

CONTAMINAÇÃO DE TEMAKIS À BASE DE SALMÃO CRU ADQUIRIDOS NO ESTABELECIMENTO E POR *DELIVERY*.

Franciele Tronquim ✉

Francielly Custódio

Karina da Silva Policarpo

Joseane Almeida dos Santos Nobre

Faculdades de Americana. Americana, SP.

✉ frtronquim@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar a existência de contaminação microbiológica de *temakis* de salmão cru, comercializados por restaurantes com entrega *delivery* e retirados no local. Foram analisadas 18 amostras de *temakis* de 8 restaurantes e de formas distintas (4 com retirada no local e 4 com entrega *delivery*), em dois dias da semana. A temperatura foi aferida no momento da coleta. No laboratório, as amostras foram colocadas no caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e depois inoculadas no Ágar *MacConkey*; para verificação da presença de bactérias Gram-negativas, e no Ágar Padrão de Contagem (PCA), para determinação das Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL), a identificação das bactérias foi feita a partir dos testes propostos no Enterokit B. Todas as amostras apresentaram crescimento de bactérias Gram-negativas, com prevalência de *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* e *Proteus* spp, e em uma amostra ocorreu o crescimento de

Salmonella spp. Na maioria dos estabelecimentos, a temperatura dos produtos aferida no momento da coleta apresentou-se acima do preconizado pela legislação, sendo estas superiores na entrega de *temakis* por *delivery*. A contaminação dos *temakis* ocorreu tanto na entrega *delivery* quanto ao serem retirados no local, sendo que a temperatura de segurança, descrita na legislação vigente, não foi atendida, principalmente nos alimentos com entrega *delivery*.

Palavras-chave: Intoxicação alimentar. Vigilância sanitária. Contaminação de alimentos. Microbiologia de alimentos.

ABSTRACT

The objective of this work was to verify the existence of microbiological contamination of raw salmon *temakis*, marketed by restaurants with *delivery* services and withdrawn on the spot. Eighteen samples were analyzed of 8 restaurants in different ways (4 with withdrawal on the spot,

and 4 with *delivery* services), on two days of the week. The temperature was measured at the time of collection. In the laboratory, the samples were placed in BHI broth (*Brain Heart Infusion*), and then inoculated into *MacConkey* Agar; for the determination of the Colony Forming Units (CFU / mL), the identification of the bacteria was done from the tests proposed in Enterokit B. All samples showed growth of Gram-negative bacteria, with prevalence of *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* and *Proteus* spp, and in one sample the growth of *Salmonella* spp. In most establishments, the temperature of the products measured at the time of collection was higher than that recommended by the legislation, being higher in the *delivery* of *temakis* *delivery*. The contamination of the *temakis* occurred both in the *delivery* and when being removed in the place, and the temperature described in current legislation, was not met, especially in foods with *delivery* services.

Keywords: *Food poisoning. Health surveillance. Food contamination. Food microbiology.*

INTRODUÇÃO

O *temaki* é uma variação do *Sushi*, preparação à base de peixe cru, que se originou a partir de uma técnica para preservação dos peixes, criada pelos japoneses, no século VII (MUSCOLINO et al. 2014). A maioria das preparações criadas pelos japoneses é à base de peixe cru (IWATA; FUKUCHI; YOSHIMURA, 2015) por isso, consideradas de alto risco do ponto de vista microbiológico, pois, a falta de cocção, juntamente com a riqueza de nutrientes que o pescado apresenta, favorece o crescimento e a proliferação de micro-organismos que podem ser prejudiciais à saúde (MONTANARI et al. 2015).

Outro fator que pode elevar o risco de contaminação é o modo como a preparação chega até o consumidor: retirado no próprio restaurante ou *delivery*, sendo esta modalidade, preferencialmente requisitada pelos brasileiros, como demonstrou uma pesquisa realizada com 56% dos entrevistados pelo IBOPE (Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística), em 2016 (E-COMMERCE BRASIL, 2016). Assim, o alimento poderá sofrer maior influência de fatores extrínsecos como o binômio tempo-temperatura, além de maior manipulação, contato com embalagens e caixas para transporte (HOFFMANN, 2001).

