

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *SASHIMIS* A  
BASE DE SALMÃO, PREPARADOS EM RESTAURANTES ESPECIALIZADOS  
EM CULINÁRIA JAPONESA NA CIDADE DE PORTO ALEGRE - RS.**

**Dissertação de Mestrado**

**MARCELO JOSTMEIER VALLANDRO**

**Porto Alegre**

**2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *SASHIMIS* A  
BASE DE SALMÃO, PREPARADOS EM RESTAURANTES ESPECIALIZADOS  
EM CULINÁRIA JAPONESA NA CIDADE DE PORTO ALEGRE - RS.**

**Autor: Marcelo Jostmeier Vallandro**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Bacteriologia.

**Orientador: Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso**

**Porto Alegre**

**2010**

V136a 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. / Marcelo Jostmeier Vallandro. – Porto Alegre: UFRGS, 2010.

67 f. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2010. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso, Orient.

1. Segurança alimentar 2. Boas práticas: manipulação 3. Produto de origem animal 4. Pescado 5. Salmão I. Cardoso, Marisa Ribeiro de Itapema, Orient. II. Título

CDD 619.48

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Marcelo Jostmeier Vallandro

**Avaliação da qualidade microbiológica de *sashimis* a base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária Japonesa na cidade de Porto Alegre - RS.**

Aprovado em 16 de novembro de 2010.

APROVADO POR

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

Orientadora e presidente da Comissão

APROVADO POR

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Neila Sílvia Pereira Richards

Membro da Comissão

APROVADO POR

---

Prof. Dr. Guiomar Pedro Bergmann

Membro da Comissão

APROVADO POR

---

Prof. Dr. Cesar Augusto Marchionatti Avancini

Membro da Comissão

*Dedico este trabalho a minha  
família pelo apoio em todos os  
momentos da minha vida  
profissional.*

## **AGRADECIMENTOS**

À professora Dra Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso pela oportunidade, orientação e ensinamentos transmitidos durante este trabalho.

À colega e amiga Claudia Ache Saldanha de Souza pela grande amizade, apoio e ensinamentos profissionais. Aos fiscais Jorge, Machado e Tadeu pela amizade e auxílio e a toda a Equipe de Vigilância de Alimentos.

Aos professores e colegas do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo auxílio nas atividades de laboratório.

Aos professores e colegas do Centro de Ensino, Pesquisa e Tecnologia de Carnes da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo auxílio na execução deste trabalho em especial a Dra Liris Kindlein.

Aos meus amigos que me acompanharam no desenvolvimento deste trabalho e souberam me ouvir e proferir palavras de incentivo e alegria.

À minha família e minha namorada pela compreensão, estímulo e carinho em todos os momentos, especialmente naqueles de maior dificuldade.

Aqueles que aqui não foram citados, mas que de alguma maneira, também estiveram presentes e solidários.

A todos vocês muito obrigado.

## RESUMO

### **VALLANDRO M.J. Avaliação da qualidade microbiológica de *sashimis* a base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária Japonesa na cidade de Porto Alegre - RS.**

[Dissertação de Mestrado – Faculdade de Veterinária da UFRGS]

Nos últimos anos tem-se observado uma mudança no perfil alimentar da população, o que, associado à oferta de pescado de qualidade no mercado interno, pode direcionar o consumo, para novas formas de apresentação deste alimento. Os pescados, além de serem consumidos cozidos, também podem ser ingeridos crus, em pratos como *sushi* e *sashimi*, o que pode trazer risco para o consumidor. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de *sashimis* a base de salmão, bem como as condições higiênico-sanitárias dos restaurantes especializados em culinária japonesa na cidade de Porto Alegre - RS. Em seis restaurantes foram colhidas dezoito amostras de *sashimi* e aplicado check-list adaptado da legislação sanitária. Foram pesquisados todos os microrganismos citados pela RDC 12/01 da ANVISA para pratos prontos para o consumo a base de pescados e similares crus (*sashimi*) - Coliformes Termotolerantes; Estafilococos coagulase positiva; *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* sp. Das 18 amostras analisadas por estabelecimento, 11,11%, 33,33%, 61,11% e 44,44% apresentaram Coliformes Termotolerantes acima do limite estabelecido pela legislação vigente, nos estabelecimentos B, C, D e F, respectivamente. Os restaurantes A e E apresentaram todas as amostras dentro dos limites estabelecidos. Nenhum restaurante apresentou amostras positivas acima do limite para *Staphylococcus* coagulase positiva, *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* sp. Nenhum dos restaurantes foi considerado inadequado sob a avaliação global dos itens do check-list. Três deles (A, D, E) foram considerados adequados e os outros três (B, C, F) foram aprovados com restrições. As principais inconformidades encontradas foram relacionadas com itens relativos à higiene, manipulação e controle de temperatura. Porém, correlação apenas regular tendendo a forte ( $r_s=0,580$ ;  $p=0,228$ ) foi encontrada entre essas inconformidades e a presença de contagens de coliformes termotolerantes acima do previsto na legislação. Entretanto, houve associação positiva estatisticamente significativa entre a temperatura aferida no pescado e o percentual de contaminação por coliformes termotolerantes ( $r_s=0,928$ ;  $p=0,008$ ). Os resultados indicam a necessidade da aplicação das Boas Práticas de Fabricação nesse tipo de restaurantes, principalmente nos itens relacionados à higiene de superfícies e temperatura de armazenamento, a fim de controlar os possíveis riscos potenciais à saúde do consumidor.

**Palavras-chave:** Boas Práticas, pescado, restaurantes japoneses, coliformes termotolerantes, *sashimi*.

## ***ABSTRACT***

### **VALLANDRO M.J. Evaluation of microbiological quality of salmon-based sashimi, prepared in restaurants specialized in Japanese food in the city of Porto Alegre, Brazil.**

Over the past years there has been a change in the eating profile of the population that, associated with the offer of quality fish in the domestic market, can lead consumption to new forms of presentation of this food. Fishes, in addition to being eaten cooked, can also be ingested raw as sushi or sashimi, which may bring risks to the consumer. This study aimed at evaluating the microbiological quality of salmon-based sashimi, as well as the hygienic and sanitary conditions of restaurants specialized in Japanese food in the city of Porto Alegre, Brazil. Eighteen sashimi samples were collected from six restaurants, and a checklist adapted from the Brazilian legislation was applied. All microorganisms mentioned by RDC 12/01 of the National Health Surveillance Agency (ANVISA) for dishes ready for consumption based on fish and similar raw foods (sashimi) were investigated: thermotolerant coliforms; coagulase-positive *Staphylococcus*; *Vibrio parahaemolyticus* and *Salmonella* sp. Of the 18 samples analyzed from the restaurants, 11.11%, 33.33%, 61.11% and 44.44% had thermotolerant coliforms above the limit established by the current legislation in restaurants B, C, D and F, respectively. Restaurants A and E had all samples within limits. Any restaurant had positive samples above limit for coagulase-positive *Staphylococcus*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Salmonella* sp. Any restaurant was considered inadequate regarding the overall evaluation of checklist items. Three (A, D, E) were considered adequate, and the remaining (B, C, F) were approved with restrictions. The main nonconformities found were in items relative to hygiene, manipulation, and temperature control. However, only a regular correlation tending to strong ( $r_s=0.580$ ;  $p=0.228$ ) was found between such nonconformities and presence of thermotolerant coliforms above the value predicted in the legislation. Nonetheless, there was a statistically positive association between fish temperature and the percentage of contamination by thermotolerant coliforms ( $r_s=0.928$ ;  $p=0.008$ ). Results point to the need of applying Good Manufacturing Practices in this type of restaurant, especially in items relative to surface hygiene and storage temperature in order to control the potential risks to consumers' health.

**Keywords:** Good Practices, fish, Japanese restaurants, thermotolerant coliforms, *sashimi*.



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Número (%) de itens constantes na legislação vigente não atendidos por bloco analisado, em seis restaurantes japoneses de Porto Alegre, 2009 - 2010.	38
<b>Tabela 2</b>	Escore de adequação à legislação vigente dos restaurantes japoneses de Porto Alegre, por bloco analisado e temperatura média aferida no salmão utilizado para as preparações de <i>sashimi</i> .	44
<b>Tabela 3</b>	Número de amostras de <i>sashimi</i> , que apresentavam número de coliformes termotolerantes acima do permitido na legislação colhidas em seis restaurantes de comida japonesa em Porto Alegre, 2009 – 2010.	45

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	Quantidade de microrganismos tolerada para pratos prontos para o consumo à base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, sushi, <i>sashimi</i> , etc.), segundo RDC 12/01 da ANVISA.	33
-----------------	---	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Associação entre contaminação por coliformes termotolerantes com a inadequação dos itens relacionados à higiene, manipulação e controle de temperatura retirados do check-list. 46
- Figura 2** Associação entre contaminação por coliformes termotolerantes com a temperatura média aferida no salmão utilizado para a preparação do *sashimi*. 47

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	14
2.1	Consumo de pescado e sua importância para Saúde Pública	14
2.2	O pescado como via de transmissão de agentes patogênicos	15
2.3	Microrganismos em pescado	17
2.3.1	Coliformes e <i>Escherichia coli</i>	18
2.3.2	<i>Staphylococcus</i> spp.	20
2.3.3	<i>Salmonella</i> sp.	22
2.3.4	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	23
2.4	Serviços de alimentação e a segurança alimentar	25
2.4.1	Boas práticas nos serviços de alimentação	27
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	30
3.1	Estabelecimentos e delineamento do estudo	30
3.2	Coletas das amostras	30
3.3	Aplicação do check-list	31
3.4	Análises microbiológicas	32
3.4.1	Preparação das amostras para análise	33
3.4.2	Avaliação da presença de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes	34
3.4.3	Avaliação da presença de Estafilococos coagulase positiva	34
3.4.4	Avaliação da presença de <i>Salmonella</i> sp.	35
3.4.5	Avaliação da presença de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	35
3.5	Análises estatísticas	36

<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	37
4.1	Análise dos check-lists	37
4.1.1	Bloco 1 – Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios	39
4.1.2	Bloco 2 – Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios	39
4.1.3	Bloco 3 – Controle integrado de pragas/manejo de resíduos	40
4.1.4	Bloco 4 – Abastecimento de água	40
4.1.5	Bloco 5 – Manipuladores	40
4.1.6	Bloco 6 – Controle da temperatura e do tempo, matérias-primas, ingredientes e embalagens/preparação do alimento	41
4.1.7	Bloco 7 – Armazenamento e transporte do alimento preparado	43
4.1.8	Bloco 8 – Exposição ao consumo do alimento preparado.	43
4.1.9	Avaliação da temperatura	43
4.2	Análises microbiológicas	44
4.3	Associações entre as variáveis	46
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	48
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	54
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
	APÊNDICE A -	64

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se observado mudança no perfil alimentar da população, o que, associado à oferta de pescado de qualidade no mercado interno, pode direcionar o consumo, em especial pela oferta de novas formas de apresentação deste alimento. O hábito de ingerir pescado cru é de introdução recente no cardápio dos estabelecimentos de alimentação nas grandes cidades brasileiras. As lojas especializadas em *sashimi* e *sushi*, anteriormente restritas a regiões onde predominavam imigrantes asiáticos, tornaram-se comuns nos bairros de classe mais elevada, estando presentes em quase todos os *shopping centers* dentro da categoria *fast-food*, existindo, até mesmo, lojas especializadas na modalidade de entrega á domicílio (*delivery*) (GERMANO & GERMANO, 2008).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO), alimento de risco é todo aquele que contém em sua composição ingredientes de proteína animal ou derivados, e que é comercializado já pronto para o consumo. Os pescados, além de serem consumidos cozidos, também são oferecidos crus, em preparações como *sushi* e *sashimi*. O hábito de comer peixes crus, segundo Germano et al (1993), vem aumentando gradativamente no Brasil. No município de Porto Alegre isso não é diferente, e o número de estabelecimentos que servem comida japonesa à base de peixe é crescente.

O *sashimi* é uma iguaria da culinária japonesa, primariamente consistindo de peixes e frutos do mar frescos, em fatias finas servidas apenas com molho de soja e *wasabi*. Alguns ingredientes de *sashimi*, como o polvo, são servidos cozidos, mas a maioria dos peixes, como o atum e o salmão, é servido cru. Tendo em vista que o *sashimi* é um alimento servido cru, ou seja, não passa por algum tipo de tratamento térmico capaz de reduzir ou eliminar possíveis microrganismos patogênicos presentes na matéria-prima, pode-se considerá-lo um alimento de alto risco.

Muitos alimentos têm sido implicados em casos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) causados por bactérias dos gêneros *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* e *Clostridium*. Nos últimos anos, porém, têm acontecido alguns casos relacionados a bactérias classificadas como emergentes. Dentre essas bactérias figuram espécies do gênero *Vibrio*. Dentre esses, *Vibrio parahaemolyticus* é reconhecido como um enteropatógeno de distribuição universal, sendo isolado de alimentos de origem marinha,

tais como peixes, moluscos, crustáceos, e também de águas estuarinas e sedimentos. A sua presença, portanto, nestes substratos, é de suma importância em Saúde Pública (VIEIRA, 2004).

Segundo Forsythe (2002) e OPS (2005), é sabido que apenas um pequeno número de casos de enfermidades transmitidas por alimentos é notificado aos órgãos de Vigilância Sanitária de Alimentos e às agências de saúde. Isso se deve, em parte, ao fato de que muitos patógenos presentes em alimentos causam sintomas brandos, e a vítima não busca auxílio médico. Portanto, o número de casos notificados pode ser definido como a ponta do *iceberg*, tendo em vista o número real de toxinfecções causadas por alimentos. Recentemente, nos Estados Unidos e na Inglaterra, estudos foram realizados para estimar a proporção dos casos que não foram registrados e, dessa forma, obter um quadro mais acurado dos números de toxinfecções causadas por alimentos. No caso de *Vibrio* spp. o fator de não notificação foi determinado como 20 casos ocorridos para cada notificado.

A RDC 12/01 da ANVISA, que aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, em seu item 22 para ``Pratos Prontos para o Consumo`` (alimentos prontos de cozinhas, restaurantes e similares) - a base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, *sushi*, *sashimi*, etc.) estabelece como microrganismos de interesse e sua tolerância para amostra indicativa, respectivamente: Coliformes Termotolerantes –  $10^2/g$ ; Estafilococos coagulase positiva –  $5 \times 10^3/g$ ; *Vibrio parahaemolyticus* (específico para produtos à base de pescados) –  $10^3/g$  e *Salmonella* sp. ausente em 25g (BRASIL, 2001).

Baseado no exposto, o presente estudo teve como objetivo a avaliação da qualidade microbiológica de preparações (*Sashimi*) à base de salmão cru, através da pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus* e dos demais microrganismos citados na legislação brasileira para esse tipo de preparação. Além disso, foram avaliadas as condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos sob o ponto de vista estrutural, de processo e demais itens contidos na legislação sanitária aplicada ao setor.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Consumo de pescado e sua importância para Saúde Pública

A descoberta de que o consumo de alimentos ricos em ácidos graxos poli-insaturados e com baixos níveis de colesterol reduz o risco de doenças cardíacas está levando a uma alteração nos hábitos alimentares, fazendo com que os consumidores prefiram as carnes brancas, e contribuindo para aumentar o consumo de peixes e derivados. Parece que o Brasil vem seguindo essa tendência mundial de consumir alimentos mais saudáveis, incluindo aí a carne de pescado (AGNESE et al., 2001).

Aliado a isto, nas últimas décadas, o mundo tem presenciado um acelerado processo de globalização dos costumes e hábitos alimentares. Houve uma rápida difusão de alimentos como o *sushi* e o *sashimi*, anteriormente consumidos somente em países asiáticos. Esses pratos à base de pescado cru, em pouco tempo tornaram-se sinônimo de “comida saudável”. Locais especializados nesse tipo de culinária são cada vez mais frequentados nas cidades ocidentais. No entanto, já existe uma preocupação dos órgãos ligados à Saúde Pública com o crescente consumo desse tipo de alimento, principalmente, pelo fato de ser um produto altamente perecível, ser consumido “*in natura*”, resfriado e, principalmente, por necessitar de condições higiênico-sanitárias adequadas para sua preparação e conservação (VIEIRA et al., 2007).

