

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

TESE

**Vigilância e diagnóstico de *Salmonella*
spp. em pisciculturas de peixes redondos
nativos (*Colossoma macropomum*)**

Yuri Duarte Porto

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

VIGILÂNCIA E DIAGNÓSTICO DE *Salmonella*
spp. EM PISCICULTURAS DE PEIXES REDONDOS
NATIVOS (*Colossoma macropomum*)

YURI DUARTE PORTO

Sob a Orientação do Professor

Wagner de Souza Tassinari

e Coorientação da D.Sc

Fabiola Helena dos Santos Fogaça

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em**
Ciências, no Curso de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ

Maio de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P839v Porto, Yuri Duarte, 1986-
 Vigilância e diagnóstico de Salmonella spp. em
 pisciculturas de peixes redondos nativos (Colossoma
 macropomum) / Yuri Duarte Porto. - Rio de Janeiro,
 2023.
 99 f.: il.

 Orientador: Wagner de Souza Tassinari.
 Coorientadora: Fabiola Helena dos Santos Fogaça.
 Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
 Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Ciências
 Veterinárias, 2023.

 1. Ciências Veterinárias. 2. Vigilância Sanitária.
 3. Aquicultura. 4. Microbiologia. 5. Microbiologia de
 Alimentos. I. Tassinari, Wagner de Souza, 09/08/1976
 , orient. II. Fogaça, Fabiola Helena dos Santos,
 08/06/1979-, coorient. III Universidade Federal Rural
 do Rio de Janeiro. Programa de Pós-graduação em
 Ciências Veterinárias. IV. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



ATA Nº 787 / 2023 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.028456/2023-61

Seropédica-RJ, 05 de maio de 2023.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

YURI DUARTE PORTO

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 05/05/2023

(Assinado digitalmente em 05/05/2023 18:57)

ADRIANA OLIVEIRA ANDRADE
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptM (12.28.01.00.00.00.63)
Matrícula: 2619473

(Assinado digitalmente em 08/05/2023 17:02)

FRANCISCO DE ASSIS BARONI
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.54)
Matrícula: 386849

(Assinado digitalmente em 06/05/2023 10:43)

WAGNER DE SOUZA TASSINARI
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptM (12.28.01.00.00.00.63)
Matrícula: 2545823

(Assinado digitalmente em 08/05/2023 14:04)

EDUARDO JACUSIEL MIRANDA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 870.906.431-15

(Assinado digitalmente em 08/05/2023 19:05)

GLÓRIA MARIA DIREITO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 907.097.137-20

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp>
informando seu número: **787**, ano: **2023**, tipo: **ATA**, data de emissão: **05/05/2023** e o código
de verificação: **f6338f122f**

À Elba Gaya, minha mãe virtuosa
e incansável; à Fabiana Raslan, minha
irmã amorosa e simplesmente genial.

Dedico.

*“Sometimes I lay under the moon
And I thank God I’m breathing
Then I pray don’t take me soon
‘Cause I am here for a reason
Sometimes in my tears I drown
But I never let it get me down
So when negativity surrounds
I know someday it’ll all turn around
Because (...)”
One Day, Matisyahu*

AGRADECIMENTOS

Através da minha vivência religiosa e dedicada no Unsaba Mulendi, eu agradeço à Deus por me conceder bênçãos a minha saúde, pela sabedoria, autoconhecimento, evolução espiritual e pessoal, e por me dar um propósito de vida através da ciência.

À minha mãe Elba Gaya e meu pai, Marcio, meus irmãos, Fabiana e Leonardo, agradeço por toda paciência, incentivo, suporte e apoio incondicional.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) por toda a minha vida de formação do colégio técnico ao doutorado! Ao Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos – CTAA da Embrapa Agroindústria de Alimentos (RJ) pela oportunidade de fazer parte deste grande projeto de pesquisa! À Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) por tornar possível a concretização do trabalho de doutorado da minha vida!

Aos meus orientadores Dra. Fabiola Helena dos Santos Fogaça, professor Dr. Wagner de Souza Tassinari e professora Dra. Adriana Oliveira Andrade pela oportunidade de trabalhar com os Srs. neste importante projeto, pela orientação, por todo apoio, suporte, empatia, por acreditarem em meu potencial, pela amizade, por toda paciência, pela confiança em me indicar aos laboratórios Labmma e Labcarpesc (UFMT) para execução dos planos de ação de trabalho... Eu agradeço por tudo! Este projeto mudou a minha vida! Gratidão!

Aos professores Dr. Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo e Dra. Luciana Kimie Savay da Silva por me receberem na UFMT como seu aluno e integrante da equipe, por toda orientação, por todo conhecimento passado, treinamento, suporte, parceria, ajuda, amizade, confiança, por todo trabalho e esforço conjunto que os Srs. têm se dedicado na pesquisa, para que eu conseguisse realizar meu doutorado e pela oportunidade de seguir a diante na expansão deste grande projeto! Fazer parte da equipe e trabalhar com os Srs. tem sido motivo de completa realização profissional, pessoal e de felicidade em permanecer em Cuiabá. Gratidão!

Aos técnicos Dr. Adelino Cunha Neto e Dr. Marcio Gonçalo de Lima por todo acompanhamento, paciência, incentivo, amizade e ensinamentos durante os dias das rotinas do laboratório e fora também. A participação de vocês foi fundamental para a construção, execução e conclusão deste trabalho tão importante para minha vida pessoal e profissional.

Aos meus amigos e colegas de laboratório na UFMT, Jaqueline, Maxueli, Nataly, Luciano, Alexandro, Elisana, Sara e Washington pela amizade, companhia, suporte e convivência maravilhosa.

Ao Dr. Eduardo Jacusiel Miranda pelo acompanhamento em todas as coletas que fizemos, pela amizade! Seu apoio foi imprescindível!

À pesquisadora Dra. Janine Passos, analistas Dra. Anna Beatriz, Dra. Simone e Dra. Andreza, e Técnicos Adriano, Tatiane, Ana e Vanessa, pelo acompanhamento no início do meu doutorado que representou meu retorno ao laboratório de microbiologia depois de alguns anos afastado do meu propósito.

À Dra. Izabela de Castro Miranda e Dr. Otniel Freitas Silva que me formaram no mestrado, pela amizade, pelo incentivo de eu seguir a diante na pesquisa, por terem me apresentado e indicado para minha orientadora para que eu pudesse realizar este doutorado!

Ao professores Dr. Francisco de Assis Baroni e Dra. Glória Maria Direito pelos ensinamentos, pela amizade, por todos os bons momentos enquanto fui seu aluno no DMIV-UFRJ durante a graduação. Minha dedicação e felicidade em trabalhar com microbiologia começou quando trabalhei com os Srs.!

Aos meus novos amigos de Cuiabá, em especial Weric (Quintal do Boa), Mestre Rillei (Maldonado Team), colegas de treino da Maldonado Team e da Team Noya Kickboxing; meus camaradas de república Diego “mineiro” e Elmiro Neto.

Aos meus amigos do RJ, em especial Ulisses Dardon (*in memoriam*).

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

A presente pesquisa obteve financiamento e dados gerados como parte do projeto de pesquisa da Embrapa Agroindústria de Alimentos (Guaratiba – RJ) intitulado “Ocorrência de *Salmonella* spp. em tambaqui cultivado e seus híbridos e desenvolvimento de boas práticas e tecnologias para sua prevenção e controle (Salmocontrol)” (Código SEG: 20.19.03.049.00.00). Financiada pela Embrapa Edital SEG 01/2019. Agradeço o financiamento desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradeço o financiamento desta pesquisa.

RESUMO GERAL

YURI DUARTE PORTO, filho de **Elba Gaya Duarte** e **Marcio Moises Porto**, nascido na cidade do Rio de Janeiro – RJ no dia 19 de abril de 1986. Em 2003 formou no curso Técnico em Agropecuária Orgânica no Colégio Técnico da Universidade Rural (CTUR), na cidade de Seropédica – RJ. No segundo semestre de 2006 ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), concluindo-o em 2012. Durante a graduação foi estagiário no Laboratório de Leveduras Patogênicas e Ambientais no Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Veterinária (DMIV-IV) – UFRRJ, onde também exerceu monitoria na disciplina de Micologia Veterinária no período de agosto de 2009 a julho de 2012, e foi auxiliar de apoio técnico no período de agosto a dezembro de 2012 no mesmo laboratório. Em março de 2013 ingressou no mestrado *stricto sensu* do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da UFRRJ, desenvolvendo toda pesquisa em parceria com pesquisadores do Laboratório de Micotoxinas do Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos – CTAA da Embrapa Agroindústria de Alimentos, em Guaratiba – RJ, sendo aprovado na defesa da dissertação intitulada “*Ozonização em canjiquinha de milho e seu efeito nos níveis de aflatoxinas, contagem de fungos e qualidade do alimento*” em abril de 2017. Em março de 2019 ingressou no doutorado *stricto sensu* do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) da UFRRJ, desenvolvendo a pesquisa com pesquisadores dos Laboratórios de Bioacessibilidade e Diagnósticos Microbiológico e Biomolecular do CTAA da Embrapa Agroindústria de Alimentos, em parceria com professores pesquisadores do Laboratório de Diagnóstico Microbiológico e Molecular de Alimentos (LABMMA) e Laboratório de Carnes e Pescado (LABCarPesc) da Faculdade de Nutrição e Ciência e Tecnologia de Alimentos na UFMT em projeto de investigação da ocorrência de *Salmonella* spp. em pisciculturas de peixes redondos nativos na Baixada Cuiabana, bem como desenvolver soluções técnicas para controle microbiológico e mitigação de riscos de contaminação na cadeia produtiva desses peixes, com previsão de defesa em março de 2023. Em março de 2020 ingressou no Curso de Especialização em Estatística Aplicada (UFRRJ), concluído em dezembro de 2021, onde desenvolveu a base de dados a partir de uma revisão sistemática sobre o diagnóstico de *Salmonella* spp. na aquicultura no período de 2000 a 2020, contida no primeiro capítulo da presente tese.

RESUMO GERAL

PORTO, Yuri Duarte. **Vigilância e diagnóstico de *Salmonella* spp. em pisciculturas de peixes redondos nativos (*Colossoma macropomum*)**. 2023. 99 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2023.

O Brasil possui grande potencial para aquicultura. Contudo o pescado também pode ser cofator de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA). A salmonelose é causada por bactérias do gênero *Salmonella* de interesse para saúde pública em todo o mundo pelas suas características de morbidade e dificuldade de controle. A *Salmonella* spp. possui grande adaptação fisiológica capaz de sobreviver em solo e água permitindo contaminação e disseminação entre animais e manipuladores na indústria processadora de pescado. Na legislação brasileira a presença de *Salmonella* spp. em alimentos é proibida e quando detectada, todo o lote deve ser descartado e a indústria deve passar por processo de higienização. Caracterizada pela infecção por espécies não tifoidais do gênero *Salmonella*, embora não pertençam naturalmente ao habitat aquático ou microbiota dos peixes, os sistemas de criação piscícola em tanques podem oferecer condições que propiciam contaminação e concentração da carga microbiana deste patógeno, e como resultado, persistir pós etapas de processamento e beneficiamento industrial, mantendo-se como risco microbiológico quando não totalmente eliminado. No Capítulo 1 foi realizada uma revisão sistemática dos diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000-2020. Dentre os resultados apresentados, o método de isolamento por cultura foi o mais difundido, apoiado por técnicas mais precisas como PCR. Os sorovares de *Salmonella* mais predominantes reportados foram *S. Typhimurium*, *S. Weltevreden* e *S. Newport*. As informações produzidas caracterizam a ocorrência de *Salmonella* spp. no setor da aquicultura trazendo um panorama dos últimos anos. Pesquisas futuras com foco nas estratégias de controle e prevenção de *Salmonella* spp. na produção de pescado são necessárias e devem ser incentivadas. No Capítulo 2, um estudo foi conduzido para verificar a ocorrência de *Salmonella* spp. em criações de tambatingas (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) e traçar um perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de 25 pisciculturas distribuídas em oito municípios pertencentes a região da Baixada Cuiabana em Mato Grosso, no período de novembro de 2021 a junho de 2022. Para tanto 184 amostras (peixe, água e terra do tanque, ração e fezes) de 25 pisciculturas foram avaliadas para detecção presuntiva de *Salmonella* spp. pelo método microbiológico baseado na ISO 6579-1, e confirmados após reação de cadeia de polimerase (PCR) tendo como alvo o gene *hlyA* e leitura após eletroforese em gel de agarose. Das pisciculturas, 88% (22/25) foram diagnosticadas com *Salmonella* spp. em pelo menos uma das amostras. Alguns fatores de risco, como o livre acesso de animais alheios a produção aquícola (domésticos, aves, de produção, selvagens) aos tanques de criação, foram identificados e sugerem potencial fonte contribuidora para contaminação. Os resultados demonstram alta prevalência, sendo um problema silencioso, visto que o peixe na fase de criação alberga um patógeno de interesse em saúde pública sem manifestar sintomas de infecção aparentes.

Palavras-chave: *Salmonella*, diagnóstico microbiológico, aquicultura, segurança alimentar, saúde pública, revisão sistemática

GENERAL ABSTRACT

PORTO, Yuri Duarte. **Surveillance and diagnosis of *Salmonella* spp. in native roundfish (*Colossoma macropomum*) fish farms.** 2023. 99 p. Thesis (Doctorate in Veterinary Sciences) – Institute of Veterinary Medicine, Department of Animal Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2023.

Brazil has great potential for aquaculture. However, fish can also be a cofactor of foodborne illness (FBD) outbreaks. Salmonellosis is caused by bacteria of the genus *Salmonella* of interest to public health worldwide due to its morbidity and control difficulties. *Salmonella* spp. it has great physiological adaptation capable of surviving in soil and water allowing contamination and dissemination between animals and handlers in the fish processing industry. In Brazilian legislation, *Salmonella* spp. is prohibited and when detected, the entire batch must be discarded and the industry must undergo a cleaning process. Characterized by infection by non-typhoidal species of the genus *Salmonella*, although they do not naturally belong to the aquatic habitat or microbiota of fish, fish farming systems in tanks can offer conditions that provide contamination and concentration of the microbial load of this pathogen, and as a result, persist after stages of processing and industrial improvement, remaining as a microbiological risk when not completely eliminated. In Chapter 1, a systematic review of the microbiological diagnoses of *Salmonella* spp. in aquaculture between 2000-2020. Among the results presented, the isolation method by culture was the most widespread, supported by more precise techniques such as PCR. The most prevalent *Salmonella* serovars reported were *S. Typhimurium*, *S. Weltevreden* and *S. Newport*. The information produced characterizes the occurrence of *Salmonella* spp. in the aquaculture sector bringing an overview of recent years. Future research focusing on control and prevention strategies for *Salmonella* spp. in fish production are necessary and should be encouraged. In Chapter 2, a study was conducted to verify the occurrence of *Salmonella* spp. in tambatinga farms (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomus*) and to draw a susceptibility profile to antimicrobials of isolates from 25 fish farms distributed in eight municipalities belonging to the Baixada Cuiabana region in Mato Grosso, from November 2021 to June 2022. both 184 samples (fish, pond water and soil, feed and faeces) from 25 farms were evaluated for presumptive detection of *Salmonella* spp. by the microbiological method based on ISO 6579-1, and confirmed after polymerase chain reaction (PCR) targeting the *hlyA* gene and reading after electrophoresis in agarose gel. Of the fish farms 88% (22/25) were diagnosed with *Salmonella* spp. in at least one of the samples. Some risk factors, such as the free access of animals outside aquaculture production (domestic, poultry, production, wild) to the breeding tanks, were identified and suggest a potential source of contamination. The results demonstrate a high prevalence, being a silent problem, since the fish in the rearing phase harbors a pathogen of interest in public health without manifesting symptoms of apparent infection.

Key words: *Salmonella*, microbiological diagnosis, aquaculture, food safety, public health, systematic review

OBJETIVO GERAL

Estimar a prevalência de *Salmonella* spp. em pisciculturas de peixes redondos nativos (*Colossoma macropomum*) da baixada cuiabana do Estado de Mato Grosso e identificar possíveis fontes de contaminação de *Salmonella* spp. nos tanques de produção.

Objetivos Específicos:

- 1- Coletar dados científicos através de revisão sistematizada (*Salmonella* spp. X Aquicultura);
- 2- Estimar a prevalência de *Salmonella* spp. em 25 pisciculturas localizadas em oito municípios da baixa cuiabana, incluindo região do pantanal;
- 3- Realizar diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. em amostras de tambatingas (♀ *Colossoma macropomum* x ♂ *Piaractus brachypomus*), em amostras do ambiente de produção (água e terra do tanque de criação), ração de peixe e amostras fecais de animais externos a piscicultura;
- 4- Caracterizar os isolados de *Salmonella* spp. quanto ao perfil de resistência/suscetibilidade a antimicrobianos de oito classes diferentes;
- 5- Identificar as possíveis fontes de contaminação durante o cultivo de peixes nativos.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II - OCORRÊNCIA E RASTREAMENTO DA ORIGEM DE CONTAMINAÇÃO POR *Salmonella* spp. EM PISCICULTURAS DE PEIXES NATIVOS NA REGIÃO DA BAIXADA CUIABANA E PANTANAL MATO-GROSSENSE BRASILEIRO

| | |
|--|-----------|
| Tabela 1. Frequência e distribuição dos isolados de <i>Salmonella</i> spp. identificados pelo gene <i>hlyA</i> em amostras de peixe e ambientais. | 52 |
| Tabela 2. Perfil de resistência aos antimicrobianos testados nos diferentes isolados das pisciculturas. | 54 |
| Tabela 3. Distribuição por municípios e as principais características observadas pelo <i>check-list</i> , identificação das cepas de <i>Salmonella</i> spp. isoladas e perfil antimicrobiano observados nas 25 pisciculturas visitadas. | 56 |
| Tabela 4. Resultados das análises de Qui-quadrado sobre as variáveis estudadas em relação a <i>Salmonella</i> spp. | 59 |
| Tabela 5. Resultados das análises do teste de <i>Mann-Whitney</i> sobre as variáveis estudadas em relação ao número de cepas de <i>Salmonella</i> spp. isoladas. | 60 |

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO II - OCORRÊNCIA E RASTREAMENTO DA ORIGEM DE CONTAMINAÇÃO POR *Salmonella* spp. EM PISCICULTURAS DE PEIXES NATIVOS NA REGIÃO DA BAIXADA CUIABANA E PANTANAL MATO-GROSSENSE BRASILEIRO

- | | |
|---|-----------|
| Quadro 1. Coordenadas geográficas dos municípios e distribuição das vinte e cinco pisciculturas visitadas para coleta de amostras durante o período de novembro de 2021 a junho de 2022. | 45 |
| Quadro 2. Variáveis, categorias e legendas para o estudo de associação. | 49 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I - *Salmonella* spp. NA AQUICULTURA: UMA ANÁLISE EXPLORATÓRIA (REVISÃO INTEGRATIVA) DOS DIAGNÓSTICOS MICROBIOLÓGICOS ENTRE 2000 E 2020

- Figura 1.** Estratégia de seleção dos artigos elegíveis. 8
- Figura 2.** Nuvem de palavras formada a partir dos resumos dos artigos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. em aquicultura entre 2000 e 2020. N total de palavras = 17142. 11
- Figura 3.** Gráfico de similitude com a relação das palavras mais utilizadas nos resumos dos artigos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020. 12
- Figura 4.** Gráfico gerado pela técnica de classificação hierárquica descendente (CHD) contendo o corpus textual dos resumos dos artigos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020, divididos por agrupamentos de segmentos de texto de acordo com a similitude dos termos. 14
- Figura 5.** Representação hierárquica e classificação dos cinco grupos formados pela divisão do corpus textual dos resumos dos artigos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020, de acordo com a similitude de termos. 15
- Figura 6.** Frequência de artigos científicos selecionados na revisão integrativa sobre diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020 por países de diferentes continentes. 16
- Figura 7.** Frequência de artigos científicos sobre diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020 por ano de publicação. 18
- Figura 8.** Algumas espécies da aquicultura mais amostradas pelos artigos selecionados na revisão integrativa sobre os diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020. 19
- Figura 9.** Alíquotas de amostras mais analisadas nos artigos científicos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. em aquicultura entre 2000 e 2020. 21
- Figura 10.** Alguns dos sorotipos de *Salmonella* mais relatados pelos artigos científicos selecionados na revisão integrativa sobre 22

diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. em aquicultura entre 2000 e 2020.

CAPÍTULO II - OCORRÊNCIA E RASTREAMENTO DA ORIGEM DE CONTAMINAÇÃO POR *Salmonella* spp. EM PISCICULTURAS DE PEIXES NATIVOS NA REGIÃO DA BAIXADA CUIABANA E PANTANAL MATO-GROSSENSE BRASILEIRO

- Figura 1.** Distribuição geográfica das 25 pisciculturas visitadas localizadas em oito municípios dentro e próximos ao pantanal mato-grossense, Mato Grosso, Brasil. **44**
- Figura 2.** Fluxograma resumido das etapas de coleta das amostras das pisciculturas e análises laboratoriais para *Salmonella* spp. **46**
- Figura 3.** Esquema resumido das etapas de análise microbiológica e molecular para *Salmonella* spp. **47**
- Figura 4.** Gráfico da Análise de Correspondência Múltipla demonstrando as categorias contidas na Dimensão 1 e Dimensão 2. **61**
- Figura 5.** Representação gráfica da Análise de Correspondência Múltipla entre as categorias das variáveis ‘estação’, ‘bioma’, ‘tanque’, ‘amostra’ e ‘salmonella’, para detecção de *Salmonella* spp. em 22 pisciculturas da região da baixada cuiabana, Mato Grosso, Nov2021-Jun2022. **62**

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| CAPÍTULO I – <i>Salmonella</i> spp. NA AQUICULTURA: UMA ANÁLISE EXPLORATÓRIA (REVISÃO INTEGRATIVA) DOS DIAGNÓSTICOS MICROBIOLÓGICOS ENTRE 2000 E 2020. | 3 |
| RESUMO. | 4 |
| ABSTRACT | 5 |
| 1 INTRODUÇÃO | 6 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 8 |
| 2.1 Fonte de dados e estratégia de pesquisa | 8 |
| 2.2 Desenho da pesquisa | 8 |
| 2.3 Processo de seleção | 8 |
| 2.4 Critérios de eleição | 9 |
| 2.5 Resumo e análise de dados | 9 |
| 2.6 Análise textual | 9 |
| 3 RESULTADOS | 11 |
| 4 DISCUSSÃO | 23 |
| 5 CONCLUSÕES | 27 |
| 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 28 |
| CAPÍTULO II – OCORRÊNCIA E RASTREAMENTO DA ORIGEM DE CONTAMINAÇÃO POR <i>Salmonella</i> spp. EM PISCICULTURAS DE PEIXES NATIVOS NA REGIÃO DA BAIXADA CUIABANA E PANTANAL MATO-GROSSENSE BRASILEIRO | 39 |
| RESUMO | 40 |
| ABSTRACT | 41 |
| 1 INTRODUÇÃO | 42 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 44 |

| | |
|--|-----------|
| 2.1 Financiamento da pesquisa | 44 |
| 2.2 Amostragem | 44 |
| 2.2.1 Pisciculturas | 44 |
| 2.3 Desenho do estudo | 45 |
| 2.4 Coleta das amostras | 46 |
| 2.5 Inquérito epidemiológico | 46 |
| 2.6 Detecção de <i>Salmonella</i> spp. | 46 |
| 2.7 Preparo da unidade analítica | 47 |
| 2.8 Análise microbiológica para <i>Salmonella</i> spp. | 47 |
| 2.9 Análise molecular para <i>Salmonella</i> spp. | 48 |
| 2.10 Antibiograma | 48 |
| 2.11 Análises estatísticas | 48 |
| 3 RESULTADOS | 51 |
| 4 DISCUSSÃO | 64 |
| 5 CONCLUSÕES | 68 |
| 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 69 |
| CONCLUSÃO GERAL | 76 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 77 |
| ANEXO | 78 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

A salmonelose é uma das principais doenças transmitidas por alimentos (DTA) de interesse em prevenção para saúde pública. Está caracterizada pela infecção por espécies não tifoidais do gênero *Salmonella* que, embora não pertençam naturalmente ao ambiente aquático ou microbiota dos peixes, os sistemas de criação piscícola podem oferecer condições que propiciam contaminação e concentração da carga microbiana deste patógeno, e como resultado, persistir pós etapas de processamento e beneficiamento industrial, mantendo-se como risco microbiológico.

Como patógeno bacteriano que possui ampla distribuição em diversas espécies animais e ambiente, *Salmonella* spp. é passível de causar prejuízos econômicos na produção. A presença deste patógeno na cadeia produtiva de pescado tem sido observada em pesquisas ao longo dos anos demonstrando preocupação sobre o pouco conhecimento sobre a patogenicidade desta bactéria no pescado e os possíveis sorovares que possam ser encontrados nos peixes, evidenciando questionamentos alarmantes quanto à saúde pública e o quanto ao desenvolvimento econômico. *Salmonella* spp. aparentemente não causam doença nos peixes ao longo do cultivo, porém podem contaminar o produto do pescado em qualquer fase da produção até chegar ao consumidor.

No Brasil há poucos estudos sobre ocorrência de *Salmonella* spp. em criação de peixes nativos. Como um produto pouco processado, todo o período que compreende a produção (fases de criação, captura ou remoção, processamento e varejo), o pescado está sujeito a contaminação por microrganismos patogênicos naturalmente presentes no ambiente aquático e outros oportunistas introduzidos por meio de dejetos animais e humanos durante o processamento e/ou preparação da cadeia produtiva. Nesse sentido, *Salmonella* spp. precisa ser mantida sob vigilância, pois os produtos aquícolas têm se tornado potenciais fontes de propagação.

Pesquisas sobre diagnóstico microbiológico na cadeia produtiva de pescado vêm sendo desenvolvidas no Laboratório de Microbiologia Molecular de Alimentos (LABMMA), do Departamento de Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Em parceria com o Laboratório de Bioacessibilidade, da Embrapa Agroindústria de Alimentos (CTAA – RJ) essa tese foi desenvolvida como objetivo geral de aprofundar os conhecimentos relacionados a *Salmonella* spp. que ocorrem em peixes redondos nativos durante a fase de criação nas pisciculturas.

A presente tese foi escrita em formato de artigo, composta por dois capítulos, sendo cada um deles um artigo. O capítulo I foi publicado como artigo de revisão na Revista Animals, sob o título “*Salmonella* spp. in Aquaculture: An Exploratory Analysis (Integrative Review) of Microbiological Diagnoses between 2000 and 2020” (<https://doi.org/10.3390/ani13010027>). A capa do artigo encontra-se no Anexo A desta tese. O capítulo II será enviado para publicação em breve, após a realização dos ajustes necessários.

No CAPÍTULO I, foi realizada uma revisão de literatura sistemática integrativa cujo objetivo geral foi caracterizar por meio da estatística descritiva, mineração e análise textual, um banco de dados formado a partir dos artigos científicos selecionados por uma revisão sistemática dos diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020.

No CAPÍTULO II, foi conduzido um estudo microbiológico para determinar a ocorrência de *Salmonella* spp. em criações de tambatingas (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) de vinte e cinco pisciculturas localizadas em diversos municípios da Baixada Cuiabana – MT. Foram coletadas e analisadas amostras de peixe

e ambientais. Vinte e dois (22) isolados foram selecionados e avaliados quanto ao perfil de resistência a diferentes classes de antimicrobianos.

CAPÍTULO I

***Salmonella* spp. NA AQUICULTURA: UMA ANÁLISE EXPLORATÓRIA (REVISÃO INTEGRATIVA) DOS DIAGNÓSTICOS MICROBIOLÓGICOS ENTRE 2000 E 2020**

RESUMO

PORTO, Yuri Duarte. **Capítulo I: *Salmonella* spp. na aquicultura: uma análise exploratória (revisão integrativa) dos diagnósticos microbiológicos entre 2000 e 2020.** 2023. 99p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

A salmonelose é caracterizada por uma infecção gastrointestinal decorrente da ingestão de água e alimentos contaminados por bactérias do gênero *Salmonella*, que causam a enterocolite. Embora as infecções sejam agudas e autolimitadas, os esforços para prevenir esse problema de interesse para a saúde pública global são importantes. *Salmonella* spp. distribui-se em diferentes ambientes e espécies animais; portanto, a carne derivada da produção animal é uma das principais vias de infecção humana, aumentando a importância de pesquisas com foco na qualidade microbiológica e segurança alimentar. A aquicultura é um setor em constante crescimento no mundo, e o monitoramento de *Salmonella* spp. em produtos pesqueiros é importante para a saúde pública devido aos riscos de contaminação durante todas as etapas da produção. O presente estudo teve como objetivo caracterizar, por meio de estatística descritiva, dados de artigos científicos selecionados em uma revisão sistemática integrativa que realizou diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. na aquicultura. Os dados foram obtidos a partir de artigos de pesquisa publicados nas bases de dados BVS, Scielo, Science Direct, Scopus e Web of Science. Os estudos selecionados foram publicados entre 2000 e 2020 em amostras de produção animal aquícola (peixes, camarões, moluscos bivalves e outros crustáceos) e amostras ambientais da atividade aquícola (água, solo e sedimentos). Após a aplicação dos critérios de exclusão, foram selecionados 80 artigos. Dados como país de origem, categorias de peixes investigados, métodos de diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp., as unidades amostrais analisadas e a maioria dos sorovares relatados foram minerados. A análise textual da nuvem de palavras e por similitude e classificação hierárquica descendente com a aplicação do algoritmo de Reinert foi realizada por meio dos softwares R® e Iramuteq®. Os resultados mostraram que uma porcentagem maior dos artigos selecionados veio de países asiáticos (38,75%). Peixe foi a categoria mais amostrada, e as unidades de análise da água de cultivo, músculo e intestino foram as mais positivas. O método de isolamento por cultura é o mais difundido, respaldado por técnicas mais precisas como a PCR. Os sorovares de *Salmonella* mais prevalentes relatados foram *S. Typhimurium*, *S. Weltevreden* e *S. Newport*. A análise textual mostrou forte associação dos termos “*Salmonella*”, “peixe” e “água”, sendo que a classe hierárquica mais alta agrupou 25,4% dos segmentos de texto associados, como “aquicultura”, “alimentação” e “saúde pública”. As informações produzidas caracterizam a ocorrência de *Salmonella* spp. no setor da aquicultura, fornecendo uma visão geral dos últimos anos. Pesquisas futuras com foco em estratégias de controle e prevenção de *Salmonella* spp. na produção de peixes são necessários e devem ser incentivados.

Palavras-chave: *Salmonella*, piscicultura, segurança alimentar, saúde pública, nuvem de palavras, similitude, algoritmo de Reinert.