Considerando a atual tendência de facilidade no acesso à aquisição dos alimentos e seu consumo no domicílio, se vê a necessidade de análise dos riscos a que estes possam estar sendo expostos. O presente estudo teve como objetivo verificar a existência de contaminação em *temakis* à base de salmão, retirados no local e entregues *delivery*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os *temakis* foram obtidos na forma de consumidor, em oito restaurantes diferentes, sendo quatro restaurantes com *delivery*, e outros quatro com retirada no local, todos especializados na culinária japonesa, situados na cidade de Americana, SP.

Os *temakis* eram compostos pelos seguintes ingredientes: cone de alga, arroz e salmão cru, garantindo-se a padronização das amostras. O período de coleta foi durante o mês de abril de 2017, sendo todas as compras realizadas no mesmo horário, em torno das 20h00min às 21h00min. As aquisições foram realizadas em dois dias da semana: às quartas-feiras e aos sábados, pois às quartas-feiras há um menor fluxo de pedidos dentro dos comércios alimentícios e aos sábados, o fluxo é maior. Totalizando dezesseis amostras.

No momento da coleta, foi aferida a temperatura dos alimentos e depois os mesmos foram acondicionados individualmente em caixa térmica de isopor esterilizada, com gelo, na mesma embalagem do fornecedor, a fim de se preservar as características do momento da entrega. Logo após, foram levadas para armazenamento em temperatura de até 2°C, conforme preconiza o Centro de Vigilância Sanitária (Secretaria de Estado da Saúde, 2013) até o momento da análise, a fim de evitar o crescimento microbiano e interferência nos resultados. Por fim, as amostras foram analisadas em período de até 48 horas após a compra, no laboratório de microbiologia da Faculdade de Americana.

Análise microbiológica

Assepticamente foram retiradas 25g de cada produto e colocado submerso em 225 mL de caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) no *erlenmeyer*, sendo realizada a homogeneização por 2 minutos, no agitador Vortex. Para posterior determinação

da população microbiana foi realizada a diluição seriada segundo o método proposto por Tortora e Funke (2005). Todos os procedimentos foram realizados próximos ao bico de *Bunsen* e com a utilização de máscara e luvas de látex descartáveis durante a manipulação.

Esperaram-se 24 horas para a realização da técnica de espalhamento em superfície (*spread plate*) em Ágar *Mac Conkey*, para crescimento de micro-organismos Gram-negativos. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas (TORTORA; FUNKE, 2005).

A seguir, procedeu-se a identificação dos micro-organismos por meio do Enterokit B. Os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas. A inoculação, as leituras e interpretações foram realizadas conforme bula do enterokit B, disponibilizadas pela Probac do Brasil, empresa fabricante do produto.

Para determinação da população microbiana, inicialmente foi realizada a diluição seriada, com a técnica de espalhamento em superfície no Ágar Padrão para Contagem (PCA), sendo plaqueadas as diluições de 10^0 (ou seja, sem diluição), 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , e 10^{-4} . As placas foram incubadas a 32°C, por 48 horas. Após o tempo de incubação foram selecionadas para contagem das células viáveis apenas as placas que apresentaram de 15 a 150 colônias, e então foram determinadas as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) pela seguinte fórmula:

$$\text{UFC/g} = \frac{\text{nº de Colônias}}{\text{Diluição}} \times 10$$

Os resultados da análise microbiológica foram expressos em UFC/mL e comparados com a RDC 12/2001, no item 22 do anexo I, de microbiologia de alimentos. Os valores máximos permitidos para os micro-organismos estudados são: coliformes a $45^\circ\text{C} \leq 10^2$ UFC/mL, e ausência de *Salmonella* spp. em 25 g de alimento

(BRASIL, 2001). Já a temperatura aferida dos produtos, no momento da aquisição, foi comparada com a portaria CVS 05/2013 de boas práticas para o serviço de alimentação (Secretaria de Estado da Saúde, 2013).

Análise estatística

Os dados foram organizados no software SPSS versão 19.0. Após realizar o teste de Kolmogorov-Smirnov para a variável UFC, conforme o dia da semana (quarta ou sábado), verificou-se que a mesma atendia à distribuição normal, sendo utilizado o teste *T-Student* para determinar a existência de diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (*delivery* vs retirado do local), aceitando-se *p-value* inferior a 0,05 como estatisticamente significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem de colônias e os micro-organismos identificados encontram-se apresentados na tabela 1. As placas que apresentaram crescimento de micro-organismos dentro do padrão estipulado foram apenas as

de diluição 10⁰. É possível notar que os *temakis* provenientes de todos os estabelecimentos apresentaram crescimento de micro-organismos Gram-negativos, com predominância para: *C. freundii*, *S. marcescens* e *Proteus* spp, havendo também contaminação por *Salmonella* spp, mas que os *temakis* entregues no domicílio (*delivery*) foram os que apresentaram contaminação estatisticamente maior na quarta-feira, quando comparado aos retirados no estabelecimento comercial.

