



## Micro-organismos indicadores do grupo coliformes em sashimis de salmão comercializados na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte

### *Microorganisms indicators the coliforms group in salmon sashimis marketed in the city of Mossoró, Rio Grande do Norte*

Bárbara Camila Firmino Freire<sup>1\*</sup>, Karoline Mikaelle de Paiva Soares<sup>2</sup>, Paulo de Tarso de Paula Santiago Filho<sup>3</sup>, Elisandra Cibely Cabral de Melo<sup>4</sup>, Lara Barbosa de Souza<sup>5</sup>

**Resumo:** O pescado vem ganhando papel de destaque no mercado nacional, além de receber novas formas de apresentação, como é o caso do sashimi. Isso tem gerado elevada preocupação diante da alta suscetibilidade à contaminação microbiana observada no produto. Com base nisso, objetivou-se pesquisar micro-organismos do grupo coliformes em sashimis de salmão, comercializados na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte. Para tanto, os sashimis foram coletados em estabelecimentos especializados e não especializados da culinária oriental, perfazendo a obtenção de doze amostras. As análises consistiram na determinação de micro-organismos do grupo coliformes e contagem de *Escherichia coli*. Os resultados obtidos mostraram contaminação do produto por coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação, bem como a presença de *E. coli* em algumas das amostras, sendo este um provável indicativo de contaminação fecal durante o processamento do sashimi de salmão.

**Palavras-chave:** Pescado; Contaminação; Saúde pública.

**Abstract:** The fish has been highlighted in national mart, beyond to receive new presentation forms, as is the case with sashimi. This has generated concern about high susceptibility to microbial contamination observed in the product. Based on this, the objective was to investigate microorganisms of the coliforms group in salmon sashimis, commercialized in the city of Mossoró, Rio Grande do Norte. Therefore, sashimi was corrected in specialized and non-specialized establishments in oriental food, obtaining twelve samples. The analyses consisted in the determination of microorganism of coliforms group and *Escherichia coli* confirmation. The obtained results showed contamination by thermotolerant coliforms above permitted by legislation, as well as the presence of *E. coli* in some samples, being this a probable indicative of fecal contamination during processing of salmon sashimi.

**Key words:** Fish; Contamination; Public health.

\*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 28/03/2017; aprovado em 28/09/2017

<sup>1</sup>Mestranda em Ambiente, Tecnologia e Sociedade, Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró; [bcamila.ffreire@gmail.com](mailto:bcamila.ffreire@gmail.com).

<sup>2</sup>Doutora em Ciência Animal, Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, [karolinesoares@ufersa.edu.br](mailto:karolinesoares@ufersa.edu.br)

<sup>3</sup>Bolsista de Iniciação científica, Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, [pfsantiago33@gmail.com](mailto:pfsantiago33@gmail.com)

<sup>4</sup>Bolsista de Iniciação científica, Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, [elisandra-cabral8@hotmail.com](mailto:elisandra-cabral8@hotmail.com)

<sup>5</sup>Doutoranda em Ciência Animal, Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, [larabiotech@gmail.com](mailto:larabiotech@gmail.com)

## INTRODUÇÃO

O pescado, termo utilizado na designação dos organismos aquáticos destinados à alimentação humana, consiste em um grupo de merecido destaque, nutricionalmente falando, graças à riqueza de aminoácidos essenciais, proteínas, vitaminas, minerais e lipídios de considerável qualidade (GONÇALVES, 2011; SANTIAGO et al., 2013). Nos últimos anos, as mudanças nos hábitos alimentares da população em geral, bem como a crescente oferta de pescado no mercado interno, têm aumentado a diversidade de produtos alimentícios oriundos deste, como é o caso do sashimi, cujo consumo vem se tornando cada vez mais frequente no Brasil, inclusive pela ampliação de estabelecimentos especializados na culinária oriental (RODRIGUES et al., 2012; VALLANDRO et al., 2011).

Apesar de ser um alimento enquadrado na categoria de saudável, com riqueza nutricional já bem relatada e benefícios inúmeros ao organismo humano, existe uma problemática quanto ao consumo do pescado; trata-se de sua rápida deterioração. A alta suscetibilidade do produto é devida às suas características intrínsecas e à microbiota natural apresentada, que pode receber influências diversas, indo desde o ambiente aquático até às extensas etapas da cadeia produtiva, o que acaba por reduzir sua vida útil e comprometer a qualidade final (SANJEE; KARIM, 2016; SANTOS; COELHO, 2016; SOARES; GONÇALVES, 2012). Assim, existe uma relevante preocupação quanto ao consumo do sashimi, já que ele não recebe qualquer tipo de tratamento térmico, induzindo ao oferecimento de condições higiênicas obrigatoriamente adequadas para que a saúde do consumidor não seja afetada de modo adverso (MENEZES et al., 2006). Logo, fatores como manipulação e conservação tornam-se cruciais quanto à contaminação por micro-organismos patogênicos, capazes de prejudicar o organismo ao causarem infecção ou intoxicação (SANJEE; KARIM, 2016).