ABSTRACT

PORTO, Yuri Duarte. **Chapter I: *Salmonella* spp. in aquaculture: an exploratory analysis (integrative review) of microbiological diagnoses between 2000 and 2020.** 2023. 99p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Salmonellosis is characterized by a gastrointestinal infection resulting from the ingestion of water and food contaminated by bacteria of the genus *Salmonella*, of which causes enterocolitis. Although infections are acute and self-limiting, efforts to prevent this problem of interest to global public health are important. *Salmonella* spp. is distributed in different environments and animal species; therefore, meat derived from animal production is one of the main routes of human infection, increasing the importance of research focusing on microbiological quality and food safety. Aquaculture is a constantly growing sector in the world, and the monitoring of *Salmonella* spp. in fish products is important for public health due to the risks of contamination during all stages of production. The present study aimed to characterize, through descriptive statistics, data from scientific articles selected in a systematic integrative review that performed a microbiological diagnosis of *Salmonella* spp. in aquaculture. Data were obtained from research articles published in the BVS, Scielo, Science Direct, Scopus and Web of Science databases. The selected studies were published between 2000 and 2020 on samples of aquaculture animal production (fish, shrimp, bivalve mollusks, and other crustaceans) and environmental samples of aquaculture activity (farming water, soil, and sediments). After applying the exclusion criteria, 80 articles were selected. Data such as country of origin, categories of fish investigated, methods of microbiological diagnosis of *Salmonella* spp., sample units analyzed and most reported serovars were mined. A textual analysis of the word cloud and by similarity and descending hierarchical classification with the application of Reinert's algorithm was performed using R[®] and Iramuteq[®] software. The results showed that a higher percentage of the selected articles came from Asian countries (38.75%). Fish was the most sampled category, and the units of analysis of the culture water, muscle and intestine were more positive. The culture isolation method is the most widespread, supported by more accurate techniques such as PCR. The most prevalent *Salmonella* serovars reported were *S. Typhimurium*, *S. Weltevreden* and *S. Newport*. The textual analysis showed a strong association of the terms "*Salmonella*", "fish" and "water", and the highest hierarchical class grouped 25.4% of the associated text segments, such as "aquaculture", "food" and "public health". The information produced characterizes the occurrence of *Salmonella* spp. in the aquaculture sector, providing an overview of recent years. Future research focusing on strategies for the control and prevention of *Salmonella* spp. in fish production are necessary and should be encouraged.

Palavras-chave: *Salmonella*; fish farming; food safety; public health; word cloud; similarity; Reinert's algorithm.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Salmonella* spp. pertence à família Enterobacteriaceae e possui importantes características metabólicas que não apenas promovem sua sobrevivência no ambiente do trato gastrointestinal, mas também possuem mecanismos de virulência para escapar das células de defesa, reproduzir e causar distúrbios homeostáticos no hospedeiro (WHO, 2014; SÁNCHEZ-VARGAS et al., 2011). *Salmonella* spp. causa a salmonelose, infecção clássica caracterizada por enterocolite, que na maioria das vezes é aguda e autolimitada, dificultando o diagnóstico e resultando em subnotificação e comprometendo as ações de controle e prevenção de novos surtos.

A salmonelose é uma doença transmitida por alimentos (DTA) e representa um importante problema de saúde pública em vários países do mundo (PINEDO et al., 2022). Sorovares não tifóides do gênero *Salmonella* spp. são responsáveis por grande parte da incidência de surtos de origem alimentar, com uma variedade de alimentos servindo como veículos para a ocorrência de salmonelose em humanos (PINEDO et al., 2022; JACKSON et al., 2013; FERRARI et al. 2019). Tais alimentos incluem carne (bovina, frango, porco e peixe), ovos, leite, queijo, frutas frescas, sucos de frutas, vegetais e peixes (FERRARI et al., 2019; ALI et al., 2020; AMAGLIANI et al., 2012).

Salmonella spp. encontra-se amplamente distribuído no meio ambiente e em diversas espécies de animais silvestres, de produção e de estimação. Mamíferos, peixes, aves, répteis, anfíbios e plantas podem atuar como reservatórios e disseminadores de *Salmonella* spp. (DRÓZDZ et al., 2021; PILARSKI et al., 2004; MELETIADIS et al., 2022). Entretanto, a adoção de medidas corretas e estratégicas no manejo pecuário pode auxiliar na prevenção e redução dos riscos de contaminação por *Salmonella* spp., uma vez que sua disseminação pode ocorrer em diversas etapas da cadeia produtiva, incluindo todas as etapas de produção, processamento, distribuição, comercialização e manipulação/preparação (CASANOVA et al., 2016; AKINJOGUNLA et al., 2011; BASTI et al., 2006; ZHAO et al., 2003).

Salmonella spp. foi isolado de pontos na cadeia de produção de pescado (WHO, 2014; FERNANDES et al., 2018). Existe um consenso entre os pesquisadores de que *Salmonella* spp. não pertence naturalmente ao ambiente aquático, embora seja isolado de água, peixes e produtos derivados da aquicultura (FERNANDES et al., 2018; NOVOTNY et al., 2004; LI et al., 2017; dos SANTOS et al., 2019). A contaminação de peixes por *Salmonella* spp. é pouco conhecido, pois pesquisas relatam que os peixes atuam como hospedeiros da bactéria por períodos de tempo relativamente curtos sem que haja descrição de manifestação sintomática da doença (FERNANDES et al., 2018; NOVOTNY et al., 2004; LI et al., 2017; dos SANTOS et al., 2019; KODAMA et al., 1987). Assim, *Salmonella* spp. tem sido isolado não apenas das vísceras, mas também das brânquias e da pele dos peixes, contribuindo para o aumento do risco de contaminação cruzada durante o manuseio, processamento, armazenamento e comercialização devido a falhas nos cuidados higiênico-sanitários ou no uso de equipamentos, superfícies e utensílios que são higienizados inadequadamente durante a cadeia produtiva (AKINJOGUNLA et al., 2011; GAZAL et al., 2018; DIB et al., 2018; ANTUNES, 2018 et al., 2018).

É notável que a saúde dos peixes depende da qualidade da água. Desta forma, os fatores químicos, físicos e microbiológicos da água são de extrema importância. Entre as possíveis fontes de contaminação, a água parece ser um provável veículo, pois está amplamente exposta à poluição humana, agrícola e industrial (ESPOSTO et al., 2007; SAIGAM et al., 2020; KLASE et al., 2019). Além disso, a própria água utilizada para aquicultura pode ser uma fonte de contaminação. Pesquisas foram realizadas para avaliar a presença de *Salmonella* spp. nas águas superficiais e na água do mar e a subsequente

contaminação dos produtos da pesca e da aquicultura (CASANOVA et al., 2016; MCCOY et al., 2011). A água doce é frequentemente contaminada por *Salmonella* spp. através de efluentes e, conseqüentemente, águas costeiras; mariscos e áreas de piscicultura estão especialmente sujeitas a este patógeno (MCCOY et al., 2011; MARTINEZ et al., 2009; AMPOFO et al., 2003). Mesmo que a presença de *Salmonella* spp. na produção aquícola seja relatada com baixa prevalência, é um patógeno de interesse em saúde pública, devendo ser observadas, testadas e aprimoradas as técnicas de detecção na prevalência.

Métodos de identificação rápida e precisa de patógenos na cadeia produtiva são importantes para garantir a qualidade dos alimentos e tomar medidas de controle por meio da rastreabilidade para minimizar perdas econômicas e danos à saúde pública. Os riscos à saúde associados ao consumo de alimentos de aquicultura de baixa qualidade tornam a avaliação e controle de tópicos de segurança alimentar uma preocupação global (WHO, 2014; AMAGLIANI et al., 2012; AO et al., 2015). Os controles microbiológicos devem ser abordados em ambientes de aquicultura designados para práticas adequadas de gerenciamento de produção e para programas de educação do consumidor.

Nesse contexto, decidiu-se realizar uma revisão integrativa das investigações acerca de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020, com a influência do modelo de revisão sistemática já observada em outras revisões, pois sistematiza os procedimentos de pesquisa, tornando o método explícito e um modelo mais auditável e reprodutível para facilitar a consolidação do conhecimento (SUTTON et al., 2019; BOOTH et al., 2016). Os artigos selecionados tiveram como objetivo caracterizar e produzir informações por meio de técnicas de estatística descritiva e mineração de texto (MISHRA et al., 2019; NAHM; MOONEY, 2000) – refere-se a dados extraídos relativos aos anos de publicação, país de origem, área de estudo, categorias das espécies de aquicultura mais amostradas, origem da amostragem, métodos de diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp., unidades de análise mais avaliadas e sorovares de *Salmonella* mais identificados contribuindo para o controle e prevenção de *Salmonella* spp. na produção de peixes. A análise textual dos resumos foi realizada com agrupamento em nuvem de palavras de similitude e classificação hierárquica descendente com a aplicação do algoritmo de Reinert (REINERT, 1990; SOUSA, 2021); isso foi feito para permitir identificar, organizar e classificar os diferentes temas mais predominantes abordados nos artigos científicos para uma melhor interpretação dos temas abordados nas investigações sobre o diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. na aquicultura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Fontes de dados e estratégia de pesquisa

As buscas realizadas nas bases de dados bibliográficas eletrônicas BVS, Scielo, Science Direct, Scopus e Web of Science foram restritas aos termos-chave: (fish farming) AND (*Salmonella*) OR (salmonellosis); o período entre 2000 e 2020; inglês e português; formatos de artigos originais. Um total de 3.373 artigos foram identificados (Figura 1).

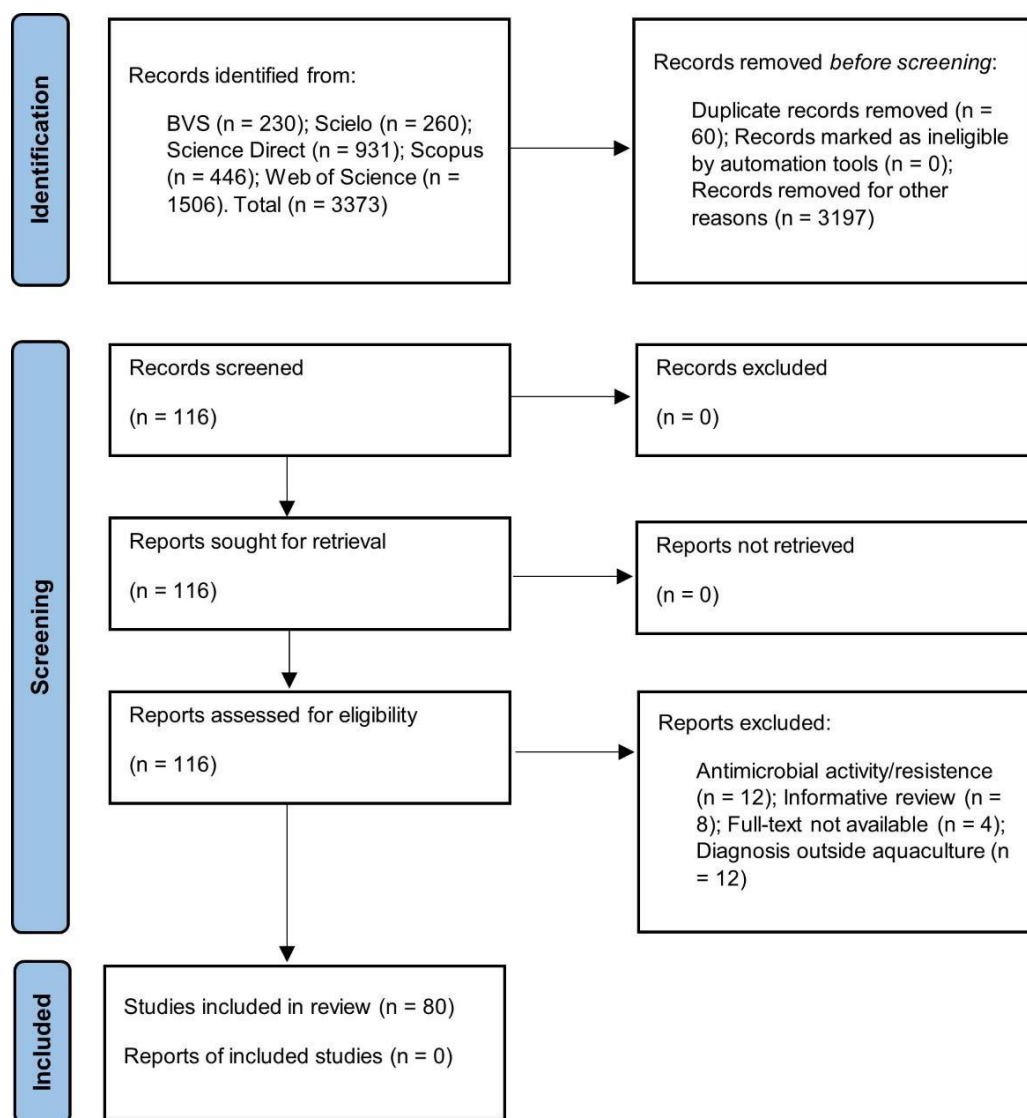


Figura 1. Estratégia de seleção dos artigos elegíveis. **Fonte:** Porto et al. (2023).

2.2. Desenho da pesquisa

A revisão integrativa foi baseada nas etapas estabelecidas pelo protocolo de Revisões Sistemáticas e Meta-Análises (PRISMA) (PAGE et al., 2020). Todas as etapas e estratégias de seleção dos artigos estão detalhadas na Figura 1.

2.3. Processo de seleção

Dois revisores (YDP e AOA) realizaram a seleção dos artigos possivelmente relevantes por meio da leitura crítica dos títulos e resumos. Assim, 3.197 artigos foram excluídos, pois foram considerados sem relação direta com o tema estudado. Zotero® Reference Manager versão 5.0.96.2. identificou 60 artigos duplicados que foram

excluídos. Um total de 116 artigos foram recuperados e selecionados. Todas as discordâncias foram resolvidas por consenso.

2.4. Critérios de eleição

Estudos primários testados para *Salmonella* spp. com relatos de contaminação positiva ou negativa de amostras de espécies produzidas na aquicultura, amostras ambientais (água de cultivo, solo e sedimentos) da fase de criação ou como produto e derivados para venda em mercados. Portanto, na etapa de triagem, os estudos focaram apenas na resistência ou atividade de *Salmonella* spp. contra antimicrobianos (12), revisões informativas (8), diagnóstico de *Salmonella* spp. em água e outras amostras ambientais não relacionadas à aquicultura (12) e estudos sem acesso ao documento completo (4). Assim, 80 produções foram escolhidas para esta revisão.

2.5. Resumo e análise de dados

Dois revisores (YDP e WST) realizaram uma análise crítica do conteúdo dos artigos que foram escolhidos para extração de dados. Dois revisores (WST e AOA) verificaram a consistência dos dados.

As informações extraídas foram ano de publicação, autores, título da pesquisa, nome do periódico publicado e país. Informações como origem da amostra, espécie estudada na investigação, taxa(s) amostral(is) testada(s), tamanho da amostra testada, ensaio(s) diagnóstico(s) realizado(s), número de amostras positivas e sorotipos também foram extraídas. Algumas informações foram categorizadas para melhor interpretação.

Toda a análise de dados foi realizada usando o pacote estatístico R[®] versão 4.0.2 (22 de junho de 2020) (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria) (R CORE TEAM, 2020). As bibliotecas utilizadas foram “tm” e “SnowballC” para text mining e text stemming (FEINERER; HORNIK, 2020; BOUCHET-VALAT, 2020), o gerador “word cloud” (FELLOWS, 2018) e o gerador de mapa-múndi para analisar a frequência de produções por país (TENNEKES, 2018). O programa Iramuteq[®] (Interface de R pour les Analysis Multidimensionnelles de Textes et de Questionnaires) (LERASS—Laboratoire d’Études et de Recherches Appliquées en Sciences Sociales, Toulouse, França), desenvolvido em R[®], foi utilizado para a análise de similitude e classificação hierárquica descendente (DHC) com a aplicação do algoritmo de Reinert do conteúdo dos resumos (REINERT, 1990; SOUSA, 2021).

2.6. Análise textual

A utilização de técnicas clássicas de análise exploratória de dados (MISHRA et al., 2019) e técnicas analíticas de mineração de texto (NAHM; MOONEY, 2020) para análise de dados não estruturados identificou padrões que caracterizaram a produção sob a ótica da presença de *Salmonella* spp. na aquicultura.

Foi gerado um banco de dados contendo os resumos dos artigos selecionados na revisão integrativa, gerando um corpus com 17.142 palavras, no qual foi produzida uma nuvem de palavras composta pelas palavras mais frequentes, um gráfico de similitude e um gráfico de classificação hierárquica descendente (CHD). A partir da análise de similitude foi possível identificar a intensidade de ocorrência das palavras e os indícios de ligação entre elas. O gráfico de similitude apresenta uma estrutura em árvore com ramificações; assim, o conteúdo dos resumos selecionados pode ser caracterizado pela identificação das palavras mais utilizadas e pela proximidade entre elas. Para gerar a imagem gráfica visualmente mais legível, a limpeza foi realizada recortando algumas palavras de menor ou nenhuma importância com o contexto e selecionando os termos cujas frequências eram iguais ou superiores a 20. Por fim, aplicou-se a técnica de classificação hierárquica descendente (CHD) para gerar um gráfico contendo o corpus textual dos resumos divididos por agrupamentos de segmentos de texto de acordo com a

similitude dos termos utilizados. O objetivo de toda a análise textual dos resumos foi possibilitar a identificação dos distintos temas mais predominantes abordados nos artigos científicos, organizá-los e, assim, classificá-los para uma melhor interpretação dos temas abordados nas investigações sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura.

3 RESULTADOS

3.1. Número de artigos, temas de estudo, análise textual e países

A presente revisão identificou 3.373 artigos científicos por meio da estratégia de busca adotada, onde foram escolhidos 80 artigos de pesquisa para amostras investigadas quanto à presença ou ausência de *Salmonella* spp. na cadeia produtiva da aquicultura (Figura 1).

Os artigos foram publicados em 47 periódicos diferentes para abordar e divulgar os resultados obtidos com forte caráter multidisciplinar sobre *Salmonella* spp. como um patógeno contaminante na aquicultura. Uma tabela abrangente resumindo todas as informações essenciais sobre a origem dos estudos, amostras e técnicas de diagnóstico usadas em cada um dos 80 estudos incluídos está disponível como Material Suplementar (Tabela Anexo A).

Foi possível categorizar sete principais áreas de estudo que os autores utilizaram para divulgar suas pesquisas, enfatizando a importância da vigilância de *Salmonella* spp. em alimentos produzidos pela aquicultura, e o interesse por um problema de saúde microbiológica que atinge diferentes áreas do conhecimento. Ou seja, é considerado um tema essencialmente multidisciplinar que pode abranger áreas relacionadas à ciência de alimentos (38 artigos), produção animal (12 artigos), meio ambiente (11 artigos), microbiologia (6 artigos), veterinária (5 artigos), saúde (2 artigos) e áreas múltiplas (6 artigos).

Seguindo a ideia de abordagem multidisciplinar, os temas dos artigos envolvendo *Salmonella* spp. apresentaram propostas diversas em objetivos e estudos. A partir dos resumos dos artigos selecionados pela revisão integrativa, foi possível gerar a nuvem de palavras (Figura 2) e o gráfico de similitude (Figura 3) para análise textual.

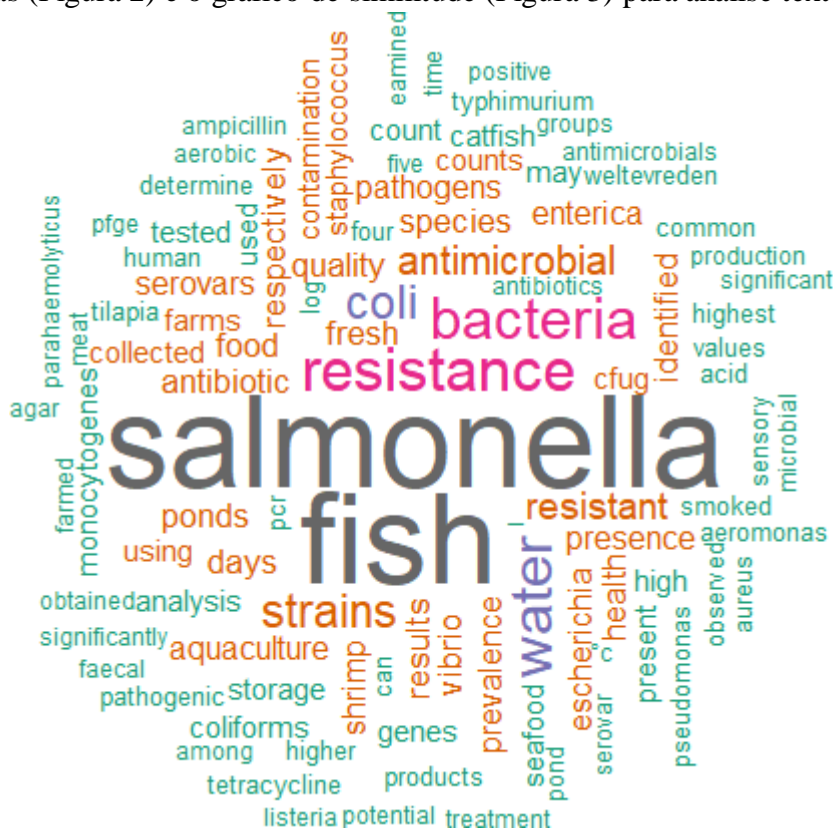


Figura 2. Nuvem de palavras formada a partir dos resumos dos artigos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. em aquicultura entre 2000 e 2020. N total de palavras = 17142. **Fonte:** Porto et al. (2023).

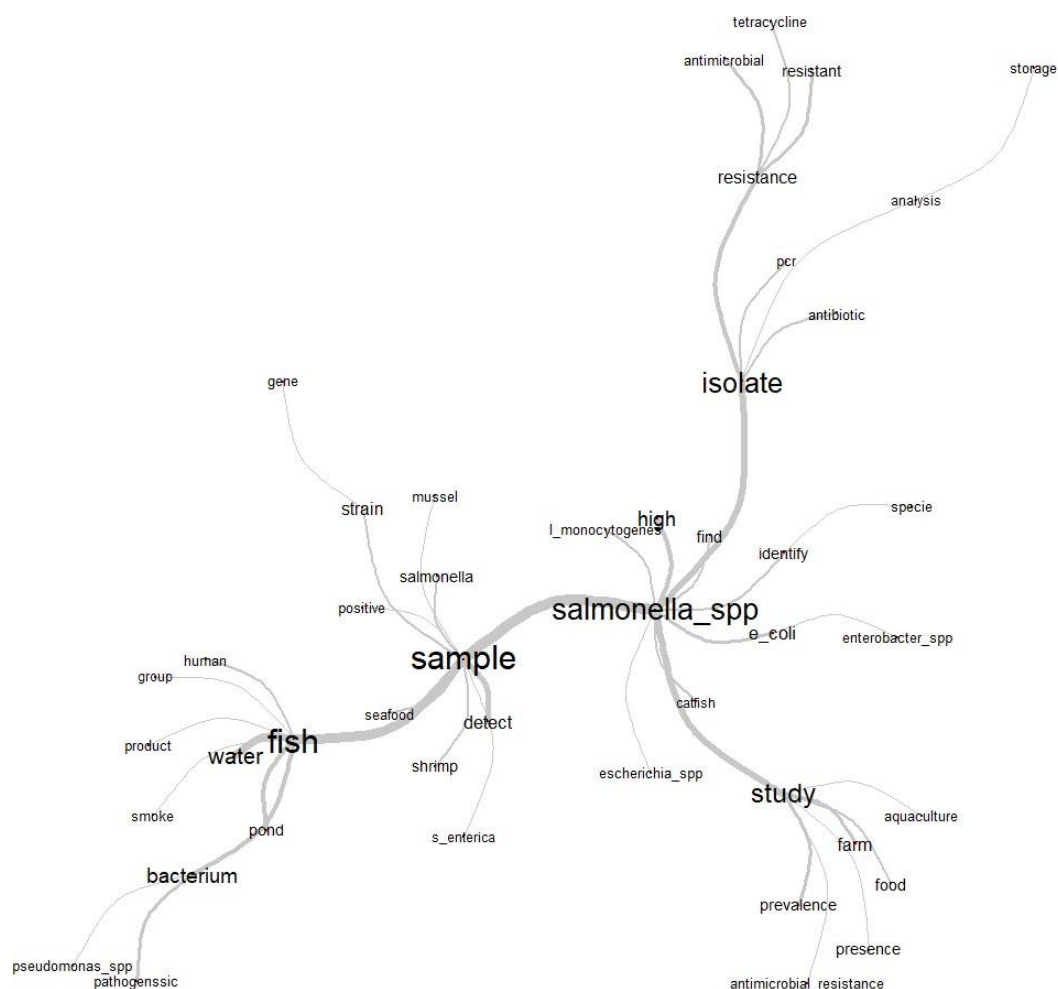


Figura 3. Gráfico de similitude com a relação das palavras mais utilizadas nos resumos dos artigos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020. **Fonte:** Porto et al. (2023).

A nuvem de palavras (Figura 2) foi formada pelas palavras mais frequentes contidas nos resumos. Quanto maior a frequência da palavra, maior o tamanho da fonte da palavra representada na nuvem. Nesta análise, as cinco palavras que mais se destacaram em ordem decrescente de frequência (n_i) foram “*Salmonella*” (212), “fish” (207), “resistance” (85), “bacteria” (80) e “water” (79), enquanto as demais palavras contidas na nuvem tiveram frequência (n_i) inferior a 64. O maior uso dessas palavras de maior destaque indica que os artigos selecionados enfatizaram *Salmonella* spp. (“*Salmonella*”) como um importante patógeno mantido sob vigilância e investigação microbiológica na cadeia produtiva da aquicultura. Nesse sentido, a palavra “bacteria” geralmente pode apoiar o interesse na segurança microbiológica e alimentos seguros para produtos da aquicultura. O “fish” representou a categoria de peixes mais acometida ou de maior interesse para vigilância microbiológica contra *Salmonella* spp. isso representaria riscos de causar um DTA. As palavras “water” e “resistance” podem representar, respectivamente, o veículo que mais contribui para a disseminação e contaminação silenciosa do patógeno na fase de reprodução e a preocupação com a caracterização dos isolados quanto ao perfil de suscetibilidade ou resistência aos antimicrobianos.

Para análise de similitude, a composição dos resumos dos artigos gerou um gráfico (Figura 3) com as palavras centrais mais frequentes (n_i) “fish” (166), “sample” (151), “isolate” (137), “*Salmonella*” (126) e “study” (95). Os ramos fazem ligações com outras palavras que muitas vezes foram mencionadas simultaneamente nos resumos e, portanto, observa-se sua relação com as respectivas palavras centrais. Dessa forma, foi possível contextualizar e entender como o tema *Salmonella* spp. na aquicultura mostrou-se estruturada nos artigos selecionados pela revisão integrativa.

A coocorrência das palavras “fish”, “water”, “pond” e “bacteria” aponta para peixe de água doce e água, respectivamente, como a categoria de peixe e o meio que mais favorece a dispersão microbiológica; estas foram as palavras mais usadas e analisadas para o diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. O uso da palavra “sample” foi frequentemente seguido de palavras que denotam os relatos dos autores sobre a investigação, detecção e identificação de cepas (“strain”) ou espécies de *Salmonella* (“*S. enterica*”) em diversas amostras de espécies aquícolas, caracterizada pelos termos “seafood”, “shrimp” e “mussel”.

Ao lado da palavra “*Salmonella* spp.” são “*Escherichia coli*” e “*Enterobacter* spp.”, representando o interesse e relatos dos autores na investigação e diagnóstico microbiológico de outros importantes patógenos bacterianos pertencentes à família Enterobacteriaceae em espécies de aquicultura. Associada a este mesmo contexto está a palavra “*Listeria monocytogenes*”, por se tratar de outro patógeno bacteriano de origem alimentar que causa sérios problemas de importância para a saúde pública.

As ramificações menores associadas ao termo “study” caracterizam de forma mais detalhada os rumos tomados pelos autores em relação ao objeto de investigação (*Salmonella*). Essa afirmação pode ficar mais evidente quando associada ao termo “antimicrobial_resistance”, pois indica que pesquisas têm sido realizadas a respeito do controle de um problema crônico de contaminação. Dessa forma, o termo “isolate” está relacionado a técnicas biomoleculares baseadas na reação em cadeia da polimerase (“PCR”) utilizadas em diagnósticos, bem como a isolados bacterianos com perfil de resistência antimicrobiana ou àqueles submetidos a análises de suscetibilidade ou resistência a grupos de antibióticos. “Tetracyclin” foi o mais relatado pelos autores.

Para auxiliar na identificação dos temas abordados nos artigos selecionados e, assim, verificar as linhas de estudos privilegiadas, foi gerado um gráfico por meio da técnica de classificação hierárquica descendente (CHD). Assim, foram obtidas cinco classes ou linhas de estudo diferentes, agrupando os segmentos de texto com maior semelhança quanto às palavras utilizadas. A Figura 4 e a Figura 5 apresentam os resultados CHD dos resumos incluídos nesta revisão. A classe mais representativa continha 25,4% dos segmentos de texto. A classe menos representativa foi de apenas 13,9%.

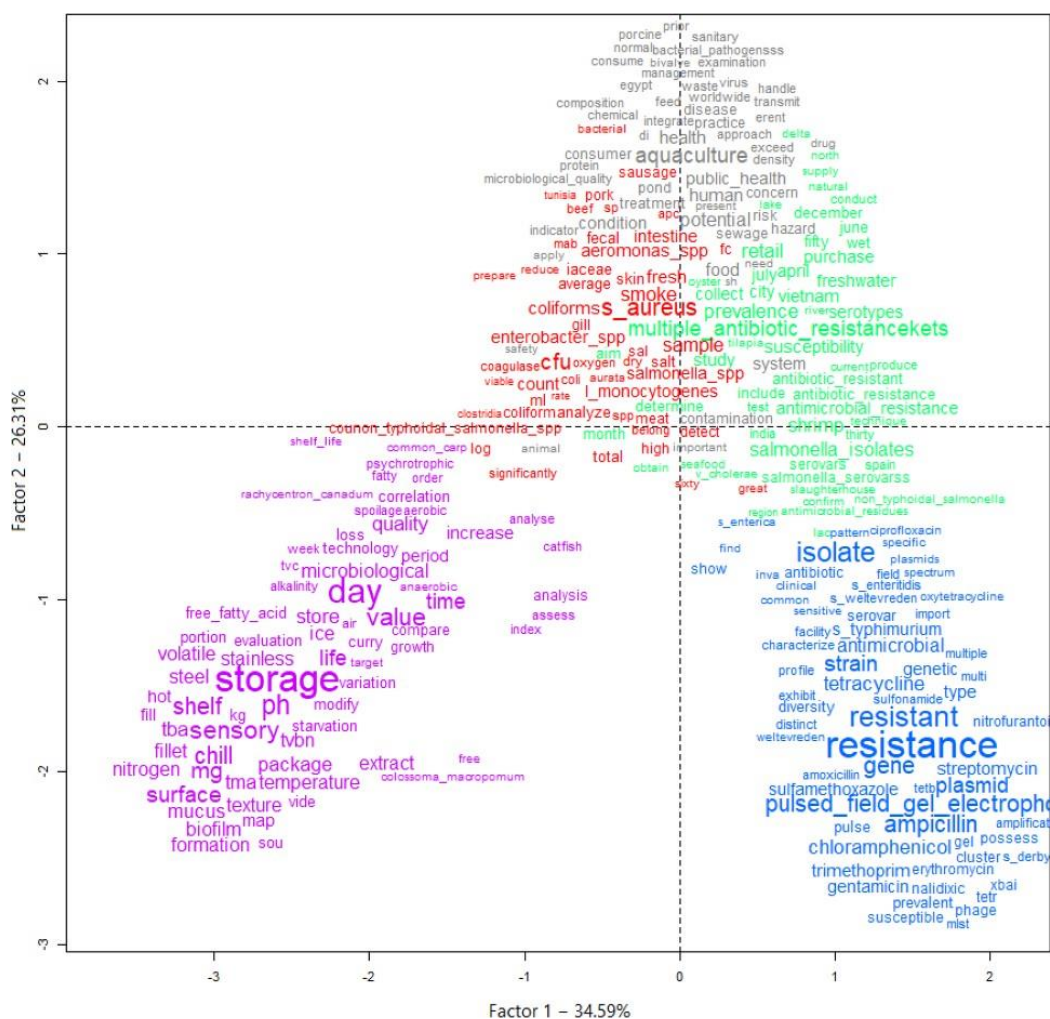


Figura 4. Gráfico gerado pela técnica de classificação hierárquica descendente (CHD) contendo o corpus textual dos resumos dos artigos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020, divididos por agrupamentos de segmentos de texto de acordo com a similitude dos termos. Legenda: Classe 1 = Microorganismos (vermelho); Classe 2 = One health (cinza); Classe 3 = Profiles (verde); Classe 4 = Antimicrobials (azul); Classe 5 = Food safety (roxo). **Fonte:** Porto et al. 2023.

