



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO – UFMT**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO – FANUT**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO, ALIMENTOS E**  
**METABOLISMO – PPGNAM**

**NATHALY BARROS NUNES**

**Avaliação da atividade antimicrobiana de hipoclorito de sódio (NaClO)**  
**em *Salmonella enterica* isolada de peixe nativo (Tambaqui - *Colossoma***  
***macropomum*)**

**CUIABÁ – MT**  
**2023**

**NATHALY BARROS NUNES**

**Avaliação da atividade antimicrobiana de hipoclorito de sódio (NaClO)  
em *Salmonella enterica* isolada de peixe nativo (Tambaqui - *Colossoma  
macropomum*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Alimentos e Metabolismo da Universidade Federal de Mato Grosso como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição, Alimentos e Metabolismo.

**Área de Concentração:** Alimentos

**Orientador:** Prof. Dr. Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo

**CUIABÁ – MT  
2023**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA À FONTE.

**Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.**

N972a Nunes, Nathaly Barros.

Avaliação da atividade antimicrobiana de hipoclorito de sódio (NaClO) em Salmonella enterica isolada de peixe nativo (Tambaqui - Colossoma macropomum) [recurso eletrônico] / Nathaly Barros Nunes. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 52 f., il. color., pdf). -- 2023.

Orientador: Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Alimentos e Metabolismo, Cuiabá, 2023.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO, ALIMENTOS E METABOLISMO

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Avaliação da atividade antimicrobiana de hipoclorito de sódio (NaClO) em *Salmonella enterica* isolada de peixes nativos (Tambaqui - *Colossoma macropomum*)

AUTORA: MESTRANDA Nathaly Barros Nunes

Dissertação defendida e aprovada em 10 de fevereiro de 2023.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

1. Presidente Banca / Orientador Doutor Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo

Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

2. Examinador Interno, Professor Doutor Ricardo César Tavares Carvalho

Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

3. Examinador Externo, Doutor Vinicius Silva Castro

Instituição : UNIVERSITY OF LETHBRIDGE, Canada

4. Examinador Suplente, Professor Doutor Jorge Luiz da Silva

Instituição : INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA

CUIABÁ, 10/02/2023.



Documento assinado eletronicamente por EDUARDO EUSTAQUIO DE SOUZA FIGUEIREDO, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso, em 10/02/2023, às 18:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por Vinicius Silva Castro, Usuário Externo, em 14/02/2023, às 12:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por Ricardo César Tavares Carvalho, Usuário Externo, em 14/02/2023, às 16:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufmt.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 5519297 e o código CRC 89E68755.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por nunca me abandonar nos momentos mais decisivos da minha vida, que ouvi as minhas orações diárias e sabe os desejos mais íntimos do meu coração. Pelo seu amor incondicional e por me permitir chegar até esse momento.

A Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) e ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Alimentos e Metabolismo (PPGNAM), pela oportunidade de me tornar Mestre através dos conhecimentos doados até mim.

A Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT), pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço a banca examinadora, pela disponibilidade de compor esta banca de defesa.

Ao meu orientador, professor Dr. Eduardo Figueiredo, pelo incentivo, por ter me recebido e acolhido, por passar tranquilidade, por ser um ser humano do bem. Obrigada por tantos ensinamentos, por estar sempre disponível a todos nós diariamente. Sou feliz de tê-lo como meu orientador e poder aprender com o Senhor. Minha eterna admiração pelo profissional incrível que o Senhor é!

A minha família, pelas orações e pela torcida. Em especial a minha mãe, Luciana Barros por nunca ter medido esforços para que eu me tornasse a mulher que sou hoje, por ter se doado a nós na busca de se realizar através dos nossos sonhos. A meu pai, Adilson Nunes que se sente orgulhoso por quem estou me tornando e ao meu padrasto, Edmilson Souza por vibrar minhas conquistas. Amo vocês!

As minhas irmãs Camila Barros, que vibra por mim e Nathiely Barros, que só nos dá orgulho, quero poder ser fonte de inspiração para que você sempre corra atrás dos seus sonhos. Amo vocês!

A minha irmã Maria Luiza Nunes, pela torcida e meu irmão Luã Nunes (*in memoriam*), que acreditou em mim até o último dia de sua vida. Isso também é por vocês!

A meus amigos Baianos, Júlia, Rafaella, Samuel, Juliana, Erick, Andressa e tantos outros que sabem o quanto viver tudo isso foi um sonho. Amo vocês!

A meus amigos Cuiabanos, Millena, Hya, Milla e Clodoaldo que hoje fazem parte da minha vida e de um dos momentos mais incríveis da minha história. Vocês foram fundamentais, pois tornaram a minha morada aqui mais leve!