No Brasil, o consumo de pescado “*in natura*” cresce a cada ano, sendo o peixe cru um produto cada vez mais consumido em estabelecimentos especializados. Nesse contexto, a culinária japonesa pode ser destacada como uma das principais responsáveis pelo maior consumo de pescado, inovando a forma de apresentação desse alimento, em regiões onde habitualmente não existia (SANTOS, 2006). Locais especializados em pratos tipo *sashimi* (que são pedaços finos de músculo de peixe servidos crus) e *sushi* (*sashimi* moldado sobre arroz fermentado) são cada vez mais frequentes nas grandes metrópoles ocidentais (LEAL, 1998). O *sashimi* é uma iguaria da culinária do Japão primariamente consistindo de frutos do mar bem frescos, cortados em fatias finas e servidos crus (WATANABE, 2005). O salmão (*Oncorhynchus* spp.) é um peixe da família *Salmonidae*, muito apreciado pela carne rosada, peculiar aos mares e rios europeus, utilizado também em aquicultura (STANSBY,



1968). É um dos pescados mais utilizados como matéria-prima pelos estabelecimentos especializados em culinária japonesa.

Por ser um alimento de fácil decomposição, o pescado exige cuidados especiais, notadamente os relacionados com a conservação pelo frio. Do mesmo modo, está sujeito à contaminação pelos mais variados microrganismos, adquiridos já no ambiente aquático, ou durante as diferentes etapas de captura, transporte e distribuição (GERMANO & GERMANO, 1998, RESENDE et al., 2009).

A inspeção sanitária é imprescindível no momento em que os barcos pesqueiros atracam. O desembarque do pescado e sua destinação devem ser avaliados pelos profissionais da inspeção, a fim de assegurar as boas condições higiênico-sanitárias dos peixes e frutos do mar capturados. É fundamental conhecer a procedência do pescado, se de pesca em alto mar ou costeira, em rios, lagos ou reservatórios, pois a mesma está relacionada diretamente aos níveis de contaminação das águas (GERMANO & GERMANO, 2008).

O consumo de peixe cru, sob forma de *sushi* e *sashimi*, ocorre em restaurantes de culinária exclusiva japonesa, mas é cada vez mais encontrado em restaurantes comerciais de auto-serviço por quilo ou rodízio. Como estes estabelecimentos não são especializados na culinária oriental, em alguns casos os *sushis* e *sashimis* são preparados com os mesmos utensílios e pelos mesmos colaboradores que manipulam os demais alimentos, aumentando o risco de contaminação do pescado cru. Além disso, os estabelecimentos nem sempre oferecem adequadamente o alimento, no que se refere à temperatura, local e tempo de exposição; oferecendo risco à saúde de quem o consome (MARTINS 2006).

## **2.2 O pescado como via de transmissão de agentes patogênicos**

As Doenças Transmitidas por Alimentos - DTA's constituem um grupo de enfermidades, na qual o alimento contaminado é o mais importante veículo do agente patogênico (PAIVA et al., 2000).

Em países onde são mantidos registros das doenças veiculadas por alimentos, o pescado contribui significativamente para os surtos relatados, variando de um país para outro, dependendo do clima, costumes da dieta e outras diferenças sociais (MOHAMED &

LAKSHMANAPERUMALSAMY, 1997). Em indivíduos imunocompetentes, essas doenças são geralmente auto-limitantes, como no caso de gastroenterites, porém pacientes imunodeprimidos podem apresentar sintomas mais graves e até chegar ao óbito, se as condições forem impropriamente diagnosticadas ou quando há uma doença preexistente (LIUSON, 2003).

A transmissão de agentes patogênicos pelo pescado tem sido relatada frequentemente (STOSKOPF, 1993). Dentre os fatores que contribuem para esse incremento, inclui-se a capacidade em diagnosticar doenças, o maior reconhecimento dos sintomas, a maior frequência de exposição a peixes contaminados, o aumento na contaminação de ambientes marinhos e o aumento da população de alto risco às doenças transmitidas por alimentos.

O pescado é um alimento de excelente qualidade nutricional; entretanto, a exemplo do que ocorre com outros alimentos, pode atuar como veículo de microrganismos patogênicos causadores de enfermidades, a maioria dos quais encontra-se no ambiente (MARTINS, 2006; GERMANO & GERMANO, 2008). Este alimento reúne, em seu estado fresco ou refrigerado, características intrínsecas necessárias ao desenvolvimento e sobrevivência de inúmeros patógenos. O pH próximo à neutralidade, elevada atividade de água (igual ou superior a 0,98), aliados ao seu teor de nutrientes, constituem exemplos destas características (ICMSF, 1980; APHA, 2001).

Problemas de contaminação podem ser detectados em diferentes níveis da prática da inspeção, ou seja, nos barcos, durante a descarga dos mesmos, na distribuição, durante a industrialização ou mesmo por ocasião do consumo, tanto dos produtos “*in natura*” como dos industrializados. Os peixes, como todos os animais, possuem suas enfermidades, algumas delas podem ser transmitidas ao homem, sob determinadas condições, através da manipulação dos mesmos ou mediante a ingestão do pescado (GERACE et al., 1987).

A microbiota normal dos peixes é, geralmente, encontrada em três regiões: no muco interno, nas guelras e no intestino. Os tecidos internos de um peixe saudável são estéreis, sendo que a contaminação nestes é indício de manipulação sem os devidos cuidados. Baixos índices de contaminantes encontrados nas guelras e na pele são comumente associados às águas limpas e frias, e os índices mais elevados às águas tropicais e áreas poluídas (WARD, 1994; CARDOSO et al., 2003; MORITA, 2005). Patógenos ou

indicadores de poluição fecal são raramente encontrados nos pescados recém-capturados. Após captura, a microbiota inicial é alterada pelo transporte, manipulação, contato com o gelo, superfície e equipamentos, estocagem e comercialização (CARDOSO et al. 2003).

A grande diversidade de seus produtos e sua extrema variação quanto à qualidade e tipo de técnica de elaboração utilizada pelas indústrias e serviços de alimentação, também podem determinar uma grande variedade microbiana. Em estudo realizado por Resende et al. (2009) analisando a qualidade microbiológica de *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes de Brasília no período de 2001 a 2004, observou-se que as fontes de contaminação do pescado estavam relacionadas principalmente à qualidade da matéria-prima e às condições e intensidade de manipulação.

Inúmeros pesquisadores atestam que o consumo de pescado cru, mal cozido, defumado a frio ou resfriado está, freqüentemente, associado a enfermidades como parasitoses, viroses, gastroenterites de origem bacteriana (YOSSEF et al., 1985; FREITAS 1993; MASSON e PINTO, 1998; HUSS et al., 2000; CDC, 2005; MARTINS, 2006; GERMANO & GERMANO, 2008).

Almeida et al. (2002) afirmam que a falta de boas práticas por parte de pescadores e empresários na cadeia produtiva do pescado é um fator determinante da contaminação que contribui de forma marcante para baixa qualidade do produto brasileiro, que chega ao consumidor com uma carga microbiana elevada.

### **2.3 Microrganismos em pescado**

Logo após ser capturado, o pescado sofre uma série de modificações bioquímicas, as quais poderão favorecer o crescimento e a multiplicação das bactérias, naturalmente presentes em sua microbiota. Se forem acrescidos a essas modificações, fatores externos tais como: capturas do pescado em águas poluídas, inobservância das condições ideais de refrigeração, manuseio e transporte, menor será o tempo de conservação do pescado. Sérios cuidados deverão ser observados pelos técnicos que lidam com pescado, principalmente no que diz respeito ao trinômio tempo - higiene - temperatura, fatores que, se não forem devidamente monitorados, comprometerão a boa qualidade desse alimento (VIEIRA, 2004).

Alguns microrganismos que podem contaminar o alimento são patogênicos, causando doenças em quem os consome. Outros não causam enfermidades nos seres humanos, mas são indicadores de condições higiênicas inadequadas, e sua presença sugere a existência de outros microrganismos patogênicos. Além disso, alguns microrganismos fazem parte da microbiota natural de peixes, mas, se ingeridos pelo homem, podem ocasionar doenças (BASTI et al. 2006).

Algumas bactérias patogênicas estão presentes naturalmente na água e no ambiente, como por exemplo, as espécies patogênicas de *Vibrio*. Estes patógenos podem, também ser encontrados em peixes vivos e em seus produtos crus (HUSS et al. 2000).

A contaminação com patógenos, como *Salmonella* e *E. coli*, pode ocorrer na pré ou pós-captura e pode oferecer risco ao consumidor, pois em alguns casos uma dose baixa é suficiente para provocar doença. Como consequência direta da manipulação inadequada, o *Staphylococcus aureus* encontrado nas mucosas e superfícies da pele de humanos, pode encontrar, no pescado, ambiente favorável para sua multiplicação (HUSS et al. 2000; MILLARD & ROCKLIFF, 2003; BASTI et al, 2006; MARTINS, 2006).

Figuram na legislação brasileira entre os parâmetros a serem observados em pratos prontos para o consumo, incluindo aí o *sashimi*, algumas dessas bactérias de interesse para saúde pública. São elas: os Coliformes a 45°C; Estafilococos coagulase positiva; *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* sp. (BRASIL, 2001).

### **2.3.1 Coliformes e *Escherichia coli***

Para avaliação microbiológica dos alimentos, alguns grupos de microrganismos são considerados importantes por serem indicadores gerais das condições higiênico-sanitárias, cuja presença em maior ou menor número é indício de qualidade da matéria-prima e do processamento realizado. É o caso do grupo dos coliformes, cuja presença está diretamente relacionada com falhas no processamento e contaminação fecal recente, evidenciando o risco de ocorrência de bactérias enteropatogênicas (OPAS/INPPAZ, 2005). A pesquisa destes microrganismos, como indicadores, deve-se ao fato de terem detecção e enumeração mais rápidas e com menor custo do que a pesquisa de cada enteropatógeno (JAY, 2000; FORSYTHE, 2002).

Os coliformes são bactérias Gram-negativas, anaeróbias facultativas em forma de bastonete, não esporogênicas. Os critérios utilizados para sua identificação são: a produção de gás proveniente da glicose (e outros açúcares) e a fermentação da lactose até a produção de ácido e gás em um período de 48 horas, á 35°C. Esses microrganismos estão amplamente distribuídos no ambiente, sendo encontrados no solo, na água, em plantas e no trato intestinal de seres humanos e animais. (SILVA et al., 2001; FORSYTHE, 2002; SILVA Jr., 2008).

O grupo de coliformes totais é composto por bactérias, entéricas ou não, da família Enterobacteriaceae, predominando os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. Como a maioria destes é encontrada no ambiente, onde permanecem por tempo superior ao das bactérias patogênicas de origem intestinal, a presença de coliformes totais num alimento não indica necessariamente a contaminação fecal recente. Portanto, a contagem de coliformes fecais fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (JAY, 2000; FORSYTHE, 2002; MARTINS, 2006).

Os coliformes termotolerantes, também denominados fecais ou á 45°C, são um subgrupo dos coliformes totais, definidos como aqueles capazes de fermentar a lactose com produção de gás, no período de 48 horas, á 45°C. Este grupo inclui pelo menos três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais os dois últimos incluem também cepas de origem não fecal (SILVA, 2001; FORSYTHE, 2002; MARTINS, 2006). *E. coli* é a principal bactéria representante do grupo dos coliformes fecais. É considerada a indicadora mais específica de contaminação fecal recente e da eventual presença de microrganismos patogênicos (BRASIL, 2004).

Enquanto a maioria das cepas de *E. coli* não causam doenças no homem, algumas cepas possuem fatores de virulência. Estes podem causar infecções intestinais e urinárias, septicemias, meningites entre outros tipos de infecções. *E. coli* causadoras de gastroenterites podem ser divididas de acordo com os sintomas clínicos e com os mecanismos da patogenicidade nos seguintes grupos: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC); *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC); *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) e *E. coli* difusamente adesiva (DAEC) (FORSYTHE, 2002; VIEIRA, 2004; GERMANO & GERMANO, 2008).

Em onze amostras de pescado provenientes de São José do Rio Preto, São Paulo, Hoffmann et al. (1999) verificaram a presença de nove amostras em desacordo com a legislação e também foram confirmadas duas amostras com a presença de *E. coli*. Silva et al. (2002), avaliando a qualidade de amostras de pescado comercializado em Maceió, Alagoas, verificou a presença de *E. coli* em 15% de amostras e 55% com coliformes fecais acima dos padrões legais. Agnese et al. (2001) avaliaram as condições higiênico-sanitárias de 26 amostras de pescado fresco comercializado num município do Rio de Janeiro, e observaram que todas as amostras estavam de acordo com o preconizado pela legislação vigente para coliformes fecais, e isolaram *E. coli* em 34,6% das amostras.

Moura Filho et al. (2007) analisando *sashimis* de atum comercializados na região metropolitana do Recife, relatam que, apesar de verificar a presença de coliformes termotolerantes, nenhuma das amostras excedeu o limite máximo estabelecido pela RDC 12/2001, porém em duas das 30 amostras foi detectada *E. coli*.

### **2.3.2 *Staphylococcus* spp.**

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, imóveis, agrupados de forma irregular ou semelhante a cachos de uva, pertencentes à família *Micrococcaceae*. Anaeróbios facultativos, fermentam glicose com produção de ácido, tanto em aerobiose como em anaerobiose, o que os diferencia dos microrganismos do gênero *Micrococcus*, que só a fermentam em aerobiose. Tradicionalmente, os estafilococos são divididos em duas categorias: coagulase positivos e coagulase negativos. Essa divisão está baseada na capacidade de coagular o plasma, considerada uma importante propriedade associada com a patogenicidade. Algumas cepas produzem enterotoxina termoestável, responsável no homem, pelos quadros de intoxicação alimentar (ICMSF, 1980; FDA, 1998; FORSYTHE, 2002; VIEIRA, 2004; SANTOS, 2006).

As bactérias desse gênero são mesófilas, apresentando temperatura de crescimento na faixa de 7°C a 47,8°C, com o ótimo na faixa de 30°C e 37°C, enquanto suas enterotoxinas são produzidas preferentemente entre 40-45°C. Enterotoxinas termorresistentes são produzidas em alimentos que permanecem neste intervalo de temperatura por período superior a quatro horas. O *Staphylococcus aureus* apresenta grande

importância em saúde pública, em particular na área de vigilância sanitária de alimentos. Além de ser um dos mais frequentes causadores de surtos de toxinfecção alimentar, pode muitas vezes dar origem a infecções assintomáticas devido ao seu alto poder colonizador em diferentes regiões do organismo. (VIEIRA, 2004; FDA, 2005; MARTINS, 2006; GERMANO & GERMANO, 2008).

A presença de *Staphylococcus aureus* no pescado ocorre, predominantemente, através de manipulação. Pessoas que manuseiam o pescado podem carrear a bactéria em suas mãos, cavidade oral e mucosa nasal e, durante o processamento podem contaminar o pescado, sem que este sofra modificações em sua aparência ou sabor. Ainda podem estar presentes no ar, poeira, esgoto, água, e em variadas superfícies e equipamentos que tenham entrado em contato com portadores (FORSYTHE, 2002; VIEIRA, 2004; GERMANO & GERMANO, 2008).

Os alimentos que requerem considerável manipulação para seu preparo e que permanecem em temperatura ambiente abusiva e por tempo prolongado, após a preparação, são considerados de alto risco (AYULO et al. 1994). A intoxicação é provocada pela ingestão do alimento com a toxina pré-formada. O período médio de incubação é de duas a quatro horas, e os sintomas variam com o grau de suscetibilidade do indivíduo, concentração da enterotoxina no alimento e quantidade ingerida. Os principais sintomas são náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia e sudorese, e a recuperação dá-se, na maior parte dos casos, em 24 a 48 horas (BRASIL, 1998; APHA, 2001; SILVA Jr, 2008).

