



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL  
DEPARTAMENTO DE GASTRONOMIA**

**Anna Raphaella de Moraes Peixoto**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *SUSHI* À BASE DE  
SALMÃO COMERCIALIZADO EM RESTAURANTES DE JOÃO PESSOA -  
PARAÍBA**

**JOÃO PESSOA  
2019**

ANNA RAPHAELLA DE MORAES PEIXOTO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *SUSHI* À BASE DE  
SALMÃO COMERCIALIZADO EM RESTAURANTES DE JOÃO PESSOA -  
PARAÍBA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Gastronomia do  
Centro de Tecnologia e Desenvolvimento  
Regional da Universidade Federal da Paraíba,  
como parte dos requisitos para obtenção do título  
de Bacharel em Gastronomia.

Orientador: Prof<sup>da</sup> Dra. Patrícia Pinheiro Fernandes Vieira

JOÃO PESSOA  
2019

P377a Peixoto, Anna Raphaella de Moraes.

Avaliação da qualidade microbiológica de sushi à base de salmão comercializado em restaurantes de João Pessoa - Paraíba / Anna Raphaella de Moraes Peixoto. - João Pessoa, 2019.

43 f.

Orientação: Patrícia Vieira.

Monografia (Graduação) - UFPB/CTDR.

1. Culinária japonesa. 2. Contaminação microbiológica. 3. Sashimi. 4. Salmonella. 5. Estafilococos. I. Vieira, Patrícia. II. Título.

UFPB/BC

ANNA RAPHAELLA DE MORAES PEIXOTO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *SUSHI* À BASE DE  
SALMÃO COMERCIALIZADO EM RESTAURANTES DE JOÃO PESSOA -  
PARAÍBA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Gastronomia do  
Centro de Tecnologia e Desenvolvimento  
Regional da Universidade Federal da Paraíba,  
como parte dos requisitos para obtenção do título  
de Bacharel em Gastronomia.

Data: 08/05/2019

Resultado: Aprovada

**Banca Examinadora**



Prof<sup>ª</sup>. Dra. Patrícia Pinheiro Fernandes Vieira



Claudia Gouveia Rodrigues

---

Alline Lima de Souza Pontes

*Aos meus avôs.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Professora Doutora Patrícia Pinheiro Fernandes Vieira, pela orientação, carinho e atenção dedicados, que contribuíram para minha formação acadêmica e para conclusão deste trabalho.

Aos meus pais Ary e Rute Peixoto, pelos anos de incentivo ao estudo, pelo apoio e paciência dedicados que permitiram ter acesso a uma formação superior.

Ao meu namorado, Pedro Abrantes, por me auxiliar em todo o percurso de realização da pesquisa e por todo carinho, paciência e apoio que tanto contribuíram nos momentos difíceis, sem você a execução desse projeto não teria sido possível.

A técnica de laboratório, Cláudia Gouveia Rodrigues (Claudinha), que tanto ajudou na execução das análises.

As amigas, Candice Lopes e Ana Simplicio por me auxiliarem com seus conhecimentos.

## RESUMO

Um alimento muito presente no cotidiano alimentar da população japonesa é o sushi. Este prato atualmente é muito apreciado pelo mundo na sua forma mais tradicional como *sashimi* e *nigiri*, preparados com peixe *in natura*, e em diversas outras configurações. Seu preparo deve seguir padrões higiênicos sanitários como medida para diminuir o risco microbiológico e possíveis surtos alimentares. Considerando os riscos de consumo do sushi a base peixe *in natura*, este trabalho avaliou a qualidade microbiológica de *sashimis* e *nigiris* à base salmão adquiridos em oito estabelecimentos, localizados em Shopping Center, especializados na culinária japonesa na cidade de João Pessoa, PB. A avaliação das características sensoriais do salmão permitiu observar que o produto não possuía sinais visíveis de contaminação microbiológica. No estudo da aplicabilidade das Boas Práticas de Fabricação apenas um estabelecimento foi considerado inadequado na avaliação global dos itens, e todos os outros foram considerados adequados com restrições. Segundo o preconizado pela legislação brasileira 37,5% das amostras de *sashimi* e 75% das amostras de *nigiri* analisadas foram consideradas em condições sanitárias satisfatórias. As demais amostras apresentaram presença de *Salmonella* spp. e *Estafilococos* coagulase positiva acima do limite estabelecido pela legislação para esse tipo de microrganismo. A análise dos resultados permitiu perceber a necessidade de uma melhor capacitação técnica dos funcionários de forma a garantir a qualidade e segurança do alimento, tendo em vista o alto risco microbiológico da matéria prima utilizada.

**PALAVRAS-CHAVES:** Culinária japonesa. Contaminação microbiológica. *Sashimi*. *Salmonella*. *Estafilococos*.

## ABSTRACT

A very present nourishment in the everyday food of the Japanese people is sushi. This recipe is currently appreciated around the world in its more traditional form as sashimi and nigiri, which are prepared with fresh fish, and in many other configurations. Its preparation must meet sanitary standards as a way of reducing the microbiological risk and potential foodborne outbreaks. Considering the risks of consuming in natura fish based sushi, this work evaluated the microbiological quality of salmon based sashimi and nigiri acquired in eight establishments, which were located at Shopping Centers, specialized on Japanese cuisine in the city of João Pessoa, PB. The evaluation of sensorial characteristics of the salmon used showed that the product had no visible signs of microbiological contamination. In the study of the applicability of Good Manufacturing Practices, only one establishment was considered inadequate on the global evaluation of its items, and all of the others were considered adequate with restrictions. According to what is recommended by the Brazilian legislation, 37.5% of the *sashimi* samples and 75% of the *nigiri* samples which were analysed were considered in satisfactory sanitary conditions. The remaining samples showed presence of *Salmonella* spp. and coagulase positive *Staphylococcus* above the limit established by the legislation for this type of microorganism. The analysis of the results allowed to realize the necessity of a better technical capacitation of the employees, in order to guarantee the quality and safety of the food, having in account the high microbiological risk of the raw material used.

**KEYWORDS:** Japanese cuisine. Microbiological contamination. Sashimi. Salmonella. Staphylococcus.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figure 1</b> - Georreferenciamento dos pontos de coleta.....	24
<b>Figure 2</b> - Imagem referente a amostra de sashimi e nigiri coletada no estabelecimento R4.....	28
<b>Figure 3</b> - Imagem referente a amostra de sashimi e nigiri coletada no estabelecimento R5.....	29
<b>Figure 4</b> - Colônias típicas (com halo) e atípicas (sem halo) de Estafilococos em meio BP .....	33
<b>Figure 5</b> - Resultado do teste catalase para confirmação de Estafilococos .....	34
<b>Figure 6</b> - Placa de Petri apresentando colônias negras características de Salmonella em meio Ágar SS .....	36
<b>Figure 7</b> - Teste de crescimento em TSI com produção de H <sub>2</sub> S (escurecimento do meio no fundo) e reação ácida (amarela) atípica na rampa .....	36
<b>Figure 8</b> - Placa de petri apresentando colônias amarelas indicativas de Vibrio cholerae em meio TCBS.....	37

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Resultado do checklist de adequação das condições higiênico sanitárias à legislação vigente por bloco analisado .....	29
<b>Tabela 2</b> – Resultado de análises microbiológicas realizadas nas amostras de <i>sashimi</i> de salmão.....	31
<b>Tabela 3</b> – Resultado de análises microbiológicas realizadas nas amostras de <i>nigiri</i> de salmão.....	32

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGS	ÁGAR ARGININA GLICOSE
APA	ÁGUA PEPTONADA ALCALINA
APHA	AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION
BHI	CALDO CÉREBRO INFUSÃO
BP	ÁGAR BAIRD-PARKER
DTAs	DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS
EDTA	ÁCIDO ETILENO DIAMINO TETRA ACÉTICO
EMB	ÁGAR EOSINA-AZUL DE METILENO
LIA	ÁGAR LISINA FERRO
SPP.	VÁRIAS ESPÉCIES
TCBS	ÁGAR TIOSULFATO BILE SACAROSE
TSI	ÁGAR TRÍPLICE AÇÚCAR
UFC	UNIDADE FORMADORA DE COLÔNIA
UNESCO	ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, A CIÊNCIA E A CULTURA
VRBA	ÁGAR VERMELHO VIOLETA BILE
XLD	ÁGAR XILOSE LISINA DESOXICOLATO

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1. História do <i>sushi</i> .....	15
2.2. Boas práticas de manipulação na culinária japonesa.....	16
2.2.1 Aplicação de Checklist de Boas Práticas de Fabricação.....	17
2.3. Doenças transmitidas por alimentos (DTAs).....	17
2.4. Caracterização de microrganismos encontrados no pescado.....	18
2.5. Coliformes totais .....	19
2.5.1 Coliformes termotolerantes .....	19
2.6. <i>Estafilococos</i> .....	20
2.7. <i>Salmonella</i> spp.....	20
2.8. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1 Delimitação de estudo .....	23
3.1.1 Área de estudo e critérios de escolha.....	23
3.1.2 Identificação de pontos de coleta .....	23
3.2 Aplicação de checklist.....	24
3.3 Coleta de amostras.....	24
3.4 Análises microbiológicas.....	25
3.4.1 Determinação de Unidade de Formação de Colônias (UFC) de coliformes a 45°C.....	25
3.4.2 Contagem e determinação de <i>Estafilococos coagulase positiva</i> .....	25
3.4.3 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. ....	26
3.4.4 Estimativa da população de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	26
3.5 Análise de resultados.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
4.1 Análise sensorial.....	28
4.2 Avaliação da aplicabilidade das Boas Práticas de Fabricação .....	29
4.3 Controle microbiológico.....	31
5. CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS .....	40

## 1 INTRODUÇÃO

A tradicional culinária japonesa está aliada a uma dieta saudável através do consumo de alimentos frescos como legumes, arroz, folhosos, derivados de soja, algas marinhas e principalmente de peixes e frutos do mar. É uma culinária que preza pelo sabor e pureza de cada ingrediente, por esse motivo é comum utilizar métodos de cocção menos intensos para poder preservar o sabor do alimento. Os peixes e frutos do mar estão presentes na maioria das preparações culinárias japonesas que são consumidas diariamente, como o *sushi* e suas variações (DEMETRIO et al., 2009).

