

# Efeito antimicrobiano de Wasabi Japônica sobre bactérias patogênicas e qualidade microbiológica de amostras de *sushi* de salmão em estabelecimentos da cidade de Toledo – PR, Brasil

<sup>1,\*</sup> Júlia Maria Tonin Geiss, <sup>1</sup> Fernanda Luisa Guaitanelly Heringer, <sup>2</sup> Juliana Bernardi Wenzel

<sup>1</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil.

<sup>2</sup> UNIPAR.

\* julinhatonin@hotmail.com

**Resumo:** As doenças transmitidas por alimentos são atribuídas à ingestão de alimentos contaminados, devido principalmente à manipulação incorreta e escassez de qualidade higiênico-sanitária. Alimentos que são manipulados e consumidos crus, como os tradicionais alimentos japoneses, *sushi* e *sashimi* são alvos de preocupação mundial. Por isso, é necessário analisá-los microbiologicamente para identificar contaminações e assim preveni-las. O Wasabi Japônica é tradicionalmente consumido junto com estes alimentos e pode apresentar atividade antimicrobiana. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do *sushi* de salmão comercializado na cidade de Toledo - PR e verificar o efeito antimicrobiano do 'wasabi' sobre bactérias patogênicas. Foram pesquisados os seguintes microrganismos: *Salmonella spp.*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, nas amostras de *sushi* de salmão e determinado o efeito antimicrobiano do Wasabi Japônica, por meio da Determinação da Concentração Inibitória Mínima e pelo teste de difusão em disco (antibiograma). Concluiu-se que todas as amostras de *sushi* de salmão analisadas foram consideradas satisfatórias e seguras para o consumo humano, apresentando boa qualidade e dentro dos parâmetros higiênicos-sanitários preconizados pela legislação vigente. Além disso, confirmou-se a ação antibacteriana do 'wasabi' contra os patógenos que são possivelmente detectados nestes alimentos.

**Palavras-chaves:** Wasabi; Concentração Inibitória Mínima; Atividade Antimicrobiana; Comida Japonesa.

**Wasabi Japonica antimicrobial effect on pathogenic bacteria and microbiological quality of salmon sushi samples in two establishments in the city of Toledo – PR, Brazil:** The foodborne illnesses are attributed to ingestion of contaminated food, mainly due to improper handling and lack of sanitary conditions. Foods that are handled and eaten raw, such as traditional Japanese food, sushi and sashimi are targets of global concern. So it is necessary to analyze them to identify microbiological contamination and thus prevent them. The Wasabi Japonica is traditionally consumed with these foods and may have antimicrobial activity. Therefore, the aim of this study was to evaluate the microbiological quality of salmon sushi sold in the city of Toledo - PR and verify the antimicrobial effect of 'wasabi' on pathogenic bacteria. We investigated *Salmonella spp.*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, in samples of salmon sushi and determined the antimicrobial effect of wasabi Japonica, by determining the Minimum Inhibitory Concentration and the disk diffusion test (antibiogram). It was concluded that all the samples of salmon sushi analyzed were considered satisfactory and safe for human consumption, with good quality and within the hygienic-sanitary parameters established by law. Furthermore, the bacteriostatic action was confirmed in the "wasabi" against the pathogens that are possibly detected in these foods.

**Keywords:** Wasabi; Minimum Inhibitory Concentration; Antimicrobial Activity; Japanese Food.

Recebido: 21 de Maio de 2015; aceito: 29 de Outubro de 2015, publicado: 17 de Dezembro de 2015.  
DOI: 10.14685/rebrapa.v6i3.3497

## INTRODUÇÃO

Doenças transmitidas por alimentos são normalmente adquiridas pela ingestão de alimentos ou água contaminados por agentes etiológicos diversos, podendo ser de natureza tóxica ou infecciosa, manifestando-se geralmente por náuseas, vômito, dores abdominais e diarreia (LACASSE, 2000). Exemplos de causadores de enfermidades de origem alimentar seriam o *Vibrio spp.* e a *Salmonella spp.* (SILVA JUNIOR, 2001), também a *Escherichia coli*, que indica contaminação de origem fecal (BRASIL, 2000).

Dados recentes da Secretária de Vigilância em Saúde – SVS mostram que os surtos de DTA, no Brasil no período de 1999 a 2008 foram de 6.602, envolvendo 117.330 pessoas doentes e 64 óbitos, sendo que destes 6.602 surtos, o pescado teria causado 69 deles. As informações disponíveis apontam que a maior parte dos surtos de DTA (84%), foram causados por bactérias patogênicas e/ou suas toxinas, predominando *Salmonella spp.* (42,9%), *Staphylococcus sp.* (20,2%), *Bacillus cereus* (6,9%), *Clostridium perfringens* (4,9%), *Salmonella enteritidis* (4,0%), *Shigella sp.* (2,7%), e outros (18,4%), seguidas por vírus (13,6%), contaminantes químicos (1,2%) e parasitos (1%) (SIQUEIRA, 2009).

O pescado é um produto vulnerável a deterioração e ao desenvolvimento de bactérias, devido à alta atividade de água, ao conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados e ao pH perto da neutralidade (FRANCO; LADGRAF, 2002), por isso a sua captura, manipulação e conservação devem apresentar atenção especial (SIKORSKI, 1990). No Brasil, o consumo de pescado *in natura* cresce a cada ano, sendo o *sushi* e o *sashimi* produtos cada vez mais consumidos em estabelecimentos especializados (MOURA FILHO *et al.*, 2007), juntamente com o Wasabi Japônica (WJ) (WEIL; ZHANG; NAIR, 2005).