A pesquisa de *S. aureus* em alimentos permite avaliar a qualidade higiênico-sanitária dos processos de produção de alimentos, servindo como indicador de contaminação pós-processo (SILVA et al., 2001). A produção de coagulase é uma importante característica utilizada na identificação do *S. aureus*, portanto a legislação brasileira indica a pesquisa de estafilococos coagulase positiva como indicativo de *S. aureus* (BRASIL, 2001; MARTINS, 2006).

Em relação a preparações com pescado, Albuquerque et al. (1997) analisaram *sushis* provenientes de estabelecimentos de Fortaleza, verificando a presença de estafilococos coagulase positiva em 57% (17/30) das amostras, sendo que 13 delas ultrapassaram a contagem permitida. Martins (2006) avaliando 20 amostras de *sushi* e *sashimi*, oriundos de estabelecimentos no município de São Paulo, obteve resultado positivo para *S. aureus* em

nove amostras, sendo três com contagem acima de  $10^3$  UFC/g. Resultado semelhante foi encontrado por Vieira et al. (2007) em 32 amostras de *sashimi* analisadas. Ao contrário, Resende et al (2009), relatam que das 87 amostras analisadas de *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes de Brasília, apenas uma apresentou índice de estafilococos coagulase positiva acima do limite máximo permitido, sendo esta uma amostra de *sashimi* de salmão.

### 2.3.3 *Salmonella* sp.

O gênero *Salmonella*, pertencente à família Enterobacteriaceae, é constituído por bactérias Gram-negativas, geralmente móveis, não formadoras de esporos, anaeróbias facultativas, não-fermentadoras de lactose e produtoras de gás sulfídrico. Crescem no intervalo de temperatura entre 5°C e 47°C, sendo a ótima entre 35°C e 37°C, e pH entre 4,0 e 9,0, sendo ideal 7,0. O gênero *Salmonella* possui duas espécies: *S. entérica*, com seis subespécies, e *S. bongori*. As espécies e subespécies incluem 2375 sorotipos (sorovares) descritos, baseados nos antígenos somáticos e flagelares. Amplamente distribuídas na natureza, seus principais reservatórios naturais são o trato intestinal de mamíferos, aves e répteis. Podem alcançar o ambiente aquático através da contaminação fecal e, desta forma serem detectadas em peixes e produtos pesqueiros (FORSYTHE, 2002; FRANCO & LANDGRAF, 2004; VIEIRA, 2004; OPAS/INPPAZ, 2005).

A contaminação de alimentos de origem marinha por bactérias Gram-negativas patogênicas ao homem é de grande interesse do ponto de vista da saúde pública. Nos Estados Unidos da América, salmonelas não-tifóides têm sido associadas a peixes e crustáceos, enquanto *S. paratyphi* a camarão e moluscos bivalves (VIEIRA, 2004).

Como o calor é eficiente na destruição desta bactéria, alimentos submetidos a altas temperaturas não costumam oferecer risco. A transmissão de *Salmonella entérica* ao homem ocorre pela ingestão de alimentos, sobretudo de origem animal, insuficientemente cozidos ou crus (carnes, ovos, leite). Aliado a esta condição, a falta de higiene dos locais de armazenamento e processamento, de utensílios e de equipamentos, bem como a falta de treinamento dos manipuladores em boas práticas de fabricação, constituem fatores



determinantes em surtos de salmonelose (FRANCO & LANDGRAF, 2004; GERMANO & GERMANO, 2008; SILVA Jr., 2008).

*S. tify* e *S. paratyphi* A, B e C geralmente causam bacteremia e produzem febre tifóide ou febre entérica em seres humanos. A dose infectante é menor que 15-20 células, de acordo com a idade e o estado de saúde do hospedeiro (OPAS/INPPAZ, 2005). Entretanto, o sorotipo predominante causador de infecções alimentares em vários países tem sido *S. Enteritidis*. Os sintomas característicos de doenças de origem alimentar causadas pela maioria dos sorovares não-tifóides de *Salmonella* incluem: diarreia, náusea, dor abdominal, febre branda e calafrios, algumas vezes vômitos, dor de cabeça e fraqueza. O período de incubação é de cerca de 16 a 72 horas. A enfermidade é, normalmente, auto-limitante e persiste por até sete dias. A pessoa infectada excretará grandes quantidades de *Salmonella* pelas fezes durante o período da doença. O número de salmonelas nas fezes decresce rapidamente, porém, em alguns casos excepcionais (portadores assintomáticos) continuará por até três meses (FORSYTHE, 2002).

Nos Estados Unidos da América a incidência de *Salmonella* no período de 1990 a 1998, em 11.312 produtos pesqueiros provenientes de importação e 768 de origem local, foi de 10,0% e 2,8%, respectivamente. Nas amostras de pescados consumidos crus, a taxa de *Salmonella* encontrada foi de 1% em ostras, 3,4% em moluscos e 12,2% em peixes crus (HEINITZ et al, 2000). Já Vieira et al. (2007) em 32 amostras de *sashimi* analisadas, provenientes de restaurantes da cidade de Fortaleza, encontraram seis positivas para *Salmonella* sp. , demonstrando o risco oferecido por esses produtos.

#### **2.3.4 *Vibrio parahaemolyticus***

O gênero *Vibrio* foi apontado pelo Comitê do Codex sobre Higiene dos Alimentos (CCFH) como um importante patógeno que representa ameaça potencial para saúde pública, tendo sido formulado um documento sobre estratégias de gestão de risco para esses microrganismos em frutos do mar. O Comitê sugeriu, ainda, que o foco inicial fosse *Vibrio parahaemolyticus* em peixes e mariscos (CCFH, 2002).

Em número suficiente, o *V. parahaemolyticus* causa uma gastroenterite aguda que é auto-limitante, porém, casos mais graves necessitam de hospitalização e, em raras ocasiões,

pode ocorrer septicemia. É reconhecido que a população em geral é suscetível à infecção por este microrganismo. As DTA's causadas pelo *V. parahaemolyticus* têm sido associadas com o consumo de crustáceos, lagostas, camarão, peixe-bolas, mexilhão, atum, lulas, ouriços-do-mar, sardinha, salada de frutos do mar e carne de caranguejo cozinhada/fervida. Estes produtos incluem frutos do mar crus ou mal cozidos, e ainda produtos cozidos e que tenham sido recontaminados. Nos países em que o *V. parahaemolyticus* é endêmico, as doenças ligadas à bactéria têm aumentado e, portanto, há o potencial para um impacto significativo sobre a saúde pública, devido aos produtos da pesca contaminados (CCFH, 2002).

O gênero *Vibrio* pertence à família *Vibrionaceae*. Existem muitas espécies patogênicas ao homem, mas *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* são as mais importantes. *Vibrio parahaemolyticus* é uma bactéria Gram-negativa e que se apresenta na forma de bastonetes curtos. Móvel, apresenta flagelo polar. É anaeróbio facultativo. Seu crescimento ocorre melhor em pH alcalino entre 7,5 e 8,5 e a temperatura ótima se encontra entre 35°C e 37°C. Apresenta halofilismo restrito, exigindo um mínimo de 1% de cloreto de sódio para seu crescimento. A concentração mais favorável de NaCl para o desenvolvimento de *V. parahaemolyticus* é de 2 a 4% em uma temperatura de 37°C, sendo 8% a concentração máxima tolerada por essa bactéria (VIEIRA, 2004; OPAS/INPPAZ, 2005).

*V. parahaemolyticus* é reconhecido como o maior causador de gastroenterites de origem alimentar no Japão. Isso porque o microrganismo é associado com o consumo de alimentos marinhos, os quais são parte significativa da dieta nesse país. Os sintomas típicos de doença alimentar causada por *V. parahaemolyticus* são: diarréias, dores abdominais, náuseas, vômitos, dores de cabeça, febre e tremores. O período de incubação é de 4 a 96 horas após a ingestão do microrganismo, sendo a média de 15 horas. A doença é normalmente branda ou moderada, embora alguns casos possam necessitar de hospitalização. Em média, os sintomas duram cerca de três dias (FORSYTHE, 2002). Sabe-se que a gastroenterite causada pelo *V. parahaemolyticus* é conseqüente a ação da hemolisina termoestável direta (Tdh), hemolisina termoestável relacionada com Tdh (Trh) e/ou Urease. A hemolisina Tdh causa beta-hemólise em meio Wagatsuma, fenômeno conhecido como

Kanagawa-positivo (KP+), o qual é empregado como teste para avaliar se a cepa tem potencial patogênico (FRANCO & LANDGRAF, 2004).

*V. parahaemolyticus* ocorre em águas de estuários de todo o mundo, sendo facilmente encontrado em águas costeiras, no sedimento, em partículas suspensas, plâncton e uma variedade de peixes e frutos do mar. O organismo está presente, normalmente, em quantidade inferior a  $10^3$  UFC/g em peixes e frutos do mar, exceto em águas mornas, onde a contagem pode aumentar até  $10^6$  UFC/g. Existe uma correlação entre a probabilidade de infecção e os meses mais quentes do ano. A bactéria é bastante sensível ao calor, e os surtos devem-se, frequentemente, a processos de manipulação inadequados e a abusos de temperaturas. Nem todas as cepas de *V. parahaemolyticus* são patogênicas, ou seja, Kanagawa-positivo (KP+) (FORSYTHE, 2002; VIEIRA, 2004; OPAS/INPPAZ, 2005).

O controle desse microrganismo pode ocorrer por meio da prevenção de sua multiplicação após a pesca, pelo resfriamento ( $< 5^{\circ}\text{C}$ ) e pela cocção com temperatura interna maior que  $65^{\circ}\text{C}$ . A prevenção de toxinfecção por *V. parahaemolyticus* é muito difícil nos países onde o hábito de consumir pescado cru ou insuficientemente cozido é cultural (GERMANO & GERMANO, 2008).

Na Nova Zelândia, os produtos incluídos como de risco para presença de *V. parahaemolyticus* são principalmente os peixes (83%), seguido por moluscos (11%) e crustáceos (6%) (LAKE et al., 2003). Já no Japão, quase metade (49%) dos alimentos encontrados com a presença de contaminação pelo microrganismo foram *sashimi* (26%) e *sushi* (23%) (CCFH, 2002). No Brasil, Pereira et al. (2007), encontraram *V. parahaemolyticus* em 11,6% de 86 amostras de mexilhões (*Perna perna*) comercializados em Niterói – Rio de Janeiro.

## **2.4 Serviços de alimentação e a segurança alimentar**

A contaminação microbiológica de alimentos tem desencadeado constantes mudanças nos procedimentos de controle higiênico-sanitário na produção de alimentos. Há muitos anos, os profissionais da área de alimentos têm se preocupado com o estudo das doenças de origem alimentar. Neste sentido, nota-se que na década de 90 ocorreram as principais mudanças na legislação, na conscientização dos empresários e nas condutas dos

técnicos e manipuladores de alimentos. Nesta década, portarias importantes foram elaboradas, como a 1428 e 326, ambas do Ministério da Saúde. As mudanças na legislação propiciaram uma modernização nos procedimentos de Vigilância Sanitária dos Estados e Municípios, fazendo com que a fiscalização dos alimentos tenha se tornado mais eficaz e objetiva no controle dos principais pontos críticos. A legislação também provocou adequação nos procedimentos de manipulação das indústrias e dos estabelecimentos que preparam e servem alimentos, promovendo alterações técnicas para tornar a manipulação dos alimentos mais segura do ponto de vista higiênico-sanitário. Estas mudanças alcançaram também a conscientização dos empresários, que estão entendendo a necessidade de investir em programas de pré-requisitos básicos para adequação dos estabelecimentos, e também melhorarem as condições técnicas envolvendo a adequação dos critérios de tempo e temperatura, os quais são fundamentais para o controle dos surtos de DTA's, ou seja, "há necessidade de tornar a manipulação mais higiênica e os processos mais seguros". Todas estas mudanças levaram a definição de metodologias mais modernas e precisas no controle higiênico-sanitário dos alimentos, como a aplicação do método "5S", elaboração dos "manuais de boas práticas de manipulação e processamento", a implantação dos "princípios do APPCC" ou em situações mais complexas a implantação do "Sistema APPCC" (SILVA Jr., 2008).

Estabelecimentos que comercializam alimentos pertencem a um setor que vem crescendo a cada dia no Brasil, porém essa expansão tem impacto no registro das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's). Este fato mostra a importância dos órgãos de saúde pública responsáveis pela fiscalização e normatização deste segmento. Neste universo, encontramos estabelecimentos que vão desde a simples cafeteria, passando pelas lanchonetes, restaurantes, até as cozinhas industriais e os supermercados. Os restaurantes especializados na culinária japonesa fazem parte deste segmento incluído na legislação brasileira (SILVA Jr., 2008).

O controle de qualidade no serviço de alimentação é muito importante e deve ser abrangente, havendo a necessidade de se definir as situações básicas que envolvem a preparação dos alimentos, como as técnicas de preparo que definem as necessidades culinárias dos vários tipos de alimentos, as regras e técnicas adequadas para preparar alimentos em condições de segurança higiênico-sanitárias e as instruções de ensino teórico

e prático para desenvolver as técnicas operacionais com manipulação e processamento seguro para não ocorrerem DTAs (SILVA Jr., 2008).

Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS/MS), os alimentos preparados são um dos principais responsáveis por toxinfecções alimentares no país. Estas doenças, além de ocasionarem danos de saúde do consumidor, também podem prejudicar a credibilidade dos estabelecimentos, gerando gastos com indenizações, tratamentos médicos e, até mesmo, autuação e prisão dos responsáveis, entre outras penalidades (BENEVIDES e LOVATTI, 2004).

A Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA) da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde recebeu de 1999 a 2006 a notificação de 5327 surtos, onde 18% destes ocorreram em restaurantes e os agentes etiológicos mais frequentes foram: *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (CARMO, 2007).

Dentre os fatores que contribuem para ocorrência de surtos de doenças de origem alimentar, destaca-se: a falta de higiene pessoal, o contato do alimento com manipuladores infectados, a contaminação cruzada, o processamento irregular do alimento, a limpeza inadequada dos equipamentos e utensílios e a utilização de alimentos insalubres (GERMANO & GERMANO, 2008; SILVA Jr., 2008).

#### **2.4.1 Boas práticas nos serviços de alimentação**

No Brasil algumas das legislações mais modernas e que se aplicam aos serviços de alimentação são: a Portaria 1428, publicada em 1993 pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 1993) que aprova o "Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos", as "Diretrizes para o Estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos", e o "Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ's) para Serviços e Produtos na Área de Alimentos"; e a Resolução RDC nº 216, publicada em 2004, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004) que dispõe sobre o "Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação" e objetiva estabelecer procedimentos de Boas Práticas para serviços de alimentação a fim de garantir as condições higiênico-sanitárias do alimento

preparado. Cabe à Vigilância Sanitária, a fiscalização deste tipo de estabelecimento no cumprimento das legislações, objetivando a segurança do alimento comercializado. O estado do Rio Grande do Sul, complementarmente à legislação federal, publicou a Portaria nº 78, de 28 de janeiro de 2009, a qual “Aprova a Lista de Verificação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação, aprova Normas para Cursos de Capacitação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação e dá outras providências” (RIO GRANDE DO SUL, 2009).

Segundo a legislação aplicável a este tipo de estabelecimento, Boas Práticas são: procedimentos que devem ser adotados por serviços de alimentação a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade dos alimentos com a legislação sanitária (BRASIL, 2004).

Os serviços de alimentação devem dispor de Manual de Boas Práticas e de Procedimentos Operacionais Padronizados. Esses documentos devem estar acessíveis aos colaboradores envolvidos e disponíveis à autoridade sanitária, quando requerido. O Manual de Boas Práticas é um documento que descreve as operações realizadas pelo estabelecimento, incluindo, no mínimo, os requisitos higiênico-sanitários dos edifícios, a manutenção e higienização das instalações, dos equipamentos e dos utensílios, o controle da água de abastecimento, o controle integrado de vetores e pragas urbanas, a capacitação profissional, o controle da higiene e saúde dos manipuladores, o manejo de resíduos e o controle e garantia de qualidade do alimento preparado (BRASIL, 2004).