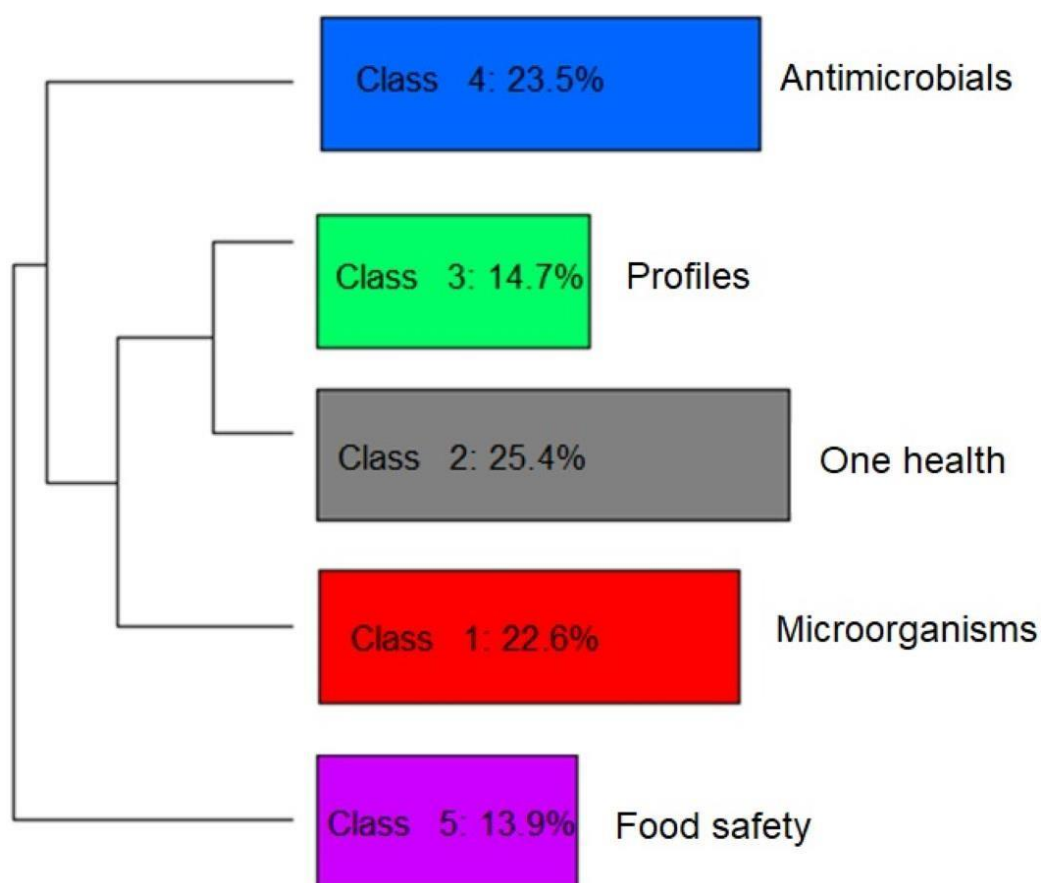


Figura 5. Representação hierárquica e classificação dos cinco grupos formados pela divisão do corpus textual dos resumos dos artigos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020, de acordo com a similitude de termos. **Fonte:** Porto et al. 2023.

Em perspectiva, a Figura 4 e a Figura 5 fornecem uma visualização dos termos de cada classe realizada no grafo espacial bidimensional para que seja possível avaliar a composição de cada classe com base no posicionamento e intensidade e no tamanho das palavras. Observe que enquanto as classes 4 e 5 estão mais distantes, cada uma em um quadrante diferente do plano, as demais apresentam algum nível de sobreposição (ver Figura 4), o que indica que compartilham conteúdos comuns. Com base na frequência de ocorrência dos termos em cada classe, foi possível atribuir um nome que sintetiza o significado geral de cada agrupamento de textos (Figura 5).

Foi possível verificar que a classe 5 foi separada das demais, o que implica em uma maior diferenciação de seu conteúdo em relação às demais classes (Figura 5). Outra divisão ocorreu com a separação da classe 4, em seguida, uma nova divisão nas três classes restantes ocorreu com base na grande semelhança entre si.

Na classe 5, destacaram-se palavras como “storage”, “sensory”, “shelf” e “quality” (Figura 4). Essa classe foi denominada “food safety”, contendo termos que mencionam o período que o alimento tem garantia de estar livre de patógenos ou a ação de microrganismos deteriorantes que modificariam a qualidade, tornando-o impróprio para o consumo. Mais distante e diferente da classe 5 está a classe 4, que foi denominada “antimicrobials”, onde os termos mais frequentes foram “resistance”, “resistant”, “ampicillin” junto com vários outros termos que são nomes de outros antimicrobianos. Essa maior diferenciação ocorreu devido aos estudos com foco em testar como os patógenos isolados interagem com a ação de diferentes agentes antimicrobianos.

A classe 1 (“microorganisms”), a classe 2 (“one health”) e a classe 3 (“profiles”) apresentam semelhanças marcantes entre si. O termo “aquaculture” (classe 2) é encontrado juntamente com os termos “food” e “public health”, indicando a importância desta atividade produtiva para a alimentação humana de forma sustentável por meio da prática do cultivo, aliada a políticas de saúde coletiva. Os termos referentes a outros perigos microbiológicos a serem evitados em alimentos provenientes da aquicultura encontram-se na classe 1, por exemplo, “*Staphylococcus aureus*”, “*Aeromonas spp.*” e “*Salmonella spp.*”, indicando outros patógenos potencialmente investigados e isolados em pesquisas em diferentes tipos de amostras. Por outro lado, a classe 3 agrupou termos como “multiple antibiotic resistance”, “prevalence” e “susceptibility”, indicando que é representativa de termos que se referem à ocorrência e perfil microbiológico dos isolados investigados.

Os produtores aquícolas de 37 países localizados em todos os continentes, com exceção da Oceania, deram origem às produções científicas eleitas pela revisão integrativa (Figura 6). Portanto, foi possível observar vigilância contínua de *Salmonella* spp. no setor da aquicultura através das publicações analisadas ao longo dos últimos anos.

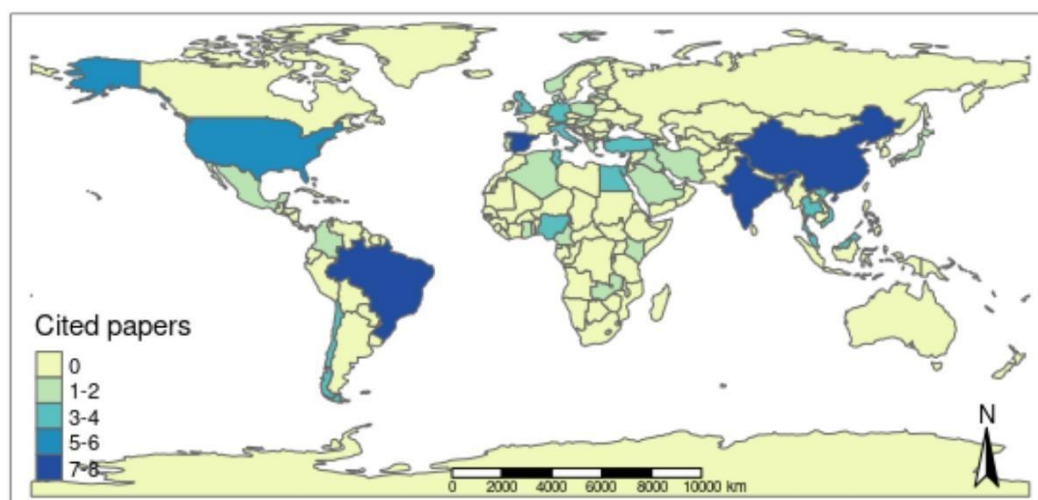


Figura 6. Frequência de artigos científicos selecionados na revisão integrativa sobre diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020 por países de diferentes continentes. **Fonte:** Porto et al. 2023.

Dentre todas as nações, o Brasil foi o país com maior número de artigos selecionados pela revisão integrativa, representando 10% dos artigos selecionados (8 artigos). Os países do continente asiático foram responsáveis por 38,75% das publicações (31 artigos), sendo a China (LI et al., 2017; KLASE et al., 2019; BROUGHTON et al., 2009; LI et al., 2019; PAWAR et al., 2020; YANG et al., 2015; ZHANG et al., 2015), a Índia (SURENDRARAJ et al., 2009; KUMAR et al., 2009; KAKATKAR et al., 2011; PATEL et al., 2020; SAHARAN et al., 2020; SHABARINATH et al., 2007; SHAKILA et al., 2012), Malásia (BANERJEE et al., 2012; BUDIATI et al., 2013; SING, et al., 2016), Vietnã (NGUYEN et al., 2016; NOOR UDIN et al., 2015; YEN et al., 2020) e a Tailândia (DHOWLAGHAR et al., 2018; UPADHYAY et al., 2010) tiveram o maior número de publicações eleitas. Os países do continente europeu contribuíram com 25% (20 artigos), o segundo maior percentual de publicações selecionadas, com Espanha (MARTINEZ et al., 2009; ÁLVAREZ et al., 2008; DOMÉNECH et al., 2015; HERNÁNDEZ et al., 2009; MARTINEZ-URTAZA et al., 2005; COSTA et al., 2020), Itália (CARUSO et al., 2004; RUBINI et al., 2018; SMALDONE et al., 2017) e Alemanha

(ATASSANOVA et al., 2008; BRENNER et al., 2009) tendo maior destaque. No continente americano, com percentual de 21,25% (17 artigos), o maior número de publicações selecionadas está no Brasil (PILARSKI et al., 2004; dos SANTOS et al., 2019; ESPOSTO et al., 2007; ARAÚJO et al., 2017; CALIXTO et al., 2016; PALHARES et al., 2014; PASTRO et al., 2019; RIBEIRO et al., 2010), seguidos pelos EUA (ZHAO et al., 2003); AKIYAMA et al., 2011; PAL et al., 2009; PONCE et al., 2008; WANG et al., 2011) e Chile (AUBOURG et al., 2007; DONDERO et al., 2004), enquanto no continente africano com 15% (12 artigos), Egito (ABOU-ELELA et al., 2009; ELSAIDY et al., 2015; MAHMOUD et al., 2016), Nigéria (AKINJOGUNLA et al., 2011; EFUNTOYE et al., 2012), Tunísia (ABBASSI-GHOZZI et al., 2012; BOULARES et al., 2011), Quênia (WANJA et al., 2020; MIRUKA et al., 2013) e Turquia (BINGOL et al., 2008; YILDIRIM et al., 2018) teve o maior número de obras selecionadas. As nações que tiveram 1 publicação eleita foram Argélia (DIB et al., 2018), Bangladesh (MANNAN et al., 2020), Bélgica (HUYS et al., 2007), Camarões (KAKTCHAM et al., 2017), Colômbia (AYAZO-GENES et al., 2019), Dinamarca (KROG et al., 2014), Inglaterra (SAGOO et al., 2007), Gana (AMPOFO et al., 2003), Grécia (ALEXOPOULOS et al., 2011), Hungria (HUDECOVA et al., 2010), Irã (BASTI et al., 2006), Iraque (ALAMEER et al., 2020), Japão (FURUSHITA et al., 2003), Letônia (TERENTJEVA et al., 2015), Líbano (HARAKEH et al., 2006), México (VALENZUELA-ARMENTA et al., 2018), Noruega (NESSE et al., 2005), Polónia (PYZ-LUKASIK et al., 2018), Portugal (ANTUNES et al., 2018), Arábia Saudita (AL-HARBI et al., 2006) e Zâmbia (NTENGWE et al., 2008).

Foi verificada a frequência de publicações científicas entre 2000 e 2020 (Figura 7). Observou-se aumento no número de publicações até 2009 e a partir de 2016; no entanto, não foram observadas tendências gerais de aumento ou diminuição da produção durante todo o período.

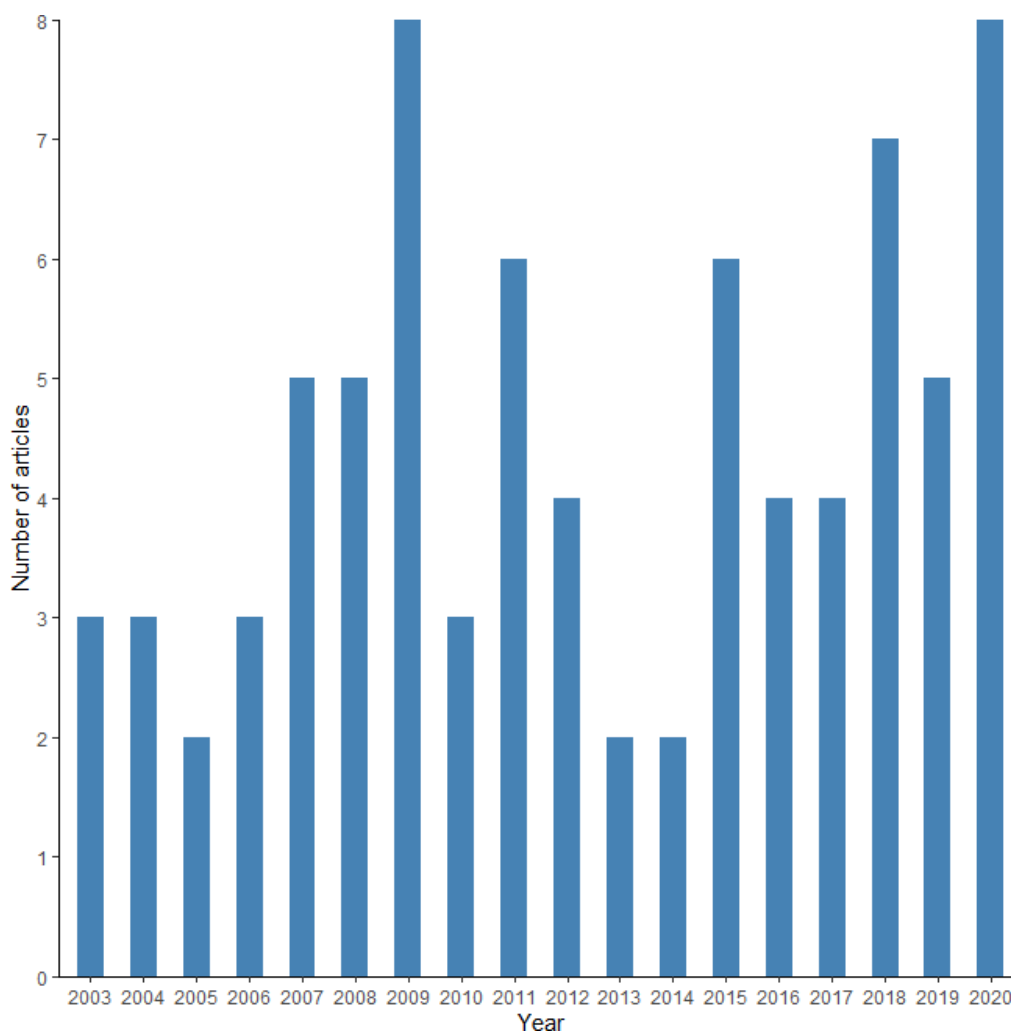


Figura 7. Frequência de artigos científicos sobre diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020 por ano de publicação. **Fonte:** Porto et al. 2023.

Artigos publicados por um período de tempo mais longo dentro do período de cobertura adotado na presente revisão sistemática integrativa foram publicados por Gana (AMPOFO et al., 2003), Japão (FURUSHITA et al., 2003) e EUA (ZHAO et al., 2003) em 2003, enquanto as produções mais recentes foram publicadas pela Índia (PATEL et al., 2020; SAHARAN et al., 2020), Bangladesh (MANNAN et al., 2020), China (PAWAR et al., 2020), Iraque (ALAMEER et al., 2020), Espanha (COSTA et al., 2020) e Vietnã (YEN et al., 2020). Em 2020 e 2009 foram os anos com maior número de publicações (8 artigos), seguido de 2018 (7 artigos), 2015 e 2011 (6 artigos), e 2019, 2008 e 2007 (5 artigos). Não houve produção científica selecionada para esta revisão no período de 2000 a 2002.

3.2. Amostragem e espécies estudadas

Diferentes frequências foram observadas quanto à origem, habitat, espécies de peixes e amostras ambientais coletadas como unidades de análise nos artigos. Em geral, essas variações ocorreram devido aos diferentes objetivos realizados nas pesquisas com *Salmonella* spp. sobre investigação microbiológica e segurança desses alimentos.

A maioria dos artigos coletou amostras de aquicultura (54 artigos) desenvolvidas em água doce (44 artigos), indicando maior interesse em pesquisas científicas na vigilância de *Salmonella* spp. sobre este setor da aquicultura.

No total, 192 espécies animais foram investigadas nos estudos aqui incluídos, incluindo 136 representantes de peixes (76 espécies identificadas), 20 representantes de camarões (8 espécies identificadas) e 36 representantes de moluscos bivalves, outros crustáceos e frutos do mar (18 espécies identificadas). Portanto, o peixe foi a categoria de espécie aquícola mais utilizada para investigações de *Salmonella* spp. nos artigos selecionados, aparecendo em pelo menos 58 artigos, 31 dos quais investigaram apenas amostras de peixes. O camarão esteve presente em 12 artigos, enquanto outras espécies de crustáceos e moluscos bivalves estiveram presentes em 16 artigos. A Figura 8 demonstra algumas das espécies mais relatadas nos artigos.

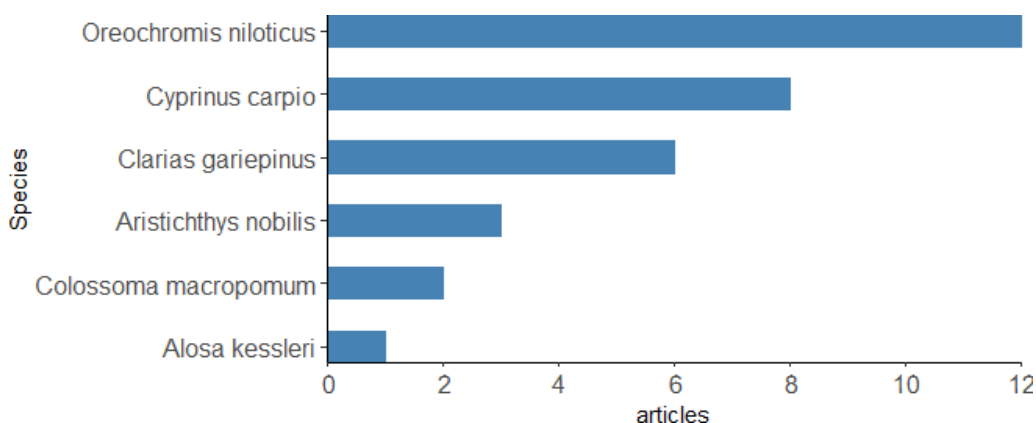


Figura 8. Algumas espécies da aquicultura mais amostradas pelos artigos selecionados na revisão integrativa sobre os diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura entre 2000 e 2020. **Fonte:** Porto et al. 2023.

Entre as espécies de peixes estão *Oreochromis niloticus* (ESPOSTO et al., 2007), *Cyprinus carpio* (ALAMEER et al., 2020), *Salmo salar* (DONDERO et al., 2007; NESSE et al., 2005), *Sparus aurata* (ÁLVAREZ et al., 2008), *Catla catla* (PAWAR et al., 2020), *Colossoma macropomum* (ARAÚJO et al., 2017), *Rachycentron canadum* (SHAKILA et al., 2012), *Dicentrarchus labrax* (COSTA et al., 2020), *Trachurus trachurus* (SMALDONE et al., 2017) e *Oncorhynchus mykiss* (SMALDONE et al., 2017). As espécies de camarão foram *Litopenaeus vannamei* (NOOR UDDIN et al., 2015), *Paeneus monodon* e *P. vannamei* (UPADHYAY et al., 2010). Outras espécies de crustáceos e moluscos bivalves relatados foram *Mytilus edulis* (BRENNER et al., 2009; KROG et al., 2014), *Midye Dolma* (YILDIRIM et al., 2018), *M. galloprovincialis*, *Venerupis pullastra*, *Ruditapes philippinarum*, *Dosinia exoleta* e *Cerastoderma* sp. (MARTINEZ et al., 2009). Menos artigos científicos têm focado em *Salmonella* spp. apenas em amostras ambientais de água (KLASE et al., 2019; PALHARES et al., 2014; ABOU-ELELA et al., 2009; NTENGWE et al., 2008) e sedimentos (AL-HARBI et al., 2006). A descrição das espécies animal investigada nos artigos científicos selecionados pode ser encontrada como Material Suplementar (Tabela Anexo A).

3.3. Metodologias de pesquisa e alíquotas analisadas

Todos os estudos utilizaram metodologias de cultivo microbiológico para investigação e isolamento de *Salmonella* spp., dos quais 21 utilizaram a técnica de PCR e 1 utilizou a técnica de qPCR (KLASE et al., 2019) concomitantemente com o cultivo.

Em geral, nas técnicas de diagnóstico aplicadas, foram realizados testes para determinar as características da colônia, morfologia dos isolados, reação de coloração de Gram, teste de indol, vermelho de metila e testes de Voges-Proskauer, uso de citrato, teste de oxidase, motilidade celular, catalase, hidrogênio produção de sulfeto, utilização de açúcar, redução de nitrato, hidrólise de gelatina, hidrólise de amido e leitura de testes.

Alguns dos estudos (17) relataram a presença de *Salmonella* spp. de acordo com o método padrão ISO 6579 (pré-enriquecimento em água peptonada tamponada, incubação a 41,5 °C por 24 h em BOD, enriquecimento em Rappaport-Vassiliadis (RVS) e com tetrationato Muller-Kauffmann Novobiocin (MKTTn), incubado a 42 °C e 37 °C por 24 h em BOD, respectivamente, seguido de isolamento para colônias vermelhas típicas com centro preto e translúcido com halo vermelho em ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) incubadas a 37 °C por 24 h e posteriormente submetidas a confirmações bioquímicas), enquanto 13 estudos relataram o método recomendado pelo Manual Analítico Bacteriológico do FDA.

Outras metodologias recomendadas por órgãos importantes, como a APHA (American Public Health Association) (BASTI et al., 2006; PASTRO et al., 2019; MAHMOUD et al., 2016) e Association of Official Analyst's Chemists (AOAC) (PAWAR et al., 2020; CALIXTO et al., 2016; HARAKEH et al., 2006), também foram utilizadas por pesquisadores em pelo menos seis estudos.

Em relação às técnicas de PCR utilizadas em vinte e um estudos, os principais genes-alvo foram o gene *invA* (ANTUNES et al., 2018; MARTINEZ et al., 2009; PATEL et al., 2020; SAHARAN et al., 2020; SHABARINATH et al., 2007; SING et al., 2016; UPADHYAY et al., 2010; PASTRO et al., 2019; ABBASSI-GHOZZI et al., 2012) e o gene *16S rRNA* (KLASE et al., 2019; COSTA et al., 2020; BOULARES et al., 2011; HUYS et al., 2007; KAKTCHAM et al., 2017; FURUSHITA et al., 2003). Outros alvos, como o gene *rfb* (HARAKEH et al., 2006), *hns* e *invE* (SHABARINATH et al., 2007), e o *fliB-fliA* região intergênica (NGUYEN et al., 2016), também foram utilizadas.

O número de amostras analisadas foi bastante heterogêneo. A publicação com menor número de amostras analisadas foi 2 porções de curry de peixe (SHAKILA et al., 2012), enquanto o estudo com maior número foi de 10.757 amostras de água e moluscos bivalves vivos (RUBINI et al., 2018).

Foi possível verificar que os artigos utilizaram de uma a sete unidades amostrais para análise microbiológica de *Salmonella* spp. (Figura 9), apenas dois artigos estão acima disso (ZHAO et al., 2003; KUMAR et al., 2009). Para melhorar a apresentação na Figura 9, as unidades amostrais foram categorizadas em “ambiente” quando os artigos realizaram análises microbiológicas para *Salmonella* spp. em amostras de água, gelo e sedimentos (PILARSKI et al., 2004; LI et al., 2017; KLASE et al., 2019; AMPOFO et al., 2003; COSTA et al., 2020; MAHMOUD et al., 2016), “corpo” para análise de partes do corpo como concha, cabeça, camarão, carapaça, brânquias, pele, muco e swabs superficiais (LI et al., 2019; SING et al., 2016; YEN et al., 2020), “vísceras” para análise de fígado, rins, baço, intestino, hepatopâncreas, tecido gastrointestinal (NGUYEN et al., 2016; MANNAN et al., 2020; FURUSHITA et al., 2003; NESSE et al., 2005), “tecido” para análise de músculo, filé (fresco, congelado, salgados, defumados e embalados a vácuo), carne, massa de carne, carcaça, sangue e cérebro (ATANASSOVA et al., 2008; ARAÚJO et al., 2017; CALIXTO et al., 2016; DONDERO et al., 2004), “biofoco” (AYAZO-GENES et al., 2019) e “fezes” (dos SANTOS et al., 2019; SAHARAN et al., 2020). A descrição das taxas amostrais analisadas nos artigos científicos selecionados pode ser encontrada como Material Suplementar (Tabela Anexo A).

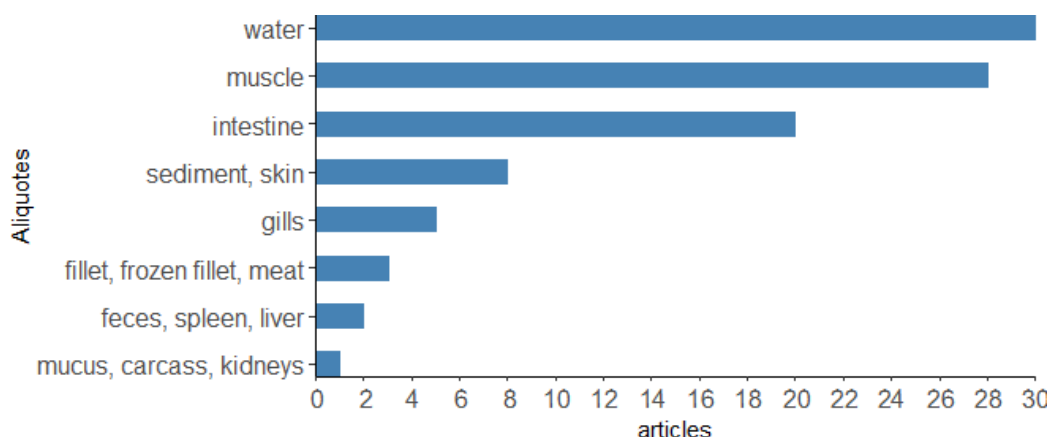


Figura 9. Aliquotas de amostras mais analisadas nos artigos científicos selecionados pela revisão integrativa sobre diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. em aquicultura entre 2000 e 2020. **Fonte:** Porto et al. 2023.

3.4. *Salmonella* spp. positivos

Deteção de *Salmonella* spp. foi positivo em 56 (70%) artigos, enquanto os restantes 24 (30%) não foram detectados. Dentre as amostras positivas para a presença de *Salmonella* spp., os menores percentuais de contaminação detectados foram de 0,93% e 1,43%, representando positividade para apenas uma amostra (BASTI et al., 2006; ALEXOPOULOS et al., 2011). O maior número de positivos detectados foi de 217 isolados (29,7%) (ZHAO et al., 2003). A maioria dos resultados “não detectáveis” está em investigações que utilizam apenas uma unidade amostral (14 artigos).

O número de sorotipos de *Salmonella* identificados em artigos científicos também foi heterogêneo (Figura 10), mas alguns dos produtos (21 artigos) relataram isolamento até o nível de gênero. Apenas um sorotipo de *Salmonella* foi identificado e relatado em alguns artigos científicos, como *S. Dublin* (BASTI et al., 2006), *S. Enteritidis* (WANJA et al., 2020), *S. Saintpaul* (AKIYAMA et al., 2011), *S. Senftenberg* (MARTINEZ-URTADA et al., 2005), *S. Typhimurium* (WANG et al., 2011), *S. Corvallis* (BANERJEE et al., 2012) e *S. Infantis* (GAZAL et al., 2018), enquanto o maior número de sorotipos identificados e relatados no mesmo artigo foi de sessenta e quatro (PONCE et al., 2008). Os sorotipos mais prevalentes encontrados foram *S. Typhimurium* investigado em peixe e músculo de camarão (WANG et al., 2011; FURUSHITA et al., 2003), brânquias e intestino de peixe (SING et al., 2016; EFUNTOYE et al., 2012) e *S. Weltevreden* investigou músculos e vísceras de camarão (NOOR UDDIN et al., 2015), músculo de peixe (KAKATKAR et al., 2011; PONCE et al., 2008), frutos do mar (ZHAO et al., 2003; KUMAR et al., 2009) e músculo de camarão e molusco (PONCE et al., 2008). Uma descrição dos principais sorotipos relatados nos artigos científicos selecionados pode ser encontrada como Material Suplementar (Tabela Anexo A).

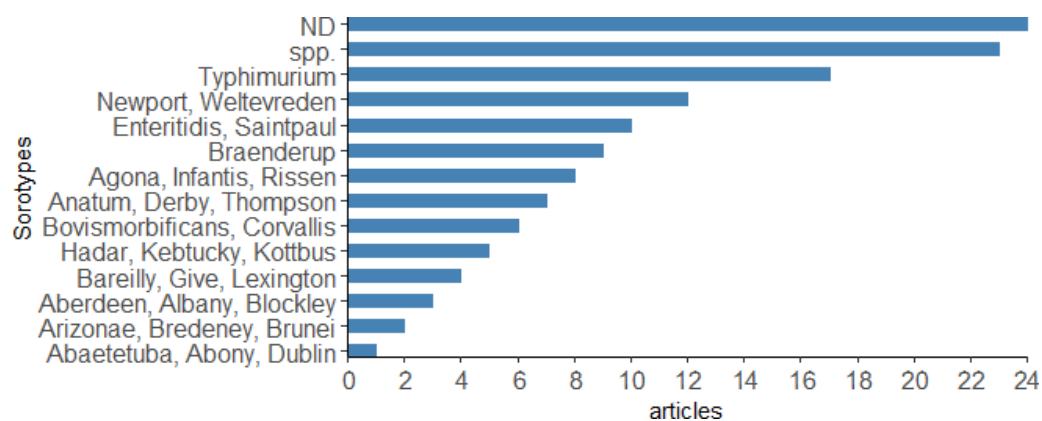


Figura 10. Alguns dos sorotipos de *Salmonella* mais relatados pelos artigos científicos selecionados na revisão integrativa sobre diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. em aquicultura entre 2000 e 2020. Legenda: “ND” — *Salmonella* não detectada; “spp.” — *Salmonella* spp. relatado. **Fonte:** Porto et al. 2023.

4 DISCUSSÃO

A salmonelose é um problema de saúde pública em escala global. Por meio desta revisão sistemática integrativa, foi possível demonstrar a vigilância contínua de *Salmonella* spp. no setor de aquicultura através das publicações analisadas de diferentes países produtores localizados em diferentes continentes ao longo dos anos entre 2000 e 2020 (Figura 6 e Figura 7).

