

Azido Ribeiro Mataka

**Estudo da frequência de *Salmonella* spp. no pescado comercializado no Brasil**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.  
Área de concentração: Epidemiologia.  
Orientador: Prof. Dr. João Paulo Amaral Haddad

Belo Horizonte  
Escola de Veterinária – UFMG  
Dezembro 2014

M425e

Mataca, Azido Ribeiro, 1979-

Estudo da frequência de Salmonela spp. no pescado comercializado no Brasil / Azido Ribeiro Mataca. - 2014.

34 p. : il.

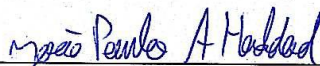
Orientador: João Paulo Amaral Haddad

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária Inclui bibliografia.

1. Pescado – Microbiologia - Teses. 2. Pescado – Qualidade – Tese. 3. Pescado – Contaminação – Tese. 4. Salmonela – Teses. 5. Salmonelose – Teses. 6. Epidemiologia – Teses. I. Haddad, João Paulo Amaral. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título

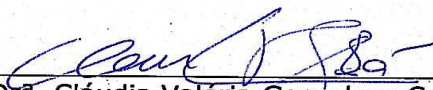
CDD – 664.94

Dissertação defendida e aprovada em 17 de dezembro de 2014, pela Comissão Examinadora constituída por:



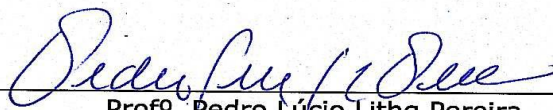
---

Profº. João Paulo Amaral Haddad  
Presidente - Co-orientador



---

Drª. Cláudia Valéria Gonçalves Cordeiro de Sá  
MAPA



---

Profº. Pedro Lúcio Lithg Pereira  
Escola de Veterinária - UFMG



#### Dedicatória

Dedicado a memória do papai lá no céu, dos meus eternos amores filhinhos Iassimi e Iazido e da minha companheira amiga e esposa Felizarda José Nhamuenda, pessoas incríveis, os quais amo muito, e que oferecem tudo para que eu possa realizar meus sonhos; e olha que são muitos!  
É a minha mãe amor incondicional.



## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar tenho a agradecer a ALLAH (Deus todo ele misericordioso) que sempre guiou e iluminou a trilha do meu existir, dando-me força, paciência, sabedoria e amor, para superar as dificuldades da terra.

Ao meu ente querido Pai e a minha mãe, razão da minha existência, o amor é tudo!

A minha família, filhos (Iassimi e Iazido) e esposa Felizarda José Nhamuenda em especial pela amizade sempre sincera. Reforço aqui o meu grande amor e alegria em tê-la sempre tão perto.

A todos colegas, amigos e conterrâneos em especial ao Raitone, Ângelo, Grande, Edson, Luciano pela convivência e alegrias proporcionadas. O meu muito obrigado.

Ao meu colega amigo Renato de Oliveira Capanema, muito obrigado pelos vários ensinamentos, troca de ideias e por sempre souber estar do meu lado nos momentos mais difíceis do curso e por sempre me encher de esperanças. E ao Ytalo Mota pelos brilhos momentos de lazeres proporcionados nos olhos e pelas alegrias.

A toda equipe do laboratório de epidemiologia: Renato, Misael, Camila, Talline, Júnia e Rafael pela colaboração essencial e a todos os demais colegas da Epidemiologia pelo apoio, companhia, ensinamentos passados pelos corredores, troca de ideias. O meu muito obrigado, vocês foram fundamentais para minha integração no curso.

Aos funcionários da Escola de Veterinária pela disposição e gentileza, em especial Luzete.

Aos professores Pedro, Marcos, Danielle, pela atenção e conselhos sempre preciosos desde o início do curso, endereço os meus sinseros agradecimentos.

A Escola de Veterinária da UFMG pelo ensino de qualidade e infraestrutura com os quais pude contar. Em especial, ao Colegiado de Pós Graduação em Ciência Animal pela atenção de sempre.

Ao CNPq-MOZ pelos recursos vitais nessa jornada.

Ao Professor Dr. João Paulo de Amaral Haddad, meu orientador, pela confiança, oportunidade concedida, carinho, apoio, incentivo e esforços prestados para a realização desta dissertação, assim como pelo contributo nas suas fortes críticas, sugestões prestadas.

Enfim, agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. E quero retribuir, pelo menos um pouco do que fizeram por mim, com bons trabalhos.

Muito Obrigado!





---

## SUMÁRIO

---

	<b>RESUMO.....</b>	<b>9</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>10</b>
<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
2.1	Características gerais .....	13
2.2	Classificação.....	14
2.3	Contaminação microbiológica do pescado.....	14
2.4	Epidemiologia.....	17
2.5	Alimentos envolvidos.....	19
2.6	Revisão sistemática e Meta-análise .....	20
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
3.1	Tipo de estudo.....	22
3.1.1	Estudo epidemiológico observacional e transversal.....	22
3.1.2	Meta-análise .....	22
3.2	Fontes de dados.....	23
3.4	Armazenamento das informações e análises estatísticas.....	23
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>24</b>
4.1.	Revisão sistemática e meta-análise.....	24
4.2	Frequência de <i>Salmonella spp.</i> em pescado no Brasil.....	25
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>28</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>28</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>29</b>

---

### LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1 - Frequências de <i>Salmonella spp.</i> em pescados nos estados brasileiros no período de 2012 a 2013 e no mundo (Meta-análise).....	27
---	----

---

### LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1 - Representação gráfica ( <i>Forest Plot</i> ) da meta-análise da frequência de <i>Salmonella spp.</i> , com teste estatístico ( $I^2 = 0,00\%$ , $p = 0,460$ ), medida resumo da frequência (6,7%), tamanho do efeito com IC e o peso atribuído em percentual para cada estudo.....	26
---	----

---

## ABREVIATURAS

ANVISA – Agência nacional de Vigilância Sanitária

APPCC - Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

Aw – Atividade de Água

CAC / RCP - Código de boas práticas para Códex de peixe e produtos da pesca

CDC - Centro de Controle e Prevenção de Doenças

DTA`s – Doenças Transmitidas por Alimentos

FAO – Food and Agriculture Organization

FDA - Food and Drug Administration

IC – Intervalo de Confiança

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods

MAPA – Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento

pH – Potenciometro de Hidrogénio

RDC - Resolução de Diretoria Colegiada

SVS – Secretária de Vigilância Sanitária

## RESUMO

A segurança microbiológica do pescado é uma preocupação dos consumidores, indústrias e das agências reguladoras em todo o mundo, A identificação rápida e precisa dos patógenos na cadeia produtiva é importante, tanto para a garantia de qualidade como para rastrear agentes infecciosos dentro da cadeia. Neste contexto, foi determinada uma frequência de *Salmonella spp*, em pescado para aprofundar o entendimento da sua epidemiologia em produtos da pesca de modo a criar subsídios de controle e prevenção no Brasil, e também aplicada uma meta-análise da frequência de Salmonelose em pescado a partir de estudos de diversos países para determinar uma medida resumo de frequência para utilizar na tomada de decisão e validação do estudo. O resultado da frequência brasileira encontrado (1,9%; IC 95%: 1,03–2,8%) foi estatisticamente menor ( $p < 0,001$ ) que a medida resumo da meta-análise 6,7% (IC 5,7-7,6%). Os resultados expostos na pesquisa reforçam a necessidade de continuar a busca de ferramentas que auxiliem no controle e vise à redução dos níveis de contaminação do pescado por *Salmonella*, e conseqüentemente, reduzir o risco potencial de transferência destes microrganismos para humanos. Tais procedimentos incluem um esforço tanto por parte da indústria com a implantação de programas cada vez mais eficientes e rígidos de análise de perigo e controle de pontos críticos. Os governos também possuem papel fundamental em todo este seguimento como implantar programas que visem um maior controle na qualidade do produto, além de aumentar e qualificar cada vez mais os fiscais responsáveis por desenvolver estes trabalhos.

**Palavras-chave:** *Pescado, Frequência, Salmonella, Meta-análise, epidemiologia.*

## ABSTRACT

The microbiological safety of fish is a concern of consumers, industry and regulatory agencies worldwide, the rapid and precise identification of pathogens in the supply chain is important both for quality assurance as to track infectious agents within the chain. In this context it was determined the frequency of *Salmonella* spp in fish to deepen the understanding of the epidemiology of fish products to create subsidies for control and prevention in Brazil, and also applied a meta-analysis of Salmonellosis frequency in the fish from studies in several countries to determine a summary measured frequency for use in decision making and validation of the study. The result of the Brazilian often found (1.9%; 95% CI: 1.0 to 2.8%) was lower ( $p < 0.001$ ) that the summary measure of the meta-analysis 6.7% (CI 5.7 -7.6%). The results presented in research reinforce the need to continue the search tools that help to control and aim to reduce fish contamination levels of *Salmonella*, and consequently reduce the potential risk of transfer of these microorganisms to humans. Such procedures include an effort both by the industry with the implementation of more efficient and strict hazard analysis and critical control points. Governments also have a fundamental role in this follow-up to implement programs aimed at greater control on product quality, and increase and qualify more and more tax charge of developing these jobs.

