores na transmissão dessas doenças. Campilobacterioses e salmoneloses lideram as doenças veiculadas através de alimentos (KÄFERSTEIN et al., 1997).

As toxinfecções alimentares de origem microbiana têm sido reconhecidas como o problema de Saúde Pública mais abrangente no mundo atual, causando um impacto econômico negativo e acarretando grandes perdas econômicas para as indústrias, para o turismo e para a sociedade (NASCIMENTO, 2000).

Apesar de haver controvérsias sobre os microrganismos mais representativos da qualidade sanitária de um produto alimentício, os coliformes em geral (dentre eles *Escherichia coli*) e os enterococos são utilizados como indicadores das condições higiênico-sanitárias da conservação e preparo dos alimentos.

Existe uma preocupação, principalmente, com a presença de *Salmonella* em alimentos manipulados e consumidos sem tratamento térmico. Isso porque o homem é um dos principais agentes portadores e transmissores dessa bactéria que está envolvida na maioria dos casos de surto alimentar registrado em diversos países.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade bacteriológica de pratos tipo *sushi* e *sashimi* (à base de pescado cru) comercializados em

estabelecimentos especializados da cidade de Fortaleza através da pesquisa e estimativa do Número Mais Provável (NMP) de microrganismos indicadores de contaminação fecal (coliformes termotolerantes) e da investigação da presença de *Salmonella*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Pontos de amostragem

No período de abril de 2002 a abril de 2003 foram realizadas seis coletas em cinco estabelecimentos que comercializam comida oriental do tipo *sashimi* e *sushi* em Fortaleza. Em cada coleta eram adquiridas duas amostras de prato à base de peixe cru (*sushi* e *sashimi*) e, logo em seguida, transportadas em gelo para o laboratório e as análises iniciadas imediatamente após a chegada.

### Análises bacteriológicas

A metodologia seguida para a detecção e estimativa do NMP de coliformes termotolerantes foi a descrita pelo FDA no Bacteriological Analytical Manual (MEHLMAN et al., 2001).

A investigação da presença de *Samonella* seguiu a técnica descrita por Andrews e Hammack (2001). As cepas suspeitas de *Salmonella* foram testadas com antisoro polivalente OH, fornecido pelo Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz-RJ (FIOCRUZ). Os isolados positivos para o antisoro foram enviados à FIOCRUZ para confirmação e caracterização dos sorovares.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média do NMP de coliformes termotolerantes das amostras de *sushi* e *sashimi* variou de  $< 3,0$  a  $2,4 \times 10^5$ , no estabelecimento A, de  $< 3,0$  a 150 em B, de  $< 3,0$  a  $1,1 \times 10^3$  em C, D e E (Tabela 1). Portanto, nove (30%) das 30 amostras apresentaram valores médios para coliformes termotolerantes acima do permitido para “pratos prontos para o consumo (alimentos prontos de cozinha, estabelecimentos e similares) pela RDC 12 da ANVISA (2001), item 22, alínea a” ( $> 10^2/g$ ). Todos os estabelecimentos pesquisados apresentaram pelo menos uma amostra com valores de coliformes acima de  $10^2$  por grama do produto. O estabelecimento E foi aquele que apresentou maior número de amostras (um total de quatro) fora dos padrões microbiológicos estabelecidos (Figura 1). Uma pesquisa realizada por Fang et al. (2003) em produtos prontos para consumo comercializados refrigerados ( $18^\circ\text{C}$ ), em Taiwan, mostrou 84% das amostras de *sushi* com valores de coliformes acima do limite estabelecido para esse tipo de alimento.

Em avaliação semi-qualitativa do perigo de alimentos para a segurança dos consumidores, os pratos à base de pescado cru são considerados de alto risco (HUSS et al., 2000); (SUMNER; ROSS, 2002).

Tabela 1 – Média do Número Mais Provável de coliformes termotolerantes por grama de amostra *sushi* de cinco estabelecimentos comerciais na cidade de Fortaleza (Ceará, Brasil).