O *sushi* é um prato da culinária japonesa que é tradicionalmente feito com arroz temperado ao molho de vinagre, açúcar e sal (SIKORSKI; KOLAKOWASKA; BURT, 1990). Este arroz acidificado teria capacidade redutora sobre a atividade aquosa e por isso poderiam restringir a atividade microbiana. Contudo, o fato do

produto ser altamente manipulado, antes e depois do seu preparo, aumenta-se a chance de uma provável contaminação (HANASHIRO *et al.*, 1999).

Além disso, o *sashimi* é um alimento marítimo consumido cru, como peixes, mariscos ou camarões (SIKORSKI, 1990). Por isso, os órgãos ligados à saúde pública estão cada vez mais preocupados com os locais especializados nesse tipo de culinária, principalmente porque estes alimentos são altamente perecíveis, consumidos sem processamento térmico ou fermentativo, demandando condições higiênico-sanitárias adequadas para sua preparação, conservação e consumo (VIEIRA *et al.*, 2007). Outro agravante dessa situação é o contato direto inadequado dos alimentos crus com as mãos dos manipuladores, o que pode causar contaminação por *Staphylococcus aureus* e Coliformes termotolerantes (OLIVEIRA; MARQUES, 2012).

O WJ é uma das especiarias populares usadas em muitos países asiáticos, especialmente no Japão e Coreia (HUR *et al.*, 1998), trata-se de uma planta da família *Brassicaceae*, utilizada na forma fresca ou como um pó seco, amplamente utilizado com pratos tradicionais como o *sushi* e *sashimi* (WEIL; ZHANG; NAIR, 2005). Também pode ser usado como tempero para evitar o odor forte de peixe cru e, sobretudo, para evitar alimentos contaminados (KANEMARU; MIYAMOTO, 1990; ISSHIKI *et al.*, 1992), apresenta sabor picante e é um aromatizante, rico em betacaroteno glucosinolatos e isotiocianatos (FENG, 2012). Para Lee *et al.* (2008), foi demonstrado que os extratos de WJ exibiram propriedade de eliminação dos radicais livres e atividade contra o óxido nítrico e 1,1-difenil-2-picril hidrazil.

Os isotiocianatos (YANO *et al.*, 2000) são conhecidos por ter ação antimicrobiana, fungicida e atividade pesticida (YANO *et al.*, 2000; TAJIMA *et al.*, 1998). O isotiocianato de alil é o principal responsável pela ação bactericida (ISSHIKI *et al.*, 1992), juntamente com os compostos fenólicos que também apresentam atividade bactericida contra *Helicobacter pylori* (SHIN; MASUDA; NAOHIDE, 2004). Além disso, inibiu o crescimento de *Vibrio parahaemolyticus* (HASEGAWA *et al.*, 1999; SHIN; MASUDA;

NAOHIDE, 2004) e também na forma à vapor controlou o aparecimento de *Penicillium expansum* em pêras (MARI; LEONI; CEMBALI, 2002).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do *sushi* de salmão comercializado em dois estabelecimentos da cidade de Toledo – PR e verificar o efeito antimicrobiano do 'wasabi', sobre bactérias patogênicas humanas, que são possivelmente detectadas nos *sushis* e *sashimis*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO SUSHI

Utilizou-se seis amostras de *sushis* para as análises microbiológicas, que continham salmão cru da espécie *Salmo salar* como ingrediente no recheio. As amostras foram adquiridas em dois estabelecimentos especializados em comida japonesa na cidade de Toledo – PR e foram denominados como estabelecimento 1 e estabelecimento 2. Foi coletado 100g de amostra e acondicionadas em sacos estéreis, sendo posteriormente armazenadas em caixas isotérmicas, com gelo reciclável. As amostras foram processadas dentro do período máximo de duas horas a partir do momento da coleta. As análises bacteriológicas foram efetuadas no Laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense – UNIPAR, unidade de Toledo.

### Preparo inicial das amostras (exceto para *Salmonella* spp.)

Alíquotas de 25 g de cada amostra de alimento foram assepticamente pesadas em sacos plásticos estéreis e homogeneizadas durante 1 minuto com 225 mL de água peptonada 0,1% esterilizada (Seward Stomacher 400 Lab System, Inglaterra).

### Pesquisa de *Bacillus cereus*

Foi baseada na inoculação das diluições desejadas das amostras sob teste, em ágar polimixina gema de ovo vermelho de fenol (MYP), suplementado com emulsão de gema de ovo para verificação da produção de lecitinase e polimixina B que atua sobre a flora acompanhante. A confirmação foi feita em ágar sangue, pois baseia-se na verificação da produção de  $\beta$ -hemolisina (ISO 7932: 2004).

### Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

Foi usada a placa Petrifilm 3M *Staph Express* que é um sistema de meio de cultura pronto para uso, que contém um agente geleificante solúvel em água fria. O meio cromogênico modificado de Baird-Parker na placa é seletivo e diferencial para *S. aureus*. O disco Petrifilm 3M *Staph Express* contém azul de toluidina, facilitando a visualização de reações de desoxirribonuclease (DNase). Os organismos DNase positivos detectados na placa Petrifilm 3M *Staph Express* são *S. aureus*, *S. hyicus* e *S. intermedius*, que correspondem a maioria do grupo de organismos comumente conhecidos como *Staphylococcus* coagulase positivos (ISO 7218:2007). A incubação das placas Petrifilm 3M *Staph Express* foi realizada por 48 horas a 35°C  $\pm$  1°C, segundo método da AOAC Official Methods.

### Pesquisa de *Escherichia coli*

Foi utilizado o meio de cultura Petrifilm – EC, que é composto por nutriente Violet Red Bile (VRB), ágar solúvel em água fria, o indicador cloreto de trifeniltetrazolio (TTC) e um substrato cromogênico para  $\beta$ -glucuronidase. Sendo que estes dois componentes facilitam a contagem e a distinção de coliformes totais e *E. coli*. A incubação do Petrifilm – EC foi realizada por 24 a 48 horas a 35°C $\pm$ 1°C, segundo método da AOAC Official Methods (FERREIRA et al., 2006).