Silva Junior (2008) salienta que o Manual de Boas Práticas é um descritivo das rotinas para garantir o controle higiênico-sanitário dos alimentos e que não existe serviço de alimentação que não seja orientado por um manual; mas a simples existência do manual sem o treinamento para implantação das rotinas técnicas, não resolve o problema da contaminação. Alguns itens básicos para elaboração do manual de boas práticas e para as diretrizes da inspeção sanitária incluem:

- Responsabilidade técnica;
- Controle de saúde dos colaboradores;
- Controle da água para o consumo;
- Controle das matérias-primas;
- Controle integrado de pragas

- Visitantes;
- Estrutura dos estabelecimentos;
- Higiene;
- Manipulação;
- Transporte.

As BPF, junto com a identificação de pontos críticos no processamento de pescado, desde a recepção, distribuição até o comércio e preparação, são pontos fundamentais para o controle de qualidade, pois falhas nestas etapas podem oferecer risco à saúde humana (ALMEIDA; ARRUDA et al; TRIGO apud SILVA, 2008). A primeira operação importante dentro de uma cozinha diz respeito ao recebimento da matéria-prima “*in natura*” e seu imediato armazenamento a temperaturas de  $-15^{\circ}\text{C}$  ou inferiores, para conservação prolongada, ou entre  $-5^{\circ}\text{C}$  e  $0^{\circ}\text{C}$ , por no máximo 72 horas. O congelamento é uma prática importante, pois, inibe, parcial ou totalmente, a ação prejudicial dos microrganismos e das enzimas, porém, sua adequada utilização depende do tipo de pescado. Temperaturas muito baixas, por muito tempo, podem causar alterações marcantes no sabor e na cor de peixes e frutos do mar. Portanto, o pescado deve ser adquirido na quantidade suficiente para atender a uma refeição, evitando-se grandes estoques, sendo o ideal a aquisição de peixe cortado em filés congelados. Outra regra que deve ser respeitada é a relacionada com o preparo. Manipulação, tempero e consumo devem ser, sempre que possível, realizados no prazo máximo de 24 horas, a fim de impedir a decomposição e, principalmente, diminuir a possibilidade de contaminação cruzada (GERMANO & GERMANO, 2008).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste trabalho foram feitas inspeções sanitárias juntamente com a Equipe de Vigilância de Alimentos da Secretaria Municipal de Saúde do município de Porto Alegre em restaurantes especializados em culinária japonesa, onde foram colhidas amostras de preparações de *sashimi* servidas no estabelecimento e aplicado o check-list da legislação sanitária, adaptado pela Equipe de Vigilância de Alimentos (APÊNDICE A).

#### 3.1 Estabelecimentos e delineamento do estudo

Foram incluídos no estudo apenas estabelecimentos já licenciados e que serviam exclusivamente comida japonesa. Em levantamento prévio realizado junto à Equipe de Vigilância de Alimentos, existiam até o final do mês de maio de 2009, seis restaurantes que obedeciam a esse perfil. De acordo com os aspectos éticos da pesquisa, foi garantido o sigilo da identificação dos estabelecimentos comerciais de coleta.

Para o cálculo do tamanho de amostra de preparações *sashimi*, considerou-se uma média estimada de produção de 4000 *sashimis*/dia, uma prevalência estimada de *V. parahaemolyticus* de 15%, segundo dados de bibliografia (HKSAR et al., 2000; SANTOS, 2006; PEREIRA et al., 2007; LAKE et al., 2009) e um intervalo de confiança de 95%. A partir disso, determinou-se que seria necessária a coleta de 18 amostras em cada um dos estabelecimentos, perfazendo 108 amostras analisadas.

#### 3.2 Coletas das amostras

As coletas foram feitas entre os meses de novembro de 2009 e abril de 2010, sempre nas segundas-feiras à noite, entre as dezoito e vinte e uma horas, tendo em vista que nem todos os restaurantes abriam no horário de almoço.

Após a chegada ao estabelecimento, a Equipe de Vigilância de Alimentos se identificava e iniciava a aplicação do "check-list". A seguir, eram aferidas as temperaturas de exposição dos alimentos, utilizando um termômetro digital com mira infravermelha da marca Minipa MT-350, com faixa de medição de -30°C a 550°C e com precisão de +/-2°C.



A temperatura constatada foi resultante de uma média de três medições realizadas em pontos distintos do pescado no interior do equipamento. Foi respeitada a mesma distância de aferição em cada coleta de dados, e utilizado o mesmo termômetro.

Por fim eram colhidas as 18 amostras de preparações que estavam sendo realizadas. Cada amostra de preparação era composta de três *sashimis* e acondicionada em saco plástico estéril próprio para coleta de alimentos. Imediatamente após a coleta, o saco era fechado, identificado com a letra atribuída para o estabelecimento e o respectivo número da amostra (um a dezoito), e logo acondicionado em caixa térmica com gelo reciclável. As amostras permaneciam em equipamento de refrigeração com temperatura monitorada entre 2 e 5°C até a manhã do dia seguinte, quando eram levadas ao laboratório para serem processadas. O tempo transcorrido entre a coleta e o processamento foi de aproximadamente 12 horas.

### **3.3 Aplicação do check-list**

A Equipe de Vigilância de Alimentos da Secretaria Municipal de Saúde do município de Porto Alegre, baseado na legislação vigente, elaborou um check-list, composto por 91 ítems, o qual foi utilizado como padrão nas vistorias dos estabelecimentos constantes nesse estudo (APÊNDICE A). As avaliações higiênico-sanitárias foram divididas em oito blocos:

1. Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios;
2. Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios;
3. Controle integrado de pragas/manejo de resíduos;
4. Abastecimento de água;
5. Manipuladores;
6. Controle da temperatura e do tempo, matérias-primas, ingredientes e embalagens/preparação do alimento;
7. Armazenamento e transporte do alimento preparado;
8. Exposição ao consumo do alimento preparado.

Todos os itens foram avaliados de acordo com a adequação/inadequação com a legislação. A pontuação de cada bloco foi calculada atribuindo-se 1 (um) ponto para cada

item inadequado, sobre o total de itens por bloco e calculou-se a porcentagem (%) de adequação do estabelecimento. Utilizou-se o seguinte critério de classificação: adequado (A), acima de 75%; adequado com restrição (AR), entre 50% e 75%; e inadequado (I), abaixo de 50% de adequação.

### 3.4 Análises microbiológicas

As metodologias para amostragem, colheita, acondicionamento, transporte e para análise microbiológica de amostras de produtos alimentícios obedeceram ao disposto pelo Codex Alimentarius; "International Commission on Microbiological Specifications for Foods" (I.C.M.S.F.); "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" e "Standard Methods for the Examination of Dairy Products" da American Public Health Association (APHA); "Bacteriological Analytical Manual" da Food and Drug Administration, editado por Association of Official Analytical Chemists (FDA/AOAC), em suas últimas edições e revisões (BRASIL, 2001).

Foram pesquisados todos os microrganismos citados pela RDC 12/01 da ANVISA, em seu item 22 para "Pratos Prontos para o Consumo" (alimentos prontos de cozinhas, restaurantes e similares) - a base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, *sushi*, *sashimi*, etc.). São eles: Coliformes a 45°C/g; Estafilococos coagulase positiva/g; *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* sp/25g.

De acordo com resolução citada, para interpretação dos resultados temos que: "são considerados produtos em condições sanitárias satisfatórias aqueles cujos resultados analíticos estão abaixo ou igual aos estabelecidos para amostra indicativa ou amostra representativa. Já produtos em condições sanitárias insatisfatórias são aqueles cujos resultados analíticos estão acima dos limites estabelecidos para amostra indicativa ou amostra representativa, e/ou aqueles cujos resultados analíticos demonstram a presença ou a quantificação de outros microrganismos patogênicos ou toxinas que representem risco à saúde do consumidor."

No Quadro 1 estão apresentadas as tolerâncias para alimentos prontos para o consumo à base de pescado cru que foram utilizadas como parâmetro para análise.

**Quadro 1.** Quantidade de microrganismos tolerada para pratos prontos para o consumo à base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, sushi, *sashimi*, etc.), segundo RDC 12/01 da ANVISA.

<b>Grupo de Alimento</b>	<b>Microrganismo</b>	<b>Tolerância para amostra indicativa<sup>A</sup></b>
Pratos prontos para o consumo à base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, sushi, <i>sashimi</i> , etc.)	Coliformes Termotolerantes	$\leq 10^2$ UFC/g
	Estafilococos coagulase positiva	$\leq 5 \times 10^3$ UFC/g
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	$\leq 10^3$ NMP/g
	<i>Salmonella</i> sp	Ausência/25 g

<sup>A</sup> Quantidade de microrganismos, em número mais provável por grama (NMP/g) ou unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).  
Fonte: Brasil, 2001.

### 3.4.1 Preparação das amostras para análise

Esta etapa foi realizada conforme Silva, Junqueira & Silveira (2001). A área externa da embalagem onde estavam acondicionadas as amostras foi desinfetada com álcool 70° antes da sua abertura. Com auxílio de uma pinça e tesoura estéreis foram retiradas a porção (25g) requerida para análise.

Uma amostra de 25g do alimento foi inoculada em 225 mL de água peptonada tamponada 1% e homogeneizada durante 60 segundos em *stomacher*, sendo esta a diluição  $10^{-1}$ . A partir da diluição inicial, efetuaram-se as demais diluições ( $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ) em água peptonada tamponada 1%.

### 3.4.2 Avaliação da presença de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes

Alíquotas de 1mL de cada diluição em duplicata, foram distribuídas na superfície de placas de Petri estéreis. Adicionou-se Ágar Vermelho Violeta Bile (VRBA, (Biobrás) previamente fundido, fazendo a homogeneização cuidadosa e posterior repouso para

solidificação. Após adicionou-se sobrecamada de cerca de 10mL de VRBA, previamente fundido e incubou-se as placas por 18 – 24 á 37°C.

Para confirmação de Coliformes a 45°C foram selecionadas cinco colônias típicas que foram inoculadas em tubos contendo caldo EC (*Escherichia Coli*, Merck) e incubadas em banho-maria a 44,5°C por 24–48 horas. Consideraram-se positivas as reações dos tubos que tiveram turvação do meio e formação de gás no interior do tubo Durham invertido.

Para o cálculo do número de coliformes totais e termotolerantes o seguinte cálculo foi efetuado: número de colônias contadas na placa x % de colônias confirmadas x o inverso da diluição utilizada para contagem.

### **3.4.3 Avaliação da presença de Estafilococos coagulase positiva**

A partir das diluições preparadas, foram inoculadas alíquotas de 0,1 mL na superfície de placas de ágar Baird-Parker (Merck). Com alça de Drigalski flambada em álcool, o inóculo foi espalhado em toda superfície do ágar. Após, as placas foram incubadas invertidas á 37°C por 48 horas.

Para contagem das colônias presuntivas foram selecionadas placas com 20 a 200 colônias e foram contadas as colônias típicas de *Staphylococcus*: colônias negras, circulares, pequenas (máximo 1,5mm de diâmetro), lisas, convexas, com bordas perfeitas, massa de células esbranquiçadas nas bordas, rodeadas por zona opaca e/ou halo transparente se estendendo para além da zona opaca. Cinco colônias típicas foram submetidas à confirmação pela prova da coagulase.

A prova da coagulase foi realizada em tubo de ensaio contendo plasma de coelho e igual volume de uma cultura de 18 horas das colônias típicas em Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI, Merck). Após a homogeneização os tubos foram incubados á 37°C e observados a cada hora. A formação de coágulos após 2 até 24 horas de incubação era interpretada como uma prova positiva. A ausência de coagulação após 24 horas de incubação foi considerada uma prova negativa.

#### 3.4.4 Avaliação da presença de *Salmonella* sp.

A metodologia de análise da presença de *Salmonella* sp. adotada para este trabalho compreendeu as seguintes etapas: pré-enriquecimento das alíquotas de 25g de amostra em água peptonada tamponada incubada a 37°C durante 18-24h; enriquecimento seletivo onde alíquotas de 100 µL do pré-enriquecimento foram semeadas em Caldo Rappaport-Vassiliadis (Merck) e incubados a 42°C durante 24h. Paralelamente, alíquotas de 1mL foram semeadas em Caldo Tetracionato que foi igualmente incubado a 42°C durante 24h; isolamento em meio sólido, onde alíquotas de cada um dos meios de enriquecimento foram semeadas nos meios Ágar Verde Brilhante Lactose Sacarose (BPLS, Merck) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD, Merck). Os meios foram incubados a 37°C durante 24-48h. Colônias típicas e suspeitas de *Salmonella* sp. foram confirmadas por testes bioquímicos e aglutinação com anti-soro somático (PROBAC), de acordo com Silva, Junqueira & Silveira (1997).

#### 3.4.5 Avaliação da presença de *Vibrio parahaemolyticus*

Para a estimativa da população de *Vibrio parahaemolyticus* através do número mais provável (NMP) foram, inicialmente inoculadas 10 mL da diluição 10<sup>-1</sup> realizada em água peptonada tamponada, em uma série de três tubos contendo 10 mL de água peptonada alcalina (APW - pH 8,5 ± 0,2, contendo 3% de NaCl) em concentração dupla.

Ao lado disso, 1 mL da diluição 10<sup>-1</sup> foi semeada em 3 tubos com 10 mL de APW e 0,1 mL em 3 tubos com 10 mL de APW. Todos os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas. Após, alíquotas dos caldos foram semeadas em Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS, Merck), e incubadas a 35 ± 2°C por 24 horas.

Colônias presuntivas de *V. parahaemolyticus* (arredondadas, opacas e com coloração azul-esverdeado) foram repicadas em Ágar Tripticaseína de Soja (TSA, Merck). Após incubação por 24 horas a 35 ± 2°C, as colônias foram submetidas à prova de oxidase e provas bioquímicas de acordo com Brasil (2003).

### 3.5 Análises estatísticas

Os dados foram analisados por estatística descritiva com distribuição de frequência absoluta e relativa dos microrganismos pesquisados e dos dados avaliados nos estabelecimentos visitados. Para avaliar a associação entre os restaurantes e o percentual de contaminação por Coliformes Fecais e também de inadequação dos itens do check-list foi aplicado o teste qui-quadrado de Pearson. Para verificar onde estavam as associações encontradas pelo teste qui-quadrado, o teste dos resíduos ajustados foi utilizado. Além disso, foi aplicado o coeficiente de correlação de Spearman para avaliar as associações entre o percentual de contaminação por Coliformes a 45°C com o percentual de inadequação dos itens selecionados do check-list (22 itens apontados com um X no Apêndice A) e do percentual de contaminação por Coliformes a 45°C com a temperatura do pescado. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p \leq 0,05$ ) e as análises foram realizadas no programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 17.0.

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Análise dos check-lists**

A porcentagem de conformidade geral dos restaurantes vistoriados variou de 80,65% (restaurante D) a 60,22% (restaurante C). Nenhum dos restaurantes foi considerado inadequado na avaliação global dos itens, de acordo com a metodologia utilizada. Três deles (A, D e E) foram considerados adequados e os outros três (B, C e F) foram aprovados com restrições. Na Tabela 1 estão apresentados os dados referentes ao total de itens não atendidos, por bloco, em cada um dos estabelecimentos.

**Tabela 1.** Número (%) de itens constantes na legislação vigente não atendidos por bloco analisado, em seis restaurantes japoneses de Porto Alegre, 2009 - 2010.