O método de armazenar peixes e fruto do mar através de método natural de fermentação surgiu na Era Nara (710 – 794). O processo era demorado, durando de 2 a 3 meses, nele utilizava-se apenas arroz, peixe ou fruto do mar e sal, durante o período de armazenagem esses ingredientes produziam um ácido o qual foi chamado de *sushi*. Nos séculos seguintes o método de produção do *sushi* foi mudando até chegar a forma que é preparado atualmente o *niguirisushi*, fatia de peixe ou fruto do mar bem fresco em cima de bolinho de arroz temperado (FREITAS et al., 2009).

Outra preparação muito ressaltada na culinária japonesa é o *sashimi*, lâminas de peixe consumidas apenas com sal ou vinagre. Esse alimento surgiu no período Muromachi, cerca de 700 anos atrás, quando os frutos do mar começaram a ser degustados sem cozinhar, “*in natura*”, por aristocratas e samurais, e as técnicas de corte ganharam lugar de destaque. Atualmente, o *sashimi* é uma das comidas preferidas dos japoneses que apreciam sua cor, seu corte e sabor doce. A apresentação perfeita do prato é tão importante quanto a qualidade do próprio *sashimi*, consumido no início da refeição antes que outros sabores fortes afetem o paladar (SHIBA, 2012).

Alimentos consumidos crus, como *sashimi* e *nigiri*, requerem cuidados importantes em cada passo da cadeia alimentar, desde a produção até o consumo do alimento, sendo necessárias práticas higiênicas eficientes de acordo com os padrões da legislação vigente. Esses cuidados devem ser controlados através da adoção de Boas Práticas de Fabricação e monitorados pelas autoridades sanitárias, sendo medidas necessárias para diminuir o risco de contaminação microbiológica do processo evitando surtos alimentares provocados pelo consumo deste alimento, e assim riscos à saúde do consumidor como doenças transmitidas por alimentos (VALLANDRO et al., 2011; SOUZA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2010; PRADO et al., 2014).

As doenças transmitidas por alimentos são um dos problemas de saúde pública mais

frequentes na atualidade. Essas doenças estão relacionadas ao consumo de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos associados a infecções de origem alimentar. Do ponto de vista microbiológico a flora microbiana do pescado é resultante do ambiente aquático e após a pesca pode ocorrer contaminação através das várias etapas de processamento, como descamação, evisceração, filetagem e outros (SANTOS, 2010; BERGAMINI et al., 2013; CARVALHO, 2010).

A ANVISA através da RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano, define no item 22b do Anexo I (Pratos Prontos para Consumo), as análises dos seguintes patógenos: coliformes a 45°C; *Estafilococos* coagulase positiva; *Salmonella spp.* e *Vibrio parahaemolyticus* (BRASIL, 2001).

Tendo em vista os riscos do consumo de alimentos a base de pescado cru, esse trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de *sashimis e nigiris* à base de salmão, bem como as condições higiênico sanitárias de restaurantes especializados em culinária japonesa, localizados em Shopping Center, na cidade de João Pessoa, Paraíba.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Na revisão de literatura serão abordados os seguintes aspectos:

### 2.1. História do *sushi*

*Whashoku* ou comida tradicional japonesa foi reconhecida pela UNESCO, em 2013, como Patrimônio Cultural Imaterial, esse conceito engloba todo o cotidiano alimentar, desde o preparo do alimento ao seu compartilhamento à mesa. A escolha dos ingredientes quanto a sua sazonalidade, a estética do alimento preparado e a valorização das cores e sabores, são características desse sistema alimentar (SILVA, A. et al., 2010).

A forte influência Budista e a geografia do país fizeram com que as principais fontes de proteína da população fossem o peixe e o arroz. A impossibilidade de transporte do peixe para outras regiões, devido a sua alta perecibilidade, provocou o aumento do valor de mercado deste produto tornando-o um alimento de luxo. Com a necessidade de preservação do pescado surgiu uma técnica de conservação baseada na fermentação do arroz, que possui capacidade de produzir o ácido lático e assim conservar o peixe. Esse processo denominado de *naresushi* não se popularizou por causa do longo período de preparo e do descarte do arroz ao final do procedimento, dada a importância deste alimento na sociedade japonesa (SHIBA, 2012; FENG, 2012).

Com o passar do tempo surgiu um novo tipo de *sushi*, com tempo de fermentação reduzido possibilitando o consumo do arroz utilizado e evitando o desperdício. A utilização de vinagre do arroz ocorreu apenas dois séculos depois o que possibilitou que o tempo de confecção fosse de apenas um dia (SOUZA et al., 2012).

Apesar do desenvolvimento de tecnologias de pesca e de distribuição ocorreu a popularização do consumo de peixe frescos sem utilização de nenhum método de cocção. Atualmente o *sashimi*, lâminas de peixe “*in natura*”, é bastante apreciado pelos japoneses que prezam pela qualidade do produto e o consomem no início da refeição para que outros sabores não afetem o paladar (SHIBA, 2012).

O consumo de *sushi* adotou versatilidade e diversidade; *sushi* está agora disponível nas diversas configurações gastronômicas, cafeterias de universidades, quiosques de aeroportos e lojas de conveniência em todo o mundo. Se antes comer peixe cru era considerado um hábito grotesco, hoje é sinônimo de bom gosto gastronômico, influenciando a adoção de hábitos alimentares saudáveis (FENG, 2012; EMB, 2012).

Com a popularização do *sushi* e a sua grande disponibilidade em serviços de alimentação é muito importante a atenção nos cuidados na preparação, na refrigeração do pescado, respeitando os padrões de higiene. Portanto é importante os manipuladores estarem cientes do risco de contaminação microbiológica e serem preparados para evitar que isso ocorra (SANTOS et al., 2012).

## 2.2. Boas práticas de manipulação na culinária japonesa

Na produção de alimentos a contaminação pode ocorrer de diversas formas, sendo o manipulador e o ambiente considerados os principais responsáveis no controle ou na existência de risco reais nos alimentos produzidos. É importante treinar as pessoas que exercem essa atividade de manipulador pois muitos deles tem pouco conhecimento sobre manipulação adequada dos alimentos. Existe um despreparo e falta de conhecimentos, principalmente em relação à higiene pessoal e ao preparo dos alimentos de maneira segura (CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014).

Para o preparo de *sushi* e *sashimi* é necessário a qualificação dos funcionários devido à especificidade e perecibilidade da matéria prima a ser manipulada em diversos estágios até a obtenção do produto final. O pescado utilizado na preparação de *sushi* tem que seguir determinados padrões de qualidade, ser manipulado e refrigerado de forma adequada a respeitar as normas de higiene (ARMANI et al., 2017; SOUZA et al., 2012).

Na cadeia alimentar, desde a produção até o consumo dos alimentos, são necessárias práticas higiênicas eficientes. Cada etapa coloca em risco a segurança e qualidade dos alimentos. Em alimentos consumidos crus, como *sushi* e *sashimi*, cuidados como esse se tornam ainda mais importantes devendo ser controlados pela adoção de Boas Práticas de Fabricação e vistoriados pelas autoridades sanitárias responsáveis (VALLANDRO et al., 2011).

De acordo com a RDC nº 216/2004 os manipuladores devem ser supervisionados e capacitados periodicamente em higiene pessoal, manipulação e higiene dos alimentos, e doenças transmitidas por alimentos, devendo ser comprovado através de documentação (BRASIL, 2004).

Souza e colaboradores (2012), considera que a higiene dos manipuladores é um importante fator a se considerar na produção de *sushi*, e os chefs devem seguir um conjunto de procedimentos que conduzam a uma preparação e confecção absolutamente seguras evitando assim riscos à saúde do consumidor como doenças transmitidas por alimentos.

### *2.2.1 Aplicação de Checklist de Boas Práticas de Fabricação*

A ANVISA através da RDC nº275, de outubro de 2002, estabelece o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados. Esta resolução aplica-se aos estabelecimentos Produtores/Industrializados de alimentos e contém uma Lista para Verificação das Boas Práticas de Fabricação nos estabelecimentos (BRASIL, 2002).

Trata-se de uma ferramenta de avaliação das condições higiênico sanitárias de estabelecimentos que produzem alimentos, através da aplicação de checklist. O qual permite levantar os pontos críticos, através da avaliação inicial, e por meio dos dados coletados traçar ações corretivas para adequação dos itens não conformes, visando eliminar riscos que possam comprometer a qualidade do alimento e a saúde do consumidor (GENTA; MAURÍCIO; MATIOLI, 2005).

A adoção de boas práticas de fabricação através da implementação de checklist conforme a legislação brasileira para serviços de alimentação, permite garantir a qualidade na produção de alimentos seguros e de qualidade. Minimizando os riscos associados a manipulação de alimentos e as doenças transmitidas por eles (POERNER, et al. 2009).

### 2.3. Doenças transmitidas por alimentos (DTAs)

O Ministério da Saúde define doenças transmitidas por alimentos como uma síndrome que acomete o homem provocando sintomas como náuseas, vômitos e/ou diarreia, acompanhada ou não de febre, que está relacionada à ingestão de alimentos ou água contaminados. Contudo, sintomas digestivos não são as únicas manifestações, podendo ocorrer afecções extra intestinais em diferentes órgãos, como rins, fígado, sistema nervoso central, dentre outros, podendo ser causadas por bactérias, vírus, parasitas, toxinas, príons, agrotóxicos, produtos químicos e metais pesados. O quadro clínico depende do agente etiológico envolvido e pode variar de leve a severo (BRASIL, 2017).

