

Identificação de enterobactérias em sashimi de salmão

Enterobacterium indentication in salmon sashimi

MARCOS ALEXANDRE DOS SANTOS¹ [LATTES] AGATA CAETANO MOLINO¹ [LATTES]
PRISCILA REINA SILIANO¹ [LATTES]

CORRESPONDÊNCIA PARA:

dnamarcos@yahoo.com.br\

1. Centro Universitário Fundação Santo
André, Santo Andre, SP, Brasil.

RESUMO

Os pescados crus em preparações de sashimi é um hábito alimentar que tem se expandido no Brasil, porém existe preocupação com o consumo desse tipo de alimento, por ser um produto altamente perecível, bastante manipulado que não passa por nenhum tipo de tratamento térmico. O objetivo foi pesquisar enterobactérias em sashimi de salmão proveniente de restaurantes no município de Santo André, foram coletadas 18 amostras do sashimi de salmão de 6 restaurantes. Os resultados desse trabalho se diferenciam pelo fato de encontrar nas amostras de salmão, enterobactérias que não são discriminadas nos parâmetros da RDC 12/01 da ANVISA.

Palavras-chave: Enterobactérias. Doenças transmitidas por alimentos. Salmão contaminado. Sashimi.

ABSTRACT

The raw fish used in sashimi dishes is an expanding alimentary habit in Brazil, however, there is a general concern in regards to its consumption because it's a highly perishable product, handled a lot during its preparation and no thermic treatment is involved. The objective was to analyse enterobacterium in salmon sashimi from restaurants in Santo André county. Eighteen samples were collected across six different restaurant chains. The results found in this research differentiate from the paramaters listed on ANVISA's RDC 12/01, because there are enterobacterium present in the samples that are not listed within said parameters.

Keywords: Enterobacterium. Food transmited disease. Contaminated salmon. Sashimi.

INTRODUÇÃO

Os pescados, além de serem consumidos cozidos, também são oferecidos crus, em preparações como o sashimi de salmão, e por possuírem o sinônimo de comida saudável, seu consumo aumenta gradativamente no Brasil. (VALLANDRO, 2010). O consumo desse tipo de alimento tornou-se uma preocupação para os órgãos ligados à Saúde Pública, principalmente, pelo fato de ser um produto altamente perecível, consumido “in natura” (VIEIRA et al., 2007), assim possuem crescente impacto no registro das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs). (BRAGHINI et al., 2015).

A maior causa das enfermidades de origem alimentar ocorrem quando um indivíduo contrai uma doença devido à ingestão de alimentos contaminados com microrganismos ou toxinas indesejáveis. Várias bactérias patogênicas podem tanto estar presentes no meio ambiente ou contaminar o peixe durante o manuseamento. (BRASIL, 2016).

A avaliação dos alimentos para identificação de alguns grupos de microrganismos é considerada importante indicador das condições higiênico sanitárias, cuja presença é indicio de qualidade da matéria prima e do processamento realizado. Pela falta de informação da presença de outros microrganismos da família das Enterobacteriaceae, é necessária a realização de pesquisas para identificação desses possíveis agentes patogênicos, assim fornecendo o conhecimento para a prevenção de DTAs. O presente trabalho tem como objetivo pesquisar Enterobactérias em sashimi de salmão provenientes dos restaurantes de culinária japonesa no município de Santo André.

METODOLOGIA

As metodologias para amostragem, colheita, acondicionamento, transporte e análise microbiológica, obedeceram às recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2001), e também descritas no Manual de Métodos de Análise de Alimentos (SILVA, N. et al. 2007), que seguem os métodos oficiais do Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods da American Public Health Association (APHA, 2001) e International Organization for Standardization (ISO).

A pesquisa ocorreu em 6 restaurantes, nomeados com letra maiúscula para manter o sigilo do

local. Foram analisados o total de 18 amostras de salmão com aproximadamente 25 gramas cada, sendo 3 amostras por restaurantes (BRASIL, 2001) e divididas conforme o Quadro 1.

Quadro 1. Identificação dos restaurantes e amostras.