No total, 80 artigos foram incluídos neste estudo após a eliminação daqueles com base nos critérios de elegibilidade, onde os países mais representativos em número de produções foram Brasil, China e Índia. No entanto, não são apenas os países considerados grandes produtores mundiais de aquicultura - como China (LI et al., 2017; LI et al., 2019; YANG et al., 2015), Bangladesh (MANNAN et al., 2020), Chile (AUBOURG et al., 2007), Egito (ABOU-ELELA et al., 2009), Índia (KAKATKAR et al., 2011; SAHARAN et al., 2020), Noruega (NESSE et al., 2005) e Vietnã (NGUYEN et al., 2016) ou mesmo Brasil (dos SANTOS et al., 2019; ARAÚJO et al., 2017; PALHARES et al., 2014), que está em expansão de produção – mas também países com menor relevância na atividade têm feito vigilância de *Salmonella* spp. Este patógeno tem um impacto negativo não só na saúde pública, uma vez que a salmonelose pode ser transmitida através de produtos pesqueiros contaminados, mas também nos índices de produção dos rebanhos, e atua como uma importante barreira sanitária às transações comerciais entre países.

Ressaltando a importância e o interesse de vigilância de *Salmonella* spp., as produções científicas tiveram seus resultados publicados em diversos títulos de periódicos que abrangem diversas áreas do conhecimento – trata-se de um tema essencialmente multidisciplinar que pode abranger diversas áreas relacionadas à saúde (BROUGHTON et al., 2009; UPADHYAY et al., 2010) e ao ambiente (ANTUNES et al., 2018; KLASE 2019; SAGOO et al., 2007), como microbiologia (SURENDRARAJ et al., 2009), produção animal (PILARSKI et al., 2004; CARUSO et al., 2004) e ciência de alimentos (BASTI et al., 2006; ARAÚJO et al., 2017).

A partir da análise textual das palavras mais frequentes e análise de similitude, pode-se inferir, de modo geral, que os estudos selecionados nesta revisão integrativa apresentam referências inerentes ao diagnóstico de patógenos de importância em saúde pública na produção aquícola - este ajuda a entender como manter a vigilância ao relatar o diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. nas espécies aquícolas, onde se destacou o pescado proveniente da produção. Eles também revelam outros aspectos complementares que ajudam a entender o assunto de forma mais ampla. Entre eles está a ligação que os trabalhos fazem com o diagnóstico microbiológico, englobando outros patógenos bacterianos da família Enterobacteriaceae e outros patógenos bacterianos como *Listeria monocytogenes*, também de interesse para a saúde pública, pois também podem se espalhar pela água e causar doenças transmitidas por alimentos contaminados (DTA) - isso mostra que diferentes categorias de peixes também podem abrigar *Salmonella* spp. e, portanto, podem aumentar o risco de surtos de salmonelose em humanos; isolados de *Salmonella* já foram testados quanto ao seu perfil de resistência antimicrobiana devido à consideração de que são uma ameaça à saúde.

Mais da metade dos produtos científicos analisados relatou a presença de *Salmonella* spp. Ao longo dos anos (entre 2000 e 2020), as técnicas clássicas de cultura microbiológica permaneceram ferramentas fundamentais no diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. em peixes (ANTUNES et al., 2018; NOOR UDDIN et al., 2015; DOMÉNECH et al., 2015). Esses dados sugerem que o método de isolamento por cultura ainda é bastante difundido, pois as etapas de análise fornecem uma combinação de fatores favoráveis ao isolamento de células viáveis de *Salmonella* spp., que podem ser

sorotipadas, cultivadas e classificadas quanto às características de virulência, como capacidade de formação de biofilme e resistência antimicrobiana e perfis de suscetibilidade.

O uso de metodologias complementares, como o diagnóstico molecular convencional (ZHAO et al., 2003) ou reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (KLASE et al., 2019) para identificar *Salmonella* spp., técnicas como MALDI-TOF-espectrometria de massas (LI et al., 2017; DIB et al., 2018) e MLST (Multilocus Sequence Typing) para sorotipagem foram conduzidos em menor grau nos estudos. Embora o diagnóstico molecular por PCR seja considerado uma técnica mais sensível com as vantagens de não gerar resultados falsos positivos ou falsos negativos (HOLLMANN et al., 2022) e ter um diagnóstico em menor tempo em comparação com as técnicas microbiológicas, há a limitação de não conseguir diferenciar as células viáveis e não viáveis de um patógeno o que inviabiliza posterior isolamento microbiano. Shabarinath et al. (SHABARINATH et al., 2007) investigaram 100 amostras e detectaram *Salmonella* spp. em 20% deles pela técnica de microbiologia convencional, enquanto a técnica de PCR detectou positividade em 52%; em contraste, Hollmann et al. (2022) realizaram técnica de diagnóstico microbiológico após exame de PCR direto das amostras, isolando aproximadamente 74% dos positivos.

Salmonella é um entre muitos outros riscos microbiológicos a serem evitados na produção aquícola (RIBEIRO et al., 2010; EFUNTOYE et al., 2012); portanto, por ser um importante patógeno em saúde pública, foi possível observar a inclusão de *Salmonella* spp. em investigações microbiológicas em aquicultura (WANG et al., 2011; HARAKEH et al., 2006), uma vez que este gênero bacteriano não faz parte da microbiota natural dos peixes, e faltam estudos que possam concluir que os peixes são acometidos por sintomas clínicos que caracterizem infecção. Portanto, mesmo sendo um patógeno da família Enterobacteriaceae, foi possível identificar que *Salmonella* spp. podem sobreviver e se multiplicar em outros locais além do trato gastrointestinal dos peixes (dos SANTOS et al., 2019; COSTA et al., 2020). Nesse sentido, isolados de *Salmonella* têm sido detectados em coleções de água doce ou salgada (ANTUNES et al., 2018; HUYS et al., 2007) em diferentes partes anatômicas externas, como muco, pele e brânquias (LI et al., 2017; AMPOFO et al., 2003; EFUNTOYE et al., 2012) de peixes e produtos alimentícios congelados importados (WANG et al., 2011). Além de mostrar que esses animais são potenciais reservatórios de *Salmonella*, todos esses achados servem como ferramenta básica para medidas de controle ou prevenção a serem tomadas, para evitar a disseminação e contaminação cruzada nos sistemas de criação e produção e, consequentemente, prevenir o risco de ocorrência de surtos de salmonelose em humanos.

Os estudos apresentaram diversas opções de unidades de análise de amostras de diferentes categorias de espécies aquícolas para o diagnóstico microbiológico de *Salmonella* spp. Essa falta de uniformidade pode ser explicada pela diferença nos diferentes objetivos da produção ou outros fatores contextuais no país que possam impactar a contaminação microbiana dos produtos da aquicultura a serem mantidos sob vigilância. Existem também diferenças geográficas nos locais de estudo. Fatores relacionados ao desenho do estudo: tipo de amostra utilizada (músculo ou várias outras partes) e tipo de testes utilizados para medir a prevalência bacteriana (microbiologia, PCR) ou concentração provavelmente contribuem para as diferenças observadas.

Os diferentes intervalos de amostras e resultados de prevalência podem ser porque a maioria dos peixes amostrados foram coletados de forma levemente processada em uma fazenda ou mercado, onde as chances de contaminação são altas e podem contribuir para muitos resultados observados nos estudos.

Nos 56 estudos que relataram *Salmonella* positiva, 164 sorotipos foram identificados (Figura 10), com 31 deles citados em pelo menos quatro artigos ou mais. Fatores extrínsecos, como região, ambiente, espécies de produção e tipos de amostras

analisadas nas investigações, são alguns dos fatores que contribuem para a diversidade de sorovares.

S. Typhimurium foi o mais frequentemente identificado em 17 artigos científicos de diferentes países do continente asiático (LI et al., 2019; KAKATKAR et al., 2011; SING et al., 2016; NGUYEN et al., 2016; UPADHYAY et al., 2010; YILDIRIM et al., 2018; FURUSHITA et al., 2003), países da América do Norte e do Sul (PALHARES et al., 2014; WANG et al., 2011) e países africanos (EFUNTOYE et al., 2012), e foi isolado de água doce (PALHARES et al., 2014), músculo, intestino e brânquias de peixes de água doce (KAKATKAR et al., 2011; EFUNTOYE et al., 2012), peixes marinhos (FURUSHITA et al., 2003) e outros frutos do mar (ZHAO et al., 2003; KUMAR et al., 2009). É o sorotipo que mais comumente causa salmonelose entre os sorotipos não tifóides (AO et al., 2015) e foi relatado como o sorovar dominante causando infecção humana na China (WANG et al., 2022). Também pode ser isolado de animais de diferentes setores da pecuária, como suínos, bovinos e frangos (WALLIS et al., 2005). Esses resultados concordam com as análises realizadas por Ferrari et al. (2019), em que o sorotipo *S. Typhimurium* apresentou perfil cosmopolita, sendo o mais prevalente e disseminado mundialmente e sendo considerado um exemplo de sorotipo generalista por diversas matrizes alimentares (bovina, suína, frango e peixe), mas principalmente pela carne suína. Em pesquisa recente, Wang et al. (2022) relatou que *S. Enteritidis*, *S. Derby*, *S. Typhimurium*, *S. Thompson* e *S. Aberdeen* foram os sorovares mais comuns detectados em galinhas, porcos, patos, produtos aquáticos e tartarugas, respectivamente.

S. Weltevreden foi o segundo sorotipo mais relatado em artigos científicos de países da Ásia (LI et al., 2017; KAKATKAR et al., 2011; NGUYEN et al., 2016; UPADHYAY et al., 2010) e América do Norte (PONCE et al., 2008), estando intimamente associado à aquicultura de peixes de água doce (LI et al., 2017), camarões marinhos (NOOR UDDIN et al., 2015; UPADHYAY et al., 2010) e vários frutos do mar importados para os EUA (ZHAO et al., 2003; PONCE et al., 2008). Este sorotipo apresenta importância global em frutos do mar e é mais prevalente no sul e sudeste da Ásia (FERRARI et al., 2019); no entanto, em um estudo recente usando mais de 35.000 *Salmonella enterica* isolados para explorar a dinâmica temporal e espacial dos sorovares dominantes na China, os autores descobriram que *S. Typhimurium* é o sorovar dominante (WANG et al., 2022). Em menor grau, esse sorotipo tem sido a causa de surtos na América do Norte (JACKSON et al., 2013). Ferrari et al. (2019) sugeriram que as importações de peixes da Ásia também podem ter importado esse patógeno, pois em sua análise não havia evidências de que *S. Weltevreden* fosse nativo da América do Norte. Na presente revisão, foram selecionados dois artigos com amostras de frutos do mar importados para os EUA relatando a presença de *S. Weltevreden* (ZHAO et al., 2003; PONCE et al., 2008). Este é um exemplo clássico de transmissão de patógenos de regiões distantes, obrigando ao aprimoramento das medidas de controle higiênico-sanitário.

S. Newport também foi o segundo sorotipo mais relatado em artigos científicos da China (YANG et al., 2015; ZHANG et al., 2015), Índia (KUMAR et al., 2009; SHABARINATH et al., 2007) e EUA (ZHAO et al., 2003) em amostras de frutos do mar. Sua maior prevalência foi detectada na América do Norte, sendo um patógeno transmissível ao homem principalmente pelo consumo de frutos do mar (FERRARI et al., 2019). No entanto, Zhao et al. (2003) relataram a detecção de *S. Newport* de vários frutos do mar importados de 38 países.

Outros sorotipos relatados, como *S. Stanley* (8), *S. Kentucky* e *S. Hadar* (5) e *S. Heidelberg* (2), também foram discutidos anteriormente em relatórios da FSA e NARMS como sendo importantes na causa de salmonelose em humanos (EFSA, 2015; CDC, 2015).

Todos os sorotipos precisam ser mantidos sob vigilância, pois os produtos da aquicultura se tornaram fontes potenciais de disseminação de *Salmonella* spp. Durante

todo o período que compreende a produção (fases de criação, captura ou remoção, processamento e comercialização), os produtos da pesca estão sujeitos à contaminação por microrganismos patogênicos naturalmente presentes no meio aquático e outros oportunistas introduzidos através de dejetos animais e humanos durante o processamento e/ou preparo da cadeia produtiva (AMAGLIANI et al., 2012).

5 CONCLUSÕES

A análise descritiva dos dados extraídos de artigos científicos possibilitou gerar informações do ponto de vista qualitativo e quantitativo sobre os diagnósticos microbiológicos de *Salmonella* spp. na aquicultura durante os anos selecionados.

Foi possível verificar uma grande variedade de periódicos nos quais os artigos foram publicados, sendo a área de ciência de alimentos o tema com maior concentração de artigos.

A análise textual dos resumos organizou e classificou cinco temas principais que se correlacionam com *Salmonella* spp. na aquicultura ligada a temas como segurança alimentar e saúde pública; entretanto, observou-se a ausência de palavras ou conjunto de termos obtidos na nuvem de palavras e na análise de similitude e classificação hierárquica descendente (CHD) que se referem a medidas de prevenção ou controle da contaminação de peixes. Aparentemente, os estudos incluídos estavam mais voltados para a caracterização do problema (investigação da ocorrência, amostragem de espécies aquícolas, identificação e caracterização do perfil dos isolados) do que na busca de estratégias para mitigar os riscos de contaminação na aquicultura.

De maneira geral, foi possível observar pelo número de publicações anuais que não houve tendência de aumento ou diminuição na vigilância de *Salmonella* spp. na aquicultura ao longo dos anos; no entanto, há um número constante de publicações sobre o assunto. Nesse sentido, o interesse em monitorar *Salmonella* spp. pelo diagnóstico microbiológico clássico foi mostrado mundialmente, com artigos publicados em vários países em quase todos os continentes (não houve artigos selecionados de países da Oceania). Os países asiáticos são considerados os maiores produtores de aquicultura do mundo e foram as nações que tiveram mais artigos científicos selecionados por esta revisão.

Por ser um produto pesqueiro menos processado e mais sujeito à contaminação microbiológica, observou-se que a maior parte da amostragem foi proveniente da atividade aquícola. Vários tipos de categorias de peixes e amostras ambientais foram analisados pelos artigos, mas o peixe foi a espécie mais amostrada nos estudos. *Salmonella* spp. foi detectado em diferentes unidades de análise e em diferentes partes anatômicas dos peixes em amostras de água de aquicultura e sedimentos, sugerindo que o patógeno se adapta a vários ambientes favoráveis à multiplicação e, conseqüentemente, à contaminação.

As técnicas convencionais de diagnóstico microbiológico utilizadas nos artigos, por vezes apoiadas por PCR, foram unânimes e têm demonstrado eficácia em termos de vigilância.

A maioria dos isolados detectados foi identificada até o nível de gênero; no entanto, foi possível verificar muitos sorotipos relatados, o que ajudou a entender melhor o processo epidemiológico na aquicultura.

Nossa pesquisa não incluiu a caracterização genotípica de *Salmonella* nos critérios de elegibilidade. Encorajamos a realização de novas revisões com foco nas características moleculares da *Salmonella*.

Por fim, os resultados aqui obtidos podem contribuir para a promoção de novos estudos que investiguem estratégias de controle e prevenção de *Salmonella* spp. na produção de peixes, visto que foi observada a necessidade de aumentar os estudos com esse foco.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASSI-GHOZZI, I.; JAOUANI, A.; HAMMAMI, S.; MARTINEZ-URTAZA, J.; BOUDABOUS, A.; GTARI, M. Molecular analysis and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates recovered from raw meat marketed in the area of “Grand Tunis”, Tunisia. *Pathol. Biol.* **2012**, 60, e49–e54. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.07.005>.
- ABOU-ELELA, G.M.; EL-SERSY, N.A.; ABD-ELNABY, H.; WEFKY, S.H. Distribution and biodiversity of fecal indicators and potentially harmful pathogens in North Delta (Egypt). *Aust.J. Basic Appl. Sci.* **2009**, 3, 3374–3385.
- AKINJOGUNLA, O.J.; INYANG, C.U.; AKINJOGUNLA, V.F. Bacterial species associated with anatomical parts of fresh and smoked Bonga fish (*Ethmalosa fimbriata*): Prevalence and susceptibility to cephalosporins. *Res. J. Microbiol.* **2011**, 6, 87–97. <https://doi.org/10.3923/jm.2011.87.97>.
- AKIYAMA, T.; KHAN, A.A.; CHENG, C.-M.; STEFANOVA, R. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Saintpaul isolated from imported seafood, pepper, environmental and clinical samples. *Food Microbiol.* **2011**, 28, 1124–1128. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.03.003>.
- AL-HARBI, A.H.; UDDIN, M.N. Seasonal changes in bacterial flora of fish pond sediments in Saudi Arabia. *J. Appl. Aquac.* **2006**, 18, 35–45. https://doi.org/10.1300/J028v18n02_03.
- ALAMEER, A.H.A.; ATSHAN, O.F.; MAHMOOD, M.M.; AL-JEWARI, W.M.; MOHAMMED, A.A. Detection of *Salmonella* species in viscera of Carp fish. *Plant Arch.* **2020**, 20, 2683–2686.
- ALEXOPOULOS, A.; PLESSAS, S.; VOIDAROU, C.; NOUSSIAS, H.; STAVROPOULOU, E.; MANTZOURANI, I.; TZORA, A.; SKOUFOS, I.; BEZIRTZOGLU, E. Microbial ecology of fish species on-growing in Greek sea farms and their watery environment. *Anaerobe* **2011**, 17, 264–266. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.03.003>.
- ALI, A.; PARISI, A.; CONVERSANO, M.C.; IANNACCI, A.; D’EMILIO, M.C.; MERCURIO, V.; NORMANNO, G. Food-borne bacteria associated with seafoods: A brief review. *J. Food Qual. Hazards Control.* **2020**, 7, 4–10. <https://doi.org/10.18502/jfqhc.7.1.2446>.
- ÁLVAREZ, A.; GARCÍA GARCÍA, B.; GARRIDO, M.D.; HERNÁNDEZ, M.D. The influence of starvation time prior to slaughter on the quality of commercial-sized gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice storage. *Aquaculture* **2008**, 284, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.025>.
- AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, G.F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. *Food Res. Int.* **2012**, 45, 780–788. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.022>.
- AMPOFO, J.A.; CLERK, G.C. Diversity of bacteria in sewage treatment plant used as fish culture pond in southern Ghana. *Aquac. Res.* **2003**, 34, 667–675.

ANTUNES, P.; CAMPOS, J.; MOURÃO, J.; PEREIRA, J.; NOVAIS, C.; PEIXE, L. Inflow water is a major source of trout farming contamination with *Salmonella* and multidrug resistant bacteria. *Sci. Total Environ.* **2018**, 642, 1163–1171. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.143>.

AO, T.T.; FEASEY, N.A.; GORDON, M.A.; KEDDY, K.H.; ANGULO, F.J.; CRUMP, J.A. Global burden of invasive nontyphoidal *Salmonella* disease, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* **2015**, 21, 941–949. <https://doi.org/10.3201/eid2106.140999>.

ARAÚJO, W.S.C.; DE LIMA, C.L.S.; PEIXOTO JOELE, M.R.S.; LOURENÇO, L.D.F.H. Development and Application of the Quality Index Method (QIM) for Farmed Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Stored Under Refrigeration. *J. Food Saf.* **2017**, 37, e12288. <https://doi.org/10.1111/jfs.12288>.

ATANASSOVA, V.; REICH, F.; KLEIN, G. Microbiological quality of Sushi from Sushi bars and retailers. *J. Food Prot.* **2008**, 71, 860–864.

AUBOURG, S.P.; QUITRAL, V.; LARRAÍN, M.A.; RODRÍGUEZ, A.; GÓMEZ, J.; MAIER, L.; VINAGRE, J. Autolytic degradation and microbiological activity in farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during chilled storage. *Food Chem.* **2007**, 104, 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.066>.

AYAZO-GENES, J.; PERTUZ-BUELVAS, V.; JIMENEZ-VELASQUEZ, C.; ESPINOSA-ARAUJO, J.; ATENCIO-GARCIA, V.; PRIETO-GUEVARA, M. Describing the planktonic and bacterial communities associated with bocachico *Prochilodus magdalenae* fish culture with biofloc technology. *Rev. Mvz Cordoba* **2019**, 24, 7209–7217. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1648>.

BANERJEE, S.; OOI, M.C.; SHARIFF, M.; KHATOON, H. Antibiotic resistant *Salmonella* and *Vibrio* associated with farmed *Litopenaeus vannamei*. *Sci. World J.* **2012**, 2012, 130136. <https://doi.org/10.1100/2012/130136>.

BASTI, A.A.; MISAGHI, A.; SALEHI, T.Z.; KAMKAR, A. Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. *Food Control* **2006**, 17, 183–188. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.001>.

BINGOL, E.B.; COLAK, H.; HAMPIKYAN, H.; MURATOGLU, K. The microbiological quality of stuffed mussels (*Midye Dolma*) sold in Istanbul. *Br. Food J.* **2008**, 110, 1079–1087. <https://doi.org/10.1108/00070700810917992>.

BOOTH, A.; NOYES, J.; FLEMMING, K.; GERHARDUS, A.; WAHLSTER, P.; VAN DER WILT, G.J.; MOZYGEMBA, K.; REFOLO, P.; SACCHINI, D.; TUMMERS, M.; et al. *Guidance on Choosing Qualitative Evidence Synthesis Methods for Use in Health Technology Assessments of Complex Interventions*; Integrate-HTA: Bremen (DE), Germany, 2016.

BOUCHET-VALAT, M. SnowballC: Snowball Stemmers Based on the C ‘libstemmer’ UTF-8 Library. R Package Version 0.7.0. 2020. Available online: <https://CRAN.R-project.org/package=SnowballC> (accessed on 18 October 2020).

BOULARES, M.; MEJRI, L.; HASSOUNA, M. Study of the Microbial Ecology of Wild and Aquacultured Tunisian Fresh Fish. *J. Food Prot.* **2011**, 74, 762–1768. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-057>.

BRENNER, M.; RAMDOHR, S.; EFFKEMANN, S.; STEDE, M. Key parameters for the consumption suitability of offshore cultivated blue mussels (*Mytilus edulis* L.) in the German Bight. *Eur. Food Res. Technol.* **2009**, 230, 255–267. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1159-0>.

BROUGHTON, E.I.; WALKER, D.G. Prevalence of Antibiotic-Resistant *Salmonella* in Fish in Guangdong, China. *Foodborne Pathog. Dis.* **2009**, 6, 519–521. <https://doi.org/10.1089/fpd.2008.0196>.

BUDIATI, T.; RUSUL, G.; WAN-ABDULLAH, W.N.; ARIP, Y.M.; AHMAD, R.; THONG, K.L. Prevalence, antibiotic resistance and plasmid profiling of *Salmonella* in catfish (*Clarias gariepinus*) and tilapia (*Tilapia mossambica*) obtained from wet markets and ponds in Malaysia. *Aquaculture* **2013**, 372–375, 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.003>.

CALIXTO, F.A.A.; MACHADO, E.D.S.; FRANCO, R.M.; DE MESQUITA, E.D.F. Bacteriological evaluation of fresh, salted and smoked Cobia meat from fish culture of Ilha Grande bay, Rio de Janeiro state, Brazil. *Bol. Inst. Pesca* **2016**, 42, 209–215. <https://doi.org/10.5007/1678-2305.2016v42n1p209>.

CARUSO, G.; MAIMONE, G.; MANCUSO, M.; MODICA, A.; Genovese, L. Microbiological controls across the productive cycle of *Dicentrarchus labrax* L. and *Sparus aurata* L.: A study from the environment to the final product. *Aquac. Res.* **2004**, 35, 184–193.

CASANOVA, L.M.; SOBSEY, M.D. Antibiotic-Resistant Enteric Bacteria in Environmental Waters. *Water* **2016**, 8, 561. <https://doi.org/10.3390/w8120561>.

Centers for Disease Control and Prevention; National Center for Infectious Diseases; Division of Bacterial and Mycotic Diseases; Foodborne and Diarrheal Diseases Branch. *Human Isolates Surveillance Report*; Enteric Diseases Epidemiology Branch, Division of Foodborne, Bacterial, and Mycotic Diseases, National Center for Zoonotic, Vector-Borne, and Enteric Diseases, Centers for Disease Control and Prevention: Atlanta, GA, USA, 2015.

COSTA, J.C.C.P.; FLORIANO, B.; VILLEGAS, I.M.B.; RODRÍGUEZ-RUIZ, J.P.; POSADA-IZQUIERDO, G.D.; ZURERA, G.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, F. Study of the microbiological quality, prevalence of foodborne pathogens and product shelf-life of Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) from aquaculture in estuarine ecosystems of Andalusia (Spain). *Food Microbiol.* **2020**, 90, 103498. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103498>.

DHOWLAGHAR, N.; ABEYSUNDARA, P.D.A.; NANNAPANENI, R.; SCHILLING, M.W.; CHANG, S.; CHENG, W.H.; SHARMA, C.S. Biofilm formation by *Salmonella* spp. in catfish mucus extract under industrial conditions. *Food Microbiol.* **2018**, 70, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.09.016>.

DIB, A.L.; AGABOU, A.; CHAHED, A.; KUREKCI, C.; MORENO, E.; ESPIGARES, M.; ESPIGARES, E. Isolation, molecular characterization and antimicrobial resistance of enterobacteriaceae isolated from fish and seafood. *Food Control* **2018**, 88, 54–60.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.005>.

DOMÉNECH, E.; JIMENEZ-BELENGUER, A.; AMOROS, J.A.; FERRUS, M.A.; ESCRICHE, I. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains isolated in ready-to-eat foods in Eastern Spain. *Food Control* **2015**, *47*, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.043>.

DONDERO, M.; CISTERNAS, F.; CARVAJAL, L.; SIMPSON, R. Changes in quality of vacuum-packed cold-smoked salmon (*Salmo salar*) as a function of storage temperature. *Food Chem.* **2004**, *87*, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.005>.

DOS SANTOS, R.R.; XAVIER, R.G.C.; DE OLIVEIRA, T.F.; LEITE, R.C.; FIGUEIREDO, H.C.P.; LEAL, C.A.G. Occurrence, genetic diversity, and control of *Salmonella enterica* in native Brazilian farmed fish. *Aquaculture* **2019**, *501*, 304–312. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.034>.

DRÓZDŹ, M.; MAŁASZCZUK, M.; PALUCH, E.; PAWLAK, A. Zoonotic potential and prevalence of *Salmonella* serovars isolated from pets. *Infect. Ecol. Epidemiol.* **2021**, *11*, 1975530. <https://doi.org/10.1080/20008686.2021>.

EFUNTOYE, M.O.; OLURIN, K.B.; JEGEDE, G.C. Bacterial flora from healthy *clarias gariepinus* and their antimicrobial resistance pattern. *Adv. J. Food Sci. Technol.* **2012**, *4*, 121–128.

ELSAIDY, N.; ABOUELENIEN, F.; KIRRELLA, G.A.K. Impact of using raw or fermented manure as fish feed on microbial quality of water and fish. *Egypt. J. Aquat. Res.* **2015**, *41*, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2015.01.002>.

ESPOSTO, E.M.; SILVA, W.C.P.; REIS, C.M.F.; REIS, E.M.F.; RIBEIRO, R.V.; RODRIGUES, D.P.; LÁZARO, N.S. Enteropatógenos bacterianos em peixes criados em uma estação de reciclagem de nutrientes e no ecossistema relacionado. *Pesqui. Veterinária Bras.* **2007**, *27*, 144–148.

European Food Safety Authority (EFSA); European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. *EFSA J.* **2015**, *13*, 3991.

FARIKOSKI, I.; MEDEIROS, L.; CARVALHO, Y. K.; ASHFORD, D.; FIGUEIREDO, E. E. S.; FERNANDES, D. V. G. S.; SILVA, P. J.; RIBEIRO, V. The urban and rural capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) as reservoir of *Salmonella* in the western Amazon, Brazil. PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA (ONLINE), v. 39, p. 66-69, 2019. <https://www.scielo.br/j/pvb/a/dJqLpTdYwXrPKpm9jxhHzBG/?lang=en>

FEINERER, I.; HORNIK, K. tm: Text Mining Package. R Package Version 0.7-8. 2020.

Available online: <https://CRAN.R-project.org/package=tm> (accessed on 18 October 2020).

FELLOWS, I. Wordcloud: Word Clouds. R Package Version 2.6. 2018. Available online: <https://CRAN.R-project.org/package=wordcloud> (accessed on 18 October 2020).

FERNANDES, D.V.G.S.; CASTRO, V.S.; CUNHA NETO, A.; FIGUEIREDO, E.E.S. *Salmonella* spp. in the fish production chain: A review. *Ciência Rural* **2018**, 48, e20180141. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180141>.

FERRARI, R.G.; ROSARIO, D.K.A.; CUNHA-NETO, A.; HAND, S.B.; FIGUEIREDO, E.E.S.; CONTE-JUNIOR, C.A. Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: A Meta-analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* **2019**, 85, e00591-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.00591-19>.

FURUSHITA, M.; SHIBA, T.; MAEDA, T.; YAHATA, M.; KANEOKA, A.; TAKAHASHI, Y.; TORII, K.; HASEGAWA, T.; OHTA, M. Similarity of tetracycline resistance genes isolated from fish farm bacteria to those from clinical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* **2003**, 69, 5336–5342. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5336-5342.2003>.

GAZAL, L.E.S.; BRITO, K.C.T.; CAVALLI, L.S.; KOBAYASHI, R.K.T.; NAKAZATO, G.; OTUTUMI, L.K.; CUNHA, A.C.; NETO, J.A.S.P.; BRITO, B.G. *Salmonella* sp. in fish—What is the importance for health in fish farm? *Pesqui. Agropecuária Gaúcha* **2018**, 24, 55–64. ISSN online: 2595- 7686.

HARAKEH, S.; YASSINE, H.; EL-FADEL, M. Antimicrobial-resistant patterns of *Escherichiacoli* and *Salmonella* strains in the aquatic Lebanese environments. *Environ. Pollut.* **2006**, 143, 269–277. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.11.027>.

HERNÁNDEZ, M.D.; LÓPEZ, M.B.; ÁLVAREZ, A.; FERRANDINI, E.; GARCÍA GARCÍA, B.; GARRIDO, M.D. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chem.* **2009**, 114, 237–245. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.045>.

HOLLMANN, I.; LINGENS, J.B.; WILKE, V.; HOMANN, C.; TEICH, K.; BUCH, J.; CHUPPAVA, B.; VISSCHER, C. Epidemiological Study on *Salmonella* Prevalence in Sow Herds Using Direct and Indirect Detection Methods. *Microorganisms* **2022**, 10, 1532. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081532>.

HUDECOVA, K.; BUCHTOVA, H.; STEINHAUSEROVA, I. The Effects of Modified Atmosphere Packaging on the Microbiological Properties of Fresh Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Vet. Brno* **2010**, 79, S93–S100. <https://doi.org/10.2754/avb201079S9S093>.

HUYS, G.; BARTIE, K.; CNOCKAERT, M.; HOANG OANH, D.T.; PHUONG, N.T.; SOMSIRI, T.; CHINABUT, S.; YUSOFF, F.M.; SHARIFF, M.; GIACOMINI, M.; et al. Biodiversity of chloramphenicol-resistant mesophilic heterotrophs from Southeast Asian aquaculture environments. *Res. Microbiol.* **2007**, 158, 228–235. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2006.12.011>.

JACKSON, B.R.; GRIFFIN, P.M.; COLE, D.; WALSH, K.A.; CHAI, S.J. Outbreak-associated *Salmonella enterica* serotypes and food Commodities, United States, 1998–2008. *Emerg. Infect. Dis.* **2013**, 8, 1239–1244. <https://doi.org/10.3201/eid1908.121511>.

KAKATKAR, A.S.; PANSARE, L.S.; GAUTAM, R.K.; SHASHIDHAR, R.; KARANI, M.; BANDEKAR, J.R. Molecular characterization of antibiotic resistant *Salmonella* isolates from Indian foods. *Food Res. Int.* **2011**, 44, 3272–3275. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.014>.