As bactérias prevalentes compõem a família *Enterobacteriaceae*, a qual pertencem os maiores e mais variados grupos de bacilos Gram-negativos, os quais estão presentes no solo, água, vegetação e também na microbiota do trato gastrointestinal de animais e do homem. Estão associados a casos de pneumonia e infecções, além de diarreia e vômitos. Sua presença nos alimentos é um bom indicador de contaminação por manipulação e deterioração (CARVALHO, 2010; TAVARES, 2015).

Os resultados encontrados apontam que pode ter havido contaminação

por manipulação inadequada, ou que os micro-organismos possam estar presentes na matéria-prima utilizada nos *temakis*, pois o pescado pode ser contaminado por bactérias que vivem na água e, se não houver a higienização adequada, pode contaminar o alimento produzido, além da alga que também é substrato de crescimento dessas bactérias.

Uma análise de *shashimis* (outra variação de *sushi*) de restaurantes japoneses, em Portugal, constatou que 64% estavam impróprios para consumo, mesmo apresentando um grau satisfatório de frescor, e que, dentre os grupos de bactérias que contribuíram para o resultado insatisfatório, estavam as do grupo *Enterobacteriaceae* (SANTOS, 2013). Em outra pesquisa, realizada na Itália, com amostras de *sushi*, detectou-se que quase 82% eram insatisfatórias para esse grupo de bactérias pelo padrão ISO 4833:2004, de enumeração de micro-organismos (MUSCOLINO et al, 2014).

Apesar da contagem de colônias, no presente estudo, não estar acima do preconizado pela legislação,

Tabela 1 - Análise microbiológica das amostras de *temaki*.

Amostra	Quarta-feira UFC/g*	Bactéria predominante	Sábado UFC/g*	Bactéria predominante
Retirada no local 1	67	<i>Citrobacter freundii</i>	82	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Retirada no local 2	71	<i>Serratia marcescens</i>	88	<i>Citrobacter freundii</i>
Retirada no local 3	69	<i>Serratia marcescens</i>	54	<i>Salmonella tiphy</i> **
Retirada no local 4	75	<i>Serratia marcescens</i>	91	<i>Serratia marcescens</i>
Delivery 1	91	<i>Citrobacter freundii</i>	93	<i>Serratia marcescens</i>
Delivery 2	82	<i>Protheus</i>	86	<i>Protheus</i>
Delivery 3	84	<i>Citrobacter freundii</i>	92	<i>Citrobacter freundii</i>
Delivery 4	76	<i>Protheus</i>	77	<i>Serratia liquefaciens</i>
p-value#	0,010#		0,198	

*UFC= Unidade Formadora de Colônia por grama de alimento

** Recomendação ANVISA: ausente

Teste t-Student.p-value inferior a 0,05.

exceto para *Salmonella* spp, é importante ressaltar que patógenos de reservatórios animal/humano podem oferecer riscos pois, dependendo do estado de saúde do consumidor, uma contaminação baixa é suficiente para provocar doença. Contaminação esta que, se o alimento passa pelo processo de cocção adequado, os riscos são eliminados, o que não ocorre com os *temakis*, sendo esta a principal preocupação com segurança relacionada a este tipo de alimento (SILVA JR, 2013).

Salmonella spp, além de ser um micro-organismo patógeno, é um ótimo indicador de contaminação fecal, pois pode ser encontrado também no trato gastrointestinal de humanos e animais, podendo provocar gastroenterites principalmente em indivíduos com o sistema imunológico comprometido. Além da salmonelose, outras doenças como a febre tifóide e a febre entérica podem ser provocadas por *Salmonella typhi* e *Salmonella paratyphi*, respectivamente (SANTIAGO, 2013; WHO, 2013). Um fator importante para ser analisado é a temperatura dos alimentos, por se considerar que a temperatura ideal para proliferação desses micro-organismos é entre 35-37°C (SOUZA et al, 2015).