### Pesquisa de *Salmonella* spp.

A detecção de *Salmonella* spp. foi realizada segundo metodologia ISO 6579: 2002, utilizando-se um pré-enriquecimento em Água Peptonada Tamponada (APT), inoculada em temperatura ambiente e incubada a 37°C $\pm$ 1°C por 18 h $\pm$ 2 h, isto tem como objetivo possibilitar a detecção de números baixos de *Salmonella* ou *Salmonellas* injuriadas, seguido de um enriquecimento seletivo em Caldo Muller-Kauffmann caldo de tetrionato / novobiocina (Caldo MKTTn) e Caldo Rappaport-Vassiliadis com soja (caldo RVS). O Caldo RVS foi incubado a 41,5°C $\pm$ 1°C por 24 h $\pm$ 3h e o Caldo MKTT a 37°C $\pm$ 1°C por 24h $\pm$ 3h. Após, esse período de 24h $\pm$ 3h do enriquecimento seletivo foi inoculado em Ágar entérico de Hektoen (HE) e Xylose Lisina Desoxicolato (XLD), a fim de obter colônias isoladas típicas de

*Salmonella* spp. No ágar XLD e no ágar HE a incubação foi a 37°C±1°C e examinado após 24 h±3 h.

## **EFEITO ANTIMICROBIANO DA WASABI JAPONICA**

### **Preparo da amostra de 'wasabi'**

O 'wasabi' foi adquirido na forma que é consumido nos restaurantes japoneses e diluído em água, de acordo com cada teste que foi realizado. O estabelecimento adquire o 'wasabi' na forma de pó, de marca House Food, denominado Wasabi Power.

### **Determinação Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

O teste foi realizado em placas de Elisa de 96 poços, utilizando a técnica de microdiluição em caldo para detectar a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano (concentração inibitória mínima - CIM). Foram feitas suspensões das bactérias em meio Müeller-Hinton (MH) com 24 horas de incubação a 36°C e ajustada a 0,5 na escala de McFarland. Estas suspensões foram incubadas em caldo em temperatura de 35° C, até alcançar ou exceder a turbidez de uma solução padrão de McFarland 0,5, que foi de duas a seis horas (NCCLS, 2005).

As suspensões bacterianas foram padronizadas a partir de uma cultura de 24 horas, em Müeller-Hinton, para as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*, até atingir turbidez igual à suspensão do tubo 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente 1,0 x 10<sup>8</sup> UFC/mL). Em seguida foi verificada a leitura espectrofotométrica a 620 nm para confirmação da concentração dos patógenos. Posteriormente, foi realizada uma diluição 1:10, em Müeller-Hinton, obtendo-se uma suspensão de 1,0 x 10<sup>7</sup> UFC/mL, a qual foi utilizada nos ensaios (NCCLS, 2005).

Os poços das microplacas foram preenchidos com 80 µL do meio Müeller-Hinton, para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Salmonella* spp. Em seguida foram acrescentados 100 µL de solução de 'wasabi' nas concentrações de 150 a 0,1mg.mL<sup>-1</sup>. Adicionalmente foram distribuídos 20 µL das

suspensões dos micro-organismos em cada poço das microplacas. (BERTINI *et al.*, 2005).

A turbidez das suspensões dos micro-organismos em crescimento foi ajustada com solução salina estéril ou caldo, de modo a obter uma turbidez óptica comparável à da solução padrão de McFarland a 0,5. Isso resulta numa suspensão contendo aproximadamente de 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/mL de *E. coli* ATCC® 25922. Para realizar esta etapa corretamente, usa-se um espectrofotômetro ou, quando executado a olho nú, luz suficiente para comparar o inóculo do tubo ao da solução padrão de McFarland a 0,5 utilizando um cartão de fundo branco com linhas contrastantes pretas ao fundo (NCCLS, 2003).

Também foi realizado um controle do meio de cultura, o controle de crescimento bacteriano, o controle dos extratos de 'wasabi' e o controle negativo (solventes) (HORNER *et al.*, 2008). Como controle positivo foi utilizado a ampicilina para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e para *Salmonella* spp. Os poços das microplacas foram preenchidos com 80 µL do meio Müeller-Hinton, para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Salmonella* spp. Em seguida foram acrescentados 100 µL da ampicilina (10<sup>-1</sup>) e adicionalmente foram distribuídos 20 µL das suspensões dos micro-organismos em cada poço das microplacas.

As microplacas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata e a inibição do crescimento microbiano foi evidenciada pela ausência de crescimento no meio (ROZATTO, 2012), sendo comparados com os poços controle. Após a leitura das microplacas, foi adicionado o corante Cloreto Trifenil Tetrazólio como reagente de confirmação dos resultados.

### **Teste de difusão em disco**

O antibiograma pelo teste de disco difusão em Ágar se fundamenta na capacidade de difusão do antibiótico através de um meio sólido. Desta forma, ao disco de papel de filtro foi impregnado de 10µL do 'wasabi' diluído e aplicado à superfície de ágar pré-inoculado com as bactérias a serem testadas ajustadas a 0,5 da escala de MacFarland. As placas foram incubadas invertidas para que não ocorra

contaminação devido ao calor e a formação de gotículas que possam escorrer podendo deixar o resultado de forma duvidosa, a temperatura de  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  e examinado após  $24\text{ h}\pm 3\text{ h}$ . Foi avaliado o crescimento das bactérias, atribuindo-se como sensível em caso de formação de halo de inibição ou resistente na ausência do halo de inibição. A concentração do wasabi utilizada nos discos foi a concentração inibitória mínima encontrada no teste com microplaca (ESMERINO; GONÇALVES; SCHELESKY, 2003).