Coletas	Média do NMP de coliformes termotolerantes				
	A	B	C	D	E
1 <sup>a</sup>	240000	150	23	23	9,2
2 <sup>a</sup>	93	<3,0	23	<3,0	<3,0
3 <sup>a</sup>	<3,0	<3,0	<3,0	1100	1100
4 <sup>a</sup>	43	<3,0	1100	3,6	240
5 <sup>a</sup>	43	3,6	43	240	150
6 <sup>a</sup>	93	93	93	43	150

A ingestão de pescado cru ou inadequadamente cozido é um fator de risco tendo em vista que alimentos nestas condições podem representar um perigo de transmissão de várias doenças de origem viral, bacteriana ou parasitária para o consumidor. No Sudeste da Ásia, onde esse tipo de prato à base de peixe cru é tradicional, existem locais endêmicos de algumas doenças parasitárias transmitidas por nematóides, raras no mundo ocidental (NOVAK, 1996). O consumo do músculo e/ou vísceras de espécies de peixes que carregam a forma larval dos parasitas do gênero *Anisakis*, resulta em anisakidosis. A maior incidência dessa doença é no Japão, onde o consumo de peixe cru tem sido uma prática cultural secular (McCARTHY; MOORE, 2000).

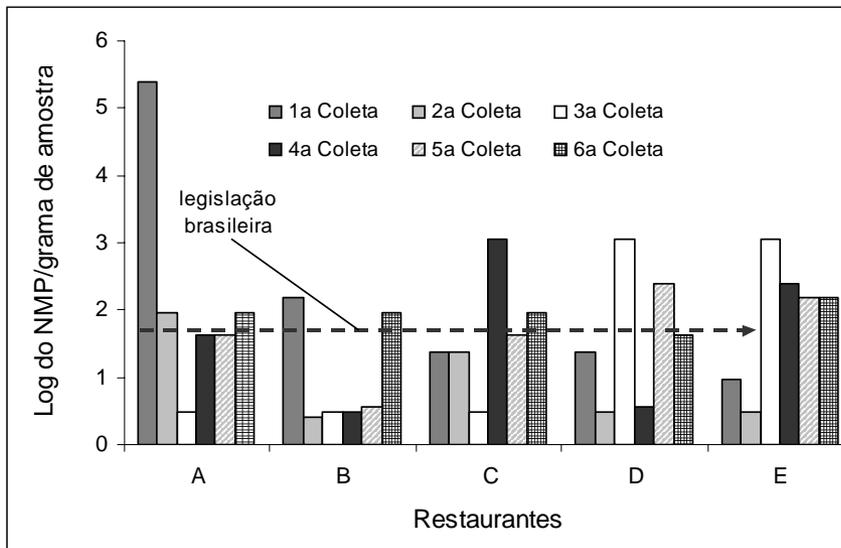


Figura 1 – Número de amostras de *sushi* e *sashimi* analisadas acima dos limites de Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes determinados pela legislação brasileira vigente.

Foi identificado um total de 42 estirpes isoladas a partir de tubos positivos nos testes de colimetria, dentre as quais trinta e seis pertencentes ao grupo das enterobactérias (Tabela 2). Além de *Escherichia coli* foram isolados *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* tipo II e *Klebsiella* sp. A família Enterobacteriaceae está envolvida nos processos de deterioração bacteriana no pescado (GRAM; HUSS, 1996). A maioria das espécies dessa família é reconhecida como produtoras da enzima histidina descarboxilase durante seu crescimento. Essas bactérias, portanto, estão envolvidas na formação de histamina em pescados, principalmente das famílias Scomberesocidae e Scombridae (CHAMBERLAIN, 2001). Taylor et al. (1979) relataram o isolamento de espécies de enterobactéria produtora de níveis elevados da histidina descarboxilase a partir de *sashimi* de atum incriminado em um incidente de intoxicação por histamina, registrado na cidade de São Francisco (EUA). Lopéz-Sabater et al. (1996), investigando a qualidade de peixes comercializados no mercado de Barcelona, constataram que 83% das bactérias isoladas, formadoras de histamina, pertenciam à família Enterobacteriaceae. O controle da higiene é um componente crítico na formação de histamina no músculo desse tipo de peixe.