As legislações sanitárias são essenciais para garantir a qualidade na obtenção e ingestão de um determinado produto, sendo necessário então o seu cumprimento (MARINS et al., 2014). A exemplo, tem-se a Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, que preconiza limites em pratos prontos para consumo a base de pescado cru. Segundo essa norma, os sashimis e outros pescados com características semelhantes devem apresentar o máximo  $10^2$  NMP/g de coliformes a  $45^\circ\text{C}$  (BRASIL, 2001). Os coliformes são micro-organismos utilizados para indicar as condições higiênico-sanitárias utilizadas durante o processamento, produção ou armazenamento do alimento. Nesse grupo, são pesquisados os coliformes totais e termotolerantes e a confirmação da presença de *Escherichia coli* (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa que possui várias linhagens patogênicas ao homem, representando um potencial risco de saúde pública. Infecções ocasionadas pela presença de *E. coli* patogênica podem se limitar a colonização da superfície mucosa ou alastrar-se por todo o corpo do indivíduo, causando problemas de trato urinário, sepse/meningite e infecções gastrointestinais. Nesse último caso, podem estar presentes dores abdominais, diarreia, febre, letargia, já que o acesso do micro-organismo ao corpo é fácil e rápido (CHEN; FRANKEL, 2005; FORSYTHE, 2013).

Dessa forma, objetivou-se pesquisar micro-organismos do grupo coliformes em sashimis de salmão comercializados na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras a serem avaliadas foram escolhidas em estabelecimentos de modo aleatório, por sorteio, dentre aqueles localizados no município de Mossoró (RN), classificados como restaurantes que comercializavam comida oriental. Foi obtida uma amostra de sashimi de salmão por cada estabelecimento, perfazendo o total de doze estabelecimentos comerciais, correspondentes ao número de amostras (doze) de sashimi de salmão.

Após as coletas, no período noturno, em horários próximos às 18:30h e 20:00h, o material foi acondicionado em recipiente individual, próprio de cada restaurante, e colocado em caixas isotérmicas contendo gelo para transporte até o local da realização das análises microbiológicas (Laboratório de Biotecnologia de Alimentos - LABA, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA). Todo o material utilizado para auxílio nas coletas foi previamente esterilizado em laboratório.

As análises microbiológicas foram realizadas de forma asséptica em câmara de fluxo laminar.

Com o auxílio de bisturi, os sashimis de salmão foram retirados do seu invólucro e cortados em pequenos fragmentos, separando-se porções de 25g para cada amostra. As porções foram inoculadas em frascos de Erlenmeyer contendo 225 mL de solução salina peptonada 0,1%, para obtenção da diluição  $10^{-1}$  e, a partir desta, foram obtidas as diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ .

Para determinação de coliformes totais e termotolerantes, utilizou-se as metodologias descritas por Brasil (2003) e Silva et al. (2010). Para crescimento de coliformes totais, semeou-se 1 mL de cada amostra e suas consecutivas diluições em tubos de Caldo Verde Brilhante 2%, que foram incubados em banho-maria à temperatura de  $36\pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. Os tubos com formação de gás (positivos) foram repicados em caldo *E. coli* com auxílio de uma alça de platina acoplada a um cabo de kolle. Estes permaneceram em banho-maria por 48 horas à temperatura de  $45\pm 1^\circ\text{C}$ . Dos tubos positivos, uma alçada de cada amostra foi inoculada em placas de Petri contendo meio Eosina Azul de Metileno (EMB), como descrito na metodologia de Santos & Coelho (2016), para observação das colônias típicas de *Escherichia coli*, que apresentam aspecto verde metálico. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a  $35^\circ\text{C}$  por 24 horas.

Os resultados para coliformes foram analisados em tabela do Número Mais Provável (NMP) (BRASIL, 2003) e, para *E. coli*, avaliou-se presença ou ausência (SANTOS; COELHO, 2016).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados da tabela 1, observou-se o crescimento de coliformes totais e termotolerantes em 91,6% das amostras avaliadas. Apesar de não ser citada pela legislação, a contagem de coliformes totais é uma etapa crucial para a determinação de termotolerantes, e os valores obtidos nessa análise variaram de  $<3,0$  a maiores de  $1,1\times 10^3$  NMP/g. Para coliformes termotolerantes ou coliformes a

45°C, os resultados variaram de <3,0 a 4,6x10<sup>2</sup> NMP/g. Pela RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, em pratos prontos para consumo a base de carnes, pescados e similares crus, como é o caso do sashimi, a presença de coliformes termotolerantes deve se restringir a 10<sup>2</sup> NMP/g (BRASIL, 2001). Assim, cerca de 83,3% das amostras avaliadas encontraram-se dentro do preconizado pela legislação vigente. A presença de *Escherichia coli* foi confirmada em 50% dos sashimis de salmão, ou seja, em seis das amostras trabalhadas.