No Brasil, somente alguns estados e/ou municípios dispõe de estatística e dados sobre a ocorrência de surtos, contudo muitos casos não são notificados as autoridades sanitárias, pois muitos agentes etiológicos provocam sintomas brandos, fazendo com que a vítima não procure auxílio médico (SANTOS, 2010).

O número de surtos e acometidos por DTAs passou por uma redução considerável no período de 2007 a 2017 no Brasil, a região com mais casos documentados foram a região

Sudeste e Nordeste, em primeiro e segundo lugar respectivamente, ocorrendo principalmente na faixa etária de 20 a 49 anos. Diarreia, vômitos e náuseas foram os principais sintomas apresentados nos casos de surtos de DTAs, e em mais de 50% dos casos o alimento incriminado no surto foi ignorado. Os principais agentes etiológicos identificados nos surtos foram bactérias (95,9%), vírus (7,7%), agentes químicos/outros (1,8%), protozoários (1,2%), sendo que 70,6% dos agentes etiológicos não foram identificados (BRASIL, 2017).

#### 2.4. Caracterização de microrganismos encontrados no pescado

Os padrões microbiológicos sanitários para alimentos, no Brasil, estão estabelecidos na Resolução n.º 12 da Agência de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001). Em seu item 22b, são apresentadas as bactérias que devem ser obrigatoriamente analisadas em alimentos à base de carnes, pescados e similares crus (quibi cru, carpaccio, *sushi*, *sashimi*, etc.): Coliformes a 45°C/g, *Estafilococos* coagulase positiva/g, *Vibrio parahaemolyticus*/g (específico para produtos à base de pescado) e *Salmonella* spp./25g (BRASIL, 2001).

Esse grupo de microrganismos indicadores podem ser utilizados para indicar a qualidade microbiológica dos alimentos em relação à vida de prateleira ou à segurança, de acordo com a presença de patógenos alimentares. Sendo assim, para avaliar aspectos de qualidade e segurança dos alimentos, utiliza-se de métodos que determinem a presença ou ausência de microrganismo indicadores (FERREIRA et al., 2014).

Na preparação de pescado para *sushi* é necessário tomar cuidados específicos como no momento da eliminação das vísceras, cabeça, pele e sangue, sendo importante ter em consideração as bactérias que podem contaminar o pescado. Algumas bactérias patogênicas que costumam contaminar os pescados estão naturalmente presentes no meio aquático marinho (SOUZA et al., 2012).

De acordo com Carvalho (2010), do ponto de vista microbiológico, considera-se que a carne do pescado está livre de bactérias, quando em seu estado natural somente se encontram microrganismos na pele, brânquias, intestinos e carapaças. Essa flora microbiana é resultante do ambiente aquático, uma vez que estão imersos em um mundo de microrganismos. Além da água, os microrganismos são adquiridos nas várias etapas de processamento, como descasque e escamação, evisceração, filetagem e outros.

A avaliação da qualidade do pescado deve iniciar no recebimento do mesmo onde devem ser observadas características organolépticas (com base no aspecto externo, como brilho, transparência dos olhos, tecidos resistentes a pressão dos dedos, sem viscosidade e

aroma característico, coloração própria do pescado, guelras vermelhas e sem muco e vísceras intactas) e a temperatura do pescado que deve estar entre 2°C e 3°C (PRADO, 2014; CARVALHO, 2010).

Segundo Carvalho (2010), o crescimento bacteriano no pescado após a sua captura e ao longo do armazenamento sob refrigeração é, indubitavelmente, o principal responsável pela deterioração. A penetração microbiana nos músculos a partir das vísceras ou guelras ocorre com intensidades diferentes, dependendo fundamentalmente das condições de temperatura e umidade durante o armazenamento, ou seja, quanto mais elevada a temperatura e a umidade, mais rápida será a penetração e deterioração.

## 2.5. Coliformes totais

O grupo de coliformes totais é composto por bactérias da família Enterobacteriaceae, são bacilos gram-negativos e não formadores de esporos, com temperatura de incubação de 35°C. Fazem parte desse grupo bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destes, apenas a *Escherichia coli* tem como hábitat primário o trato intestinal do homem e animais homeotérmicos. Contudo, a presença de coliformes totais no alimento não indica necessariamente contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (CUNHA apud FERREIRA et al., 2014; SILVA, N. et al., 2010).

### 2.5.1 Coliformes termotolerantes

O procedimento para determinação de coliformes termotolerantes, é semelhante para os coliformes totais, com a diferença na temperatura de incubação que é de 44°C a 45°C. Quando incubado a esta temperatura e existindo a contaminação de origem fecal, 90% das células microbianas que se desenvolvem são de *Escherichia Coli* e apenas algumas de *Enterobacter* e *Klebsiella*. Como a *Escherichia coli* é a única que tem por habitat primário apenas o intestino, o crescimento a esta temperatura confirma contaminação fecal (CARVALHO, 2010).

*Escherichia Coli* são bacilos gram-negativos não esporulados, capazes de fermentar glicose com produção de gás. Apresentam antígenos somáticos O, relacionados com polissacarídeos da membrana externa, antígenos flagelares H, relacionados com proteínas do flagelo k e relacionados com polissacarídeos capsulares (CARVALHO, 2010).

O surto de *Escherichia Coli* está associado a ingestão de água ou alimentos

contaminados, ou contato pessoal. Seu período de incubação é de 8 a 24 horas, com dose mínima infectante de  $10^6$  a  $10^8$  células. A legislação brasileira não define limite de número aceitável de microrganismos mesófilos, a comparação é feita por meio de valores encontrados citados na literatura (CARVALHO, 2010; SATO, 2013).

## 2.6. *Estafilococos*

De acordo com Hennekinne (2012), *Estafilococos* é uma bactéria esférica, não esporulada, não móvel que, quando observada ao microscópio, ocorre em pares, cadeias curtas ou aglomerados semelhantes a uvas. Estas bactérias aero-anaeróbicas facultativas são positivas para Gram e catalase. Os *Estafilococos* são onipresentes no meio ambiente e podem ser encontrados no ar, poeira, esgoto, água, superfícies ambientais, seres humanos e animais.

Doenças alimentares provocadas por *Estafilococos* são as causas mais comuns de infecções alimentares em todo o mundo. Investigações de surtos indicam que a manipulação de alimentos cozidos ou processados é a principal fonte de contaminação. A falta de manutenção da cadeia de frio permite que *Estafilococos* produza enterotoxinas, embora elas possam ser eliminadas através de tratamento térmico, contudo a enterotoxinas produzidas ainda são capazes de causar infecções alimentares por causa de sua capacidade de tolerância ao calor. (KADARIYA et al., 2014).

Uma das provas mais utilizadas para correlacionar a cepa isolada com a produção de enterotoxina (EE), é a produção de coagulase, uma enzima extracelular, embora a relação de coagulase e a de enterotoxina não seja absoluta. A coagulase promove a transformação do fibrinogênio em fibrina e conseqüente coagulação do plasma sanguíneo (SANTANA et al., 2010).

Até o momento, mais de cinquenta espécies e subespécies de *Estafilococos* foram descritas de acordo com seu potencial para produzir coagulase. Sua classificação, portanto, distingue entre cepas produtoras de coagulase, designadas como *Estafilococos* coagulase-positivos (CPS) e cepas produtoras de não coagulase, chamadas *Estafilococos* coagulase-negativos (CNS) (HENNEKINNE, 2012).

## 2.7. *Salmonella* spp.

As bactérias do tipo *Salmonella* são bacilos anaeróbios facultativos, gram-negativos, não esporulados, podendo apresentar motilidade por flagelação peritriquia. Formam o grupo

das Enterobacteriales, comumente chamadas de bactérias entéricas, englobando um grupo filogenético relativamente homogêneo dentro de Gammaproteobacteria, a maior e mais diversificada classe de Proteobacteria (MADIGAN et al., 2016).

A taxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfícies, denominados de antígenos somáticos, flagelares e capsulares. Os antígenos apresentam características como resistência ao aquecimento (100°C por duas horas) e sensibilidade a baixas temperaturas (termolábil). As propriedades da *Salmonella* são necessidade de baixa atividade de água para sobrevivência com limite mínimo de 0,94, pH ótimo para multiplicação próximo de 7,0, tolerância a concentrações de sal superiores a 9%, e temperatura ideal para multiplicação de 35-37°C, sendo a mínima de 5°C e a máxima de 47°C, de acordo com o sorotipo (BAÚ et al., 2009).

O gênero *Salmonella* facilmente contamina alimentos, principalmente os que possuem alta umidade, quantidades de carboidratos, proteínas e que não se encontram em temperaturas adequadas, além de alimentos crus ou mal cozidos. A contaminação cruzada devido à falta de higiene dos manipuladores pode ser outra forma de disseminação dessa bactéria (SILVA, A. M. et al., 2018).

Embora o desenvolvimento da *Salmonella* seja desconhecido, Santos (apud FERNANDES et al., 2018) desenvolveu um protocolo de infecção experimental para algumas espécies como tambaqui (*Colossoma macropomum*), piau (*Leporinus friderici*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), e conclui que a *Salmonella* pode permanecer no trato gastrointestinal de peixe de maneira passageira. Além disso, a presença da bactéria foi detectada nas fezes dos peixes, sendo este um importante fator para contaminação ambiental e propagação microbiana.

A presença de *Salmonella* no meio aquático em regiões agrícolas pode estar associada a incidência de salmonelose provavelmente por uso inadvertido da água contaminada com *Salmonella* para consumo e irrigação, levando a potencial risco a saúde. Um estudo realizado em rios de Taiwan encontrou uma elevada proporção de *Salmonella* nas amostras analisadas o que pode estar associada a alta incidência de salmonelose em humanos no país (HO et al., 2018).