**Keywords:** *Fish, Prevalence, Salmonella, Meta-analysis, epidemiology,*

## 1. INTRODUÇÃO

O consumo de pescado no mundo vem crescendo nas últimas cinco décadas, tanto pela maior demanda quanto pelas mudanças no hábito alimentar da população, que vem, cada vez mais, buscando produtos com perfil nutricional adequado. A carne de pescado é muito nutritiva, sendo rica em proteínas, aminoácidos, vitaminas e minerais. É um alimento de baixa gordura além de possuir elevados teores de ômega-3, trazendo benefícios à saúde humana (FAO, 2014). Assim, a per capita mundial para o consumo de peixe aumentou de uma média de 9,9 kg em 1960 para 17,0 kg na década de 2000 e 18,9 kg em 2010, com estimativas preliminares para 2012 apontando para um maior crescimento de 19,2 kg por habitante. Segundo a FAO (2014), força motriz por trás deste aumento impressionante tem sido uma combinação de crescimento da população, do aumento da renda e da urbanização interligada à forte expansão da produção de pescado e fortes canais de distribuição modernos.

A produção mundial de pescado aumentou de 140 milhões de toneladas em 2009 para 158 milhões de toneladas em 2012, sendo que 57% decorrente da produção de organismos aquáticos em cativeiro (aquicultura) restantes provenientes da pesca (FAO, 2014)

Entretanto, o alto potencial de consumo com alta produção de pescado sugere grande volume

de comercialização que nem sempre é feito de forma correta, estando o pescado sujeito a contaminação.

A segurança microbiana do pescado como alimento deve ser uma preocupação dos consumidores, indústrias e das agências reguladoras em todo o mundo. A identificação rápida e precisa dos patógenos na cadeia produtiva é importante para a garantia da qualidade e/ou da rastreabilidade dos agentes infecciosos dentro da cadeia.

Na cadeia alimentar, os micro-organismos podem ser considerados os principais agentes envolvidos na maioria das doenças transmitidas por alimentos (DTAs), destacando-se os bacilos representantes do Gênero *Salmonella*. A maior parte destas bactérias é patogênica para o homem e muitas espécies animais, apesar das diferenças quanto às características e gravidade da doença que provocam, são agentes de febre tifoide, febres entéricas, septicemia e enterocolites (Franco e Landgraf, 2004).

*Salmonella* spp. embora não seja indígena para o ambiente aquático, tem sido isolada de peixes e produtos da pesca. A relação entre o peixe e *Salmonella* vem sendo descrito por vários autores, alguns acreditando que os peixes são portadores da bactéria, abrigadas em seus intestinos por períodos de tempo relativamente curtos e outros defendem que os peixes só se infectam ativamente (Mol *et al.*, 2010). Porém, o microrganismo tem sido recuperado a partir das vísceras e do seu epitélio, constituindo,

entretanto, importante causa de doenças transmitidas por alimentos e grande responsável por surtos de origem alimentar na maioria dos países, incluindo o Brasil (Pullela, 1997; Guedes, 2009). Complementarmente, sua contaminação está associada com precárias condições de higiene dos manipuladores.

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (CDC) produziu um relatório informando que os peixes e mariscos são a causa de 5% dos casos individuais e 10% de todos os surtos de doenças de origem alimentar, com a maioria dos surtos decorrentes do consumo de pescados crus e que *Salmonella* spp. é o contaminante mais comum desses produtos (Allshouse *et al.*, 2004).

A presença de *Salmonella* no pescado é oriunda normalmente do manuseio, processamento, armazenamento e comercialização em condições higiênico-sanitárias deficientes ou contato com equipamentos, superfícies e utensílios higienizados inadequadamente. O desrespeito aos padrões higiênico-sanitários e às boas práticas de produção tem sido registrados como as causas da contaminação dos alimentos por este patógeno. Segundo Huss (1997), as condições higiênico-sanitárias na comercialização dos peixes devem estar inseridas dentro dos padrões adequados de higiene, para garantir a qualidade do produto e a saúde dos consumidores.

Nos Estados Unidos, a *Salmonella* tem sido atribuída como responsável de mais de dois a

quatro milhões de casos de doenças transmitidas por alimentos a cada ano. A incidência das infecções por *Salmonella* spp. aumentou consideravelmente a partir da década de 1980, levando a altos custos médicos, a perda de salários para os trabalhadores que adoecem assim como, perda de produtividade para as empresas cujos trabalhadores ficam doentes. No total, estas perdas financeiras custam ao estado mais de 3.600 milhões de dólares a cada ano. E isso vem preocupando muito as autoridades norte americanas principalmente os cientistas, os médicos, e as agências de administração de alimentos e drogas (Food and Drug Administration - FDA) (Flick, 2008).

Dados da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde, demonstraram que, no período de 2000 a 2011, ocorreram no Brasil 7.234 surtos de doenças alimentares, sendo 87 em pescado, frutos do mar e processados. Do total de surtos, predominaram como agentes etiológicos as bactérias *Salmonella* spp. (1.660 surtos), *Staphylococcus aureus* (799 surtos) e *Escherichia coli* (411 surtos), além de outras bactérias com percentuais menos expressivos (SVS, 2011). Portanto, a salmonelose associada ao consumo de peixes e produtos da pesca continua entre os principais problemas da saúde pública em muitos países e esforços devem ser contínuos para melhorar os métodos de controle.

Determinar a frequência de *Salmonella* spp. em pescado no País, para aprofundar o entendimento da sua epidemiologia em produtos da pesca de modo a criar programas de controle e prevenção no Brasil é o principal objeto deste estudo. Neste contexto, compilaram-se informações de estudos de diversos Países que relataram frequência de *Salmonella* em pescado através da técnica de meta-análise a partir da qual, estimou-se a medida resumo da frequência que foi utilizada como ferramenta para tomada de decisão ou validação do estudo, no intento de fornecer subsídios para a implantação de programas de ações específicas que promovam a vigilância contínua e controle rigoroso dos produtos em toda sua cadeia produtiva para garantia da qualidade e segurança do consumidor.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Características gerais

O Gênero *Salmonella* inclui várias espécies patogênicas para os humanos e os animais (Pelczar *et al.*, 1981). Segundo Franco e Landgraf (2004), o Gênero *Salmonella* pertence à Família *Enterobacteriaceae* e compreendem bacilos gram negativos não produtores de esporos. É constituído por bastonetes de 0,5 a 0,7 por 1 a 3 micrômetros. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios,

exceção à *S. pullorum* e à *S. gallinarum*, que são imóveis.

A taxonomia do Gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi) (Franco e Landgraf, 2004).

Os antígenos O são designados por algarismos arábicos (1, 2, 3, etc.). Os antígenos H são designados por letras minúsculas do alfabeto e por algarismos arábicos. Só existe um tipo imunológico de antígeno Vi, encontrado somente em *S. typhi*, *S. dublin* e *S. hirschfeldii*. Os antígenos O e Vi são termorresistentes, não sendo destruídos pelo aquecimento a 100° C por duas horas. Os antígenos H são termolábeis. Para determinação do sorotipo de uma *Salmonella*, os antígenos H que recobrem a célula precisam ser eliminados pelo aquecimento (Franco e Landgraf, 2004).

A atividade de água (Aw) afeta diretamente o desenvolvimento da bactéria embora o limite mínimo seja de 0,94. *Salmonella* spp. podem sobreviver por até mais de um ano em alimentos com baixa Aw (Germano 2008). O pH ótimo para a multiplicação da *Salmonella* fica próximo de 7,0, sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores à 4,0 são bactericidas. Dependendo da natureza do ácido utilizado para a acidificação, o pH mínimo pode subir para 5,5. O ácido acético, o ácido propiônico e o ácido butírico são mais inibitórios do que o ácido clorídrico, para um

mesmo pH. *Salmonella* spp. não toleram concentrações de sal superiores a 9%. A temperatura ideal para a sua multiplicação é de 35-37° C, sendo a mínima de 5° C e a máxima de 47° C, e em quatro horas o alimento contaminado se transforma em alimento infectante. Porém, em temperaturas acima de 60°C por doze minutos ocorre a destruição bacteriana e, abaixo de 5°C, não ocorre multiplicação do microrganismo (Germano, Germano, 2011).

## 2.2. Classificação

O Gênero *Salmonella* deve o seu nome a Daniel Elmer Salmon, bacteriologista veterinário que junto com Theobald Smith, isolaram e descreveram, pela primeira vez, o que chamavam de bacilo da peste suína, em 1885 (Gomes, 2011). Porém os surtos de salmonelose humana foram relatados pela primeira vez por Gaffky em 1880 (Santos, 2006).

Segundo Germano (2008), a classificação das salmonelas é muito complexa e, apesar das inúmeras discussões ao longo de vários anos, só na década de 1970 se alcançou um considerável progresso. Assim, antes, as espécies do Gênero *Salmonella* eram classificadas de acordo com a sua epidemiologia, reações bioquímicas e estrutura antigênica, o que continua prevalecendo até hoje, na maioria dos laboratórios. Embora haja dificuldade e divergências em alguns aspectos, pode-se entender que existe mais de 1.200

sorotipos de *Salmonella*, estimando-se que todas as espécies são patogênicas para o homem. Entretanto Huss (1997), afirma que as bactérias do Gênero *Salmonella* são membros da Família Enterobacteriaceae e ocorrem mais de 2.000 sorovares.

Estes organismos mesófilos estão distribuídos geograficamente por todo o mundo, mas ocorrem, principalmente, no intestino do homem e dos animais e em ambientes poluídos com excrementos humanos ou animais (Pelczar *et al.*, 1981; Ganowiak, 1994; Huss, 1997).

## 2.3. Contaminação microbiológica do pescado

As salmonelas localizam-se primordialmente no trato gastrointestinal das aves em geral, de mamíferos domésticos e silvestres, bem como de répteis, sem provocar, na maioria das espécies hospedeiras, manifestação de sintomas. Isto ocorre, por exemplo, com a *S. enteritidis*, *S. pullorum* e *S. gallinarum* em aves e a *S. choleraesuis* em suínos (Germano 2008). Animais de estimação são considerados reservatórios de *S. typhimurium*, *S. enteritidis* e *S. newport* (Silva Jr, 1995).