**Tabela 1.** Valores obtidos para as análises de coliformes totais e termotolerantes em *sashimis* de salmão.

Amostra	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)
1	<3,0	<3,0
2	29	6,2
3	290	3,6
4	36	6,1
5	1100	27
6	>1100	120
7	>1100	20
8	>1100	11
9	>1100	460
10	>1100	23
11	>1100	6,1
12	>1100	16

NMP/g = Número mais provável por grama.

O grupo denominado de coliformes consiste em bactérias indicadoras encontradas no ambiente, cuja detecção e contagem são procedimentos essenciais para inferir sobre a qualidade do alimento a ser consumido, indicando os níveis de higiene empregados na sua produção. Além da avaliação da qualidade higiênico-sanitária, os coliformes advertem sobre prováveis contaminações por micro-organismos patogênicos ou ainda sobre o potencial de deterioração do produto, sendo sua presença um indicativo de falhas durante o processamento, produção ou armazenamento de um alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A determinação de coliformes termotolerantes corresponde, quase que diretamente, à contagem do micro-organismo *Escherichia coli* (GAVA et al., 2008), membro da família Enterobacteriaceae, classificando-se como a espécie mais comum. A maior parte desses micro-organismos se encontra amplamente distribuída no trato gastrointestinal do homem, não sendo nociva, enquanto outras, pela patogenicidade, são capazes de causar doenças intestinais e extra intestinais (COSTA et al., 2014). Em suma, as linhagens patogênicas de *E. coli* representam um importante problema de saúde pública, comprometendo a saúde do consumidor após a ingestão de produtos alimentícios contaminados, podendo levá-lo a óbito em casos mais graves (MADIGAN et al., 2010).

Além deste, outros estudos relatam a presença de coliformes termotolerantes em sashimis acima do preconizado pela legislação, como o de Vallandro et al. (2011), que, ao avaliar a qualidade microbiológica de amostras de sashimi à base de salmão e as condições higiênico-sanitárias dos restaurantes especializados em culinária japonesa na cidade de Porto Alegre/Brasil, chegou a conclusão de que 25% das amostras avaliadas, de seis estabelecimentos distintos, apresentaram contagem de coliformes insatisfatória, consequentemente impróprias ao consumo. Resultado similar

ao relatado por Montanari et al. (2015), que estimaram a qualidade de 15 amostras de sashimis de salmão, detectando-se níveis elevados de coliformes a 45°C em 46,7% das amostras. Tais valores foram encontrados, possivelmente, pela inadequada higienização por parte dos manipuladores do alimento, sendo esta considerada a principal fonte de contaminação do produto, como citado por Zeferino et al. (2013).

Silva et al. (2008), ao analisar os aspectos sanitários de pescados e seus derivados em feiras livres da cidade de São Paulo, observaram resultados semelhantes aos encontrados nesse estudo, no qual o micro-organismo *E. coli* pôde ser percebido com valores superiores ao preconizado pela legislação como também dentro dos limites estabelecidos. A presença de *E. coli* em alimentos *in natura* é um forte indício de contaminação fecal (NOVAES et al., 2016) e a confirmação da sua patogenicidade deve ser realizada pela aplicação de provas bioquímicas (SILVA et al., 2010) e, caso seja provada, servirá de alerta aos estabelecimentos produtores e consumidores do produto.

Os achados desse trabalho são preocupantes e comprovam a necessidade de maiores cuidados quanto ao processamento de produtos oriundos da pesca, em especial daqueles consumidos crus, demandando, por conseguinte, um maior cuidado quanto à higiene empregada e às possíveis fontes de contaminação, que os tornam carreadores de patógenos ao organismo consumidor. Tal preocupação é real e atual e pode ser demonstrada em inúmeros trabalhos, como citado por Nespolo et al. (2012).

