

OCORRÊNCIA DE *Listeria monocytogenes* EM SASHIMIS DE SALMÃO DE ESTABELECIMENTOS DE COMIDA JAPONESA EM PELOTAS-RS

ADRIANA FÃO CARLOTO¹; DANIELE BONDAN PACHECO², GABRIELE BENATTO DELGADO², ISABELA SCHNEID KRONING², WLADIMIR PADILHA DA SILVA², GRACIELA VOLZ LOPES³

¹Universidade Federal de Pelotas – adrianafcarloto@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – danielebondan@outlook.com,
gabriele_delgado@hotmail.com, isabelaschneid@gmail.com,
vladimir.padilha2011@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – gracielavlopes@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Sashimis são fatias finas de peixe cru fresco, que constituem uma especialidade da culinária japonesa (LEE *et al.*, 2022). O salmão está entre os peixes comumente utilizados para a preparação do sashimi no Brasil. É um peixe nobre da família *Salmonidae*, apreciado pelo seu sabor, cor rosada característica e por ser rico em proteína (SPATA, 2019). Nas duas últimas décadas foi observado um aumento significativo no consumo de comida japonesa pelos brasileiros (GONÇALVES *et al.*, 2019). Isto ocorre devido a combinação de alguns fatores, como a busca por novos sabores, procura por opções saudáveis, disponibilidade de novos restaurantes e diversificação de cardápios, além da difusão da cultura japonesa.

O crescente consumo desse tipo de alimento, que é considerado “pronto para o consumo” (*Ready to Eat* - RTE), gera preocupação quanto à saúde pública, uma vez que é um alimento altamente perecível e suscetível à contaminação por micro-organismos patogênicos, além de não passar por tratamento térmico ou cozimento antes do consumo (LIANG *et al.*, 2016). Os restaurantes especializados em culinária japonesa devem seguir padrões de preparo e de armazenamento rigorosos, com Boas Práticas de Fabricação (BPF) bem implementadas (CAMPOS E SANT’ANA, 2012). Esses cuidados são necessários para evitar a disseminação de patógenos transmitidos por alimentos.

Listeria monocytogenes é uma bactéria gram-positiva, não esporulada, anaeróbia facultativa, com forma de bastonete, e devido à sua natureza ubiqüitária, encontra-se amplamente distribuída no meio ambiente (no solo, na água, na vegetação em decomposição). Além disso, é considerada uma bactéria psicrotrófica, capaz de crescer em condições extremas com alto teor de sal e baixas temperaturas (CDC, 2021). O consumo de alimentos contaminados com este patógeno pode ocasionar a listeriose, que é considerada uma Doença de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA), acometendo principalmente gestantes, idosos, recém-nascidos e imunocomprometidos (BRASIL, 2010).

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo avaliar a presença de *Listeria monocytogenes* em sashimis de salmão comercializados em estabelecimentos de comida japonesa na cidade de Pelotas-RS.

2. METODOLOGIA

Amostras de sashimi de salmão provenientes de dez estabelecimentos de comida japonesa (nomeados de A a J) foram adquiridas através de *delivery* na cidade de Pelotas-RS, no período de setembro de 2022 a maio de 2023. As

amostras foram recebidas e acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável, em sua embalagem original e imediatamente encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, da Universidade Federal de Pelotas, onde foram mantidas sob refrigeração até o momento das análises.

O isolamento de *L. monocytogenes* seguiu o método descrito pela *International Organization for Standardization* 11290-1 (ISO, 1996), com adaptações. Foram pesadas assepticamente porções de 10 g de sashimi em saquetas esterilizadas e, posteriormente, adicionados 90 mL do caldo de pré-enriquecimento Half Fraser (Oxoid-CM0895, Inglaterra) suplementado (Oxoid-SR0166E). As amostras foram homogeneizadas em *Stomacher* por 2 min e incubadas a 30 ± 1 °C por 24 h. Após a incubação, uma alíquota de 0,1 mL do caldo Half Fraser foi transferida para um tubo contendo 10 mL de caldo de enriquecimento seletivo Fraser (Oxoid-CM0895, Inglaterra) suplementado (Oxoid-SR0156E) e incubado a 37 ± 1 °C por 18-24h. Alíquotas do caldo Half-Fraser e do caldo Fraser foram semeadas em ágar Oxford (Oxoid-0856, Inglaterra) suplementado (Oxoid-SR0140E) e em ágar Cromogênico (Oxoid-CM0895, Inglaterra) suplementado (Oxoid-SR0228E e Oxoid-SR0226E). As placas foram incubadas a 37 ± 1 °C por 48 h. Posteriormente, 3 a 5 colônias características de cada placa foram selecionadas para a identificação molecular de *L. monocytogenes*.