As bactérias de origem oceânicas que contaminam os peixes, quando comparadas com a flora bacteriana da carne dos animais terrestres, apresentam grande diversificação de espécies. O pescado vivo apresenta contaminação bacteriana principalmente na pele, guelras e vísceras, passando os demais



tecidos a serem infectados após a morte do animal. Ressalta-se que a faixa de temperatura em que as bactérias se desenvolvem é diferente para peixes e os animais terrestres. Em geral, as bactérias dos peixes são psicrófilas, crescendo bem à temperatura ambiente ou abaixo desta, e apresentando inclusive adaptação em temperaturas abaixo de 0° C (Ogawa *et al.*, 1999)

As doenças veiculadas pelo consumo de pescado são divididas em intoxicações, as causadas por *Staphylococcus aureus* e *Clostridium botulinum*, e infecções, as causadas por *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, entre outros. No primeiro caso, o agente causador é uma toxina que contamina o peixe ou é produzida por um agente biológico no animal. A intoxicação irá ocorrer mesmo que o agente produtor esteja morto, desde que previamente tenha produzido quantidade de toxinas suficientes para iniciar o processo. No caso de infecções, o agente causal deve ser ingerido vivo, invadindo mucosas do corpo do hospedeiro (infecção) ou produzindo toxinas (toxi-infecção) (FAO, 2011).

Algumas espécies bacterianas causadoras de doenças fazem parte da microbiota natural do pescado, como *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes* e *Clostridium botulinum*, porém, de forma geral, a maioria das doenças é causada pela contaminação proveniente do meio ambiente, água e manipuladores (FAO, 2011).

Normalmente, os microrganismos no pescado podem ser encontrados nas superfícies externas (pele, brânquias e muco) e nos intestinos dos peixes vivos e recém-capturados. Teoricamente, os tecidos internos de peixes vivos são considerados estéreis (Jay, 2005).

A microbiota do pescado recém-capturado reflete a da água onde vive. Quanto mais poluídas as águas, mais variada será a microbiota. Porém, existe um grande risco de sofrer infecção salmonelósica quando se consome pescado, crustáceos ou moluscos capturados em águas contaminadas e sem o conveniente controle sanitário e adequadas técnicas de tratamento (Rhodes & Kator, 1988).

A contaminação ocorre também quando a higiene do estabelecimento não é adequada, ou, o que é mais provável, pelo inadequado estado sanitário dos operários que, havendo adoecido de salmonelose, se transformam com frequência em portadores do germe durante certo tempo depois de haver desaparecido os sintomas da doença. Tais portadores excretam as bactérias do Gênero *Salmonella* com as fezes e, em face de uma higiene pessoal insuficiente, supõem um perigo para a saúde pública, já que quando manipulam os alimentos marinhos durante o descarregamento, o processamento ou a preparação contaminam os produtos, com risco de transmissão da salmonelose aos consumidores (Jimenez *et al.*, 1989; Ganowiak, 1994). Outro importante fator na contaminação do pescado é seu manejo desde o momento da

captura, a bordo e em todas as fases do processamento até seu destino final (Germano; Germano, 2011).

A transmissão de salmonelose para os humanos ocorre geralmente através de alimentos e água com contaminação fecal e o manuseio de alimentos por indivíduos portadores de *Salmonella* ou por contacto direto com animais infectados. Outra via de transmissão frequentemente relatada é o contacto com superfícies contaminadas com matéria orgânica, com solos úmidos, água, fezes, nos quais o agente pode sobreviver por longos períodos (Gomes, 2009).

Na infecção por *Salmonella* spp., a sintomatologia característica da doença ocorre dependendo de fatores como o tipo de alimento, a susceptibilidade dos indivíduos e a espécie de *Salmonella* envolvida. As espécies que são adaptadas aos seres humanos necessitam de uma dose infectante muito menor em relação àquelas que não são adaptadas para gerar quadro sintomatológico. Alguns estudos indicam como dose infectante mínima (D.I.M.) um valor tão baixo como 20 células, enquanto que outros apontam para uma ordem de grandeza maior que 10<sup>6</sup> células (Varnam & Evans, 1991; Huss, 1997). Porém, os idosos, crianças e aqueles com as defesas diminuídas (diminuição da resposta imune) são os grupos mais prováveis de ter a forma mais severa da doença (Borges *et al.*, 2010).

Em linhas gerais, as salmoneloses são auto limitantes em indivíduos hígidos. Estes, entretanto, podem desenvolver a forma crônica e assintomática da doença, podendo o quadro evoluir para uma fibrose intestinal persistente (Freitas, 2010). Indivíduos imunocomprometidos e fisiologicamente especiais (crianças, gestantes e idosos) podem morrer quando da infecção ou de complicações dela decorrentes (Freitas, 2010).

O período de incubação é de 6 horas após a ingestão do alimento contaminado, podendo durar os sintomas até 72 horas. O episódio geralmente sofre resolução em dois a três dias, não necessitando de tratamento com antibióticos. Entretanto, os sintomas podem variar consideravelmente desde uma doença grave do tipo tifoide com complicações mais sérias até uma infecção assintomática (Freitas, 2010; Germano; Germano, 2011).

Nas enterocolites, a *Salmonella* ingerida passa através do estômago, multiplica-se aderindo às células epiteliais da região ileocecal, penetra nas células da mucosa injuriando-as. A resposta inflamatória do hospedeiro dá-se com hipertrofia e hiperplasia dos folículos linfóides mediadas pela libertação de prostaglandinas. Estas estimulam o AMP-cíclico, produzindo secreção ativa de fluidos, o que resulta em diarreia (Alves, 2012).

Na Resolução RDC nº 12 da ANVISA (Brasil, 2001) é estipulado como padrão para *Salmonella* spp. em todas as matrizes

alimentícias, incluindo pescado, a ausência do microrganismo em 25 g de amostra.

Devido ao aumento no consumo de pescado na forma crua, Menezes *et al.*, (2006) encontraram *Salmonella* em pratos de *sushi* e *sashimi*, o que demonstra um risco sanitário ao consumidor. Este fato é reforçado pelos dados epidemiológicos apresentados por Ahmed (1991) que refere sete surtos de salmonelose provocados pelo consumo de pescado nos Estados Unidos durante o período de 1978-1987. Três destes surtos foram devidos à ingestão de pescado contaminado, dos quais, dois surtos foram oriundos do consumo de ostras cruas capturadas em águas poluídas (Huss, 1997).

O risco de infecção pela *Salmonella* pode ser minimizado ou eliminado também pelo cozimento adequado dos alimentos antes do consumo. É conhecido que a resistência da *Salmonella* ao calor é baixa, mas que varia também, consideravelmente, com a atividade da água (Aw) e com a natureza dos solutos no líquido de aquecimento. Assim, um aumento notório da resistência térmica tem sido registrado para valores baixos de aw.

A boa higiene pessoal e a educação sanitária dos manipuladores de alimentos são essenciais no controle das doenças causadas por *Salmonella*. Um tratamento adequado como cloração da água e a eliminação sanitária dos esgotos constituem, igualmente, aspectos

essenciais num programa de controle (Huss, 1997).

## 2.4. Epidemiologia

Pode-se considerar atualmente a *Salmonella* como sendo um dos microrganismos mais frequentemente envolvidos em casos de doenças de origem alimentar pelo mundo (Franco e Landgraf, 2004). Em pescado, devido à grande prevalência do patógeno no ambiente, incluindo o de cultivo, não é surpreendente que sejam detectadas no produto (Rattagool, Wongchida, e Sanghtong, 1990). Entretanto, as aves aquáticas estão conotadas a abrigar cepas de *Salmonella*, e têm sido sugeridos como possíveis meios de propagação deste microrganismo de região para região (Fenlon, 1983).

A maior incidência de *Salmonella* spp. em produtos da pesca já foi determinada na América do Norte, Central Pacific, em países da África, em comparação com menor na Europa, incluindo a Rússia (Heinitz *et al.*, 2000).

Nos EUA, *Salmonella* não tifóide em peixe e marisco, *S. paratyphimurium* e *S. enteritidis* em camarão e bivalves já foram reportadas. Porém, devido a uma fiscalização muito eficaz e melhor qualidade de saneamento, a incidência do patógeno em pescados tem diminuído. Conseqüentemente, o risco de infecção por *Salmonella* a partir de marisco reduziu, embora as infecções continuem a ocorrer em outras

partes do mundo (Heinitz et al., 2000). No entanto, atualmente a ocorrência de salmonelose nos Estados Unidos, estima-se de dois a quatro milhões de casos por ano, dos quais uma média de 500 (0,025%) é fatal (Freitas, 2010). Na Califórnia, a incidência de salmonelose passou de 12,1 casos por 1.000 habitantes, em 2001, para 13,2, em 2008, representando um aumento de 9,1% (Borges, 2010).

Nos 27 países da União Europeia, o número de casos de salmonelose reduziu de 321.923 casos, em 1997, para 169.409, em 2006. Conseqüentemente, a incidência da doença decresceu de 67,3 para 34,4 casos por 1.000 habitantes por ano (Borges et al., 2010). República Checa, Eslováquia, Hungria e Alemanha foram os países com os maiores números de casos: 387, 341, 203 e 130, respectivamente. Na Alemanha, a incidência da salmonelose no ano de 2003 foi de 63.044 casos (Freitas, 2010).