KAKTCHAM, P.M.; TEMGOUA, J.-B.; NGOUFACK ZAMBOU, F.; DIAZ-RUIZ, G.; WACHER, C.; PÉREZ-CHABELA, M.L. Quantitative analyses of the bacterial microbiota of rearing environment, tilapia and common carp cultured in earthen ponds and inhibitory activity of its lactic acid bacteria on fish spoilage and pathogenic bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2017**, *33*, 32. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2197-y>.

KLASE, G.; LEE, S.; LIANG, S.; KIM, J.; ZO, Y.-G.; LEE, J. The microbiome and antibiotic resistance in integrated fishfarm water: Implications of environmental public health. *Sci. Total Environ.* **2019**, *649*, 1491–1501. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.288>.

KODAMA, H.; NAKANISHI, Y.; YAMAMOTO, F.; MIKAMI, T.; IZAWA, H.; IMAGAWA, T.; HASHIMOTO, Y.; KUDO, N. *Salmonella arizonae* isolated from a pirarucu, *Arapaima gigas* Cuvier, with septicemia. *J. Fish Dis.* **1987**, *10*, 509–512. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1987.tb01103.x>.

KROG, J.S.; LARSEN, L.E.; SCHULTZ, A.C. Enteric porcine viruses in farmed shellfish in Denmark. *Int. J. Food Microbiol.* **2014**, *186*, 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.012>.

KUMAR, R.; SURENDRAN, P.K.; THAMPURAN, N. Detection and characterization of virulence factors in lactose positive and lactose negative *Salmonella* serovars isolated from seafood. *Food Control* **2009**, *20*, 376–380. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.06.005>.

LI, K.; PETERSEN, G.; BARCO, L.; HVIDTFELDT, K.; LIU, L.; DALSGAARD, A. *Salmonella* Weltevreden in integrated and non-integrated tilapia aquaculture systems in Guangdong, China. *Food Microbiol.* **2017**, *65*, 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.01.014>.

LI, Y.; PEI, X.; YAN, J.; LIU, D.; ZHANG, H.; YU, B.; LI, N.; YANG, D. Prevalence of foodborne pathogens isolated from retail freshwater fish and shellfish in China. *Food Control* **2019**, *99*, 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.024>.

MAHMOUD, M.A.; ABDELSALAM, M.; MAHDY, O.A.; EL MINIAWY, H.M.F.; AHMED, Z.A.M.; OSMAN, A.H.; MOHAMED, H.M.H.; KHATTAB, A.M.; ZAKI EWISS, M.A. Infectious bacterial pathogens, parasites and pathological correlations of sewage pollution as an important threat to farmed fishes in Egypt. *Environ. Pollut.* **2016**, *219*, 939–948. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.044>.

MARTINEZ, O.; RODRIGUEZ-CALLEJA, J.M.; SANTOS, J.A.; OTERO, A.; GARCIA-LOPEZ, M.L. Foodborne and Indicator Bacteria in Farmed Molluscan Shellfish before and after Depuration. *J. Food Prot.* **2009**, *72*, 1443–1449.

MARTINEZ-URTAZA, J.; LIEBANA, E. Use of pulsed-field gel electrophoresis to characterize the genetic diversity and clonal persistence of *Salmonella senftenberg* in mussel processing facilities. *Int. J. Food Microbiol.* **2005**, *105*, 153–163. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.04.006>.

MANNAN, M.; ISLAM, S.R.; OSMAN, M.H.; RAHMAN, M.K.; UDDIN, M.N.; KAMAL, M.; REZA, M.S. Antibacterial activity of oxytetracycline on microbial ecology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) gastrointestinal tract under laboratory condition. *Aquac. Res.* **2020**, *51*, 2125–2133. <https://doi.org/10.1111/are.14563>.

MCCOY, E.; MORRISON, J.; COOK, V.; JOHNSTON, J.; EBLEN, D.; GUO, C. Foodborne agents associated with the consumption of aquaculture catfish. *J. Food Prot.* **2011**, *74*, 500–516. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-341>.

MELETIADIS, A.; BIOLATTI, C.; MUGETTI, D.; ZACCARIA, T.; CIPRIANI, R.; PITTI, M.; DECASTELLI, L.; CIMINO, F.; DONDO, A.; MAURELLA, C.; et al. Research on exposure to reptile-associated salmonellosis (RAS) in the Piedmont region of Italy. *Animals* **2022**, *12*, 906. <https://doi.org/10.3390/ani12070906>.

MIRUKA, D.O.; OCHIENG, J.O.; WERE, J.W.; WAINDI, E.N. Microbial assessment of selected earthen fish ponds in western Kenya. *Ecohydrol. Hydrobiol.* **2013**, *13*, 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2013.10.005>.

MISHRA, P.; PANDEY, C.; SINGH, U.; GUPTA, A.; SAHU, C.; KESHRI, A. Descriptive statistics and normality tests for statistical data Annals of Cardiac Anesthesia. *Ann. Card. Anaesth.* **2019**, *22*, 67–72. https://doi.org/10.4103/aca.ACA_157_18.

NAHM, U.Y.; MOONEY, R.J. A Mutually Beneficial Integration of Data Mining and Information Extraction. In Proceedings of the AAAI/IAAI, Austin, TX, USA, 1–3 August 2000; pp. 627–632.

NESSE, L.L.; LØVOLD, T.; BERGSJØ, B.; NORDBY, K.; WALLACE, C.; HOLSTAD, G. Persistence of orally administered *Salmonella enterica* Serovars Agona and Montevideo in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J. Food Prot.* **2005**, *68*, 1336–1339.

NGUYEN, D.T.A.; KANKI, M.; NGUYEN, P.D.; LE, H.T.; NGO, P.T.; TRAN, D.N.M.; LE, N.H.; DANG, C.V.; KAWAI, T.; KAWAHARA, R.; et al. Prevalence, antibiotic resistance, and extended- spectrum and AmpC beta-lactamase productivity of *Salmonella* isolates from raw meat and seafood samples in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Int. J. Food Microbiol.* **2016**, *236*, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.017>.

NOOR UDDIN, G.M.; LARSEN, M.H.; BARCO, L.; MINH PHU, T.; DALSGAARD, A. Clonal Occurrence of *Salmonella* Weltevreden in Cultured Shrimp in the Mekong Delta, Vietnam. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0134252. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134252>.

NTENGWE, F.W.; EDEMA, M.O. Physico-chemical and microbiological characteristics of water for fish production using small ponds. *Phys. Chem. Earth Parts A/B/C* **2008**, *33*, 701–707. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2008.06.032>.

NOVOTNY, L.; DVORSKA, L.; LORENCOVA, A.; BERAN, V.; PAVLIK, I. Fish: A potential source of bacterial pathogens for human beings. *Veterinárni Med.* **2004**, *49*, 343–358.

PAGE, M.J.; MCKENZIE, J.E.; BOSSUYT, P.M.; BOUTRON, I.; HOFFMANN, T.C.; MULROW, C.D.; SHAMSEER, L.; TETZLAFF, J.M.; AKL, E.A.; BRENNAN, S.E.; et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* **2021**, *372*, n71. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>.

PAL, A.; MARSHALL, D.L. Comparison of culture media for enrichment and isolation of *Salmonella* spp. from frozen Channel catfish and Vietnamese basa fillets. *Food Microbiol.* **2009**, *26*, 317–319. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.12.003>.

PALHARES, J.C.P.; KICH, J.D.; BESSA, M.C.; BIESUS, L.L.; BERNO, L.G.; TRIQUES, N.J. *Salmonella* and antimicrobial resistance in an animal-based agriculture river system. *Sci. Total Environ.* **2014**, 472, 654–661. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.052>.

PASTRO, D.C.; MARIOTTO, S.; SANTOS, E.C.; FERREIRA, D.C.; CHITARRA, G.S. Use of molecular techniques for the analysis of the microbiological quality of fish marketed in the municipality of Cuiaba, Mato Grosso, Brazil. *Food Sci. Technol.* **2019**, 39 (Supl. S1), 146–151. <https://doi.org/10.1590/fst.40217>.

PATEL, A.; JEYASEKARAN, G.; JEYASHAKILA, R.; ANAND, T.; WILWET, L.; PATHAK, N.; MALINI, A.H.; NEETHISELVAN, N. Prevalence of antibiotic resistant *Salmonella* spp. strains in shrimp farm source waters of Nagapattinam region in South India. *Mar. Pollut. Bull.* **2020**, 155, 111171. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111171>.

PAWAR, P.P.; PAGARKAR, A.U.; RATHOD, N.B. Effect of chilled storage on quality characteristics of battered and breaded snack product from large sized Catla (*Catla catla*). *J. Food Sci. Technol.* **2020**, 57, 52–59. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04028-6>.

PILARSKI, F.; JÚNIOR, O.T.; CASACA, J.D.M.; GARCIA, F.R.M.; TOMAZELLI, I.B.; DOS SANTOS, I.R. Integrated fish/pig systems: Environmental feature and fish quality [Consórcio suíno- peixe: Aspectos ambientais e qualidade do pescado]. *Rev. Bras. De Zootec.* **2004**, 33, 267–276.

PINEDO, L.C.; MUGHINI-GRAS, L.; FRANZ, E.; HALD, T.; PIRES, S.M. Sources and trends of human salmonellosis in Europe, 2015–2019: An analysis of outbreak data. *Int. J. Food Microbiol.* **2022**, 379, 109850. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109850>.

PONCE, E.; KHAN, A.A.; CHENG, C.-M.; SUMMAGE-WEST, C.; CERNIGLIA, C.E. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden from imported seafood. *Food Microbiol.* **2008**, 25, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.09.001>.

PORTO, Y.D.; FOGAÇA, F.H.D.S.; ANDRADE, A.O.; DA SILVA, L.K.S.; LIMA, J.P.; DA SILVA, J.L.; VIEIRA, B.S.; CUNHA NETO, A.; FIGUEIREDO, E.E.D.S.; TASSINARI, W.D.S. *Salmonella* spp. in Aquaculture: An Exploratory Analysis (Integrative Review) of Microbiological Diagnoses between 2000 and 2020. *Animals* **2023**, 13, 27. <https://doi.org/10.3390/ani13010027>

PYZ-LUKASIK, R.; PASZKIEWICZ, W. Microbiological quality of farmed grass carp, bighead carp, Siberian sturgeon, and wels catfish from Eastern Poland. *J. Vet. Res.* **2018**, 62, 145–149. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2018-0023>.

R CORE TEAM. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2020. Available online: <https://www.R-project.org/> (accessed on 19 April 2020).

REINERT, M. Alceste, une méthodologie d'analyse des données textuelles et une application: Aurelia de Gerard de Nerval. *Bull. De Methodol. Sociol.* **1990**, 26, 24–54. <https://doi.org/10.1177/075910639002600103>

RIBEIRO, R.V.; REIS, E.M.F.; REIS, C.M.F.; FREITAS-ALMEIDA, A.C.; RODRIGUES, D.P. Incidence and antimicrobial resistance of enteropathogens isolated from an integrated aquaculture system. *Lett. Appl. Microbiol.* **2010**, *51*, 611–618. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02946.x>.

RUBINI, S.; GALLETTI, G.; D'INCAU, M.; GOVONI, G.; BOSCHETTI, L.; BERARDELLI, C.; BARBIERI, S.; MERIALDI, G.; FORMAGLIO, A.; GUIDI, E.; et al. Occurrence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in bivalve mollusks and associations with *Escherichia coli* in mollusks and fecal coliforms in seawater. *Food Control* **2018**, *84*, 429–435. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.035>.

SAGOO, S.K.; LITTLE, C.L.; GREENWOOD, M. Microbiological study of cooked crustaceans and molluscan shellfish from UK production and retail establishments. *Int. J. Environ. Health Res.* **2007**, *17*, 219–230. <https://doi.org/10.1080/09603120701254946>.

SAHARAN, V.V.; VERMA, P.; SINGH, A.P. High prevalence of antimicrobial resistance in *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* isolated from fish samples in India. *Aquac. Res.* **2020**, *51*, 1200–1210. <https://doi.org/10.1111/are.14471>.

SÁNCHEZ-VARGAS, F.M.; ABU-EL-HAJA, M.A.; GÓMEZ-DUARTE, O.G. *Salmonella* infections: An update on epidemiology, management, and prevention. *Travel Med. Infect. Dis.* **2011**, *9*, 263–277. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2011.11.001>.

SAINGAM, P.; LI, B.; YAN, T. Fecal Indicator Bacteria, Direct Pathogen Detection, and Microbial Community Analysis Provide Different Microbiological Water Quality Assessment of a Tropical Urban Marine Estuary. *Water Res.* **2020**, *185*, 116280. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116280>.

SHABARINATH, S.; SANATH KUMAR, H.; KHUSHIRAMANI, R.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Detection and characterization of *Salmonella* associated with tropical seafood. *Int. J. Food Microbiol.* **2007**, *114*, 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.012>.

SHAKILA, R.J.; RAJ, B.E.; FELIX, N. Quality and safety of fish curry processed by sous videcook chilled and hot filled technology process during refrigerated storage. *Food Sci. Technol. Int.* **2012**, *18*, 261–269. <https://doi.org/10.1177/1082013211415177>.

SING, C.K.; KHAN, M.Z.I.; DAUD, H.H.M.; AZIZ, A.R. Prevalence of *Salmonella* sp. in African Catfish (*Clarias gariepinus*) Obtained from Farms and Wet Markets in Kelantan, Malaysia and Their Antibiotic Resistance. *Sains Malays.* **2016**, *45*, 1597–1602.

SMALDONE, G.; MARRONE, R.; ZOTTOLA, T.; VOLLANO, L.; GROSSI, G.; CORTESI, M.L. Formulation and shelf-life of fish burgers served to preschool children. *Ital. J. Food Saf.* **2017**, *6*, 6373. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2017.6373>.

SOUSA, Y.S.O. The Use of the Iramuteq Software: Fundamentals of Lexicometry for Qualitative Research. *Estud. E Pesqui. Em Psicol.* **2021**, *21*, 1541–1560. <https://doi.org/10.12957/epp.2021.64034>.

SURENDRARAJ, A.; SABEENA FARVIN, K.H.; YATHAVAMOORTHY, R.; THAMPURAN, N. Enteric bacteria associated with farmed freshwater fish and its culture environment in Kerala, India. *Res. J. Microbiol.* **2009**, *4*, 334–344.

SUTTON, A.; CLOWES, M.; PRESTON, L.; BOOTH, A. Meeting the review family: Exploring review types and associated information retrieval requirements. *Health Inf. Libr. J.* **2019**, 3, 202–222. <https://doi.org/10.1111/hir.12276>.

TENNEKES, M. tmap: Thematic Maps in R. *J. Stat. Softw.* **2018**, 84, 1–39. <https://doi.org/10.18637/jss.v084.i06>.

TERENTJEVA, M.; EIZENBERGA, I.; VALCIŅA, O.; NOVOSLAVSKIJ, A.; STRAZDIŅA, V.; BERZIŅŠ, A. Prevalence of foodborne pathogens in freshwater fish in Latvia. *J. Food Prot.* **2015**, 78, 2093–2098. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-121>.

UPADHYAY, B.P.; UTRARACHKIJ, F.; THONGSHOOB, J.; MAHAKUNKIJCHAROEN, Y.; WONGCHINDA, N.; SUTHIENKUL, O.; KHUSMITH, S. Detection of *Salmonella* inva gene in shrimp enrichment culture by polymerase chain reaction. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* **2010**, 41, 426–445.

WALLIS, T.S.; BARROW, P.A. *Salmonella* epidemiology and pathogenesis in food-producing animals. *Am. Soc. Microbiol.* **2005**, 1, 2324–6200. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.8.6.2.1>.

WANG, F.; JIANG, L.; YANG, Q.; HAN, F.; CHEN, S.; PU, S.; VANCE, A.; GE, B. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Major Foodborne Pathogens in Imported Seafood. *J. Food Prot.* **2011**, 74, 1451–1461. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-146>.

WANG, Y.; LIU, Y.; LYU, N.; LI, Z.; MA, S.; CAO, D.; PAN, Y.; HU, Y.; HUANG, H.; GAO, G.F.; et al. The temporal dynamics of antimicrobial-resistant-*Salmonella enterica* and predominant serovars in China. *Natl. Sci. Rev.* 2022, nwac269. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwac269>.

WANJA, D.W.; MBUTHIA, P.G.; WARUIRU, R.M.; BEBORA, L.C.; NGOWI, H.A.; NYAGA, P.N. Antibiotic and Disinfectant Susceptibility Patterns of Bacteria Isolated from Farmed Fish in Kirinyaga County, Kenya. *Int. J. Microbiol.* **2020**, 2020, 8897338. <https://doi.org/10.1155/2020/8897338>.

World Health Organization. Initiative to estimate the global burden of foodborne diseases. In Proceedings of the Fourth Formal Meeting of the Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group (FERG): Sharing New Results, Making Future Plans and Preparing Ground for the Countries, Geneva, Switzerland, 8–12 November 2010; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2014; p. 108.

VALENZUELA-ARMENTA, J.A.; DÍAZ-CAMACHO, S.P.; CABANILLAS-RAMOS, J.A.; DE JESUS URIBE-BELTRÁN, M.; DE LA CRUZ MD, C.; OSUNA-RAMÍREZ, I.; BÁEZ-FLORES, M.E. Microbiological analysis of tilapia and water in aquaculture farms from Sinaloa. *Biotechnia* **2018**, 20, 20–26.

YANG, X.; WU, Q.; ZHANG, J.; HUANG, J.; CHEN, L.; LIU, S.; YU, S.; CAI, S. Prevalence, enumeration, and characterization of *Salmonella* isolated from aquatic food products from retail markets in China. *Food Control* **2015**, 57, 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.046>.

YEN, N.T.P.; NHUNG, N.T.; VAN, N.T.B.; CUONG, N.V.; TIEN CHAU, L.T.; TRINH, H.N.; TUAT, C.V.; TU, N.D.; PHU HUONG LAN, N.; CAMPBELL, J.; et al. Antimicrobial residues, nontyphoidal *Salmonella*, *Vibrio* spp. and associated microbiological hazards in retail shrimps purchased in Ho Chi Minh city (Vietnam). *Food Control* **2020**, *107*, 106756. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106756>.

YILDIRIM, Z.; SAKIN, T.; ÇOBAN, F. Isolation of lytic bacteriophages infecting *Salmonellatyphimurium* and *Salmonella enteritidis*. *Acta Biol. Hung.* **2018**, *69*, 350–369. <https://doi.org/10.1556/018.68.2018.3.10>.

ZHANG, J.; YANG, X.; KUANG, D.; SHI, X.; XIAO, W.; ZHANG, J.; GU, Z.; XU, X.; MENG, J. Prevalence of antimicrobial resistance of nontyphoidal *Salmonella* serovars in retail aquaculture products. *Int. J. Food Microbiol.* **2015**, *210*, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.019>.

ZHAO, S.; DATTA, A.R.; AYERS, S.; FRIEDMAN, S.; WALKER, R.D.; WHITE, D.G. Antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from imported foods. *Int. J. Food Microbiol.* **2003**, *84*, 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00402-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00402-6).

CAPÍTULO II

OCORRÊNCIA E RASTREAMENTO DA ORIGEM DE CONTAMINAÇÃO POR *Salmonella* spp. EM PISCICULTURAS DE PEIXES NATIVOS NA REGIÃO DA BAIXADA CUIABANA E PANTANAL MATO-GROSSENSE BRASILEIRO

RESUMO

PORTO, Yuri Duarte. **Ocorrência e rastreamento da origem de contaminação por *Salmonella* spp. em pisciculturas de peixes nativos na região da baixada cuiabana e pantanal Mato-grossense brasileiro**. 2023. 99 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2023.

Estudos sobre a segurança microbiológica são de grande interesse na aquicultura, uma vez que os riscos de introdução e circulação de patógenos podem estar intimamente associados às falhas estratégicas das boas práticas agrícolas e manejo na produção. Embora o gênero *Salmonella* não pertença naturalmente ao habitat aquático ou microbiota dos peixes, os sistemas de criação piscícola em tanques escavados, abertos e sem renovação de água podem oferecer condições que propiciam contaminação e concentração da carga microbiana deste patógeno, e como resultado, persistir pós etapas de processamento e beneficiamento do produto de peixe, mantendo-se como risco microbiológico à saúde pública quando não totalmente eliminado. O presente estudo objetivou (i) investigar a ocorrência de *Salmonella* spp. em 25 fazendas de piscicultura de híbridos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) na região do pantanal e áreas próximas, (ii) caracterizar qualitativamente isolados quanto ao perfil de suscetibilidade a antimicrobianos, e (iii) identificar possíveis fontes de contaminação através de um inquérito epidemiológico e análises microbiológicas moleculares. Um total de 184 amostras (incluindo diferentes partes anatômicas de peixes, água, solo, fezes de animais, e ração de peixe) foram submetidas ao diagnóstico microbiológico direto para *Salmonella* spp. baseado na ISO 6579-1, e confirmados após leitura da reação da cadeia de polimerase (PCR) tendo como alvo o gene *hlyA*. Foi detectado *Salmonella* spp. em 31.5% (58/184) das amostras, o que representa uma ocorrência de 88% (22/25) nas pisciculturas estudadas. A maior contaminação foi encontrada em peixes (60.3%), com maior frequência nas vísceras, guelras, músculo e lavado externo do peixe, respectivamente. Nas amostras ambientais verificou-se contaminação das amostras da água (9/23), terra do tanque de criação (10/23), além de amostras fecais de animais domésticos e selvagens (4/23). Vinte e dois isolados de *Salmonella* spp. foram testados e 59.09% (13/22) foram classificados como multidroga resistentes. Portanto, nossos resultados revelam alta prevalência de *Salmonella* spp. durante a fase de criação de peixes nativos em tanques escavados e caracterizam um problema silencioso, visto que o peixe pode hospedar um patógeno multidroga resistente de interesse em saúde pública sem manifestar sintomas de infecção aparentes no animal. Considerando os resultados e rastreamento da contaminação de *Salmonella* spp. apontamos para necessidade da implementação de programas de biossegurança na atividade de piscicultura e reforço dos protocolos de boas práticas de fabricação nos abatedouros frigoríficos de peixes para evitar contaminações cruzadas.

Palavras-chave: *Salmonella*, *Colossoma macropomum*, piscicultura, resistência antimicrobiana.

ABSTRACT

PORTO, Yuri Duarte. **Occurrence and tracking of the source of contamination by *Salmonella* spp. in native fish farms in the region of Baixada Cuiabana and Pantanal in Mato Grosso do Sul, Brazil.** 2023. 99 p. Thesis (Doctorate in Veterinary Sciences) – Institute of Veterinary Medicine, Department of Animal Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2023.

Studies on microbiological safety are of great interest in aquaculture, since the risks of introducing and circulating pathogens may be closely associated with the strategic failures of good agricultural practices and management in production. Although the genus *Salmonella* does not naturally belong to the aquatic habitat or microbiota of fish, fish farming systems in excavated, open tanks and without water renewal can provide conditions that favor contamination and concentration of the microbial load of this pathogen, and as a result, persist after processing and improvement stages of the fish product, remaining as a microbiological risk to public health when not completely eliminated. The present study aimed to (i) investigate the occurrence of *Salmonella* spp. in 25 fish farms of tambaqui hybrids (*Colossoma macropomum*) in the Pantanal region and nearby areas, (ii) qualitatively characterize isolates in terms of antimicrobial susceptibility profile, and (iii) identify possible sources of contamination through an epidemiological survey and molecular microbiological analyses. A total of 184 samples (including different anatomical parts of fish, water, soil, animal feces, and fish feed) were subjected to direct microbiological diagnosis for *Salmonella* spp. based on ISO 6579-1, and confirmed after reading the polymerase chain reaction (PCR) targeting the *hlyA* gene. *Salmonella* spp. in 31.5% (58/184) of the samples, which represents an occurrence of 88% (22/25) in the studied fish farms. The highest contamination was found in fish (60.3%), with greater frequency in the viscera, gills, muscle and external washing of the fish, respectively. In the environmental samples, there was contamination of water samples (9/23), soil from the breeding tank (10/23), in addition to fecal samples from domestic and wild animals (4/23). Twenty-two *Salmonella* spp. were tested and 59.09% (13/22) were classified as multidrug resistant. Therefore, our results reveal a high prevalence of *Salmonella* spp. during the rearing phase of native fish in excavated tanks and characterize a silent problem, since the fish can host a resistant multidrug pathogen of public health interest without manifesting symptoms of infection in the animal. Considering the results and tracking of *Salmonella* spp. we point to the need to implement biosafety programs in fish farming activities and to reinforce good manufacturing practices protocols in refrigerated fish slaughterhouses to avoid cross-contamination.

Keys words: *Salmonella*, *Colossoma macropomum*, fish farm, antimicrobial resistance.

1 INTRODUÇÃO

Salmonella spp. é reconhecidamente um dos principais patógenos bacterianos veiculados pela água e alimentos contaminados pelo contato com material fecal, sendo causador de agravos à saúde pública, prejuízos aos setores produtivos e socioeconômicos, portanto mantido sobre vigilância em todo mundo (PORTO et al., 2023; WANG et al., 2022; FERRARI et al., 2019). Geralmente os casos de infecção humana por *Salmonella* spp. estão associados a falhas no controle higiênico-sanitários de uso da água, higienização ou manipulação dos alimentos ao longo da cadeia produtiva (SURYA et al., 2022; FERNANDES et al., 2021; PASTRO et al., 2019).

Salmonella spp. possui ampla distribuição ambiental e tem como habitat natural o trato intestinal de diversas espécies animais (aves, reptéis, anfíbios e mamíferos) (LA TELA et al. 2021; DRÓŽDŽ et al., 2021), entretanto, nos ambientes aquáticos a sua presença tem sido frequentemente relacionada aos efluentes de poluição humana, agrícola e industrial como principais fontes de contaminação em coleções de águas e, conseqüentemente, em áreas de atividade aquícola, gerando um ciclo de contaminação deste patógeno dentro da cadeia produtiva de pescado (CHAHOURI et al., 2022; SAIGAM et al., 2020; KLASE et al. 2019; FERNANDES et al., 2018).

A ocorrência de *Salmonella* spp. no pescado e em seus derivados têm sido relatada em amostras pouco processadas (PADOVANI et al., 2022; SURYA et al., 2022; GAWISH et al. 2021), congeladas (DON et al. 2020; CUNHA-NETO, 2019), durante a fase de processamento nos frigoríficos (SURYA et al., 2022; FERNANDES et al. 2021), ou de atividade piscícola (CUSTODIO et al. 2023; MOTA et al. 2021; DOS SANTOS et al. 2019), evidenciando que os produtos de pescado estão sujeitos à contaminação por este microrganismo patogênico introduzido na cadeia produtiva do peixe.

Na ocorrência de surtos a notificação obrigatória serve de alerta e promoção das tomadas de decisões para medidas de controle e prevenção, pois mesmo em menores porcentagens de casos acometidos, os pacientes podem ser vitimados em decorrência da gastroenterite causada pela salmonelose, acometendo mais de 94 milhões de pessoas e causando 160 mil mortes anualmente em todo o mundo (PINEDO et al., 2022; EFSA, 2021; CAETANO & PAGANO, 2019; BALASUBRAMANIAN et al., 2019).

A aquicultura é um importante setor produtivo em escala global, embora os casos de salmonelose não estejam intrinsecamente associados a matéria prima e consumo de peixes e outros derivados de pescado, não são raros os casos de ocorrência relatados ao longo dos anos, portanto estudos microbiológicos têm sido conduzidos neste segmento produtivo por diversos pesquisadores pelo mundo (PORTO et al., 2023). De maneira geral, os alimentos derivados do pescado têm apresentado inadequação na cadeia para chegar ao consumidor de forma segura.

Nesse sentido, *Salmonella* spp. têm sido relatadas em amostras do ambiente de criação piscícola (água de cultivo e sedimentos) e de peixes criados (superfície externa, guelras, músculo, vísceras e fezes) (CUSTODIO et al., 2023; PORTO et al. 2023; ANTUNES et al. 2018). Contudo, diversos pesquisadores apontam o fato de não haver evidências científicas que comprovem a capacidade de *Salmonella* spp. desencadear doenças nos peixes (PORTO et al. 2023; KODAMA et al., 1987). Entretanto este microrganismo tem demonstrado notável adaptação fisiológica, pois este patógeno é capaz de ser carreado e continuamente ser eliminado nas fezes por peixes durante longos períodos (DOS SANTOS et al., 2019). Portanto, a configuração de um ciclo de contaminação via oro-fecal dentro do ambiente aquático por animal-ambiente (ou vice-versa) e transmissão animal-animal, favorece a permanência e transmissão contínua de *Salmonella* spp. nos

ambientes de práticas aquícolas (GAUTHIER, 2015). Evidências de casos em que as infecções humanas estejam ligadas ao consumo de peixe com infecção por *Salmonella* spp. não existem, portanto, essa bactéria não pode ser caracterizada como uma zoonose estrita (GAUTHIER, 2015).

Diferentes sorotipos de *Salmonella* spp. foram descritos em peixes em vários países como *S. Hadar* no Brasil (DOS SANTOS et al., 2019), *S. Weltevreden*, *S. Typhimurium* e *S. Stanley* na China (LI et al., 2017), *S. Corvallis*, *S. Mbandaka*, *S. Typhimurium* na Malaysia (SING et al., 2016), *S. Enteritidis* no Kenya (WANJA et al., 2020), e *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* na Nigéria (EFUNTOYE et al., 2012).

A produção brasileira de peixes nativos criados, que incluem o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e a pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) tem o Estado de Mato Grosso como a maior região de produção de seus híbridos (tambatinga e tambacu) do país, com 23.6 toneladas (IBGE, 2021). Dentre os principais atrativos para criação e produção desses peixes, destacam-se notáveis características zootécnicas, dentre elas, a facilidade de obtenção de juvenis, bom potencial de crescimento, alta rusticidade e grande aceitação pelo mercado consumidor, que ganha impulso com a redução nos estoques naturais de tambaqui e qualidade superior desse tipo de peixe produzido em cativeiro (EMBRAPA, 2016).

A piscicultura brasileira possui sistema semi-intensivo em viveiros escavados e de barragens como principal sistema de produção, representando cerca de 80% da atividade (VALENTI et al. 2021). O potencial de peixes nativos atuarem como acidentais carreadores de *Salmonella* spp., informações sobre sorotipos associados a esses hospedeiros, possíveis fontes de contaminação e diversidade genética de cepas são dados a serem preenchidos com pesquisas (DOS SANTOS et al.; 2019).

Nesse contexto, o presente estudo buscou estabelecer a ocorrência de *Salmonella* spp. em peixe nativo tambatinga - (♀ *Colossoma macropomum* x ♂ *Piaractus brachypomus*) nas pisciculturas da região do pantanal de Mato Grosso (baixada cuiabana), identificar fontes de contaminação dos tanques escavados usados para produção de peixes e caracterizar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos das cepas isoladas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Financiamento da pesquisa

A presente pesquisa obteve financiamento e dados gerados como parte do projeto de pesquisa da Embrapa Agroindústria de Alimentos (Guaratiba – RJ) intitulado “Ocorrência de *Salmonella* spp. em tambaqui cultivado e seus híbridos e desenvolvimento de boas práticas e tecnologias para sua prevenção e controle (Salmocontrol)” (Código SEG: 20.19.03.049.00.00), e como parte do projeto de pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) intitulado “Prevalência de *Salmonella* spp. em pisciculturas e desenvolvimento de tecnologias para sua prevenção e controle em peixes nativos no Estado de Mato Grosso, Brasil.”