A extração de DNA bacteriano foi realizada utilizando-se o método de lise térmica de acordo com o protocolo descrito por Ellington *et al.* (2007). Para a realização da PCR foi utilizado o *primer*, visando a detecção do gene da internalina A (*inlA*), que é específico para *L. monocytogenes*, amplificando um fragmento de 800 pb (LIU *et al.*, 2007). A reação de PCR foi realizada em um volume total de 25 µL, contendo 12,5 µL de GoTaq® Green Master Mix (Promega®), 25 pmol de cada *primer* e 10 ng (2 µL) de DNA molde, completando-se o volume com água bidestilada estéril. Uma mistura de reação contendo 2 µL de água bidestilada no lugar do DNA molde foi incluída como controle negativo da reação e outra contendo 2 µL de DNA de *L. monocytogenes* ATCC 7644 para controle positivo. A PCR foi realizada em termociclador Bioer® e consistiu em um ciclo de desnaturação da fita de DNA a 94°C por 2 minutos, seguido de 30 ciclos de 94°C por 20 segundos, 55°C por 20 segundos e 72°C por 50 segundos, e extensão final a 72°C por 2 minutos. Os produtos amplificados na PCR foram adicionados de 3 µL de GelRed™ e submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% a 80 V por 70 minutos. As bandas foram visualizadas em transiluminador (Loccus®) utilizando marcador Invitrogen 1 Kb Plus DNA Ladder.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas sete coletas em 10 estabelecimentos de comida japonesa (A a J) de acordo com a disponibilidade de *delivery* na data da coleta, totalizando 44 amostras de sashimi de salmão analisadas. Destas 44 amostras, sete (15,9 %) confirmaram a presença de *Listeria monocytogenes*, sendo encontrada nos estabelecimentos E, F, G, H e I (Tabela 1).

Em 2013, CARMO *et al.* (2013) avaliaram a qualidade microbiológica de sushi e sashimi comercializados em três restaurantes *self-service* na cidade do Rio de Janeiro. Os autores encontraram 19% (3/16) das amostras a base de peixe cru analisadas contaminadas por *L. monocytogenes*. MONTARI *et al.* (2015) avaliaram a qualidade microbiológica de sashimis de salmão preparados e

comercializados em restaurantes de culinária japonesa no município de Ji-Paraná, em Rondônia. Os autores avaliaram 15 amostras de sashimi de salmão em 3 estabelecimentos diferentes e isolaram *L. monocytogenes* em dois dos três estabelecimentos avaliados. Em um estudo conduzido na cidade de Pelotas-RS, em 2016, *L. monocytogenes* foi isolada em oito das 28 amostras de sushis analisadas, ou seja, em 28,6% das amostras havia a presença desse patógeno (RAMIRES *et al.*, 2016).

Tabela 1 – Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em sashimis de salmão comercializados em estabelecimentos de comida japonesa na cidade de Pelotas-RS.

Estabelecimento	N ° de amostras coletadas/N ° de amostras positivas						
	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4	Coleta 5	Coleta 6	Coleta 7
A	1/0	0/0	1/0	0/0	0/0	1/0	0/0
B	1/0	1/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0
C	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
D	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/0	1/0
E	1/1	1/1	1/0	1/0	1/0	0/0	1/0
F	1/1	1/0	1/0	1/0	1/0	0/0	1/0
G	1/1	1/1	1/0	1/0	1/0	0/0	1/0
H	0/0	1/0	1/0	1/1	1/0	0/0	1/0
I	0/0	0/0	1/0	1/0	1/1	0/0	0/0
J	0/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/0	1/0
Total	7/3	7/2	9/0	7/1	7/1	1/0	6/0

A Agência de Saúde Pública da Suécia monitora um surto de Listeriose desde setembro de 2022, sendo a última atualização em setembro de 2023. Neste surto, 19 pessoas ficaram doentes, seis vieram a óbito e 14 relataram que consumiram salmão embalado à vácuo, oriundos de uma mesma empresa. Na investigação *L. monocytogenes* foi encontrada em produtos e nas instalações do local de produção (FOLKHALSOMYNDIGHETEN, 2023). A habilidade de *L. monocytogenes* persistir em equipamentos e ambiente de processamento de alimentos é devido à sua capacidade de formar biofilmes em superfícies, levando à contaminação do produto final (MANVILLE *et al.*, 2023).