A meus queridos amigos do Laboratório de Microbiologia Molecular de Alimentos (LabMMA):

A Futura Dr. Jaqueline Oliveira, minha dupla nos experimentos e nas risadas diárias. Obrigada pela amizade e por estar comigo em todos os momentos. Bom demais dividir esse momento com você!

Ao Dr. Adelino Cunha, que foi um paizão durante todo o mestrado. Obrigada por compartilhar comigo seus ensinamentos profissionais e pelas conversas sobre a vida.

Minha gratidão por ser acolhida por você diariamente e por me encorajar a seguir em frente. Você foi fundamental para mim!

Ao Dr. Vinicius Castro, por ser solícito a mim em todos os momentos. Você é fonte de inspiração a todos nós!

Ao Dr. Marcio Lima, pelas risadas diárias. Você tornou o mestrado mais leve!

Ao futuro Dr. Yuri Porto, que chegou e nos conquistou com seu jeito único, obrigada pela amizade e companheirismo de todos os dias!

A futura Dra. Maxsueli Moura, pela amizade e troca diária. Desejo que tenhas sucesso sempre!

Aos demais companheiros, pela companhia diária no laboratório e por fazerem parte deste momento tão importante para mim.

Minha eterna gratidão a todos vocês, vocês fazem parte disso!

*“Pés, para que os quero, se tenho asas para voar?”*

*Frida Kahlo.*

NUNES, N. B. **Avaliação da atividade antimicrobiana de hipoclorito de sódio (NaClO) em *Salmonella enterica* isolada de peixe nativo (Tambaqui - *Colossoma macropomum*)** 2023. Dissertação (Mestrado em Nutrição, Alimentos e Metabolismo), Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá.

## RESUMO

A prática de aquicultura ao longo dos anos vem produzindo toneladas de peixes nativos em todo o mundo. O pescado é um produto rico nutricionalmente, no entanto, facilmente contaminado por microrganismos deteriorantes e patogênicos, tais como *Salmonella* spp. Este patógeno não faz parte da microbiota natural dos peixes, que se tornam hospedeiros intermediários por meio de contaminação, podendo causar infecção alimentar nos seres humanos que o consomem. Controlar *Salmonella* spp. no processamento de peixes é essencial para o avanço do comércio e desenvolvimento da cadeia produtiva. Nesse contexto, este estudo objetivou identificar a melhor concentração de hipoclorito de sódio (NaClO, tempo de exposição e temperatura da água, que possibilite o melhor efeito antimicrobiano possível sobre população de *Salmonella* spp. Para tanto, avaliou-se o nível de inativação de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Schwarzengrund desafiadas em diferentes tempos que variaram entre 5 minutos à 38 minutos e meio, temperaturas entre 5°C à 38,5°C e concentrações de NaClO entre 0,36 ppm à 6,36 ppm através de um experimento com delineamento composto central rotacional (DCCR). Os resultados encontrados confirmam que a concentração de 5 ppm, recomendado pelos Órgãos reguladores do Brasil foi eficiente para inativação de *Salmonella* Enteritidis, onde esse efeito foi alcançado independente das outras variáveis utilizadas. Contudo, pôde ser constatado que a concentração de 6,36 ppm gerou uma redução de 7 log<sub>10</sub> UFC/ml. Para a cepa de *Salmonella* Schwarzengrund foi observado que a concentração de NaClO e tempo de exposição atuaram significativamente na inativação, não sofrendo influência da variável temperatura. Dessa maneira, as análises realizadas indicam que cepas de *Salmonella* spp. utilizadas em experimento *in vitro* se mostraram sensíveis as concentrações iguais ou superior ao recomendado pela legislação, havendo necessidade de métodos eficazes, como mais tempo de exposição aliado a concentração de NaClO preconizada a serem adotados nas indústrias para promover melhor ponto de controle para garantir um alimento seguro a população consumidora.

**Palavras-chave:** *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Schwarzengrund, tempo de exposição, NaClO, temperatura de água, DCCR.

NUNES, N. B. **Evaluation of the antimicrobial activity of sodium hypochlorite (NaClO) in *Salmonella enterica* isolated from native fish (Tambaqui - *Colossoma macropomum*)** 2023. Dissertation (MSc in Nutrition, Food and Metabolism), Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá.