2.2. Amostragem

2.2.1 Pisciculturas

As coletas a campo foram realizadas em 25 fazendas piscícolas distribuídas em oito municípios dentro na região do pantanal mato-grossense e áreas circunvizinhas, no estado de Mato Grosso, centro-oeste do Brasil (Figura 1, Quadro 1), durante o período de novembro de 2021 a junho de 2022, que abrangeu estação com chuvas – novembro a abril e o período de seca – de maio a outubro. Os piscicultores foram convidados e participaram voluntariamente do estudo. Todas as pisciculturas visitadas possuíram como característica em comum o sistema de criação em tanques escavados e fonte d’água essencialmente de água acumulada da chuva.

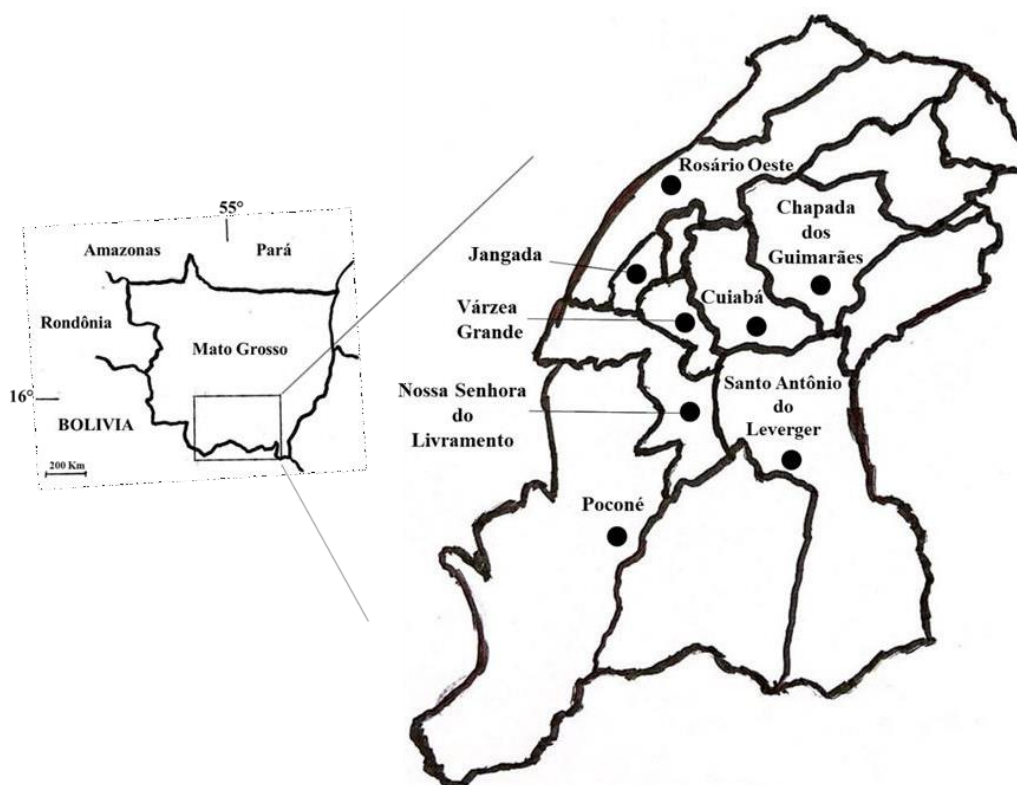


Figura 1: Distribuição geográfica das 25 pisciculturas visitadas localizadas em oito municípios dentro e próximos ao pantanal mato-grossense, Mato Grosso, Brasil. **Fonte:** Informações adaptadas de IBGE, 2017.

Quadro 1: Coordenadas geográficas dos municípios e distribuição das vinte e cinco pisciculturas visitadas para coleta de amostras durante o período de novembro de 2021 a junho de 2022.

| Pisciculturas | Municípios | Coordenadas Geográficas |
|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| f21, f22, f23 | Chapada dos Guimarães | S15°27'38'' W55°44'59'' |
| f8, f25 | Cuiabá | S15°35'56'' W56°06'05'' |
| f9 | Jangada | S15°14'08'' W56°29'21'' |
| f4, f5, f6, f10, f11, f13, f14, f17 | Nossa Sra. do Livramento* | S15°46'30'' W56°20'44'' |
| f18 | Poconé* | S16°15'84'' W56°37'22'' |
| f19 | Rosário Oeste | S14°50'10'' W56°25'39'' |
| f1, f7, f20, f24 | Santo Antônio do Leverger* | S15°51'56'' W56°04'36'' |
| f2, f3, f12, f15, f16 | Várzea Grande | S15°38'49'' W56°07'58'' |

Legenda: *municípios dentro na região do pantanal mato-grossense.

2.3 Desenho do Estudo

No momento da coleta na piscicultura, um tanque de criação de tambatinga (♀ *Colossoma macropomum* x ♂ *Piaractus brachypomus*) – espécie híbrida do cruzamento entre tambaqui (*Colossoma macropomum*) e pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) – foi sorteado aleatoriamente para coleta. No tanque até quatro espécimes foram coletados perfazendo um total de 72 animais, com peso médio total de 1,3 kg. Amostras de água (25) e terra/sedimentos do entorno do tanque de criação (25) foram coletados, bem como ração oferecida aos peixes em cada propriedade. No Laboratório, cada amostra de peixe foi dividida em unidades analíticas compreendidas por partes anatômicas, representadas por 25 unidade amostral de lavado externo do peixe, 25 guelras, 25 músculos da costela (semescamas) e 25 vísceras (esôfago, estômago, fígado e intestino – com ou sem fezes), um pool dos animais coletados na propriedade foi preparado. Também foram coletadas amostras de fezes animais em 9 pisciculturas (f17, f18, f19, f20, f21, f22, f23, f24, e f25), compondo um pool de fezes de animais domésticos (cão), produção (frango, caprino, ovino, bovino e cavalo) e silvestres (aves e mamíferos) encontradas circundantes aos tanques de criação. Na Figura 2 apresenta o fluxograma resumido de coleta das amostras nas pisciculturas e análises laboratoriais.

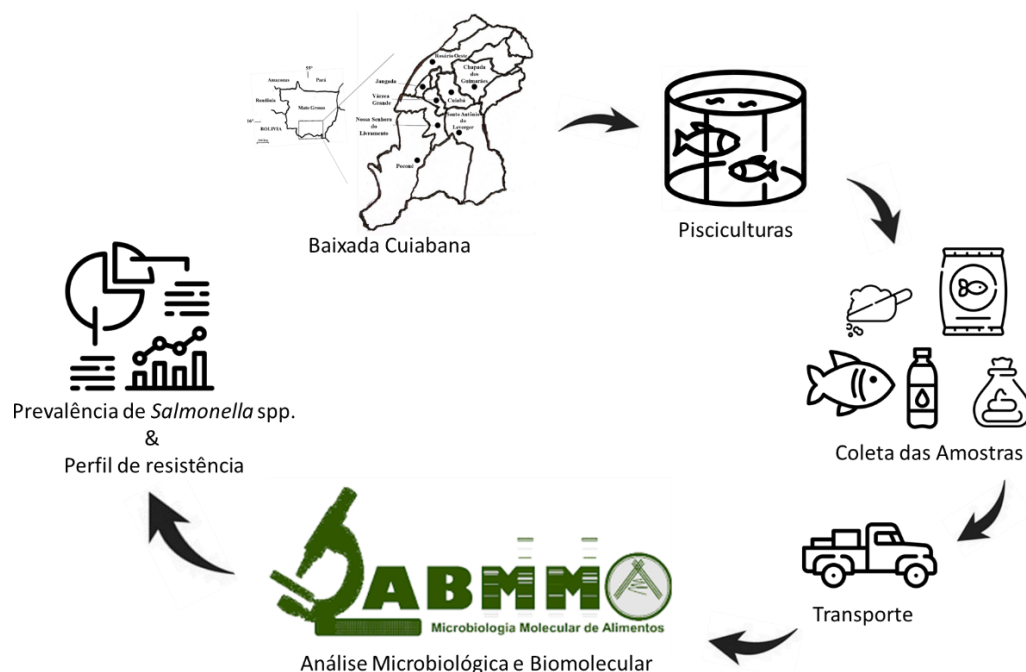


Figura 2: Fluxograma resumido das etapas de coleta das amostras das pisciculturas e análises laboratoriais para *Salmonella* spp.

2.4 Coleta das Amostras

Aleatoriamente, os peixes foram capturados com isca e anzol, depositados individualmente em saco de polietileno estéril transparente (capacidade de 5000 mL) e acondicionados na caixa isotérmica com gelo. Uma garrafa de vidro estéril foi utilizada para coletar 1000 mL da água do tanque de criação, enquanto individualmente em outros sacos de polietileno estéril transparente (capacidade de 500 mL) foram acondicionadas amostras de terra de cinco pontos aleatórios em torno do tanque de criação, amostras de ração de peixe; e amostras de fezes de cão, animais de produção (frango, caprino, ovino, bovino e cavalo), diversas espécies de aves silvestres e mamíferos silvestres encontradas próximas dos tanques de criação, que incluíram *Hydrochoerus hydrochaeris* (capivara) e *Tapirus terrestris spegazzinii* (anta-brasileira), endêmicas da região de Mato Grosso, Brazil.

2.5 Inquérito Epidemiológico

Durante as visitas nas pisciculturas foi realizado um levantamento epidemiológico por meio de um *check-list* (item 3.5, Tabela 3) que reuniu informações acerca do ambiente de criação e manejo da produção. O *check-list* contemplou quatro tópicos principais: (I) fonte da água; (II) sistema de produção – tipos de tanques de criação, renovação de água, tratamento (afluente/efluente); (III) criação – espécies aquáticas, origem, ciclos de criação/fases de produção, outra produção animal; (IV) biossegurança – animais terrestres (domésticos e selvagens) nos tanques de criação, barreiras (animais terrestres e aves), controle de trânsito (pessoas e veículos), equipamentos de manejo (padronizado), tratadores (uniforme/Equipamento de Proteção Individual – EPI), ração (produzida, inspecionada, armazenamento, local - controle de roedores).

2.6 Detecção de *Salmonella* spp.

Todas as análises de diagnóstico microbiológico, molecular e perfil de resistência a antimicrobianos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Molecular de Alimentos (LABMMA), na Faculdade de Nutrição (FANUT), localizado na Universidade

Federal de Mato Grosso (UFMT). As etapas de análises podem ser observadas no esquema apresentado pela Figura 3.

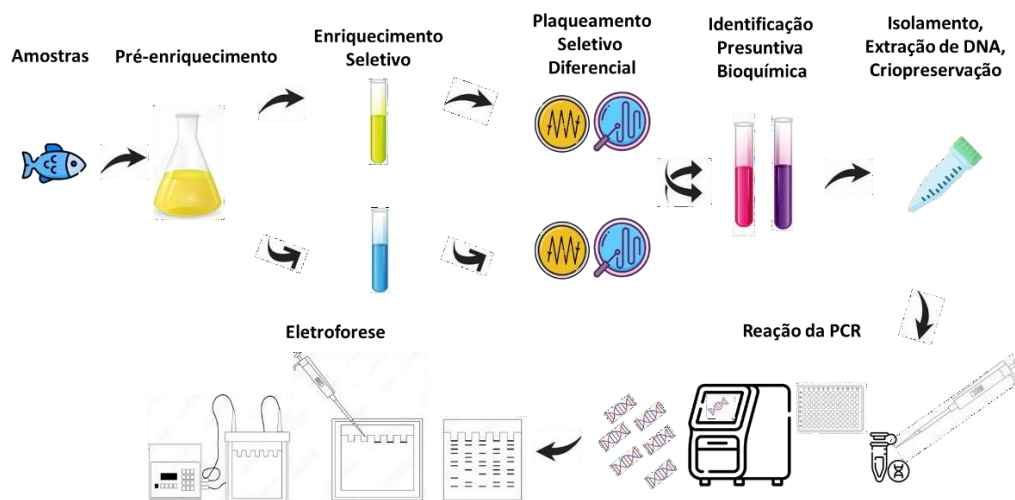


Figura 3: Esquema resumido das etapas de análise microbiológica e molecular para *Salmonella* spp.

2.7 Preparo da unidade analítica

Cada peixe previamente acondicionado em saco de polietileno estéril transparente foi pesado, e em seguida adicionada solução salina peptonada (0.1%, p/v, Oxoid, Basingstoke, Reino Unido) na proporção de 1:4 (ml/g; diluente/massa do peixe), seguido de homogeneização por massagem manual durante 5 min (ISO, 2015). O enxague resultante deste lavado externo foi então transferido para Becker estéril, compondo a unidade analítica do lavado externo do peixe a ser performada conforme o item 2.8. Em seguida, cada peixe foi transferido para bandeja de aço inox estéril, e então com auxílio de lâminas de bisturi e pinças estéreis realizou-se a extração das demais unidades analíticas em sequência: guelras, musculatura costal unilateral e as vísceras (esôfago, estômago, fígado e intestino – com ou sem fezes), compreendendo todas as unidades analíticas do peixe.

2.8 Análise Microbiológica para *Salmonella* spp.

As unidades de analíticas foram submetidas ao protocolo baseado na ISO 6579-1 (ISO, 2017). Para tanto, 25g (ou 25mL) de cada unidade amostral foi inoculada em Água Peptonada Tamponada e incubada por 24h à 37 °C em estufa BOD, após este período alíquota de 0.1 mL foi transferido para tubos contendo 10mL com caldo seletivo Rappaport-Vassiliadis (RVS) e 1mL para tubos contendo 9mL de caldo Tetracionato (TT), incubados por 24h a 42 ±5 °C e 37 °C, respectivamente, semeadas em ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), incubados a 37 °C por 24 h, e em ágar Verde Brilhante (AVB), sendo incubados por 24h a 41.5 °C para inóculo vindo do caldo RVS, e a 37 °C aqueles vindos do caldo TT, respectivamente. Após isto, uma a cinco colônias típicas em XLD, translúcida com halo vermelho com centro negro ou não, e em AVB translúcida com halo vermelho foram selecionadas e repicadas em ágar Nutriente, incubado a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, submetida aos testes bioquímicos em Triple Sugar Iron Agar (TSI) e Lysine Iron Agar (LIA). As colônias com resultados presumivelmente positivos para *Salmonella* spp. foram conduzidas para posterior análise em PCR convencional.

2.9 Análise Molecular para *Salmonella* spp.

Extração do DNA

A extração de DNA cromossomal dos isolados foi realizada por lise térmica em etapas de centrifugação de 1 mL da cultura em microtubo eppendorf (1.5 mL) a 15.000 rpm durante 5 min, retirada de sobrenadante, e o pellet ressuspendido com água ultrapura e aquecimento em termo bloco a 100 °C por 10 min e resfriamento a -20 °C por 10 min, retirado o sobrenadante com DNA mantido sob congelamento -20°C.

Preparo da Reação de Cadeia de Polimerase (PCR)

Para a reação da PCR foi utilizado o gene *hlyA* que amplificam produto de 497 pb, específico para *Salmonella* spp. (GUO et al., 2000). A reação foi realizada no volume final de 25 µL, contendo água ultrapura (15.05 µL), 1x tampão de reação (2.5 µL), 3.5 mM de MgCl₂ (1.75 µL), 0.2 mM de dNTPs (Fermentas[®]) (0.5 µL), 1 mM de forward primer (1 µL) e reverse primer (1 µL) (Fermentas[®]), 1 U de Taq DNA polimerase Platinum (Fermentas[®]) (0.2 µL) e aproximadamente 40 ng/µL de DNA bacteriano (3 µL). As condições da reação foram: desnaturação inicial a 94 °C por 5 min, seguidos de 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 1 min, anelamento a 58 °C por 1 min e extensão a 72 °C por 1 min, e uma extensão final a 72 °C por 10 min no termociclador Veriti[®] (Applied Biosystems[®]). Os produtos da PCR foram analisados em eletroforese de gel de agarose a 1,5%.

2.10 Antibiograma

A técnica de difusão em disco para analisar *in vitro* a suscetibilidade antimicrobiana de acordo com Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) foi utilizada. Cada cepa foi inoculada em caldo Müller-Hinton e incubado a 37 °C por 16 a 18 h. A turbidez do meio foi ajustada àquela da escala de McFarland 0.5 (aproximadamente 10⁸ cfu/ml) semeadas por *swarming* em placa de ágar Müller-Hinton. Então discos contendo antimicrobianos foram distribuídos equidistantes, e em seguida incubados a 35 °C por 16 a 20h (BAUER et. al, 1966). Os 11 antimicrobianos utilizados foram: ampicilina (10µg), azitromicina (15µg), cefepime (30µg), cefoxitina (30µg), ceftiofur (30µg), ciprofloxacina (5µg), cloranfenicol (30µg), sulfametoxazol-trimetoprim (25µg), imipenem (10µg), nitrofurantoina (300µg) e sulfonamidas (300µg). Os halos de inibição foram medidos e classificados como cepas sensíveis (S), intermediárias (I) ou resistentes (R) de acordo com a sessão Enterobacteriaceae (CLSI, 2021). As cepas que apresentaram resistência a antibióticos de três ou mais classes químicas foram classificadas como Multidroga Resistente (MDR) (MAGIORAKOS et al., 2012). Vinte e duas cepas de *Salmonella* spp. isoladas das amostras de peixe e ambiente foram selecionadas para avaliação qualitativa do perfil de resistência a onze antimicrobianos pertencentes a oito diferentes classes.

2.11 Análises Estatísticas

Os dados foram avaliados através de análises exploratórias com o intuito de descrever a presença ou ausência de *Salmonella* spp.

Para verificar as possíveis associações entre a ocorrência de *Salmonella* spp. e as demais variáveis da pesquisa foram utilizados os testes não-paramétricos de Qui-Quadrado, quando ambas as variáveis são categóricas, o teste de *Mann-Whitney*, quando pelo menos uma variável é quantitativa, e teste de Correlação de *Spearman*, quando ambas as variáveis são quantitativas (CONOVER, 1999). Para todos os testes foi adotado um nível de significância de $\alpha = 0.05$.

As variáveis utilizadas no estudo de associação com a ocorrência de *Salmonella* spp. foram categorizadas conforme apresentado no Quadro 2.

Quadro 2: Variáveis, categorias e legendas para o estudo de associação.

| Variáveis | Categorias | Legenda |
|------------------|--|--|
| salmonella | positivo negativo | diagnóstico de <i>Salmonella</i> spp. |
| estação | seca cheia | período de coleta das amostras na estação ‘seca’ (maio-outubro) e ‘cheias’ (novembro-abril). |
| bioma | pantanal cerrado | tipo de bioma regional a qual a piscicultura está localizada. |
| tanque | chuva chuva e rio | fonte de abastecimento dos tanques de criação com água da ‘chuva’ (sem renovação) e ‘chuva e rio’ (mínima renovação). |
| amostra | peixe ambiente | matriz das amostras coletadas. |
| sítio de análise | escamas guelras músculo vísceras água terra | unidades analíticas retiradas das amostras e submetidas ao cultivo microbiológico direto. |
| (n) peixe | 1 espécime ≥ 2 espécimes | quantidade de peixes coletados por piscicultura. |
| (peso) peixe | $< 1,3$ Kg $\geq 1,3$ Kg | média do peso dos peixes coletados por piscicultura baseado na média total de peixes amostrados ($n = 72$ espécimes; peso médio total = $1,3$ Kg) |

Foi utilizada a técnica multivariada chamada Análise de Correspondência Múltipla (ACM) para investigar as possíveis relações existentes entre a ocorrência de *Salmonella* spp. (‘salmonella’) e as estações do ano em que foram coletadas as amostras (‘estação’), localização da piscicultura (‘bioma’), o tipo de abastecimento dos tanques de criação sem renovação de água ou com mínima renovação (‘tanque’), e a matriz da amostra coletada (‘amostra’). ACM é uma técnica da estatística descritiva multivariada que permite representar visualmente relações entre variáveis categóricas, por meio de proximidades e distâncias relativas em um espaço cartesiano (GREENACRE et al.; 2014; GREENACRE; 1988). Esta técnica foi escolhida, portanto, por oferecer a possibilidade de análise de um banco de dados com grande número de variáveis nominais, cujas categorias não podem ser ordenadas (diretamente) (GREENACRE et al.; 2014; GREENACRE; 1988). A ACM facilita a interpretação de variáveis categóricas nas tabelas cruzadas, fornecendo informações sobre as semelhanças, divergências e associações entre as variáveis de linha e coluna (ALVES et al., 2020).

Toda a análise de dados foi realizada usando o pacote estatístico R[®] versão 4.2.3 (R CORE TEAM, 2023). As principais bibliotecas utilizadas foram “tableone” (YOSHIDA & BARTEL, 2022), para realização dos testes não-paramétricos; “ggpubr” (KASSAMBARA,

2023), para confecção de alguns gráficos; “FactoMiner” (LE et al, 2008) e “factoextra” (KASSAMBARA et al., 2020) para análise multivariada.

3 RESULTADOS

3.1 Isolamento bacteriano e distribuição

A partir da PCR foi possível confirmar a identificação 110 isolados de *Salmonella* spp. A distribuição do número das cepas de *Salmonella* spp. por piscicultura variou de uma única cepa (f3, f5 e f6) a 11 como verificado na piscicultura f10 (Tabela 1).

Dentre o total de cepas de *Salmonella* spp. 62.7% (69/110) foram isoladas do peixe com predomínio a partir das vísceras (esôfago, estômago, fígado e intestino – com ou sem fezes) representando 26.4% (29/69). Dentre as cepas de *Salmonella* spp. isoladas do ambiente 17.3% (19/41) foram isoladas com predomínio a partir da terra dos tanques de criação (Tabela 1).

A distribuição das cepas por região foi de 49.1% (54/110) isolados de 11 pisciculturas localizadas nos municípios da região do pantanal mato-grossense, enquanto 50.9% (56/110) das cepas foram isoladas das demais 12 pisciculturas positivas localizadas em regiões circunvizinhas ao pantanal (Quadro 1).

As pisciculturas localizadas nos municípios da região do pantanal mato-grossense (Nossa Senhora do Livramento, Poconé e Santo Antônio do Leverger) foram responsáveis por 52% das amostras analisadas, e por 49.1% das cepas de *Salmonella* spp. isoladas (Tabela 1).

3.2 Prevalência de *Salmonella* spp.

Salmonella spp. esteve presente em 31.5% (58/184) das amostras o que representou uma prevalência de 88% nas pisciculturas avaliadas (22/25). A distribuição de amostras contaminadas com *Salmonella* spp. foi heterogênea variando de uma a seis amostras contaminadas por piscicultura (Tabela 1). Entretanto, observou-se que em três pisciculturas não houve detecção de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas.

3.3 Sítios de análise

Salmonella spp foi identificada em 60.3% (35/58) das amostras de peixe e 39.7% (23/58) de amostras ambientais (Tabela 1). Nos peixes, entre as 35 amostras positivas para *Salmonella* spp. 11 foram isoladas de vísceras (esôfago, estômago, fígado e intestino – com ou sem fezes), 10 de guelras, 9 dos músculos da costela, e 5 do lavado externo do peixe, positividade observada em onze pisciculturas de sete municípios, exceto em Cuiabá (Tabela 1). Nas amostras ambientais, entre as 23 positivas para *Salmonella* spp. 10 foram isoladas de terra, 9 de água e 4 de amostras fecais de animais domésticos e selvagens (Tabela 1), positividade observada em dez pisciculturas, representando os oito municípios.

A detecção de *Salmonella* spp. tanto em amostras de peixe quanto em amostras ambientais ocorreu em treze pisciculturas, representando sete municípios (exceto Cuiabá). Cuiabá foi o único município sendo detectado *Salmonella* spp. em pisciculturas somente em amostras ambientais (fezes). Somente nas pisciculturas f21 e f23 (Chapada dos Guimarães) e f10 (Nossa Sra. do Livramento) foram isoladas *Salmonella* spp. em todas as unidades de análise do peixe (escamas, guelras, músculo e vísceras). Enquanto apenas na piscicultura f20 (Chapada dos Guimarães), *Salmonella* spp. foi isolada em de todas as amostras ambientais (água e terra dos tanques, e fezes animais), e na piscicultura f24 (Sto. Antônio de Leverger) foi isolado de água e terra dos tanques, mas nas amostras de fezes não foi detectado.

Não foi detectado *Salmonella* spp. nas amostras de ração de peixe testadas.

Tabela 1: Frequência e distribuição dos isolados de *Salmonella* spp. identificados pelo gene *hilA* em amostras de peixe e ambientais.

| Sítios de análise | Total <i>Salmonella</i> spp. isolada (%) | Municípios/ (n) pisciculturas | | | | | | | |
|-------------------|--|--|-------------------|--------------------|--|-------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| | | Chapada dos Guimarães (n = 3) | Cuiabá (n = 2) | Jangada (n = 1) | Nossa Sra. do Livramento (n = 8) | Poconé (n = 1) | Rosário Oeste (n = 1) | Sto. Antônio do Leverger (n = 4) | Várzea Grande (n = 5) |
| | | Cepas de <i>Salmonella</i> spp. isoladas (pisciculturas) | | | | | | | |
| Amostra de Peixe | 69 (62.7) | | | | | | | | |
| escamas | 13 (11.8) | 3(f21); 1(f23) | 0 | 0 | 3(f10) | 0 | 0 | 2(f20); 4(f24) | 0 |
| guelras | 15 (13.6) | 2(f21); 2(f23) | 0 | 1(f9) | 1(f10) | 3(f18) | 1(f19) | 2(f1); 1(f24) | 1(f2); 1(f16) |
| músculo | 12 (10.9) | 3(f21); 1(f22); 1(f23) | 0 | 0 | 2(f10); 1(f11); 1(f17) | 0 | 0 | 1(f20) | 1(f3); 1(f12) |
| vísceras | 29 (26.4) | 2(f21); 2(f22); 2(f23) | 0 | 0 | 3(f10); 2(f11); 1(f13); 2(f14); 2(f17) | 4(f18) | 6(f19) | 0 | 3(f2) |
| Amostra Ambiental | 41 (37.3) | | | | | | | | |
| água | 16 (14.5) | 1(f22); 3(f23) | 0 | 2(f9) | 1(f5); 2(f11) | 2(f18) | 0 | 2(f20); 1(f24) | 2(f12) |
| terra | 19 (17.3) | 2(f22); 1(f23) | 0 | 0 | 2(f6); 2(f10); 1(f14) | 0 | 3(f19) | 1(f20); 2(f24) | 3(f15); 2(f16) |
| fezes* | 6 (5.5) | 1(f22) | 2(f25) | - | 2(f17) | 1(f18) | 0 | 0 | - |
| Outra Amostra | | | | | | | | | |
| ração de peixe | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Nenhuma** | - | - | f8 | - | f4 | - | - | f7 | - |
| (n) Total (%) | 110 (100.0) | 27 (24.6) | 2 (1.8) | 3 (2.7) | 28 (25.5) | 10 (9.1) | 10 (9.1) | 16 (14.5) | 14 (12.7) |

Legenda: *fezes: nove amostras de fezes foram coletadas em nove pisciculturas: f17, f18, f19, f20, f21, f22, f23, f24 e f25.

**Nenhuma: *Salmonella* spp. não foi detectada.

3.4 Perfil antimicrobiano

Um total 22 cepas de *Salmonella* spp. foram avaliadas quanto a susceptibilidade a antimicrobianos. Destas, 59.1% (13/22) foram classificadas como multidroga resistentes (MDR), por apresentarem resistência a três diferentes classes ou mais de antimicrobianos (Tabela 2). Destacamos que uma cepa não apresentou resistência a nenhum dos onze antimicrobianos testados, esta cepa foi isolada de amostra do solo da piscicultura f15 (Tabela 2).

Os antimicrobianos aos quais a maioria das cepas testadas apresentaram resistência foram a macrolídeos (azitromicina), nitrofurano (nitrofurantoína) e penicilina (ampicilina) e aos inibidores da via do folato (sulfametoxazol + trimetoprim), respectivamente (Tabela 2). Entre as cepas classificadas como Multidroga Resistentes (MDR) seis foram isoladas em pisciculturas localizadas em municípios localizados no pantanal, tais como, Nossa Senhora do Livramento, Poconé e Santo Antônio do Leverger, (Tabela 2).

Tabela 2: Perfil de resistência aos antimicrobianos testados nos diferentes isolados das pisciculturas.

| Classe molecular/ Antimicrobiano | Total <i>Salmonella</i> spp. resistente (%) | Sítio de análise de origem da cepa de <i>Salmonella</i> spp. isolada (n) de cada piscicultura | | | | | | |
|---------------------------------------|---|---|--------------------|--------------------|------------------------------|-----------------|------------------|------------------|
| | | escamas (n = 4) | guelras (n = 5) | musculo (n = 2) | víscera (n = 7) | água (n = 1) | terra (n = 2) | fezes (n = 1) |
| Penicilinas | | | | | | | | |
| Ampicilina (AMP) | 11 (50.0) | f21; f24 | f9; f18; f23 | f3 | f11; f19; f22 | f5 | 0 | f25 |
| Macrolídeos | | | | | | | | |
| Azitromicina (AZM) | 18 (81.8) | f10; f20; f21; f24 | f1; f16; f18; f23 | f3; f12 | f2; f11; f13; f17; f22 | f5 | f6 | f25 |
| Cefalosporinas | | | | | | | | |
| Cefepime (CPM) | 2 (9.1) | f20 | f9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Cefoxitina (CFO) | 4 (18.2) | f24 | f9 | 0 | f11 | 0 | 0 | f25 |
| Ceftiofur (CTF) | 6 (27.3) | f21; f24 | f9; f23 | 0 | f17 | 0 | 0 | f25 |
| Quinolonas | | | | | | | | |
| Ciprofloxacina (CIP) | 6 (27.3) | f20; f21 | f9; f18; f23 | 0 | 0 | 0 | 0 | f25 |
| Fenicol | | | | | | | | |
| Clofanfenicol (CLO) | 3 (13.6) | f21 | f9 | 0 | 0 | 0 | 0 | f25 |
| Carbapenemos | | | | | | | | |
| Imipenem (IPM) | 6 (27.3) | f20; f24 | f16; f18; f23 | 0 | f22 | 0 | 0 | 0 |
| Nitrofuranos | | | | | | | | |
| Nitrofurantoina (NIT) | 16 (72.7) | f20; f21; f24 | f9; f16; f18; f23 | f3 | f11; f13; f14; f17; f19; f22 | f5 | 0 | f25 |
| Antagonista cadeia Folato | | | | | | | | |
| Sulfametoxazol + Trimetoprim (SUT) | 4 (18.2) | 0 | f1 | f3 | 0 | f5 | f6 | 0 |
| Sulfonamidas (SSS) | 11 (50.0) | f10 | f1; f23 | f3; f12 | f2; f11; f17; f22 | f5 | f6 | 0 |
| DS* | 1 (4.5) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | f15 | 0 |
| DR* | 8 (36.4) | f10 | f1 | f12 | f2; f13; f14; f19 | 0 | f6 | 0 |
| MDR | 13 (59.1) | f20; f21; f24 | f9; f16; f18; f23 | f3 | f11; f17; f22 | f5 | 0 | f25 |

Legenda: *DS, *Salmonella* spp. não apresentou resistência a nenhum dos 11 antimicrobianos. **DR, *Salmonella* spp. resistentes a 1 ou 2 classes de antimicrobianos. ***MDR, *Salmonella* spp. com multirresistência foi definida quando houve resistência a três ou mais classes diferentes de antimicrobianos.

3.5 Inquérito Epidemiológico

Durante as visitas e coleta das amostras nas pisciculturas foram observadas informações acerca do ambiente de criação e manejo da produção. Através de um *check-list* que contemplou quatro tópicos principais: (I) fonte de água; (II) sistema de produção (III) criação e (IV) biossegurança (Tabela 3).

Apesar das grandes distâncias entre todas as fazendas e suas particularidades foi possível identificar que estas compartilham semelhanças entre si, características comuns quanto ao ambiente e manejo de produção, não havendo distinção quanto ao sistema e manejo das pisciculturas dos municípios pertencentes a região do pantanal (Nossa Sra. do Livramento, Poconé e Sto. Antônio do Leverger), quanto aquelas dos município das regiões circunvizinhas, tais como Chapada dos Guimarães, Cuiabá, Jangada, Rosário Oeste e Várzea Grande (Quadro 1, Figura 1 e Tabela 3).