A Contaminação por *Salmonella* por peixes e produtos da pesca já foi relatado em muitos países como a Tailândia, Hong Kong, Espanha e Turquia (Herrera et al, 2006;. Kumar et al, 2009; Pamuk et al, 2011). Por exemplo, Huss e Gram encontraram 10 e 15% das amostras de peixe positivas a *Salmonella* na Índia e no México, respectivamente (Huss e Gram, 2003).

Em um estudo, realizado por Iyer e Shrivastava (1989) avaliando a higiene sanitária de um plantel de processamento demonstraram maior

incidência de *Salmonella* nos produtos fresco processado (12%), seguido por amostras de utensílios (2%) e a água utilizada em planta de processamento (1%). Entretanto, a ocorrência de *Salmonella* spp. tem sido igualmente relatada em centros de desembarque e de comércio do pescado (mercados e supermercados) como, por exemplo, no Japão (Asai et al., 2008), Índia (Jonnalagadda & Bhatt, 2004; Pinu, et al., 2007; Kumar et al., 2008), Malásia (Arumugaswamy et al., 1995), Sri Lanka (Ubeyratne et al., 2008) e no Vietnã (Phan et al., 2005). No Egito, Youssef et al. (1992), em amostras de tilápia verificaram a presença do microrganismo em 3,9% das amostras.

No Brasil, Damasceno (2009), em estudo com 39 amostras de salmão eviscerado e resfriado de estabelecimentos varejistas em Belo Horizonte, MG, não obteve resultados positivos para *Salmonella*. Resultados negativos para *Salmonella*, também foram demonstrados em estudo com filés de peixe congelados comercializados em Belém/Pará e São Paulo por Faria, 2007; Soares et al., 2011 e Martins, 2011, respectivamente.

Entretanto, em outros estudos avaliando a presença do micro-organismo no pescado ainda no Brasil, relataram presença de *Salmonella* em 3,5% das amostras (Duarte et al., 2010); em 5,4% das amostras (Parente et al., 2001); em 5,7% das amostras (Linder, 2002) e em 7,8%

das amostras (Liuson, 2003), respectivamente a presença de *Salmonella spp.*

A análise epidemiológica da doença está sedimentada em alguns parâmetros constituintes da história natural dessas ocorrências. Assim, um dos aspectos fundamentais do problema reside no isolamento e identificação conclusiva do agente etiológico. Particularizando as salmoneloses do pescado, esta condição propicia em primeiro plano o conhecimento da incidência e/ou frequência dos sorovares de *Salmonella*, possibilitando posteriormente, estabelecer confrontos de suas frequências em diversas regiões, bem como rastreamento dos sorotipos predominantes, visando à implantação de medidas preventivas ou de controle (Hofer *et al.*, 1997).

## **2.5. Alimentos envolvidos**

A capacidade de algumas espécies de microrganismos sobreviverem em determinados alimentos, depende não somente de suas características físicas e nutricionais, mas também de fatores intrínsecos e extrínsecos dos alimentos como: temperatura, pH, atividade de água entre outros, como também, manipulação e armazenamento inadequado (Franco & Landgraf, 2004).

São apontados como responsáveis pela ocorrência de surtos de salmonelose alimentos com alto teor de umidade e alta porcentagem de proteína, como produtos lácteos (leite e queijos cremosos), ovos (puđins, gemadas, licores de

ovos, maioneses), carnes (de bovinos, suínos e aves) e seus derivados (Germano, 2008). Peixe e os mariscos são responsáveis apenas por uma pequena porcentagem do número total de casos de *Salmonella* (Ahmed, 1991).

As salmonelas em produtos da pesca ocorrem como resultado de contaminação pelo homem ou animais. Esta contaminação tem sido normalmente associada à contaminação fecal ou à poluição das águas naturais ou de ambientes aquáticos, nos quais estes organismos podem sobreviver durante um longo período (meses), ou à contaminação direta dos produtos durante o processamento (Huss, 1997).

Existem evidências que sugerem que determinados sorotipos de *Salmonella* são parte da microbiota indígena de peixes e estes apresentam riscos mínimos para a saúde pública, porque a maioria dos crustáceos e outros frutos do mar são cozidos antes do consumo. Porém, as autoridades Europeias de inspeção e identificação de *Salmonella* (AFSA), mostraram presença nos produtos aquecidos como resultado da contaminação cruzada (Ahmed, 1991 e Reilly, 1998).

Os níveis correntes de *Salmonella* em vários produtos alimentares e a tendência para aumentar as infecções humanas e os surtos provocados pela ingestão de alimentos indicam que os testes bacteriológicos e os padrões bacteriológicos estritos (limites de tolerância zero) da maior parte dos produtos alimentares

são medidas insuficientes para controlar a salmonelose. Mesmo a qualidade microbiológica da água recolhida não parece ser um bom meio para prever a contaminação por *Salmonella* é importante considerar, porque foi demonstrado em ostras apanhadas em bancos fechados e outras em bancos abertos nos EUA a apresentarem o mesmo nível de contaminação (4%), mas sem se observar nenhuma correlação entre a presença de *E. coli* e a de *Salmonella* (D'aoust *et al.*, 1980).

## 2.6. Revisão sistemática e Meta-análise

A pesquisa é algo recorrente em todas as áreas e, hoje em dia, com a facilidade dos meios de comunicação, é possível encontrar inúmeros estudos sobre a mesma questão em pesquisa. Com uma infinidade de informações disponíveis surgem alguns problemas como, quais estudos escolher para a pesquisa, como tirar conclusões se alguns divergem entre si, quais têm as melhores conclusões, entre outras dúvidas que podem surgir. Uma maneira de resolver estes problemas é combinar os resultados dos estudos (Rodrigues e Ziegelmann, 2010).

Quando se deseja combinar vários estudos é simplesmente juntar dados de estudos e analisar como se fossem informações retiradas de apenas um amplo estudo. Porém, esta maneira desconsidera completamente a variabilidade e o tamanho de cada estudo, que tem importante influência no resultado que deveriam ser considerados (Rodrigues e Ziegelmann, 2010;

Tusevljak, *et al.*, 2012). Esta maneira da síntese dos dados realiza-se preferencialmente através da meta-análise, um método estatístico que reúne múltiplos resultados de estudos semelhantes e relativamente homogêneos, resultando em estimativas de síntese mais precisas e fiáveis sobre o resultado (Borenstein *et al.*, 2009).

A meta-análise é um tipo de análise de dados em que são combinados resultados de vários estudos que abordam a mesma questão de pesquisa, gerando assim estimativas que resumem o todo chamado de estimativas metanalíticas (Borenstein *et al.*, 2009).

Os estudos que compõem uma meta-análise são escolhidos através de uma revisão sistemática, que consiste um conjunto de regras para identificar estudos sobre uma determinada questão e, em seguida, selecionar quais deles serão incluídos ou não na meta-análise (Sargeant, 2006; Ruzante *et al.*, 2010). Para que a revisão sistemática seja útil, são necessários muitos estudos sobre a questão, mas que não tenham tanta concordância entre si a ponto da questão já estar respondida (Whitehead, 2002; Tusevljak, *et al.*, 2012).

Primeiramente faz-se um estudo exploratório para identificar e caracterizar todo o conhecimento de pesquisas publicadas referentes à questão em estudo, posteriormente é aplicada a meta-análise sobre a questão focada para estimar o valor quantitativo (medida resumo) de forma a identificar

maneiras em que métodos de estudos podem ser melhorados (Tusevljak, *et al.*, 2012). Os resultados do complemento revisão sistemática e meta-análise (SR-MA) são apresentados e discutidos dentro do contexto do seu uso potencial para o projeto de pesquisas, podendo ser bacteriológicas, avaliações quantitativas do risco e/ou em áreas relacionadas com iniciativas de investigações futuras de vigilância sanitária.

Entretanto, não são recentes as tentativas de unir os resultados de diferentes estudos. A primeira meta-análise da história é atribuída ao estatístico Karl Pearson. Em 1904, Pearson combinou, através de correlações, os dados de cinco estudos para examinar o efeito preventivo de inoculações contra febre entérica (Pearson, 1904). Os motivos relatados por Pearson para a combinação de estudos são, ainda hoje, as principais razões para o uso da meta-análise. O principal argumento é que muitos dos estudos são pequenos para permitir uma conclusão confiável, fazendo com que o tamanho do erro seja grande e o poder do estudo seja baixo (Rodrigues e Ziegelmann, 2010).

Em 1938, Yates e Cochran consideraram a combinação de estimativas a partir de diferentes experimentos agrícolas (Yates & Cochran, 1938), nos quais desdobraram essa fonte de variação para cada genótipo, determinando uma regressão linear da produtividade em relação a média de todos eles, por ambiente. A primeira meta-análise para

avaliar o efeito de uma intervenção terapêutica foi publicada em 1955 (Whitehead, 2002). Na década de 1970, a meta-análise passou a ser usada nas ciências sociais, principalmente em pesquisas em educação. Porém, o termo “meta-análise” ainda não era utilizado até 1977, quando foi utilizado pela primeira vez em um artigo intitulado “*Primary, secondary and meta-analysis of research*”, pelo psicólogo Gene Glass (Glass, 1977).

A utilização destes métodos tem uma longa tradição em saúde, ambiente e recentemente foi aplicado em saúde pública zoonótica (Waddell *et al.*, 2009; Young *et al.*, 2009).

Na área médica, a meta-análise passou a ser utilizada com mais frequência na década de 1980. Questões-chaves da medicina passaram a ser respondidas com a meta-análise, como o tratamento de doenças do coração e de câncer (Whitehead, 2002).