Restaurante	Bloco 1 (n=19)	Bloco 2 (n=11)	Bloco 3 (n=7)	Bloco 4 (n=4)	Bloco 5 (n=8)	Bloco 6 (n=32)	Bloco 7 (n=6)	Bloco 8 (n=5)	Total (n=91)
<b>A</b>	12* (63,2%)	0** (0%)	0** (0%)	0 (0%)	0 (0%)	9 (28,1%)	0 (0%)	1 (20,0%)	<b>22</b> <b>(24,2%)</b>
<b>B</b>	8 (42,1%)	3 (27,3%)	4* (57,1%)	1 (25,0%)	3 (37,5%)	11 (34,4%)	0 (0%)	2 (40,0%)	<b>32</b> <b>(35,2%)</b>
<b>C</b>	12* (63,1%)	2 (18,2%)	3 (42,8%)	1 (25,0%)	1 (12,5%)	17 (53,1%)	1 (16,6%)	0 (0%)	<b>37</b> <b>(40,7%)</b>
<b>D</b>	3 (15,8%)	2 (18,2%)	3 (42,8%)	0 (0%)	1 (12,5%)	8 (25,0%)	0 (0%)	0 (0%)	<b>17</b> <b>(18,7%)</b>
<b>E</b>	3 (15,8%)	3 (27,3%)	0** (0%)	0 (0%)	1 (12,5%)	13 (40,6%)	0 (0%)	0 (0%)	<b>20</b> <b>(22,0%)</b>
<b>F</b>	2** (10,5%)	7* (63,6%)	4* (57,1%)	1 (25,0%)	2 (25,0%)	14 (43,7%)	0 (0%)	0 (0%)	<b>30</b> <b>(33,0%)</b>
<b>p &lt;</b>	0,001	0,026	0,049	0,634	0,441	0,188	0,399	0,169	<b>0,006</b>

\* associação direta (apresenta o maior percentual de inadequação); \*\* associação inversa (apresenta o menor percentual de inadequação)

Bloco 1 - Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios; Bloco 2 - Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios; Bloco 3 - Controle integrado de pragas/manejo de resíduos; Bloco 4 - Abastecimento de água; Bloco 5 - Manipuladores; Bloco 6 - Controle da temperatura e do tempo, matérias-primas, ingredientes e embalagens/preparação do alimento; Bloco 7 - Armazenamento e transporte do alimento preparado; Bloco 8 - Exposição ao consumo do alimento preparado.

Houve associação estatisticamente significativa ( $p=0,006$ ) entre os restaurantes sob o ponto de vista do percentual de inadequação dos itens do check-list. Em relação aos blocos avaliados, o Bloco 1 (Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios), Bloco 2 (Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios) e o Bloco 3 (Controle integrado de pragas/manejo de resíduos) apresentaram associação significativa ( $p<0,05$ ) com os restaurantes visitados. O restaurante A apresentou o maior percentual de inadequações no Bloco 1, porém nos Blocos 2 e 3 apresentou o menor número de itens considerados inadequados. Ao contrário, o restaurante F apresentou a menor frequência de inadequações no Bloco 1 e a maior frequência nos Blocos 2 e 3.



#### **4.1.1 Bloco 1 – Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios;**

Em relação ao Bloco 1, três restaurantes foram considerados adequados, um adequado com restrições e dois foram considerados inadequados. Dentre os 19 itens que compunham este bloco, quatro deles apareceram com maior frequência de inadequações: retirada de objetos estranhos às atividades; adequação do projeto de forma a manter um fluxo ordenado, sem cruzamentos de forma a evitar contaminações; providenciar rigorosa limpeza das diferentes áreas; e adequação da iluminação, apareceram em quatro dos estabelecimentos.

Outras deficiências comuns foram referentes à inexistência de portas com fechamento automático para a área de preparação e armazenamento de alimentos e barreiras adequadas para impedir a entrada de vetores e outros animais, bem como a falta de sistema de ventilação adequado que renove o ar e mantenha o ambiente livre de fungos, gases, fumaça, pós, partículas em suspensão, condensação de vapores e limpeza e conservação nos equipamentos de iluminação e tubulações, exaustão, climatização e elementos filtrantes. Estes três itens encontravam-se inadequados em três dos estabelecimentos.

#### **4.1.2 Bloco 2 – Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios**

Neste bloco, três restaurantes foram considerados adequados, dois adequados com restrições e um considerado inadequado.

Os itens mais comumente encontrados em não conformidade foram as falhas quanto à higienização das áreas de preparação do alimento quantas vezes fossem necessárias e imediatamente após o término dos trabalhos (quatro dos restaurantes em desconformidade); e em relação aos panos de limpeza descartáveis e não descartáveis, que, quando utilizados em superfícies que entram em contato com alimentos, devem ser descartados/trocados a cada 2 horas, não excedendo 3 horas (três inadequados). Foi observado em todos os restaurantes o uso de panos pelos “*sushimen*” na manipulação dos *sashimis*.

#### **4.1.3 Bloco 3 – Controle integrado de pragas/manejo de resíduos**

O bloco apresentou dois estabelecimentos adequados, dois aprovados com restrições e dois inadequados.

Os itens que mais apareceram neste bloco dizem respeito à necessidade de se providenciar coletores de resíduos nas áreas de preparação e armazenamento de alimentos identificados, íntegros, dotados de tampas, sacos plásticos e em número suficiente de fácil higienização e transporte, além de que estes devem ter seu acionamento não manual para as áreas de preparo de alimentos e sanitários. Tais itens ocorreram em metade dos estabelecimentos. Outro item com igual frequência foi o de organizar as áreas com estrados e prateleiras de material adequado (proibido madeira) de modo que os alimentos fiquem afastados do piso, das paredes e do teto e que se possa realizar adequada higienização de todo ambiente.

Dois dos estabelecimentos não apresentaram certificado de serviço de desinsetização e desratização do estabelecimento realizado por empresa prestadora, cadastrada na SMS, com a descrição do(s) princípio(s) ativo(s) utilizado(s), a concentração e o local onde foram aplicados.

#### **4.1.4 Bloco 4 – Abastecimento de água**

Todos os restaurantes foram considerados adequados neste bloco. Em dois estabelecimentos foi solicitado o item referente a providenciar higienização do reservatório por não apresentar certificado de execução de serviço no período de 6/6 meses, por empresa cadastrada na SMS. Em um restaurante foi solicitado providencias quanto à adequação das condições sanitárias da produção e estocagem do gelo produzido no estabelecimento.

#### **4.1.5 Bloco 5 – Manipuladores**

Neste bloco, cinco restaurantes foram considerados adequados e um considerado adequado com restrições.

O item mais frequentemente inadequado neste bloco foi o referente a supervisionar e capacitar na admissão e periodicamente os manipuladores (com frequência mínima anual) em higiene pessoal, manipulação de alimentos e em doenças transmitidas por alimento e manter registros dos mesmos, sendo solicitado em quatro estabelecimentos. Seguido do item que prevê a obrigatoriedade de controlar diariamente as condições higiênicas sanitárias dos manipuladores, estabelecendo a obrigatoriedade da boa apresentação e asseio corporal, higienização de mãos, corte de unhas curtas, uso de esmalte e adornos, presente em metade dos restaurantes.

#### **4.1.6 Bloco 6 – Controle da temperatura e do tempo, matérias-primas, ingredientes e embalagens/preparação do alimento**

Neste bloco pode-se verificar o maior número de inconformidades, com apenas um dos restaurantes adequado, quatro adequados com restrições e um inadequado. O bloco é composto por algumas das questões mais importantes, ou seja, a matéria-prima, sua preparação e controles de tempo e temperatura. O controle do tempo e temperatura é questão fundamental quando se trabalha com alimentos, nestes itens apenas três dos estabelecimentos possuía termômetro apropriado para uso em alimentos e relógio na área de manipulação, os demais foram notificados a adquirir os equipamentos. Já em relação ao controle das temperaturas nas etapas de recepção e armazenamento, cinco dos restaurantes não realizava tal atividade. Cinco restaurantes não respeitavam o controle do tempo de manter alimentos perecíveis expostos à temperatura ambiente pelo tempo mínimo necessário para a preparação do alimento, sendo 30 minutos o tempo máximo permitido.

Quatro restaurantes apresentaram problemas no descongelamento de produtos, tendo sido observada tal prática sendo realizada em temperatura ambiente sem qualquer controle. O item de controle da temperatura de descongelamento, que deverá ser mantida em 5°C (sob refrigeração), foi solicitado nestes locais.

Um dos itens que mais chamou a atenção foi referente ao controle da rotulagem dos produtos utilizados, estocados e comercializados devido ao fato que todos os restaurantes tiveram inadequação do mesmo. Cinco restaurantes tiveram problemas em relação aos alimentos não utilizados na totalidade, por não estarem armazenados de acordo com a

orientação da rotulagem original, devidamente embalados e identificados; e quatro apresentaram problemas quanto à validade dos produtos utilizados, estocados e comercializados. Em todos os restaurantes foram encontrados alimentos apresentando as inadequações descritas acima, seja por existirem produtos com rotulagem ilegível, sem rotulagem, data de validade expirada, etc. Apenas um restaurante cumpria com a norma de rotular os produtos pré-preparados ou não utilizados na sua totalidade.

O item que descreve que o tempo de conservação do alimento preparado estocado em temperatura de 4° C ou menos, poderá ser de no máximo cinco dias, e que o estocado em temperaturas superiores a 4° C e inferiores a 5° C, deverá ser por tempo inferior a cinco dias foi requisitado em quatro restaurantes, por ter sido observado que produtos eram mantidos sem quaisquer critérios de temperatura e validade.

Outro item de extrema importância encontrado foi referente à proteção dos alimentos armazenados de forma a evitar a contaminação cruzada de produtos. Em quatro restaurantes foi solicitado o armazenamento dos alimentos embalados em filme de PVC, potes com tampa ou em sacos plásticos transparentes de primeiro uso, tendo sido encontrados alimentos armazenados em sacolas plásticas de supermercado”, sacolas estas inadequadas para uso em contato direto com alimentos. Foram verificados muitos alimentos armazenados sem proteção, crus juntos com cozidos, entre outros que possibilitam a contaminação cruzada. Os itens relativos ao uso de bandejas armazenadas cobertas, com proteção no refrigerador, foram solicitados em três dos estabelecimentos e o que exige que os alimentos embalados permaneçam separados dos não embalados e alimentos crus permaneçam separados dos cozidos, pedido em três deles.

Em todos os restaurantes no momento das vistorias pode ser observado que possuíam equipamentos de refrigeração e congelamento em número suficiente e adequado às necessidades e tipos de alimentos a serem armazenados, porém em metade deles foi constatada irregularidades quanto à higienização, organização, conservação e/ou degelo destes equipamentos. Foi solicitado que se procedesse à limpeza, descongelamento, organização e/ou conservação dos equipamentos, sempre lembrando que os alimentos deveriam ser mantidos, refrigerados à temperatura inferior a 5°C e congelados inferior ou igual a -18°C, como forma de garantir sua inocuidade.

#### **4.1.7 Bloco 7 – Armazenamento e transporte do alimento preparado**

Neste bloco todos os restaurantes foram considerados adequados. Apenas em um dos estabelecimentos foram observados alimentos expostos de forma inadequada e que seriam transportados, por se tratar de um “*delivery*”, onde foi solicitado que se providenciasse a proteção contra contaminantes para os alimentos conforme preconiza a legislação.

#### **4.1.8 Bloco 8 – Exposição ao consumo do alimento preparado**

Este bloco teve cinco estabelecimentos adequados e apenas um adequado com restrições. Em um dos restaurantes foi observado que o salão encontrava-se inadequado do ponto de vista da higiene, tendo sido o mesmo notificado a manter área de exposição e consumação em adequada condição higiênico-sanitária. Em outro foi solicitado que se retirassem plantas da área de exposição que representavam risco de contaminação aos alimentos.

#### **4.1.9 Avaliação da temperatura**

Paralelamente à aplicação do check-list, a temperatura do salmão que seria preparado como *sashimi* foi aferida em cada um dos restaurantes. Foi observado que todos os restaurantes mantinham o pescado em temperaturas em desacordo com a legislação vigente ( $\leq 5^{\circ}\text{C}$ ). A temperatura média encontrada e a análise dos restaurantes quanto à adequação plena, com restrição ou inadequação em cada um dos blocos pode ser observada na Tabela 2.

**Tabela 2** Escore de adequação à legislação vigente dos restaurantes japoneses de Porto Alegre, por bloco analisado e temperatura média aferida no salmão utilizado para as preparações de *sashimi*.

Restaurante	Blocos								Temperatura do pescado (°C)
	1	2	3	4	5	6	7	8	
A	I	A	A	A	A	AR	A	A	5,5
B	AR	AR	I	A	AR	AR	A	AR	7,2
C	I	A	AR	A	A	I	A	A	8,6
D	A	A	AR	A	A	A	A	A	12,8
E	A	AR	A	A	A	AR	A	A	7,0
F	A	I	I	A	A	AR	A	A	7,6

Legenda: A – Adequado (>75% itens adequados), AR - Adequado com restrição (30-75% itens adequados), I – Inadequado (<30% itens adequados).

Bloco 1 - Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios; Bloco 2 - Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios; Bloco 3 - Controle integrado de pragas/manejo de resíduos;

Bloco 4 - Abastecimento de água; Bloco 5 - Manipuladores; Bloco 6 - Controle da temperatura e do tempo, matérias-primas, ingredientes e embalagens/preparação do alimento; Bloco 7 - Armazenamento e transporte do alimento preparado; Bloco 8 - Exposição ao consumo do alimento preparado.

## 4.2 Análises microbiológicas

Os resultados das 108 análises microbiológicas das amostras de *sashimi* colhidas em restaurantes de comida japonesa em Porto Alegre indicaram condições microbiológicas satisfatórias para *Estafilococos* coagulase positiva, *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* sp.

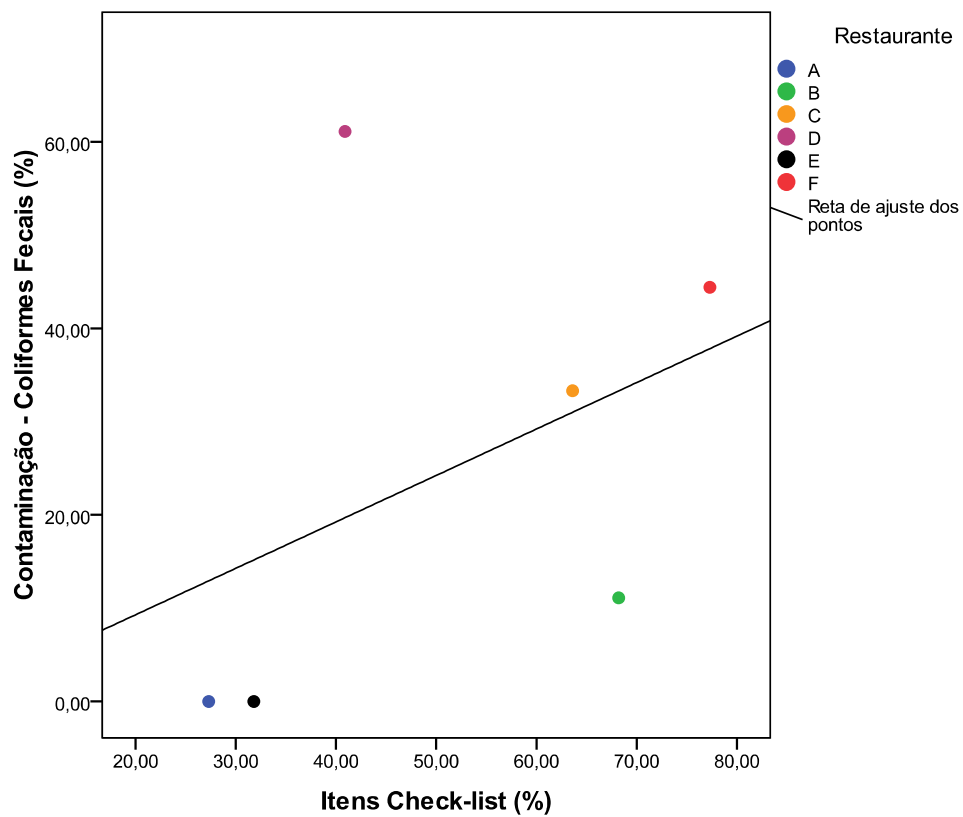
Vinte e cinco por cento das amostras de *sashimis* coletadas nos seis estabelecimentos (27/108), apresentaram níveis de coliformes termotolerantes acima do parâmetro estabelecido, sendo consideradas em condições microbiológicas insatisfatórias de acordo com a referida legislação (BRASIL, 2001) e assim impróprias para o consumo. Houve diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre os restaurantes sob o ponto de vista do número de amostras com contagem de coliformes termotolerantes acima do permitido na legislação, sendo o restaurante D o que apresentou o maior número de amostras não-conformes (Tabela 3).

**Tabela 3.** Número de amostras de *sashimi*, que apresentavam número de coliformes termotolerantes acima do permitido na legislação, colhidas em seis restaurantes de comida japonesa em Porto Alegre, 2009 – 2010.