Todos os tanques de criação das fazendas foram do tipo escavado em contato direto com a terra, abastecidos pelo armazenamento de água da chuva, com exceção em Chapada dos Guimarães, sustentado por uma fonte hídrica próxima (rio), (Tabela 3). Não foram observados manejo específico de renovação das águas dos tanques. Também não foram observados manejo de tratamento sanitário prévio das águas dos tanques de criação ou dos efluentes da produção.

Quanto ao sistema de produção observou-se a predominância de recria de alevinos adquiridos de outros produtores. Sendo que na maioria das fazendas o manejo adotado foi o de policultivo com outras espécies de peixes nativos, ou ainda, houve diversos casos de presença de espécies de peixe consideradas acidentais nos tanques de criação, pois não tinham finalidade de produção. Em duas pisciculturas (em Várzea Grande e Rosário Oeste) foram observados manejo desde a fase de produção dos alevinos. De maneira geral foi observado que nas fazendas eram realizadas outras atividades de produção animal (frango, suínos, caprinos, ovinos e bovinos) e vegetal (hortaliças, milho e tubérculos) concomitantes a prática da piscicultura (Tabela 3).

Os tanques de criação apresentaram características essencialmente rústicas, expostos a fatores ambientais, bem como outras fragilidades de manejo de controle. Foram observados livre acesso de aves e outros animais terrestres (pets, animais de produção e silvestres) aos tanques de criação. Não foram observados manejo específico de controle de trânsito de pessoal ou veículos na produção piscícola. Não foram observados padronização do uso de equipamentos de manejo exclusivo da piscicultura. Também não foram observados padronização dos uniformes/EPI dos tratadores. Todas as pisciculturas utilizaram rações comerciais (inspecionadas e dentro da validade), armazenadas em galpões, porém não foram observadas armadilhas para controle de roedores (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição por município e as principais características observadas pelo *check-list*, identificação das cepas de *Salmonella* spp. isoladas e perfil antimicrobiano observados nas 25 pisciculturas visitadas.

| Principais tópicos do <i>check-list</i> | Municípios/ (n) pisciculturas | | | | | | | |
|---|----------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| | Chapada dos Guimarães (n = 3) | Cuiabá (n = 2) | Jangada (n = 1) | Nossa Sra. do Livramento (n = 8) | Poconé (n = 1) | Rosário Oeste (n = 1) | Sto. Antônio do Leverger (n = 4) | Várzea Grande (n = 5) |
| Fonte de água | | | | | | | | |
| chuva | nenhum | 1 | 1 | 8 | 1 | 1 | 4 | 4 |
| chuva/rio | 3 | 1 | nenhum | nenhum | nenhum | nenhum | nenhum | 1 |
| Criação | | | | | | | | |
| recria | 3 | 2 | 1 | 8 | 1 | 1 | 4 | 4 |
| policultivo | 1 | 1 | 1 | 4 | nenhum | 1 | 2 | 2 |
| outra produção (animal ou vegetal) | 3 | 2 | 1 | 8 | 1 | 1 | 4 | 5 |
| Sistema de produção | | | | | | | | |
| tanques escavados | 3 | 2 | 1 | 8 | 1 | 1 | 4 | 5 |
| renovação de água (mínima) | 3 | 1 | nenhum | nenhum | nenhum | nenhum | nenhum | 1 |
| tratamento (efluente/afluente) | nenhum | nenhum | nenhum | nenhum | nenhum | nenhum | nenhum | nenhum |
| Biossegurança | | | | | | | | |
| barreiras (tanque sorteado) | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado |
| controle de tráfego | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado |
| tratadores (uniforme/EPI) | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado |
| equipamentos (padronizado) | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado |
| controle de roedores | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado | não observado |
| <i>Salmonella</i> spp. | | | | | | | | |
| amostras de peixe | f21; f22; f23 | nenhum | f9 | f10; f11; f13; f14; f17 | f18 | f19 | f1; f20; f24 | f2; f3; f12; f16 |
| amostras de ambiente | f22; f23 | f25 | f9 | f5; f6; f10; f11; f14; f17 | f18 | f19 | f20; f24 | f12; f15; f16 |
| DR* | nenhum | nenhum | nenhum | f6; f10; f13; f14 | nenhum | f19 | f1 | f2; f12 |
| MDR** | f21; f22; f23 | f25 | f9 | f5; f11; f17 | f18 | nenhum | f20; f24 | f3; f16 |
| NSD*** | - | f8 | - | f4 | - | - | f7 | - |

Legenda: ***DR**, *Salmonella* spp. resistentes a 1 ou 2 classes de antimicrobianos. ****MDR**, *Salmonella* spp. com multirresistência foi definida quando houve resistência a três ou mais classes diferentes de antimicrobianos. *****NSD**, *Salmonella* spp. não detectada.

3.6 Análises estatísticas

Foi verificada diferença significativa na detecção de *Salmonella* spp. entre as amostras que foram coletadas durante a estação das cheias (novembro – abril) e estação seca (maio – outubro) (Tabela 4). A prevalência de *Salmonella* encontrada durante estação seca foi o dobro que no período das cheias, sendo assim verificado uma diferença significativa da prevalência entre os períodos (Tabela 4). Não foram verificadas diferenças significativas na detecção de *Salmonella* spp. com relação a região das pisciculturas (pantanal ou cerrado), aos tanques sem renovação das águas (abastecidos somente com água da chuva) ou com mínima renovação (abastecidos com água da chuva e rio), tipos de amostras (peixe ou ambiental), sítio de análise (escamas, guelras, músculo, vísceras, água e terra dos tanques), peso dos peixes amostrados e quantidade de peixes coletados para análise, (Tabela 4).

Tabela 4: Resultados das análises de Qui-quadrado sobre as variáveis estudadas em relação a *Salmonella* spp.

| Variáveis | | Categorias | Desfecho | | | | Salmonella prevalência (%) | p-valor |
|------------------|-----|---------------|----------------------------------|--------|----------------------------------|--------|----------------------------------|---------|
| | | | Salmonella negativo n = 96 | | Salmonella positivo n = 54 | | | |
| estação | (%) | seca | 33 | (34.4) | 33 | (61.1) | 50.0 | < 0.01* |
| | | cheia | 63 | (65.6) | 21 | (38.9) | 25.0 | |
| bioma | (%) | pantanal | 43 | (44.8) | 23 | (42.6) | 34.8 | 0.929 |
| | | cerrado | 53 | (55.2) | 31 | (57.4) | 36.9 | |
| tanque | (%) | chuva | 81 | (84.4) | 39 | (72.2) | 32.5 | 0.116 |
| | | chuva e rio | 15 | (15.6) | 15 | (27.8) | 50.0 | |
| amostra | (%) | peixe | 65 | (67.7) | 35 | (64.8) | 35.0 | 0.857 |
| | | ambiente | 31 | (32.3) | 19 | (35.2) | 38.0 | |
| sítio de análise | (%) | escamas | 20 | (20.8) | 5 | (9.3) | 20.0 | 0.576 |
| | | guelras | 15 | (15.6) | 10 | (18.5) | 40.0 | |
| | | músculo | 16 | (16.7) | 9 | (16.7) | 36.0 | |
| | | vísceras | 14 | (14.6) | 11 | (20.4) | 44.0 | |
| | | água | 16 | (16.7) | 9 | (17.7) | 36.0 | |
| | | terra | 15 | (15.6) | 10 | (18.5) | 40.0 | |
| (n) peixe | (%) | 1 espécime | 13 | (20.0) | 3 | (8.6) | 18.7 | 0.230 |
| | | ≥ 2 espécimes | 52 | (80.0) | 32 | (91.4) | 38.1 | |
| (peso) peixe | (%) | < 1,3 Kg | 29 | (44.6) | 15 | (42.9) | 34.1 | 1.000 |
| | | ≥ 1,3 Kg | 36 | (55.4) | 20 | (57.1) | 35.7 | |

* Significativo ao nível de $\alpha = 0.05$.

Foi verificada diferença estatística significativa com relação a quantidade de cepas de *Salmonella* isoladas das amostras coletadas nas estações, sugerindo que houve maior número de células viáveis recuperadas nas amostras da estação seca (Tabela 5). Todas as demais variáveis analisadas não houve diferença significativa, ou seja, sugere que as diferenças são apenas aleatórias quanto ao número de cepas de *Salmonella* isoladas. Os resultados podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5: Resultados das análises do teste de *Mann-Whitney* sobre as variáveis estudadas em relação ao número de cepas de *Salmonella* spp. isoladas.

| (n) Cepa <i>Salmonella</i> x (variável) | (n) Categorias positivas | | (n) Cepa <i>Salmonella</i> | p-valor |
|--|-----------------------------|----|-------------------------------|---------|
| estação | seca | 33 | 68 | < 0.01* |
| | cheia | 21 | 36 | |
| bioma | pantanal | 23 | 43 | 0.806 |
| | cerrado | 31 | 61 | |
| tanque | chuva | 39 | 75 | 0.064 |
| | chuva e rio | 15 | 29 | |
| amostra | peixe | 35 | 69 | 0.713 |
| | ambiente | 19 | 35 | |
| sítio de análise | escamas | 5 | 13 | 0.540 |
| | guelras | 10 | 15 | |
| | músculo | 9 | 12 | |
| | vísceras | 11 | 29 | |
| | água | 9 | 16 | |
| | terra | 10 | 19 | |
| (n) peixe | 1 espécime | 3 | 5 | 0.126 |
| | ≥ 2 espécimes | 32 | 64 | |
| (peso) peixe | < 1,3 Kg | 15 | 29 | 0.964 |
| | ≥ 1,3 Kg | 20 | 40 | |

* Significativo ao nível de $\alpha = 0.05$.

Foi verificada a ausência de correlação da quantidade de cepas de *Salmonella* isoladas com o peso dos peixes amostrados ($p\text{-valor} = 0.711$), ou com a quantidade de peixes coletados do tanque ($p\text{-valor} = 0.803$) para análises microbiológicas e moleculares.

Pela Análise de Correspondência Múltipla (ACM) foi gerado um gráfico bidimensional com os eixos obtidos da matriz de dados (Figura 4). A primeira dimensão explicou 36.3% da variância, enquanto a dimensão dois explicou 21.26% da variância. Somadas as dimensões explicaram 57.56% da variância (Figura 4), nesse sentido, o percentual total obtido representa o quanto se pode compreender da variabilidade do conjunto de dados estudado. Para a dimensão 1, denominada como dimensão dos fatores intrínsecos e extrínsecos de manejo de criação, as variáveis apresentadas foram ‘estação’, ‘tanque’ e ‘bioma’. A dimensão 2 denominada como a dimensão da relação do desfecho, as variáveis apresentadas foram ‘amostra’ e ‘salmonella’ (Figura 4).

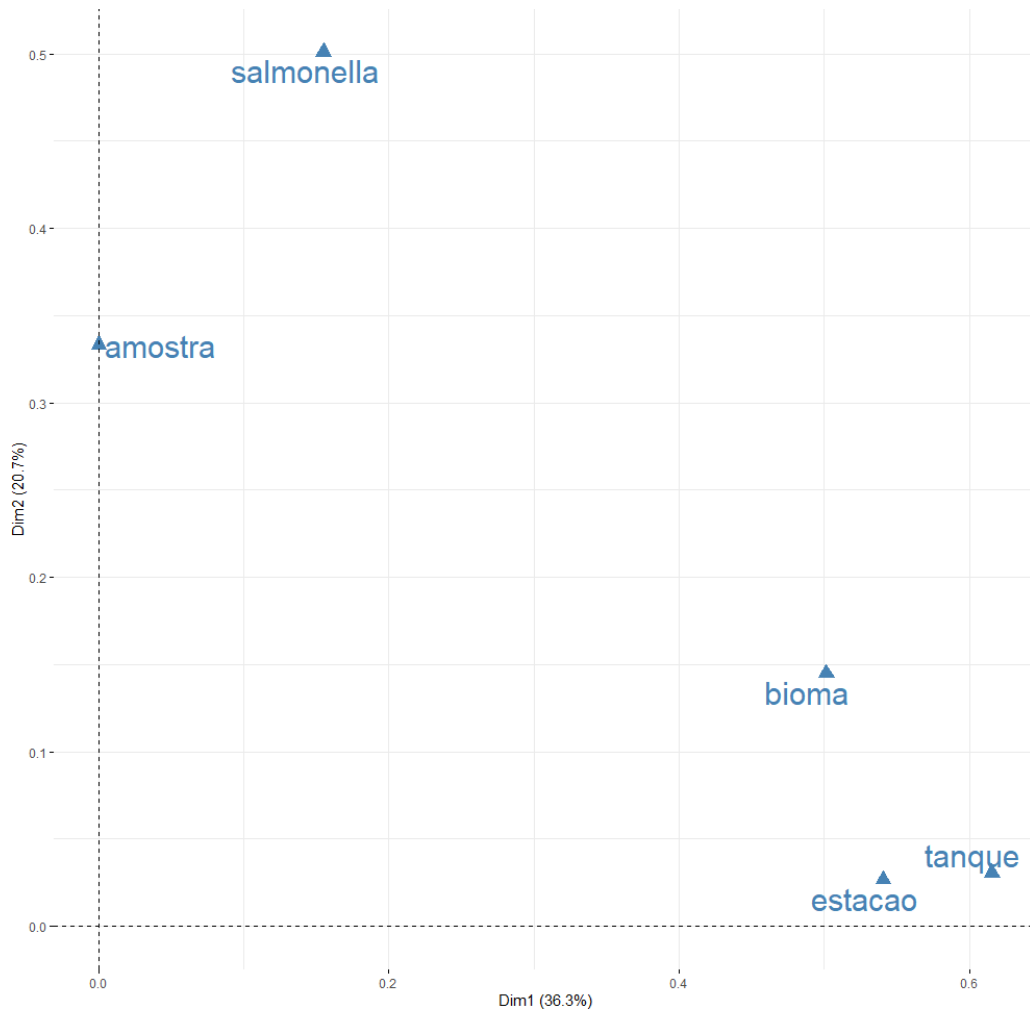


Figura 4: Gráfico da Análise de Correspondência Múltipla demonstrando as categorias contidas na Dimensão 1 e Dimensão 2.

A Figura 5 apresenta o gráfico das variáveis e dos indivíduos no plano delimitado pelos eixos da ACM, com as categorias (triângulo preto) e os pontos do desfecho negativo (ponto vermelho) e desfecho positivo (ponto azul), distribuídas em quatro quadrantes das duas dimensões apresentadas anteriormente (Figura 4). As proximidades entre as categorias e a localização delas dentro do mesmo quadrante indicam possíveis associações entre os parâmetros, exceto quando se encontram na região central do diagrama, onde há pouca influência do respectivo parâmetro sobre o tema estudado.

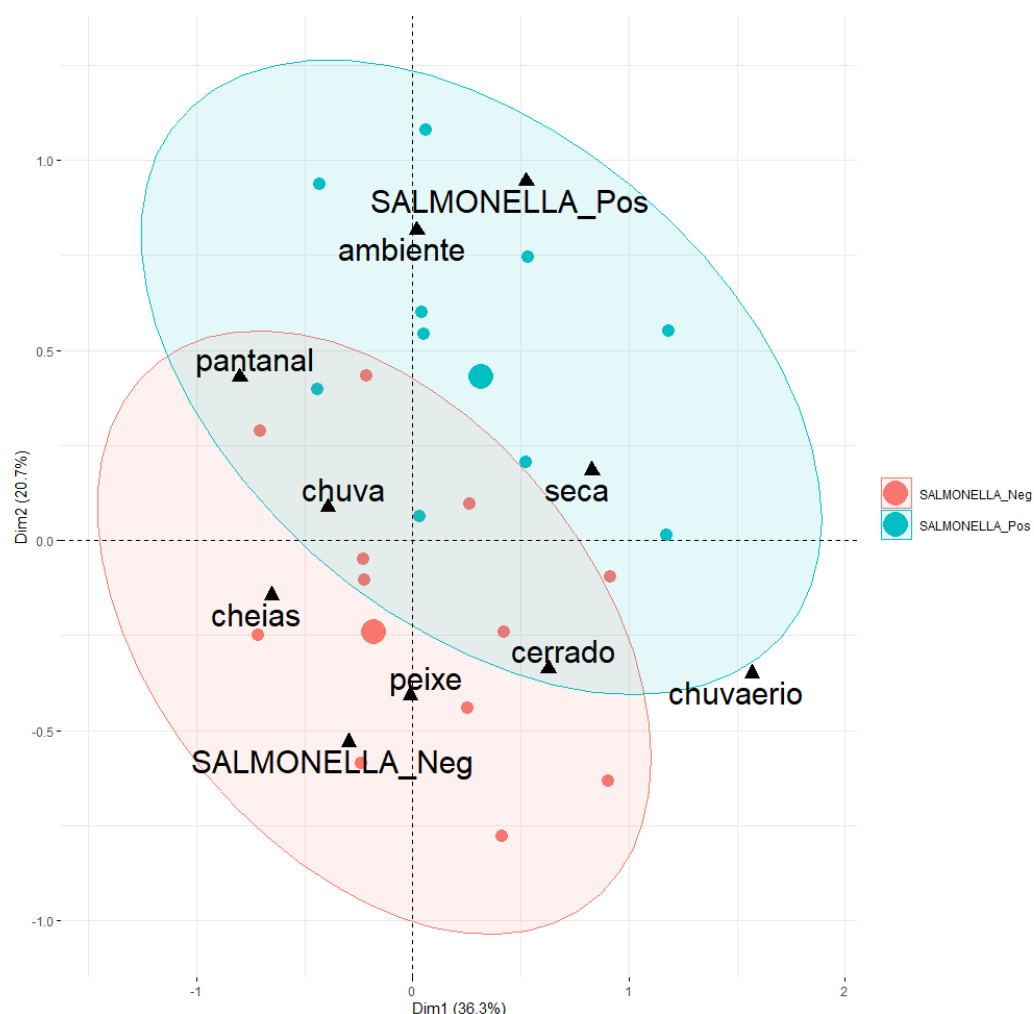


Figura 5: Representação gráfica da Análise de Correspondência Múltipla entre as categorias das variáveis ‘estação’, ‘bioma’, ‘tanque’, ‘amostra’ e ‘salmonella’, para detecção de *Salmonella* spp. em 22 pisciculturas da região da baixada cuiabana, Mato Grosso, Nov2021-Jun2022.

De maneira geral, pelas elipses representando o desfecho no gráfico de nuvens (Figura 5) observa-se certo nível de sobreposição entre as categorias, portanto, não apontou agrupamento exclusivamente heterogêneo de fatores predominantes que levaram a detecção de *Salmonella* spp., porém foi possível observar os casos de detecção positiva e negativa com características semelhantes. Nesse sentido, o maior destaque pode ser observado no primeiro quadrante, onde as categorias ‘seca’, ‘Salmonella_Pos’ e ‘ambiente’ ficaram próximas contidas no mesmo quadrante com ocorrência predominante dos pontos azuis da nuvem (Figura 5). Este resultado demonstrou que a detecção de *Salmonella* spp. ocorreu conjuntamente de forma mais frequente nas amostras ambientais coletadas durante o período de estação da seca (entre maio e outubro). Nesse sentido, o gráfico apresentou associação dessas categorias com a detecção de *Salmonella* spp., sendo essa prevalência com diferença estatística significativa observada (Tabela 4). Na estação seca, com menor índice pluviométrico, os animais silvestres buscam fontes de água que estão mais escassas para mitigação da sede, então se acumulam mais ao redor dos tanques de criação, nesse sentido há mais riscos de contaminação dos tanques pelas fezes desses animais.

No quadrante 4 foi possível observar que houve ocorrência conjunta em amostragem de pisciculturas da região do pantanal ('pantanal') e tanques abastecidos com água da chuva – sem renovação ('chuva') na detecção tanto positiva quanto negativa para *Salmonella* spp. (Figura 5). Esta coocorrência se traduz, portanto, na amostragem as pisciculturas localizadas no bioma do pantanal possuem tanques predominantemente bastecidos pela água acumulada da chuva, e sem manejo de renovação. Da mesma forma pode ser observado no quadrante 2 para amostragem de pisciculturas da região do cerrado e tanques abastecidos com água de chuva e rio – alguma renovação ('chuva e rio') (Figura 5). Embora o gráfico mostre uma proximidade entre essas categorias com casos positivos de detecção de *Salmonella* spp., não foi observado diferença estatística significativa (Tabela 4).

No quadrante 3 foram observadas as categorias 'peixe' e 'cheias' mais associadas com a ocorrência de diagnóstico negativo de *Salmonella* spp. (Figura 5). Os peixes e o ambiente de criação (água de cultivo e terra do tanque) estão intimamente ligados. Nesse sentido, o ambiente de criação contaminado tende a contaminar também o peixe, entretanto, *Salmonella* spp. podem estar amplamente distribuída pelo ambiente, mas não é considerada um patógeno natural em peixe, o que explicaria essa diferença do comportamento de associação dessas categorias com a presença de *Salmonella* spp. ocorrendo simultaneamente em ambos os tipos de amostras, apresentado pelo gráfico (Figura 5). Em 13 pisciculturas (13/22) a detecção de *Salmonella* spp. ocorreu simultaneamente em ambientais e peixe, entretanto, não foi observado diferença estatística significativa na detecção de *Salmonella* spp. em amostras de peixe e amostras ambientais (Tabela 4).

4 DISCUSSÃO

A presença de *Salmonella* spp. em peixes nativos no Brasil tem sido relatada em amostras comercializadas, que apontam para muitas fontes de contaminação do peixe devido a manipulações diversas a partir da captura ao produto final (PADOVANI et al., 2022; DE ALMEIDA et al., 2021; PASTRO et al., 2019; CUNHA-NETO, 2019; VIANA et al., 2016), entretanto observa-se escassez de estudos sobre as condições microbiológicas desses peixes durante as fases de criação (MOTA et al. 2021; DOS SANTOS et al. 2019, MELLO et al., 2010) o que justifica a abordagem desse estudo.

Nossos achados revelam as vias de contaminação dos peixes nativos por *Salmonella* spp. pela água de cultivo, terra em torno do tanque escavado e por fezes dos diversos animais (domésticos, silvestres e produção) amplamente observadas próximas aos tanques de criação, apresentando esta via como principal fonte e risco de introdução deste patógeno durante a fase de criação, pois cepas de *Salmonella* spp. foram isoladas dessas amostras ambientais. Apesar da principal fonte de infecção por *Salmonella* ser via transmissão fecal-oral entre os indivíduos positivos e negativos, outras fontes, incluindo água, pets, animais silvestres e animais de produção, podem estar associadas à transmissão (DRÓZDŹ et al. 2021; LA TELA et al. 2021, DOS SANTOS et al., 2019; LI et al., 2017; GAUTHIER, 2015).

Nosso *check-list* nos forneceu informações que apontam diversas fraquezas em comum aplicados aos ambientes de manejo das pisciculturas. Dentre as mais evidentes estão a falta de controle do acesso de animais externos a produção aos tanques de criação, a falta de manejo de renovação e tratamento sanitário das águas dos tanques e ausência de padronização de uniformes e PPE e equipamentos de uso exclusivo da piscicultura pelos tratadores. Este fato, portanto, pode justificar o alto percentual de fazendas contaminadas que foi observado (88%). Nesse sentido, *Salmonella* spp. foram confirmadas por PCR com frequência de 31.5% do total de amostras coletadas (ambiental e de peixe), sendo 59% (13/22) das pisciculturas com positividade em ambas as amostras, evidenciando que há necessidade de correção de manejo de criação, pois um patógeno de importância em saúde pública como a *Salmonella* é capaz de manter-se circulante durante a criação dos peixes. Outros pesquisadores relataram *Salmonella* spp. positivos em amostragem de peixes nativos diretamente de pisciculturas, porém a condução destas pesquisas se diferenciou na quantidade de pisciculturas visitadas, a amostragem, o método de coleta (por swabs superficiais) e isolamento microbiológico (semeadura direta em caldo seletivo para *Salmonella* spp.). Mota et al. (2021) relataram 6.67% (3/45) em fezes de *Colossoma macropomum* (tambaqui) em uma única piscicultura de tanques escavados das três que foram visitadas. Santos et al. (2019) identificaram presença de *Salmonella* spp. em 6.9% (12/173) de amostras de fezes de *Colossoma macropomum* (tambaqui) em três pisciculturas de quatro visitadas de tanques escavados, porém com alguma porcentagem de renovação de água. Mello et al. (2010) identificaram uma amostra positiva (8,33%) em pool de amostras de fígado de *Brycon microlepis* (piraputanga) criados em uma piscicultura amostrados mensalmente abrangendo o período de chuvas e o período de seca.

Nossos achados confirmaram que células viáveis de *Salmonella* spp. podem ser albergadas principalmente no trato gastrointestinal de tambaquinhas criadas. Durante a retirada das amostras das vísceras (esôfago, estômago, fígado e intestino) não foram observados macroscopicamente alterações anatômicas que pudessem caracterizar lesões suspeitas de doença. Santos et al. (2019) detectaram os sorotipos *S. Heidelberg*, *S. Hadar* e *S. Panama* a partir de swabs de fezes de *Colossoma macropomum* (tambaqui) e em

outros peixes nativos criados. Os mesmos autores identificaram o sorotipo *S. Hadar* como sendo capaz de colonizar transitoriamente o intestino de tambaqui e ser eliminado nas fezes durante pelo menos quarenta dias, além disso, realizaram exames histopatológicos em diversos órgãos do peixe e constataram não haver lesões causadas pela *Salmonella* (DOS SANTOS et al., 2019).

Evidenciamos ainda que a pele, escamas, guelras e músculo são locais de colonização e instalação de *Salmonella* spp. nas tambatingas (Tabela 2). As guelras já foram relatadas como fonte de instalação de *S. Panama* em *Brycon orbignyanus* (piracanjuba) e tambaqui (*Colossoma macroporum*) (DOS SANTOS et al., 2019).

O sítio de isolamento de *Salmonella* spp. são mais frequentes no trato gastrointestinal (PORTO et al., 2023), portanto, nos abatedouros frigoríficos de peixes nativos, a etapa de evisceração é de maior risco capaz de gerar contaminação cruzada durante a manipulação (FERNANDES et al., 2021). Corroborando com este fato, *S. Abony* e *S. Schwarzengrund* já foram detectadas em 5.76% de amostras de produtos congelados de peixes nativos em Mato Grosso (CUNHA-NETO, 2019), bem como *S. Ndolo*, *S. Mbandaka*, *S. Typhimurium*, *S. Rough* e *S. O:16* no processamento de tambatingas em frigoríficos (FERNANDES et al. 2021). Ambos os estudos confirmam falhas de eficiência do sistema de controle microbiológico de qualidade no frigorífico para eliminação do patógeno em questão, porém não houve como esclarecer com informações quanto a fonte primária de *Salmonella* detectada nas amostras, entretanto, nossos achados contribuem com esta informação apontando que o peixe vindo das pisciculturas pode estar contaminado não apenas na superfície, mas também nas vísceras, aumentando os riscos de contaminação cruzada durante a manipulação.

Nossos achados apontam para uma fonte primária de contaminação por *Salmonella* spp. nas fazendas durante o manejo de criação, uma vez que *Salmonella* spp. foram identificadas em fontes ambientais (água de criação, terra e fezes de animais). Adoção de estratégias de manejo como uso da água sem renovação e tanques sem proteção expostos ao livre acesso de animais silvestres (aves e terrestres) e domésticos, demonstram-se ser falhas sanitárias no sistema de produção, comumente observada nas fazendas visitadas. Em animais de produção, a fonte primária de infecção por *Salmonella* é a transmissão fecal-oral entre indivíduos positivos e negativos (DOS SANTOS et al. 2019). Entretanto, outras fontes como a própria água, animais silvestres e insetos, podem estar associadas à transmissão (CHAHOURI et al. 2022; MELETIADIS et al., 2022). As aves silvestres observadas nas fazendas podem introduzir e disseminar bactérias patogênicas por toda área próxima aos tanques de criação, através da água ou outras vias de contaminação direta do ambiente (lixiviação da terra). Também não foram observados controle sanitário no tráfego (veículos e humano), sendo considerado outro risco crucial de infecções por *Salmonella* em diversas criações de animais de produção (BAKHSHANDEH et al., 2022).

Ainda foi possível identificar *Salmonella* spp. em amostras agrupadas de fezes animais em quatro de nove fazendas analisadas (Tabela 1). Isso evidencia potencial fonte de contaminação cruzada dos tanques de criação uma vez que pets, animais silvestres e de produção capazes de transportar *Salmonella* spp. estão circundantes e com acesso livre aos tanques de criação. Dentre estes, destacaram-se o acesso livre de aves silvestres e capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), considerados reservatórios comuns de *Salmonella* spp. (DOS SANTOS et al. 2019; FARIKOSKI et al. 2019). Não foi possível coletar fezes de outras espécies de animais silvestres como jacarés, cobras e sapos flagrados acidentalmente durante as coletas. Essas espécies silvestres são endêmicas da região do pantanal e regiões circunvizinhas em Mato Grosso, portanto podem atuar como

potenciais fontes de *Salmonella* spp. pelo livre acesso aos tanques das pisciculturas (LA TELA et al. 2021).

Salmonella spp. não foi identificada nas amostras de ração de peixe coletadas direto dos galpões de armazenamento. A maioria das rações para peixes é extrusada, um processo que combina alta pressão de vapor com a alta temperatura (130 ° C), eliminando assim a maioria dos contaminantes (SARKER et al., 2023), porém Parker et al. (2022) mostram evidências de que a prevalência da detecção de *Salmonella* em alimentos acabados e no equipamento de moagem e ambiente continua sendo um desafio para o processamento de ração. Os mesmos autores apontam que os riscos de introdução *Salmonella* em uma fazenda por meio de ração animal deve, portanto, basear-se nas características individuais da fábrica sobre práticas de gerenciamento HACCP, incluindo o monitoramento microbiano (PARKER et al., 2022).

A ausência de *Salmonella* spp. nas rações das pisciculturas não confirmou essa via como uma via de contaminação. Este fato corrobora com os resultados de dos Santos et al. (2019) que também não detectaram *Salmonella* nas rações das pisciculturas, entretanto, não descartamos riscos de contaminação por falhas no controle de qualidade durante a fabricação (PARKER et al., 2022) e a possibilidade de contaminação via rações durante o manejo de arraçãoamento, visto que os tratadores não utilizaram EPI (Equipamento de Proteção Individual) nem padronização do uso de equipamentos da piscicultura, além disso, não foram observadas armadilhas para controle de roedores dentro dos galpões de estocagem das rações (Tabela 3), sendo estes animais um fator de risco de contaminação de *Salmonella* spp.

A utilização da ACM para observação de características ambientais e manejo de criação agregou informações importantes quanto ao estudo de investigação de ocorrência de *Salmonella* spp. em pisciculturas durante a fase de criação. Nesse sentido, a ACM revelou que os fatores de manejo associados ao ambiente de criação são relevantes na caracterização dos casos positivos de detecção, pois na análise bidimensional houve boa discriminação desses casos (Figura 5). Além da associação com os casos positivos, foi observado que durante a estação da seca houve diferença estatística significativa na ocorrência de *Salmonella* spp. com relação ao período da estação das águas (Figura 5 e Tabela 4).