Em 1993, uma rede de clínicos, epidemiologistas e outros profissionais da saúde fundaram o *Cochrane Collaboration*, que tinha e ainda tem por objetivos elaborar, manter e divulgar revisões sistemáticas da área da saúde. Desde sua fundação em Oxford, o centro *Cochrane* tem crescido rapidamente e diversos centros foram fundados na Europa, América do Norte e América Latina, África e Austrália, com centenas de pessoas colaborando em grupos de revisão. No Brasil, o centro de *Cochrane* foi inaugurado em 1996 em São Paulo. Para conhecer mais sobre o

centro de Conchane e utilizar seus materiais de pesquisa, é possível acessar a página na internet <http://www.centrocochranedobrasil.org.br/>, na qual são encontrados links para os outros centros e suas bibliotecas virtuais.

O uso da meta-análise vem crescendo nas mais diversas áreas, como em ciências sociais, agricultura, ecologia, veterinária, entre outras; mas certamente, é a medicina a área que mais utilizou e utiliza meta-análise até hoje (Whitehead, 2002).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Tipos de estudos**

##### **3.1.1. Estudo epidemiológico observacional e transversal**

Sobre a ocorrência da *Salmonella* spp. em pescados dos estados de São Paulo, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul e Pará, no período de 2012 a 2013. Para aprofundar o conhecimento da sua epidemiologia de modo a criar subsídios de controle e prevenção dessa infecção no Brasil.

##### **3.1.2. Meta-análise**

Realizada para determinar uma medida resumo de frequência para utilizar na tomada de decisão e/ou validação do estudo.

Primeiramente realizou-se um estudo exploratório para identificar e caracterizar todo

o conhecimento de pesquisas publicadas referentes à frequência de *Salmonella* spp. em pescado e posteriormente aplicada a meta-análise sobre a questão focada para estimar a frequência do patógeno em pescado proveniente de planteis de processamento para varejo e atacadistas.

Como as pesquisas são de diferentes regiões do mundo, com diferentes espécies de peixes, crustáceos e ostras, o estudo utilizou modelo de efeito aleatório que considera variações entre os estudos. Sendo distintos os resultados encontrados em cada estudo, porém, a análise ficou interligada através de uma distribuição de probabilidade com o estabelecimento do intervalo de confiança da medida resumo das frequências (Rodrigues e Ziegelmann, 2010).

Os critérios de inclusão dos trabalhos na meta-análise foram: ter sido realizados em pescado e ser artigo científico publicado nos motores de busca de dados bibliográficos eletrônicos PubMed, Scielo, Science direct nos últimos 20 anos; possuir em seus resultados e metodologias dados suficientes para o cálculo do intervalo de confiança da frequência apresentada no estudo, com a finalidade de implementar a meta-análise: e utilizar como método de diagnóstico a cultura de células e possuir um número amostral igual ou superior a 20. No segundo momento, os estudos foram excluídos pelas seguintes razões: se a frequência calculada estivesse atrelada a episódios de surtos de salmonelose e se o



diagnóstico relatava apenas resultado de determinadas espécies de *Salmonella*. No entanto, após extensa busca, um total de 30 trabalhos possuíram as informações necessárias para ajustamento na meta-análise da medida resumo da frequência de *Salmonella* spp.

Apesar da escassez de trabalhos com todas as informações disponíveis, ainda utilizou-se como critério de exclusão, manter abaixo de 20% o teste de heterogeneidade ( $I^2$  de Higgins) da meta-análise (Rodrigues e Ziegelmann, 2010). Ao final, foi possível obter a medida resumo da frequência (com intervalo de confiança de 95%) de *Salmonella* spp. no pescado produzido e processado no mundo baseada em 12 trabalhos, com heterogeneidade baixa.

A pesquisa exploratória e o protocolo da revisão sistemática para meta-análise incluiu detalhes de definições do objeto do estudo e da metodologia utilizada no estudo pelos autores.

A estratégia de busca incluiu os seguintes termos de pesquisa: frequência, *Salmonella* e pescado em línguas portuguesa e inglesa. O comitê de especialistas indica que a investigação mais relevante é aquela publicada nas duas últimas décadas (Heuer *et al*, 2009 e Kummerer, 2009). Assim, a busca foi limitada a pesquisas publicadas posteriores a 1994.

### **3.2. Fontes de dados**

Os dados para o cálculo da frequência de *Salmonella* spp. em pescado foram obtidos a partir de informações do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA-Brasil), pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), referentes a análises de qualidade microbiana do pescado realizadas nos estados de São Paulo, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul e Pará, no período de 2012 a 2013. Para o cálculo da meta-análise os dados foram obtidos a partir do levantamento bibliográfico específico sobre as frequências de *Salmonella* spp. em pescados de vários países.

### **3.3. Armazenamento das informações e análises estatísticas.**

Toda a informação coletada foi armazenada em uma planilha de cálculo, do programa Microsoft® Office Excel® 2010 (Microsoft®, 2010), na qual foi realizada primeiramente uma avaliação de consistência dos dados das planilhas e posteriormente a aplicação de filtro e criação de tabelas dinâmicas para a visualização das informações mais relevantes. A análise estatística da informação foi realizada através do programa Stata/SE 12.0 (Stata Corp LP, 2011).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Revisão sistemática e meta-análise

Após extensa busca nas plataformas online, um total de 30 trabalhos possuíram as informações necessárias para o ajustamento da medida resumo da frequência da *Salmonella* spp. na meta-análise. Dos 30 estudos relevantes coletados, 87% (n = 26) foram estudos de medidas transversais e os restantes foram medidas longitudinais. Sendo 18 estudos excluídos por não informarem dados ajustados com medidas de variabilidade, não possuírem peso relevante ou serem de estrutura longitudinal, restando 12 artigos relevantes.

Entretanto, durante a revisão sistemática verificou-se inconsistências de metodologia, dentre elas o tamanho da amostra que não foi justificado em muitos estudos e em outros a amostragem foi por conveniência em detrimento de amostragem aleatória, que teria assegurado a representatividade na população-alvo.

Vandenbroucke *et al.* (2007), para evitar a exclusão dos estudos e incluir na revisão sistemática para a meta-análise com melhores dados relatados, seguiram a metodologia usada em estudos observacionais em Epidemiologia, desenvolvidos, no entanto, com controle randomizado (Sargeant *et al.*, 2010). Essas diretrizes fornecem sugestões com o objetivo de padronizar a qualidade e a utilidade dos dados publicados.

Os resultados da meta-análise (Figura 1) apresentaram teste estatístico de heterogeneidade baixa ( $I^2$  de Higgins =0,00% e teste Q de Cochran com valor de  $p=0,460$ ) que aceita a hipótese nula, o que indicaria homogeneidade dos estudos. Apesar do teste não ser significativo para heterogeneidade, porém, a meta-análise foi executada utilizando modelo de efeitos aleatórios que considera certa variabilidade entre os estudos, uma vez que, embora a heterogeneidade não se mostrasse significativa nos testes, a mesma foi identificada na análise detalhada das metodologias utilizadas, e isto objetivou acomodar parte da heterogeneidade apresentada nos diversos estudos observada durante a revisão sistemática.

A heterogeneidade demonstrada na (Figura 1) poderia ser também potencialmente explicada como resultado da diferença no desenho dos estudos ou outros fatores dos países contextualizados que poderiam afetar a contaminação microbiana do pescado. Por exemplo, alguma heterogeneidade poderia ser atribuída à randomização inadequada na amostragem, tipo de amostra utilizada (por exemplo, produtos prontos para o consumo), e o tipo de testes utilizados para medir a frequência da bactéria (por exemplo, cultura de células) (Lijmer *et al.*, 2002).

O valor da medida resumo da frequência de *Salmonella* encontrada na meta-análise foi 6,7% (IC 5,7-7,6%) (Fig. 1). Resultados

semelhantes foram encontrados por Heinitz e Johnson (1998) e Brands *et al.*(2005), que observaram uma frequência global de *Salmonella* spp. de 7,2% para frutos do mar importados e de 7,4% para ostras nos EUA, respectivamente. Entretanto menor que 13,6% encontrados por Kumar *et al.* (2003), em amostras de peixe, camarão e mariscos coletados na Índia.

A medida resumo da frequência encontrada pode ser considerada elevada pela importância dos patógenos nas doenças transmitidas por alimentos (DTA's). Esta elevada medida pode ter sido devida ao fato de boa parte do pescado analisado ter sido coletado em mercados abertos e o número amostral de cada estudo ser diferente ou, em muitos casos, possivelmente pela forma inadequada de processamento do pescado. Segundo Borenstein, (2009), tamanhos reduzidos e diferentes das amostras usadas nos estudos limita a precisão e a generalização do estudo individual assim como nas estimativas combinadas.