## 2.8. *Vibrio parahaemolyticus*

De acordo com Madigan et al. (2016), a ordem Vibrionales contém bacilos gram-negativos aeróbios facultativos e bacilos curvos que apresentam metabolismo fermentativo. A

maioria dos vibrios é aquática, sendo encontrado em habitats de água do mar, água levemente salgadas e água doce. São bactérias bioluminescentes, ou seja, capazes de emitir luz, porém esse processo ocorre apenas na presença de O<sub>2</sub>.

Algumas cepas de *Vibrio parahaemolyticus* são Kanagawa positivas, induzindo a reação de beta hemólise nos eritrócitos humanos. Apesar de o teste de Kanagawa ser usado como um indicador de patogenicidade, estudos indicam que cepas Kanagawa negativas podem ser capazes de provocar infecção gastroentérica em humanos (PEREIRA et al., 2014).

Uma importante causa de gastroenterites no Japão, onde é grande o consumo de peixe cru, é a presença de *Vibrio parahaemolyticus*. Esse microrganismo também já foi relacionado com surtos de gastroenterites em outras regiões do mundo, inclusive nos Estados Unidos. Tendo por habitat os animais marinhos, o *Vibrio parahaemolyticus* tem o ser humano apenas como hospedeiro acidental (MADIGAN et al., 2016).

Em Taiwan a infecção por *Vibrio parahaemolyticus* está associada ao consumo de ostras, segundo Huang e colaboradores (2018), a temperatura de transporte e processamento desse alimento demonstrou ser um importante fator de risco para contaminação. O estudo identificou que manter a temperatura da ostra abaixo de 12°C reduz significativamente a incidência de infecção por *Vibrio parahaemolyticus*.

O consumo de frutos do mar cru ou mal cozido é o principal motivo de infecção por *Vibrio parahaemolyticus*. Porém o contato com alimento contaminado, ambientes marinhos ou locais de processamento também resultam na disseminação deste patógeno (JIANG et al., 2018).

A contaminação cruzada de *Vibrio parahaemolyticus* através de moluscos sanguíneos naturalmente contaminados gera risco marginal para os consumidores, no que diz respeito à baixa transferibilidade da população patogênica. As superfícies de contato não alimentares (mãos, faca e tábua de corte) são potenciais intermediários a disseminação de *Vibrio parahaemolyticus*. A reutilização dessas superfícies sem a devida limpeza pode contaminar alimentos produzindo risco de saúde para os consumidores. Da mesma forma, a reutilização dos resíduos de limpeza deve ser evitada pois podem gerar dispersão microbiana (MALCOLM et al., 2018).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão abordados os materiais e métodos relativos a área de estudo deste trabalho.

#### 3.1 Delimitação de estudo

Na delimitação de estudo serão abordados os seguintes aspectos metodológicos.

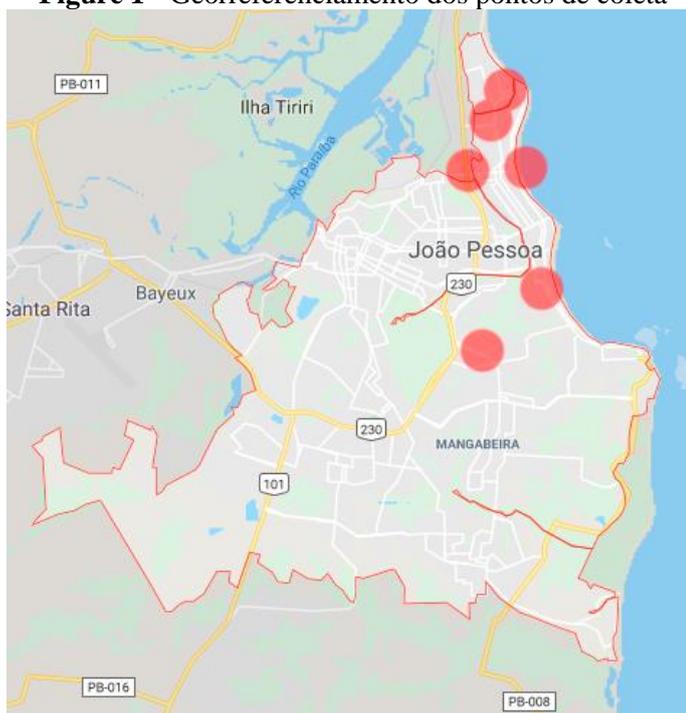
##### 3.1.1 Área de estudo e critérios de seleção

As amostras de *sashimi* e *nigiri* de salmão, foram obtidas diretamente em restaurantes especializados em culinária japonesa, localizados na cidade de João Pessoa – PB. Os restaurantes foram selecionados de acordo com critério pré-estabelecido de localização em Shopping Center da cidade. Entre os estabelecimentos listados foram selecionados apenas os que trabalham com culinária exclusivamente japonesa, totalizando oito restaurantes para pesquisa em seis Shopping centers.

A escolha do salmão ocorreu por este ser a matéria prima utilizada *in natura*, sem prévia cocção ou outro método de preparação por calor, utilizado na preparação de produtos como *sashimi* e *nigiri* de salmão. As visitas aos estabelecimentos foram realizadas entre os meses de janeiro e março de 2019, seguindo um padrão de dia da semana e horário pré-determinados (domingo à noite entre as vinte e vinte e três horas).

##### 3.1.2 Identificação de pontos de coleta

Os estabelecimentos selecionados foram visitados para confirmação de venda do produto e identificados como: R1, R2, R3, R4, R5, R7, R8, como pode ser observado na Figura 1.

**Figure 1 - Georreferenciamento dos pontos de coleta**

Fonte: Google Maps, 2019

### 3.2 Aplicação de checklist

Para avaliação das condições higiênico sanitárias dos restaurantes foi aplicado um checklist presente na Resolução n.º 275 da Agência de Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2002). Composto por 91 itens, divididos em 8 blocos: *i*. Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios; *ii*. Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios; *iii*. Controle integrado de pragas/manejo de resíduos; *iv*. Abastecimento de água; *v*. Manipuladores, *vi*. Controle de temperatura e do tempo, matérias primas, ingredientes e embalagens/preparação do alimento; *vii*. Armazenamento e transporte do alimento preparado; e *viii*. Exposição ao consumo do alimento preparado.

Todos os itens foram avaliados de acordo com a adequação/inadequação com a legislação (BRASIL, 2001). A pontuação de cada bloco foi calculada atribuindo-se 1 (um) ponto para cada item adequado, sobre o total de itens por bloco, sendo calculado o percentual de adequação do estabelecimento. Como critério de classificação utilizou-se: adequado, acima de 75%; adequado com restrição, entre 50% e 75%; e inadequado, abaixo de 50% de adequação (BOLSSON et al. apud Vallandro, 2011).

### 3.3 Coleta de amostras

As amostras foram coletadas conforme indicado na RDC n.º 12 da ANVISA (BRASIL,

2001), como amostra indicativa, por meio de compra das mesmas, em embalagem descartável do próprio serviço delivery de cada restaurante. Foram acondicionadas em caixa isotérmica com gelo, sendo transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos – Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional (CTDR), para realização das análises imediatamente.

### 3.4 Análises microbiológicas

Nas amostras foram pesquisados todos os microrganismos citados pela RDC nº 12 da ANVISA, para pratos prontos para o consumo à base de pescados e similares crus (*sashimi*) (BRASIL, 2001). Os valores máximos permitidos, por parâmetro analisado para esse tipo de alimento são: coliformes a 45°C  $\leq 10^2$  UFC/g, *Estafilococos* coagulase positiva  $\leq 5 \times 10^3$  UFC/g, *Vibrio parahaemolyticus*  $\leq 10^3$  UFC/g e ausência de *Salmonella spp.* em 25 g de alimento.

O preparo das amostras foi realizado de acordo com o método APHA (2001), de cada amostra foram pesadas, assepticamente, 25 gramas, que foram transferidas para frascos contendo 225ml de água peptonada alcalina (APA) a 0,1%, esterilizada. Posteriormente a mistura foi homogeneizada e utilizada nas análises conforme cada metodologia.

#### 3.4.1 Determinação de Unidade de Formação de Colônias (UFC) de coliformes a 45°C

A preparação para análise de coliformes a 45°C foi utilizada metodologia adaptada de Vallandro e colaboradores (2011) realizada em placas de Ágar Vermelho Violeta Bile (VRBA, MED) e ágar eosina-azul de metileno (EMB, Micro MED), seguindo tempo de incubação e testes de confirmação de colônias características de acordo com a metodologia.

#### 3.4.2 Contagem e determinação de *Estafilococos* coagulase positiva

Toda metodologia para contagem e determinação de *Estafilococos* coagulase positiva foi realizada segundo Silva, N. et al. (2010).

Após a preparação da amostra foram realizadas duas diluições seriadas ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) e inoculados 0,1 ml de cada diluição na superfície de placas de Ágar Baird-Parker (BP, Kasvi), adicionado de Telurito de Potássio e Emulsão de Gema de Ovo (10ml) previamente preparadas e secas. O inóculo foi espalhado com uma alça de Drigalski, até que todo o

excesso de líquido fosse absorvido. Foi realizada incubação a 35-37°C por um período de 48h.

As amostras que apresentaram colônias típicas foram selecionadas e submetidas a confirmação. Em cada placa foram selecionadas colônias suspeitas e cada uma foi transferida para um tubo de Caldo Cérebro Infusão (BHI, Kasvi), incubados a 35-37°C por 24h para realização de testes confirmativos de catalase e coagulase.

O teste de catalase foi realizado a partir dos tubos de Caldo Cérebro Infusão (BHI, Kasvi), onde foi emulsionado uma alçada de cada tubo em uma gota de água oxigenada (peróxido de hidrogênio) 3%, em uma Lâmina de Vidro.