A ACM também evidenciou outros aspectos importantes para o estudo ao sinalizar a dimensão dos fatores intrínsecos e extrínsecos de manejo de criação (dimensão com maior variância explicada, Figura 4) como potencial forma de identificar detecção de *Salmonella* nas pisciculturas, sendo tais aspectos associados ao fator manejo de renovação das águas dos tanques de criação ('tanque') e o bioma a qual a piscicultura se localiza. A presença da dimensão de fatores intrínsecos e extrínsecos de manejo de criação que relaciona as características ambientais pode sugerir que estes componentes podem ser potencialmente contornáveis. Nesse sentido o melhor caminho seria intervenções no manejo, pois ajudaria na resolução da condição geral sanitária.

De maneira geral, os resultados obtidos neste estudo fundamentam a necessidade de uma abordagem na resolução do problema sanitário de *Salmonella* na fase de criação nas pisciculturas, tendo em consideração a relevância específica das diferentes categorias estudadas. A observação das dimensões pode auxiliar mais estudos com objetivos de identificar se a contaminação por *Salmonella* spp. está mais relacionada com características de manejo ou ambientais, levando a intervenções mais assertivas pelas boas práticas agropecuárias, tendo em vista que os aspectos relacionados ao manejo são potencialmente mais modificáveis do que os ambientais.

A utilização da ACM permitiu que os dados de investigação da presença de *Salmonella* spp. em amostras das pisciculturas na fase de criação fossem analisados como

forma de obter informações em conjunto da análise laboratorial e observacional (inquérito epidemiológico) dos ambientes de criação. Através da redução da dimensionalidade dos dados foi possível realizar uma análise descritiva do banco de informações como um todo, que seria dificultoso numa análise b em arranjo por tabela de contingência, que poderia induzir a interpretações equivocadas sobre análise das variáveis categóricas estudadas na presente pesquisa. Por fim, existe também vantagem na possibilidade de classificar as dimensões pela ACM, pois as medidas de estratégias de intervenção podem ser baseadas nos agrupamentos que foram observados no estudo.

A identificação de peixes nativos contaminados com *Salmonella* ainda nos tanques de produção revelada nesse estudo, confirma o potencial de prejuízos à saúde pública e econômicos. Também revelamos que o peixe certamente chega contaminado no frigorífico elevando os riscos de contaminação cruzada durante o beneficiamento. Sugerimos, ainda, que novos estudos sejam conduzidos para melhor compreensão da interação fisiológica *Salmonella*-peixe nativo.

5 CONCLUSÕES

Nosso estudo realizou diagnóstico microbiológico e molecular de *Salmonella* spp. em pisciculturas de peixes nativos, as quais apresentaram alta prevalência deste microrganismo. Em 13 de 25 pisciculturas, cepas de *Salmonella* spp. foram isoladas tanto dos peixes criados, quanto dos ambientes de criação, ocorrendo nas águas de cultivo e na terra dos tanques escavados.

Uma cepa de *Salmonella* spp. isolada de cada piscicultura foi testada contra diferentes antimicrobianos, sendo azitromicina e nitrofurantoina antimicrobianos que as cepas apresentaram resistência em maior frequência, dentre estas 13 cepas foram caracterizadas como multidroga resistentes.

Apontamos que a falta de padronização e diversas falhas de biossegurança observadas no manejo de produção das pisciculturas, que incluem fezes acumuladas de diversos animais alheios à piscicultura comumente encontradas próximas dos tanques dos peixes, estão desencadeando este problema sanitário de contaminação dos peixes por *Salmonella* spp. Durante o período das secas a contaminação por *Salmonella* spp. foi detectada com mais frequência.

Por fim, os resultados aqui obtidos caracterizam um real problema na fase de criação de peixes nativos dentro das pisciculturas. Boas práticas agropecuárias necessitam ser implementadas e padronizadas especialmente nas pisciculturas durante todo o manejo de criação. Nesse sentido, incentivamos a promoção de novos estudos direcionados para aplicação de medidas assertivas e estratégias de controle e prevenção de *Salmonella* spp. nas pisciculturas de peixes nativos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALALI, W.Q., HOFACRE, C.L., 2016. Preharvest food safety in broiler chicken production. **Microbiol. Spectr.** 4. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.PFS-0002-2014>.

ALVARES, C. A., STAPE, J. L., SENTELHAS, P. C., GONÇALVES, J. D. M., SPAROVEK, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische zeitschrift*, 22(6), 711-728.

ALVES S.; TEIXEIRA LAETITIA, RIBEIRO OSCAR, PAÚL CONSTANÇA. Examining Frailty Phenotype Dimensions in the Oldest Old. *Frontiers in Psychology*. 2020. Vol. 11. ISSN=1664-1078. DOI=10.3389/fpsyg.2020.00434. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2020.00434>

ANTUNES, P.; CAMPOS, J.; MOURÃO, J.; PEREIRA, J.; NOVAIS, C.; PEIXE, L. Inflow water is a major source of trout farming contamination with *Salmonella* and multidrug resistant bacteria. *Science of The Total Environment*. **2018**, 642, 1163–1171, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.143.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 493-6, 1966.

BALASUBRAMANIAN, R.; JUSTIN IM, JUNG-SEOK LEE, HYON JIN JEON, ONDARI D. MOGENI, JEROME H. KIM, RAPHAËL RAKOTOZANDRINDRAINNY, STEPHEN BAKER, FLORIAN MARKS. The global burden and epidemiology of invasive non- typhoidal *Salmonella* infections, *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2019. 15:6, 1421- 1426, Doi: 10.1080/21645515.2018.1504717.

BAKHSHANDEH, B.; SHOKUFEH GHASEMIAN SORBONI, DORRIN MOHTADI HAGHIGHI, FATEMEH AHMADI, ZAHRA DEGHANI, ALIREZA BADIEI, New analytical methods using carbon-based nanomaterials for detection of *Salmonella* species as a major food poisoning organism in water and soil resources, *Chemosphere*, Volume 287, Part 3, 2022, 132243, ISSN 0045-6535, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132243>.

CAETANO, F.; PAGANO, M. Prevalence of infections caused by *Salmonella* sp. in Brazil from 2013 to 2017. *J. Infect. Control*, 2019 Abr-Jun; 8(2):56-62 [ISSN 2316-5324].

CHAHOURI, A.; NABIL RADOUANE, BOUCHRA YACOUBI, ABDELLATIF MOUKRIM, ALI BANAOU. Microbiological assessment of marine and estuarine ecosystems using fecal indicator bacteria, *Salmonella*, *Vibrio* and antibiotic resistance pattern, *Marine Pollution Bulletin*, Volume 180, 2022, 113824, ISSN 0025-326X, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113824>.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing. 31st ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-104-8 [Print]; ISBN 978-1-68440-105-5 [Eletronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2021.

CONOVER, WILLIAM JAY. **Practical nonparametric statistics**. John Wiley & Sons, 1999.

CUNHA-NETO, A., PANZENHAGEN, P., CARVALHO, L., RODRIGUES, D., CONTE-JUNIOR, C., & FIGUEIREDO, E. (2019). Occurrence and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* isolated from native fish slaughtered and commercialised in Brazil. *J Food Safety and Food Quality*, 70(4), 94-8. <https://doi.org/10.2376/0003-925X-70-94>.

CUSTODIO, M.; RICHARD PEÑALOZA, ALBERTO ORDINOLA-ZAPATA, TESSY PERALTA-ORTIZ, HÉCTOR SÁNCHEZ-SUÁREZ, ENEDIA VIEYRA-PEÑA, HEIDI DE LA CRUZ, JUAN ALVARADO-IBÁÑEZ, Diversity of enterobacteriales in sediments of lagoons with fish farming activity and analysis of antibiotic resistance, *Toxicology Reports*, Volume 10, 2023, Pages 235-244, ISSN 2214-7500. doi: 10.1016/j.toxrep.2023.02.002.

DON, S.; PARVATHI AMMINI, BINAYA BHUSAN NAYAK, SANATH H. KUMAR. Survival behaviour of *Salmonella enterica* in fish and shrimp at different conditions of storage, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 132, 2020, 109795, ISSN 0023-6438, doi:10.1016/j.lwt.2020.109795.

DE MELLO, C. A., MENDES, E. S., DE ALMEIDA FILHO, E. S., LANZARIN, M., DE LIRA, S. F., & DE SOUZA AMERICANO, M. M. (2010). Qualidade microbiológica do Brycon microlepis (piraputanga) de cativeiro e capturado no rio Cuiabá-MT. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 17(1).

DOS SANTOS, R. R.; XAVIER, R. G. C.; DE OLIVEIRA, T. F.; LEITE, R. C.; FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Occurrence, genetic diversity, and control of *Salmonella enterica* in native Brazilian farmed fish. *Aquaculture*. **2019**, 501, 304–312, doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.11.034.

EFUNTOYE, M. O.; OLURIN, K. B.; JEGEDE, G. C. Bacterial flora from healthy *clarias gariepinus* and their antimicrobial resistance pattern. *Advance Journal of Food Science and Technology*. **2012**, 4, 121–128.

EFSA. Guidelines for reporting data on zoonoses, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks using the EFSA data models for the data collection framework (DCF) to be used in 2017 for 2016 data, ISSN 2397-8325. Bruxelas: European Food Safety Authority, 2016. 106 pp. Disponível em: <<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2017.EN-1178>> Acesso em 12/9/19.

EUROPEAN, F. S. A.; EUROPEAN, C. FOR D. P. AND C. The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, v. 19, n. 12, p. e06971, dez. 2021.

FERNANDES, D. V. G. S.; CASTRO, V. S.; CUNHA NETO, A.; FIGUEIREDO, E. E. S. *Salmonella* spp. in the fish production chain: a review. *Ciência Rural*. **2018**, 48 (08), 1– 11, doi: 10.1590/0103-8478cr20180141.

FERNANDES, D.V.G.S., CARVALHO, R.C.T., CASTRO, V.S.; CUNHA-NETO, A.; MULLER, B.; CARVALHO, F. T.; RODRIGUES, D. DOS P.; VIEIRA, B. S.; FIGUEIREDO, E. E. DE S. *Salmonella* in the processing line of farmed Tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomus*) in Mato Grosso, Brazil: serotypes of occurrence and antimicrobial profile. *Trop Anim Health Prod* **53**, 146 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02584-8>

FERRARI, R. G.; ROSARIO, D. K.A.; CUNHA-NETO, A.; HAND, S. B.; FIGUEIREDO, E. E. S.; CONTE-JUNIOR, C. A. Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal- Based Foods: a Meta-analysis. *Applied and Environmental Microbiology*. **2019**, *14* (85), 1–21, doi: 10.1128/AEM.00591-19.

FURUYA, W.M., FURUYA, V.R.B., 2010. Nutritional innovations on amino acids supplementation in Nile tilapia diets. **Rev. Bras. Zootec.** 39, 88–94. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300010>.

GAUTHIER, D. T. Bacterial zoonoses of fishes: A review and appraisal of evidence for linkages between fish and human infections, *The Veterinary Journal*, Volume 203, Issue 1, 2015, Pages 27-35, ISSN 1090-0233, <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.10.028>.

GAWISH, M. F.; ASHRAF M. AHMED, HELMY A. TORKY, TADASHI SHIMAMOTO, Prevalence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Salmonella enterica* from retail fishes in Egypt: A major threat to public health, *International Journal of Food Microbiology*, Volume 351, 2021, 109268, ISSN 0168-1605, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109268.

GREENACRE, M. J. (1988). Correspondence Analysis of Multivariate Categorical Data by Weighted Least-Squares. *Biometrika*, 75(3), 457–467. <https://doi.org/10.2307/2336595>

GREENACRE, Z., TERLEMEZ, L.; SENTÜRK, S. (2014) Usage as Complementary Correspondence Analysis and Logistic Regression in a Scientific Survey on Self Healing Methods. *Open Journal of Statistics*, **4**, 912-920. doi: 10.4236/ojs.2014.411086.

GUO, X.; CHEN, J.; BEUCHAT, L. R.; BRACKETT, R. E. PCR detection of *Salmonella enterica* serotype Montevideo in and on raw tomatoes using primers derived from *hlyA*. *American Society for Microbiology. Applied and Environmental Microbiology*, Georgia.2000, p. 5248-5252.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2020. Pesquisa da Pecuária Municipal 2021. <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado> Accessed on: February 27, 2023.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Divisão regional do Brasil em regiões geográficas imediatas e regiões geográficas intermediárias. IBGE, Coordenação de Geografia, 82p., Rio de Janeiro, ISBN 978-85-240-4418-2. 2017. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv100600.pdf>.

ISO, International Organization for Standardization, 2017. ISO: 6579-1:2017. Microbiology of the food chain—Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*—Part 1: detection of *Salmonella* spp. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/56712.html>. Accessed 13 Feb 2021.

ISO, International Organization for Standardization. 2015. Microbiology of the food chain—carcass sampling for microbiological analysis. ISO 17604:2015. ISO, Geneva.

JACKSON, B. R.; GRIFFIN, P. M.; COLE, D.; WALSH, K. A.; CHAI, S. J. Outbreak- associated *Salmonella enterica* serotypes and food Commodities, United States, 1998- 2008 *Emerging Infectious Diseases*. **2013**, 8 (19), 1239–1244, doi: 10.3201/eid1908.121511.

KASSAMBARA, A. (2023). ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. R package version 0.6.0, <<https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>>

KASSAMBARA, A.; MUNDT F. (2020). factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses_. R package version 1.0.7, <<https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>>

KLASE, G.; LEE, S.; LIANG, S.; KIM, J.; ZO, Y.-G.; LEE, J. The microbiome and antibiotic resistance in integrated fishfarm water: Implications of environmental public health. *Science of The Total Environment*. **2019**, 649, 1491-1501, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.288.

KODAMA, H.; NAKANISHI, Y.; YAMAMOTO, F.; MIKAMI, T.; IZAWA, H.; IMAGAWA, T.; HASHIMOTO, Y.; KUDO, N. *Salmonella arizonae* isolated from a pirarucu, *Arapaima gigas* Cuvier, with septicemia. *Journal of Fish Diseases*. **1987**, 10 (1987), 509–512, doi: 10.1111/j.1365-2761.1987.tb01103.x.

LA TELA, I.; PERUZY, M.F.; D’ALESSIO, N.; DI NOCERA, F.; CASALINUOVO, F.; CARULLO, M.R.; CARDINALE, D.; CRISTIANO, D.; CAPUANO, F. Serotyping and Evaluation of Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Strains Detected in Wildlife and Natural Environments in Southern Italy. *Antibiotics* **2021**, 10, 353. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040353>

LI, K.; PETERSEN, G.; BARCO, L.; HVIDTFELDT, K.; LIU, L.; DALSGAARD, A. *Salmonella* Weltevreden in integrated and non-integrated tilapia aquaculture systems in Guangdong, China. *Food Microbiology*. **2017**, 65 (2017), 19–24, doi: 10.1016/j.fm.2017.01.014.

LINDER, E.C.; *Salmonella* spp. Em sistema intensivo de criação de peixes tropicais de água doce. Tese Mestrado em Vigilância Sanitária Animal, Universidade Paulista de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu, p. 61. 2002.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Multidrug-resistant, extensively drugresistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 18, p. 268- 281, 2012.

MALORNY, B., C. BUNGE, J. HOORFAR, AND R. HELMUTH. 2003. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard. **Appl. Environ. Microbiol.**69:290-296.

MALORNY, B., J. HOORFAR, M. HUGAS, A. HEUVELINK, P. FACH, L. ELLERBROEK, C. BUNGE, C. DORN, AND R. HELMUTH. 2003. Inter-laboratory diagnostic accuracy of a *Salmonella* specific PCR-based method. **Int. J. Food Microbiol.**89:241-249.

MALORNY, B., P. T. TASSIOS, P. RÅ DSTRÖ M, N. COOK, M. WAGNER, AND J. HOORFAR. 2003. Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. **Int. J. Food Microbiol.**83:39-48.

MALORNY, B.; PACCASSONI, E.; FACH, P.; BUNGE, C.; MARTIN, A.; HELMUTH, R. Diagnostic Real-Time PCR for Detection of *Salmonella* in **Food. Appl. Environ. Microbiol.** 2004, 70, 7046–7052.

MEDEIROS, F., ALBUQUERQUE, A. 2022. Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXEBR 2020. Veículo oficial da Associação Brasileira da Piscicultura; 2022.

MELETIADIS, A.; BIOLATTI, C.; MUGETTI, D.; ZACCARIA, T.; CIPRIANI, R.; PITTI, M.; DECASTELLI, L.; CIMINO, F.; DONDO, A.; MAURELLA, C.; BOZZETTA, E.; ACUTIS, P.L. Surveys on Exposure to Reptile-Associated Salmonellosis (RAS) in the Piedmont Region— Italy. *Animals* **2022**, 12, 906. <https://doi.org/10.3390/ani12070906>.

MOTA, J. P., MAJOLO, C. Prevalência e perfil de resistência de *Salmonella* spp. isoladas de tambaqui cultivados em tanques escavados. (2021). ScientiaAmazonia, v. 10, n. 3, CA53-CA58, 2021. ISSN:2238.1910 Revista on-line <http://www.scientiaamazonia.org>.

MOURA, G. F., DA COSTA ABREU, M. C., PIRES, L. G. P., SCHMIDT, K., & DE ALMEIDA FILHO, E. S. (2021). Avaliação microbiológica de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) salgado seco comercializado no município de Cuiabá-MT Microbiological evaluation of dry salted pacu (*Piaractus mesopotamicus*) marketed in the municipality of Cuiabá-MT. *Brazilian Journal of Development*, 7(12), 117188-117205.

OLIVEIRA, O. S. DE; BRITO, V. H. DOS S.; CEREDA, M. P. Establishing a standard for handmade Brazilian cassava flour from Baixada Cuiabana (Mato Grosso, Brazil) to support its processing and sale. **Food Science and Technology**. Campinas, 39(3): 559- 566, July-Sept. 2019. Doi: 10.1590/fst.30117.

PADOVANI, J. V.; BARCELOS VALIATTI, T.; BELTRÃO ROSA, N.; MACÁRIO GOMES, E.; DOS REIS, S.; FARIA ROMÃO, N.; GILIO GASPAROTTO, P. H.; DE OLIVEIRA SOLLA SOBRAL, F. Avaliação microbiológica de peixe tambaqui (*Colossoma Macropomum*) comercializado em feira livre no município de Ji-Paraná, Rondônia. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 16, n. 24, p. 95–108, 2022. ISSN:2316-2864. Disponível em: <https://www.revistasuninter.com/revistasauade/index.php/saudeDesenvolvimento/artic le/ view/1271>. Acesso em: 20 fev. 2023.

PARKER, ELIZABETH M.; ANTHONY J. PARKER, GWEN SHORT, ANNETTE M. O'CONNOR, THOMAS E. WITTUM. *Salmonella* detection in commercially prepared livestock feed and the raw ingredients and equipment used to manufacture the feed: A systematic review and meta-analysis, *Preventive Veterinary Medicine*, v. 198, **2022**, 105546, ISSN 0167-5877, <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105546>.

PINEDO, L. C.; MUGHINI-GRAS, L.; FRANZ, E.; HALD, T.; PIRES, S. M. Sources and trends of human salmonellosis in Europe, 2015–2019: An analysis of outbreak data. *International Journal of Food Microbiology*. **2022**, 379 (2022), 1–10, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109850.

PORTO, Y.D.; FOGAÇA, F.H.D.S.; ANDRADE, A.O.; DA SILVA, L.K.S.; LIMA, J.P.; DA SILVA, J.L.; VIEIRA, B.S.; CUNHA NETO, A.; FIGUEIREDO, E.E.D.S.; TASSINARI, W.D.S. *Salmonella* spp. in Aquaculture: An Exploratory Analysis (Integrative Review) of Microbiological Diagnoses between 2000 and 2020. *Animals* **2023**, 13, 27. <https://doi.org/10.3390/ani13010027>.

R CORE TEAM (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

SARKER, P.K. Microorganisms in Fish Feeds, Technological Innovations, and Key Strategies for Sustainable Aquaculture. *Microorganisms* **2023**, 11, 439. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020439>

SAINGAM, P.; LI, B.; YAN, T. Fecal Indicator Bacteria, Direct Pathogen Detection, and Microbial Community Analysis Provide Different Microbiological Water Quality Assessment of a Tropical Urban Marine Estuary. *Water Research*. **2020**, 185, 116280, doi: 10.1016/j.watres.2020.116280.

SAVAY-DA-SILVA, L.K., RIGGO, R., MARTINS, P.E., GALVÃO, J.A. OETTERER, M. Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Shrimp* *Penaeus* *kroyeri*. **Brazilian Journal of Food Technology**, 20: 138-144, 2008.

SEBASTIEN LE, JULIE JOSSE, FRANCOIS HUSSON (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1-18. 10.18637/jss.v025.i01

SHABARINATH, S.; SANATH KUMAR, H.; KHUSHIRAMANI, R.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Detection and characterization of *Salmonella* associated with tropical seafood. **International Journal of Food Microbiology**. 2007, 114, 227–233, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.012.

SING, C. K.; KHAN, MD. Z. I.; DAUD, H. HJ. M.; AZIZ, ABD. R. Prevalence of *Salmonella* sp. in African Catfish (*Clarias gariepinus*) Obtained from Farms and Wet Markets in Kelantan, Malaysia and Their Antibiotic Resistance. *Sains Malaysiana*. **2016**, 45(11), 1597–1602.

SURYA, T.; GEEVARETNAM JEYASEKARAN, ROBINSON JEYA SHAKILA, BALASUBRAMANIAN SIVARAMAN, RAJENDRAN SHALINI, SHANMUGAM SUNDHAR, ULAGANATHAN ARISEKAR, Prevalence of biofilm forming *Salmonella* in different seafood contact surfaces of fishing boats, fish landing centres, fish markets and seafood processing plants, Marine Pollution Bulletin, Volume 185, Part A, 2022, 114285, ISSN 0025-326X, doi:10.1016/j.marpolbul.2022.114285.

VALENTI, W. C.; HELENICE P. BARROS, PATRICIA MORAES-VALENTI, GUILHERME W. BUENO, RONALDO O. CAVALLI, Aquaculture in Brazil: past, present and future. Aquaculture Reports, Volume 19, 2021, 100611, ISSN 2352-5134, <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100611>.

WANG, Y.; YUE LIU, NA LYU, ZHIYUAN LI, SUFANG MA, DEMIN CAO, YUANLONG PAN, YONGFEI HU, HUA HUANG, GEORGE F GAO, XUEBIN XU, the Bacterium-learning Union, Baoli Zhu, The temporal dynamics of antimicrobial-resistant-*Salmonella enterica* and predominant serovars in China, *National Science Review*, 2022; nwac269. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwac269>.

WANJA, D. W.; MBUTHIA, P. G.; WARUIRU, R. M.; BEBORA, L. C.; NGOWI, H. A.; NYAGA, P. N. Antibiotic and Disinfectant Susceptibility Patterns of Bacteria Isolated from Farmed Fish in Kirinyaga County, Kenya. *International Journal of Microbiology*. **2020**, 2020, 1-8, doi: 10.1155/2020/8897338.

WIDJOJOATMODJO, M.N.; A.C. FLUIT, R. TORENSMA, G.P. VERDONK, J. VERHOEF. The magnetic immunopolymerase chain reaction assay for direct detection of salmonellae in fecal samples. **J. Clin. Microbiol.**, 30 (1992), pp. 3195-3199

YOSHIDA, K.; BARTEL, A. (2022). tableone: Create 'Table 1' to Describe Baseline Characteristics with or without Propensity Score Weights. R package version 0.13.2, <<https://CRAN.R-project.org/package=tableone>>

CONCLUSÃO GERAL

A estratégia bibliométrica para mineração de texto empregada conjuntamente com as técnicas de análise exploratória de dados se mostrou como um eficiente recurso na análise das informações produzidas pela revisão sistemática.

Essa revisão mostrou uma crescente preocupação no controle microbiológico da *Salmonella* spp. na aquicultura, e constante monitoramento para garantir alimento seguro e evitar prejuízos econômicos pela perda da produção.

Nos estudos inclusos as técnicas de diagnóstico microbiológico utilizadas se mostraram eficientes quanto a vigilância de contaminação por *Salmonella* spp. em pescado. Os isolados recuperados variaram de diversas fontes sugerindo que o patógeno tem se adaptado bem em diversos ambientes que foram favoráveis para multiplicação. Os dados obtidos servem de ferramentas para investigações com viés em saúde pública, fornecendo informações de para que medidas assertivas e corretivas sejam tomadas objetivando o controle e prevenção da *Salmonella* spp. neste setor produtivo.

Os resultados experimentais apresentados sugerem que os fatores ambientais associados às falhas sanitárias de manejo dos tanques de criação de peixes nativos podem explicar parcialmente os altos índices percentuais de contaminação de *Salmonella* spp. nas fazendas. Maioria das pisciculturas são abastecidas com água da chuva, sendo somente três localizadas em Chapada dos Guimarães abastecidas com água corrente advinda de rio, que apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. equivalente, percentualmente, mesmos sendo distantes entre si, tanto estando na região do pantanal ou de regiões circunvizinhas.

Uma adaptação da *Salmonella* spp. à fisiologia dos peixes nativos, bem como às características físico-químicas do ambiente, podem ser atribuídas a *Salmonella* spp. isoladas nas pisciculturas analisadas e justificar o percentual significativo de amostras de peixe e amostras ambientais contaminadas nos ambientes de criação.

Não foram observadas sintomatologia que caracterizasse quadro de doença nas tambatingas, também não foram observadas alterações anatomopatológicas macroscópicas nos órgãos amostrados (escamas, guelras, músculo lateral costal e diferentes órgãos do trato gastrointestinal).

As características de produção piscícola encontradas em todas as fazendas visitadas demonstraram a presença de diversos fatores que denotam a vulnerabilidade frente a exposição e ao risco de salmonelose por ingestão de produtos derivados de peixes nativos criados.

É importante enfatizar que o presente trabalho realizou extensa coleta a campo e analisou grande número de amostras utilizando técnicas microbiológicas oficiais padronizadas, e técnicas moleculares mais sensíveis para diagnóstico como a PCR.

O presente estudo trouxe dados científicos que são fundamentais para nortear os gestores da área da vigilância e saúde dos municípios, em união com o setor produtivo e academia científica para criação de estratégias de controle e prevenção da contaminação de *Salmonella* spp. nas pisciculturas e em toda cadeia produtiva do peixe nativo criado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo revisitou um problema microbiológico crônico na cadeia produtiva de pescado mundial, que também se reflete na cadeia produtiva de peixe nativo brasileiro. Os resultados aqui apresentados apontaram o risco microbiológico para surtos de salmonelose pelo consumo de peixe nativo criado em áreas de atividade piscícolas sem padronização de boas práticas agrícolas, entretanto, mais trabalhos demandam para continuidade e permanência, uma vez que as condições sociais, ambientais e de produção da região expressam a vulnerabilidade e exposição de *Salmonella* spp. Nesse sentido, os estudos que caracterizam os isolados fornecerão mais informações a cerca da relação do peixe nativo com este patógeno, além disso, estudos de intervenção no manejo de criação são necessários para mitigação desta contaminação.

Anexo A – Artigo de revisão intitulado “*Salmonella* spp. in Aquaculture: An Exploratory Analysis (Integrative Review) of Microbiological Diagnoses between 2000 and 2020”, publicado na Revista Animals (<https://doi.org/10.3390/ani13010027>).



animals

IMPACT
FACTOR
3.231

Indexed in:
PubMed

Review

***Salmonella* spp. in Aquaculture: An Exploratory Analysis (Integrative Review) of Microbiological Diagnoses between 2000 and 2020**






Yuri Duarte Porto, Fabiola Helena dos Santos Fogaça, Adriana Oliveira Andrade, Luciana Kimie Savay da Silva, Janine Passos Lima, Jorge Luiz da Silva, Bruno Serpa Vieira, Adelino Cunha Neto, Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo and Wagner de Souza Tassinari



<https://doi.org/10.3390/ani13010027>

Review

Salmonella spp. in Aquaculture: An Exploratory Analysis (Integrative Review) of Microbiological Diagnoses between 2000 and 2020

Yuri Duarte Porto ¹, Fabiola Helena dos Santos Fogaça ², Adriana Oliveira Andrade ³, Luciana Kimie Savay da Silva ⁴, Janine Passos Lima ², Jorge Luiz da Silva ⁵, Bruno Serpa Vieira ⁶, Adelino Cunha Neto ⁴, Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo ^{4,*} and Wagner de Souza Tassinari ³

¹ Department of Animal Parasitology, Institute of Veterinary, Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica 23897-000, Brazil

² Brazilian Agricultural Research Corporation, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro 23020-470, Brazil

³ Department of Mathematics, Institute of Exact Sciences, Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica 23897-000, Brazil

⁴ Department of Food and Nutrition, Federal University of Mato Grosso (UFMT), Cuiabá 78060-900, Brazil

⁵ Federal Institute of Education, Science and Technology of Mato Grosso (IFMT), São Vicente da Serra 78106-000, Brazil

⁶ Department of Veterinary Medicine, Federal University of Uberlândia (UFU), Uberlândia 38410-337, Brazil

* Correspondence: eduardo.figueiredo@ufmt.br

Simple Summary: Salmonellosis is characterized by a gastrointestinal infection resulting from the ingestion of water and food contaminated by bacteria of the genus *Salmonella*, of which causes enterocolitis. Although infections are acute and self-limiting, efforts to prevent this problem of interest to global public health are important. *Salmonella* spp. is distributed in different environments and animal species; therefore, meat derived from animal production is one of the main routes of human infection, increasing the importance of research focusing on microbiological quality and food safety. Aquaculture is a constantly growing sector in the world, and the monitoring of *Salmonella* spp. in fish products is important for public health due to the risks of contamination during all stages of production. In this context, the present study carried out a systematic integrative review of the microbiological diagnoses of *Salmonella* spp. in aquaculture between 2000 and 2020 with the objective of characterizing and contributing to the promotion of measures to control and prevent this pathogen in aquaculture production. A database generated was composed of information that was mined from articles such as the most sampled aquaculture species, the microbiological diagnostic method(s) conducted in the investigation of *Salmonella* spp., and the main reported serotypes.

Abstract: The present study aimed to characterize, through descriptive statistics, data from scientific articles selected in a systematic integrative review that performed a microbiological diagnosis of *Salmonella* spp. in aquaculture. Data were obtained from research articles published in the BVS, Scielo, Science Direct, Scopus and Web of Science databases. The selected studies were published between 2000 and 2020 on samples of aquaculture animal production (fish, shrimp, bivalve mollusks, and other crustaceans) and environmental samples of aquaculture activity (farming water, soil, and sediments). After applying the exclusion criteria, 80 articles were selected. Data such as country of origin, categories of fish investigated, methods of microbiological diagnosis of *Salmonella* spp., sample units analyzed and most reported serovars were mined. A textual analysis of the word cloud and by similarity and descending hierarchical classification with the application of Reinert's algorithm was performed using R[®] and Iramuteq[®] software. The results showed that a higher percentage of the selected articles came from Asian countries (38.75%). Fish was the most sampled category, and the units of analysis of the culture water, muscle and intestine were more positive. The culture isolation method is the most widespread, supported by more accurate techniques such as PCR. The most prevalent *Salmonella* serovars reported were *S. Typhimurium*, *S. Weltevreden* and *S. Newport*. The textual analysis showed a strong association of the terms “*Salmonella*”, “fish” and “water”, and



Citation: Porto, Y.D.; Fogaça, F.H.d.S.; Andrade, A.O.; da Silva, L.K.S.; Lima, J.P.; da Silva, J.L.; Vieira, B.S.; Cunha Neto, A.; Figueiredo, E.E.d.S.; Tassinari, W.d.S. *Salmonella* spp. in Aquaculture: An Exploratory Analysis (Integrative Review) of Microbiological Diagnoses between 2000 and 2020. *Animals* **2023**, *13*, 27. <https://doi.org/10.3390/ani13010027>

Academic Editor: Øivind Bergh

Received: 23 November 2022

Revised: 11 December 2022

Accepted: 12 December 2022

Published: 21 December 2022



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).