<b>Restaurante</b>	<b>Nº</b>	<b>Amostras com Coliformes termotolerantes &gt; 10<sup>2</sup> UFC/g</b>
<b>A</b>	18	0
<b>B</b>	18	2
<b>C</b>	18	6
<b>D</b>	18	11
<b>E</b>	18	0
<b>F</b>	18	8
<b>Total</b>	<b>108</b>	<b>27</b>

### 4.3 Associações entre as variáveis

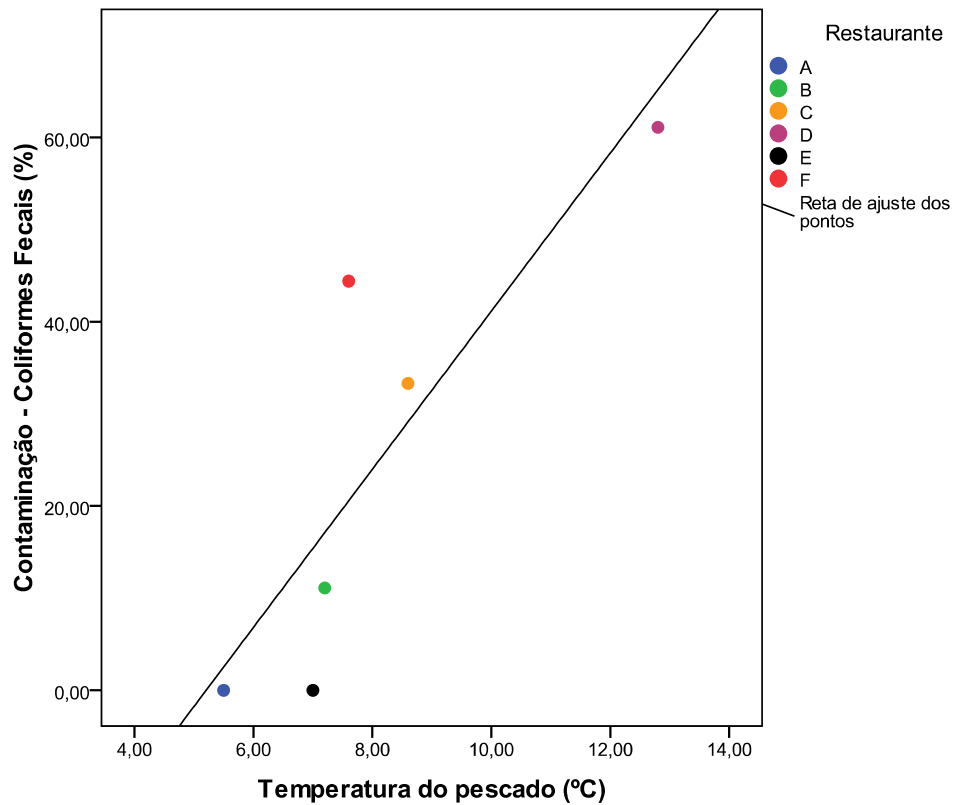
Não houve associação estatisticamente significativa entre o percentual de amostras com contagem de coliformes termotolerantes acima do previsto e a percentagem de itens relacionados à higiene, manipulação e controle de temperatura inadequados ( $r_s=0,580$ ;  $p=0,228$ ) (Figura 1). Porém, observou-se um coeficiente de correlação regular tendendo a forte entre as duas variáveis, segundo Callegari-Jacques (2003).



**Figura 1** – Associação entre contaminação por coliformes termotolerantes com a inadequação dos itens relacionados à higiene, manipulação e controle de temperatura retirados do check-list.



Por outro lado, houve associação positiva estatisticamente significativa entre a temperatura do pescado com o percentual de amostras com número de coliformes termotolerantes acima do previsto na legislação ( $r_s=0,928$ ;  $p=0,008$ ) (Figura 2).



**Figura 2** – Associação entre contaminação por coliformes termotolerantes com a temperatura média aferida no salmão utilizado para a preparação do *sashimi*.

## 5 DISCUSSÃO

Durante as vistorias e coleta das amostras foram observadas diferenças entre os restaurantes sob o ponto de vista da estrutura geral do estabelecimento, equipamentos de refrigeração, exposição do produto, higiene local e de utensílios, apresentação dos colaboradores, acondicionamento dos alimentos e hábitos de boas práticas. Tal fato foi confirmado pela análise global dos “check-lists”, onde três estabelecimentos (A, D e E) foram considerados adequados e os outros três (B, C e F) aprovados com restrições, e nenhum foi considerado inadequado. Essa avaliação mostrou-se compatível com os resultados obtidos nas análises microbiológicas dos *sashimis* preparados nos restaurantes.

Os blocos onde foram verificadas as melhores condições foram o 4 e 7, seguidos dos blocos 5 e 8, referentes ao abastecimento da água; armazenamento e transporte do alimento preparado; manipuladores e exposição ao consumo do alimento preparado, respectivamente. Todos estes itens são de grande importância para um estabelecimento que trabalha com alimentos. Exemplo disso é a água que entra em contato com o alimento ou superfície de contato com o alimento, a qual deve ser segura e com qualidade sanitária adequada para não veicular microrganismos (OPS, 2005).

Outro fator de extrema importância diz respeito aos manipuladores, pois pessoas que colhem, manipulam, armazenam, transportam, processam ou preparam alimentos são muitas vezes responsáveis por sua contaminação. Todo manipulador pode transferir patógenos a qualquer tipo de alimento, mas isso pode ser evitado através de higiene pessoal e manipulação adequada (OPS, 2005). Os procedimentos adequados observados no item relativo aos manipuladores, em que apenas um dos restaurantes apresentou desempenho aprovado com restrição e os demais foram aprovados, refletiu-se na ausência de amostras com o parâmetro relativo à contagem de estafilococos coagulase positiva acima do previsto na legislação. É sabido que a manipulação é o principal fator que determina a presença de *Staphylococcus aureus* no pescado, uma vez que essa bactéria pode estar presente nas mãos e mucosa oro-nasal do manipulador (GERMANO & GERMANO, 2008). Ao lado disto, o *sashimi* sofre uma extensiva manipulação durante seu preparo, aumentando a oportunidade de sua contaminação. O risco da presença de enterotoxinas estafilocócicas em alimentos da

culinária japonesa servidos em nosso país foi amplamente demonstrado pela detecção de amostras com contagens de estafilococos coagulase positiva acima do permitido na legislação (ALBUQUERQUE et al., 2006; MARTINS, 2006; VIEIRA et al., 2007; RESENDE et al., 2009). Nos estudos citados, foram analisadas amostras provenientes de restaurantes não-especializados em culinária japonesa e preparações servidas em bufê, o que propicia a contaminação cruzada e a proliferação de bactérias. No presente estudo, apenas estabelecimentos que trabalhavam exclusivamente com comida japonesa foram incluídos e as amostras foram coletadas logo após os *sashimis* terem sido preparados, uma vez que, normalmente, nesses restaurantes os *sashimis* são preparados à medida em que o cliente solicita.

A mesma situação adequada nas amostras de *sashimi* não foi encontrada em relação aos coliformes termo-tolerantes, uma vez que 25% das amostras coletadas apresentavam contagens acima do permitido pela legislação para esse indicador. Relacionando com o observado pela aplicação do check-list, observa-se que os blocos onde se verificou as condições mais deficitárias (6, 3, 1 e 2) foram aqueles referentes ao controle da temperatura e do tempo, matérias-primas, ingredientes e embalagens/preparação do alimento; controle integrado de pragas/manejo de resíduos; edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios; e higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios, respectivamente. Ao avaliar pontualmente os itens constantes nesses blocos, puderam-se destacar situações de risco para inocuidade dos alimentos produzidos, como no caso do controle da temperatura do pescado, nas questões referentes à higiene dos estabelecimentos, e adequação no armazenamento das matérias-primas. Esses fatores foram escolhidos para serem relacionados com a presença de coliformes termo-tolerantes e, apesar de não ter sido possível demonstrar associação estatisticamente significativa entre o percentual de amostras com contagem de coliformes termo-tolerantes acima do previsto e a percentagem desses itens em desacordo, observou-se um coeficiente de correlação regular tendendo a forte entre as duas variáveis ( $r_s=0,580$ ;  $p=0,228$ ).

Cabe ressaltar que todos os restaurantes mantinham o pescado em temperaturas em desacordo com a legislação vigente, somente três estabelecimentos possuíam termômetro e apenas um realizava controle das temperaturas nas etapas de recepção e armazenamento, o

que caracteriza uma situação de grande risco aos alimentos ali preparados. Nesse sentido, quando se analisou a associação entre a temperatura medida no pescado com o percentual de amostras com número de coliformes termotolerantes acima do previsto na legislação, uma associação positiva, estatisticamente significativa ( $r_s=0,928$ ;  $p=0,008$ ) pode ser demonstrada, evidenciando que esse foi o provável fator determinante da alteração no padrão microbiológico.

Apesar do pescado poder estar contaminado com coliformes desde a captura e transporte, outro fator de importância pode estar associado ao deficiente processo de higienização no próprio restaurante. De acordo com os dados observados no estudo pôde-se verificar que todos os restaurantes apresentaram itens em desacordo, sendo a higiene deficiente dos móveis, utensílios e equipamentos um ponto frequentemente inadequado, além do uso de panos não descartáveis pelos “*sushimen*” durante a manipulação dos alimentos, fato esse observado em todos os restaurantes amostrados. Bartz (2008), em pesquisa avaliando a contaminação microbiológica e métodos de higienização de panos de limpeza utilizados em serviços de alimentação, verificou a presença de bactérias como coliformes nos panos e, ainda, que estes foram capazes de transferir bactérias de forma significativa para superfícies. A ausência de cuidado verificada em relação aos panos, no presente estudo, pode estar sendo mais um fator responsável pela contaminação cruzada no ambiente de manipulação.

A contaminação, inicial ou cruzada, associada ao abuso de temperatura, poderá resultar no aumento do número de bactérias indicadoras ou patogênicas, uma vez que todas podem multiplicar em peixes crus. Por essa razão, a conservação do peixe a temperatura menor que 5°C é essencial, sendo essa uma das medidas mais importantes de prevenção contra o crescimento bacteriano (HUSS et al., 2000). Nesse sentido, Martins (2006) também observou associação entre a contagem de coliformes termo-tolerantes e a temperatura de exposição de *sushis* e *sashimis* comercializados em São Paulo ( $p=0,0415$ ).

Frequências elevadas de coliformes termo-tolerantes acima do permitido foram relatadas por Resende et al (2009), em *sushis* e *sashimis* comercializados em restaurantes de Brasília, Lima et al. (2009) em amostras de *sashimi* na cidade do Recife e Pinheiro et al.

(2006) em *sushis* e *sashimis* em Fortaleza. Outros estudos conduzidos também no Brasil, relatam frequências ainda mais elevadas, entre 47,5 e 60%, de amostras desse alimento em desacordo com os parâmetros permitidos (DIAS et al., 1999; MURATOTI et al., 2004; MARTINS, 2006), evidenciando que há problemas graves na matéria-prima, seu preparo e conservação.

Estes resultados são preocupantes uma vez que o *sashimi* é uma preparação culinária consumida crua, onde a qualidade sanitária da matéria-prima é essencial para assegurar a saúde dos consumidores. Uma vez que os coliformes termo-tolerantes são indicadores da contaminação fecal do produto, não se pode descartar a possibilidade da presença de microrganismos patogênicos, pesquisados ou não no presente estudo.

Apesar do risco demonstrado pela presença desses indicadores, não foram encontrados *Salmonella* sp. e *V.parahaemolyticus* nas amostras analisadas. Em ambos os casos, a origem da contaminação mais provável do pescado seria o local de criação e/ou captura. O fato da matéria-prima utilizada pelos restaurantes ter procedência conhecida, de estabelecimentos importadores e com inspeção, somado ao fato dos restaurantes trabalharem exclusivamente com este tipo de culinária, provavelmente contribuiu para a ausência desses microrganismos.

Em relação à *Salmonella* spp., a maioria dos surtos tem sido relacionada ao consumo de ovos e carne de ave (COSTALUNGA & TONDO, 2002; CARMO, 2007; EFSA, 2007). Pesquisas dessa bactéria em *sushi* e *sashimi* no Brasil e em outros países (HKSAR, 2000; MARTINS, 2006; EFSA, 2007) não isolaram *Salmonella*, ou o fizeram em baixa frequência. Por outro lado, relatos apontam a presença de 12,2% de amostras positivas em pescados consumidos crus (HEINITZ et al, 2000) e seis entre 32 amostras de *sashimi* colhidas em restaurantes (VIEIRA et al., 2007), demonstrando que pode haver risco de transmissão de *Salmonella* sp. por esse tipo de alimento.

Em relação ao *V. parahaemolyticus*, ao contrário, o relato de isolamento é freqüente em pescado. Lake (2003) encontrou 83% de amostras analisadas positivas na Nova Zelândia, enquanto no Japão 23% de amostras de *sashimi* tiveram isolamento de *V. parahaemolyticus* (CCFH, 2002). No Brasil a bactéria vem sendo isolada em frutos do mar,

porém relatos em *sashimi* ainda são inexistentes. Pereira et al. (2007) encontraram *V. parahaemolyticus* em 11,6% de 86 amostras de mexilhões. Vieira et al. (2004b) em caranguejos encontraram 50% (45/90) das amostras positivas para *Vibrio* spp., sendo oito delas *V. parahaemolyticus*. Chen (2004) isolou o microrganismo em 2,68% das amostras de pescado coletadas no município de São Paulo. Santos (2006) isolou espécies de *Vibrio* sp. potencialmente patogênicas em 15% das amostras de peixe coletadas em mercados municipais da cidade de São Paulo.

Uma hipótese para a ausência de relatos em *sashimi* pode estar relacionada ao fato do salmão, tipo de pescado mais utilizado para essa preparação, ser criado em águas frias, principalmente no Chile, país de origem da maioria dos produtos consumidos no Brasil. É provável que essa característica contribua para a baixa ocorrência da bactéria ou sua presença em baixo número no pescado, pois *V. parahaemolyticus* está presente, normalmente, em quantidades superiores a  $10^3$  UFC/g em peixes e frutos do mar procedentes de águas mornas (FORSYTHE, 2002; VIEIRA, 2004; OPAS/INPPAZ, 2005). Ao lado disto, parte do salmão, consumido no país, é transportado congelado para o Brasil, fator que também é adverso à sobrevivência da bactéria (COOK & RUPLE, 1992).

Ambientes adverso, como o de congelamento, podem induzir à presença de células viáveis- não cultiváveis em *Vibrio* spp., como descrito por Nishino & Kaper (2003), estado esse que dificulta a detecção por métodos de isolamento convencionais (Colwell et al., 1985). Métodos moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) poderiam contribuir para um maior poder de detecção dessas cepas, como observado por Alam et al. (2002) e Dileep et al. (2003). Entretanto, essa técnica não seria capaz de diferenciar bactérias viáveis e mortas, o que é um aspecto de grande importância na determinação da inocuidade dos alimentos (Chen, 2004).

Em todo o mundo, a higiene é um elemento básico para segurança e qualidade dos alimentos. Práticas higiênicas eficientes são necessárias em cada passo da cadeia alimentar, desde a produção até o consumo dos alimentos. Cada passo pode influenciar a qualidade e a segurança dos alimentos. Ao lado disto, os cuidados com a cadeia fria de conservação de produtos perecíveis são fundamentais para manter as populações bacterianas abaixo das

doses infectantes para o consumidor. Nos casos dos alimentos consumidos crus, como aqueles que compõem a culinária japonesa, esses aspectos são ainda mais relevantes e devem ser controlados pela adoção de Boas Práticas de Fabricação e monitorados pelas autoridades sanitárias.

## 6 CONCLUSÕES

O presente estudo permitiu concluir que:

- De acordo com o preconizado pela RDC 12/01 da ANVISA (BRASIL, 2001), para pratos prontos para o consumo à base de pescados e similares crus, 75% das amostras de *sashimis* analisadas foram consideradas em “condições sanitárias satisfatórias”.