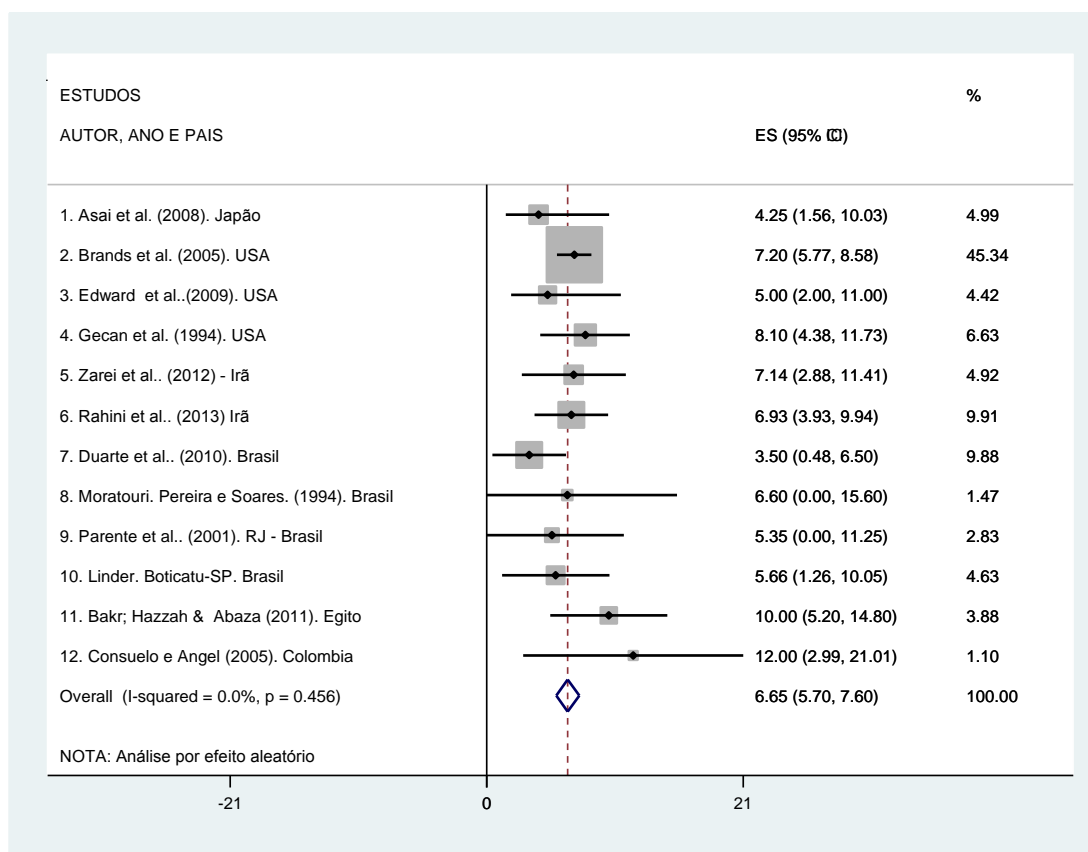
#### **4.2. Frequência de *Salmonella* spp. em pescado no Brasil**

Do total dos dados obtidos, em 949 amostras de pescado 18 eram positivas para a ocorrência de *Salmonella* spp. (frequência de 1,9%; IC 95%: 1,0 - 2,8%) (Tabela 1).

A frequência de *Salmonella* no pescado de 1,9% encontrada no estudo para o Brasil foi estatisticamente menor ( $p < 0,001$ ) que a medida resumo da frequência 6,7% encontrada na meta-análise (Tabela 1). Porém, semelhante aos resultados de incidências de *Salmonella* spp. encontrados em peixes frescos congelados na Índia (0.3%), nos Estados Unidos (1.3%) e na China (3.5%) respectivamente (Busani *et al.*, 2005; Heinitz *et al.*, 2000 e Chao *et al.*, 2007).

A taxa de contaminação do pescado observada contrasta com o padrão da legislação brasileira, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (Brasil, 2001), assim como a recomendação do *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1981), que estabelecem a ausência total de *Salmonella* spp. em 25g para pescados e produtos derivados. A ocorrência do patógeno em amostras desses produtos é de interesse para saúde pública, visto que todas as cepas de *Salmonella* são patogênicas ao homem (Franco & Landgraf, 2004).

No caso em estudo, a ocorrência do patógeno nas amostras pode ter sido devido à ocorrência provavelmente a falhas operacionais, especialmente nas etapas de descamação e evisceração, que sabidamente são os principais pontos do fluxograma de obtenção do pescado que expõem a carne à contaminação bacteriana em conformidade com os relatos Huss (1997).



**Figura 1.** Representação gráfica (*Forest Plot*) da meta-análise da frequência de *Salmonella* spp., com teste estatístico ( $I^2=0,00\%$ ,  $p=0,460$ ), medida resumo da frequência (6,7%), tamanho do efeito com IC e o peso atribuído em percentual para cada estudo.

A taxa de contaminação do pescado observada contrasta com o padrão da legislação brasileira, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (Brasil, 2001), assim como a recomendação do *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* - ICMSF (ICMSF, 1981), que estabelecem a ausência total de *Salmonella* spp. em 25g para pescados e produtos derivados. A ocorrência do patógeno em amostras desses produtos é de interesse para saúde pública, visto que todas as cepas de *Salmonella* são

patogênicas ao homem (Franco & Landgraf, 2004).

No caso em estudo, a ocorrência do patógeno nas amostras pode ter sido devido à ocorrência provavelmente a falhas operacionais, especialmente nas etapas de descamação e evisceração, que sabidamente são os principais pontos do fluxograma de obtenção do pescado que expõem a carne à contaminação bacteriana em conformidade com os relatos de Huss (1997). A contaminação por *Salmonella* spp.,

quando presente, em produtos da pesca e crustáceos pode ser proveniente da contaminação do ambiente de onde os mesmos foram retirados (Mohamed Hatha *et al.*, 2003), ou provenientes de manipulação na despesca e no processamento (Kumar *et al.*, 2003). Para tanto, as etapas de comercialização e/ou industrialização devem ser analisadas seriamente, detectando pontos críticos nos quais os patógenos podem ser introduzidos ou podem se multiplicar até quantidades suficientes para desencadear problemas de saúde conforme Gelli (1988).

Por outro lado, a detecção do patógeno no pescado também poderia indicar que as

estratégias locais para o controle de *Salmonella* nos setores de produção e processamento são inadequadas, porque o peixe capturado no alto mar e manuseado de forma higiênica e em baixa temperatura, de acordo com o Código de boas práticas para Códex de peixe e produtos da pesca (CAC / RCP / 52-2003), apresenta risco de contaminação baixo (Olgunoglu, 2012). Este fato pode ser provavelmente o que propiciou elevado número de amostras positivas indicando aplicação de procedimentos higiênico-sanitários inadequados durante a captura, manuseio, processamento, armazenamento e até mesmo a comercialização.

**Tabela 1. Frequências de *Salmonella* spp. em pescado nos estados brasileiros no período de 2012 a 2013 e da Meta-análise.**

Estado	Total amstras	Amostras positivas	Frequência (%)	IC
Pará	93	0	-	-
Santa Catarina	367	1	0,3	0,0-0,8
Mato Grosso do Sul	24	2	8,3	0,0-19,4
São Paulo	465	15	3,2	1,6-4,8
<b>Brasil</b>	<b>949</b>	<b>18</b>	<b>1,9</b>	<b>1,0-2,8</b>
<b>Meta-análise</b>			<b>6,7</b>	<b>5,7 -7,6</b>

Segundo Leitão (1984), o habitat de *Salmonella* é o trato intestinal do homem e dos animais e sua presença no pescado indica provável contaminação fecal de fontes humanas ou animais. Peixes capturados em

águas não poluídas estão isentos de *Salmonella*, pelo fato deste microrganismo não fazer parte da microbiota natural do peixe. Normalmente a presença de *Salmonella* no pescado pode ser considerada como resultado de manuseio, processamento, armazenamento

e comercialização em condições higiênico-sanitárias deficientes ou contato com equipamentos, superfícies ou utensílios higienizados inadequadamente (Floweres, 1998; Germano 2008), o que provavelmente seja a razão do resultado encontrado no estudo. As condições higiênico-sanitárias na comercialização de peixes devem estar inseridas dentro dos padrões adequados de higiene, para garantir a qualidade dos produtos e a saúde dos consumidores.

De acordo com Guedes (2009), os hábitos alimentares influenciam a epidemiologia das salmoneloses. A preparação e o armazenamento de grandes quantidades de alimentos, manuseio e controle inadequados, e ainda temperaturas desfavoráveis são condições que propiciam o aparecimento de contaminações deste tipo, e favorecem o processo multiplicativo da *Salmonella*.

O problema da *Salmonella* deve ser controlado pelo uso de boas práticas de fabricação (BPF) e da estrita aplicação das boas práticas sanitárias. Assim como, pelo sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), às vezes voluntariamente e, por vezes, como manda as leis governamentais (Olgunoglu, 2012).

## 5. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo indicam a frequência de *Salmonella* spp. em pescado provenientes de alguns estados

brasileiros foi estatisticamente menor ( $p < 0,001$ ) que a medida resumo da meta-análise. Pode-se conjecturar, em princípio, sobre a presença relativamente baixa da ocorrência de *Salmonella* spp., em pescado nos estados brasileiros avaliados no estudo. Entretanto, é um resultado ainda preocupante, do ponto de vista da saúde pública, já que a presença do patógeno no pescado denota, *a priori*, falhas em algum momento da cadeia de produção, da pesca ao processamento e comercialização. De uma maneira geral, sabe-se que as etapas de descamação e evisceração, são os principais pontos do processo de obtenção do pescado que expõem o produto à contaminação bacteriana. A baixa frequência encontrada não reduz, portanto, a necessidade da vigilância sanitária constante e a busca na melhoria de qualidade dos produtos, o que significa necessariamente a melhoria no treinamento dos trabalhadores, em todos os níveis do setor, em boas práticas de fabricação, nos procedimentos padrões de higienização, enfim na APPCC em toda cadeia de produção.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conhecedores de que a salmonela é problema, tanto para o mercado interno como externo, produtores e indústria têm feito grandes esforços e investido soma considerável de dinheiro no controle desta zoonose. Porém, os resultados nem sempre são satisfatórios. Os programas postos em prática, muitas vezes,

têm falhado no controle ou mesmo na redução dos índices de positividade.

No caso do pescado, a legislação brasileira expressa na Resolução RDC nº 12 da ANVISA (Brasil, 2001) como padrão para *Salmonella* spp. a ausência do microrganismo em 25 g de amostra. Entretanto, a falta de conhecimento da epidemiologia do patógeno pode ser a principal razão para as falhas nos programas de controle. A salmonela comparativamente com outras bactérias tem um comportamento epidemiológico complexo. Por isso, há necessidade de conhecer com mais detalhes este microrganismo. A falta desse conhecimento gera programas falhos que não atingem seus objetivos.

Entretanto, devido a *Salmonella* ser eliminada no ambiente em baixo número e de forma intermitente, com frequência o número de amostras para monitoramento tem sido abaixo do necessário, produzindo resultados negativos não necessariamente refletindo a realidade. O controle da salmonela deve iniciar-se com o recebimento do pescado livres do patógeno, e todo o esforço deve ser feito em mantê-lo livre. Conhecimento epidemiológico aliado a boas medidas de biossegurança deve ser a grande arma.

Para que a salmonela seja controlada, principalmente nos planteis de processamento, a indústria necessita estabelecer um programa de controle abrangente. Não é possível monitorá-la sem que se considerem todos os

setores envolvidos e que se estabeleça uma programação de amostragens e análises abrangente. Este deve ser planejado de forma a contemplar os objetivos traçados da indústria.

Parece ser comum observar na indústria o reconhecimento da importância da salmonela, mas a realização de análises é apenas esporádicas. Na maioria das vezes, as empresas reconhecem a necessidade de um programa de controle de salmonela e, de fato, o implementam. No início o monitoramento funciona, mas por acomodação, ou pela existência de pequenos entraves, passa ao segundo plano ou é interrompido definitivamente. Portanto, existe a necessidade de estabelecer programas de controle de salmonela continuados, isto é, sem interrupções, e com um planejamento adequado e que envolva toda a cadeia produtiva. As indústrias devem estabelecer programas de monitoria e controle de salmonela nos diferentes setores, de forma coordenada e de rotina.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AHMED, F.E. Seafood safety. National Academy Press, Washington D.C., USA, 1981.

ALLSHOUSE, J., BUZBY, J., HARVEY, D., & ZORN, D. Food and Drug Administration (FDA) Seafood safety and trade. USDA Agriculture Information Bulletin. nr 789-7. 2004.

ALVES, A.R.F. Doenças alimentares de origem bacteriana. Dissertação de Mestrado. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências de Saúde, Setembro 2012.

- ARUMUGASWAMY, R. K., RUSUL, G., ABDUL HAMID, S. N., & CHEAH, C. T. Prevalence of Salmonella in raw and cooked foods in Malaysia. *Food Microbiology*, 12, 3–8. 1995.
- ASAI, Y.; KANEKO, M.; OHTSUKA, K.; MORITA, Y.; KANEKO, S.; NODA, H.; FURUKAWA, I.; TAKATORI, K.; HARAKUDO, Y. *Salmonella* prevalence in seafood imported into Japan. *Journal of Food Protection*, v. 71, n. 7, p. 1460-1464, 2008.
- BORENSTEIN M, HEDGES LV, HIGGINS JPT, ROTHSTEIN HR. *Introduction to Meta-Analysis*. New York: John Wiley & Sons, 2009.
- BORGES, M.F.; ANDRADE, A.P.C.; MACHADO, T.F. *Salmonelose Associada ao Consumo de Leite e Produtos Lácteos*. Embrapa Agroindústria Tropical Fortaleza, CE 2010, ISSN 2179-8184.
- BRANDS, D.A., INMAN, A.E., GERBA, C.P., MARE, C.J., BILLINGTON, S.J., SAIF, L.A., LEVINE, J.F., JOENS, L.A., Prevalence of Salmonella spp in oysters in the United States. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 893–897. 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução CNNPA. N° 12 de 02 de Janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos.
- CODEX. Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros, CAC/RCP 52, 146 p. 2003. Disponível em: <[www.fao.org/docrep/011/a1553s/a1553s00.htm](http://www.fao.org/docrep/011/a1553s/a1553s00.htm)> Acesso em: 04 agost.2014.
- DAMASCENO, A. *Qualidade (sensorial, microbiológica, físico-química e parasitológica) de salmão (Salmo salar, Linnaeus, 1778) resfriado, comercializado em Belo Horizonte, MG*. Belo Horizonte, 2009. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.
- D'AOUST, J.Y. *Salmonella*. In *Foodborne Bacterial Pathogens*. Ed: M. P. Doyle. Marcel Dekker, pág. 327–445, 1990.
- DUARTE; A.R. RIBEIRO, A.M.M; VASCONCELOS, J.V.D; SILVA, P.L.A.; SANTANA, A.A.P.. Ocorrência de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva em pescado no nordeste, Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Laboratório nacional agropecuário, rua Dom Manoel de Medeiro, s/n o, CEP 52171-030, Recife, PE, Brasil. *Arg. Inst. Biol.*, São Paulo, v.77, n.4, p.711-713, out./dez., 2010.
- FAO. Fisheries and Aquaculture Department. *The State of World Fisheries and Aquaculture. 2014*. Disponível em <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acesso em 5 de Novembro de 2014
- FAO. Fisheries and Aquaculture Department. *Safety of fish and fish products.2008* Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/topic/1522/en>>. Acesso em 13 out. 2011.
- FARIAS, MCA. Avaliação das condições higiênico-sanitárias do pescado beneficiado em indústrias paraenses e aspectos relativos à exposição para consumo em Belém, Pará. 2006. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 66(2): 206, 2007.
- FENLON D.R. A comparison of *Salmonella* serotypes found in the faeces of gulls feeding at sewage works with serotypes in the sewage, *J. Hyg.* 91 (1983) 47–52.
- FLICK, G.J. Microbiological Safety of Farmed Fish Food Safety and Technology Global Aquaculture Advocate 33-34. 2008.
- FLOWERES, F.L. *Salmonella*. *Food Technology* 1988; 42(4):182-185.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2004.
- FREITAS, C.G. Importância do controlo de Salmonella sp. No abate de aves. Brasília, 2010.
- GANOWIAK, Z.M. La Sanidad em La Industria Alimentaria Marina. In: GIKOISKI, Z.E. *Tecnologia de los Productos Del Mar: Recursos, Composicion y Conservacion*. Zaragoza, Espanha: Acribia. Cap. 13, pág. 289 – 313, 1994



- GELLI, D.S. Análise microbiológica do pescado marinho. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, 1, 1988. Santos (SP). Seminário...São Paulo: Loyola, pág. 59 – 62, 1988.
- GERMANO, P. M. L., GERMANO, M. I. S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. Barueri, SP: Manole, 2008. 229-230; 317p.
- GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. *Higiene e vigilância sanitária dos alimentos*. 4. ed. Barueri, São Paulo: Manole, 2011. 1088 p.
- GLASS, G.V. Primary, secondary and meta-analysis of research educational researcher. V 5, p3-7. 1976
- GOMES, M. J. P. *Enterobacteriaceae (Salmonella spp)*. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/pdf/salmonella200901.pdf>>. Acesso em 11 Agost. 2014.
- GOMES, V. D. S.; SILVA, L. F. N.; ANDRADE, J. J. L.; NETO, J. C. B.; SANTOS, F. G. A. Caracterização da comercialização de pescados em feira-livre no município de Tangará – RN – Brasil. 2011. Disponível em <http://www.slideshare.net/ivanildofelix/caracterizacao-dacomercializacao-de-pescado-em-feira-livre-no-municipio-detangara-rn-brasilzootec2011> (acessado em 23/Set/2014).
- GUEDES, M.E.S.B. “qualidade microbiológica de pescados comercializados nas feiras de Manacapuru-AM. Relatório Técnico-Científico. Curso de tecnologia em produção pesqueira-tecapesq. 15f. programa de apoio à iniciação científica-paic. Universidade do Estado do Amazonas. Manacapuru-AM. 2009
- HEINITZ M.L, JOHNSON J.M. The incidence of *Listeria spp.*, *Salmonella spp.*, and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish. J Food Prot 61(3):318-23. 1998.
- HEINITZ, M.; RUBLE, R.D.; WAGNER, D.E.; TATINI, S.R. Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. *Journal of Food Protection*, v.63, n.5, p.579-592, 2000.
- HERRERA FC, SANTOS JA, OTERO A, *et al*. Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in Spain. J Appl Microbiol 2006;100:527–536.
- HEUER, O.E; KRUSE, H e GRAVE K, *et al*. Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. Clin Infect Dis 2009;49:1248–1253.
- HOFER, E.; SILVA, S.J.F.; REIS, E.M.F. Frequência de sorovares de *Salmonella* isoladas de aves no Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira 17 (2): 55-62. Departamento de Bacteriologia, Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 1997.
- HUSS, H. H. & GRAM, L. Characterization of Hazards in Seafood Assurance of Seafood Quality FAO Fisheries Technical Paper 444 227p. 2004.
- HUSS, H.H. *Garantia da qualidade dos produtos da pesca*. Roma: FAO, n. 334, 1997. 176 p. FAO Documento Técnico sobre as Pescas.
- ICMSF. International Commission on Microbiological Standards for Foods. Microorganismos de los alimentos: metodos de muestro. In: VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D.F. Para análisis microbiológicos: principios y aplicaciones específicas. Zaragoza : Acribia, 1981. v. 2.
- JAY, J. M. Frutos do Mar. In: *Microbiologia de Alimentos*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p. p.119-130.
- JONNALAGADDA, P. R., & BHAT, R. V. Quality of shrimp sold in the markets of hyderabad, India. Journal of Food Quality, 27(2), 163–170. 2004.
- KUMAR H.S.; SUNIL, R.; VENUGOPAL, M.N.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Detection of *Salmonella* spp. in tropical seafood by polymerase chain reaction. *International Journal Food Microbiology*, v. 88, p.91-95, 2003.
- KUMAR S, RIZVI M, BERRY N. Rising prevalence of enteric fever due to multidrug-resistant *Salmonella*: an epidemiological

study. J Med Microbiol 2008; 57(Pt 10):1247 e 50.