A contaminação por *Salmonella* spp encontrada neste estudo pode ser explicada durante a manipulação de ingredientes diferentes nas cozinhas de restaurantes, principalmente entre as carnes de frango que, por ser um

ingrediente comum na culinária japonesa, pode explicar uma possível contaminação cruzada entre os alimentos e resultado no aparecimento dessa bactéria.

Nonga et al (2015), ao analisarem a característica microbiana do pescado, na Tanzânia, encontraram mais de 96% das amostras com colônias de *Salmonella* spp e outras bactérias do grupo *Enterobacteriaceae*.

Como já citado, a temperatura é um fator importante a ser considerado na análise microbiológica de alimentos. As temperaturas verificadas no momento da aquisição das amostras estão apresentadas na tabela 2. É possível perceber que os *temakis* adquiridos de quase todos os restaurantes, nos dois dias da semana, apresentaram temperatura superior ao que preconiza a CVS 5/2013 (Secretaria do Estado da Saúde, 2013). Excetuando-se apenas o *temaki* comprado no estabelecimento com retirada no local (2), na quarta-feira, que apresentou temperatura no limite permitido. Verifica-se também que, as temperaturas dos alimentos adquiridos durante a semana, foram menores do que aqueles adquiridos aos finais de semana e o mesmo percebe-se quando se comparam as amostras retiradas no local, com aquelas do *delivery*.

Quanto à diferença de temperatura entre os dias de semana, pode ser justificado pelo fato de que, aos finais de semana, o fluxo de compra e entrega se tornam maiores em restaurantes

desse gênero e o número de funcionários, geralmente, se mantém o mesmo, gerando uma desordem em relação ao atendimento das normas higienicossanitárias estabelecidas, ou seja, o acúmulo de funções para um mesmo funcionário devido à alta demanda e uma possível falta de estrutura das cozinhas, não dão o exato suporte para que essas normas sejam realizadas com sucesso a fim de evitar contaminações já citadas (SATO, 2013; ROSA, 2015).

A diferença de temperatura observada entre as amostras coletadas nos dois modos de entrega pode ser atribuída ao fato de que, o meio em que os *temakis* são transportados tem uma forte influência, uma vez que ocorre o contato deste com outros alimentos dentro do *box* utilizado para transporte e a troca de calor existente entre eles, assim como o tipo de material utilizado para embalagem, como, por exemplo embalagem de isopor e alumínio, podem contribuir para um aumento da temperatura do alimento, além de que, o alimento demora mais tempo para chegar até o consumidor (TEIXEIRA; GARCIA, 2016).

No presente estudo se demonstraram as condições higienicossanitárias dos *temakis* da maneira como são comercializados à população, dessa forma, destaca-se a facilidade e comodidade de aquisição desses alimentos, o que causa aos consumidores uma falsa sensação de segurança higienicossanitária. Este trabalho refletiu a

Tabela 2 - Temperatura das amostras no momento da aquisição.

Amostra	Temperatura °C		Recomendação CVS 05/2013[8]
	Quarta-feira	Sábado	
Retirada no local 1	13°	16°	<10°
Retirada no local 2	10°	14°	
Retirada no local 3	11°	15°	
Retirada no local 4	14°	16°	
Delivery 1	21°	24°	
Delivery 2	19°	21°	
Delivery 3	22°	21°	
Delivery 4	23°	25°	

forma final de consumo do *temaki*, resultando em contaminação do alimento.

CONCLUSÃO

Conclui-se que, em ambos os meios de entrega, há contaminação microbiológica, com presença de micro-organismos Gram-negativos, representando risco à saúde do consumidor. Também não atendem à temperatura preconizada pela legislação vigente, além disso as temperaturas aferidas nas amostras *delivery* foram maiores do que as temperaturas aferidas nas amostras retiradas no local.

É importante ressaltar a forma de armazenamento das matérias-primas utilizadas, bem como o processo de preparo dos *temakis* e a higiene do ambiente e dos manipuladores, que são pontos de risco durante a produção de alimentos. Realizar a Análise de Pontos Críticos de Controle (APPCC) facilita a identificação dos possíveis perigos presentes no ambiente de estocagem dos produtos, tempo e temperaturas de preparo, higienização correta dos manipuladores, equipamentos e ambiente em geral.