## CONCLUSÕES

A qualidade microbiológica de sashimis de salmão comercializados em restaurantes na cidade de Mossoró – RN, apresentou-se fora do padrão preconizado para coliformes a 45°C, bem como a presença de *Escherichia coli*, que pode ser patogênica ou não. Deduz-se então que os sashimis, em alguma das etapas de produção, tenham entrado em contato direto com material contaminado por fezes, sugerindo uma precária higiene no processamento do produto.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL. Agência de Vigilância Sanitária Regulamento (ANVISA). Técnico Sobre Padrões de Qualidade para Alimentos. Resolução - RDC. n° 12, de 02 de janeiro de 2001. Publicado no Diário Oficial da União de 18/12/2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 62, de 26 de agosto de 2003. Diário Oficial da União. Brasília, 18 de setembro de 2003.
- COSTA, C. F. M.; MONTEIRO NETO, V.; SANTOS, B. R. C.; COSTA, B. R. R.; AZEVEDO, A.; SERRA, J. L.; MENDES, H. B. R.; NASCIMENTO, A. R.; MENDES, M. B. P.; KUPPINGER, O. Enterobacteria identification and detection of diarrheagenic *Escherichia coli* in a Port Complex. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 45, n. 3, p. 945-952, 2014.

- CHEN, H. D.; FRANKEL, G. Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 29, p. 83–98, 2005.
- FORSYTHE, S. J. *Microbiologia da segurança dos alimentos*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 182 p.
- GONÇALVES, A. A. Aspectos Gerais do Pescado. In: GONÇALVES, A. A. *Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação*. São Paulo: Atheneu, p. 2-9. Cap. 1.1, 2011.
- GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; GAVA J. R. F. *Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações*. São Paulo. Nobel, 2008.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. *Microbiologia de Brock*. 12ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- MARINS, B. R.; TANCREDI, R. C. P.; GEMAL, A. L. *Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas*. Rio de Janeiro: EPSJV, 2014. 288 p.
- MENEZES, F. G. R.; SILVA, C. M.; CARVALHO, F. C. T.; SOUSA, D. B. R.; VIEIRA, R. H. S. F. *Salmonella* e *Staphylococcus* coagulase positiva em *sushis* e *sashimis* comercializados na cidade de Fortaleza, Ceará. II SIMCOPE – II Simpósio de Controle do Pescado - São Vicente/SP, 2006.
- MONTANARI, A. S.; ROMÃO, N. F.; SOBRAL, F. O. S.; MARMITT, B. G.; SILVA, F. P. S.; CORREIO, T. C. A. M. Avaliação da qualidade microbiológica de *sashimis* de salmão, preparados e comercializados em restaurantes japonês no município de JI-Paraná – RO. *Journal of Basic Education, Technical and technological*, v. 2, n. 1, p. 4-16, 2015.
- NESPOLO, N. M.; MARTINELLI, T. M.; ROSSI JR, O. D. Microbiological quality of salmon (*Salmo salar*) sold in cities of the state of São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, p. 1393-1400, 2012.
- NOVAES, S. F.; SILVA, L. N. V.; FRANCO, R. M. Ocorrência e susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* patogênica isoladas de carpaccio de carne. *Higiene Alimentar*, v. 30, n. 258/259, 2016.
- RODRIGUES, B. L.; SANTOS, L. R.; MÁRSICO, E. T.; CAMARINHA, C. C.; MANO, S. B.; CONTE JUNIOR, C. A. 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*, v. 33, n. 5, p. 1847-1854, 2012.
- SANJEE, S. A.; KARIM, M. E. Microbiological Quality Assessment of Frozen Fish and Fish Processing Materials from Bangladesh. *International Journal of Food Science*, v. 2016, p. 1-6, 2016.
- SANTIAGO, J. A. S.; ARAÚJO, P. F. R.; SANTIAGO, A. P.; CARVALHO, F. C. T.; VIEIRA, R. H. S. F. Bactérias patogênicas relacionadas à ingestão de pescados- revisão. *Arquivos de Ciências do Mar*, v. 46, n. 2, p. 92-103, 2013.
- SANTOS, D. D. M.; COELHO, A. F. S. Qualidade microbiológica de pescado comercializado em feiras livres de Palmas-TO. *Higiene Alimentar*, v. 30, n. 252/253, 2016.
- SILVA, M. L.; MATTÉ, G. R.; MATTÉ, M. H. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 67, n. 3, São Paulo, 2008.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES R. A.R. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 4º ed. Varela, São Paulo, 2010.
- SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impr.)*, v. 71, n. 1, p. 1-10, 2012.
- VALLANDRO, M. J.; CAMPOS, T.; PAIM, D.; CARDOSO, M.; KINDLEIN, L. Avaliação da qualidade microbiológica de *sashimis* à base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 70, n. 2, p. 144-50, 2011.
- ZEFERINO, J. A.; SANTOS R. B.; TONINI, P. M.; DELVINO, F. M.; AMARAL D. A. Pesquisa de Coliformes a 45°C, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. em *sushis* comercializados em restaurantes de Belo Horizonte – MG. *Revista Higiene Alimentar*, v. 1, p. 85-90, 2013.