### Análise estatística

Os dados pertinentes foram analisados através de análise estatística, sendo utilizado o teste de variância (ANOVA) e as diferenças entre médias pelo teste de Tukey 5% de

probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Sistema Computacional de Análise Estatística) (FERREIRA, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análise microbiológica do sushi

Das amostras analisadas dos dois diferentes estabelecimentos da cidade de Toledo – PR, foi verificado ausência de *Salmonella spp.*, e a contagem dos patógenos (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*) ficou dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001), como é mostrado na Tabela 1. Houve semelhança nos resultados entre os dois estabelecimentos que comercializam comida japonesa.

**Tabela 1.** – Resultados dos patógenos *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e mesófilos encontrados em amostras de *sushis* de salmão comercializados em dois estabelecimentos na cidade de Toledo – PR.

Estabelecimentos Bactérias (UFC.g <sup>-1</sup> )					
	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Mesófilos
1	Ausente	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^2$	$2,48 \times 10^4$
2	Ausente	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^2$	$1,3 \times 10^5$

A *Salmonella spp.* é reconhecida como umas das mais importantes causas de doenças gastrointestinais (FELDHUSEN, 2000), habitando também o trato gastrointestinal de vários animais como aves e bovinos (TORTORA, 2002). Sua presença em peixes está diretamente ligada à falta de práticas higiênicas durante a pesca, manuseio e processamento (FELDHUSEN, 2000), podendo também contaminar posteriormente outros alimentos na presença de condições sanitárias precárias (TORTORA, 2002). Desta forma, devido as condições de higiene, transporte, armazenamento e composição do pescado fresco, ele se torna vulnerável a contaminação e proliferação de *Salmonella spp.*, causando várias enfermidades de origem alimentar (SILVA JUNIOR, 2001).

Como mostrado na Tabela 1, não foi detectada *Salmonella spp.*, fato importante, pois indica

que as amostras não tiveram contaminação fecal, os pescados e os *sushis* tiveram boa qualidade de captura e processamento, respectivamente (CARDOSO; ANDRÉ; SERAFINI, 2003). Contudo, no Japão foram relatados surtos de salmonelose causada pela ingestão de peixe contaminado (HAMADA *et al.*, 1999). E na Austrália, houve associação de treze casos de infecção por *Salmonella* com o consumo de *sushi* (BARRALET *et al.*, 2004).

As amostras analisadas tiveram resultados satisfatórios em relação à *Escherichia coli* (Tabela 1), já que os resultados se encontram dentro do permitido para a legislação vigente (BRASIL, 2001). De acordo com o serviço de vigilância brasileira, a *Escherichia coli* é o agente etiológico mais detectado em surtos de doenças transmitidas por alimentos (CARMO *et al.*, 2005), considerado um importante indicador de contaminação fecal (FORSYTHE, 2002),

além disso, torna-se um risco para a saúde do consumidor, pois estes alimentos são consumidos crus (MOURA FILHO *et al.*, 2007).

Os estafilococos são divididos em dois grupos, coagulase positiva e negativa, sendo que dentro dos coagulase positiva, a espécie *Staphylococcus aureus* são envolvidos em infecções humanas (TORTORA, 2002). As bactérias do gênero *Staphylococcus* habitam diversas partes do corpo humano, inclusive pele e intestino do homem e podem contaminar superfícies, água e alimentos (MARTINS, 2006). Por isso, a presença de *Staphylococcus* em pescados é um indicativo de manipulação inadequada do alimento (RESENDE; SOUZA; OLIVEIRA, 2009). Sendo assim, as amostras estudadas apresentaram boas condições de manipulação e de higiene durante a elaboração dos alimentos e do seu armazenamento, pois, de acordo com Brasil (2001), a contagem de *Staphylococcus aureus* ficou dentro do especificado pela legislação, que é de no máximo,  $10^3$  e também não houve detecção do *Staphylococcus* coagulase positivo.

Resultados similares foram encontrados por Costa *et al.* (2007), pois ao estudar o *sushi* de salmão vendido na cidade de Sobral – CE, não detectaram *Staphylococcus* coagulase positivo e a contagem de *Staphylococcus spp.* ficou entre  $<10^2$  a  $3,0 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup>. Schulz *et al.* (2003), ao analisar os mesmos tipos de produtos também observaram a ausência deste patógeno, demonstrando desta forma segurança no consumo destes alimentos pela população.

As amostras analisadas neste estudo em relação ao *Bacillus cereus*, ficaram dentro do estabelecido pela legislação vigente, que é  $10^2$  (BRASIL, 2001). Da mesma forma foi encontrado por Anderson, Ronner e Granum (1995), onde o patógeno *Bacillus cereus* estava ausente nas amostras de *sushi*, o que é importante, uma vez que ele tem sido comumente encontrado no arroz (ADAMS *et al.*, 1994; CHEN *et al.*, 2004) e também porque este patógeno é capaz de formar esporos que são particularmente resistentes (PIRTTIJARVI; ANDERSSON; SALKINOJA-SALONEN, 2000; KOTIRANTA; LOUNATMA; HAAPASA, 2000), podendo desencadear doenças de origem alimentar (DUFRENE *et al.*,

1994). Desta forma, valores dentro dos padrões estabelecidos para produtos à base de arroz, indicam alimentos seguros e aptos para o consumo (BRASIL, 2001). Além disso, também houve contagem de mesófilos no Estabelecimento 1 na quantidade de  $2,48 \times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup>, e no Estabelecimento 2 na quantidade de  $1,3 \times 10^5$  UFC.g<sup>-1</sup>, como é mostrado na Tabela I. Giampietro e Lago (2009), analisaram o gelo utilizado na conservação do pescado fresco na cidade de Ribeirão Preto – SP e detectaram uma população mesofílica e psicrotrófica superior a  $10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup>, estando assim acima do que é preconizado pela legislação vigente, que seria de no máximo  $5,0 \times 10^2$  UFC.mL<sup>-1</sup> (BRASIL, 2004). Por isso, os aeróbios mesófilos podem ser usados também como índice de sanidade, sendo sua ausência um indicador de boas condições de conservação (JAY, 2005).

