

**RAQUEL MONTEIRO DE MATTOS**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE COMIDA ORIENTAL PROVENIENTE DE  
SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE (SAC) DE UMA REDE DE  
RESTAURANTES DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO**



**Monografia apresentada ao Instituto de  
Microbiologia Paulo de Góes, da  
Universidade Federal do Rio de Janeiro,  
como pré-requisito para a obtenção do  
grau de Bacharel em Ciências  
Biológicas: Microbiologia e Imunologia.**

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
RIO DE JANEIRO  
JANEIRO / 2023**

**Trabalho realizado no Laboratório  
Biológico de Análises Ambientais LTDA.  
sob a orientação da MsC Mariana  
da Silveira de Jesus Oliveira  
e como tutor, o Professor  
Marco Antônio Lemos Miguel.**

### CIP - Catalogação na Publicação

M444q      Mattos, Raquel Monteiro de  
                 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE COMIDA ORIENTAL  
                 PROVENIENTE DE SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE  
                 (SAC) DE UMA REDE DE RESTAURANTES DA CIDADE DO RIO  
                 DE JANEIRO / Raquel Monteiro de Mattos. -- Rio de  
                 Janeiro, 2023.  
                 59 f.

                 Orientadora: Mariana da Silveira de Jesus  
                 Oliveira.

                 Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
                 Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto  
                 de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas:  
                 Microbiologia e Imunologia, 2023.

                 1. Doenças transmitidas por alimentos. 2.  
                 Controle de qualidade. 3. Comida oriental. 4.  
                 Serviço de atendimento ao cliente. 5. Microbiologia  
                 de alimentos. I. Oliveira, Mariana da Silveira de  
                 Jesus, orient. II. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ  
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO**

**ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO  
NO RCS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO,  
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E  
IMUNOLOGIA**

**ALUNO: RAQUEL MONTEIRO DE MATTOS**  
DRE: 119059952

**BANCA EXAMINADORA:** Profa. Karla Rodrigues Miranda (Presidente)  
Profa. Talita Gomes Baêta Lourenço  
Profa. Maria Lúcia Mendes Lopes  
Profa. Maria Isabel Nogueira Di Azevedo (Suplente)

**Título da Monografia: “Qualidade microbiológica de comida oriental  
proveniente de serviço de atendimento ao cliente (SAC) de uma rede de  
restaurantes da cidade do Rio de Janeiro”**

**Local: Sala de Seminários do Depto. De Microbiologia Médica / IMPPG / CCS / UFRJ**  
**Data e hora de início: 13 de janeiro de 2023 às 9:00h**

Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota 9,2 neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da banca examinadora, aluno, orientador (e/ou co-orientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 13 de janeiro de 2023.

NOTA

9,5

Banca Examinadora:

Karla Rodrigues Miranda  
Profa. Karla Rodrigues Miranda

Talita Gomes Baêta Lourenço  
Profa. Talita Gomes Baêta Lourenço

Maria Lúcia Mendes Lopes  
Profa. Maria Lúcia Mendes Lopes

Maria Isabel Nogueira Di Azevedo  
Profa. Maria Isabel Nogueira Di Azevedo

Aluno:

Raquel Monteiro de Mattos  
Raquel Monteiro de Mattos

Orientador:

Mariana da Silveira de Jesus Oliveira  
M.Sc. Mariana da Silveira de Jesus Oliveira

Coordenador  
de TCC

Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho  
Profa. Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho

Dedico este trabalho a minha família,  
que sempre me apoiou e incentivou a realizá-lo.

## AGRADECIMENTOS

Sou muitíssimo grata a Deus, por sua infinita graça e bondade sobre a minha vida. Sou grata porque Ele se faz presente, não só neste pequeno período da minha vida, mas em todo o tempo. A cada dia, durante toda a graduação, mesmo cansada e desgastada, tinha a certeza de que Ele iria me sustentar e, a cada manhã suas misericórdias seriam renovadas. Se não fosse por Ele, não teria conseguido chegar até aqui. A Ele toda honra, glória e louvor.

Agradeço também aos meus pais, Sandro e Alexandra, por todo amor, cuidado e carinho. Obrigada pelo investimento e por nunca medirem esforços para que eu pudesse ter a melhor educação e aprendizado. E não só por isso, mas por terem me mostrado e ensinado o caminho pelo qual devo andar, pois mesmo crescida, não irei me desviar dele. Obrigada por me amarem incondicionalmente e me apoiarem em minhas escolhas, por me darem o impulso necessário para os voos da vida. Obrigada pelo exemplo. Amo vocês demais e não existem palavras capazes de expressar minha eterna gratidão! Essa conquista também é de vocês.

À minha avó Ilza, por todo amor e carinho, por trazer alegria e paz aos meus dias e por sempre me sustentar com suas orações. Obrigada por cada ligação e por cada abraço acolhedor, por se preocupar e se importar comigo. Amo a senhora demais! Agradeço também à toda minha família, pelo amor e carinho.

Agradeço também a todos os meus amigos e irmãos que a vida me deu. Deus sabe como sou grata por tê-los! Cada um, de um jeito especial, traz alegria para os meus dias. Sem dúvidas, se não fosse o carinho e incentivo de cada um, os abraços, as orações, as risadas e os choros, não teria chegado até aqui. Coisa boa é ter amigos para compartilhar e celebrar a vida. Amigos queridos, essa conquista tem boa parte de vocês e este é só um pedaço da imensa trajetória que temos pela frente. Amo cada um e agora não tenho mais desculpa para furar os rolês, o TCC acabou.

Agradeço ao meu namorado e melhor amigo, Lucas, que nunca saiu do meu lado e sempre esteve disposto a me ouvir falar sobre este trabalho — e não foram poucas vezes rs. Ele esteve comigo praticamente durante toda a graduação e sem seu apoio, dificilmente teria

conseguido! Nunca mais esqueci daquele açai surpresa pós prova catastrófica de bioquímica rs. Obrigada, meu amor, por toda paciência, compreensão, carinho e amor! Essa é só uma, das muitas etapas de nossas vidas, que venceremos juntos! Te amo!

Sou grata pelas amizades construídas na Micro, pelo meu Grupo Secreto: Meninas, obrigada por cada risada e choro ao longo desses 4 anos. Como sempre falo, vocês tornaram meus dias mais leves, obrigada por serem as melhores amigas que a faculdade poderia me dar. Cada açai pós aula, sonecas no CA, resenhas no jardim (junto com aqueles mosquitos assassinos), filas gigantescas no bandeirão, filas gigantescas no micro-ondas do CCS, tortinhas de limão, pavês e picolés de milho (haja comida e docinhos pra aguentar, não é mesmo?!), as crises de riso e de choro no subsolo... Enfim, sou imensamente grata por tudo que vivemos até aqui, mas o mundo todo ainda é pequeno para nós, vamos pra cima, da Micro para o mundo! Amo vocês!

Sou grata por todos os professores que estiveram comigo, desde minha alfabetização até a última disciplina da graduação. Obrigada pela imensa contribuição! Meu desejo é que esta nobre profissão seja mais valorizada.

Agradeço ao Laboratório de Cocos Patogênicos e Microbiota, especialmente à Prof.<sup>a</sup> Rosana B. R. Ferreira. Neste laboratório fiz minha iniciação científica por 2 anos e sou imensamente grata aos meus colegas, foi um período em que adquiri muitos conhecimentos e pude conhecer pessoas maravilhosas! Obrigada, Rosana, pela oportunidade de tantos aprendizados, enquanto estive sob sua orientação. Sem dúvidas, você tem um grande papel em minha vida acadêmica. Obrigada!

Sou grata ao Laboratório Biológico de Análises Ambientais pela oportunidade e por ter me recebido, já no final da graduação, em um momento decisivo. No último ano, ao fim dos estágios obrigatórios, resolvi mudar de área dentro da microbiologia e entrei para o LBAA, onde desenvolvi meu PTCC e TCC e tenho, até hoje, aprendido muito. Obrigada também pelo apoio financeiro ao longo deste período. Obrigada Mari, Fernanda, Camilla e Thayane por fazerem parte, mais de perto, disso tudo!

Sou grata à minha orientadora Mariana, por ter aceitado o desafio de me orientar em meio à correria da vida profissional. Obrigada por toda paciência e dedicação, por estar

disponível, dentro do possível, para compartilhar seus conhecimentos e me auxiliar na rota que este projeto teria. Obrigada por todas as ideias e sugestões. Obrigada também pelas risadas e conversas, por todos os conselhos e dicas para a vida! Você foi essencial!

Agradeço também ao Prof. Marco Miguel, por prontamente ter aceitado o papel de tutor. Sou grata por ter sido praticamente meu orientador também, dando ideias para o projeto e por ter corrigido este trabalho. Também agradeço a forma como incentiva os alunos da micro a desbravarem a imensidão de possibilidades que nosso curso oferece!

Por fim, agradeço muitíssimo ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes e toda equipe que o compõe. Obrigada pela imensa contribuição para minha formação acadêmica e profissional. Também agradeço aos professores desta banca, que prontamente aceitaram o convite, vocês fazem parte de um momento muito especial para mim!



“Tudo que você tiver de fazer, faça o melhor que puder.”

Eclesiastes 9.10a - NTLH



## RESUMO

**RAQUEL MONTEIRO DE MATTOS**

### **QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE COMIDA ORIENTAL PROVENIENTE DE SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE (SAC) DE UMA REDE DE RESTAURANTES DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO**

**Orientador: Mariana da Silveira de Jesus Oliveira**

**Tutor: Marco Antônio Lemos Miguel**

Resumo da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

Com o avanço do processo de globalização, as relações tornaram-se cada vez mais integradas, impactando os hábitos alimentares dos indivíduos. Devido ao aumento das jornadas de trabalho e a falta de tempo para preparo domiciliar de alimentos, iniciou-se a transição para hábitos alimentares que oferecessem praticidade, como a ingestão de alimentos produzidos em restaurante. Na década de 90, a culinária oriental se disseminou de forma repentina no Brasil, quando diversos restaurantes e *buffets* passaram a incluir tais alimentos em seus cardápios. No entanto, por se tratar de uma gastronomia que se destaca por preparações utilizando peixe cru e/ou malcozido, a preparação incorreta pode ser um risco à saúde humana. As doenças transmitidas por alimentos (DTA) podem ocorrer pela ingestão de água ou alimentos contaminados por agentes químicos, físicos ou biológicos. Na última década, o Brasil notificou diversos surtos DTA por ano, resultando em milhares de pessoas doentes e hospitalizadas. Baseado nisso, o presente estudo tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de comida oriental proveniente uma rede de restaurantes da cidade do Rio de Janeiro, onde indivíduos com episódios de DTA após a ingestão de alimentos preparados pelo estabelecimento procuraram reinvidicação pelo Serviço de Atendimento ao Cliente (SAC). No período entre maio e novembro de 2022, 79 amostras do SAC da rede foram selecionadas para as análises. Conforme critérios pré-determinados pela legislação brasileira, os microrganismos avaliados foram: *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e membros da família *Enterobacteriaceae*. As análises foram realizadas segundo normas específicas, como a *International Organization for Standardization* (ISO) e o *Bacteriological Analytical Manual* (BAM). Das 79 amostras analisadas, sete foram consideradas inadequadas para consumo segundo a Instrução Normativa Nº 161 da ANVISA. A reprovação ocorreu em uma amostra em função da alta contagem de *S. aureus* e seis por *E. coli*. Em nenhuma amostra foi detectada a presença de *Salmonella* spp. A contagem dos demais parâmetros não foi ultrapassada. No entanto, a contagem de coliformes foi superior a 100 UFC/g em mais de 65% dos alimentos. Apesar de não ser um parâmetro incluído na atual legislação vigente, tais microrganismos podem representar uma possível contaminação de origem fecal e ser responsáveis por episódios de DTA, afetando a qualidade de alimentos. A baixa relação das reclamações com os achados sugere a necessidade da inclusão de mais

parâmetros microbiológicos associados à comida oriental, especialmente alimentos consumidos crus e pescados.

**Palavras-chave:** Higiene alimentar; sushi; infecção alimentar; boas práticas de manipulação, coliformes.

**ABSTRACT****RAQUEL MONTEIRO DE MATTOS****QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE COMIDA ORIENTAL PROVENIENTE DE SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE (SAC) DE UMA REDE DE RESTAURANTES DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO****Orientador: Mariana da Silveira de Jesus Oliveira****Tutor: Marco Antônio Lemos Miguel**

Abstract da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

With the advancement of the globalization process, relationships have become increasingly integrated, impacting individuals eating habits. Due to the increase in working hours and the lack of time to prepare food at home, the transition to eating habits that offered practicality began, such as eating food produced in a restaurant. In the 1990s, oriental cuisine suddenly spread in Brazil, when several restaurants and buffets began to include such foods on their menus. However, as it is a cuisine that stands out for preparations using raw and undercooked fish, incorrect preparation can be a risk to human health. Foodborne Illnesses (FBD) can occur by ingestion of water or food contaminated by chemical, physical or biological agents. In the last decade, Brazil has reported several FBD outbreaks per year, resulting in thousands of sick and hospitalized people. Based on this, the present study aims to evaluate the microbiological quality of oriental food from a chain of restaurants in the city of Rio de Janeiro, where individuals with episodes of FBD after eating food prepared by the establishment sought a claim by the Customer Service (CS). In the period between May and November 2022, 79 samples from the network's CS were selected for analysis. According to criteria predetermined by Brazilian legislation, the microorganisms evaluated were *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and members of the *Enterobacteriaceae* family. Analyses were performed according to specific standards, such as the International Organization for Standardization (ISO) and the Bacteriological Analytical Manual (BAM). Of the 79 samples analysed, seven were considered unsuitable for consumption according to ANVISA Normative Instruction N° 161. Failure occurred in one sample due to the high count of *S. aureus* and six due to *E. coli*. In no sample was detected the presence of *Salmonella* spp. The count of the other parameters was not exceeded. However, the coliform count was greater than 100 CFU/g in more than 65% of the foods. Despite not being a parameter included in current legislation, such microorganisms may represent a possible contamination of fecal origin and be responsible for episodes of FBD, affecting the quality of food. The low ratio of complaints to findings suggests the need to include more microbiological parameters associated with oriental food, especially foods consumed raw and fish.

**Keywords:** food hygiene; sushi; food poisoning; good handling practices, coliforms.

## RESUMO PARA LEIGOS

**RAQUEL MONTEIRO DE MATTOS**

### **QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE COMIDA ORIENTAL PROVENIENTE DE SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE (SAC) DE UMA REDE DE RESTAURANTES DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO**

**Orientador: Mariana da Silveira de Jesus Oliveira**

**Tutor: Marco Antônio Lemos Miguel**

Resumo para leigos da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

No mundo moderno atual, mudanças nos hábitos alimentares foram inevitáveis, devido ao avanço da tecnologia, altas jornadas de trabalho e falta de tempo para preparar alimentos. Isso possibilitou a mudança para hábitos alimentares que oferecessem praticidade, como o consumo de alimentos produzidos por restaurantes. Na década de 90, a culinária oriental se espalhou de forma inesperada no Brasil, quando diversos restaurantes e *buffets* passaram a oferecer esses alimentos em seus cardápios. No entanto, por se tratar de uma gastronomia que se destaca por preparações utilizando peixe cru, se esses alimentos não forem preparados da forma correta, podem ser um risco à saúde humana. As Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA ou DTA) podem ocorrer de diversas formas, seja pela presença de substâncias tóxicas e/ou agentes físicos, como pedaços de vidro por exemplo, ou mesmo por microrganismos, como vírus e bactérias. Normalmente, a má higienização, manipulação e armazenamento inadequados dos alimentos são os principais fatores que favorecem a multiplicação desses microrganismos e possíveis surtos de DTA em casa e em unidades de alimentação. Na última década, o Brasil apresentou em média 634 surtos de DTA por ano, resultando em mais de 100.000 doentes, cerca de 14 mil hospitalizados e 89 indivíduos foram a óbito. Neste estudo, foi avaliada a qualidade microbiológica de alimentos preparados prontos para consumo, provenientes de Serviço de Atendimento ao Cliente (SAC), que atende clientes com suspeita de DTA envolvendo alimentos comercializados pelas unidades de restaurantes de uma rede especializada em comida oriental da cidade do Rio de Janeiro. Das amostras de alimentos analisadas, mais de 90% apresentaram um resultado satisfatório quando comparado aos padrões da lei brasileira, sugerindo que sintomas descritos pelos clientes podem não estar relacionados ao alimento ingerido naquele estabelecimento. Se diante da legislação atual, essas amostras estavam próprias para consumo, quando avaliado o parâmetro relacionado à higiene, mais da metade das amostras foram reprovadas, já que este pode sugerir uma possível contaminação de origem fecal recente. Logo, a relação entre o alto número de reclamações com os bons resultados sugere a necessidade da inclusão de mais critérios microbiológicos associados a alimentos.

## ÍNDICE

RESUMO .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
RESUMO PARA LEIGOS.....	xiv
1. INTRODUÇÃO .....	1
1. 1. Padrão alimentar da população brasileira.....	1
1. 2. Consumo de comida oriental pela população brasileira .....	2
1. 3. Doenças Transmitidas por Alimentos.....	3
1. 4. Principais alimentos relacionados a DTA .....	4
1. 5. Critérios microbiológicos para avaliação da qualidade de alimentos prontos para consumo.....	6
1. 5. 1. <i>Bacillus cereus</i> .....	7
1. 5. 2. <i>Clostridium perfringens</i> .....	8
1. 5. 3. <i>Escherichia coli</i> .....	9
1. 5. 4. <i>Salmonella</i> spp.....	9
1. 5. 5. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	10
1. 5. 6. <i>Enterobacteriaceae</i> .....	10
1. 6. Critérios microbiológicos para avaliação da qualidade de pescados.....	12
1. 7. Boas práticas de manipulação de alimentos .....	12
1. 8. Padronização dos processos.....	13
1. 9. Serviço de atendimento ao cliente (SAC).....	14
2. JUSTIFICATIVA.....	15
3. OBJETIVO.....	16
3. 1. Objetivos específicos .....	16
4. METODOLOGIA .....	17
4. 1. Amostras utilizadas para análise.....	17

4. 2. Recebimento e armazenamento das amostras .....	19
4. 3. Preparo inicial das amostras .....	19
4. 3. 1. Preparo de amostras de alimento para análise de <i>Salmonella</i> spp.....	19
4. 3. 2. Preparo de amostras de alimento para análise dos demais microrganismos.....	19
4. 4. Pesquisa e contagem dos microrganismos.....	20
4. 4. 1. <i>Bacillus cereus</i> em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 7932:2016.....	20
4. 4. 2. <i>Clostridium perfringens</i> em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 7937:2020.....	21
4. 4. 3. <i>Escherichia coli</i> em alimentos segundo a metodologia descrita em <i>Bacteriological Analytical Manual</i> (BAM, 2020) .....	22
4. 4. 4. <i>Salmonella</i> spp. em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 6887-1:2019.....	23
4. 4. 5. <i>Staphylococcus aureus</i> em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 6888-1:2019 .....	25
4. 4. 6. <i>Enterobacteriaceae</i> em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 21528-2:2020 .....	26
5. RESULTADOS .....	28
5. 1. Amostras de alimentos recebidas pelo LBAA.....	28
5.2. Caracterização microbiológica das amostras.....	30
6. DISCUSSÃO.....	32
7. CONCLUSÕES.....	37
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	38



## 1. INTRODUÇÃO

Com o avanço do processo de Globalização na década de 1980, as relações internacionais envolvendo política, economia e cultura tornaram-se cada vez mais integradas (Santos, 1993 *apud* Ribeiro, 2002). Após a Segunda Guerra Mundial, o mundo - principalmente Europa Ocidental e América do Norte - viveu um período econômico que pode ser denominado “anos dourados do capitalismo”, período marcado pelo intenso crescimento da produtividade industrial, incluindo a indústria alimentícia (Brum, 1991). Desta forma, os hábitos alimentares da pós-modernidade se diferenciam de modelos anteriores devido a características como o avanço da tecnologia e indústria, altas jornadas de trabalho e/ou estudo dos indivíduos, como consequente falta de tempo para preparo domiciliar de alimentos, possibilitando a transição para hábitos alimentares que oferecem maior praticidade (Gallo *et al.*, 2020).

### 1. 1. Padrão alimentar da população brasileira

Com base em análises feitas por levantamento de dados de Pesquisas de Orçamentos Familiares (POF) e dados dos Inquéritos Nacionais de Alimentação (INA), junto ao Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a ingestão de alimentos ultra processados e prontos para consumo estão presentes no dia a dia dos brasileiros, principalmente nas regiões mais desenvolvidas economicamente do país e no caso de indivíduos com rendas acima de 2,5 salários-mínimos (Bezerra *et al.*, 2017; Morais *et al.*, 2021). Desta forma, a ingestão de alimentos em restaurantes, redes de lanchonetes, *fast foods*, e até mesmo o consumo de alimentos pré-prontos, como macarrão instantâneo ou comida congelada – qualquer tipo de alimento que não foi preparado no lar – influencia a qualidade de vida dos indivíduos e possui relação com características socioculturais e econômicas (Sichieri, Verly Jr e Bezerra, 2022).

Os padrões alimentares de indivíduos que consomem alimentos prontos para consumo podem variar devido à facilidade atual de comprar um alimento, até mesmo em aplicativos de celular. Essas variações podem se diferenciar pela escolha de alimentos mais calóricos, como consumo de refrigerantes, doces, lanches gordurosos ou alimentos ultra processados, mas também escolhas mais saudáveis, como saladas e pratos naturais (Andrade *et al.*, 2018). Entretanto, independentemente do tipo de alimento consumido, é importante atentar-se ao fato de que quaisquer alimentos estão suscetíveis à contaminação (Flores e Melo, 2015).

## 1. 2. Consumo de comida oriental pela população brasileira

Com a chegada dos imigrantes japoneses ao Brasil no início do século XX, especificamente à cidade de São Paulo, a cultura nipônica começou a disseminar-se pelo território brasileiro, principalmente a culinária, baseada em uma dieta rica em pescados, arroz e alimentos em conserva (Ribeiro e Paolucci, 2006). Por ser um alimento com baixo teor de colesterol e alto teor proteico, além de ser fonte de vitaminas, minerais e ácidos graxos, como o ômega-3, a carne de peixe se tornou popular entre os brasileiros e decidiram adicioná-la à dieta local (Stansby, 1973 *apud* Sartori e Amancio, 2012).

Foi então na década de 90 que a culinária oriental se disseminou de forma repentina no Brasil, quando diversos restaurantes e *buffets* passaram a incluir em seus cardápios pratos como sushi, sashimi, temaki, harumaki, hot roll, gyoza, entre outras preparações típicas (Cwierka, 2008). Desta forma, a cultura japonesa foi incorporada à brasileira e diversos pratos passaram a ser servidos diferentemente do original, como por exemplo a inserção de *cream cheese* em diversas receitas (Cwierka, 2008).

Atualmente, existem cerca de 3.000 restaurantes de comida oriental, incluindo culinária japonesa, chinesa, indiana, tailandesa, entre outras asiáticas, na Grande São Paulo; enquanto existem pelo menos 1.500 restaurantes exclusivamente japoneses em todo o Brasil (Redação Hashitag, 2017). Uma pesquisa feita pela Francal Feiras — promotora de eventos gastronômicos — durante uma das edições da feira de gastronomia asiática “*Asian & Seafood Show*” mostrou que o faturamento médio gerado pelos estabelecimentos de comida asiática em SP gira em torno de R\$ 13,4 bilhões ao ano; enquanto à nível nacional, este faturamento pode alcançar 19 bilhões de reais (Redação Hashitag, 2017). De acordo com a Associação Brasileira de Franchising, a cidade de São Paulo pode ser considerada a “capital do sushi” e um levantamento mostrou que existem mais restaurantes japoneses do que churrascarias, sendo uma média de 600 restaurantes japoneses para 500 churrascarias (Teixeira, 2015). Recentemente, um estudo mostrou que o Brasil possui a maior de origem japonesa fora do Japão, com cerca de 1,6 milhão de pessoas (Rosa, 2019).

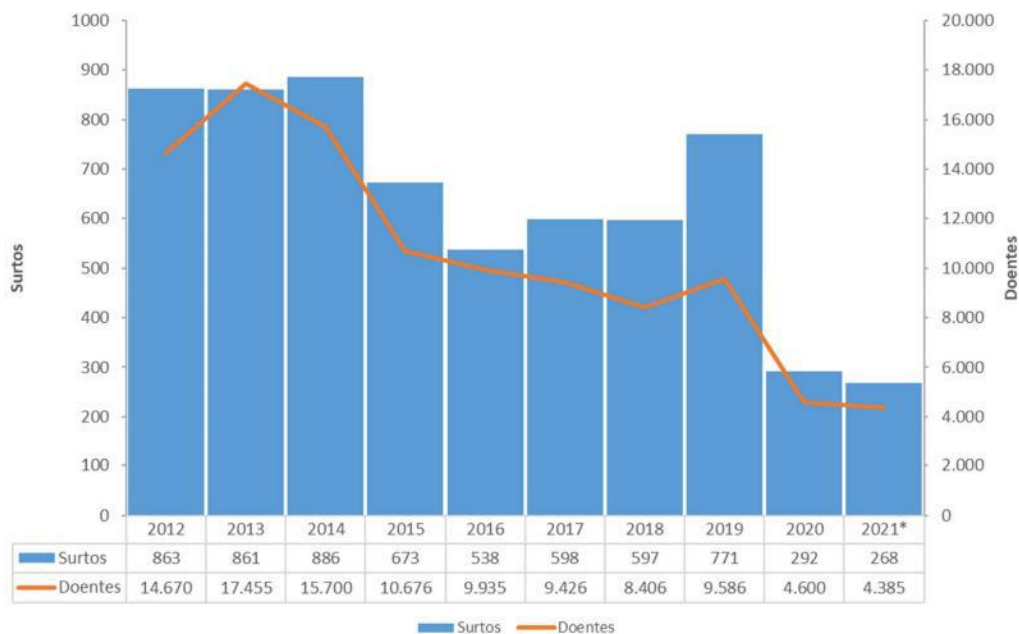
A culinária oriental, especialmente japonesa, é baseada principalmente em pescados e frutos do mar. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o consumo global de pescados tem aumentado cerca de 1,5% ao ano, de tal forma que o consumo de peixe que em 1961 era cerca de 9 kg/habitante ao ano passou para 20,5 kg/habitante em 2018; enquanto no Brasil, o consumo médio de peixes pela população é de 9 kg/habitante ao ano (Brasil, 2019). No entanto, por se tratar de uma gastronomia que se destaca por preparações utilizando peixe

cru, se os alimentos não forem preparados da forma correta, podem ser um risco à saúde humana e, conseqüentemente, causar doenças transmitidas por alimentos (DTA) (Cardoso *et al.*, 2018).

### 1. 3. Doenças Transmitidas por Alimentos

As DTA ocorrem pela ingestão de água ou alimentos contaminados e sua transmissão pode ocorrer pela presença microrganismos patogênicos, através da manipulação incorreta de utensílios, armazenamento indevido e condições adversas de temperatura e pH (Brasil, 2022b). Atualmente, existem cerca de 250 tipos de DTA conhecidas, podendo ter como causa patógenos bacterianos, toxinas, substâncias tóxicas como agrotóxicos, parasitas intestinais e vírus; as manifestações mais comuns são: náuseas, vômito, diarreia, febre, anorexia, falta de apetite e dor abdominal (Brasil, 2020a). Dados do Ministério da Saúde em 2020 revelam que os principais agentes patogênicos das DTA com importância clínica são: *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus* e coliformes, por serem microrganismos frequentemente encontrados em alimentos (principalmente carnes e peixes) crus e processados, e presentes no ambiente onde tais alimentos são manipulados.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), para ser decretado um surto de DTA, bastam dois ou mais casos relacionados epidemiologicamente ou apenas um caso de doença rara, como botulismo ou cólera. Na última década, o Brasil notificou em média 634 surtos de DTA por ano, resultando em mais de 100.000 doentes, sendo cerca de 16 indivíduos doentes por surto (Figura 1); cerca de 14 mil hospitalizados e 89 óbitos (Brasil, 2022b).

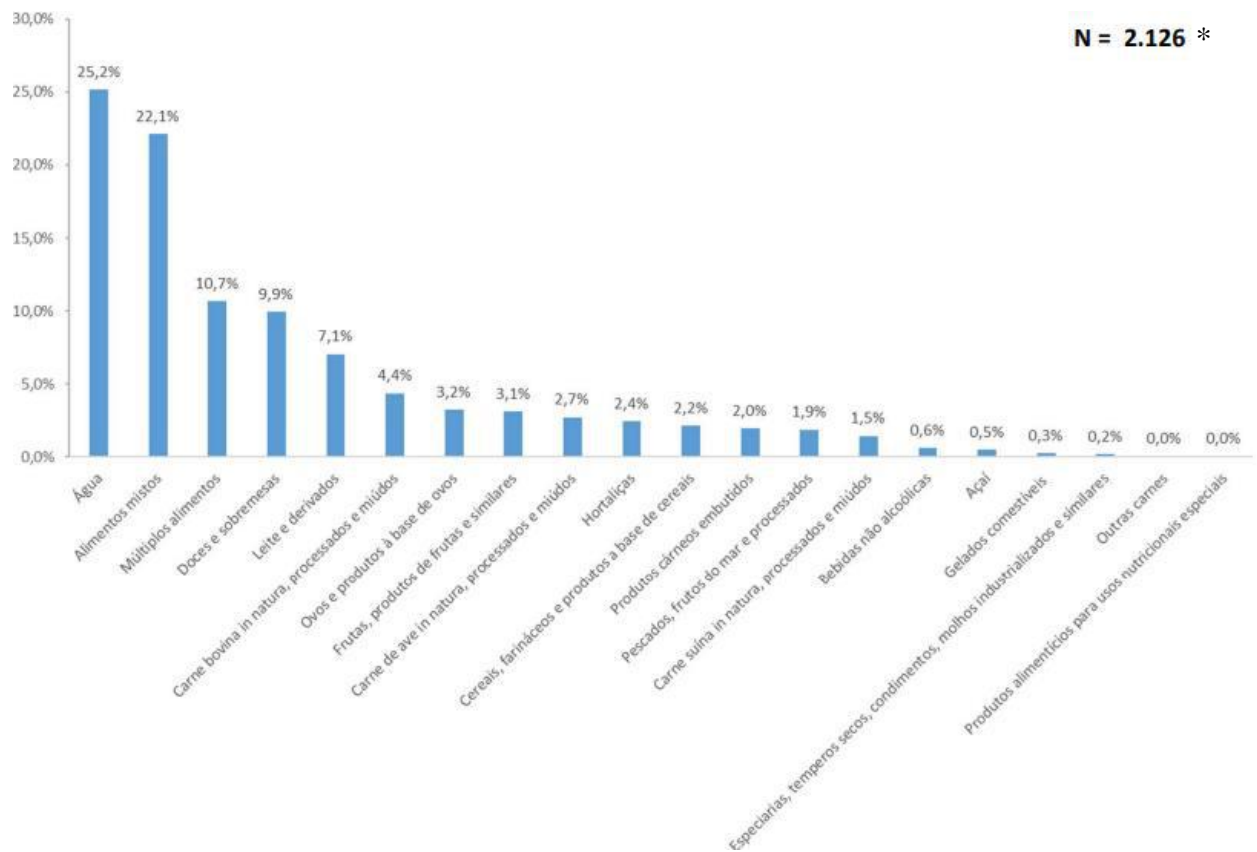


**Figura 1** – Total de surtos de DTA notificados e doentes, no Brasil, de 2012 e 2021 (Brasil, 2022b).

O quadro se revela ainda mais crítico quando atinge indivíduos imunocomprometidos, como neonatos, gestantes, crianças e idosos, que podem ser considerados o grupo de risco para DTA (De Melo *et al.*, 2018) e podem desenvolver complicações fatais se não tratados com urgência. Uma vez que os alimentos podem ser condutores de microrganismos causadores de doenças, entende-se que DTA são uma questão de saúde pública, visto que os índices de morbidade e mortalidade, além dos prejuízos socioeconômicos (principalmente nas áreas menos favorecidas), geram um cenário preocupante (Pires *et al.*, 2021).

#### 1. 4. Principais alimentos relacionados a DTA

Os alimentos e/ou ingredientes com maior índice de contaminação são os ovos (seja para consumo ou como ingrediente em determinada preparação), água, leite e derivados, carnes (bovina, suína ou aves), doces, hortaliças e pescados (Figura 2) (Brasil, 2022b). Em relação aos Produtos de Origem Animal (POA), o desafio é maior, visto que esses animais apresentam microrganismos comensais que podem ser fonte de doenças aos seres humanos, e que podem resistir aos processos industriais de produção (Nespolo, 2021). Além do potencial zoonótico da transmissão de doenças por meio da presença de patógenos presentes em animais que serão fonte de alimento (Braz, 2022), esses microrganismos, ao longo da cadeia produtiva do alimento, podem apresentar resistência antimicrobiana ou a agentes sanitizantes, o que tem se tornado uma preocupação global (Collignon, 2016).



**Figura 2** – Distribuição dos alimentos relacionados a surtos de DTTHA, no Brasil, entre 2012 e 2021 (Brasil, 2022b). \*N. número total de surtos, excluídos registros de ignorado, inconsistente e inconclusivo.

Por apresentar uma cadeia de produção complexa, os alimentos de origem animal (carnes, ovos, laticínios e derivados) possuem fatores que favorecem a sobrevivência de patógenos, desde a criação em área externa (campo, rios, entre outros) até o abate, preparo, distribuição e manipulação pelo consumidor (Braz, 2022). No início da produção, em área externa, a contaminação pode ocorrer pela água dos rios e oceanos, do solo e de produtos agrícolas, além do uso indiscriminado de antimicrobianos, que favorecem a resistência de microrganismos e potencializam as DTA (Hemalata e Virupakshaiah, 2016). Durante o processo de transporte até a indústria, na fabricação, na comercialização e distribuição, problemas de contaminação, como a formação de biofilmes e presença de células planctônicas com potencial contaminante, são fatores que aumentam a proliferação microbiana pela manipulação inadequada, o que reforça a importância das boas práticas para a produção de alimentos (Braz, 2022).

1. 5. Critérios microbiológicos para avaliação da qualidade de alimentos prontos para consumo

Em 01 de julho de 2022, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a Instrução Normativa N° 161, onde estabeleceu uma lista com padrões de microrganismos a serem considerados em alimentos preparados prontos para consumo, os quais são manipulados e preparados em serviço de alimentação, embalados ou não (Brasil, 2022a).

Os microrganismos avaliados em alimentos preparados prontos para consumo são: *B. cereus*, *Salmonella* spp., *C. perfringens*, estafilococos coagulase positiva (*S. aureus*) e *E. coli* (Quadro 1).

ALIMENTOS PREPARADOS PRONTOS PARA CONSUMO					
Categorias específicas	Microrganismo	n	c	m	M
a. Alimentos preparados prontos para consumo, elaborados com emprego de calor	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Ausência	.
	<i>Bacillus cereus</i> presuntivo/g, preparações contendo cereais ou molhos	5	1	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	<i>Clostridium perfringens</i> /g, preparações com carne bovina ou suína	5	1	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	Estafilococos coagulase positiva /g	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	20
b. Alimentos preparados prontos para consumo contendo produtos de origem animal, elaborados sem emprego de calor, consumidos crus	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Ausência	.
	Estafilococos coagulase positiva /g	5	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	10 <sup>2</sup>

**Figura 3** –Fragmento do tópico sobre alimentos preparados prontos para consumo, IN N ° 161. (Adaptado de Brasil, 2022a). **n.** quantidade de unidades amostrais. **M.** limite máximo tolerável de uma população microbiana. **c.** quantidade de unidades amostrais inconformes permitidas. **m.** limite aceitável de uma população microbiana.

De acordo com a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 2002), ao analisar tais alimentos, leva-se em consideração o plano de amostragem, que define o número de unidades amostrais a serem colhidas aleatoriamente de um único lote de produção e analisados individualmente (“n”). Dentro do plano, existem dois limites em relação ao padrão microbiológico analisado, em que “m” é o limite aceitável de uma população microbiana, enquanto “M” é o limite máximo tolerável da população. Além disso, também é considerado o número de unidades amostrais não conformes que se é permitido a cada lote, denominado como “c”.

No item “a”, são contemplados os alimentos que passaram por diferentes métodos de cocção, os quais utilizaram alguma fonte de calor para alterar características morfosensoriais dos alimentos (cor, sabor, aroma e textura) (Philippi, 2014). O cozimento, além de fazer parte da preparação dos alimentos, é uma intervenção comum para reduzir o número de células bacterianas possivelmente presente, visto que o calor é capaz de inativar determinados componentes celulares (Li e Ganzle, 2016). Entretanto, a resistência ao calor pode variar entre os patógenos, de forma que determinadas cepas podem apresentar alta resistência ao processamento térmico (Murphy *et al.*, 1999). Já o item “b” abrange alimentos que são consumidos crus e não passaram por nenhum emprego de calor durante a preparação. Isto é, podem ser alimentos *in natura* ou quaisquer alimentos que foram submetidos a outras etapas de preparação, como a adição de temperos (Brasil, 2014).

A seguir, serão apresentados alguns detalhes quanto às características, alimentos associados e DTA causadas pelos microrganismos contemplados nos critérios microbiológicos de alimentos preparados prontos para consumo.

#### 1. 5. 1. *Bacillus cereus*

*B. cereus* são bactérias Gram positivas, aeróbias e pertencentes à família *Bacillaceae* (Bottone, 2010). São microrganismos ubíquos, encontrados no solo, superfícies de plantas, na rizosfera, na água e até mesmo na microbiota de animais (Jessberger *et al*, 2020). Possuem a capacidade de formar esporos, o que os torna resistentes ao calor e à falta de água por longos períodos (Jessberger *et al*, 2020). Entretanto, podem ser encontrados em alimentos, principalmente cereais (especificamente alimentos de origem de arroz), mas também temperos e alimentos desidratados, como leite e derivados, carnes, vegetais e molhos; portanto, é encontrado basicamente em produtos de origem agrícola e animal (Dietrich *et al*, 2021).

Podem estar associados a dois tipos de doenças gastrointestinais: gastroenterite diarreica e gastroenterite emética, levando à intoxicação alimentar (Jessberger *et al*, 2020). A intoxicação responsável pela doença emética - considerada clássica - ocorre através do consumo de enterotoxinas formadas durante o crescimento vegetativo de *B. cereus* no alimento, não sendo a presença da bactéria em si causadora da doença, mas sim a toxina por ela produzida (Agata, 1995). É caracterizada por ser autolimitada, com fim dos sintomas (vômito e náuseas) entre 6 h e 24 h após o consumo do alimento contaminado (Dietrich, 2021). Já a forma diarreica da doença é caracterizada por ser uma toxinfecção, ou seja, o surgimento dos sintomas ocorre pela síntese de toxinas no interior do intestino do hospedeiro, pelas bactérias (Clavel, 2004),

entretanto também se trata de uma doença autolimitada, que regride cerca de 18 h após ingestão do alimento contaminado por *B. cereus* (Dietrich, 2021).

Logo, para evitar que as formas esporuladas e vegetativas de *B. cereus* se multipliquem ou que as toxinas produzidas pelas bactérias contaminem os alimentos, é necessário armazenar os alimentos de maneira correta, sendo refrigerado sempre abaixo dos 7 °C ou aquecido acima dos 63 °C, também mantendo a manutenção das boas práticas de higiene e evitando que o alimento fique exposto ao ambiente por longos períodos (Rodrigo, Rosell e Martinez, 2021).

### 1. 5. 2. *Clostridium perfringens*

*C. perfringens* são bactérias Gram positivas anaeróbias, formadoras de esporos (Gohari *et al.*, 2021) e, apesar de ser um microrganismo frequentemente encontrado no ambiente, solo, esgoto e alimentos, se caracteriza pela capacidade de produzir uma variedade de toxinas e enterotoxinas capazes de causar doenças em humanos e animais (Navarro *et al.*, 2018). Também é um microrganismo que já foi descrito na microbiota normal do trato gastrointestinal de humanos e animais (Kiu e Hall, 2018), entretanto está constantemente associado a doenças entéricas, como intoxicação alimentara e diarreia, que geralmente são autolimitadas, mas podem ser uma ameaça para grupos de risco (Yao e Annamaraju, 2022).

*C. perfringens* pode ser frequentemente encontrado em alimentos cozidos, desidratados ou crus, principalmente em alimentos com alto teor proteico de origem animal, como carnes, cozidos, ensopados, molhos, sopas, tortas e leite (Omemu *et al.*, 2014). Outros alimentos muito elaborados, como aves recheadas e rolos de carne, por apresentarem uma estrutura que dificulta a entrada de oxigênio, quando manipulados na ausência de boas práticas, favorecem a proliferação dos patógenos anaeróbios, como *C. perfringens* (Braz, 2022).

O patógeno apresenta a forma vegetativa e de esporos, logo, para evitar que haja contaminação pelo mesmo, é necessário evitar que ambas as formas se proliferem. Sendo assim, por apresentar sensibilidade a temperaturas extremas (altas e baixas), pode-se evitar a presença do microrganismo através da elevação da temperatura do alimento imediatamente antes do consumo e, caso não seja consumido, arrefecê-lo a temperaturas inferiores a 10 °C (Omemu *et al.*, 2014), além das boas práticas de higiene pessoal e com o alimento.



### 1. 5.3. *Escherichia coli*

*E. coli* é uma bactéria gram-negativa, não formadora de esporos, aeróbia facultativa, pertencente à família das *Enterobacteriaceae* e faz parte do grupo dos chamados coliformes (De Melo *et al.*, 2018). Trata-se de um comensal, presente na microbiota intestinal dos seres humanos e animais de sangue quente, visto que a maioria de suas cepas não causam doença. Entretanto, uma pequena parcela destes microrganismos tem sido responsável por causar infecções de origem alimentar em todo o mundo (WHO, 2018). Cepas associadas à infecção têm sido, em virtude de sua patogenicidade, agrupados em patotipos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* enterohemorrágica, produtora da toxina Shiga (EHEC) (Braz, 2022).

As infecções causadas por *E. coli* ocorrem principalmente pela ingestão do alimento cru ou malcozido, que não tenha sido higienizado corretamente e que tenha a presença do microrganismo - podendo ser de origem animal ou vegetal (Braz, 2022). A detecção desta bactéria é de extrema importância, visto que pode ser um indicativo de contaminação fecal, que podem levar a surtos de DTA (Melo *et al.*, 2018). Portanto, para controle e prevenção de infecções causadas por *E. coli*, é necessário realizar corretamente a lavagem das mãos, lavagem e higienização correta dos alimentos e utensílios que serão utilizados no preparo, além de cozinhar bem os alimentos, visto que o microrganismo é sensível a altas temperaturas (WHO, 2018).

### 1. 5.4. *Salmonella* spp.

As espécies do gênero *Salmonella* são bactérias gram-negativas, não esporuladas, anaeróbias facultativas e pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (Cardoso e Tessari, 2013). A doença causada por este microrganismo chama-se Salmonelose, DTA com maior predominância no Brasil e no mundo (Braz, 2022). O gênero *Samonella* é composto por duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*, sendo *S. enterica* composta por subespécies, das quais a subespécie *enterica* apresenta diversos sorovares capazes de causar infecção em humanos (Ferrari *et al.*, 2019). As doenças causadas por espécies de *Salmonella* se diferenciam, quanto à sua patogenicidade em humanos, em quadros do tipo tifóide e não-tifóide. O quadro tifóide está associado ao acometimento de febre tifóide e paratifóide, caracterizada por sintomas como febre alta, mal-estar, dores de cabeça, náusea e desconforto abdominal (Parry *et al.*, 2002),

enquanto o tipo não-tifóide é responsável por causar Salmonelose com quadros clínicos leves e autolimitantes, variando de acordo com o sorovar envolvido (Braz, 2022).

*Salmonella* spp. estão presentes em alimentos principalmente de origem animal, como carne bovina, suína e aves, incluindo ovos e leite, e a principal via de contaminação é através do contato fecal-oral, bem como a falta de higiene pessoal e dos alimentos, além do armazenamento incorreto (De Melo *et al.*, 2018). Devido à gravidade da patologia da Salmonelose, associado ao número de surtos envolvendo este patógeno, a ANVISA determinou, através da IN Nº 161, a ausência deste microrganismo nas amostras de alimentos prontos para consumo.

#### 1. 5. 5. *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* são bactérias Gram positivas, pertencentes à família *Micrococcaceae* e geralmente são capazes de colonizar a pele e narinas de humanos e outros animais (Gorwitz *et al.*, 2008). São consideradas patógenos oportunistas, por causarem infecções graves e invasivas em indivíduos imunocomprometidos, sendo a principal causa de bacteremias, sepse e endocardites (Oliveira *et al.*, 2018). Além disso, há um problema recorrente em relação a *S. aureus* sobre sua resistência a antibióticos, em que os *S. aureus* resistentes à meticilina são os mais relevantes clinicamente, tornando o tratamento ainda mais complexo. No contexto das DTAs, são responsáveis por causar intoxicação autolimitante (Cheung, Bae e Otto, 2021).

*S. aureus* é um patógeno frequentemente encontrado em alimentos devido à contaminação durante o manuseio e preparo, visto que a pele e as mucosas são um reservatório universal para o microrganismo (Haghi *et al.*, 2021). A intoxicação alimentar por *S. aureus* é a mais comum, através de cepas enterotoxigênicas que produzem toxinas ainda no alimento antes de ser consumido, levando a sintomas como vômito, dor abdominal e diarreia (Fetsch *et al.*, 2014). Os principais alimentos relacionados a intoxicação por *S. aureus* são carnes bovinas, frangos e peixes (principalmente os produtos que passaram por certa etapa de manipulação, como os fatiados), leite e derivados lácteos, molhos, cogumelos, enlatados, pães e ovos (De Melo *et al.*, 2018).

#### 1. 5. 6. *Enterobacteriaceae*

*Enterobacteriaceae* é classificada como uma grande família de bactérias, que abrange as seguintes características em comum: são Gram negativas, em forma de bastonete, anaeróbias facultativas, não formadoras de esporos e oxidase negativas; mas também apresentam outras características diferentes entre si e diversas (Janda e Abbott, 2006). De acordo com dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI, 2020), a família é formada por 53 gêneros e apresenta mais de 170 espécies, dentre elas principalmente *E. coli*, *Salmonella* spp., *Enterobacter* spp., *Shigella* spp., *Serratia* spp., *Yersinia* spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp. entre outros. Acima já foram explicitados *E. coli* e *Salmonella* spp., presentes na IN N° 161, no entanto outras espécies da família também podem estar relacionadas a DTA.

A presença de *Enterobacteriaceae* no ambiente é muito abrangente e muitas espécies estão relacionadas ao trato gastrointestinal animal, compondo sua microbiota (Mladenovic *et al.*, 2021). Muitas cepas são inofensivas aos seres humanos, enquanto outras são consideradas importantes patógenos para animais de sangue quente, principalmente quando relacionado à indústria alimentícia, por ser um indicador de coliformes e possível contaminação fecal (Osaili *et al.*, 2018).

Dentro da família, está incluso o subgrupo dos coliformes, o qual se diferencia por habitar principalmente o trato gastrointestinal de animais; diferentemente das *Enterobacteriaceae* em geral, que além de estarem presentes em animais, podem habitar também o meio ambiente, como estirpes de *Klebsiella* e *Enterobacter* que vivem em plantas (Mladenovic *et al.*, 2021; Medina *et al.*, 2019). Portanto, um microrganismo é classificado como coliforme se for capaz de fermentar lactose, que leva à produção de ácido e gás quando incubado temperatura específica (Selover, Johnson e Waite-Cusic, 2021). Os coliformes podem ser divididos em coliformes totais, que são aqueles cuja contagem indica as condições higiênico-sanitárias de determinado alimento, e coliformes fecais ou termotolerantes, que são aqueles cuja contagem pode indicar contaminação de origem fecal, e são microrganismos capazes de fermentar lactose em temperaturas mais elevadas, entre 44,5 °C e 45,5 °C, em que o principal exemplo é a *E. coli*. (Carvalho *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2017).

As bactérias da família *Enterobacteriaceae* podem ser classificadas quanto a temperatura de crescimento em psicrófilas (entre 0 °C e 7 °C), mesófilas (entre 20 °C e 40 °C) e termotolerantes (entre 44 °C e 45,5 °C) (Baylis *et al.*, 2011). Segundo o regulamento europeu, essa família de bactérias é de extrema importância como indicador dos parâmetros de higiene alimentar, relacionado a diversos produtos, como leite pasteurizado, fórmulas infantis, carnes (bovina e suína), alimentos fermentados, ovos e seus subprodutos e alimentos crus (Biesta-Peters, Kinders e De Boer, 2019). Apesar de não constar na atual legislação de microbiologia

de alimentos, a contagem de microrganismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae* não representa perigo à saúde humana em si e nem enfatiza a patogenicidade, mas sim considera seu papel como indicador de outros patógenos e/ou contaminação fecal; demonstrando a necessidade de um monitoramento adequado a fim de evitar riscos ao consumidor (Mladenovic *et al.*, 2021).

#### 1. 6. Critérios microbiológicos para avaliação da qualidade de pescados

A IN N° 161 estabeleceu uma lista com padrões de microrganismos a serem considerados em pescados, consumidos crus ou cozidos, temperados ou não, frescos ou congelados (Brasil, 2022a). No entanto, são abrangidos os mesmos microrganismos relatados no item “Alimentos preparados prontos para consumo”, variando o limite máximo de cada microrganismo e adicionando-se o parâmetro da quantidade de histamina em peixes com elevado teor de histidina (Brasil, 2022<sup>a</sup>). Anteriormente, a legislação RDC N° 12 previa a contagem de *Vibrio parahaemolyticus*, microrganismo amplamente presente em ambiente marinho e causador de doenças (Nelson *et al.*, 2009), no entanto, a atual legislação excluiu tal parâmetro.

As comidas orientais, apesar de estarem frequentemente associadas a preparações incluindo peixes e frutos do mar, não possuem um item próprio na legislação brasileira, dificultando que as avaliações microbiológicas sejam feitas da maneira ideal (Sato, 2013).

#### 1. 7. Boas práticas de manipulação de alimentos

Com o objetivo de reduzir a ocorrência de DTA, em 2004 a ANVISA passou a exigir de restaurantes, lanchonetes e quaisquer locais de produção de alimento um alvará sanitário, ou seja, a licença apropriada para o funcionamento do local, respaldando tanto a empresa e seus funcionários como os consumidores, para segurança e controle da higiene. A resolução de número 216 da ANVISA, em 15 de setembro de 2004, marcou uma nova era na produção segura de alimentos, visto que foi a implantação regulatória que visaria a qualidade higiênica sanitária a ser cumprida pelos estabelecimentos (Brasil, 2004). Segundo a definição da resolução, 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).

A contaminação de alimentos pode ocorrer por meio de agentes químicos, físicos ou biológicos, inseridos de forma intencional ou não (Brasil, 2021). A introdução de agentes e/ou substâncias tóxicas nos alimentos podem ocorrer ao longo da cadeia de produção, através de questões ambientais, matéria prima, tecnologia e insumos utilizados na produção (Brasil, 2021).

Devido à susceptibilidade à contaminação de diversos alimentos em razão da manipulação feita pelos seres humanos, é fundamental a implementação das boas práticas de manipulação, visto que o homem pode ser um agente transmissor de microrganismos possivelmente causadores de doenças (Santos e Palma, 2019). Por isso, a equipe manipuladora de determinados estabelecimentos deve ser treinada e orientada quanto ao cuidado na produção, manipulação, estocagem e conservação dos alimentos, a fim de garantir a qualidade e higiene desses produtos e, principalmente, evitar os riscos de contaminação e diminuir a proliferação de patógenos (Oliveira *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021).

Sendo assim, para promover a segurança e cuidado em relação ao alimento manipulado, a qualificação dos profissionais que exercem esta função de manusear diretamente ou indiretamente os alimentos, consiste em treinamentos específicos quanto aos principais patógenos alimentares, DTA, manipulação e operação de máquinas que tenham contato com o alimento, higiene pessoal, boas práticas de fabricação, além dos processos finais da produção, como armazenamento e distribuição, entre outros exercícios de capacitação (Vieira e Rezende, 2019).

#### 1. 8. Padronização dos processos

Na indústria alimentícia, são definidos padrões para controle e prevenção higiênico-sanitárias, instituídas por diversas ordens de normatização, como a *International Organization for Standardization* (Organização Internacional de Normatização), a Farmacopeia Brasileira, O *Bacteriological Analytical Manual* (Manual Analítico Bacteriológico), a *Association Française de Normalization* (Associação francesa de Normatização), entre outras, que salientam as boas práticas e padronizam os processos a serem realizados (Braz, 2022). O sistema de padronização permite que a qualidade das análises seja garantida, minimizando os erros de execução, e é uma forma rápida de detectar em qual etapa pode ter ocorrido uma falha (Correia, 2020).

## 1. 9. Serviço de atendimento ao cliente (SAC)

De acordo com a Instrução Normativa Nº 16, de 23 de maio de 2017, os estabelecimentos comerciais de alimentos, como restaurantes e *buffets*, devem dispor de uma amostra de guarda dos alimentos produzidos, a fim de esclarecer possíveis episódios de DTA em decorrência do consumo de tais alimentos (Brasil, 2017). Visto que os indivíduos que ingeriram alimentos provenientes dos estabelecimentos podem relatar sintomas associados a DTA, os estabelecimentos devem coletar diariamente amostras de todas as preparações, em até no máximo 1 hora após a produção ou imediatamente antes do consumo. Para isso, são utilizados utensílios adequados, como embalagens limpas e estéreis para o armazenamento. Após a coleta, as amostras devem ser armazenadas por 72 h, em temperaturas adequadas, de acordo com o tipo de preparação. No caso de ocorrências de indivíduos que reclamaram ao SAC por apresentarem algum sintoma posteriormente à ingestão de determinado alimento consumido no estabelecimento, a amostra de guarda é enviada a um laboratório de apoio que realiza análises de qualidade.

## 2. JUSTIFICATIVA

Doenças transmitidas por alimentos ocorrem pela ingestão de alimentos contaminados, podendo estar associados a perigos químicos, físicos ou microbiológicos. DTA de origem microbiológica podem ocorrer pela contaminação com determinados patógenos ou por seus produtos metabólicos, podendo causar infecção, intoxicação e/ou toxinfecção. Tal contaminação pode ocorrer por diferentes meios e é de extrema importância que o estabelecimento responsável pela produção de alimentos siga as normas higiênico-sanitárias estabelecidas, a fim de reduzir os riscos ao consumidor. Assim, é possível identificar qual etapa da produção pode estar comprometendo a elaboração dos produtos e estabelecer melhorias no desenvolvimento. Para garantir o controle de qualidade dos produtos alimentícios, são necessárias também análises laboratoriais quantitativas e qualitativas de microrganismos, bem como de indicadores de patógenos, com a finalidade de identificar tais microrganismos e comparar os resultados segundo a legislação e instruções normativas, determinadas pelos órgãos públicos de saúde. Deste modo, análises realizadas pela empresa particular do Laboratório Biológico de Análises Ambientais LTDA. visam corroborar com o controle de qualidade dos estabelecimentos de comida oriental.

### **3. OBJETIVO**

O presente estudo tem como objetivo analisar e avaliar a qualidade microbiológica de alimentos preparados prontos para consumo comercializados em uma rede de restaurantes de comida oriental da cidade do Rio de Janeiro, segundo a legislação imposta pelo Ministério da Saúde e a ANVISA.

#### **3. 1. Objetivos específicos**

- Realizar um levantamento das amostras de alimentos recebidas no LBAA;
- Avaliar as características microbiológicas das comidas orientais comercializadas pela rede de restaurantes;
- Avaliar a diferença entre a qualidade higiênico-sanitária de alimentos crus e cozidos;
- Contribuir com o levantamento de dados para a inserção de um item específico na legislação brasileira referente aos padrões microbiológicos para comida oriental.



## 4. METODOLOGIA

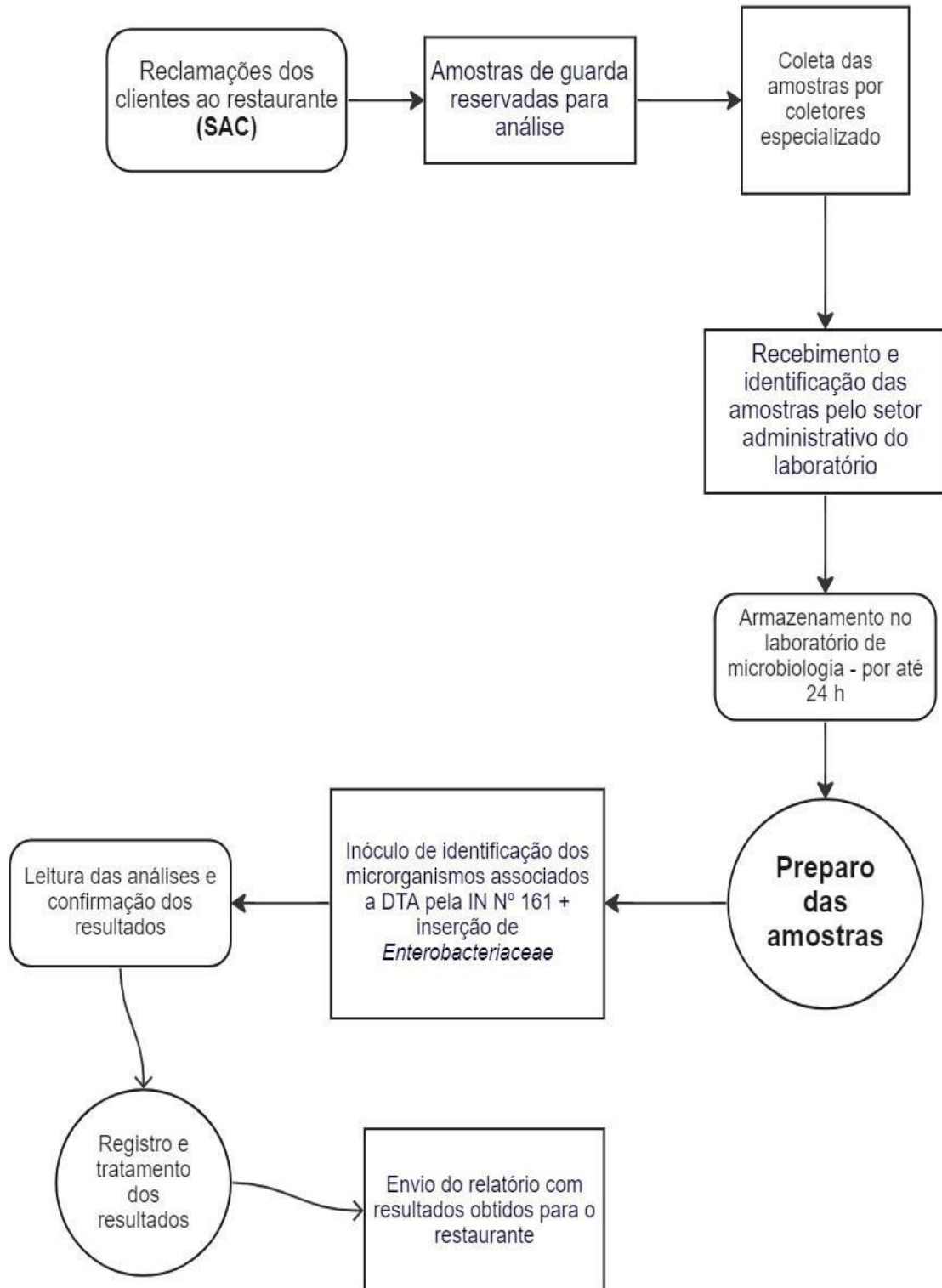
### 4. 1. Amostras utilizadas para análise

Foram analisadas 79 amostras provenientes de reclamações de clientes que apresentaram algum episódio de DTA, após consumir os alimentos comercializados pelo restaurante e procuraram o SAC. Tais amostras foram selecionadas dos meses de maio e novembro de 2022. Os alimentos recebidos foram: pescados, como salmão, atum e peixe branco, sendo peixe inteiro, filé ou em carne moída; gyoza, hot roll, pipoca de camarão, arroz shari, crunchy roll, harumaki de camarão e molho spicy (Tabela 1). Ao total, foram 49 alimentos crus, 24 alimentos cozidos e 6 amostras de molho.

**Tabela 1** – Caracterização dos alimentos provenientes de SAC utilizados para análise

<b>Alimento</b>	<b>Principais ingredientes</b>	<b>Tipo</b>
Apara de peixe	Atum, salmão e/ou peixe branco	Cru
Gyoza	Farinha de trigo/arroz, carne de porco, shoyu	Cozido ou frito
Hot roll	Arroz shari e recheio cru, geralmente peixe	Cru
Pipoca de camarão	Farinha de trigo e camarão	Frito
Arroz shari	Arroz	Cozido
Crunchy roll	Arroz shari e recheio cru, geralmente peixe	Cru
Harumaki de camarão	Farinha de trigo, legumes e carne	Frito
Molho spicy	Pimenta e shoyu	Não se aplica

Desta forma, os alimentos variavam entre o prato pronto e ingredientes das preparações, bem como se submetidos a métodos de cocção ou não. Tais amostras foram processadas de acordo com a demanda recebida (Figura 4).



**Figura 4** – Fluxograma do processo das análises

#### 4. 2. Recebimento e armazenamento das amostras

As amostras foram coletadas pela equipe de coletores especializados do LBAA e recebidas no setor de cadastro de amostras, onde foram devidamente identificadas com código do laboratório e encaminhadas ao setor de Microbiologia. Então, ficaram sob refrigeração entre 2 e 8 °C, no período máximo de 24 h, até a realização das análises microbiológicas, a fim de minimizar qualquer alteração no número de microrganismos presentes (Brasil, 2020b).

#### 4. 3. Preparo inicial das amostras

O preparo das amostras iniciou-se com a higienização da embalagem proveniente da coleta do alimento. A higienização com álcool 70 % (v/v) foi feita para remover quaisquer impurezas e contaminações do ambiente externo. O preparo da suspensão inicial variou de acordo com o microrganismo a ser identificado, segundo a Instrução Normativa N° 161.

##### 4. 3. 1. Preparo de amostras de alimento para análise de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada conforme a metodologia estabelecida pela ISO 6887-1:2019. Como descrito pela IN N° 161, os alimentos adequados para consumo são aqueles que apresentam ausência de *Salmonella* spp. em 25 g de alimento. Para isto, 25 g da amostra foram pesadas, em ambiente estéril, e foram adicionados 225 mL do meio *Buffered Peptone Water* (BPW – Água peptonada tamponada) (Biokar, Allonne, França), a fim de se obter uma suspensão diluída do alimento. Em seguida, o caldo foi homogeneizado sob agitação em homogeneizador tipo Stomacher e a amostra foi incubada por 24 h a 37 °C.

##### 4. 3. 2. Preparo de amostras de alimento para análise dos demais microrganismos

Com base na IN N° 161, os demais microrganismos, como *B. cereus*, *C. perfringens*, *E. coli*, *S. aureus* e microrganismos da família *Enterobacteriaceae* não se aplicam no método de presença e ausência, mas sim na contagem máxima de colônias e suas respectivas confirmações. Para realizar a diluição inicial do alimento, são pesados 10 g da amostra, em ambiente estéril, e adicionados 90 mL de Água Peptonada 0,1% (p/v) (Merck, Darmstadt, Alemanha), de

maneira a obter a diluição 1:10 e, posteriormente, realizar plaqueamento. Entretanto, como todas as amostras se aplicam ao item 22 da IN N° 161 e, obrigatoriamente, ocorre a pesquisa de *Salmonella* spp., utilizou-se o caldo BPW como suspensão inicial para todos os microrganismos.

#### 4. 4. Pesquisa e contagem dos microrganismos

Em todas as análises foram utilizadas cepas ATCC como controle, a fim de ter um resultado assertivo. Na Tabela 2 são listados os controles positivos e negativos para cada microrganismo.

**Tabela 2** – Cepas utilizadas como controle

Microrganismo	Controle positivo	Controle negativo
<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	<i>E. coli</i> ATCC 25922
<i>C. perfringens</i>	<i>C. perfringens</i> ATCC 13124	<i>E. coli</i> ATCC 25922
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Salmonella</i> spp.	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium ATCC 14028	<i>E. coli</i> ATCC 25922
<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922

#### 4. 4. 1. *Bacillus cereus* em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 7932:2016

A contagem de *B. cereus* baseou-se na metodologia aprovada pelo Comitê Europeu de Normalização (CEN), para enumeração presuntiva em alimentos e ração para animais, pela técnica de contagem de colônias a 30 °C. O método de enumeração presuntiva assume que não se permite a distinção de *B. cereus* para outras espécies estritamente relacionadas de *Bacillus*, como *B. anthracis* e *B. thuringiensis*, mas que são encontradas com menor frequência. Alíquotas de 0,1 mL correspondentes à diluição 10<sup>-2</sup> foram inoculadas, em duas placas contendo cerca de 20 mL do Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) (Himedia, Maharashtra, Índia). Por meio da técnica de *spread-plate*, o inóculo foi espalhado cuidadosamente com uma alça de Drigalski estéril, em três sentidos diferentes e, posteriormente, as placas de MYP (Himedia, Maharashtra, Índia) foram incubadas a 30 °C por cerca de 18 h a 48 h. Após este

período, realizou-se a contagem das placas que apresentaram entre 15 e 150 colônias características, que são cor de rosa (indicando que a fermentação do manitol não ocorreu), grandes e podem ser rodeadas ou não por uma zona de precipitação (indicando a produção de lecitinase).

#### 4. 4. 1. 1. Teste de confirmação para *B. cereus*

Foram selecionadas cinco colônias características de cada placa e então, realizou-se o teste da hemólise. As colônias selecionadas foram repicadas em formato de estria única em ágar sangue de carneiro e, após incubação por 24 h à 30 °C, as colônias que apresentaram beta hemólise foram confirmadas (Plastlabor, Curicica, Rio de Janeiro).

#### 4. 4. 2. *Clostridium perfringens* em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 7937:2020

A contagem de *C. perfringens* baseou-se na metodologia que descreve a enumeração de células viáveis desse microrganismo. Alíquotas de 1 mL da diluição  $10^{-1}$  foram inoculadas, através da técnica de *pour-plate*, sendo vertidos cerca de 10 mL do meio Ágar Triptona Sulfito Cicloserina (TSC) (Oxoid, Ottawa, Canadá). Após homogeneização do meio ao inóculo e solidificação, adicionou-se outra camada de 10 mL de TSC (Oxoid, Ottawa, Canadá). As placas foram incubadas em jarra de anaerobiose, 37 °C por 20 h. Após este período, realizou-se a contagem das placas contendo até 150 colônias características com precipitado negro, causado pela redução de sulfito a sulfeto.

#### 4. 4. 2. 1. Teste confirmatório para *C. perfringens*

A confirmação foi realizada através de técnicas utilizando os meios Nitrato Motilidade (MNM) (Himedia, Maharashtra, Índia) e Lactose-Gelatina (MLG) (Laborclin, Pinhais, Paraná).

##### Confirmação por meio de MNM

Colônias características crescidas em meio TSC (Oxoid, Ottawa, Canadá) foram inoculadas em tubos contendo MNM (Himedia, Maharashtra, Índia), por meio de uma picada com alça-agulha de platina e incubados em anaerobiose a 37 °C por 24 h. Posteriormente, foi

examinada a motilidade das colônias ao longo da linha picada, que se mostra evidente se houver crescimento que se difunde para fora do meio, a partir da linha. Para testar também a presença de nitrito, foi adicionado, por meio de pipeta estéril, 0,2 mL do reagente de detecção de nitrito a cada tubo de meio motilidade nitrato. As amostras que apresentaram cor vermelha, confirmaram a redução de nitrato a nitrito.

#### Confirmação por meio de MLG

Colônias características crescidas em meio TSC foram inoculadas em tubos contendo MLG (Laborclin, Pinhais, Paraná) e foram incubados em anaerobiose a 37 °C por 24 h. Os tubos foram examinados quanto à presença de gás e formação de cor amarela (devido à formação de ácido), indicando a fermentação da lactose. Após esse período, os tubos foram incubados por 1 h a 5 °C e verificou-se a liquefação da gelatina.

Sendo assim, confirmou-se a presença de *C. perfringens* na presença de colônias negras em meio TSC (Oxoid, Ottawa, Canadá), imóveis, redutoras de nitrato, que produzem ácido e gás a partir da lactose e que liquefazem a gelatina. Em caso de culturas que apresentaram uma reação fraca para nitrito (ou seja, cor rosa), foram eliminadas, já que *C. perfringens* apresenta uma reação intensa e imediata de nitrito.

#### 4. 4. 3. *Escherichia coli* em alimentos segundo a metodologia descrita em *Bacteriological Analytical Manual* (BAM, 2020)

A contagem de *E. coli* baseou-se no plaqueamento do meio sólido para coliformes, que contém indicador de pH vermelho neutro, de modo que a fermentação da lactose resulta na formação de colônias rosa. Alíquotas de 1 mL e 0,1 mL das diluições  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$  respectivamente, foram inoculadas em cerca de 10 mL do meio Ágar bile vermelho violeta com MUG (VRB-MUG) (Oxoid, Nepean, Canadá), pelo método *pour plate*. Após homogeneização do meio ao inóculo e solidificação, adicionou-se outra camada de 10 mL de VRB-MUG (Oxoid, Nepean, Canadá). As placas foram incubadas por 24 h a 35 °C. Após este período, realizou-se a contagem das placas que apresentaram entre 25 e 250 colônias características de cor vermelho-púrpura com 0,5 mm ou mais de diâmetro, cercadas por uma zona de ácidos biliares precipitados.

#### 4. 4. 3. 1. Teste confirmatório para *E. coli*

Para distinguir as colônias de *E. coli* das demais colônias de coliformes nas placas, durante a preparação do VRB pode ser adicionada uma concentração de 4-metil-umbeliferil- $\beta$ -D-glucuronídeo (MUG) ou utilizar um meio em que o fabricante já tenha adicionado o componente em sua fórmula — neste estudo, foi utilizado VRB adicionado de MUG da Oxoid. Este componente é um substrato geralmente clivado por uma enzima produzida pela maioria dos patótipos de *E. coli*, exibindo fluorescência azulada sob luz ultravioleta (UV). Desta forma, foram contadas as colônias típicas de *E. coli* que apresentaram fluorescência quando expostas à luz UV de onda longa (365 nm).

#### 4. 4. 4. *Salmonella* spp. em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 6887-1:2019

A pesquisa de *Salmonella* spp. baseou-se na metodologia qualitativa que descreve a ausência deste microrganismo nos alimentos preparados prontos para consumo. Esta detecção ocorreu pela realização de quatro etapas sucessivas, pois trata-se de um microrganismo que geralmente está presente em baixas quantidades (muito inferior quando comparado à quantidade de *Enterobacteriaceae* e outros), sendo necessário um pré-enriquecimento e sucessivas fases de análises. Realizou-se o pré-enriquecimento do alimento, no qual uma alíquota de 0,1 mL, referente à diluição  $10^{-2}$ , foi inoculada em um tubo contendo 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis (RVS) (Biokar, Allonne, França) e outra alíquota de 1 mL em também de 10 mL de Caldo Muller Kauffmann Tetracionato Novobiocina (MKTTn) (Oxoid, Ottawa, Canadá). Posteriormente, os inóculos foram incubados, em que o meio RVS (Biokar, Allonne, França) foi incubado por 24 h a 41,5 °C e o MKTTn (Oxoid, Ottawa, Canadá) foi incubado por 24 h a 37 °C. Posteriormente, as culturas obtidas foram plaqueadas pelo método de esgotamento em dois meios sólidos seletivos: Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) (Oxoid, Ottawa, Canadá) e Ágar Hektoen Entérico (HE) (Biokar, Allonne, França), incubadas por 24 h a 37 °C. Após este período, o crescimento foi avaliado, onde em ágar XLD houve a presença de colônias pequenas, circulares e convexas, transparentes ou entre as cores rosa e vermelho, com ou sem centro negro foram consideradas características de *Salmonella* spp; enquanto em ágar HE, foram consideradas colônias características de *Salmonella* spp. aquelas que apresentaram formato circular e convexo, pequenas, transparentes ou entre as cores azul e verde, com ou sem centro negro.

#### 4. 4. 4. 1. Teste confirmatório para *Salmonella* spp.

As colônias suspeitas de *Salmonella* spp. previamente observadas em XLD (Oxoid, Ottawa, Canadá) e HE (Biokar, Allonne, França) foram confirmadas através de provas bioquímicas, utilizando o kit comercialmente disponível Sistema *Bac*tray I (Laborclin, Pinhais, Paraná), ágar TSI (*Triple Sugar Iron*) (Oxoid, Ottawa, Canadá) e os testes sorológicos, como de autoaglutinação e dos antígenos O- e H-.

#### Sistema *Bac*tray I

Seguindo as instruções do fabricante, as colônias típicas previamente observadas foram repicadas em ágar TSA (Oxoid, Ottawa, Canadá) e incubadas por 24 h a 37 °C. Então, seguiram para a execução das provas bioquímicas, que compõem o Sistema *Bac*tray I (Laborclin, Pinhais, Paraná) (Figura 5) e, posteriormente, os resultados obtidos foram interpretados de forma manual, através de codificação entre as provas positivas e negativas. Essa codificação foi considerada em valores numéricos, que quando somados, geraram um código que foi correspondente a determinado microrganismo, de acordo com as informações do manual no sistema. A figura 6 representa um exemplo da identificação de *Klebsiella pneumoniae*.

Teste	Componente ativo
ONPG	Orto-nitrofenil-galactopiranoside
ADH	Arginina
LDC	Lisina
ODC	Ornitina
H <sub>2</sub> S	Tiosulfato de sódio
URE	Uréia
VP	Glicose
PD	Fenilalanina
IND	Triptona
CIT	Citrato

**Figura 5** – Provas bioquímicas que compõem o Sistema *Bac*tray I (Sistema *Bac*tray I, LB, 2019).

#### - BACTRAY 1

ONPG	ADH	LDC	ODC	H <sub>2</sub> S	URE	VP	PD	IND	CIT
(1)	2	(4)	1	2	(4)	(1)	2	4	(1)
5			4			1			1

Código nº 5411 (Bactray 1) identifica o microrganismo como sendo *Klebsiella pneumoniae*.



**Figura 6** – Identificação de *K. pneumoniae* pelo Sistema *Bactray* I (Sistema *Bactray* I, LB, 2019).

#### Teste em ágar TSI

Para este teste, foram selecionadas colônias características em meio XLD e HE e, com uma agulha de platina, as colônias foram inseridas em tubos contendo ágar TSI (Oxoid, Ottawa, Canadá) e, posteriormente estriadas na superfície inclinada do meio. Em seguida, os tubos foram incubados a 37 °C por 24 h. Em culturas típicas de *Salmonella* spp., a superfície inclinada mostrou-se vermelha (por não haver o consumo da lactose nem da sacarose) e alcalinizada, enquanto o fundo tornou-se amarelado (pelo consumo da glicose), com formação de gás e acidificado, além da formação de sulfeto de hidrogênio, levando ao escurecimento do ágar. Entretanto, a confirmação preliminar de culturas de *Salmonella* não devem basear-se apenas nos resultados dos ensaios de TSI.

#### Teste de autoaglutinação

Este teste foi realizado segundo descrito pela ISO 6887-1:2019. A partir das subculturas isoladas em ágar TSA (Oxoid, Ottawa, Canadá), uma colônia foi inoculada em uma gota de salina, a fim de observar a formação de uma suspensão homogênea e turva, característica de *Salmonella* spp.

#### Teste dos antígenos O- e H-

O teste de antígenos foi realizado devido ao comportamento não autoaglutinável da amostra previamente. Foram utilizadas lâminas de vidro, nas quais as amostras foram separadamente inoculadas em soro polivalente anti O- (Probac, Vila Buarque, São Paulo) e em soro polivalente anti H- (Probac, Vila Buarque, São Paulo), a fim de observar a aglutinação com os antígenos O- e H-.

#### 4. 4. 5. *Staphylococcus aureus* em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 6888-1:2019

A contagem de *S. aureus* baseou-se em uma metodologia que descreve a enumeração de estafilococos coagulase positiva, principalmente *S. aureus*. Alíquotas de 0,1 mL correspondentes à diluição 10<sup>-2</sup> foram inoculadas, em placas contendo cerca de 20 mL do ágar seletivo para estafilococos Baird-Parker (BP) (Biokar, Allonne, França), em duplicata. Por meio

da técnica de *spread-plate*, o inóculo foi espalhado com uma alça de Drigalski estéril, em três sentidos diferentes e, posteriormente as placas foram incubadas a 37 °C de 24 h por 48 h. Após este período, realizou-se a contagem de placas que continham entre 15 e 300 colônias características crescidas, que geralmente são pretas ou cinzas, brilhantes e convexas, com cerca de 1 mm a 1,5 mm de diâmetro, e circundadas por uma zona clara que pode ser parcialmente opaca.

#### 4. 4. 5. 1. Teste confirmatório para estafilococos coagulase positiva

Cinco colônias características e cinco não características foram selecionadas e incubadas em tubos contendo Caldo de Infusão Cérebro-Coração (BHI) (Oxoid, Ottawa, Canadá) a 37 °C por 24 h. Posteriormente, foram adicionados 0,1 mL de cada cultura a 0,3 mL de plasma de coelho em tubos de hemólise estéreis, e incubadas novamente a 37 °C. Após um intervalo de 4-6 h, examinou-se a coagulação do plasma. Foram considerados positivos os testes da coagulase em casos em que o volume de coágulo ocupou mais da metade do volume original do líquido.

#### 4. 4. 6. *Enterobacteriaceae* em alimentos segundo a metodologia descrita pela ISO 21528-2:2020

A contagem de bactérias da família *Enterobacteriaceae* baseou-se na metodologia que descreve a detecção e enumeração de colônias. Alíquotas de 1 mL e 0,1 mL correspondente às diluições  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$  respectivamente, foram transferidas para placas de Petri, em que foram vertidos cerca de 10 mL do meio Ágar Bile Vermelho Violeta Glicose (VRBG) (Biokar, Allonne, França), pelo método *pour plate*. Após homogeneização do meio ao inóculo e solidificação, foi adicionada uma camada de 10 mL de VRBG (Biokar, Allonne, França). As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. Após este período, realizou-se a contagem das placas que apresentarem contagem inferior a 150 colônias características - aquelas que apresentaram cor rosa, vermelho ou roxo, com ou sem halo de precipitação.

#### 4. 4. 6. 1. Teste confirmatório para *Enterobacteriaceae*

Cinco colônias características foram repicadas por esgotamento na superfície ágar TSA (Oxoid, Ottawa, Canadá), permitindo o isolamento de cada amostra para posteriores testes bioquímicos. As placas foram incubadas com as subculturas por 24 h a 37 °C. As confirmações foram feitas por meio de dois testes bioquímicos: teste de OF-glicose (Plastlabor, Curicica, Rio de Janeiro) e teste da oxidase (Probac, Vila Buarque, São Paulo).

#### Pesquisa da enzima da oxidase

Com uma alça, foi selecionada uma colônia isolada de cada subcultura e realizou-se um esfregão em papel filtro umedecido com reagente para oxidase (Probac, Vila Buarque, São Paulo). Seguindo as orientações do fabricante, foram considerados negativos os testes em que o papel não apresentou a cor roxa ou azul escuro dentro de 10 segundos, pois bactérias da família *Enterobacteriaceae* são oxidase negativas.

#### Teste de oxidação-fermentação de glicose

Utilizando uma alça fio de platina, a mesma colônia selecionada para o teste da oxidase que tenha dado resultado negativo, foi inoculada em um tubo contendo o meio OF Glicose (Plastlabor, Curicica, Rio de Janeiro), aquecido e desaerado, contendo cerca de 1 cm de óleo mineral estéril, suficiente para cobrir a superfície. O tubo foi incubado por 24 h a 37 °C. Foram considerados positivos tubos em que a cor amarela prevaleceu em todo o conteúdo, pois bactérias da família *Enterobacteriaceae* apresentam a reação de fermentação positiva, fazendo com que o meio que era da cor verde passasse à cor amarelada.

De acordo com a IN N° 161, a população microbiana de *Enterobacteriaceae* não se inclui em parâmetros que reprovam microbiologicamente amostras de alimentos preparados prontos para consumo, mas um indicador de contaminação fecal e de deterioração. No entanto, de acordo com a RDC N° 12, o limite máximo aceitável de uma população microbiana de *Enterobacteriaceae* está entre os intervalos  $10^1$  e  $10^2$  UFC/g.

## 5. RESULTADOS

### 5. 1. Amostras de alimentos recebidas pelo LBAA

As amostras foram provenientes das 6 unidades da rede de restaurantes, espalhadas pelas zonas norte, sul e oeste da cidade do Rio de Janeiro, e os alimentos recebidos das respectivas unidades estão listados na Tabela 3. Os nomes de cada unidade estão nomeados com siglas fantasia, devido à confidencialidade das análises. Dos alimentos recebidos, a maioria era composto de alimentos crus (62%) e a unidade com maior registro de SAC, tratava-se da unidade “RS”.

**Tabela 3** - Distribuição dos tipos de alimentos fornecidos por cada unidade da rede de restaurantes

<b>UNIDADE</b>	<b>ALIMENTO</b>	<b>QUANTIDADE</b>	<b>TOTAL DE AMOSTRAS</b>
<b>ST</b>	Apara de Atum	1	15
	Apara de Salmão	2	
	Apara de Salmão Escura	2	
	Apara de Salmão Moído Escura	2	
	Gyoza	1	
	Hot Roll	1	
	Molho Spicy	1	
	Peixe Branco	1	
	Pipoca de Camarão	3	
	Salmão Moído	1	
<b>RS</b>	Apara de Atum	4	22
	Apara de Peixe Branco	3	
	Apara de Salmão	1	
	Apara de Salmão Escura	6	
	Arroz Shari	1	
	Gyoza	1	
	Hot Roll	2	
	Molho Spicy	3	
	Salmão Moído	1	
<b>RDB</b>	Apara de Atum	1	15
	Apara de Peixe Branco	2	
	Apara de Salmão	6	
	Apara de Salmão Escura	1	
	Crunchy Roll	2	
	Hot Roll	2	
	Molho Spicy	1	
<b>FM</b>	Apara de Salmão Escura	4	7
	Harumaki de Camarão	1	
	Molho Spicy	1	
	Pipoca de Camarão	1	
<b>BOT</b>	Apara de Salmão	2	9
	Atum	1	
	Hot Roll	3	
	Pipoca de Camarão	3	
<b>IPA</b>	Apara de Atum	2	11
	Apara de Peixe Branco	2	
	Apara de Salmão	3	
	Hot Roll	1	
	Peixe Branco	1	
	Pipoca de Camarão	2	
<b>TOTAL</b>			<b>79</b>

## 5.2. Caracterização microbiológica das amostras

Conforme estabelecido pelos padrões da IN N° 161, nenhuma das 79 amostras de alimentos confirmou presença de *Salmonella* spp. Em relação ao parâmetro de contagem para *B. cereus* e *C. perfringens*, nenhum alimento ultrapassou o limite máximo determinado pela legislação, sendo, portanto, um resultado satisfatório.

No entanto, 1 amostra foi reprovada na contagem de *S. aureus*, por apresentar contagem superior a  $10^3$  unidades formadoras de colônia (UFC)/g.

Na contagem de *E. coli*, 6 amostras apresentaram quantidade superior ao limite máximo de  $10^2$  UFC/g. Em relação a contagem de *Enterobacteriaceae*, 53 amostras apresentaram resultado superior a  $10^2$  UFC/g, valor máximo estabelecido pela RDC N° 12. É válido ressaltar que todas as amostras insatisfatórias para *E. coli* também foram insatisfatórias na contagem de *Enterobacteriaceae*.

De acordo com a tabela 4, é possível observar o resultado dos 79 diferentes alimentos analisados em relação aos parâmetros da legislação. Das 24 amostras de alimentos cozidos, dentre eles arroz shari, crunchy roll, gyoza, harumaki, hot holl e pipoca de camarão, 58% foram insatisfatórias em algum parâmetro; enquanto, dos 49 alimentos crus, sendo as aparas de peixe, atum e peixe branco, 76% foram insatisfatórios em algum parâmetro. Das 42 amostras de aparas de peixes (de salmão e salmão escuro, peixe branco e atum), apenas 9 foram satisfatórias em relação à contagem de *Enterobacteriaceae*. Concomitantemente, das 53 amostras insatisfatórias de *Enterobacteriaceae* — segundo as especificações seguidas pelo LBAA, de acordo com a RDC N° 12 —, 39 eram alimentos crus; e das 6 amostras insatisfatórias de *E. coli*, 3 eram alimentos crus.

**Tabela 4** – Presença de indicadores microbiológicos de qualidade e segurança, em refeições comercializadas por um restaurante especializado em comida oriental, da cidade do Rio de Janeiro.

ALIMENTO	Parâmetros com contagem acima do permitido					Quantidade total de amostras
	<i>B. cereus</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>S. aureus</i>	
<b>Aparas de Peixes*</b>	0	0	<b>3</b>	<b>33</b>	<b>1</b>	42
<b>Salmão Moído</b>	0	0	0	<b>2</b>	0	4
<b>Arroz Shari</b>	0	0	0	0	0	1
<b>Atum</b>	0	0	0	<b>1</b>	0	1
<b>Crunchy Roll</b>	0	0	0	<b>2</b>	0	2
<b>Gyoza</b>	0	0	0	0	0	2
<b>Harumaki</b>	0	0	<b>1</b>	<b>1</b>	0	1
<b>Hot Roll</b>	0	0	<b>2</b>	<b>9</b>	0	9
<b>Molho Spicy</b>	0	0	0	0	0	6
<b>Peixe Branco</b>	0	0	0	<b>2</b>	0	2
<b>Pipoca de Camarão</b>	0	0	0	<b>2</b>	0	9

\* Aparas de atum, salmão, salmão escuro e peixe branco

## 6. DISCUSSÃO

Os padrões microbiológicos dos alimentos analisados neste estudo foram comparados aos limites estabelecidos pela Instrução Normativa Nº 161 (Brasil, 2022a). Todas as amostras eram provenientes de reclamações de indivíduos que relataram casos de DTA após ingerir as comidas da rede de restaurantes e, através do SAC, procuraram reivindicação. As amostras de guarda referentes aos alimentos foram enviadas ao LBAA, a fim de analisá-los segundo a legislação brasileira de padrões microbiológicos. Ainda que tenham sido relatados episódios de DTA, cerca de 8% das amostras estavam fora dos padrões da legislação vigente. Uma vez que os padrões recomendados pela ANVISA abrangem somente bactérias e ainda assim, de forma limitada, sabe-se que outros patógenos, como vírus, fungos, protozoários e helmintos também podem estar relacionados à doença. Recentemente, a OMS e o Centro de Controle e Doenças dos EUA (CDC) tem reunido informações epidemiológicas a respeito de patógenos relacionados a DTA, como *Shigella* spp., *Vibrio* spp, *Listeria monocytogenes* e outros.

Pela antiga norma RDC Nº 12, a contagem de *Vibrio parahaemolyticus* era solicitada em pescados (Brasil, 2001), no entanto as últimas atualizações da legislação de parâmetros microbiológicos em alimentos não preveem a obrigatoriedade de pesquisar tal microrganismo, ainda que possa apresentar risco à saúde do consumidor (Brasil, 2022b). Produtos derivados de frutos do mar e pescados podem carrear patógenos provenientes das regiões aquáticas e, devido ao aumento de consumo de comida oriental, especialmente japonesa, doenças relacionadas a estes microrganismos podem ocorrer. O gênero *Vibrio* pode ser encontrado amplamente em habitats marinhos e aquáticos, podendo estar associados a plânctons, fitoplanctons e algas, que podem ser consumidos pelos peixes (Nelson *et al.*, 2009). Certas espécies de *Vibrio* são caracterizadas por sua patogenia causadora de vibriose em humanos, divididas em infecção colérica e não colérica, e espécie *Vibrio cholerae* se destaca como agente etiológico da cólera (Howard-Jones, 1984). Em 2022, cerca de 29 países já relataram surtos de cólera, causada pela toxina liberada por sorogrupos de *V. cholerae* (WHO, 2022; Brasil, 2022b). Estudos realizados por Baker-Austin e colaboradores em 2018, através de dados levantados pela OMS, indicam que anualmente cerca de 100 mil pessoas morrem em todo o mundo em decorrência de cólera e cerca de 5 milhões de pessoas contraem a doença, além de sua incidência ter aumentado em mais de três vezes nos Estados Unidos nas últimas décadas.

Em relação a vibrioses não coléricas, temos *V. parahaemolyticus* como principal agente etiológico (Schmidt e Rodrick, 2003). Em países asiáticos, como Japão e China, *V. parahaemolyticus* é o patógeno mais comum em surtos bacterianos decorrentes de DTA e entre



os anos de 2003 e 2008, foram relatados cerca de 322 surtos na China, resultando em quase 10 mil doentes (Wu *et al.*, 2014). Nos EUA, o *Food and Drug Administration* (FDA) e na União Europeia, a Comissão Europeia, estabeleceram limites na contagem de *V. parahaemolyticus* (Bouzas, 2021). No Brasil, este patógeno não é exigido pela atual legislação, ainda que um estudo realizado por Pereira e colaboradores tenha relatado a incidência de *V. parahaemolyticus* na estação experimental de cultivo de mexilhões de Niterói, no Rio de Janeiro, evidenciando o risco ao consumir estes produtos, tanto *in natura* como pré-cozidos. Mesmo assim, este patógeno não é incluído aos critérios de qualidade (Pereira *et al.*, 2007).

Neste estudo também foi incluída a família *Enterobacteriaceae*, baseado na antiga Resolução-RDC N° 12 (Brasil, 2001) que abrange a contagem de coliformes a 45 °C, decretada pela ANVISA em 02 de janeiro de 2001. Apesar de ser um regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos em alimentos menos recente e que deixou de ser usado, é um parâmetro relacionado à deterioração de alimentos e indicação de contaminação fecal, sendo uma família de microrganismos relacionados ao controle higiênico-sanitário dos alimentos (Stadlober, 2021). Quanto as amostras com contagem insatisfatória destes microrganismos, é discutido que o alto percentual da detecção dos possíveis coliformes pode estar relacionado a falhas na manipulação e higiene dos alimentos. Apesar de não ser um parâmetro contemplado na legislação, trata-se de um critério de extrema importância na qualidade de alimentos e podem causar episódios de DTA (Stadlober, 2021).

É válido ressaltar que neste estudo, as análises de *Enterobacteriaceae* se limitam ao nível de família e, portanto, não é possível afirmar que as espécies encontradas são patogênicas. Apesar disso, dentre os membros das *Enterobacteriaceae*, destaca-se o gênero *Shigella*, que não está associado a um tipo específico de alimento como via de transmissão, mas sim relacionado frequentemente a ambientes com higiene e saneamento precários, levando a contaminação de água e alimentos (Schmidt e Rodrick, 2003). As infecções causadas por este patógeno são conhecidas por serem altamente contagiosas e necessitarem de baixas doses infectantes para causar doença e, em algumas espécies, bastam apenas 10 unidades formadoras de colônia (UFC) para infectar indivíduos imunocomprometidos, principalmente crianças e idosos, podendo ser fatal (Navia, Gascón e Vila, 2005; Silva, 2017). A doença que é comumente chamada de “diarreia dos viajantes” já foi responsável por causar surtos internacionais em passageiros de linhas aéreas (Hedberg *et al.*, 1992; Gaynor *et al.*, 2009). No Brasil, uma escola de São Paulo ficou fechada por 11 dias devido a um surto causado por *Shigella sonnei*, em que 56 crianças foram internadas devido à forte infecção intestinal, após consumirem alimentos produzidos na cozinha do colégio; o caso mais grave foi de um menino que precisou receber

tratamento na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (Araújo, 2015). Mesmo assim, a legislação brasileira não prevê a obrigatoriedade da contagem de *Shigella* spp.

Atualmente, patógenos como *Enterobacter* spp. e *Klebsiella pneumoniae*, também pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, estão relacionados a multirresistência antimicrobiana, listadas no grupo de patógenos multirresistentes denominado pelo acrônimo ESKAPE (*Enterococcus* spp., *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.) (WHO, 2017). A contaminação em alimentos por esses microrganismos é uma questão de preocupação global, isso porque a ingestão desses alimentos pode oferecer risco à saúde de indivíduos imunocomprometidos, uma vez que são caracterizados como patógenos oportunistas e pela presença dos genes de multirresistência (Patil *et al.*, 2021).

Em relação as amostras insatisfatórias de *E. coli*, foram totalizadas 6 amostras reprovadas das 79 em estudo. De acordo com as características de virulência, as bactérias são agrupadas em patotipos (Braz, 2022), no entanto a atual legislação não leva em consideração qual patotipo pode ser responsável pelo episódio de DTA. Uma vez que diferentes patotipos de *E. coli* necessitam de doses infectantes diferentes, basta haver uma pequena quantidade de organismos, mesmo que dentro do limite aceitável para causar infecção. Segundo Nataro e Kaper (1998), o patotipo EHEC necessita de apenas 100 a 200 células bacterianas viáveis para causar infecção em indivíduos saudáveis; este número pode ser ainda menor ao acometer pacientes imunodeprimidos. No Brasil, cerca de 365 dos surtos de DTA são decorrentes de infecção por *E. coli*. Deste modo, a atual legislação prevê que a contagem aceitável seja inferior a 10 unidades formadoras de colônia (a depender do tipo de alimento), desconsiderando que determinados patotipos necessitam de uma quantidade muito inferior para ocasionar doença — considerando que uma unidade formadora de colônia pode abrigar milhares de células viáveis.

Quanto à amostra reprovada na contagem de estafilococos coagulase positiva, tratava-se de uma avara de atum crua. A doença transmitida por *S. aureus* trata-se de uma intoxicação causada pela ingestão da toxina produzida pelo patógeno no alimento (Fetsch *et al.*, 2014). No entanto, a atual legislação para alimentos preparados prontos para consumo não prevê a detecção de tal toxina, mas sim a contagem máxima de unidades formadoras de colônia. Segundo a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF), são necessárias  $10^6$  UFC/g de *S. aureus* para produção da toxina em altos níveis (ICMSF, 1996). Por se tratar de um microrganismo ubíquo da pele (Haghi *et al.*, 2021), *S. aureus* pode ser um agente contaminante de alimentos caso não seja feita corretamente a higienização das mãos e não sejam utilizados os utensílios corretos para preparações como corte de peixe. Em Belo

Horizonte, foi relatado um surto em que 25 crianças apresentaram sintomas de DTA e 2 foram internadas após consumirem uma torta de sardinha preparada na cozinha de uma escola e, após análises serem realizadas, constatou-se alta contagem de estafilococos coagulase positiva e presença de toxina (Firmo, 2010). Sendo assim, a contagem de *S. aureus* está estritamente relacionada à produção da toxina em alimentos e, estudos e surtos já relatados corroboram para a inclusão da pesquisa da toxina na legislação.

Além disso, um estudo de Silva e colaboradores (2020) destacou a detecção de *S. aureus* em peixes secos e salgados e, mesmo com a contagem dentro dos limites aceitáveis da legislação. Foi demonstrado que possivelmente a manipulação não foi feita da maneira ideal, visto que a concentração de NaCl utilizada para salgar o peixe seria capaz de inativar os estafilococos presentes, ao ponto de não haver a presença do microrganismo (Silva *et al.*, 2020). Desta forma, *S. aureus* como membro da microbiota da pele humana, a manipulação incorreta pode levar a altas contagens do microrganismo, que pode ser capaz de liberar toxinas responsáveis por causar DTA (Silva *et al.*, 2020).

Outro microrganismo frequentemente associado a DTA trata-se da *Listeria monocytogenes*. A IN Nº 161 prevê a pesquisa de *L. monocytogenes* na minoria dos alimentos, visto que excetuam-se da obrigatoriedade alimentos com validade inferior a 5 dias, com pH menor ou igual a 5,0 e atividade de água menor ou igual a 0,94, além de produtos que tenham recebido qualquer processo para eliminação do patógeno e que uma nova contaminação seja impossível, também frutas e hortaliças frescas, pães, biscoitos, açúcares, mel, adoçantes, chocolate e produtos de cacau, balas, bombons e gomas de mascar e moluscos bivalves vivos (Brasil, 2022a). Ainda que existam surtos recentes de listeriose associados ao consumo de peixes, especificamente o salmão (Whitworth, 2022), que está estritamente relacionado a preparações de comida japonesa, este parâmetro não está incluso na análise de alimentos prontos para consumo ou pescados.

A listeriose é uma infecção altamente perigosa e frequentemente causadora de morte em imunocomprometidos, grávidas, recém-nascidos, crianças e idosos (Buchanan *et al.*, 2017). Em mulheres grávidas, a ingestão de alimentos contaminados por *L. monocytogenes* pode ser fatal, podendo levar a defeitos congênitos, aborto espontâneo ou feto natimorto (Buchanan *et al.*, 2017). Nos últimos anos, estima-se que a doença tenha causado, em média, 255 mortes por ano nos EUA (Scallan *et al.*, 2011); enquanto na União Europeia, em 2015 foram relatadas cerca de 270 mortes por *L. monocytogenes* (European Centre for Disease Prevention and Control – ECDC, 2016). Embora o patógeno seja inativado por pasteurização ou cozimento, sua persistência em diversos estágios da cadeia alimentar contribui para sua presença não só em

produtos *in natura*, mas alimentos prontos para consumo (Ferreira *et al.*, 2014). Na Europa, entre 2010 e 2021 foram relatados 22 surtos de listeriose invasiva (Whitworth, 2022).

Atualmente no Brasil, dados epidemiológicos sobre casos de listeriose são escassos, sendo subnotificados e subdiagnosticados e sem provas concretas de que os casos foram transmitidos por alimentos (Barancelli *et al.*, 2011). Logo, é possível que a doença ocorra, mas sem identificação concreta, visto que casos são confirmados de forma esporádica e muitos diagnósticos são dados como inconclusivos. No entanto, é válido ressaltar que devido a repercussão internacional de casos e surtos da doença, exige-se a necessidade de avaliações frequentes e mais criteriosas a respeito da listeriose no Brasil, evitando que a doença avance e se dissemine pela população.

Em geral, de todas as amostras analisadas, 7 foram reprovadas, apesar das reclamações dos clientes. As demais amostras insatisfatórias não foram reprovadas, pois não estavam de acordo com os padrões atuais. Ainda que a causa das reclamações possa ter sido a ingestão de outros alimentos ou até mesmo água contaminados, este estudo foi importante para mostrar a importância da qualidade higiênico-sanitária de alimentos comercializados. O baixo percentual de inadequação mostra a preocupação e qualidade aplicada no sistema de produção. Este fato também sugere a necessidade de inclusão de outros microrganismos e a limitação de abrangência da atual legislação.

As DTA são uma preocupação global, envolvendo não só questões de saúde e segurança alimentar, mas também questões no campo econômico. Por isso, a vigilância contínua de alimentos relacionados à culinária oriental, principalmente pescados e preparações servidas cruas, além de patógenos frequentemente relacionados a DTA, deve ser aplicada. Ainda, é necessário observar fatores associados à deterioração de alimentos e microrganismos indicadores de patógenos, a fim de avaliar e identificar estratégias eficazes com intuito de diminuir os riscos ao longo de uma cadeia de produção. Certamente, é necessário que os órgãos públicos brasileiros de saúde reúnam conhecimento e esforços contínuos para garantir a educação e segurança alimentar para todos os indivíduos, reduzindo o número de casos de DTA e minimizando suas consequências. O crescimento do consumo de comida oriental requer a necessidade de novos tópicos na legislação que sejam capazes de abranger as preparações envolvendo pescados e frutos do mar.

## 7. CONCLUSÕES

- 92,2 % das amostras estavam em conformidade com os padrões vigentes;
- A alta porcentagem de amostras indesejáveis no parâmetro de *Enterobacteriaceae* pode indicar dificuldades do restaurante de manter a qualidade higiênico-sanitária ao longo da cadeia de produção dos alimentos;
- A baixa relação das reclamações com os achados sugere a necessidade da inclusão de mais parâmetros microbiológicos associados à comida oriental, especialmente alimentos consumidos crus e pescados;
- São necessários estudos adicionais envolvendo um maior número amostral e inclusão de novos patógenos a serem pesquisados;
- Este estudo foi proveitoso ao reunir dados que contribuam com a inserção de um novo tópico específico para refeições orientais na atual legislação brasileira de alimentos.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agata, N., Ohta, M., Mori, M. e Isobe, M. (1995). A novel dodecadeptide, cereulide, is an emetic toxin of *Bacillus cereus*. FEMS Microbiol Lett. vol (1):17-20. Disponível em: < doi: 10.1016/0378-1097(95)00119-P >.
- Andrade, G. C., Louzada M. L. C., Azeredo C. M., Ricardo C. Z., Martins A. P. B. e Levy R.B. (2018). Out-of-Home Food Consumers in Brazil: What do They Eat? Nutrients, vol 10(2):218. Disponível em: < 10.3390/nu10020218 >.
- Araújo, G. (2015). Colégio reabre após internação de 56 alunos no ABC. G1. São Paulo, SP, 31 de agosto de 2015. Disponível em: < https://g1.globo.com/sao-paulo/noticia/2015/08/colégio-reabre-apos-internacao-de-56-alunos-no-abc.html#:~:text=Instituto%20Adolfo%20Lutz%20detectou%20contamina%C3%A7%C3%A3o%20pela%20bact%C3%A9ria%20Shigella%20sonnei.&text=Ap%C3%B3s%2011%20dias%20fechado%2C%20o,ABC%20e%20de%20S%C3%A3o%20Paulo >. Acessado: 09/12/2022.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2014). NBR ISO 6579: Microbiologia de alimentos para consumo humano e animal – Método horizontal para detecção de *Salmonella* spp. Rio de Janeiro, 2014.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2016). NBR ISO 7932: Microbiologia de alimentos para consumo humano e animal – Método horizontal para enumeração presumtiva de *Bacillus cereus* – Técnica de contagem de colônias a 30 °C. Rio de Janeiro, 2016.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2019). NBR ISO 6887-1: Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos – Preparação de amostras de ensaio, suspensão inicial, diluições decimais para análise microbiológica Parte 1: Regras gerais para preparação da suspensão inicial e diluições decimais. Rio de Janeiro, 2019.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2019). NBR ISO 6888-1: Microbiologia de alimentos para consumo humano e animal – Método horizontal para enumeração de estafilococos coagulase positiva (*Staphylococcus aureus* e outras espécies) Parte 1: Técnica usando ágar Baird-Parker. Rio de Janeiro, 2019.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2020). NBR ISO 21528-2: Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos – Método horizontal para detecção e enumeração de *Enterobacteriaceae* Parte 2: Método de contagem de colônias. Rio de Janeiro, 2020.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2020). NBR ISO 7937: Microbiologia de alimentos para consumo humano e animal – Método horizontal para enumeração de *Clostridium perfringens* – Técnica de contagem de colônias. Rio de Janeiro, 2020.
- Baker-Austin, C., Oliver, J. D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M. K., Qadri, F. e Martinez-Urtaza, J. (2018). *Vibrio* spp. infections. Nat Rev Dis Primers 4 , 1–19. Disponível em: < https://doi.org/10.1038/s41572-018-0005-8 >.
- Barancelli, G. V., Silva-Cruz, J. V., Porto, E. e Oliveira, C. A. F. (2011). *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. Arquivos do Instituto Biológico [online]. V. 78, n. 1, pp. 155-168. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v78p1552011>. Acessado em: 19/12/22.
- Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H. e Davies, A. (2011). The *Enterobacteriaceae* and their significance to the food industry. ILSI Europe Report Series, Belgium. Disponível em: < https://ils.eu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/EP-Enterobacteriaceae.pdf >. Acessado em: 09/07/2022.
- Bezerra, I. N., Moreira, T. M. V., Cavalcante, J. B., Souza, A. M. e Sichieri, R. (2017). Consumo de alimentos fora do lar no Brasil segundo locais de aquisição. Rev. Saúde Pública vol 51. Disponível em: < https://doi.org/10.1590/S1518-8787.2017051006750 >.
- Bezerra, I. N., Vasconcelos, T. M., Cavalcante, J. B., Yokoo, E. M., Pereira, R. A. e Sichieri, R. (2021). Evolução do consumo de alimentos fora do domicílio no Brasil de 2008–2009 a 2017–2018, Rev. Saúde Pública vol.55 (Supl 1). Disponível em: <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2021055003221>.

Biesta-Peters, E. G., Kinders, S. M. e de Boer, E. (2019). Validation by an interlaboratory collaborative trial of EN ISO 21528 - microbiology of the food chain - horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae*. *Int J Food Microbiol*, p 75-81. Disponível em: < doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.006 >.

Bottone, E. J. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 23, p. 382--398. Disponível em: < <https://doi.org/10.1128/CMR.00073-09> >.

Bouzas, D. (2021). Risco potencial para a segurança de alimentos: *Vibrio parahaemolyticus* isolado de mexilhões no Rio de Janeiro. *Food Safety Brazil*. Rio de Janeiro, 11 de janeiro de 2021. Disponível em: < <https://foodsafetybrazil.org/risco-potencial-para-seguranca-de-alimentos-vibrio-parahaemolyticus-isolado-de-mexilhoes-no-rio-de-janeiro/> >. Acessado em: 02/12/2022.

Brasil (2001). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução N° 12, de 07 de janeiro de 2001. Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Disponível em: < [https://bvsm.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012\\_02\\_01\\_2001.html](https://bvsm.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html) >.

Brasil (2004). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução N° 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em: < [https://bvsm.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216\\_15\\_09\\_2004.html](https://bvsm.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html) >.

Brasil (2014). Prefeitura da Cidade do Rio de Janeiro. Secretaria Municipal de Saúde. Subsecretaria de Vigilância, Fiscalização Sanitária e Controle de Zoonoses. Instituto de Nutrição Anne Dias. Informativo N° 01 – outubro de 2014. Cuidados no Pré-Preparo de Alimentos. Disponível em: < [http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/5550948/4146022/01\\_Cuidados\\_no\\_prepreparo\\_de\\_alimentos.pdf](http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/5550948/4146022/01_Cuidados_no_prepreparo_de_alimentos.pdf) >. Acessado em: 17/01/2023.

Brasil (2019). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Consumo e tipos de peixes no Brasil. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/aquicultura-e-pesca/rede-do-pescado/consumo-e-tipos-de-peixes-no-brasil> >. Acessado em: 20/12/22.

Brasil (2021). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Contaminantes em alimentos – Explica sobre as atribuições da ANVISA na regulação de contaminantes em alimentos, incluindo método para definição de limites e principais regulamentos. Disponível em: < <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/contaminantes> >. Acessado em: 20/12/22.

Brasil (2020a). Ministério da Saúde. Informe sobre surtos notificados de doenças transmitidas por água e alimentos – Brasil, 2016-2019. Secretaria em Vigilância Sanitária, Boletim Epidemiológico, vol 51 n° 32.

Brasil (2020b). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução N° 336, de 30 de janeiro de 2020. Estabelece os prazos para resposta aos requerimentos de atos públicos de liberação de responsabilidade da Anvisa, conforme o disposto no caput do art. 10 do Decreto n° 10.178, de 18 de dezembro de 2019. Disponível em: < <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-336-de-30-de-janeiro-de-2020-240823596> >.

Brasil (2022a). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa N° 161, de 06 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Disponível em: < <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-161-de-1-de-julho-de-2022-413366880> >.

Brasil (2022b). Ministério da Saúde. Doença de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA). Atualizado em 11/07/2022. Disponível em: < [https://www.gov.br/sau-de-a-a-z/d/dtha](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/sau-de-a-a-z/d/dtha) >.

Braz, R. F. (2022). Impacto dos produtos de origem animal sobre as doenças transmitidas por alimentos no Brasil: 2015 - 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), São Paulo, 109f.

Brum A. (1991). O desenvolvimento econômico brasileiro. Petrópolis: Editora Vozes/Ijuí: Fundação de Integração, Desenvolvimento e Educação do Noroeste do Estado.

Buchanan, R. L., Goris, L. G. M., Hayman, M. M. Jackson, T. C. e Whiting, R. C. (2017). A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control*. 75:1–13. Disponível em: < 10.1016/j.foodcont.2016.12.016 >.

Cardoso, A. L. S. P. e Tessari, E. N. C. (2013). *Salmonella enteritidis* em aves e na saúde pública: revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, vol 11 p 1-27. ISSN: 1679-7353.

Cardoso, C. S., Souza, E. A., Nakamoto, M. M., Stedefeldt, E. e Habu, S. (2018). Avaliação da qualidade higiênica sanitária de temakis comercializados no município de Santos, SP. *Higiene Alimentar*, 32, p.70-73. Disponível em: < <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/05/883749/276-277-site-70-73.pdf> >.

Carvalho, A. C. F. B., Cortez, A. L. L., Salotti, B. M., Bürger, K. P. e Vidal-Martins, A. M. C. (2005). Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. *Arquivos do Instituto Biológico da Universidade Estadual Paulista, SP.*, v.72, n.3, p.303-307. [online]. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1808-1657v72p3032005>>. [Acessado 22 de novembro de 2022].

Cheung, G. Y. C., Bae, J. S. e Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, vol 12(1), p 547-569. Disponível em: < doi: 10.1080/21505594.2021.1878688 >.

Clavel, T., Carlin, F., Lairon, D., Nguyen-The, C. e Schmitt, P. (2004). Survival of *Bacillus cereus* spores and vegetative cells in acid media simulating human stomach. *J Appl Microbiol.* vol 1, p 214-219. Disponível em: < doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02292.x >.

Collignon, P. C., Conly, J. M., Andremont, A., McEwen, S. A. e Aidara-Kane, A., for the World Health Organization Advisory Group, Bogotá Meeting on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (WHO-AGISAR). (2016). World Health Organization ranking of antimicrobials according to their importance in human medicine: a critical step for developing risk management strategies to control antimicrobial resistance from food animal production. *Clinical Infectious Diseases*, Vol 63, p 1087–1093. Disponível em: < <https://doi.org/10.1093/cid/ciw475> >.

Correia, S. I. C. (2020). Implementação de uma ferramenta informática para controlo da qualidade de meios de cultura microbiológicos de acordo com a ISO 11133:2014. Dissertação (Mestrado em Qualidade de Tecnologia Alimentar) - Instituto Politécnico de Viseu, Escola Superior Agrária de Viseu, Viseu - Portugal, 89f.

Cwiertka, K J. (2008). *Moderna cozinha japonesa: Comida, poder e identidade nacional*. Tradução por Cristina Cupertino, apresentação à edição brasileira por Arnaldo Lorençato. São Paulo, editora Senac.

De Melo, E. S., de Amorim, W. R., Pinheiro, R. E. E., Corrêa, P. G. N., de Carvalho, S. M. R., Santos, A. R. S. S, Barros, D. S, Oliveira, E. T. A. K., Mendes, C. A., de Sousa, F. V. (2018). Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: Revisão, *PubVet - Med. Vet. e Zootec.*, v. 12 No. 10 p. 131. Disponível em: < <https://doi.org/10.31533/pubvet.v12n10a191.1-9> >.

Dietrich R., Jessberger N., Ehling-Schulz M., Märthlbauer E. e Granum P.E. (2021). The Food Poisoning Toxins of *Bacillus cereus*. *Toxins (Basel)* vol 13. 2. Disponível em: < 10.3390/toxins13020098 >.

European Centre for Disease Prevention and Control. (ECDC) (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA J.* 2016;14:4634–4865.

Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A. e Burkhardt, W. (2020). *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*, Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria, cap 4.

Ferrari, R. G., Rosario, D. K. A., Cunha-Neto, A., Mano, S. B., Figueiredo, E. E. S. e Conte-Junior, C. A. (2019). Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. *Appl Environ Microbiol*, 85(14): e00591-19. Disponível em: < doi: 10.1128/AEM.00591-19 >.

Ferreira, V., Wiedmann, M., Teixeira, P. e Stasiewicz, M. J. (2014). *Listeria monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health. *J Food Prot.*, Jan;77(1):150-70. Disponível pelo doi: < 10.4315/0362-028X.JFP-13-150 >. Acessado em: 07/12/22.



- Fetsch, A., Contzen, M., Hartelt, K., Kleiser, A., Maassen, S., Rau, J., Kraushaar, B., Layer, F. e Strommenger, B. (2014). *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. *Int J Food Microbiol*, vol 187, p 1-6. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.017> >
- Firmo, C. E. F. (2010). Ocorrência de surtos alimentares em escolas de educação básica. Monografia apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Microbiologia Ambiental e Industrial, UFMG. 32 f.
- Flores, A. M. P. C. e Melo, C. B. (2015). Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 37, 65-72. Disponível em: < <https://rbmv.org/BJVM/article/view/361> >.
- Gallo, M., Ferrara, L., Calogero, A., Montesano, D. e Naviglio, D. (2020). Review: Relationships between food and diseases – What to know to ensure food safety. *Food Research International*. Vol 137. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109414> >.
- Gaynor, K., Park, S. Y., Kanenaka, R., Colindres, R., Mintz, E., Ram, P. K., Kitsutani, P., Nakata, M., Wedel, S., Boxrud, D., Jennings, D., Yoshida, H., Tosaka, N., He, H., Ching-Lee, M. e Effler, P. V. (2009). International foodborne outbreak of *Shigella sonnei* infection in airline passengers. *Epidemiol Infect.* Mar;137(3):335-41. Disponível pelo doi: < 10.1017/S0950268807000064 >. Acessado em: 30/11/22.
- Gohari, I. M., Navarro, M. A., Li, J., Shrestha, A., Uzal, F. e McClane B. A. (2021). Pathogenicity and virulence of *Clostridium perfringens*. *Virulence*, vol 12(1), p 723-753. Disponível em: < doi: 10.1080/21505594.2021.1886777 >.
- Gorwitz, R. J., Kruszon-Moran, D., McAllister, S. K., McQuillan, G., McDougal, L. K., Fosheim, G. E., Jensen, B. J., Killgore, G., Tenover, F. C. e Kuehnert, M. J. (2008). Changes in the Prevalence of Nasal Colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001–2004, *The Journal of Infectious Diseases*, vol 197, p 1226–1234. Disponível em: < <https://doi.org/10.1086/533494> >.
- Haghi, F., Zeighami, H., Hajiloo, Z., Torabi, N. e Derakhshan, S. (2021). High frequency of enterotoxin encoding genes of *Staphylococcus aureus* isolated from food and clinical samples. *J Health Popul Nutr.* vol 40(1), p 27. Disponível em: < doi: 10.1186/s41043-021-00246-x >.
- Hedberg, C. W., Levine, W. C., White, K. E., Carlson, R. H., Winsor, D. K., Cameron, D. N., MacDonald, K. L. e Osterholm, M. T. (1992). An international foodborne outbreak of shigellosis associated with a commercial airline. *JAMA*. Dec 9;268(22):3208-12.
- Hemalata, V. B. e Virupakshaiah, D. B. M. (2016). Isolation and identification of food borne food borne pathogens from spoiled food samples. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 5, p 1017--1025. Disponível em :em: < <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.506.108> >.
- Howard-Jones, N. (1984). Robert Koch and the cholera vibrio: a centenary. *Br Med J (Clin Res Ed)*. Feb 4;288(6414):379-81. Disponível pelo doi: < 10.1136/bmj.288.6414.379 >.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (2002). *Microorganisms in Foods. Microbiological testing in food safety management*. Kluwer Academic/ Plenum Publishers. Disponível em: < <https://www.icmsf.org/> >. Acessado em 25 de outubro de 2022.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (1996). *Microrganismos de los alimentos: Características de los patógenos microbianos*. Zaragoza, Acribia, p. 349-386.
- Janda, J. M. e Abbott, S. L. (2006). *The enterobactéria*. 2ª ed. ASM Press, Washington, DC.
- Jessberger, N., Dietrich, R., Granum, P.E. e Märtilbauer, E. (2020). The *Bacillus cereus* Food Infection as Multifactorial Process. *Toxins (Basel)* vol 12.11. Disponível em: < 10.3390/toxins12110701 >.
- Kiu, R. e Hall, L. J. (2018). An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerg Microbes Infect*, vol 7, p 141. Disponível em: < doi: 10.1038/s41426-018-0144-8 >.

- Li, H. e Ganzle, M. (2016). Some like it hot: heat resistance of *Escherichia coli* in food. *Front Microbiol*, Vol 7:1763. Disponível em doi: < 10.3389/fmicb.2016.01763 >.
- Mladenović, K. G., Grujović, M. Ž., Kiš, M., Furmeg, S., Tkalec, V. J., Stefanović, O. D. e Kocić-Tanackov, S. D. (2021). *Enterobacteriaceae* in food safety with an emphasis on raw milk and meat. *Appl Microbiol Biotechnol*, vol 105(23), p 8615-8627. Disponível em: < doi: 10.1007/s00253-021-11655-7 >.
- Morais, S. R., Bezerra, I. N., Souza, A. M., Vergara, C. M. A. C. e Sichieri, R. (2021). Alimentação fora de casa e biomarcadores de doenças crônicas em adolescentes brasileiros. *Cadernos de Saúde Pública* [online]. 2021, v. 37, n. 1. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/0102-311X00219619> >.
- Murphy, R. Y., Marks, B. P., Johnson, E. R. e Johnson, M. G. (1999). Inactivation of *Salmonella* and *Listeria* in ground chicken breast meat during thermal processing. *J Food Prot*, Vol 62(9):980. Disponível em doi: < 10.4315/0362-028x-62.9.980 >.
- Nataro, J. P. e Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 11, n. 1, p. 142-201. Disponível em doi: < 10.1128/CMR.11.1.142 >. Errata em: *Clin Microbiol Rev* 1998 abr;11(2):403.
- Navarro, M. A., McClane, B. A. e Uzal, F. A. (2018). Mechanisms of Action and Cell Death Associated with *Clostridium perfringens* Toxins. *Toxins (Basel)*, vol 10(5), p 212. Disponível em: < doi: 10.3390/toxins10050212 >.
- Navia, M. M., Gáscon, J. e Vila, J. (2005). Genetic diversity of *Shigella* species from different intercontinental sources. *Infect Genet Evol* 5: 349-353. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2004.11.002> >.
- NCBI (2020). National Center for Biotechnology Information. Schoch CL, et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database (Oxford)*. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=543&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> >. Acessado em: 10/07/2022.
- Nelson, E. J., Harris, J. B., Morris, J. G. Jr, Calderwood, S. B. e Camilli, A. (2009). Cholera transmission: the host, pathogen and bacteriophage dynamic. *Nat Rev Microbiol*. Oct;7(10):693-702. Disponível pelo doi: < 10.1038/nrmicro2204 >.
- Nespolo, N. M. (2021). The Behavior of Consumers and Producers of Food of Animal Origin and Their Impacts in One Health. *Frontiers in Veterinary Science*, v. Science, v. 8, p. 607. Disponível em: < <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.641634> >.
- Oliveira, A. B. A., Paula, C. M. D., Capalonga, R., Cardoso, M. R. I. & Tondo, E. C. (2010). Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. *HCPA, Clin Biomed Res [Internet]* p 279-285. Disponível em: < <https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/16422> >.
- Oliveira, D., Borges, A. e Simões, M. (2018). *Staphylococcus aureus* Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. *Toxins (Basel)*, vol 10(6), p 252. Disponível em: < doi: 10.3390/toxins10060252 >.
- Oliveira, N. R., da Silva, E. D., Cardoso, J. B., Negrão, L. D., Matco, G. C., da Conceição Ferreira, J. C., Maximo, V., da Silva Oliveira, E. C., da Silva, M. L. R., Barcelos, M. M., Fernandes, E. A. P., Cabral, J. S., Costa, T. M., Kutz, N. A., Muller, E. D. V. e Salgueiro, M. M. H. A. O. (2021). Knowledge of manipulators regarding good food handling practices, Research, Society and Development, v. 10, n. 13. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i13.212781> >.
- Omemu, A.M., Obadina, O. A., Taiwo, G.J. e Obuotor, T. M. (2014). Microbiological Assessment and Prevalence of Food Borne Pathogens in Street Vended Wara - Nigerian White Cheese. *American Journal of Food and Nutrition*, vol 2(4), p 59-62. Disponível em: < doi: 10.12691/ajfn-2-4-2 >.
- Osaili, T. M., Alaboudi, A. R., Al-Quran, H. N. e Al-Nabulsi, A. A. (2018). Decontamination and survival of *Enterobacteriaceae* on shredded iceberg lettuce during storage. *Food Microbiol*, vol 73, p 129-136. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.022> >.

Parry, C. M., Hien, T. T., Dougan, G., White, N. J., Farrar, J. J. e Phil, D. (2002). Typhoid Fever. *N Engl J Med*, 347:1770-1782. Disponível pelo doi: < 10.1056/NEJMra020201 >.

Patil, A., Banerji, R., Kanojiya, P., Saroj, S. D. (2021). Foodborne ESKAPE Biofilms and Antimicrobial Resistance: lessons Learned from Clinical Isolates. *Pathog Glob Health*, 115(6):339-356. Disponível pelo doi: < 10.1080/20477724.2021.1916158 >.

Pereira, C. S., Possas, C. A., Viana, C. M. e Rodrigues, D. P. (2007). 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. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/VRLyxfn5FHqgRMKxTXNjB7s/?format=pdf&lang=pt> >.

Philippi, S. T. (2014). *Nutrição e técnica dietética*. Manole, 3 ed. Barueri, São Paulo.

Pires, S. M., Desta, B. N., Mughini-Gras, L., Mmbaga, B. T., Fayemi, O. E., Salvador, E. M., Gobena, T., Majowicz, S. E., Hald, T., Hoejskov, P. S., Minato, Y. e Devleeschauwer, B. (2021). Burden of foodborne diseases: think global, act local. *Current Opinion in Food Science* vol 39, p 152-159. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.01.006> >.

Redação Hashitag. (2017). *Gastronomia asiática tem faturamento médio de R\$ 19 bilhões por ano no Brasil*. Redação Hashitag, Made in Japan, 25 de setembro de 2017. Disponível em: < <https://madeinjapan.com.br/2017/09/25/gastronomia-asiatica-tem-faturamento-medio-de-r-19-bilhoes-por-ano-no-brasil/> >. Acessado em 20/12/22.

Ribeiro, C., M., A., e Paolucci, L. (2006). *Gastronomia, Interação cultural e Turismo: estudo sobre a dispersão da culinária nipônica na Cidade de São Paulo – 100 anos da imigração japonesa no Brasil*. IV SeminTUR – Seminário de Pesquisa em Turismo do MERCOSUL. Disponível em: < [https://moam.info/gastronomia-interaao-cultural-e-turismo-estudo-sobre-a-ucs\\_59f560c01723dd821f1d1922.html](https://moam.info/gastronomia-interaao-cultural-e-turismo-estudo-sobre-a-ucs_59f560c01723dd821f1d1922.html) >. Acessado em 28/10/22.

Ribeiro, W. C. (2002) *Globalização e geografia em Milton Santos*. Scripta Nova, v. 6, n. 124, p. 9. Disponível em: < <https://repositorio.usp.br/item/002400137> >.

Rodrigo, D., Rosell, C. M. e Martinez, A. (2021). Risk of *Bacillus cereus* in Relation to Rice and Derivatives. *Foods*, vol 10(2), p 302. Disponível em: < doi: 10.3390/foods10020302 >.

Rosa, M. (2019). Seis países com a maior comunidade japonesa fora do Japão. *Mundo-nipo*, 07 de março de 2019. Disponível em: < <https://mundo-nipo.com/cultura-japonesa/historia-do-japao/07/03/2019/5-paises-com-a-maior-comunidade-japonesa-fora-do-japao/> >. Acessado em: 17/01/2023.

Santos, R. P. & Palma, L. M. (2019). *Doenças Transmitidas Por Alimentos: Aspectos Gerais e Seu Impacto Na Saúde Do Consumidor*, *Revista Interdisciplinar do Pensamento Científico*, 5(5), 995-1005. Disponível em: < <http://reinpeconline.com.br/index.php/reinpec/article/view/442> >.

Sartori, A. G. de O. e Amancio, R. D. (2012). *Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil*. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 19, p. 83–93.

Sato, R. A. (2013). *Características microbiológicas de sushis adquiridos em estabelecimentos que comercializam comida japonesa*. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Jaboticabal, São Paulo. 55f.

Scallan, E., Hoekstra, R. M., Ângulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., Jones, J. L., Griffin, P. M. (2011) *Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens*. *Emerg Infect Dis*. 2011 Jan;17(1):7-15. Disponível pelo doi: < 10.3201/eid1701.p11101 >. Acessado em: 25/11/22.

Schmidt, R. H. e Rodrick, G. E. (2003). *Food Safety Handbook*. Chapter Characteristics of Biological Hazards in Foods. Bacon, R. T. e Sofos, J. N. (New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.). Pp. 157–195.

Selover, B., Johnson, J. e Waite-Cusic, J.G. (2021). Population dynamics of coliforms in a commercial Cheddar cheese production facility. *J Dairy Sci.*, v 104(7):7480-7488. Disponível pelo doi: < 10.3168/jds.2020-19808 >.

- Sichieri, R., Verly Junior, E. e Bezerra, I., N. (2022) Variação no Consumo Alimentar e Impacto Ambiental e Econômico no Brasil. Texto para Discussão no Seminário “O Brasil depois da pandemia – Alimentação e nutrição: perspectivas na segurança e soberania alimentar”, realizado em 29 e 30 de novembro de 2021. Projeto Saúde Amanhã. Rio de Janeiro, Fiocruz. Publicado em fevereiro de 2022.
- Silva, J. B., Wanzeler, E. W., Guedes, R. M., Prazeres, A. R., Mescouto, L. G. B., Silva, E. V. C., Silva, N. S. e Dantas, V. V. (2020). Detecção de *Staphylococcus* coagulase positiva em peixes salgados e secos. Revista Brasileira de Desenvolvimento, 6 (2), 6681–6692. Disponível em: < <https://doi.org/10.34117/bjdv6n2-099> >.
- Silva, N., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. A., Taniwaki, M. H., Gomes, R. A. R. e Okazaki, M. M. (2017). Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. São Paulo, Editora Bluncher. 5ª edição.
- Silva, V. B. (2017). Análise microbiológica de alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos na macrorregião de Sorocaba de 2011 a 2015. Trabalho de Conclusão do Programa de Aprimoramento Profissional apresentado como Requisito para a obtenção do Certificado de Conclusão do Programa Saúde Pública em Vigilância Sanitária do Instituto Adolfo Lutz. 40 f.
- Stadlober, G. A. W. (2021). Avaliação de facas, superfícies de contato e carcaças quanto a contaminação por bactérias aeróbias mesófilas e Enterobacteriaceae em um frigorífico de suínos do Rio Grande Do Sul (Mestrado Profissional em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 57f.
- Teixeira, R. (2015). São Paulo tem mais restaurantes japoneses que churrascarias. Jornal DCI – Redação, Associação Brasileira de Franchising, 20 de outubro de 2015. Disponível em: < <https://www.abf.com.br/sao-paulo-tem-mais-restaurantes-japoneses-que-churrascarias/> >. Acessado em: 20/12/22.
- Vieira, M. L. A. e Rezende, F. A. G. G. (2019). Capacitação em boas práticas de manipulação de alimentos em um restaurante universitário: relato de uma experiência de extensão. Rev. Em Extensão, vol. 17(2), p 133-143. Disponível em: < <https://doi.org/10.14393/REE-v17n22018-rel03> >.
- Whitworth, J. (2022). Researchers draw attention to *Listeria* problem in fish. Food safety News. May 4, 2022. Disponível em: <https://www.foodsafetynews.com/2022/05/researchers-draw-attention-to-listeria-problem-in-fish/> >. Acessado em: 15/12/2022.
- WHO (2017). World Health Organization. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Genebra, Suíça. Disponível em: < <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> >. Acessado em 15/11/2022.
- WHO (2018). World Health Organization. *Escherichia coli*. Disponível em: < <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> >. Acessado em 12/07/2022.
- WHO (2022). World Health Organization. Shortage of cholera vaccines leads to temporary suspension of two-dose strategy, as cases rise worldwide – The exceptional decision reflects the grave state of cholera vaccine stockpile. News release. New York / Geneva, 19 October 2022. Disponível em: < <https://www.who.int/news/item/19-10-2022-shortage-of-cholera-vaccines-leads-to-temporary-suspension-of-two-dose-strategy--as-cases-rise-worldwide> >.
- Wu, Y., Wen, J., Ma, Y., Ma, X. e Chen, Y. (2014). Epidemiology of foodborne disease outbreaks caused by *Vibrio parahaemolyticus*, China, 2003–2008. Food Control, Vol 46, 2014, Pages 197-202. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.023> >. Acessado em: 02/12/2022.
- Yao, P. e Annamaraju, P. (2022). *Clostridium Perfringens*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559049/> >. Acessado em: 12/07/2022.