A realização do teste de coagulase foi feita com a transferência de 0,2 ml de cada cultura obtida em BHI para um tubo estéril de 10x100mm. Adicionou-se 0,5 ml de Coagulase Plasma – EDTA (plasma de coelho com EDTA), incubando a 35-37°C. A observação dos tubos de forma periódica num período de seis horas, evitando agitar o tubo para que não ocorresse rompimento do coágulo. Ao final do período de seis horas verificou-se o nível de coagulação do conteúdo do tubo e sua classificação.

Para o cálculo do número de *Estafilococos* coagulase positiva multiplicou-se o número de colônias contadas na placa pelo percentual de colônias confirmadas e pelo inverso da diluição utilizada para contagem.

#### 3.4.3 Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. compreendeu etapas de pré-enriquecimento em água peptonada 1% tamponada, incubada a 37°C durante 18-24h; enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-Vassiliadis (Micro MED) e Caldo Tetracionato (Micro MED) incubados a 42°C durante 24h; e isolamento em Ágar *Salmonella* Shigella (Himedia) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD, Kasvi). Os meios foram incubados a 37°C durante 24-48h. Colônias típicas foram selecionadas para confirmação bioquímica em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e em Ágar Lisina Ferro (LIA).

Com o auxílio de uma agulha de inoculação cada cultura foi transferida para um tubo de TSI e LIA, através de picada e estrias na rampa. Os tubos foram incubados a 37°C por 24h. Os resultados foram observados após o período de incubação (SILVA, N. et al., 2010).

#### 3.4.4 Estimativa da população de *Vibrio parahaemolyticus*

A estimativa da população de *Vibrio parahaemolyticus* foi realizada pelo método APHA/BAM/FDA, 25g da amostra em 225ml de água peptonada alcalina incubada a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}/18-21\text{h}$ . O plaqueamento diferencial foi realizado em meio Ágar Tiosulfato Bile Sacarose (TCBS, Britania) após incubação a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}/18-24\text{h}$ . Colônias presuntivas de *Vibrio parahaemolyticus* foram inoculadas em ágar arginina glicose inclinado (AGS) e incubadas a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 18 a 24h. Após o período de incubação foram analisados os resultados (SILVA, N. et al., 2010).

### 3.5 Análise de resultados

Os dados obtidos foram analisados por estatística descritiva com distribuição de frequência absoluta e relativa dos microrganismos pesquisados.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise global dos dados obtidos nesta pesquisa foi possível observar os seguintes resultados.

### 4.1 Análise sensorial

O salmão presente nas amostras, de *sashimi* e *nigiri*, foi avaliado pelas suas características sensoriais. Apresentando coloração laranja característica da espécie, odor próprio, lembrando o de plantas marinhas, e boa aparência. Conforme pode ser observado nas Figuras 2 e 3, a seguir, as amostras não apresentaram sinais visíveis de deterioração microbiológica. O que se assimila aos resultados obtidos no estudo de Soares (2018), onde as amostras analisadas estavam aptas para o consumo de acordo com a avaliação sensorial, contudo os resultados obtidos nas demais avaliações demonstram que grande parte das amostras não atenderiam a legislação, o que mostra a importância de realizar outras análises químicas, físicas ou microbiológicas para uma maior segurança na avaliação.

**Figure 2** - Imagem referente a amostra de sashimi e nigiri coletada no estabelecimento R4



Fonte: Do autor.

**Figure 3** - Imagem referente a amostra de sashimi e nigiri coletada no estabelecimento R5



Fonte: Do autor.

Segundo Oliveira e colaboradores (2010), o consumo de alimentos com características organolépticas inalteradas, com boa aparência, sabor e odor normais, tem sido relacionado a maioria dos surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). Alimentos com contaminação microbiológica elevada apresentam alterações visíveis geralmente causando repulsa no consumidor dificilmente sendo responsáveis por surtos alimentares.

#### 4.2 Avaliação da aplicabilidade das Boas Práticas de Fabricação

A aplicação do checklist (Tabela 1) possibilitou constatar que apenas um restaurante (R7) apresentou condições higiênicas sanitárias inadequadas (<50% itens adequados) na avaliação global dos itens. Os demais estabelecimentos (R1, R2, R3, R4, R5, R6 E R8) foram considerados adequados com restrições (50-75% itens adequados). Entre os itens considerados adequados em todos os restaurantes estiveram os relacionados ao estabelecimento, instalações, equipamentos, móveis, utensílios e ao abastecimento de água.

O bloco *vi.* referente ao controle de temperatura e do tempo; *vii.* armazenamento e transporte do alimento preparado; *ii.* higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios; *iii.* controle integrado de pragas; *v.* manipuladores; e *vii.* exposição ao consumo do alimento preparado, apresentaram as condições mais deficitárias.

Em estudo realizado em restaurantes especializados em culinárias japonesa do município de Porto Alegre, os maiores índices de inconformidade foram detectados no controle do tempo e temperatura do pescado e na higienização de equipamentos e superfícies (VALLANDRO, et al. 2011).

**Tabela 1-** Resultado do checklist de adequação das condições higiênico sanitárias à legislação vigente por bloco analisado

Restaurante	Bloco							
	<i>I</i>	<i>ii</i>	<i>iii</i>	<i>iv</i>	<i>v</i>	<i>vi</i>	<i>vii</i>	<i>Viii</i>
<b>R1</b>	A	A	A	A	A	AR	AR	A
<b>R2</b>	A	A	AR	A	AR	AR	AR	A
<b>R3</b>	A	A	AR	A	AR	AR	AR	A
<b>R4</b>	A	AR	A	A	A	AR	AR	A
<b>R5</b>	A	A	AR	A	AR	AR	AR	A
<b>R6</b>	A	A	A	A	A	AR	AR	AR
<b>R7</b>	A	AR	AR	A	AR	AR	AR	AR
<b>R8</b>	A	A	A	A	A	AR	AR	AR

Fonte: Dados da Pesquisa

Legenda: A – Adequado (>75% itens adequados), AR – Adequado com Restrição (50-75% itens adequados), I – Inadequado (<50% itens adequados)

Blocos: i. Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios; ii. Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios; iii. Controle integrado de pragas/manejo de resíduos; iv. Abastecimento de água; v. Manipuladores; vi. Controle de temperatura e do tempo, matérias primas, ingredientes e embalagens/preparação do alimento; vii. Armazenamento e transporte do alimento preparado; e viii. Exposição ao consumo do alimento preparado

No bloco (ii), sobre a higienização de instalações, equipamentos móveis e serviços, as inadequações encontradas foram a de higienização inadequada e com frequência abaixo do ideal para a produção. Nos estabelecimentos estudados por Prado e colaboradores (2014), não existia etapa de desinfecção, e a higienização era realizada apenas com água e detergente.

O controle integrado de pragas/manejo de resíduos, bloco (iii), foi considerado adequado com restrições devido a ausência de lixeiras com acionamento automático por pedal, e a fluxo cruzado de produção com o de retirada de resíduos do estabelecimento, devido os restaurantes estarem localizados em shopping center não é possível a retirada dos resíduos sem o cruzamento dos fluxos. Segundo a Portaria nº5 (BRASIL, 2013), nas áreas de produção de alimentos, o lixo deve ser depositado em recipientes com tampas acionadas por pedal, sem contato manual, o fluxo de retirada do lixo não pode cruzar com o de produção de alimentos, e caso isso ocorra, deve-se determinar horários diferentes para cada atividade.

O bloco (v), referente aos manipuladores, observou-se a não utilização do uniforme

completo, uniforme de coloração escura não adequada a legislação, e higienização das mãos inadequadas durante manipulação do alimento. O manuseio seguro de produtos de pesca, como peixes e frutos do mar, bem como a qualidade do treinamento dos manipuladores, fazendo com que estejam cientes dos riscos relacionados aos produtos com que eles lidam, aumentam a segurança alimentar diminuindo riscos microbiológicos (ARMANI et al., 2017).

Para Prado e colaboradores (2014), a utilização do uniforme do *sushiman*, composto de *kimono* e faixa na cabeça (*hatimake*), deve estar de acordo com a cultura japonesa e dentro dos padrões da legislação brasileira, sendo confeccionados em tecidos leves e de cores claras. Em seu estudo percebeu-se que o *sushiman* não realizava uma assepsia correta das mãos, notando-se a necessidade de frequência de higiene, principalmente ao manipular diferentes alimentos. Semelhante ao resultado encontrado por Miranda e Baião (2011), que correlacionou a presença de coliformes a 45°C e *Escherichia Coli* a baixa frequência de higienes das mãos do *sushiman*, através de teste de esfregaço da superfície da mão.

Os blocos vi, vii e viii, a respeito do controle de temperatura e do tempo, matérias primas, ingredientes/embalagens do alimento; armazenamento e transporte do alimento preparado; exposição ao consumo do alimento preparado, evidenciaram que apesar dos alimentos preparados ficarem expostos em local refrigerado, o controle da temperatura não era feito regularmente, bem como o controle de qualidade e retirada dos alimentos expostos que não foram vendidos. Os alimentos não eram embalados levando em consideração a perecibilidade da matéria prima e as embalagens não possuíam etiqueta indicando data de produção e com informação indicativa de consumo imediato.

De acordo com a Portaria nº5 (BRASIL, 2013), os alimentos expostos para o consumo imediato devem obedecer aos critérios de temperatura entre 10 a 21°C e tempo máximo de 2 horas de exposição, para alimentos frios, e os que não se enquadrarem nesses critérios devem ser descartados. A embalagem deve ser higienizada utilizando-se um sanitizante como o álcool 70%.

Almeida (2013) constatou que a principal causa de surtos alimentares é a manipulação/preparo inadequado bem como erros na conservação do mesmo, o que demonstra uma falha na capacitação dos manipuladores.

#### 4.3 Controle microbiológico

As Tabelas 2 e 3 contém os resultados das análises microbiológicas realizadas nas amostras coletadas em restaurantes especializados em culinárias japonesa, na cidade de João

Pessoa - PB. Relacionando os resultados dos testes microbiológicos com a sua classificação quanto o estabelecimento onde as amostras foram adquiridas.

**Tabela 2-** Resultados de análises microbiológicas realizadas nas amostras de *sashimi* de salmão

Restaurante	Microrganismo			
	<i>Salmonella</i> spp./25g	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> /g	Coliformes a 45°C/g	<i>Estafilococos</i> coagulase positiva/g
R1	Presente	<5UFC/g	<5UFC/g	9,6x10 <sup>3</sup> UFC/g
R2	Presente	<5UFC/g	<5UFC/g	5x10 <sup>3</sup> UFC/g
R3	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R4	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R5	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R6	Presente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R7	Presente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R8	Presente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g

Fonte: Dados da Pesquisa.

**Tabela 3-** Resultados de análises microbiológicas realizadas nas amostras de *nigiri* de salmão

Restaurante	Microrganismo			
	<i>Salmonella</i> spp./25g	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> /g	Coliformes a 45°C/g	<i>Estafilococos</i> coagulase positiva/g
R1	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R2	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R3	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R4	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	6x10 <sup>3</sup> UFC/g
R5	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R6	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R7	Ausente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g
R8	Presente	<5UFC/g	<5UFC/g	<5UFC/g

Fonte: Dados da Pesquisa.

Nas Tabelas 2 e 3 verifica-se que as 16 amostras (100%) de *sashimi* e *nigiri* não apresentaram coliformes a 45°C, indicando valor abaixo do limite estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2001), sendo 100% das amostras consideradas inclusas nos padrões estabelecidos pela legislação atual. A ausência de coliformes a 45°C indica boas condições sanitária não havendo veiculação de patógenos de origem fecal (COSTA et al. apud

SANTOS; QUADROS, 2017).

Braghini e colaboradores (2015), em pesquisa realizada em Maringá, apresentou valores aceitáveis de 53,33% das amostras de *sashimi* coletadas em restaurantes especializados, estando dentro do limite permitido pela legislação para coliformes a 45°C.

Em estudo realizado em amostras de *sushis* comercializadas nas cidades de João Pessoa e Campina Grande, por Lucena e colaboradores (2015), foi demonstrada uma ocorrência de coliformes a 45°C em 80% das amostras dos *sushis* comercializados em João Pessoa e 53,3% nas amostras dos restaurantes de Campina Grande.

Santos e colaboradores (2012), em estudo realizado em restaurantes da cidade de Aracaju, 80% das amostras de *sushi* continham coliformes a 45°C, com contagem acima do permitido pela legislação brasileira vigente.

Os resultados para coliformes termotolerantes diferem dos resultados de estudos semelhantes, todas as amostras apresentaram um resultado satisfatório de <5UFC/g, indicativo de boa higiene no processo de produção e uma adequada refrigeração da matéria prima (RODRIGUES et al., 2017).

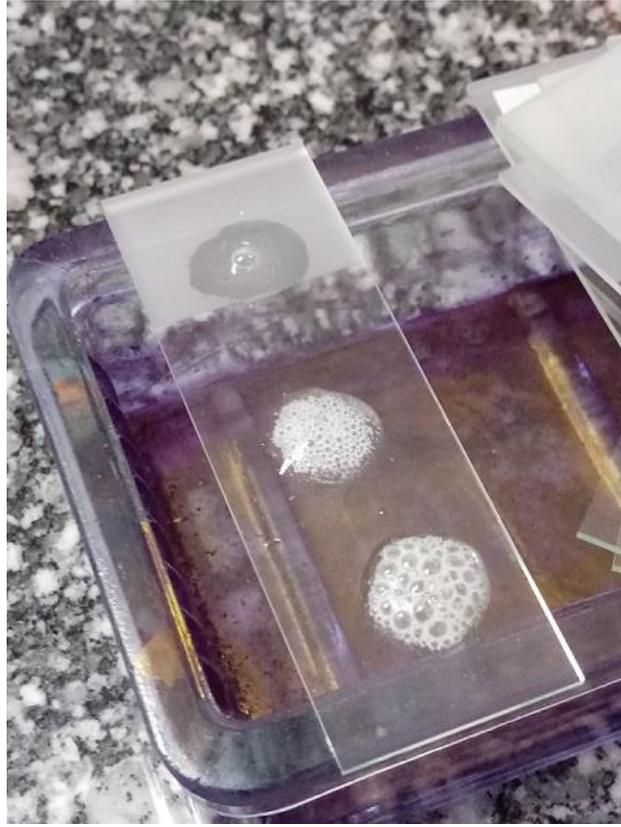
Conforme a Tabela 2 e 3, duas amostras de *sashimi* (25%) e uma amostra de *nigiri* (12,5%) indicaram presença de microrganismos do gênero *Estafilococos* coagulase positiva. Colônias características ou suspeitas (Figura 4) presentes nestas amostras (R1, R2 e R4) foram isoladas para realização de testes complementares de catalase positiva (Figura 5) e coagulase positiva.

**Figure 4** - Colônias típicas (com halo) e atípicas (sem halo) de *Estafilococos* em meio BP



Fonte: Do autor

**Figure 5** - Resultado do teste catalase para confirmação de *Estafilococos*



Fonte: Do autor.

As cepas de *Estafilococos* distinguem-se pelo potencial de produzir coagulase sendo designadas como *Estafilococos* coagulase positiva e *Estafilococos* coagulase negativa. Apesar de alguns estudos indicarem que cepas de *Estafilococos* coagulase negativa podem produzir enterotoxinas que podem levar a intoxicação alimentar, existindo controvérsias a respeito do tempo, enquanto que cepas coagulase positiva foram evidenciadas em incidentes de intoxicação alimentar (HENNEKINE et al., 2011).

Segundo Silva, N. et al. (2010) as cepas de *Estafilococos* se diferenciam pelos resultados nos testes de confirmação das colônias e apenas as de *Estafilococos* produzem resultados positivos nos testes de coagulase e catalase.

Nas amostras de *sashimi* de salmão analisadas por Silva, J. et al. (2017), nos testes de coagulase do plasma nenhuma das amostras apresentou resultados positivos, ocorrendo variação na contagem de *Estafilococos* entre  $<20$  a  $5,0 \times 10^4$  UFC/g.

De acordo com estudo realizado Duarte e colaboradores (2010), em produtos de pesca da região Nordeste, o agente etiológico *Estafilococos* coagulase positiva, esteve presente em 2,1% das 143 amostras analisadas. A maior ocorrência destes microrganismos se deu nas amostras de camarão congelado, peixe e cauda de lagosta. Estando dentro dos padrões

estabelecimentos para amostras indicativas de acordo com a RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

Montanari e colaboradores (2015), encontrou resultados dentro do estabelecido pela legislação brasileira de  $5 \times 10^3$  UFC/g, porém algumas amostras estavam próximas desse limite. Todas as cepas de *Estafilococos* encontradas foram confirmadas como coagulase positiva através de teste bioquímico

Na análise de *Estafilococos*, foi encontrado um percentual de contaminação de 25% (*sashimi*) e 12,5% (*nigiri*) das 16 amostras coletadas, podem indicar falhas no processamento do pescado e higiene inadequada dos manipuladores, equipamentos, móveis e utensílios (MONTANARI et al., 2015).

Conforme as Tabelas 2 e 3, cinco amostras de *sashimi* (62,5%) e uma amostra de *nigiri* (12,5%) indicaram presença de microrganismos do gênero *salmonella* (Figura 6). Resultado esse superior ao reportado por Duarte e colaboradores (2010), das 143 amostras analisadas, de produtos de pesca (camarão, peixe e lagosta), apenas 5 (3,5%) indicaram presença de *Salmonella* spp., e segundo os autores pode ser indicativo de contaminação do ambiente de onde os mesmos foram retirados ou da manipulação e o processamento para venda do produto.

Em estudo semelhante a este trabalho, Lucena et al. (2015), obteve resultados positivos para *Salmonella* spp. em amostras de *sushi* sendo 13,3% em amostras coletadas na cidade de João Pessoa e o mesmo percentual foi encontrado nas amostras da cidade de Campina Grande - PB. Embora a *Salmonella* spp. não faça parte da microbiota do peixe ela pode estar presente na superfície do corpo, como pele e escamas, e no intestino do peixe podendo ocorrer contaminação durante as etapas de processamento (FERNANDES et al., 2018).

**Figure 6** - Placa de Petri apresentando colônias negras características de *Salmonella* em meio Ágar SS



Fonte: Do autor.

**Figure 7** - Teste de crescimento em TSI com produção de H<sub>2</sub>S (escurecimento do meio no fundo) e reação ácida (amarela) atípica na rampa



Fonte: Do autor.

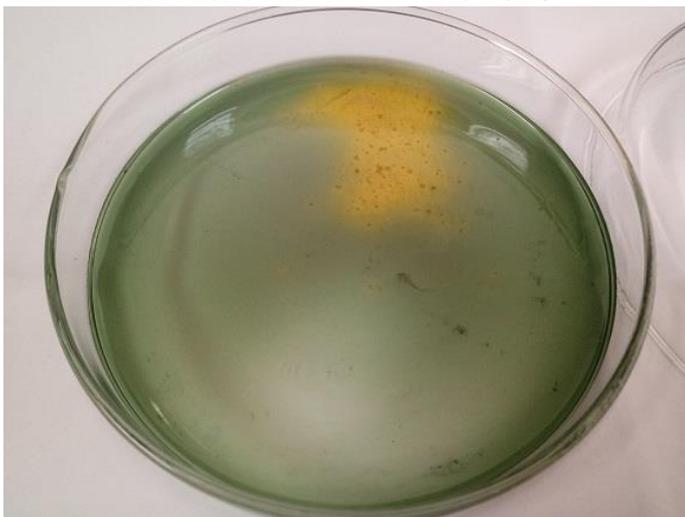
A presença de *Salmonella* spp. nas amostras analisadas a um percentual de 62,5% (*sashimi*) e 12,5% (*nigiri*) pode ser indicativa de aquisição de matéria prima contaminada e/ou

de contaminação cruzada durante o processo de produção através do contato do *sushiman* com outros ingredientes (SATO, 2013).

Foram encontrados resultados microbiológicos satisfatórios para *Vibrio parahaemolyticus* e coliformes a 45°C nas amostras de *sashimi* e *nigiri*, de acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 2 e 3, um percentual de 100% das amostras apresentaram resultado de <5UFC/g.

O plaqueamento diferencial em meio ágar tiosulfato citrato bile sacarose (TCBS), realizado conforme a metodologia, para determinação de *Vibrio parahaemolyticus* não obteve crescimento de colônias típicas, ou seja, verde azuladas, opacas, com 2 a 3 mm diâmetro. Na amostra de *sashimi* do estabelecimento R4, colônias amarelas cresceram no meio (Figura 8), o que de acordo com literatura é indicativo de cepas de *Vibrio cholerae*.

**Figure 8** - Placa de petri apresentando colônias amarelas indicativas de *Vibrio cholerae* em meio TCBS



Fonte: Do autor.

No Brasil, existem raras indicações de surtos por vibrio, relacionados ao consumo de pescado, contudo a presença de vários vibrios patogênicos para o homem foi determinada em espécies do pescado brasileiro do país. O primeiro relato data de 1974 na Bahia, quando ocorreu um surto de gastroenterite provocado por *Vibrio cholerae*, em 1983 aconteceu a primeira referência de isolamento de *Vibrio parahaemolyticus*, entre outros casos (SANTOS, 2010).

Com relação a ausência de *Vibrio parahaemolyticus* pode estar relacionada a procedência do salmão utilizado nos restaurantes brasileiros, pois esse tipo de pescado é normalmente criado em águas frias, transportado congelado e costuma ser exportado do Chile,

a influência de baixas temperaturas é uma característica que interfere na sobrevivência dessa bactéria no pescado (VALLANDRO, 2010).

Observando o percentual de contaminação nas amostras de *sashimi* (62,5%) e *nigiri* (25%), nota-se uma discrepância entre eles o que pode ocorrer devido a presença de outros ingredientes na fabricação do *nigiri*, como o arroz temperado com vinagre. De acordo com Shiba (2012), a utilização de arroz fermentado e de vinagre no arroz é uma técnica de conservação do pescado. O uso de ácidos como forma de conservação do alimento ainda é utilizado atualmente, porém ainda se faz necessário o armazenamento do pescado a baixas temperaturas (ICMSF, 2011).

O hábito de realizar as Boas Práticas de Fabricação através do controle do binário tempo e temperatura, higiene das instalações, móveis e utensílios, entre outros pontos estabelecidos pela RDC nº12 (BRASIL, 2001), permite perceber os pontos que necessitam se adequar a legislação e o índice de adequação do restaurante. Nesta pesquisa foi possível constatar que 12,5% dos estabelecimentos demonstraram um maior percentual de “adequado com restrição” na avaliação global dos itens presentes no Checklist aplicado.

Para Vallandro e colaboradores (2011), práticas higiênicas são necessárias nas etapas de produção do *sushi* garantindo a qualidade e a segurança do alimento. O treinamento dos manipuladores de alimentos, em restaurantes que comercializam *sushi*, é um aspecto importante da cadeia de produção, para Armani e colaboradores (2017), os estabelecimentos demonstram falhar na capacitação técnica dos funcionários de forma que estes não possuam conhecimentos suficientes para lidar com matérias primas de risco biológico como peixe e frutos do mar.

## 5. CONCLUSÃO

A análise dos resultados obtidos permite notar que apesar de nenhum dos estabelecimentos apresentarem percentual de inadequação na avaliação global dos itens analisados no checklist, faz-se necessária uma melhor capacitação técnica dos funcionários, para garantir a qualidade e segurança do alimento.

Segundo o preconizado pela legislação brasileira 37,5% das amostras de *sashimi* e 75% das amostras de *nigiri* analisadas foram consideradas em condições sanitárias satisfatórias. As demais amostras apresentaram presença de *Salmonella* spp. e *Estafilococos* coagulase positiva, acima do limite estabelecido pela legislação para esse tipo de microrganismo, o que pode estar relacionado as restrições dos restaurantes quanto a aplicabilidade das Boas Práticas de Fabricação e com a origem do salmão utilizado.

A discrepância entre os dados obtidas nas amostras de *sashimi* e *nigiri* demonstra que a presença do arroz temperado com vinagre, mostra que o contato com meio ácido do arroz funcionou na conservação do salmão e na ausência de outros métodos de conservação, como o calor, reduziu a carga microbiana deste alimento. O mesmo não ocorreu no *sashimi*, produto servido *in natura* e sem uso de outros ingredientes.

Sendo assim, os dados deste trabalho podem contribuir para a comunidade acadêmica tendo em vista o baixo número de pesquisas técnicas sobre o assunto. Entretanto, sugere-se a realização de novos estudos mais abrangentes, a âmbito estadual ou regional, que permitam analisar toda a cadeia produtiva do sushi bem como a procedência da matéria prima utilizada nas preparações.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. C.; et al. Perfil epidemiológico de casos de surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos no Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v.34, n.1, jan./jul. 2013. Disponível em: < <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php.seminabio/article/download/13096/13740>>. Acesso em: 10 mar. 2019.
- APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Washington, DC, 2001.
- ARMANI, A.; et al. Assessment of Food Business Operator Training on Parasitological Risk Management in Sushi Restaurants: A Local Survey in Florence, Italy. **Journal of Environmental Health**, v.80, n.2, sep. 2017. Disponível em: < <https://www.neha.org/node/59249> >. Acesso em: 16 dez. 2018.
- BAÚ, D.; SIQUEIRA, M.; MOOZ, E.; *Salmonella* – Agente epidemiológico causador de infecções alimentares: uma revisão. **XX Congresso Brasileiro de Economia Doméstica**, Fortaleza, set. 2009. Disponível em: < [http://www.xxcbcd.ufc.br/arqs/gt6/gt6\\_72.pdf](http://www.xxcbcd.ufc.br/arqs/gt6/gt6_72.pdf) >. Acesso em: 12 mar. 2019.
- BERGAMINI, A.; et al. Relato de surtos alimentares de origem bacteriana. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.23 n.1, 2013. Disponível em: < [http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfolutz/publicacoes/bial/bial\\_231/bial\\_23.1\\_2013.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfolutz/publicacoes/bial/bial_231/bial_23.1_2013.pdf) >. Acesso em: 12 mar. 2019.
- BRAGHINI, F.; et al. Análise microbiológica de sashimis a base de salmão, comercializados na cidade de Maringá-PR quanto a presença de coliformes totais e termotolerantes. **Anais eletrônico, IX EPCC – Encontro Iternacional de Produção Científica UniCesumar**, Maringá, n.9, nov. 2015. Disponível em: < [http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2015/anais/fernanda\\_braghini\\_1.pdf](http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2015/anais/fernanda_braghini_1.pdf) >. Acesso em: 11 nov. 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução: RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br> >. Acesso em: 18 nov. 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução: RDC nº 275, 6 de out. de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Disponível em: < <http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/5125403/4132350/ResoluuoRDC27521.10.2002.pdf>>. Acesso em: 18 nov. 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria CVS nº 5, 9 de abr. de 2013. Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação, e o roteiro de inspeção. Disponível em: < [http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/PORTARIA%20CVS-5\\_090413.pdf](http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/PORTARIA%20CVS-5_090413.pdf) >. Acesso em: 18 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil, maio de 2017. Disponível em: < <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017> >. Acesso em: 15 abr. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução: RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em: < <https://bit.ly/2oeLvth> >. Acesso em: 18 nov. 2018.

CARVALHO, I. T. **Microbiologia dos Alimentos**. 1.ed. Recife: EDUFRPE, ETEC - Brasil, 2010. Disponível em: < [http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Microbiologia\\_dos\\_Alimentos.pdf](http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Microbiologia_dos_Alimentos.pdf) >. Acesso em: 23 ago. 2018.

CONCEIÇÃO, M. S.; NASCIMENTO, K. O. Prevenção e manipulação de patógenos por manipuladores de alimentos. **Revista verde**, Paraíba, v.9, n.5, dez 2014. Disponível em: < <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/3309/2936> >. Acesso em: 18 jun. 2018.

DEMÉTRIO, A. A.; et al. Culinária japonesa: Alimentação Saudável. **Jepex**, 2009. Disponível em: < <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/r0625-3.pdf> >. Acesso em: 13 mar. 2019.

DUARTE, D.; et al. Ocorrência de *Salmonella* Spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva em pescado no nordeste, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.4, out./dez. 2010. Disponível em: < [http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v77\\_4/duarte.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v77_4/duarte.pdf) >. Acesso em: 28 fev. 2019.

EMB. Ministry of Foreign Affairs of Japan: Cultura Alimentar. 2012: < <https://www.br.emb-japan.go.jp/cultura/culturaalimentar.html> >. Acesso em: 23 abr. 2019.

FENG, C. The Tale of Sushi: History and Regulations. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Japan, v.11, 2012. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00180.x> >. Acesso em: 11 nov. 2018.

FERNANDES, D. V.; et al. *Salmonella* spp. In the fish production chain: a review. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.48, n.8, 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180141> >. Acesso em: 17 mar. 2019.