- Coliformes termotolerantes acima dos limites tolerados foram isolados em 25% das amostras, colhidas nos quatro estabelecimentos onde a temperatura apresentada pelo pescado era mais elevada.

- O controle do tempo e temperatura do pescado e a higienização de equipamentos e superfícies foram os itens com maior índice de inconformidades, portanto recomenda-se que os restaurantes Japoneses adotem medidas higiênico-sanitárias mais rigorosas através da aplicação das Boas Práticas de Fabricação (BPF), a fim de controlar os possíveis riscos potenciais à saúde do consumidor.



**REFERÊNCIAS**

AGNESE, A. P; OLIVEIRA, V. M. **Contagem de bactérias heterotróficas aeróbicas mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais, em peixes frescos comercializados no município de Seropédica – RJ.** Revista higiene alimentar. São Paulo: v. 15, n. 88, 2001.

ALAM, M. J; TOMOCHIKA, K. I; MIYOSHI, S. I; SHINODA, S. **Environmental investigation of potentially pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in the Seto-Inland Sea, Japan.** FEMS Microbiology Letters, v. 208, p. 83-87, 2002.

ALBUQUERQUE W. F; BARRETO N. S. E; SILVA A. I. M; VIEIRA R. H. S. F. **Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* e *Estafilococos* coagulase positivo, em *sushis* comercializados em alguns estabelecimentos de Fortaleza – CE.** Revista higiene alimentar. São Paulo: v. 20, n. 116, p.58-61, nov, 2006.

ALMEIDA, E. S; SIGARINI, C. O; RIBEIRO, J. N; DELMONDES, E. C; STELATTO, E; ARAUJO JR., A. **Características microbiológicas de “Pintado” (*Pseudoplatystoma fasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre no município de Cuiabá – MT.** Revista higiene alimentar. São Paulo: v. 16, n. 99, p.84 - 88, 2002.

ANDRADE, N. J; MACEDO, J. A. B. **Higienização na indústria de alimentos.** São Paulo: Varela. 182p. 1996.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 3ª ed. Whashington: DCC Vanderzant & DF Splittstoesser ed, 2001.

AYULO, A. M. R; MACHADO, R. A; SCUSSEL, V. M. **Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil.** International Journal of Food Microbiology. V. 24: 171-178. 1994.

BARTZ, S. **Contaminação microbiológica e avaliação de métodos de higienização de panos de limpeza utilizados em serviços de alimentação.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

BASTI, A, A; MISAGHI, A; SALEHI, T, Z; KAMKAR, A. **Bacterial pathogens in fresh, smoke and salted Iranian fish.** Food Control, 2006; 17: p.183-188. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/journal> >. Acesso em: 16/04/2010.

BENEVIDES, C.M.J.; LOVATTI, R.C.C. **Segurança alimentar em estabelecimentos processadores de alimentos.** Revista Higiene Alimentar. São Paulo, v.18, n.125, p. 24 – 27, out. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 1428/MS, de 26 de setembro de 1993**. 1993. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 06/05/2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria SVS/MS no 326, de 30 de julho 1997**. 1997. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 13/01/2008.

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: 25/05/2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução: RDC no 275, de 21 de outubro de 2002**. 2002. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 13/01/2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003**. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 13/11/2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. 1998. Disponível em: < [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual\\_dta.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_dta.pdf) >. Acesso em: 04/05/2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doenças transmitidas por Alimentos**. Disponível em: < [http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id\\_area=1550](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1550)>. Acesso em: 04/05/2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 518, de 25 de março de 2004**. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br> >. Acesso em: 21/04/2010.

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: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 06/05/2010.

CALLEGARI-JAQUES, S. M. **Bioestatística: Princípios e aplicações**. Porto Alegre. Artmed, 2003.

CARDOSO, N. L. C; ANDRÉ, M. C. D. P. B; SERAFINI, A. B. **Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiânia – GO**. Revista higiene alimentar. São Paulo: v. 17, n. 109, p.81 - 87, 2003.

CARMO, G.M.I.; DIMECH, C.P.N.; ALVES, R.M.S. **Vigilância dos surtos de doenças transmitidas por alimentos, Brasil, 1999 – 2006.** Revista Higiene Alimentar. São Paulo, v.21, n.150, p. 353 – 354, abr. 2007.

CDC (Centers For Disease Control And Prevention) 2007. **Summary of human Vibrio cases reported to CDC, 2007.** Disponível em: < <http://www.cdc.gov/national-surveillance/PDFs/CSTE/Vibrio2007.pdf> >. Acesso em: 15/02/2010.

CDC (Centers For Disease Control And Prevention). **Foodborne illness, 2005.** Disponível em: < <http://www.cdc.gov/ncidod> >. Acesso em: 16/02/2010.

CHP (Centre for Health Protection of the Department of Health, Kowloon – Hong Kong). **Vibrio parahaemolyticus food poisoning outbreaks since June 1, 2004.** Disponível em: < <http://www.chp.gov.hk> >. Acesso em: 16/02/2010.

CHEN, J. **Pesquisa de Vibrio parahaemolyticus em atum (Thunnus spp) comercializado na zona sul do município de São Paulo – SP.** Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004.

CCFH (Codex Committee on Food Hygiene). **Discussion paper on risk management strategies for Vibrio spp. in seafood.** CX/FH 03/5-Add.3. Orlando, USA, 2002. Disponível em: < <ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh35/fh0305ce.pdf> >. Acesso em: 10/11/2009.

COLWELL, R. R; BRAYTON, P. R; GRIMES, D. J; ROSZAK, D. B; HUQ, S. A; PALMER, L. M. **Viable but nonculturable Vibrio cholerae and related pathogens in the environment: implications for release of genetically engineered microorganisms.** Biology and Technology, v. 3, p. 817-820, 1985.

COOK, D. W; RUPLE, A. D. **Cold storage and mild heat treatment as processing aids to reduce the numbers of Vibrio vulnificus in raw oysters.** Journal of Food Protect. 55:p. 985-989, 1992.

COSTALUNGA, S; TONDO, E. C. **Salmonellosis in Rio Grande do Sul, Brazil, 1997 to 1999.** Brazilian Journal of Microbiology. V.33, p. 342-346, 2002.

DAVIES A. R; CAPELL C; JEHATINO D; NYHAS G. J. E; KIRBY R. M; **Incidence of foodborne pathogens on European fish.** Food Control, 2001. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/journal/09567135> >. Acesso em: 05/08/2009.

DIAS E.D. et al. **Avaliação microbiológica e análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) do sushi e sashimi consumidos nos restaurantes do município do Rio de Janeiro.** Revista higiene alimentar. São Paulo: v. 13, p.81, 1999.

DILEEP, V; KUMAR, H. S; NISHIBUCHI, M; KARUNASAGAR, I. **Aplication of polymerase chain reaction for detection of *Vibrio parahaemolyticus* associated with tropical seafoods and coastal environment.** Letters in Applied Microbiology, v. 36, p. 423-427, 2003.

EFSA (European Food Safety Authority). **The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006.** The EFSA Journal, 2007, 130

FAO (Food and Agriculture Organization) - Committee on Animal Origin Foods Food Sanitation Investigation Council, 2000. **Report on preventive measures for *Vibrio parahaemolyticus* foodborne infections.** Disponível em: < <http://www.fao.org/fishery/about/cofi/en> Acesso em: 10/03/2010.

FAO.- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION **Higiene del pescados y los mariscos.** Série de Informes Técnicos nº 550. Ginebra: FAO/OMS, 69p. 1975.

FDA (Food and Drug Administration). **BAM - Bacteriological Analytical Manual.** 8th ed. Revision A. AOAC International. 1998. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>>. Acesso em: 04/05/2010.

FDA (Food and Drug Administration). U. S. 2001. **Draft risk assessment on the public health impact of *Vibrio parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish.** Disponível em: < <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra8.pdf> >. Acesso em: 03/07/2010.

FDA (Food and Drug Administration). **Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook.** 2005. Disponível em: < <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/default.htm> >. Acesso em: 04/05/2010.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança alimentar.** Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, B. D. de M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2004.

FREITAS, J. C. **Organismos marinhos portadores de potentes toxinas e suas relações com a saúde pública.** Revista higiene alimentar. São Paulo: v. 7, n. 28, p.12-17, 1993.

GASPAR Jr, J. C; VIEIRA, R. H. S. F; TAPIA, M. S. R. **Aspectos sanitários do pescado de origem de água doce e marinha, comercializados na feira de Gentilândia, Fortaleza - Ceará.** Revista higiene alimentar. São Paulo: v. 11, n. 51, p.20-23, 1997.

GERACE, P. T.; QUINTO, F. C.; BARROS, G. C. **Tecnologia aplicada ao pescado da produção ao consumo.** Rio de Janeiro, 1987. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 3.ed. ver. e ampl. – Barueri, São Paulo: Manole, 2008.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.

GERMANO, M.I.S; GERMANO, P.M.L; KAMEI, C.A.K; ABREU, E.S; RIBEIRO, E.R; SILVA, K.C.; LAMARDO, L.C.A.; ROCHA, M.F.G.; VIEIRA, V.K.I.; KAWASAKI, V. M. **Manipuladores de alimentos: Capacitar? É preciso. Regular? Será preciso???** Revista Higiene Alimentar, São Paulo, vol.11, no 78/79, p.18-22, Nov-dez, 2000.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S; OLIVEIRA, C. A. F. **Aspectos da qualidade do pescado de relevância em saúde pública**. Revista higiene alimentar. São Paulo: v. 12, n. 53, p.30-37, jan. a fev., 1998.

GERMANO, P. M. L.; OLIVEIRA, J. C. F; GERMANO, M. I. S. **O pescado como causa de toxinfecções bacterianas**. Higiene Alimentar, São Paulo, v. 7, n. 28, p. 40 – 45. 1993.

HEINITZ, M. L; RUBLO, R. D; WAGNER, D. E; TATINI, S.R. **Incidence of Salmonella in fish and seafood**. Journal of Food Protection. Des Moines, v.63, n.5, p. 579 – 592, 2000.

HKSAR. **Sushi and sashimi in Hong Kong**. Food and Environmental Hygiene Department, Risk Assessment Studies, Report n.2, 31 p., Hong Kong, 2000.

HOOD, S. K; ZOTTOLA, E. A. **Biofilms in food processing**. Food Control. Great Britain, v.6, p 9 – 18, 1995.

HOFFMANN, F. L; GARCIA, C.H; VINTURIM, T. M; FÁZIO, M. L. S. **Levantamento da qualidade higiênico-sanitária de pescado comercializado na cidade de São José do Rio Preto (SP)**. Higiene Alimentar, São Paulo, v. 13, n. 64, p. 45 – 48. 1999.

HUSS, H. H; REILLY, A; EMBARCK, P. K. **Prevention and control of hazards in seafoods**. Food Control, v. 11, p. 149 – 156, 2000.

ICMSF/IAMS. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela. 377p. 1997.

ICMSF - INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Ecologia microbiana de los alimentos, v.1: Factores que afetam a la sobrevivencia de los microorganismos en los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1980.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 6ª ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000.

LAKE, R; HUDSON, A; CRESSEY, P. **RISK PROFILE: *Vibrio parahaemolyticus* in seafood.** Institute of Environmental Science & Research Limited Christchurch Science Centre. New Zealand Food Safety Authority. 2003. Disponível em: < [www.esr.cri.nz](http://www.esr.cri.nz) >. Acesso em: 20/09/2009.

LEAL, M. L. M. S. **A história da gastronomia.** Rio de Janeiro: Senac Nacional, 144p. 1998.

LEE, W. C; SAKAI, T; HAMAKAWA, M; LEE, S. M; LEE, I. M. **An epidemiological study of food poisoning in Korea and Japan.** International Journal of Food Microbiology, v. 29: p. 141 – 148, 1996.

LIMA, R. M. T; SHINOHARA, N. K. S; SIQUEIRA, L. P; LIMA, R. C. T; PIRES, E. F; XIMENES, G. N. C; BARBOSA, V. B. **Avaliação microbiológica de sushis e sashimis comercializados na cidade do Recife-PE.** Pernambuco, 2009. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0620-1.pdf> >. Acesso em: 25/04/2010.

LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo.** Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP – São Paulo, 2003.

MARTINS, F, O. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (*sushi e sashimi*) a base de pescado cru servidos em bufês na Cidade de São Paulo.** Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública, USP – São Paulo, 2006.

MASSON, M. L; PINTO, R. A. **Perigos potenciais associados ao consumo de alimentos derivados de peixe cru.** Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, v. 16, n.1, p. 71 – 84, 1998.

MILLARD, G; ROCKLIFF, S. **Microbiological quality of sushi.** In Health Services – Food Survey Reports 2000- 2003. Austrália, 2003. Disponível em: < <http://www.health.act.gov.au/c/health?a=da&did=10060511&pid=1094601516> >. Acesso em: 20/04/2010.

MOHAMED HATHA, A.A.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. **Prevalence of *Salmonella* in fish and crustaceans from markets in Coimbatore, South India.** Food Microbiology, London, v.14, p. 111-116, 1997.

MORITA, M. **Avaliação da qualidade sanitária e ocorrência de *Aeromonas* spp em lagoas de pesque-pague da Região Metropolitana de São Paulo.** Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública, USP – São Paulo, 2005.

MOURA Filho, L. G. M de; NENDES, E. S; SILVA, R. P. P; GÓES, L. M. N. B; VIEIRA, K. P. B. A; MENDES, P.P. **Enumeração e pesquisa de *Vibrio spp.* e coliformes totais e termotolerantes em sashimis de atum e vegetais comercializados na região metropolitana do Recife, estado de Pernambuco.** Departamento de medicina Veterinária, UFRPE – Pernambuco, 2007. Disponível em: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciTechnol/article/viewArticle/94> Acesso em: 15/04/2010.

MURATORI, M. C. S; COSTA, AMILTON P. R. e VIANA C. M. **Qualidade sanitária de pescado “in natura”.** Higiene Alimentar, São Paulo, v. 18, n. 116/117. 2004.

NISHINO, M; KAPER, J. B. **Density-Dependent Sorting of Physiologically Different Cells of *Vibrio parahaemolyticus*.** Applied and Environmental Microbiology, v. 69, n. 6, p.3569-3572, 2003.

OGAWA, H. H; TOKUNOU, T; KISHIMOTO, S; FUKUDA, K; UMEMURA, M; TAKATA. 1989. **Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Hiroshima Bay.** Hiroshima Journal of Vet. Med. 4:47-57.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **HACCP: Ferramentas Essenciais para Inocuidade dos Alimentos.** – Buenos Aires, Argentina: OPAS/INPPAZ, 2005.

PAIVA, C.P; BORGES, R.G; PANETTA, J.C. **Frequência de quadros gastroentéricos em astronautas: Pressuposta ligação com toxinfecções alimentares.** Revista Higiene Alimentar, São Paulo, vol.14, no 75, p.13-23, out, 2000.

PEREIRA C. S; POSSAS C. A; VIANA C. M; RODRIGUES D. P. **Características de *Vibrio parahaemolyticus* isolados de mexilhões (*Perna perna*) comercializados em Niterói, Rio de Janeiro.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 40(1):56-59, jan-fev, 2007.

PINHEIRO, H. M. C.; VIEIRA, R. H. S. F.; CARVALHO, F. C. T.; REIS, E. M. F.; SOUSA, O. V.; VIEIRA, G. H. F.; RODRIGUES, D. P. **Salmonella sp. e Coliformes Termotolerantes em Sushi e Sashimi comercializados na cidade de Fortaleza-Ceará.** Boletim Técnico Científica CEPENE; vol. 1; n.1; 23-31p; 2006.

RESENDE A; SOUZA J. R; OLIVEIRA Y. S. **Análise microbiológica de sushis e sashimis comercializados em restaurantes de Brasília no período de 2001 a 2004.** Higiene Alimentar, São Paulo, v. 23, n. 174/175, p. 164 – 170. 2009.

RIO GRANDE DO SUL. Governo do estado. Secretaria da Saúde. **Portaria 78 de 28 de janeiro de 2009.** Porto Alegre. Diário Oficial do Estado de 30 de janeiro de 2009.