KUMAR, R., SURENDRAN, P. K., & THAMPURAN, N. Distribution and genotypic characterization of Salmonella serovars isolated from tropical seafood of Cochin, India. Journal of Applied Microbiology, 106, 515–524. 2009.

KUMMERER K. Antibiotics in the aquatic environment—A review—Part I and Part II. Chemosphere 2009;75:417–441. 2009.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia e Deterioração de Pescado Fresco e Resfriado de Origem Fluvial ou Marinho. Seminário: Controle e Qualidade do Pescado. Coordenadores: Matajiro Kai e Uilians E. Ruivo, ITAL Santos, 25 a 27 de julho de 1988, p. 33-39.

LIJMER J.G, BOSSUYT P.M, HEISTERKAMP SH. Exploring sources of heterogeneity in systematic reviews of diagnostic tests. Stat Med 2002;21:1525–1537.

LIUSON, E. Pesquisa de coliformes totais, fecais e Salmonella spp. em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo. São Paulo, 2003. 94 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.

MARTINS, C.N. Parâmetros de qualidade e valoração de pescada da espécie *Macrodon ancylodon* (Bloch & Schneider, 1801): características sensoriais, físico-107 químicas, microbiológicas, parasitológicas e contaminantes inorgânicos. São Paulo, 2011. 196 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2011.

MENEZES, F.G.R; SILVA, C.M; CARVALHO, F.C.T; SOUSA, D.B.R & VIEIRA, R.H.S.F. Salmonella e Staphylococcus coagulase positiva em sushis e sashimis comercializados na cidade de Fortaleza, Ceará. Instituto de Ciências do Mar-Labomar. Meireles, Fortaleza, CE./2006.

MICROSOFT Corporation Office / Excel 2010. Planilha Electronic Excel. Portland: Microsoft Research 2010.

MOHAMED HATHA, A.A.; MAQBOOL, T.K.; KUMAR, S.S. Microbial quality of shrimp products of export trade produced from aquacultures shrimp. International Journal Food Microbiology, v.82, p.213-221, 2003.

MOL, S. COSANSU, D.U. ALAKAVUK, S. OZTURAN. Survival of *Salmonella enteritidis* during salting and drying of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) fillets. Int. J. Food Microbiol., 2010 (139) (2010), pp. 36–40.

OGAWA, M; MAIA, E.L. Manual de Pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado. Vol.1. São Paulo: Varela, pág. 429, 1999.

OLGUNOGLU, I.A., Salmonella in Fish and Fishery Products. University of Adiyaman, ocalational School of Kahta turkey. 2012

PAMUK, S.; GURLER, Z.; YILDIRIM, Y. SIRIKEN, B.. Detection of microbiological quality of common Carp (*Cyprinus carpio*) sold in public Baazar in Afyonkarahisar. J. Anim. Vet. Adv., 10 (8) (2011), pp. 1012–1018.

PARENTE, L.S; COSTA, R.A; VIEIRA, G.H.F.; REIS, E.M.F.; HOFER, E.; FONTELES, A.A.; VIEIRA, R.H.S.F. Bactérias entéricas presentes em amostras de água e camarão marinho *Litopenaeus vannamei* oriundos de fazendas de cultivo no Estado do Ceará, Brasil. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., Sao Paulo, v. 48, n. 1, p. 46-53, 2011.

PEARSON, K. Report on certain enteric fever inoculation statistic. British Medical Journary, v3, p 1243 -1246. 1904.

PELCZAR, M.J.; REID, R.; CHAN, E.C.S. Microbiologia. São Paulo: McGraw Hill Brasil, 1981. V. 2, 480p.

PHAN, T. T., KHAI, L. T. L., OGASAWARA, N., TAM, N. T., OKATANI, A. T., & AKIBA, M. Contamination of Salmonella in retail meats and shrimps in the Mekong Delta, Vietnam. Journal of Food Protection, 68(5), 1077–1080. 2005.

- PINU, F. R., YEASMIN, S., BAR, M. L., & RAHMAN, M. M. Microbiological conditions of frozen shrimp in different food market of Dhaka city. *Food Science and Technology Research*, 13(4), 362–365. 2007.
- PULLELA, S. V. S. Aquaculture of Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) and a comparison of its quality: microbiological, sensory and proximate composition. Master of Science in Food Science and Technology. Virginia Polytechnic Institute and State University 191 p. 1997.
- RATTAGOOL, P., WONGCHIDA, N., & SANGHTONG, N. Salmonella contamination in Thai shrimp. *FAO Fisheries Report*, 401(Suppl.), 18–23. 1990.
- REILLY PJA. Emerging food safety issues and the seafood sector, 26th Session of the Asia Fisheries Commission, September 24–30, China, 1998.
- REILLY, P.J. A.; TWIDDY, D.R. *Salmonella* and *Vibrio cholerae* in brackish water tropical prawns. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.16, p.293-301, 1992.
- RHODES, M. W. & KATOR, H. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. In estuarine environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, pág. 2902–2907, 1988.
- RODRIGUES, C.L.; ZIEGELMANN, P.K. Metanálise: Um guia prático. *Rev. HCPA*. 30(4): p. 436 – 447, 2010.
- RUZANTE, J.M; DAVIDSON, V.J.; CASWELL J, et al. A multifactorial risk prioritization framework for foodborne pathogens. *Risk Anal* 2010;30:724–42.
- SANTOS R. M. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de peixes comercializados em Mercados Municipais da Cidade de São Paulo. Dissertação. São Paulo. Faculdade de Saúde Pública da USP; 2006.
- SARGEANT JM, RAJIC´ A, READ S, et al. The process of systematic review and its application in agri-food public-health. *Prev Vet Med* 2006;75:141–151.
- SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE (SVS). Ministério da Saúde. Dados Epidemiológicos – DTA período de 2000 a 2011\*, 2011. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/dados\\_epidemiologicos\\_dta\\_15911.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/dados_epidemiologicos_dta_15911.pdf)>. Acesso em 24 Agosto. 2014.
- SILVA JUNIOR, E. A. Manual de Controle higiênico-sanitário em alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 1995.
- SIQUEIRA, A *Análise epidemiológica dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil*. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Apresentação Power Point: 15 slides. 2009.
- SOARES, V.M. PEREIRA, J.G.; IZIDORO, T.B.; MARTINS, O.A.; PINTO, J.P.A.N.; BIONDI, G.F. Qualidade microbiológica de files de peixe congelados distribuídos na cidade de Botucatu – SP. *UNOPAR Científica – Ciências biológicas e da saúde*, Londrina: Universidade Norte Do Paraná, V. 12, N. 2, P. 85-88, 2011.
- TUSEVLJAK, N.; RAJIC, A.; WADDELL, L.; DUTIL, L.; CERNICCHIARO, N.; GREIG, J.; WILHELM, B.J.; WILKINS, W.; TOTTON, S.; UHLAND, F.C.; AVERY, B.; AND MCEWEN, S. A. Prevalence of Zoonotic Bacteria in Wild and Farmed Aquatic Species and Seafood: A Scoping Study, Systematic Review, and Meta-analysis of Published Research. *Foodborne pathogens and disease* Volume 9, Number 6, 2012. Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/fpd.2011.1063.
- UBEYRATNE, J. K. H., KLEER, J., HILDEBRANDT, G., FRIES, R., KHATTIYA, R., PADUNGTOD, P., et al. Prevalence of Salmonella in marketed Penaeus monodon shrimps in North Western Province, Sri Lanka. *Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 121, 418–421. 2008.
- VANDENBROUCKE J.P, VON E.L.M.E, ALTMAN D.G, et al. STROBE Initiative. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): Explanation and elaboration. *Epidemiology* 2007; 18:805–835.
- VARNAM A.H & EVANS. M.G Salmonella. In: *Foodborne Pathogens: an Illustrated Text*.

Wolfe Publishing Ltd, London, pp. 51±86.  
1991

WADDELL L, RAJIC´ A, SARGEANT J, *et al.* The methodological soundness of literature reviews addressing three potential zoonotic public health issues. *Zoonoses Public Health* 2009; 56:477–489.

WHITEHEAD, A. Meta-analysis of controlled clinical trials. John Wiley & Sons. 2002.

YATES, F. & CONCHRAN, W.G. The analysis of groups of experiments. *The journal of Agriculture science*, v. 28, n 4, p 556-580.  
1930

YOUNG I, RAJIC´ A, WILHELM BJ, *et al.* Comparison of the prevalence of bacterial enteropathogens, potentially zoonotic bacteria and bacterial resistance to antimicrobials in organic and conventional poultry, swine and beef production: A systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Infect* 2009;137: 1217–32.

YOUSSEF, H.; EL-TIMAWI, A. K. AHMED. Role of pathogens of freshwater fish in transmission of humans diseases. *Journal of Food Protection*, Iowa: International Association of Food Protection, v. 55, n. 9, p. 739-740,  
1992