Contudo, ao comparar os resultados do presente estudo com os valores permitidos pela legislação vigente da Argentina, que seriam de até  $10 \times 10^5$  UFC.g<sup>-1</sup> de microrganismos heterotróficos mesófilos (CARLONI *et al.*, 1998), percebe-se que os valores obtidos no atual estudo estariam dentro do permitido, o que indicaria o uso das boas práticas de fabricação.

Portanto, com os resultados obtidos dos dois estabelecimentos que comercializam comida japonesa, conclui-se que todas as amostras analisadas de *sushi* de salmão, encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da RDC nº12 de 2001, confirmando condições apropriadas de consumo, como encontrado por Miranda e Baião (2011), que encontrou baixos níveis de inadequações nas preparações de produtos à base de pescado cru. Como ocorrido também com Vallandro *et al.* (2011), que analisou amostras de *sashimi* em restaurantes japoneses na cidade de Porto Alegre e encontrou condições microbiológicas apropriadas e ideais em relação a *Salmonella spp.*, estafilococos coagulase positiva e *Vibrio parahaemoliticus*.

Desta forma, os resultados satisfatórios encontrados nas amostras analisadas vêm em decorrência do uso de matérias-primas de qualidade e com controle de qualidade microbiológica e físico-química, juntamente

com controle da temperatura de transporte da matéria-prima e a manipulação feita de forma correta e higiênica, não extravasando o binômio tempo e temperatura. Por isso, observa-se que a educação sanitária e os treinamentos em relação a segurança dos alimentos é de grande valia na produção de alimentos inócuos e de qualidade.

### Determinação Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os resultados obtidos no teste de microdiluição mostraram que concentrações determinadas de

'wasabi' na forma que são consumidos nos restaurantes especializados em comida japonesa, apresentaram capacidade de inibir o crescimento dos patógenos, que podem ser encontrados nos *sushis* e *sashimis* comercializados nos restaurantes japoneses (Tabela 2). Para a *Salmonella spp.*, a CIM foi de 3,9 mg.mL<sup>-1</sup> e para o *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* a CIM foi de 58,0 mg.mL<sup>-1</sup>.

**Tabela 2-** Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 'wasabi' frente as bactérias patogênicas.

Bactérias				
	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<b>CIM</b>	3,9 mg.mL <sup>-1</sup>	58,0 mg.mL <sup>-1</sup>	58,0 mg.mL <sup>-1</sup>	58,0 mg.mL <sup>-1</sup>

Em relação à CIM do 'wasabi' no presente estudo, houve semelhança com o estudo de Hasegawa *et al.* (1999), pois eles relataram que uma solução de wasabi com concentração de 60 mg/mL contendo isotiocianato de alil na concentração de 67,932 µg/mL inibiu o crescimento de *Vibrio parahaemolyticus*. No caso de Shin, Masuda e Naohide (2004), o WJ mostrou uma CIM de aproximadamente 1,05 a 1,31 mg de peso seco por mL contra três cepas de *Helicobacter pylori*. Wasabi Japônica e Wasabi Koreana tiveram uma CIM de 0,27 a 0,66 mg de peso seco por mL contra *Vibrio parahaemolyticus*. Além disso, estes dois tipos de Wasabi tiveram maior atividade bactericida contra as bactérias Gram-negativas, como a *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella typhimurium*. Esse mesmo resultado foi evidenciado de acordo com o resultado do teste realizado na Tabela 2.

Isshiki *et al.* (1992), avaliaram a capacidade do vapor do ITA em inibir o crescimento de várias estirpes de bactérias patogênicas e encontraram uma CIM de vapor de 110 ng.mL<sup>-1</sup> para o *Staphylococcus aureus* IFO-12732 e para *Salmonella enteritidis* JCM-1891, 90 ng.mL<sup>-1</sup> para *Bacillus cereus* IFO-13494, 34 ng.mL<sup>-1</sup> para *Escherichia coli* JCM-1649 e 54ng.mL<sup>-1</sup> para *Salmonella Typhimurium* ATCC-14028.

Somando-se ao teste de microdiluição realizado, o efeito inibitório do WJ sobre o crescimento dos microorganismos testados neste trabalho foi também confirmado pelo teste de disco difusão em ágar (Tabela 3).

**Tabela 3-** Medidas dos halos de inibição (mm) de 'wasabi' diluído em água destilada, frente às bactérias patogênicas.

Tratamentos	Bactérias
-------------	-----------

	<i>Salmonella</i> <i>spp.</i>	<i>Bacillus</i> <i>cereus</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
3,9 mg.mL <sup>-1</sup> de 'wasabi'	8,2 <sup>f</sup>	-	-	-
58,00 mg.mL <sup>-1</sup> de 'wasabi'	-	7,60 <sup>g</sup>	6,97 <sup>h</sup>	7,03 <sup>i</sup>
Controle positivo (antibiótico)	9,0 <sup>b</sup>	7,66 <sup>c</sup>	7,00 <sup>d</sup>	7,33 <sup>e</sup>
Controle negativo (água)	6,00 <sup>a</sup>	6,00 <sup>a</sup>	6,00 <sup>a</sup>	6,00 <sup>a</sup>
CV (%)	7,94	4,91	0,46	5,36
DMS	0,15	0,09	0,01	0,09

CV= coeficiente de variação e DMS = diferença mínima significativa. Médias representadas com letras diferentes indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Como pode ser verificado, os resultados mostrados neste estudo estão de acordo com Hasegawa et al. (1999), onde observou-se a atividade antimicrobiana do WJ e a sua contribuição na segurança do alimento cru, como nos peixes. E também está de acordo com

Em comparação com outra pesquisa de Lee et al. (2006) que estudaram vários extratos de ervas medicinais e verificaram que das 26, nove amostras tiveram atividade antibacteriana contra no mínimo uma cepa testada de *Salmonella spp.*, sendo que as zonas mínimas de inibição foram de 8 mm, como no presente estudo, e no máximo de 19 mm. Além disso, o composto isolado do Wasabi Japônica por HPLC, chamado de 6-metil-sulfinil-hexil isotiocianato (6-HITC), induziu a apoptose de células cancerígenas MKN45 no estômago humano e também o crescimento de células U937, levando a concluir que a alta ou frequente ingestão de Wasabi pode contribuir para a redução do risco de câncer de estômago e também da leucemia monoblástica humana, respectivamente (WATANABE et al., 2003).