Tabela 2 – Identificação das cepas isoladas das amostras de *sushi* e *sashimi* relacionando os estabelecimentos de origem.

Espécies	Estabelecimentos					Isolados	
	A	B	C	D	E	n	%
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	+	1	2,4
<i>Escherichia coli</i> tipo II	+	+	-	-	-	2	4,7
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	+	+	+	23	54,8
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	+	-	+	4	9,5
<i>Klebsiella</i> sp.	-	-	+	-	-	2	4,7
<i>Salmonella</i> Newport	-	-	-	-	+	2	4,7
<i>Salmonella</i> sp.	-	-	-	+	+	2	4,7
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	+	2	4,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	4	9,5

As outras quatro cepas identificadas como *Pseudomonas aeruginosa* e duas de *Proteus mirabilis*, também são bactérias relacionadas à deterioração do pescado e à produção de histamina (YOSHINAGA; FRANK, 1982).

Adams et al. (1994) analisaram amostras de *sushi* preparadas com diferentes espécies de peixe, em estabelecimentos especializados na cidade de Seattle (EUA). Não foram encontradas enterobactérias. Foram detectadas as presenças de *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* no arroz que fazia parte do prato, mas estavam ausentes nos pedaços de peixe. Embora em níveis baixos, a presença dessas bactérias sugeriu que as normas estabelecidas para o arroz preparado (baixo pH, controle de temperatura e curtos períodos de estocagem) não estavam sendo seguidas adequadamente.

O arroz acidificado usado no preparo do *sushi* e a ação redutora do sal e açúcar sobre a atividade aquosa, ingredientes utilizados na confecção deste prato,

poderiam restringir a atividade microbiana. Entretanto, o fato do produto ser altamente manipulado, antes e depois do seu preparo, agrega fatores de risco tornando esse alimento mais vulnerável à contaminação (HANASHIRO et al., 1999). Nesta pesquisa, os ingredientes do *sushi* (peixe e arroz) não foram analisados separadamente, mas homogeneizados e avaliados como uma amostra única.

Durante as fases de processamento, os contaminantes mais comuns do peixe são bactérias do grupo coliforme, enterococos e estafilococos que, segundo Vieira (2004), têm como fonte de contaminação o próprio manuseador. Essas cepas podem inclusive ser repassadas ao pescado através de utensílios e equipamentos aparentemente sanitizados.

Santos (2002) isolou cepas de *Escherichia coli* em utensílios e equipamentos, mesmo após sua sanitização, mostrando que estas cepas resistiram a concentrações de cloro de 104 e 115 mg/L. Segundo Clark et al. (1994), os principais fatores que determinam a resistência de uma cepa a um agente são a aglomeração de bactérias, e a capacidade que elas têm de se agregar e formar associações com partículas.

O isolamento de cepas de *Salmonella* Newport e *Salmonella* sp. de quatro amostras provenientes de dois diferentes estabelecimentos é de extrema importância sob o ponto de vista de saúde pública. Uma contaminação de alimentos com patógenos, cujo reservatório natural é animal/humano (*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, vírus entéricos), significa um risco porque, em alguns casos, mesmo baixas concentrações de células são suficientes para causar doença. Para alguns sorovares de *Salmonella* essa dose infectante pode ser de apenas 10 células. Os procedimentos térmicos normais eliminariam o risco desses patógenos. A preocupação, portanto, está principalmente relacionada ao consumo de pratos à base de peixe muito manipulados e consumidos crus como *sushi* e *ceviche* (HUSS et al., 2000). A legislação brasileira determina que as salmonelas devem estar ausentes em qualquer produto alimentar (ANVISA, 2001).