Dessa forma, percebe-se a necessidade de maior atuação dos órgãos fiscalizadores nos estabelecimentos que produzem alimentos crus prontos para consumo, com uma atenção especial às condições dos *boxs* em que são transportados os alimentos nos restaurantes que possuem *delivery*.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Dispõe sobre regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. **Resolução (RDC) nº 12**, 2001.
- CARVALHO, IT. **Microbiologia dos alimentos**. Recife, UFRPE, 2010. Programa Escola Técnica aberta do Brasil.
- Disponível em: http://proedu.ifce.edu.br/bitstream/handle/123456789/363/Microb_Alimentos.pdf?sequence=1
- E-COMMERCEBRASIL. **Pesquisa do iFood revela hábitos de consumo no delivery**, 2016. Disponível em: <https://www.ecommercebrasil.com.br/noticias/pesquisa-do-ifood-revela-habitos-de-consumo-no-delivery/>.
- HOFFMANN, FL. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Rev Brasil Alimentos**, São Paulo, n. 9, p. 23-30. 2001.
- IWATA, K; FUKUCHI, T; YOSHIMURA, K. Is the quality of sushi ruined by freezing raw fish and squid? a randomized double-blind trial with sensory evaluation using discrimination testing. **Clinical Infectious Diseases**, 2015 Maio 01; 60 (9):e43-e48.
- MONTANARI, AS; ROMÃO, NF; SOBRAL, FOS; MARMITT, BG; SILVA, FPS; CORREIO, TCAM. 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**. 2015; 02 (1):4-16.
- MUSCOLINO, D; GIARRATANA, F; BENINATI, C; TORNANBENE A, PANEBIANCO A, ZIINO G. Hygienic-sanitary evaluation of sushi and sashimi sold in Messina and Catania, Italy. **Italian Journal of Food Safety**. 2014; 03 (2): 134-136.
- ONGA, HE; NGOWL, HA; MDEGELA, RH; MUTAKYAWA, E; NYAHINGA, GB; WILLIAM, R. **Survey of physicochemical characteristics and microbial contamination in selected food locally vended in Morogoro Municipality, Tanzania**. BMC research notes. 2015; 08 (1):1.
- ROSA, PT. **Implantação e Aplicação do Manual de Boas Práticas de Manipulação em Cozinha Pedagógica em Instituição de Ensino na cidade de Campo Mourão PR** [Trabalho de Conclusão de Curso]. Campo Mourão; Universidade Tecnológica Federal do Paraná; 2015.
- SANTIAGO, JAS; ARAÚJO, PFR; SANTIAGO, AP; CARVALHO, FCT; VIEIRA, RHSF. Bactérias Patogênicas Relacionadas à ingestão de pescados [revisão]. Fortaleza: **Ciências do Mar**; 2013; v.46, n.2, p.92-103.
- SANTOS, CIC. **Avaliação microbiológica de sashimi: microbiota deteriorativa e patogênica**. [dissertação]. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro; 2013.
- SATO, RA. **Características microbiológicas de sushis adquiridos em estabelecimentos que comercializam comida japonesa** [dissertação]. Jaboticabal; Universidade Estadual Paulista UNESP; 2013.
- Secretaria de Estado da Saúde, Coordenação de Controle de Doenças, Centro de Vigilância Sanitária, Divisão de Produtos Relacionados à Saúde, **Portaria CVS 5**, de 09 de Abril de 2013. DOE de 19/04/2013 - Nº. 73 - Poder Executivo - Seção 1 - Pág. 32-35.
- SOUZA, TJFF; SILVA, JN; SILVA FILHO, CRM; SANTOS, JG. Microrganismos de interesse sanitário em sushis, São Paulo, **Rev Inst Adolfo Lutz**, 2015; v.74, n.3, p. 274-279.
- SILVA JR, EA. **Manual de Controle Higiênico-sanitário em Serviços de Alimentação**. 6ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2013.
- TAVARES, AR. **Infecções por *Serratia* SPP em ambientes de terapia intensiva: uma revisão integrativa** [trabalho de conclusão de curso]. Ceilândia: Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília; 2015.
- TEIXEIRA, LC; GARCIA, PPC. Qualidade do pescado: captura, conservação e contaminação. **Acta de Ciências e Saúde** 1.2 (2016): 1-15.
- TORTORA, GJ; FUNKE, BR. Case CL. **Microbiologia**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed; 2005.
- World Health Organization. Salmonella (non-typhoidal) fact sheet No.139, 2013. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>