Restaurantes	Amostras
A	A1, A2 e A3
B	B1, B2 e B3
C	C1, C2 e C3
D	D1, D2, e D3
E	E1, E2 e E3
F	F1, F2 e F3

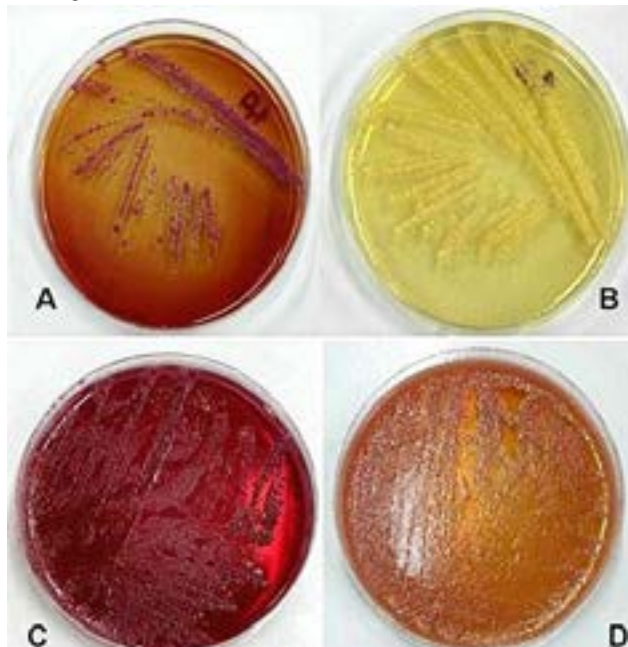
Com auxílio de uma pinça e bisturi estéreis, foram retirados de cada amostra 3 fragmentos de aproximadamente 0,5 cm³ e colocados em tubos de ensaio contendo 5 mL de caldo nutriente (AUDAZ, BRASIL), sendo incubados na estufa a 37°C de 24 às 48h. Depois da incubação do caldo nutriente, para verificação da turvação sem ser provocada por sedimentos do salmão, foi confirmada através da transferência de uma alíquota do caldo suspeito com swab estéril para um novo tubo do mesmo meio.

A seguir da turvação do caldo nutriente, de cada amostra, usou-se a alça de inoculação para semear em movimentos leves em ziguezague na placa com ágar MacConkey e com a mesma alça sem flambiar ou retornar ao tubo, espalhou-se da mesma forma, em três setores na placa com ágar nutriente para realizar posteriormente a coloração de Gram, e incubadas em estufa a 37°C por 18-24 h.

Com auxílio de uma pinça e bisturi estéreis, foram retirados de cada amostra 3 fragmentos de aproximadamente 0,5 cm³ e colocados em tubos de ensaio contendo 5 mL de caldo nutriente (AUDAZ, BRASIL), sendo incubados na estufa a 37°C de 24 às 48h. Depois da incubação do caldo nutriente, para verificação da turvação sem ser provocada por sedimentos do

salmão, foi confirmada através da transferência de uma alíquota do caldo suspeito com swab estéril para um novo tubo do mesmo meio (Figura 1).

Figura 1- Crescimento bacteriano nos meios sólidos

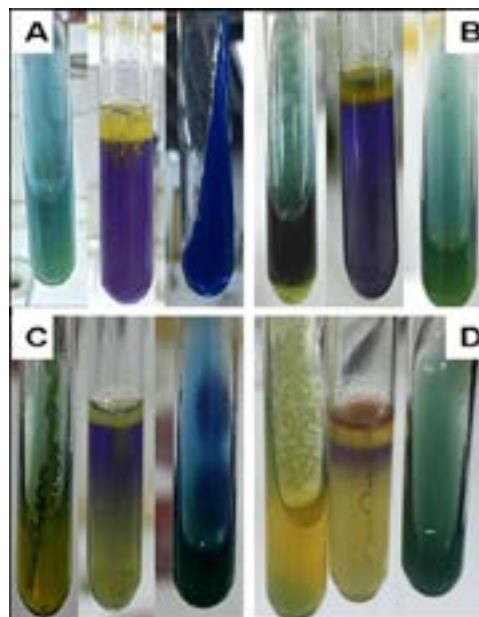


Amostra A1 em placas com ágar MacConkey/Lac+ (A) e ágar nutriente (B), amostra C1 em placa com ágar MacConkey/Lac+ sem isolamento de colônia (C), amostra F1 placa com ágar MacConkey/Lac-, sem isolamento de colônia (D),

A seguir da turvação do caldo nutriente, de cada amostra, usou-se a alça de inoculação para semear em movimentos leves em ziguezague na placa com ágar MacConkey e com a mesma alça sem flambar ou retornar ao tubo, espalhou-se da mesma forma, em três setores na placa com ágar nutriente para realizar posteriormente a coloração de Gram, e incubadas em estufa a 37°C por 18-24 h.