4. CONCLUSÕES

Listeria monocytogenes está presente em sashimis de salmão comercializados na cidade de Pelotas-RS, representando um risco à saúde dos consumidores. O resultado deste estudo destaca a necessidade de monitorar a presença de *L. monocytogenes* em alimentos prontos para o consumo, além de reforçar a importância do controle de boas práticas de fabricação em serviços de alimentação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos**. Brasília, 2010.
- CAMPOS, F.M.; SANT'ANA, H.M.P. Características físicas dos principais tipos de estabelecimentos para alimentação coletiva. In: SANT'ANA, H.M.P. **Planejamento físico-funcional de unidades de alimentação e nutrição**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012. Cap.9, p.213-243.



- CARMO, J.M.; CABRAL, C.C.; LOPES, C.S.C.; LEONARDO, R.; CARVALHO, A.C.S.; DEL AGUILA, E.M.; SILVA, T.J. Análise da qualidade microbiológica de sushi e sashimi comercializados em restaurantes self-service na cidade do Rio de Janeiro: enumeração de *Staphylococcus* coagulase-positiva e detecção de *Listeria monocytogenes*. In: **Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 27., Natal, 2013. Anais do 27º CBM, resumo 139-1, 2013.
- CDC. **Listeria**. Information for Health Professionals and Laboratories, 30 mar. 2021. Acessado em: 11 set. 2023. Online. Disponível em: <https://www.cdc.gov/listeria/technical.html>
- ELLINGTON, M.J.; KISTLER, J.; LIVERMORE, D.M.; WOODFORD, N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo- β -lactamases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.59, p.321-322, 2007.
- FOLKHALSOMYNDIGHETEN. **Listeria**. Listeria (Sverige september 2022), 01 sep. 2023. Acessado em: 11 set. 2023. Online. Disponível em: <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittskydd-beredskap/utbrott/aktuella-utbrott/listeria-sverige-september-2022/>
- GONÇALVES, E.P.M.; BARROS, M.C.S.; PESSÔA, M.C.; CARDILLI, D.J.; ROOS, T.B.; MORAES, C.M. Padronização de uma PCR para a autenticação do *Salmo salar* em pratos da culinária japonesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.71, n.2, p.640-646, 2019.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. **Microbiology of food and animal feeding stuffs**, 1996.
- LEE, S.H.; LEE, C.L.; KO, J.; HONG, J.H. The role of food stereotype in hedonic judgment of a delicacy food: A case study of Korean consumers' liking for sliced raw fish (sashimi). **Food Research International**, v.162, part A, 2022.
- LIANG, W.L.; PAN, Y.L.; CHENG, H.L.; LI, T.C.; YU, P.H.F.; CHAN, S.W. The Microbiological Quality of Take-Away Raw Salmon Finger Sushi Sold in Hong Kong. **Food Control**, v.69, p.45–50, 2016.
- LIU, D.; LAWRENCE, M.L.; AUSTIN, F.W.; AINSWORTH, A.J. A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. **Journal of Microbiological Methods**, v.71, p.133-140, 2007.
- MANVILLE, E.; KAYA, E.C.; YUCEL, U.; BOYLE, D.; TRINETTA, V. Evaluation of *Listeria monocytogenes* biofilms attachment and formation on different surfaces using a CDC biofilm reactor. **International Journal of Food Microbiology**, v. 399, 110251, 2023.
- MONTARI, A.S.; ROMÃO, N.F.; SOBRAL, F.O.S.; MARMITT, B.G.; SILVA, F.P.S.; CORREIO, T.C.A.M. Avaliação da qualidade microbiológica de *sashimis* de salmão, preparados e comercializados em restaurantes japoneses no município de Ji-Paraná-RO. **Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v.2, n.1, p.4-16, 2015.
- RAMIRES, T.; IGLESIAS, M.A.; VITOLA, H.R.S.; NÚNCIO, A.S.P.; FIORENTINI, A.M.; DA SILVA, W.P. Isolamento e perfil de resistência à antimicrobianos de *Listeria monocytogenes* provenientes de sushis comercializados na cidade de Pelotas-RS. In: **Semana Integrada de Ensino Pesquisa e Extensão**, 2., Pelotas, 2016. Anais do XXV ENPÓS (Encontro de Pós-Graduação), CA_00486, 2016.
- SPATA, C.F. **Aspectos sanitários e qualidade química de sashimis comercializados em food trucks e deliveries do Rio de Janeiro**. 2019. 66f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense.