

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS DA CULINÁRIA JAPONESA
VENDIDOS EM RESTAURANTES EM BOTUCATU, SP****MICROBIOLOGICAL QUALITY OF JAPANESE CUISINE FOODS SOLD IN
RESTAURANTS IN BOTUCATU, SP****Gousilin Leandra Rocha da Silva¹**Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Ciências
Químicas e Biológicas, Botucatu-SP, Brasil<https://orcid.org/0000-0002-4419-9563>gousilin.silva@unesp.br**Bruna Fernanda Rossi²**Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Ciências
Químicas e Biológicas, Botucatu-SP, Brasil<https://orcid.org/0000-0003-4454-2090>brunabiunesp@gmail.com**Erika Carolina Romão Bonsaglia³**Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Ciências
Químicas e Biológicas, Botucatu-SP, Brasil<https://orcid.org/0000-0002-3229-3405>erikabonsaglia@gmail.com**Stéfani Thais Alves Dantas⁴**Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Ciências
Químicas e Biológicas, Botucatu-SP, Brasil<https://orcid.org/0000-0001-7839-4677>Stefani.nutri@gmail.com**Ary Fernandes Júnior⁵**⁵Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Ciências
Químicas e Biológicas, Botucatu-SP, Brasil<https://orcid.org/0000-0002-2744-2824>ary.fernandes@unesp.br**Vera Lúcia Mores Rall⁶**⁶Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Ciências
Químicas e Biológicas, Botucatu-SP, Brasil<https://orcid.org/0000-0003-4280-5619>vera.rall@unesp.br¹Escrita, investigação e metodologia.²Curadoria dos dados e metodologia.³Curadoria dos dados e metodologia.⁴Curadoria dos dados e metodologia.⁵Análise formal e obtenção dos recursos financeiros.⁶Administração o projeto, obtenção dos recursos financeiros e supervisão.

RESUMO

Verificamos a qualidade microbiológica de alimentos da culinária japonesa comercializados em restaurantes de Botucatu/SP. Foram analisadas 70 amostras coletadas em 14 restaurantes, em busca de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* e coliformes termotolerantes (CT). Isolados de *S. aureus* foram investigados quanto à presença de genes que codificam a produção de biofilme (*bap*, *icaA* e *icaD*) e algumas enterotoxinas (*sea-sei*). A formação de biofilme in vitro foi testada. Das 70 amostras, 50 (71,4%) apresentaram CT e 27 (38,6%) eram impróprias para consumo. *Salmonella*, *V. parahaemolyticus* e *B. cereus* não foram detectados. *S. aureus* foi observado em 5 (7,1%) amostras. Os genes clássicos de enterotoxinas não foram detectados. O gene *seh* foi observado em 2 isolados, enquanto *seg* e *sei* estiveram presentes outros 2 isolados. Todas as cepas de *S. aureus* foram produtoras moderadas de biofilme. O gene *icaD* estava presente em todos os isolados e o *icaA* em 40%. Devido à presença de CT, indicador de contaminação fecal, e *S. aureus*, indicador de falta de higiene durante o manuseio, a comida japonesa comercializada em Botucatu-SP não pode ser considerada segura para consumo.

Palavras-chave: *S. aureus*. Biofilme. Enterotoxina.

ABSTRACT

We verified the microbiological quality of Japanese cuisine foods sold in restaurants in Botucatu/SP. Seventy samples collected from 14 restaurants were analyzed, searching for *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* and thermotolerant coliforms (TC). *S. aureus* isolates were investigated for the presence of genes encoding the biofilm production (*bap*, *icaA* and *icaD*) and some enterotoxins (*sea-sei*). The biofilm formation in vitro was tested. Considering the 70 samples, 50 (71.4%) had TC, and 27 (38.6%) were unfit for consumption. *Salmonella*, *V. parahaemolyticus* and *B. cereus* were not detected. *S. aureus* was observed in 5 (7.1%) samples. The classical enterotoxin genes were not detected. The *seh* gene was observed in 2 isolates, while both *seg* and *sei* were present in more 2 isolates. All strains of *S. aureus* were moderate producers of biofilm. The *icaD* gene was present in all isolates and *icaA* in 40%. Due to the presence of TC, an indicator of fecal contamination and *S. aureus*, also an indicator of poor hygiene during handling, Japanese food sold in Botucatu-SP cannot be considered safe for consumption.

Keywords: *S. aureus*. Biofilm. Enterotoxin.

1 INTRODUÇÃO

O aumento no consumo de alimentos da culinária japonesa, compostos majoritariamente por peixe cru ou cozido, algas, arroz e vegetais, se tornou evidente em diversos países, devido à busca por uma alimentação mais saudável (SANTOS et al., 2012). Entretanto, apesar dos benefícios, a alta perecibilidade do peixe cru, atrelado à falta de tratamento térmico prévio para redução de microrganismos, provoca um alerta na saúde pública. (LIANG et al., 2016).

A manipulação durante o preparo desses alimentos é significativa, por isso a higiene básica dos manipuladores é imprescindível para prevenir transmissões de patógenos via fecal-oral para o consumidor (MENGIST et al., 2018). A contaminação a partir dos vegetais que compõem o prato (MONTANARI et al., 2015) e a presença de patógenos oportunistas na microbiota dos peixes podem ocorrer, provocando doenças de origem alimentar no homem (MENGIST et al., 2018).

As bactérias patogênicas mais comumente encontradas na comida tradicional japonesa são *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A presença de *V. parahaemolyticus* está

correlacionada ao habitat natural dos peixes, principalmente habitat marinho e estuarino, de regiões tropicais e temperadas (CHEN et al., 2019). Considerando a relação comensal de *S. aureus* com o ser humano, habitando pele e mucosas, a presença desse micro-organismo em alimentos pode ser relacionada à maus hábitos higiênicos (FETSCH et al., 2014). *Bacillus cereus* pode estar presente nesses pratos devido à contaminação do arroz (JUNEJA et al., 2019).

S. aureus produz 23 enterotoxinas estafilocócicas (SE's), sendo SEA a SEE os tipos clássicos (BERGDOLL e ROBBINS, 1973). Esse patógeno oportunista também pode produzir biofilme, um fator importante para permanência da bactéria no ambiente (OTTO, 2008), que pode atuar como fonte de contaminação, reduzindo a qualidade do alimento e colocando em risco a saúde dos consumidores (Donlan, 2002). O biofilme é constituído por bactérias aderidas às superfícies e envolvidas por uma matriz polimérica de adenosina polissacarídica intercelular (PIA) ou N-acetilglicosamina polimérica (PNAG) (MACK et al., 2007).

Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar a presença de bactérias patogênicas em alimentos da culinária japonesa, comercializados nos restaurantes da cidade de Botucatu-SP. Além disso, foi

realizada a pesquisa de genes relacionados à produção de enterotoxinas (*sea-sei*) e de biofilme (*bap*, *icaA* e *icaD*), nos isolados de *S. aureus*, além da produção *in vitro* desses fatores de virulência.

2 METODOLOGIA

2.1 Análise microbiológica

Foram analisadas 70 amostras variadas de comida japonesa, comercializadas em 14 restaurantes, na cidade de Botucatu-SP/Brazil. de acordo com o padrão brasileiro decretado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001) – que estabeleceu como padrões microbiológicos para pratos prontos para o consumo a base de carnes, pescados e similares crus, a ausência de *Salmonella* em 25 g de alimento e a tolerância de até 10^2 NMP/g de coliformes termotolerantes (CT) ou à 45°C/g ; de até $5,0 \times 10^3$ UFC/g de *Staphylococcus* coagulase positiva e de até 10^3 NMP/g de *V. parahaemolyticus* e de *B. cereus* (para alimentos à base de cereais, farinhas, grãos).

Todos os meios de cultura, exceto onde especificado, eram da Difco (Detroit, MI, EUA).

Para a detecção de *Salmonella* spp., 25g da amostra foram homogeneizadas em 225mL

de água peptonada tamponada, incubado a $35^\circ\text{C}/24$ horas. Após este período, 1mL foi semeado em caldo Tetrionato ($35^\circ\text{C}/24$ h) e 0,1 ml, em caldo Rapaport-Vassiliadis (RV) ($43^\circ\text{C}/24$ h). Para a detecção de colônias características, uma alçada de cada tubo foi semeada em placas ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD) e de ágar *Salmonella-Shigella* (SS), seguido de incubação por ($35^\circ\text{C}/24$ h. Na triagem para identificação, utilizou-se ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e ágar Fenil (Ágar Fenilalanina) e a confirmação foi realizada pelo sistema API-20E (Biomérieux) e soros polivalentes somático e flagelar (Probac). (Cox et al., 2015)

Para a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes, diluições seriadas foram inoculadas, em uma série de três tubos por diluição, de caldo Lauril Sulfato, com um tubo de Durham invertido. Seguido de incubação a $35^\circ\text{C}/24-48$ horas. Após este período, 3 alçadas de cada tubo positivo foram transferidas para caldo EC, incubados a $45^\circ\text{C}/24$ horas. Após o período de incubação foi feita a leitura dos tubos positivos, baseando-se na produção de gás, para qual utilizou-se a tabela do NMP. (Kornacki et al., 2015)

Para a determinação do número mais provável (NMP) de *Vibrio parahaemolyticus*, no teste presuntivo,

diluições seriadas foram inoculadas em água peptonada alcalina (APA), com incubação a 35°C/ 18- 24 horas. A seguir, uma alçada de cada tubo foi semeada em ágar tiosulfato-citrato e sais biliares (TCBS), incubados sob as mesmas condições dos tubos para visualização de colônias características (verdes) e determinação do número mais provável. (DePaola e Jones, 2015)

Staphylococcus aureus foi identificado de acordo com Bennett et al. (2015a). Colônias características foram observadas em ágar Baird-Parker (BP) suplementado com telurito de potássio e solução de gema de ovo, após incubação à 35°C/48 horas. Os testes de triagem foram os de catalase e coagulase e o kit "Staphytect Test Dry Spot" (Oxoid). A identificação foi confirmada por PCR, utilizando-se um primer específico do gene nuc (CRL, 2009). Considerando a enumeração de *Bacillus cereus*, alíquotas de 0,1 mL das diluições seriadas decimais foram depositadas na superfície do ágar gema de ovo-polimixina-vermelho de fenol, seguido de incubação a 35°C/ 24. Colônias características foram submetidas aos testes de Gram, produção de lecitinase, redução de nitrato a nitrito, produção de acetilmetilcarbinol (VP); e decomposição de L-tirosina. (Bennett et al., 2015b)

2.2 Testes de PCR para isolados de *Staphylococcus aureus*

O DNA das células bacterianas foi extraído usando o Kit MiniSpin (GE Healthcare, Little Chafont, Buckinghamshire) de acordo com as instruções do fabricante. GoTaq 2× Green Master Mix (Promega, Madison, Wisconsin) também foi usado na reação de PCR conforme recomendado e os ensaios foram realizados em um Gene Amp PCR System9700 (Applied Biosystems, Carlsbad, CA).

Os genes da enterotoxina sea-see e seg-sei foram detectados conforme descrito por Johnson et al. (1991); Mehrotra et al. (2000) e Omoe et al. (2002). Como controles positivos, usamos *S. aureus* ATCC 13565 (mar), ATCC 14458 (seb), ATCC 19095 (seg), ATCC 23235 (sed), ATCC 27664 (ver), FRI 137 (seh); SEX 361 (sed, seg, sei).

Os genes *bap*, *icaA* e *icaD* foram pesquisados nos isolados de *S. aureus*, utilizando os parâmetros segundo Cucarella et al. (2001) e Vasudevan et al. (2003), respectivamente. Os controles positivos usados na reação foram *S. aureus* ATCC 35983 (*ica* cluster) e um isolado *bap*-positivo sequenciado (Castilho et al, 2017). Os produtos das reações de PCR foram submetidos à eletroforese (Electrophoresis Power Supply Model EPD 600 –

Amersham-Pharmacia Biotech Inc.) em gel de agarose 1,5% (Sigma Aldrich) al., 2017).

2.3 Produção de biofilme in vitro por isolados de *S. aureus*

Cada isolado de *S. aureus* foi incubado em tryptic soy broth (TSB) a 35°C/24h. A seguir, cada cultura foi diluída a, aproximadamente, 1,5x10⁸ UFC (0,5 escala de MacFarland), utilizando-se o TSB acrescido de 0,5% de glicose. Uma alíquota de 200 µL foi semeada em quadruplicata, em microplaca de 96 poços. Após incubação a 35°C/48 horas, cada placa foi lavada três vezes, com PBS (pH 7,4), e foi adicionado 250 µL de metanol em cada poço, por 15 min. Após sua remoção, a microplaca foi seca em temperatura ambiente e corada com violeta cristal 1% por 5 min. Após três lavagens com água destilada para remoção do corante, o biofilme foi ressuspensão em 200 µL de ácido acético glacial 33% (v / v) por 10 min e a densidade óptica (OD) foi medida em um leitor de placa ELISA (Babsystems, MultiSkan EX) a 570 nm. Os testes foram realizados em triplicata. A partir da média das repetições e de acordo com a relação entre OD e OD_c (controle negativo), as amostras foram classificadas de acordo com Stepanović et al. como não produtor de biofilme ($DO \leq DO_c$), fraco [$DO_c < DO \leq (2 \times DO_c)$], moderado [$(2 \times DO_c) < DO \leq$

($4 \times DO_c$)] ou produtores fortes [$(4 \times DO_c) \leq DO_c$].

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os alimentos da culinária japonesa são considerados importantes fontes de doenças de origem alimentar (DOAs), por apresentarem pescados crus como principal matéria prima. Ainda, o contato com as mãos durante o preparo do alimento eleva o risco de contaminação por *S. aureus* e CT (MENGIST et al., 2018). Os CT são utilizados como indicadores higiênico-sanitários (EDEN, 2014; PATEL et al., 2014). No presente estudo, a pesquisa desse indicador demonstrou que 50 (71,4%) amostras apresentaram CT, enquanto 27 (38,6%) estavam acima dos limites estabelecidos pela RDC Nº12 (2001). Esses dados evidenciam a contaminação de origem fecal, provocada por práticas inadequadas de higiene pessoal por manipuladores ou durante a produção, o transporte e armazenamento da matéria prima. No Brasil, Moraes et al (2019) encontraram porcentagem maior, onde 50% das amostras apresentaram valores superiores ao permitido.

Não foram observadas colônias características de *Salmonella* sp nas amostras testadas. A ausência de *Salmonella* nesse tipo de alimento também foi relatada por outros autores no Brasil e

Hong Kong. (Batista et. al, 2017; Liang et al., 2016). Em contrapartida Perassoli e Frigo (2019), encontraram contaminação por *Salmonella spp* em 10% das amostras de pratos da culinária japonesa obtidas em Maringá-PR.

Em relação ao *V. parahaemolyticus*, não houve o isolamento dessa bactéria em nenhuma amostra, resultado coerente à de outras pesquisas realizadas no Brasil (VALLANDRO, 2010; SATO, 2013; MORAES, 2019), indicando que o patógeno não é comumente encontrado no país. Vallandro (2010) relacionou a criação do salmão consumido no Brasil em águas frias e transporte congelado, com à baixa ocorrência desse micro-organismo nessa matéria prima e, conseqüentemente, nos alimentos analisados.

A acidificação do arroz do sushi, etapa do preparo que intensifica seu sabor, é realizada a fim de reduzir o possível crescimento de patógenos. O estudo de Mohammad et al. (2020) demonstrou que essa acidificação, atrelada à temperatura adequada, é eficaz para inibir o crescimento de *B. cereus*, o que pode justificar sua ausência nas amostras analisadas no presente estudo. Ainda que a legislação brasileira não exija a análise desse patógeno para sushis e sashimis, pesquisas realizadas, como no estudo de Batista et al (2017), já evidenciaram a importância da mesma, uma

vez que encontraram 22,2% das amostras com *B. cereus*.

S. aureus foi encontrado em 5 (7,1%) das amostras analisadas nesse trabalho, mas as concentrações observadas estavam dentro do parâmetro permitido pela RDC Nº 12 (2001), de até 5×10^3 UFC/g. Mesmo com valores abaixo do padrão estabelecido, a presença desse patógeno é um fator negativo, pois evidencia a contaminação humana durante o preparo do alimento, devido à ausência de higiene adequada. Valores superiores foram apresentados por Santos et al (2012), que identificaram *S. aureus* em 57,1% das amostras analisadas na região Nordeste do Brasil e 11,4% ultrapassaram o limite permitido pela legislação. Yap et al. (2019) relataram a prevalência de *S. aureus* em 21,7% de amostras de alimentos manipuladas diretamente com as mãos, enquanto a manipulação utilizando luvas apresentou 0% de contaminação, reafirmando a importância de cuidados higiênicos durante o preparo. A potencial produção de toxinas pelos isolados de *S. aureus* que apresentam os genes que codificam para essa produção, eleva os riscos ao consumidor, por isso as medidas preventivas à contaminação devem ser adequadas.

Apesar de todos os isolados serem negativos para a presença dos genes das SE clássicas, os genes *seg* e *sei* foram

detectados em 2 das 5 cepas testadas (40%). Orwin et al. (2003) observaram que os genes que codificavam para as toxinas SEG, SEI, pertenciam ao mesmo *cluster* e a detecção de um desses genes, geralmente indica a presença dos outros quatro. Em 2009, Wang et al. observaram que esse cluster, chamado de *egc* está localizado na ilha de patogenicidade Tipo II vSaß e que eventualmente pode também albergar o gene *selu*. O gene *seh* foi detectada em dois (40%) dos isolados no presente estudo, enquanto PuaH et al (2016) identificaram 11,5% de *S. aureus* positivos para o gene *seg*, 7,7% para *sei* e 1,9% para *seh* ao estudar 52 isolados obtidos em amostras de Klang Valley. O trabalho de Sato (2017), por sua vez, além da identificação de *seg* e *sei* em 14,3% e 28,6% dos isolados, respectivamente, detectou 28,6% de positivos para o gene *sea*, demonstrando o potencial enterotoxigênico de *S. aureus*. (PUAH et al., 2016)

Em relação aos *S. aureus* isolados neste estudo, nenhum apresentou o gene *bap*. Considerando que esse gene ainda não foi

encontrado em isolados de origem humana, somente em bovinos, o resultado é coerente com a hipótese de que a contaminação advém da manipulação (CASTILHO, 2016). Por outro lado, foi observada a presença do *icaD* em todos os isolados e do *icaA* em 40%. PuaH et al. (2018), também relataram a ausência do gene *bap* em todos isolados, enquanto 26% apresentou *icaAD*, em estudo com *S. aureus* obtidos de sushis e sashimis na Malásia. Pela presença desses genes do cluster *ica*, todos os isolados foram moderados produtores de biofilme, assim como o encontrado no trabalho de Frozi et al. (2017), que confirmou a formação de biofilme por isolados de *S. aureus*, obtidos de peixe cru. PuaH et al. (2018) também observaram essa capacidade em todos os 52 isolados analisados. A formação de biofilme permite a adesão das bactérias às superfícies de manipulação, como por exemplo superfícies de corte, possibilitando a ocorrência de contaminação cruzada (DANTAS, 2014).

Tabela 1 – Perfil genético e produção de biofilme de *S. aureus*, isolados de alimentos prontos para o consumo, à base de pescados e similares crus, na cidade de Botucatu/SP. (2019).

<i>S. aureus</i>	Enterotoxinas							Biofilme			Produção de
	<i>sea</i>	<i>seb</i>	<i>sec</i>	<i>sed</i>	<i>see</i>	<i>seg</i>	<i>seh</i>	<i>sei</i>	<i>bap</i>	<i>icaA</i>	<i>icaD</i>

													Biofilme
1	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	Moderado	
2	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	Moderado	
3	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	Moderado	
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Moderado	
5	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	Moderado	

Fonte: os autores.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A preparação de alimentos de origem japonesa é caracterizada por alta manipulação, além de muitos pratos típicos não passarem pelo processo de cozimento, assim demandando altos padrões de higiene. A presença de bactérias patogênicas com potencial enterotoxigênico e de indicadores de qualidade higiênico sanitárias demonstraram um risco a saúde pública indicando a necessidade de novas estratégias na fabricação desses alimentos, visando a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATISTA, C. M. et al. Microbiological and Physicochemical Qualities of Sushi and Sashimi from Japanese Restaurants in Brazil. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 5, n. 10, p. 729–735, 20 set. 2017.

BENNETT R. W.; HAIT J. M.; TALLENT S. M. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins.

Revista Higiene Alimentar, 35 (293): e1059, 2021
ISSN 2675-0260 – DOI: 10.37585/HA2021.02culinaria

Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5 ed., p. 509-520, 2015a.

BENNETT R. W.; TALLENT S. M.; HAIT J. M. *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* toxins. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5 ed. **Washington: APHA**, p. 375-387, 2015b.

BERGDOLL M. S.; ROBBINS R. N. Characterization of types staphylococcal enterotoxins. **J. Milk Food Technol.** v. 36, p. 610-2, 1973.

CASTILHO I. G. et al. Host-pathogen interactions in bovine mammary epithelial cells and HeLa cells by *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis. **Journal of Dairy Science.** v. 100, No. 8, 2017.

CHEN, Y.-R. et al. Kinetic analysis and dynamic prediction of growth of *Vibrio parahaemolyticus* in raw white shrimp at refrigerated and abuse temperatures. **Food Control**, v. 100, p. 204–211, 1 jun. 2019.

COX N. A. et al. *Salmonella*. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 5 ed, p. 445-463, 2015.

CRL-AR. Community Reference Laboratory for antimicrobial resistance Multiplex PCR for the detection of the *mecA* gene and the identification of *Staphylococcus aureus* National Food Institute. Technical University of Denmark. Copenhagen, 2009.

CUCARELLA C. et al. Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. **Journal of Bacteriology**. v. 183, p. 2888–2896, 2001.

DANTAS, S. T. A et al. Transferência de *Salmonella* Enteritidis por contaminação cruzada e formação de biofilme em diferentes superfícies de corte. . **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 2, p. 81-85, 2018.

DEPAOLA A.; JONES J. L. *Vibrio*. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M.L. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 5 ed. **Washington: APHA**, p. 527-541, 2015.

DONLAN R. M. Biofilms: microbial life on surfaces. **Emerg Infect Dis**. 881-90. 2002.

FETSCH, A. et al. *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with

the consumption of ice-cream. **International Journal of Food Microbiology**, v. 187, p. 1–6, 18 set. 2014.

FROZI, J. B. et al. Single- and Multispecies Biofilms by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. Isolated from Raw Fish and a Fish Processing Unit. **Ciência Rural**, v. 47, n. 10, 2017.

HOEL S.; MEHLI L.; BRUHEIM T.; VADSTEIN O., JAKOBSEN A. N. Assessment of Microbiological Quality of Retail Fresh Sushi from Selected Sources in Norway. **J Food Prot**. 78(5):977–82, 2015.

JOHNSON W. M. et al. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. **J. Clin. Microbiol**. 29, 426–430, 1991.

JUNEJA, V. K. et al. Predictive model for growth of *Bacillus cereus* during cooling of cooked rice. **International Journal of Food Microbiology**, v. 290, p. 49–58, 2 fev. 2019.

KORNACKI J. L.; GURTNER J. B.; STAWICK A. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. **Compendium of Methods for the Microbiological**

Examination of Foods. 5 ed, p. 103-112, 2015.

LIANG, W.-L. et al. The microbiological quality of take-away raw salmon finger sushi sold in Hong Kong. **Food Control**, v. 69, p. 45–50, 1 nov. 2016.

MACK D. et al. Microbial interactions in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **Anal. Bioanal. Chem.** v. 387, p. 399, 2007.

MEHROTRA M.; WANG G.; JOHNSON W. M. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. **J. Clin. Microbiol.** 38, 1032–1035, 2000.

MENGIST, A.; MENGISTU, G.; RETA, A. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of *Salmonella* and *Shigella* among food handlers in catering establishments at Debre Markos University, Northwest Ethiopia. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 75, p. 74–79, 1 out. 2018.

MIGUÉIS, S. et al. Evaluation of ready to eat sashimi in northern Portugal restaurants. **Food Control**, v. 47, p. 32–36, 1 jan. 2015.

MOHAMMAD, Z. H.; PAYTON, L.; SIRSAT, S. A. Efficacy of sushi rice acidification: Quantification of *Bacillus*

cereus and *Clostridium perfringens* during simulation of retail practices. **LWT**, v. 131, p. 109884, 1 set. 2020.

MONTANARI, A. S. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis de salmão, preparados e comercializados em restaurantes japoneses no município de JI-Paraná – RO. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 2, n. 1, 14 jun. 2015.

MORAES, T. P. de; DARLEY, F. M.; TIMM, C. D. Avaliação microbiológica de sushi e sashimi preparados em restaurantes especializados. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 18, n. 2, p. 254–257, 19 jun. 2019.

OMOE K. et al. Detection of seg, seh and sei genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolate harboring seg, seh or sei genes. **J. Clin. Microbiol.** 40, 857–862, 2002.

OTTO M. Staphylococcal Biofilms. Current topics in microbiology and immunology. 322:207, 2008.

ORWIN, P.M. et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* enterotoxin L. **Infect. Immunity**, v. 71, p. 2916-2919, 2003.

PATEL, A. K. et al. Enterobacteriaceae, coliforms and *E. coli* | introduction. In: batt, c. A.; tortorello, m. L. (eds.). **Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)**. Oxford: Academic Press, 2014. p. 659–666.

PERASSOLI, A. A.; FRIGO, G. Análise higiênico-sanitária de sushi e sashimi comercializados em estabelecimentos na cidade de Maringá – PR. 2019.

PUAH, S. M.; CHUA, K. H.; TAN, J. A. M. A. Virulence Factors and Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolates in Ready-to-Eat Foods: Detection of *S. aureus* Contamination and a High Prevalence of Virulence Genes. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, n. 2, fev. 2016.

PUAH, S. M. et al. Diverse Profiles of Biofilm and Adhesion Genes in *Staphylococcus aureus* Food Strains Isolated from Sushi and Sashimi. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 9, p. 2337–2342, set. 2018.

SANTOS, A. A. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de sushi comercializado em restaurantes de Aracaju, Sergipe. **Scientia Plena**, v. 8, n. 3(a), 29 maio 2012.

VALLANDRO, M. J. Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis a Revista Higiene Alimentar, 35 (293): e1059, 2021
ISSN 2675-0260 – DOI: 10.37585/HA2021.02culinaria

base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa na cidade de Porto Alegre-RS. 2010. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/28854>.

VASUDEVAN P. et al. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. **Veterinary Microbiology**. v. 92, p. 179–185, 2003.

WANG, S.C. et al. Distribution of superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates from milk samples of bovine subclinical mastitis cases in two major dairy production regions of China. **Veterinary Microbiology**, v. 137, p. 276-281, 2009.

YAP, M. et al. Microbial Quality and Safety of Sushi Prepared with Gloved or Bare Hands: Food Handlers' Impact on Retail Food Hygiene and Safety. **Journal of Food Protection**, v. 82, n. 4, p. 615–622, 1 abr. 2019.