### ABSTRACT

The practice of aquaculture over the years has produced tons of native fish all over the world. Fish is a nutritionally rich product, however, easily contaminated by deteriorating and pathogenic microorganisms, such as *Salmonella* spp. This pathogen is not part of the natural microbiota of fish, which become intermediate hosts through contamination, and may cause foodborne infection in humans who consume it. Control *Salmonella* spp. in fish processing is essential for the advancement of trade and development of the production chain. In this context, this study aimed to identify the best concentration of sodium hypochlorite (NaClO), exposure time and water temperature, which allows the best possible antimicrobial effect on the population of *Salmonella* spp. For this purpose, the level of inactivation of *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 and *Salmonella* Schwarzengrund challenged at different times ranging from 5 minutes to 38 and a half minutes, temperatures between 5°C to 38.5°C and NaClO concentrations between 0.36 ppm to 6.36 ppm through an experiment with rotational central composite design (DCCR). The results found confirm that the concentration of 5 ppm, recommended by the regulatory bodies in Brazil, was efficient for the inactivation of *Salmonella* Enteritidis, where this effect was achieved regardless of the other variables used. However, it could be verified that the concentration of 6.36 ppm generated a reduction of 7 log<sub>10</sub> CFU/ml. For the strain of *Salmonella* Schwarzengrund it was observed that the conception NaClO concentration and exposure time acted significantly in inactivation, not suffering influence from the temperature variable. Thus, the analyzes carried out indicate that strains of *Salmonella* spp. used in an in vitro experiment were sensitive to concentrations equal to or greater than that recommended by legislation, with the need for effective methods, such as longer exposure time combined with the recommended NaClO concentration to be adopted in industries to promote a better control point to guarantee a food safe for the consumer population.

**Keywords:** *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Schwarzengrund, exposure time, NaClO, water temperature, DCCR.

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

### ARTIGO

<b>Tabela 1.</b> Fatores das variáveis utilizadas no DCCR.....	33
<b>Tabela 2.</b> Validação do modelo experimental utilizando pontos aleatórios para comparação de valores observados e esperados.....	35
<b>Tabela 3.</b> Arranjo Delineamento Composto Central Rotacional de <i>Salmonella</i> Enteritidis (ATCC) e <i>Salmonella</i> Schwarzengrund (Selvagem) sob a concentração de hipoclorito de sódio, tempo de exposição e temperatura.....	36
<b>Tabela 4.</b> Índices de desempenho de modelo DCCR e sobrevivência de <i>Salmonella</i> sob concentração de cloro, temperatura e tempo de exposição.....	38
<b>Figura 1.</b> Mecanismos das ações bactericida de HClO e ClO <sup>-</sup> .....	17
<b>Figura 2.</b> Fluxograma esquemático da metodologia realizada.....	32
<b>Figura 3.</b> Sobrevivência (Log (N <sub>0</sub> -N) de cepa de <i>Salmonella</i> ATCC (a) e selvagem (b) após exposição do hipoclorito de sódio, tempo e temperatura da água. Verde indica menor sobrevivência após os tratamentos e vermelho indica maior capacidade de sobrevivência após os tratamentos.....	37/38

# Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
2.1 Peixes Nativos Regionais .....	12
2.2 <i>Salmonella</i> spp.....	13
2.3 <i>Salmonella</i> spp. em Peixes Nativos .....	14
2.4 Hipoclorito de Sódio (NaClO).....	16
2.5 Legislação de padrões de qualidade e identidade para pescado.....	19
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	21
3.1 Objetivo Geral .....	21
3.2 Objetivos Específicos .....	21
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	22
<b>ARTIGO:</b> Determinação do ponto ótimo de atividade antimicrobiana de hipoclorito de sódio (NaClO) para controle de <i>Salmonella</i> spp. isolada de peixe nativo.....	29
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	30
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	32
Delineamento experimental.....	32
Preparação das amostras.....	32
Delineamento Composto Central Rotacional.....	33
Desempenho do modelo experimental e ajuste dos dados.....	34
Validação de <i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076 e <i>Salmonella</i> Schwarzengrund.....	35
Análise dos dados.....	35
<b>RESULTADOS</b> .....	35
<b>DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>CONCLUSÃO</b> .....	42
<b>ANEXO I</b> .....	43
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	45
<b>ANEXO II</b> .....	48



## 1. INTRODUÇÃO

A aquicultura fornece cerca de mais de 50% dos peixes para o consumo humano em todo o mundo, sendo o pescado apontado como um produto de grande importância nutricional (FAO, 2020, NI LI et al., 2020). Essa atividade está em franco desenvolvimento, devido ao crescimento da demanda, em função da mudança do comportamento alimentar da população, que busca consumir alimentos de melhor qualidade nutricional (SOUZA, 2010).