Contaminações cruzadas podem ocorrer na manipulação de produtos crus e/ou nos locais de processamento, via utensílio ou equipamento contaminado anteriormente, representando um alto risco para o consumidor. Outro fator que pode influenciar na contaminação do pescado por salmonelas é sua captura em locais contaminados. Essa enterobactéria, apesar de amplamente distribuída na natureza, sendo encontrada na microbiota de alguns animais de sangue frio, é indígena de ambientes aquáticos e ocasionalmente tem sido isolada de pescado (YOUSSEF et al., 1992). Então, sua presença nos pescados advém provavelmente de contaminações *in loco* ou através do manipulador. Segundo Hoffner et al. (2000), mesmo após se recuperar de infecções por *Salmonella* sp., o indivíduo pode permanecer como portador, excretando a bactéria através das fezes por dias ou meses.

É comprovado que a maioria dos casos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), ocorre via manipuladores e, nesse caso, um portador assintomático de *Salmonella* constitui um problema grave para a segurança

alimentar do consumidor (DUFFY et al., 1999; GÓES et al., 2001). No Brasil, as tentativas para uma avaliação realista do papel das bactérias nas enfermidades de origem alimentar esbarram na não obrigatoriedade da notificação de casos por parte das autoridades médicas (SOARES; GERMANO, 2004).

Baseado nos dados produzidos nesta pesquisa, recomenda-se uma maior atenção por parte das autoridades sanitárias para com estabelecimentos que comercializem pratos orientais à base de peixe cru. O preparo e comercialização desse tipo de prato exótico em ambientes tropicais requerem uma série de cuidados que assegurem a qualidade dos produtos e a segurança dos consumidores. O público também deve ser esclarecido sobre os riscos aos quais está sendo submetido ao consumir esse tipo de alimento servido sem tratamento térmico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, A.M.; LEJA, L.L.; JINNEMAN, K.; BEEH, J.; YUEN, G.A; WEKELL, M.M. Anisakid parasites, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in *sushi* and *sashimi* from Seattle area restaurants. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.57 , n. 4, p. 311-317, 1994.

ANDREWS, W.H.; HAMMACK, T.S. *Salmonella*, in FDA/CFSSAN. **Bacteriological Analytical Manual Online.**, Jan. 2001. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>. Acesso em: 22 Jul. 2003.

ANVISA. Resolução - RDC 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 jan. 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\_01rdc.htm>.

CHAMBERLAIN, T. Histamine levels in longlined tuna in Fiji: a comparison of samples from two different body sites and the effect of storage at different temperatures. **South Pac. J. Nat. Sci.**, Suva, v.19, p.30-34, 2001.

CLARK, R.M.; RICE, E.W.; PIERCE, B.K.; JOHNSON, C.H.; FOX., K.R. Effect of aggregation on *Vibrio cholerae* inactivation. **J. Environ. Engin. ASCE**, New York, v.120, n.4, p. 875-887, 1994.

COLLINS, J.E. Impact of changing consumer lifestyles on the emergence/reemergence of foodborne pathogens. **Emer. Infect. Dis.**, Atlanta, v.3, n. 4, p.471-479, 1997.

DUFFY, G.; CLOACK, O.M.; O'SULLIVAN, M.G.; GUILLET, A.; SHERIDAN, J.J., BLAIR, I.S.; MCDOWELL, D.A. The incidence and antibiotic resistance profiles of

*Salmonella* spp. on Irish retail meat products. **Food Microb.**, London. v.16, n.6, p.623-631, 1999.

FANG, T.J.; WEI, Q-K.; LIAO, C-W.; HUNG, M-J.; WANG, T-H. Microbiological quality of 18°C ready-to-eat food products sold in Taiwan. **Int. J. Food Microb.**, Amsterdam, v.8, n.3, p.241-250, 2003.