Para identificação da bactéria foi utilizado a série bioquímica Enterokit B® (PROBAC, BRASIL), através do meio MacConkey, usando fio de inoculação flambado, retirou-se 1 colônia isolada, sendo semeada no meio Citrato, EPM e MILi. Os três tubos foram incubados a 35° ± 2° C, por 18 a 24 horas. A leitura e interpretação dos meios foi realizada de acordo com o manual disponibilizados pela PROBAC (2013) (Figura 2).

Figura 2- Crescimento bacteriano nos meios sólidos



ESQUERDA PARA DIREITA, EMP, MILI, CITRATO SIMMONS. AMOSTRA A1 (A), B1 (B), C1 (C) E D2 (D).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a turvação do caldo nutriente, semeadura nas placas e incubação, foi analisada a existência de crescimento bacteriano. Onde os resultados mostraram 100% de formação das colônias bacterianas nas placas contendo ágar MacConkey e ágar nutriente. Em ágar MacConkey, 72% das placas foram lactose positiva (Lac+) e 28% lactose negativa (Lac-). No teste de Gram, os resultados mostraram que 100% das amostras selecionadas e analisadas, foram identificadas bactérias do tipo Gram-negativas, não havendo sinais de Gram-positivas (Figura 3).

Os testes bioquímicos têm como base inicial a avaliação do meio de cultura ágar MacConkey, destinado ao crescimento de bactérias Gram negativas que indica a fermentação de lactose. O próximo passo foi analisar cada parte do metabolismo das bactérias pelos reagentes, comparando os resultados através da tabela fornecida pelo fabricante, assim identificando o microrganismo presente na amostra.

Os resultados obtidos pelo total de amostras identificaram bactérias da espécie *Enterobacter cloacae* em 39%, *Citrobacter freundii* em 17%, *Citrobacter diversus* em 17%, o gênero *Serratia* em

22% e *Escherichia coli* encontrada em 5% das amostras (Tabela 1).

Figura 3. Colônias de bactérias das amostras de salmão em ágar MacConkey

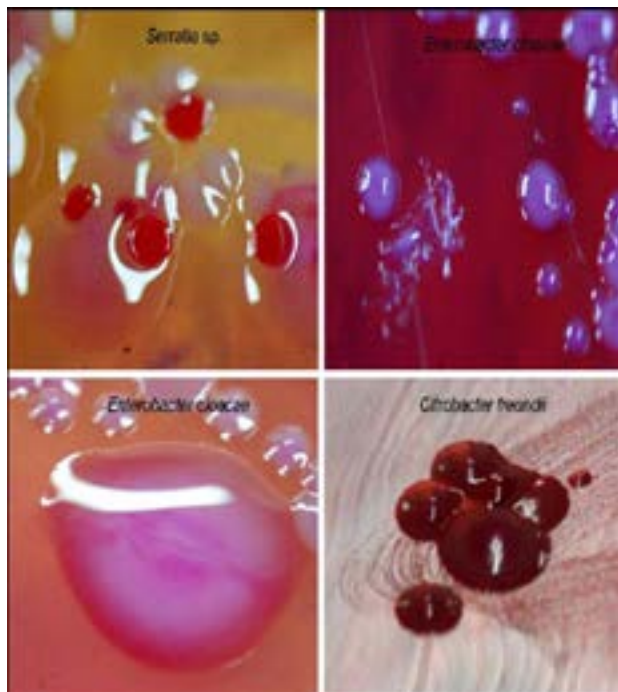


Tabela 1. Resultados (%) da identificação de enterobactérias

Enterobactérias	%	Amostras
<i>Enterobacter cloacae</i>	39	A1, A3, B3, C3, E1, F2 e F3
<i>Citrobacter freundii</i>	17	B1, C1 e E3
<i>Citrobacter diversus</i>	17	A2, D3 e E2
<i>Serratia sp</i>	11	C2 e F1
<i>Serratia liquefaciens</i>	11	B2 e D1
<i>Escherichia coli</i>	5	D2

No presente estudo, gêneros de bactérias do *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Escherichia* foram identificadas, alguns estudos vêm destacando a importância de se valorizar sua quantificação diferenciada, na medida em que o consumo de preparações com pescados crus cresce vertiginosamente, novos

parâmetros de qualidade microbiológica deverão ser avaliados quanto a sua importância ou não.

Resultados semelhantes foram encontrados na pesquisa de Alcântara (2009) afirmando que mesmo não sendo alvo específico de fiscalização, encontrou a prevalência de *Klebsiella sp.* em 30,3% das amostras de sashimi. *Enterobacter sp.* foi detectada em 42,4% das amostras de sushi cru e sashimi.

Pinheiro et al. (2006), avaliou 5 estabelecimentos especializados, investigaram *Salmonella sp.* e coliformes termotolerantes, onde detectou 30% acima do permitido. Também detectaram *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* e *Klebsiella sp.* Segundo os autores, a família *Enterobacteriaceae* esta envolvida na deterioração bacteriana do pescado, produzindo a enzima histidina descarboxilase durante seu crescimento.

Tancredi (2002) também enfoca este tema, destacando que outros microorganismos podem ser encontrados nos pescados, causando riscos a saúde, como *Klebsiella sp.*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas sp.*, alguns desses também encontrados no presente trabalho, identificado com maior prevalência a espécie *Enterobacter cloacae*, seguida do gênero *Citrobacter*, ambas do grupo dos coliformes totais. O gênero *Serratia* encontrado em 22% das amostras, não possui parâmetro da RDC 12/01 da ANVISA (BRASIL, 2001), sendo sua presença e risco a saúde pouco pesquisada.

CONCLUSÃO

Os resultados desse trabalho se diferenciam pelo fato de encontrar nas amostras de salmão uma maior prevalência dos gêneros *Enterobacter* e *Citrobacter*, possuindo pouco foco nas pesquisas, e a identificação do gênero *Serratia* não estando nos parâmetros da RDC 12/01 da ANVISA (BRASIL, 2001), pois sua presença pode ser relevante, mas no momento não se sabe a magnitude desta relevância, pois não se tem dado atenção aos mesmos, sob o ponto de vista da legislação..

REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, Bernadette Matos. Qualidade Higiénico-Sanitária de Sushi e Sashimi Servidos em

- Restaurantes da cidade de Fortaleza: modismo alimentar e risco à saúde. 2009. Dissertação (MESTRE EM SAÚDE PÚBLICA) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2009.
- APHA - American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4. ed. Washington, DC, 2001.
- BRAGHINI, Fernanda et al. Análise microbiológica de sashimis a base de salmão, comercializados na cidade de Maringá - PR. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v.11, n.22, p.3165, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução: RDC nº12, 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 mai. 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças Transmitidas por Alimentos, 2016. Disponível em: <<http://u.saude.gov.br/images/pdf/2016/marco/10/Apresenta---o-dados-gerais-DTA-2016.pdf>>. Acesso em: 18 mai. 2016.
- PINHEIRO, H.M.C. et al. Salmonella sp e coliformes termotolerantes em sushi e sashimi comercializados na cidade de Fortaleza-Ceará. Boletim Técnico-Científico do Cepene, v.14, n.1, p. 23-31, 2006.
- PROBAC DO BRASIL. Meios para identificação bacteriana PROBAC DO BRASIL ENTEROKIT B. Rev. 03. São Paulo, SP, 2013. 4p.
- SILVA, Neusely da et al. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3.ed. São Paulo: Logomarca Varela, 2007.
- TANCREDI, R.C.P. Pescados na alimentação: aspectos nutricionais, tecnológicos e sanitários. Boletim de Divulgação Técnica e Científica, Rio de Janeiro, v.13, p.8-10, 2002.
- VALLANDRO, Marcelo Jostmeier. Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis a base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa na cidade de Porto Alegre - RS. NUTRIVISA – REVISTA DE NUTRIÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE 2010. 67 p. Dissertação (MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- VIEIRA, Regiane H. S. dos Fernandes et al. Salmonella e Staphylococcus coagulase positiva em sushi e sashimi preparados em dois restaurantes da cidade de Fortaleza, Ceará. Boletim Técnico Científico – CEPENE, Tamandaré, v.15, n.1, p.9-14, 2007.