SANTOS, R. M. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de peixes **comercializados em mercados municipais da cidade de São Paulo, SP**. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública, USP – São Paulo, 2006.

SANTOS FILHO, A. B; ROCHA, M.C.N. **Fatores de risco do consumo de “sashimi” em restaurantes do distrito sanitário VI, Recife-PE**. 2004. Monografia (Especialização)-Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, Sociedade Educacional W.F. dos Anjos. Recife, 2004.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário em serviços de alimentação**. 6.ed. São Paulo: Varela, 2008.

SILVA, M. C. D; NORMANDE, A. C. L; FERREIRA, M. V; RAMALHO, L. S. **Avaliação da qualidade microbiológica de pescado comercializado em Maceió, AL**. Higiene Alimentar, São Paulo, v. 16, n. 96, p. 60 – 68. 2002.

SILVA, N da; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F de A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Varela: 2001.

SOARES, C. M; GERMANO, P. L. M. **Análise da qualidade microbiológica de sashimis comercializados em shopping centers da cidade de São Paulo**. Higiene Alimentar, São Paulo, v. 18, n. 116/117, p88 – 92, 2004.

SOUZA, S. S.; PELICIONI, M. F.; PEREIRA I. M. T. **A Vigilância Sanitária de Alimentos como instrumento de promoção de saúde**. Revista Higiene Alimentar. São Paulo, v.17, n.113, p. 33 – 37, out. 2003.

STANSBY, M.E. **Tecnología de la Industria Pesquera**. Zaragoza, Espanha: Editorial Acribia, 443 p., 1968.

STOSKOPF, M. K. Zoonotic diseases. In: NEMETZ, T. G; SHOTTS, E. B. **Fish medicine**. W. B. Saunders, p. 214 – 215, 1993.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004.

VIEIRA, R. H. S. F; LIMA, E. A; SOUZA, D. B. R; REIS, E. F; RODRIGUES, D. P. **Víbrio spp. e Salmonella spp. em caranguejos, Ucides cordatus**. Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo, v. 46, n. 4, São Paulo July/Aug. 2004b.

VIEIRA, R. H. S. F; SILVA, C. M; CARVALHO, F. C. T; SOUZA, D. B. R; MENEZES, F. G. R; REIS, E. M. F; RODRIGUES, D. P. **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.



WARD, D. R. Microbiological quality of fishery products. In: MARTIN, A. M. **Fisheries processing, biotechnological application**. London: Chapman and Hall, p. 1 – 17, 1994.

WATANABE, E.; KAMADA, Y; HAMADA-SATO ,N. **Development of quality evaluation sensor for fish freshness control based on KI value**. Biosens Bioelectron, v. 21, n. 3, p. 534-538, England, 2005.

WONG H. C; CHEN M. C; LIU S. H; LIU D. P; **Incidence of highly genetically diversified Vibrio parahaemolyticus in seafood imported from Asian countries**. International journal of Food Microbiology. 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/journal/01681605>>. Acesso em: 05/08/2009.

YOSSEF, H; EL-TIMAWY, A; AHMED, S. **Role of aerobic intestinal pathogens of fresh water fish in transmission human diseases**. Journal of Food Protection, v. 55, n. 9, p. 739 – 740, 1992.

APÊNDICE A – Itens do Check-List de Inspeção em Boas Práticas

<b>Blocos e Itens do check-list de Inspeção</b>	
<b>1. EDIFICAÇÃO, INSTALAÇÕES, EQUIPAMENTOS, MÓVEIS E UTENSÍLIOS</b>	
Retirar os objetos estranhos às atividades das áreas ( ) externa ( ) internas do estabelecimento, incluindo animais e plantas	
Providenciar adequação do Projeto de forma a manter um Fluxo ordenado sem cruzamentos evitando contaminações, separando as diferentes atividades por meios físicos ou outros, evitando contaminação cruzada	
Readequar a(s) área(s) de manipulação( ) estocagem( ) exposição( ) tornando-a(s) compatível(is) com o volume de produção	
Readequar instalações/equipamentos ao volume de produção	
Providenciar rigorosa limpeza: Áreas de:( ) Manipulação ( ) depósito ( ) sanitários/vestiários ( ) Outras ( ) janelas, portas, pisos, paredes, forro, ( ) equipamentos, utensílios, móveis,câmaras, refrigeradores	<b>X</b>
Providenciar paredes( ), forro( ), piso( ) com acabamento até 2m, com material liso, resistente, lavável, impermeável, de cor clara, a para as áreas:	
Ajustar portas e janelas aos batentes, providenciar revestimento liso e lavável sistema de fechamento automático e barreiras adequadas nas portas e janelas a fim de impedir a entrada de vetores e pragas (tela milimétrica removível e lavável/rodinho)	
Adequar iluminação de forma a garantir visualização adequada e proteção das luminárias contra explosão e quedas	
Proteger a fiação elétrica em tubulações internas ou externas de forma a permitir a higienização do ambiente.	
Providenciar ventilação que renove o ar e mantenha o ambiente livre de fungos, gases, fumaça, pós, partículas em suspensão, condensação de vapores	
Providenciar coifa com sistema de exaustão interna e sistemas filtrantes	
Providenciar limpeza e conservação nos equipamentos de iluminação e tubulações, exaustão, climatização e elementos filtrantes	
Adequar o dimensionamento da caixa de gordura ao volume de resíduo e limpeza periódica	
Providenciar fechamento completo com tampa ou telas para Ralos e Grelhas, que devem ser sifonados	
Providenciar pia(s) para a higienização de mãos em posição (ões) estratégica(s) e em quantidade suficiente com sabonete líquido, anti-séptico e toalha de papel não reciclável	<b>X</b>
Providenciar equipamentos, móveis e utensílios em estado de conservação adequados, desenhados e elaborados com materiais que não transmitam substâncias tóxicas, odores e sabores aos alimentos e que permitam adequada e completa higienização	
Isolar área do sanitário/vestiário da área de produção, armazenamento ou refeitório	
Providenciar sabonete líquido, anti-séptico e toalha de papel não reciclável ou outro sistema seguro de secagem	<b>X</b>
Providenciar armário para roupas e outros objetos pessoais e evitar que fiquem armazenados fora destes locais	
<b>2. HIGIENIZAÇÃO DE INSTALAÇÕES, EQUIPAMENTOS, MÓVEIS E UTENSÍLIOS</b>	
Higienizar a área de preparação do alimento quantas vezes forem necessárias e imediatamente após o término do trabalho	<b>X</b>
Utilizar os saneantes respeitando as diluições e Tempos de contato e o Modo de uso/aplicação	
Providenciar saneantes com procedência adequada, suspendendo imediatamente o uso de produtos sem registro.	
Identificar e guardar saneantes em local adequado, afastado de alimentos	
Providenciar produtos de limpeza e higiene em nº suficiente, próprios para atividade, limpos/ bem conservados	
Providenciar um tanque para despejo de águas sujas e lavagem do material de limpeza	
Providenciar para que os panos descartáveis sejam utilizados de forma adequada e em número suficiente.	<b>X</b>
Manter panos não descartáveis limpos através de esfregação com solução detergente neutro, desinfetados através de fervura em água por 15 minutos ou solução clorados a 200ppm, por 15 minutos, enxaguados com água potável e corrente e em número suficiente.	<b>X</b>
Providenciar para que haja diferenciação entre panos utilizados para alimentos de panos utilizados para outros fins	<b>X</b>
Providenciar local adequado, separado de outros panos, para a higienização e secagem dos panos utilizados em alimentos	
Implantar processo diário de sanitização de esponjas (fervura/microondas/cloro)	

<b>3. CONTROLE INTEGRADO DE PRAGAS/ MANEJO DE RESÍDUOS</b>	
Providenciar desinsetização ( ) desratização ( ) do estabelecimento por empresa cadastrada na SMS, que deverá estabelecer procedimentos pré e pós tratamento a fim de evitar a contaminação dos alimentos, equipamentos e utensílios, monitorando e acompanhando	
Apresentar o Certificado do Serviço realizado pela empresa prestadora, cadastrada na SMS, com a descrição do(s) princípio(s) ativo(s) utilizado(s), a concentração e o local onde foram aplicados.	
Apresentar laudo das condições ambientais para o controle de pragas com objetivo de avaliar o acesso, abrigo, atração e proliferação de pragas no ambiente	
Colocar estrados( ) e prateleiras( ) de material adequado (proibido madeira) de modo que os alimentos fiquem afastados do piso, das paredes e do teto e que se possa realizar adequada higienização de todo ambiente.	
Providenciar coletores de resíduos nas áreas de preparação e armazenamento de alimentos identificados, íntegros, dotados de tampas, sacos plásticos e em nº suficiente de fácil higienização e transporte	X
Providenciar coletores com acionamento não manual para as áreas de preparo de alimentos e sanitários	X
( )Recolher os resíduos com freqüência de forma a garantir condições adequadas de higiene. ( )Estocar em local fechado e isolado	
<b>4. ABASTECIMENTO DE ÁGUA</b>	
Providenciar reservatório edificado e/ou revestido de material adequado sem rachaduras, vazamentos, infiltrações, descascamentos. Providenciar fechamento com tampa	
Proceder higienização de 6/6 meses, por empresa cadastrada na SMS, arquivando os certificados	X
Adequar as condições sanitárias da produção e estocagem do gelo produzido no estabelecimento.	
Utilizar apenas gelo com procedência comprovada, adequadamente rotulado e estocado.	
<b>5. MANIPULADORES</b>	
Providenciar uniforme de cor clara, completo, limpo, diferenciado para colaboradores da limpeza, e em adequada conservação, usado exclusivamente na área de preparação de alimentos e trocado, no mínimo, diariamente	X
Controlar diariamente as condições higiênicas sanitárias dos manipuladores, estabelecendo a obrigatoriedade da boa apresentação e asseio corporal, higienização de mãos, corte de unhas curtas, uso de esmalte e adornos	X
Supervisionar e capacitar na admissão e periodicamente os manipuladores (com freqüência mínima anual) em higiene pessoal, manipulação de alimentos e em doenças transmitidas por alimento e manter registro	X
Anexar cartazes de orientação de higienização das mãos e demais hábitos de higiene junto à área de manipulação e sanitários	
Proibir aos colaboradores que operam com dinheiro e cartões, o manuseio de alimentos	
Providenciar proteção para o cilindro ( ), masseira ( ), esteira ( ) da padaria	
Providenciar juponas, luvas e calças térmicas quando for o caso, em bom estado de conservação e limpeza e em número apropriado	
Afastar o manipulador que apresentar qualquer tipo de doença de pele e ou sintomas que possam comprometer a qualidade higiênico-sanitária do alimento até a apresentação de laudo médico atestando que está apto para trabalhar com alimentos	
<b>6. CONTROLE DA TEMPERATURA E DO TEMPO/ MATÉRIAS-PRIMAS, INGREDIENTES E EMBALAGENS / ALIMENTO PREPARADO</b>	
Adquirir termômetro para controle das temperaturas dos alimentos e equipamentos e relógio para controle do tempo de exposição dos alimentos	X
Adequar a área de recebimento de mercadorias de forma que atenda as condições higiênico-sanitárias exigidas quanto à limpeza e proteção	
Controlar a temperatura dos alimentos no recebimento de matérias-primas e ingredientes e registrar estabelecendo medidas corretivas para os que não atendam os critérios legais de rotulagem ou outros, com devolução imediata ou armazenamento em separado até o destino final.: 7°C ou inferior para Resfriados e -12°C ou inferior para Congelados (ou de acordo com a rotulagem da indústria)	X
Controlar a temperatura no armazenamento de matérias-primas, ingredientes e produtos industrializados: 5°C ou inferior para Resfriados e -18°C ou inferior para Congelados (ou de acordo com a rotulagem da indústria)	X
Providenciar equipamentos de refrigeração e congelamento em nº suficiente e adequado às necessidades e tipos de alimentos a serem armazenados.	
Armazenar alimentos congelados exclusivamente sob congelamento, refrigerados exclusivamente sob refrigeração	
Armazenar alimentos embalados em filme de PVC, potes com tampa ou em sacos plásticos transparentes de primeiro uso.	X

Alimentos embalados devem permanecer separados dos não embalados e Alimentos crus devem permanecer separados dos cozidos	X
Carnes e Vísceras devem estar embaladas, sem contato direto com o gelo	
Enlatados devem ser armazenados em recipientes fechados após a abertura das latas	
Bandejas devem estar armazenadas cobertas, com proteção no refrigerador	X
Alimentos não utilizados na totalidade devem ser armazenados de acordo com a orientação da rotulagem original, devidamente embalados e identificados	
Não reaproveitar sobras de alimentos	
Controlar a procedência de todos os produtos utilizados, comercializados, estocados, não permitindo a entrada de produtos clandestinos	
Controlar a validade de todos os produtos utilizados, estocados e comercializados	
Controlar a rotulagem de todos os produtos utilizados, estocados e comercializados	
Não utilizar produtos com as características organolépticas (aspecto, sabor, aroma) alteradas	
Não industrializar produtos de origem animal	
Utilizar apenas embalagens devidamente autorizadas para o uso em alimentos	
Proceder a limpeza( )descongelamento( )organização( )conservação( ) dos equipamentos, mantendo os alimentos refrigerados à temperatura inferior a 5°C e congelados inferior ou igual a -18°C	X
Mantiver alimentos perecíveis expostos à temperatura ambiente pelo tempo mínimo necessário para a preparação do alimento, sendo 30 minutos o tempo máximo permitido.	X
Controlar a temperatura de descongelamento, que deverá ser mantida em 5°C (sob refrigeração)	X
Alimentos congelados não devem ser recongelados antes do cozimento	
Controlar o tempo de resfriamento do alimento preparado, que deve ir de 60°C a 10°C, no máximo em 2 horas	
O tempo de conservação do alimento preparado, conservado a 60°C, exposto, poderá de no máximo 6 horas.	
O tempo de conservação do alimento preparado estocado em temperatura de 4°C ou menos, poderá ser de no máximo 5 dias. Estocado em temperaturas superiores a 4°C e inferiores a 5°C, deverá ser por tempo inferior a 5 dias	
Congelar produtos preparados apenas em temperaturas iguais ou inferiores à -18°	
Monitorar e registrar as temperaturas: de conservação a quente, refrigerados e congelados, com registro da ação corretiva, data e rubrica	
( )Controlar temperatura de óleos e gordura para frituras para não ultrapassar 180°C e ( )Substituir após sinais de saturação	
Higienizar hortifrutíferos realizando seleção, lavagem inicial e sanitização posterior com imersão em solução clorada com 100 a 250ppm de cloro livre por 15 minutos ou outros produtos registrados no Ministério da Saúde para este fim.	
Preparar pratos à base de ovos apenas quando submetidos a tratamento térmico ou quando utilizados ovos pasteurizados ou desidratados, sendo proibido o preparo de pratos à base de ovo cru	
Implantar sistema de controle de amostras diário, de 100g ou 100ml de cada alimento servido, por 72h, em refrigeração, identificadas e datadas.	
<b>7. ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DO ALIMENTO PREPARADO</b>	
Providenciar proteção contra contaminantes para os alimentos que serão transportados	
Identificar os alimentos que serão transportados, com pelo menos, a designação do produto, data produção/validade.	
Armazenar em condições de tempo e temperatura que não comprometam a qualidade higiênico-sanitária	
Providenciar licença de transporte	
Providenciar rigorosa limpeza no veículo, mantendo-o isento de pragas	
Garantir durante o transporte do alimento que o mesmo se mantenha, durante todo o trajeto, na temperatura determinada pela legislação.	
<b>8. EXPOSIÇÃO AO CONSUMO DO ALIMENTO PREPARADO</b>	
Cantinas: Adequar Cardápio e retirar cartazes	
Mantiver área de exposição, consumação ou refeitório em adequada condição higiênico-sanitária providenciando barreiras de proteção junto aos equipamentos de exposição de modo que previnam a contaminação do consumidor	
Colocar cartaz em local visível com os seguintes dizeres: "VISITE A NOSSA COZINHA"	
( ) Adequar o dimensionamento dos equipamentos de exposição. ( ) Retirar ornamentos e plantas da área de produção / exposição que representem risco de contaminação	