GÓES, J.A.W.; FURTUNATO, D.M.N.; VELOSO, I.S. Capacitação dos manipuladores de alimentos e a qualidade da alimentação servida. **Hig. Alim.**, São Paulo, v.15, n. 82, p. 20-22, 2001.

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **Int. J. Food Microb.**, Amsterdam, v.33, n. 1, p.121-137, 1996.

HANASHIRO, A.; TORRES, E.A.F.S.; GERMANO, M.I.S.; GERMANO, P.M.L. Avaliação da comercialização de refeições orientais prontas-bentô no bairro da Liberdade, São Paulo. **Hig. Alim.**, São Paulo. v.12, n.66/67, p.19-31, 1999.

HOFFNER, R.J.; SLAVEN, E.; PEREZ, J.; MAGANA, R.N.; HENDERSON, S.O. Emergency Department presentations of typhoid fever. **J. Emerg. Med.**, New York, v.19, p.317-321, 2000.

HUSS, H.H.; REILLY A.; BEMBAREK P.K. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control**, Oxford, v. 11, n.2, p. 149-156, 2000.

KÄFERSTEIN, F.K.; MOTARJEMI, Y.; BETTCHER, D.W. Foodborne disease control: a transnational challenge. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v.3, n. 4, p.503-510, 1997.

LÓPEZ-SABATER, E.I.; RODRIGUEZ-JEREZ, J.J.; HERNANDEZ-HERRERO, M.; MORA-VENTURA, M.T. Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. **Int. J. Food Microb.**, Amsterdam, v.28, p. 411-418, 1996.

MCCARTHY, J.; MOORE, T. A. Emerging helminth zoonoses. **Int. J. Parasit.**, Sydney, v.30, n.12-13, p.1351-1360, 2000.

MEHLMAN, I.J.; ANDREWS, W.H.; WENTZ, B.A. Coliform bacteria, in FDA/CFSAN (2001). **Bacteriological Analytical Manual Online**. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>>. Acesso em: 22 Jul. 2003.

NASCIMENTO, F.C.A. *Aspectos sócio-econômicos de doenças veiculadas pelos alimentos* (2000). **Nutrição**. Disponível em: [www.nutricaoempauta.com.br](http://www.nutricaoempauta.com.br), acesso em 03/03/2004.

NOVAK, S.M. Parasites associated with exotic food. **Clin. Microb. Newsl.**, New York, v.18, p.129-133, 1996.

SANTOS, M.G. Coliformes isolados de utensílios e equipamentos na linha de processamento de camarão de uma indústria de pescado de Fortaleza, Ceará. **Hig. Alim.**, São Paulo, v.16, n.101, p. 67-75, 2002.

SOARES, C.M.; GERMANO, P.M.L. Análise da qualidade microbiológica de sashimis, comercializados em shopping centers da cidade de São Paulo, Brasil. **Hig. Alim.**, São Paulo, v.18, n. 116/117, p.88-92, 2004.

SUMNER, J.; ROSS, T. A semi-quantitative seafood safety risk assessment. **Int. J. Food Microb.**, Amsterdam v.77, n 1-2, p. 55-59, 2002.

TAYLOR, S.L.; GUTHERTZ, L.S.; LEATHERWOOD, M.; LIEBER, E.R. Histamine production by *Klebsiella pneumoniae* and an incident of scombroid fish poisoning. **Appl. Environ. Microb.**, Washington, v. 37, n. 2, p. 274-278, 1979.

VIEIRA, R.H.S.F. Pescado comercializado cru, congelado ou cozido, p 67-78, in Vieira, R.H.S.F *et al.* (eds.), **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. Editora Varela, São Paulo,, 2004. 380p.

YOSHINAGA, D.H.; FRANK, H.A. Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Appl. Environ. Microb.**, Washington, v. 44, n.2, p. 447-452, 1982.

YOUSSEF, H., EL-TIMAWY, A.K., AHMED, S. Role of aerobic intestinal pathogens of fresh water fish in transmission of human diseases. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.55, n. 12, p.739-740, 1992.