FERREIRA, H.; LIMA, H; COELHO, T. **Microrganismos indicadores em alimentos de origem animal**. Universidade Federal Rural do Semiárido – UFRSA (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – PPGCA), maio 2014. Disponível em: < <http://www2.ufersa.edu.br/portal/view/uploads/setores/126/Resumo%20MO%20indicadores.%20Heider,%20Hiagos,%20Thiago.pdf> >. Acesso em: 13 mar. 2019.

FREITAS, I. M.; et al. **Boas Práticas de Manipulação na Culinária Japonesa**. Eventos

GENTA, T. M.; MAURÍCIO, A. A.; MATIOLI, G. Avaliação das Boas Práticas através de check-lis aplicado em restaurantes self-service da região central de Maringá, Estado do Paraná. **Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal**, Maringá, v.27, n.2, 2005. Disponível em:  
< <https://www.redalyc.org/html/3072/307223952008/> Acesso em: 10 maio. 2019.

UFRPE, Paraná, v.1, ago. 2009. Disponível em:  
< <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/r0625-1.pdf> >. Acesso em: 12 mar. 2019.

HENNEKINE, J. A.; BUYSER, M. L.; GRAGACCI, S. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Revision**, European Union, v.36, 2012. Disponível em: <  
<https://academic.oup.com/femsre/article-abstract/36/4/815/520403>>. Acesso em: 05 set. 2018.

HO, Y. N.; et al. The association of *Salmonella entérica* from aquatic environmental and clinical samples in Taiwan. **Science Direct**, v.624, maio 2018. Disponível em:  
< <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00489697173354896> >. Acesso em: 12 mar. 2019.

HUANG, Y. S.; et al. The risk of *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with consumption of raw oysters as affected by processing and distribution conditions in taiwan. **Food Control**, Londrina, v.86, 2018. Disponível em:  
< <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713517305078> >. Acesso em: 10 mar. 2019.

ICMSF. **Microrganismos em Alimento: Utilização de dados para avaliação do controle de processo e aceitação do produto**. São Paulo: Ed. Blucher, 2015

JIANG, Y.; et al. Antimicrobial resistance, virulence and genetic relationship of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood from coasts of Bohai Sea and Yellow Sea, China. **International Journal of Food Microbiology**, v.290, 2018. Disponível em:  
< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30321865> >. Acesso em: 12 mar. 2019.

KADARIYA, J.; SMITH, T.; THAPALIYA, D.; Staphylococcus aureus and Staphylococcal Food-Borne Diseases. **Revista BioMed Research Interntional**, abr. 2014. Disponível em:  
< <http://dx.doi.org/10.1155/2014/827965> >. Acesso em: 12 mar. 2019.

LUCENA, T. P.; et al. Ocorrência de coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp. em sushis comercializados nas cidades de João Pessoa e Campina Grande/PB. **5º Simpósio de Segurança Alimentar Alimentação e Saúde**, Rio Grande do Sul, maio 2015. Disponível em:  
< <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/gerenciador/painel/trabalhosversaofinal/SSO329.pdf> >. Acesso em: 30 mar. 2019.

MADIGAN, M. T.; al. **Microbiologia de Brock**. 14 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016

MALCOM, T. T.; et al. Simulation of improper food hygiene practices: A quantitative assessment of *Vibrio parahaemolyticus* distribution. **International Journal of Food Microbiology**, v.284, 2018. Disponível em:  
< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30142576> >. Acesso em: 12 mar. 2019.

MIRANDA, A. C.; BAIÃO, R. C. Avaliação das Boas Práticas de Fabricação de Preparação à Base de Pescados Crus em Restaurante Japonês. **Revista eletrônica da Fainor**, Vitória da Conquista, v.4, n.1, jan./dez. 2011. Disponível em:  
< <http://srv02.fainor.com.br/revista/index.php/memorias/article/viewFile/82/85> >. Acesso em: 18 nov. 2018.

MONTANARI, A. S.; et al. Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis de salmão, preparados e comercializados em restaurantes japoneses no município de JI-Paraná - RO. **SOUTH AMERICAN Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v.2, n.1, 2015. Disponível em:  
< <http://revistas.ufac.br/revista/index.php/SAJEBTT/article/view/127/129> >. Acesso em: 12 mar. 2019.

OLIVEIRA, A.; et al. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Rev. HCPA**, Porto Alegre, v.30, n.3, 2010. Disponível em:  
< <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/157808/000837055.pdf?sequence=1> >. Acesso em: 12 mar. 2019.

PEREIRA, C. S.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Vibrio parahaemolyticus* produtores de uréase isolados partir de ostras (*Crassostrea rizophorae*) coletadas *in natura* em restaurantes e mexilhões (*Perna perna*) de banco natural. **Ciência Tecnol. Aliment.**, Campinas v.24, n.4, out./dez. 2014. Disponível em:  
< [http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0073-98552009000300011&lng=pt&nrm=iso=pt](http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552009000300011&lng=pt&nrm=iso=pt) >. Acesso em: 10 maio 2019.

POERNER, N.; et al. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em serviços de alimentação. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.68, n.3, 2009. Disponível em:  
< <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/3309/2936> >. Acesso em: 18 jun. 2018.

PRADO, B. G.; et al. Pontos críticos de controle na qualidade higiênico-sanitária do preparo de *sushis* e *sashimis* no município de São Vicente, São Paulo. **Segurança Alimentar e Nutricional**. Campinas, v.21, n.1, 2014. Disponível em:  
< <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/1661> >. Acesso em: 23 ago. 2018.

RODRIGUES, B. L.; et al. Qualidade físico-química do pescado utilizado na elaboração de *sushis* e *sashimis* de atum e salmão comercializados no município do Rio de Janeiro, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n.5, sep./out. 2012. Disponível em:  
< <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744115019> >. Acesso em: 12 mar. 2019.

SANTANA, E. H.; et al. Estafilococos em Alimentos. **Arq Inst Biol**, São Paulo, v.77, n.3, jul./set. 2010. Disponível em:  
< [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/292603/mod\\_resource/content/1/Stapgylo.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/292603/mod_resource/content/1/Stapgylo.pdf) >. Acesso em: 25 abr. 2019.

SANTOS, A. A.; et al. Avaliação da qualidade microbiológica de *sushi* comercializado em restaurantes de Aracaju, Sergipe. **Scientia Plena**, v.8, n.3, 2012. Disponível em:  
< <https://www.scientiaplenu.org.br/sp/article/view/894> >. Acesso em: 07 fev. 2019.

SANTOS, A. A.; QUADROS, T. **Análise microbiológica de sushi e sashimi comercializados em restaurantes na cidade de Ponta Grossa-PR**. 2017. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2017. Disponível em: < [http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/8950/3/PG\\_COALM\\_2017\\_2\\_10.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/8950/3/PG_COALM_2017_2_10.pdf) >. Acesso em: 20 abr. 2019.

SANTOS, C.; Doenças transmitidas por pescado no Brasil. **Revista Bras. Med. Vet.**, Rio de Janeiro, v.32, n.4, out/dez 2010. Disponível em: < [https://www.researchgate.net/publication/277249074\\_DOENCAS\\_TRANSMITIDAS\\_POR\\_PESCADO\\_NO\\_BRASIL](https://www.researchgate.net/publication/277249074_DOENCAS_TRANSMITIDAS_POR_PESCADO_NO_BRASIL)>. Acesso em: 12 mar. 2019.

SATO, R. A. **Características Microbiológicas de sushis adquiridos em estabelecimentos que comercializam comida japonesa**. 2013. 55 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária na área de Concentração Medicina Veterinária Preventiva) – Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo, jul. de 2013. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/10183/28854> >. Acesso em: 20 abr. 2019.

SHIBA, T. History of Sashimi in Japan. **Journal of National Fisheries University**, Japan, v.60, n.2, sep. 2012. Disponível em: < <http://ypir.lib.yamaguchi-u.ac.jp/fu/metadata/151> >. Acesso em: 11 nov. 2018.

SILVA, A. et al. **Registro da Gastronomia Japonesa como Patrimônio imaterial dos nikkeis residentes no Brasil**. MOUSEION, n.10, jul./dez. 2010. Disponível em: < <http://www.revistas.unilasalle.edu.br/index.php/Mouseion/article/view/247>>. Acesso em: 05 set. 2018.

SILVA, A. M. et al. **Características de Salmonella spp.: uma revisão literária**. Thieme Revinter Publicações Ltda, Rio de Janeiro, n.11, sep. 2018. Disponível em: < <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0038-1674525>>. Acesso em: 05 set. 2018.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010

SILVA, J. F.; FEITOSA, A. C.; RODRIGUES, R. M. **Staphylococcus aureus em alimentos**. Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins, Tocantins, v. 4, n.4, out. 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2017v4n4p15>>. Acesso em: 05 set. 2018.

SOARES, K. M.; Características da *Salmonella* spp.: uma Revisão Literária **International Journal of Food Microbiology**, v.11, n.1, 2011. Disponível em: < <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0038-1674525> >. Acesso em: 05 abr. 2019.

SOUZA, M.; AMARAL, R.; OLIVEIRA, B. Boas Práticas que Contribuem para a Qualidade do Sushi em Estabelecimentos de Restauração. **Revista Nutricias**, v.15, 2012. Disponível em: < <http://www.scielo.mec.pt/pdf/nut/n15/n15a08.pdf> >. Acesso em: 05 abr. 2019.

VALLANDRO, M. J. **Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis à base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa na cidade de Porto Alegre - RS.** 2010. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias na área de Bacteriologia) – Universidade do Rio Grande do sul, Porto Alegre, 2010. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/10183/28854> >. Acesso em: 18 abr. 2019.

VALLANDRO, M. J.; et al. Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis à base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.70, n.2, maio 2011. Disponível em: < <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v70n2/v70n2a07.pdf> >. Acesso em: 18 nov. 2018.