Por isso, a pesquisa do 'wasabi' no atual estudo é de grande importância, pois certas especiarias e óleos essenciais podem inibir o crescimento bacteriano, prolongando a vida útil de certos alimentos, pela sua capacidade antifúngica, anti-séptica, antibacteriana ou por ação antioxidante (EZZEDINE, 2001; MELO; MANCINI FILHO; GUERRA, 2003; TRAJANO et al., 2009). Como no caso do uso do extrato de ITA em alimentos como alface, maçãs e tomates (LIN et al., 2000) e também em mirtilos, onde

observaram redução do seu apodrecimento, certamente porque houve aumento da produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e, portanto, inibição do crescimento bacteriano (WANG; CHEN; YIN, 2010).

Sendo assim, a atividade antimicrobiana dos extratos de plantas pode ser utilizada no processamento e preservação de alimentos crus (LIS-BALCHIN; DEANS 1997), como no caso do 'wasabi', pois o presente estudo evidenciou sua capacidade de inibir o crescimento de patógenos possivelmente encontrados nos sushis e nos sashimis.

## CONCLUSÃO

Todas as amostras de *sushi* de salmão analisadas foram consideradas satisfatórias e seguras para o consumo humano, apresentando-se dentro dos parâmetros higiênicos-sanitários preconizados pela legislação vigente.

Houve a confirmação da ação antibacteriana do 'wasabi' na forma que é consumida juntamente com os alimentos da cultura japonesa, contra os patógenos que são possivelmente detectados nos *sushis* e nos *sashimi* (*Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*). Fato este importante, pois ele pode ser usado na preservação de certos alimentos e também prolongar a vida útil e seu tempo de armazenamento.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, a Universidade Paranaense-Unipar e a orientadora Juliana

Bernardi Wenzel que nos deram o maior apoio e infraestrutura para elaboração da pesquisa

## REFERÊNCIAS

ADAMS, A. M.; LEJA, L. L.; JINNEMAN, K.; BEEH, J.; YUEN, G. A.; WEKELL, M. M. *Anisakid parasites, Staphylococcus aureus and Bacillus cereus in sushi and sashimi from Seattle area restaurants. Journal of Food Protection*, v. 57, n. 4, p. 311–317, 1994. <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/1994/00000057/00000004/art00007>

ANDERSSON, A. ; RONNER, U. ; GRANUM, P. E. (1995). What problems does the food industry have with the sporeforming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*? *International Journal Food Microbiology*, v. 28, n. 2, p. 145–156, 1995. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8750663>

BARRALET, J.; STAFFORD, R.; TOWNER, C.; SMITH, P. Outbreak of Salmonella Singapore associated with eating *sushi*. *Communicable Diseases Intelligence*, v. 28, n.4, p. 527–528, 2004. <http://search.informit.com.au/documentSummary;dn=508407288584142;res=IELHEA>

BRASIL, Ministério da Saúde (2000). Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade. (Portaria MS nº 1469, de 29 de dezembro de 2000). Diário Oficial da União, 2 janeiro 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde (2001). Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos (Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001). ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília.

BRASIL, Ministério da Saúde. (2004). Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá

outras providências (Portaria n.518, de 25 de março de 2004). Diário Oficial da União, de 26 de março de 2004. Seção I, p. 266.

BERTINI, L. M.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. L. L.; MENEZES, E. A.; MORAIS, S. M., CUNHA, F. A.; CAVALCANTI, E. S. B. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do Nordeste do Brasil. *Infarma*, v. 17, n. ¾, p. 80-83, 2005. [http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/17/perfil\\_bacterias.pdf](http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/17/perfil_bacterias.pdf)

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

CARLONI, G.; MÁZ, J.; GODALY, S.; LÚQUES, R. Estado higienico sanitario de pollos para consumo en la ciudad de Buenos Aires y sus alrededores. *Veterinária Argentina*, v. 15, n. 141, p. 26–31, 1998.

CARMO, G. M. I.; OLIVEIRA, A. A.; DIMECH, C. P.; SANTOS, D. A.; ALMEIDA, M. G.; BERTO, L. H.; ALVES, R. M. S.; CARMO, E. H. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. *Boletim Eletrônico Epidemiológico*, v. 6, p. 1–7, 2005.

CHEN, S. C.; LIN, C. A.; FU, A. H.; CHUO, Y. W. Inhibition of microbial growth in ready-to-eat food stored at ambient temperature by modified atmosphere packaging. *Packaging Technology Science*, v. 16, n. 6, p. 6239–6247, 2004. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pts.631/abstract>

COSTA, R. A.; VIEIRA, G. H. F.; SILVA, G. C.; PEIXOTO, J. R. O.; BRITO, M.V. Bactérias de interesse sanitário em sushi comercializado em Sobral – Ceará. *Boletim Técnico-Científico do CEPENE*, v. 15, n. 1, p. 15–19, 2007.

- DUFRENNE, J.; SOENTORO, P.; TATINI, S.; DAY, T.; NOTERMANS, S. Characteristics of *Bacillus cereus* related to safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 99–109, 1994. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7811576>
- ESMERINO, L. A.; GONÇALVES, L. G.; SCHELESKY, M. E. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* isoladas de infecções urinárias comunitárias. **UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 9, n. 1, p. 31–39, 2003. [file:///C:/Users/User/Downloads/357-1131-1-PB%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/357-1131-1-PB%20(2).pdf)
- EZZEDINE, N.B. Antibacterial screening of *Origanum majorana* L., oil from Tunísia. **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, p. 295-97, 2001. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2006.10643477>
- FENG, C. H. The tale of *sushi*: history e regulations. **Comprehensive Reviews Food Science Safety**, v. 11, n. 2, p. 205–220, 2012. <http://dash.harvard.edu/handle/1/8852152>
- FELDHUSEN, F. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. **Microbes Infection**, v. 2, n. 13, p.1651–1660, 2000. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11113384>
- FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, 2011. [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542011000600001&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542011000600001&script=sci_arttext)
- FERREIRA, M. A.; BRAGA, M. J. S.; FREITAS, S. L.; SILVA, A. C. P.; AMORIM, P. S.; BATALHA, A. A.; DORNELLAS, S. Estudo introdutório sobre o uso de petrifilm como meio base para a utilização de membrana filtrante na análise de água. **Revista Analytica**, v. 25, p. 70–75, 2006.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo. Editora: Atheneu, 2002.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.
- GIAMPIETRO, A.; LAGO, N. C. M. R. Qualidade do gelo utilizado na conservação de pescado fresco. **Arquivos do Instituto biológico**, v. 76, n. 3, p. 505–508, 2009. [http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v76\\_3/giampietro.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v76_3/giampietro.pdf)
- HAMADA, K.; TSUJI, H.; MASUDA, K.; UEMURA, K. Outbreak of salmonellosis caused by ingestion of cuttlefish chips: Epidemiological analysis by pulsed-field gel electrophoresis. **Japanese Journal Infectious Diseases**, v. 52, n. 2, p. 53– 54, 1999. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10816618>
- HANASHIRO, A.; TORRES, E. A. F. S.; GERMANO, M. I.; GERMANO, P. M. L. Avaliação da comercialização de refeições orientais prontas – Bentos – no bairro da Liberdade, São Paulo. **Higiene alimentar**, v. 13, n. 66, p. 19–31, 1999.
- HASEGAWA, N.; MATSUMOTO, Y.; HOSHINO, A.; IWASHITA, K. Comparison of effects of *Wasabia japonica* and allyl isothiocyanate on the growth of four strains of *Vibrio parahaemolyticus* in lean and fatty tuna meat suspensions. **International Journal Food Microbiology**, v. 49, n. 1-2, p. 27– 34, 1999. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10477067>
- HORNER, M.; GIGLIO, V. F.; SANTOS, A. J. R. W. A.; WESTPHALEN, A. B.; INGLESIAS, B. A.; MARTINS, P. R.; AMARAL, C. H.; MICHELOT, T. M.; REETZ, L. G. B.; BERTONCHELI, C. M., PARAGINSKI, G. L.; HORNER, R. Triazenos e atividade antibacteriana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 441–449, 2008. [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-93322008000300014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-93322008000300014&script=sci_arttext)

- HUR, J. M.; LEE, J. H.; CHOI, J. W.; HWANG, G. W.; CHUNG, S. K.; KIN, M. S. Effects of Methanol Extract and Kaempferol Glycosides from *Armoracia rusticana* on the Formation of Lipid Peroxide in Bromobenzene-treated Rats In Vitro. **Korean Journal Pharmacognosy**, v. 29, p. 231–6, 1998.
- INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. ISO 7932: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* - Colony – count technique at 30°C, 3th ed, 2004.
- INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. ISO 6579: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 4th ed, 2002.
- INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. ISO 7218: Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations, 2007.
- ISSHIKI, K.; TOKUOKA, K.; MORI, R.; CHIBA, S. Preliminary examination of allyl isothiocyanate vapor for food preservation. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 56, n. 9, p. 1476– 1477, 1992. <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1271/bb.56.1476>
- JAY, J. M. Microbiologia de alimentos. Porto Alegre: Artmed, 2005. 6ª edição.
- KANEMARU, K.; MIYAMOTO, T. Inhibitory effects on the growth of several bacteria by brown mustard and allyl isothiocyanate. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, v. 37, n. 10, p. 823–829, 1990.
- KOTIRANTA, A.; LOUNATMA, A. K.; HAAPASA, M. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. **Microbes Infection**, v. 2, n. 2, p. 189–198, 2000. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10742691>
- LACASSE, D. **Introdução à Microbiologia Alimentar**. Instituto Piaget. 2000. 1ª edição.
- LEE M. H.; KWON, H. A.; KWON, D. Y.; PARK, H.; SOHN, D. H.; KIM, Y. C.; EO, S. K.; KANG, H. Y.; KIM, S. W.; LEE, J. H. Antibacterial activity of medicinal herb extracts against *Salmonella*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 111, n. 3, p. 270–275, 2006.
- LEE, Y. S.; YANG, J. H.; BAE, M. J.; YOO, W. K.; YE, S.; XUE, C. C. L.; LI, C. G. Antioxidant and Anti-hypercholesterolemic Activities of *Wasabia japonica*. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-6, 2008.
- LIS-BALCHIN, M.; DEANS, S.G. Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 82, n. 6, p. 759–762, 1997. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9202441>
- MARI, M.; LEONI, O.; CEMBALI, M. Antifungal vapour-phase activity of allylisothiocyanate against *Penicillium expansum* on pears. **Plant Pathology**, v. 51, p. 231–236, 2002. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-3059.2002.00667.x/abstract>
- MARTINS, F. O. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (sushi e sashimi) a base de pescado cru servidos em bufês na cidade de São Paulo**. 142 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. Campinas, 2006. <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6135/tde-13122006-141234/pt-br.php>
- MELO, E. A.; MANCINI FILHO, J.; GUERRA, N. B. Atividade antioxidante de extrato de coentro (*Coriandrum sativum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 195-99, 2003. <http://www.scielo.br/pdf/cta/v23s0/19496.pdf>
- MIRANDA, A. C. B.; BAIÃO, R. C. L. Avaliação das boas práticas da fabricação de preparações à base de pescados crus em

restaurante japonês. **C&D-Revista Eletrônica da Fainor**, v. 4, n. 1, p. 52–61, 2011. <http://srv02.fainor.com.br/revista/index.php/memorias/article/view/82/85>

MOURA FILHO, L. G. M.; MENDES, E. S.; SILVA, R. P. P.; GÓES, L. M. N. B.; VIEIRA K. P. B. A.; MENDES, P. P. Enumeração e pesquisa de *Vibrio spp.* e coliformes totais e termotolerantes em sashimis de atum e vegetais comercializados na região metropolitana do Recife, Estado de Pernambuco. **Acta Scientiarum Technology Maringá**, v. 29, n. 1, p. 85–90, 2007. <http://www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciTechnol/article/view/94>

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARD. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, v. 23, n. 1, 2005. [http://www.anvisa.gov.br/servicos/audes/manuais/clsi/clsi\\_OPASM2-A8.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicos/audes/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf)

OGAWA, T.; MATAUZAKI, H.; ISSHIKI, K. Bacterial control by hydrostatic pressure treatment with addition of allyl isothiocyanate. **Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi**, v. 45, p. 349–356, 1998.

OLIVEIRA, T. W. N.; MARQUES, L. F. Avaliação das condições higiênico-sanitária no preparo de sushi e sashimi de um estabelecimento comercial. **Revista Semiário De Visu**, v. 2, n. 1, p. 194–201, 2012.

PIRTTIJARVI, T. S. M.; ANDERSSON, M. A.; SALKINOJA-SALOMEN, M. S. Properties of *Bacillus cereus* and other bacilli contaminating biomaterial-based industrial processes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, n. 2-3, p. 231–239, 2000. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11016612>

RESENDE, A.; SOUZA, J. R.; OLIVEIRA, Y. R. Análise microbiológica de sushis e sashimis

comercializados em restaurantes de Brasília no período de 2001 a 2004. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 174/175, p. 164–170, 2009.

ROZATTO, M. R. **Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de Arrabidaea brachypoda**. 101 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2012. <http://www2.fcfar.unesp.br/Home/Posgraduacao/CienciasFarmaceuticas/MARIANA%20RODRIGUES%20ROZATTO.pdf>

SCHULZ, S.G.; MUELLER, M.; JARK, U.; ETZEL, V.; HORN, D.; FELDHUSEN, F. Food hygienic examination of sushi products and the basic raw material. **Archiv Fur Lebensmittelhygiene**, v. 54, n. 2, p. 37–41, 2003.

SHIN, I. S.; MASUDA, H.; NAOHIDE, K. Bactericidal activity of wasabi (*Wasabia Japônica*) against *Helicobacter pylori*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 255–261, 2004. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15246236>

SIKORSKI, Z. E. **Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación**. Zaragoza: Acribia. 1990.

SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWASKA, A.; BURT, J. R. Postharvest biochemical and microbial changes. **Journal Boca Raton**, p. 55–75. 1990.

SILVA-JUNIOR, E. A. Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos. São Paulo: Varela. 2001. 4ª edição.

SIQUEIRA, A. Análise epidemiológica dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, 2009.

TAJIMA, H.; KIMOTO, H.; TAKETO, Y.; TAKETO, A. Effects of synthetic hydroxy isothiocyanates on microbial systems. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v.

62, n. 3, p. 491–500, 1998.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9571778>

TORTORA, G. J. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 6ª edição.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 542–545, 2009.  
<http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n3/a14v29n3.pdf>

VALLANDRO, M. J.; CAMPOS, T.; PAIM, D.; CARDOSO, M.; KINDLEIN, L. Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis à base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 2, p. 144–50, 2011.

VIEIRA, R. H. S. F.; SILVA, C. M.; CARVALHO, F. C. T.; SOUZA, D. B. R.; MENEZES, F. G. R.; REIS, E. M. F. Salmonella e Staphylococcus coagulase positiva em *sushi* e *sashimi* preparados em dois restaurantes da cidade de Fortaleza, Ceará. **Boletim Técnico Científico do CEPENE**, v. 15, n. 1, p. 9–14, 2007.

<http://www.icmbio.gov.br/cepene/images/stories/publicacoes/btc/vol15/btc-vol15.pdf>

YANO, T, YAJIMA, S.; VIRGONA, N.; YANO, Y.; OTANI, S.; KUMAGAI, H. The effect of 6-methylthiohexyl isothiocyanate isolated from *Wasabia japonica* (wasabi) on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butane-induced lung tumorigenesis in mice. **Cancer Letters**, v. 155, n. 2, p. 115–120, 2000.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10822125>

WANG, S. Y.; CHEN, S. T.; YIN, J. J. Effect of allyl isothiocyanate on antioxidants and fruit decay of blueberries. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 199–204, 2010.  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609011856>

WATANABE, M.; OHATA, M., HAYAKAWA, S.; ISEMURA, M.; KUMAZAWA, S., NAKAYAMA, T.; FURUGORI, M.; KINAE, N. Identification of 6-methylsulfinylhexyl isothiocyanate as an apoptosis-inducing component in wasabi. **Phytochemistry**, v. 62, n. 5, p. 733–739, 2003.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12620325>

WEIL, M. J.; ZHANG, Y.; NAIR, M. G. Tumor Cell Proliferation and Cyclooxygenase Inhibitory Constituents in Horseradish (*Armoracia rusticana*) and Wasabi (*Wasabia Japonica*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1440–1444, 2005.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15740020>