No Brasil, a piscicultura é praticada em todos os estados da federação, diferenciando-se em relação às espécies, sistemas de produção e volumes produzidos (BARROS et al., 2018). O pescado desempenha um papel econômico muito importante em muitos países, devido a sua abundância e excelente composição nutricional (FILHO et al., 2010), pois é consumido no mundo todo em virtude dos potenciais benefícios a saúde e também pela sua alta produtividade e qualidade (NI LI et al., 2020).

O termo peixes nativo refere-se à regionalização em que cada espécie está inserida no ecossistema. O Brasil é um país continental, onde suas bacias e, sub-bacias apresentam espécies particulares de peixes (PELICICE et al., 2014). Sendo assim, um país conhecido por sua impressionante diversidade de fauna e flora com várias espécies endêmicas (FRAGOSO-MOURA et al., 2016).

No ano de 2020, o Estado de Mato Grosso foi classificado em segundo lugar com maior produção de peixes nativos do Brasil, E permanecendo na mesma posição, no ano de 2021, com uma produção em cerca de 37.000 toneladas de peixes nativos, sendo considerado um Estado de grande potencial de produção (PEIXE BR, 2022).

Por ser um alimento com alta atividade de água, o peixe pode apresentar uma maior perecibilidade entre os produtos de origem animal (NUNES et al, 2004). Dessa forma, patógenos podem estar presentes no peixe, entre eles *Salmonella* spp., que é um contaminante biológico originalmente relatado em peixes, geralmente introduzido por meio de água contaminada ou manuseio inadequado (HEINITZ et al, 2000; SANT'ANA, 2012). Fatores como sistemas de criação intensiva, altas densidade de biomassa de peixes em área limitada, acesso de animais domésticos e silvestres, efluentes, lixiviação, alimentação e intervenção humana podem levar a contaminação de patógenos como *Salmonella* spp. (FERNANDES et al., 2018; SANTOS et al., 2019).

No Brasil, a existência de estudos de salmonelose veiculadas por peixes são escassos, embora demonstrem o pescado como fonte de contaminação por *Salmonella* spp., entretanto, poucos trabalhos detectaram contaminação em humanos derivados de contaminação por *Salmonella* spp. (SANTOS et al., 2019; CAVALCANTE, 2020; FERNANDES et al., 2021). Para o controle microbiológico, existem regulamentações em todo o mundo que estabelecem requisitos para o padrão de qualidade e segurança do pescado (BRASIL, 2017; BRASIL 2019).

Por mais de um século o uso de agentes clorados na desinfecção da água, forneceu respaldo para o uso de água clorada em diferentes cadeias de processamento e etapas da indústria de alimentos (CAVALCANTE, 2020). Na indústria de produtos de origem animal, o cloro e seus derivados são agentes amplamente utilizado para eliminar microrganismos patogênicos (FAO/OMS, 2008). Segundo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2007), a recomendação máxima é de até 5 partes por milhão (ppm) de cloro residual livre. Entretanto, estudos realizados em todo o mundo já foram performados, buscando a quantidade ideal de cloro necessária para inativação microbiana (10, 20, 50, 150, 400 ppm) (TSAI et al., 1992; TONG THI et al, 2015).

A higienização dos peixes nativos com água contendo NaClO para controle de *Salmonella* spp. em abatedouros frigoríficos é de extrema importância e considerada obrigatória, pois existe uma Instrução Normativa nº 60 do ano de 2019 que estabelece padrões microbiológicos para alimentos, que exige ausência de *Salmonella* spp. no pescado. (BRASIL, 2017). No entanto, falhas durante processo processamento, pode manter a presença de *Salmonella* spp. na superfície dos peixes levando a contaminação cruzada durante todas as etapas de processamento (FERNANDES et al, 2021). Dessa forma, medidas mais eficazes, tais como tempo de exposição maior, temperatura da água da lavagem e concentrações de NaClO mais efetivas e que reduzem mais a carga microbiana para se chegar a um ponto de controle otimizado afim de inibir o crescimento de bactérias patogênicas no pescado, sendo que *Salmonella* spp. é um problema de saúde pública e está vinculada a intoxicação alimentar nos seres humanos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Peixes Nativos Regionais

O ramo da produção animal que mais cresce no mundo é a Aquicultura. A produção mundial de pescado tem crescido a uma taxa média anual de 3,2% nos últimos 50 anos (BRABO et al., 2016). Os avanços tecnológicos que viabilizaram a produção de peixes nativos no Brasil, em particular dos peixes redondos, tiveram início efetivo nos anos 80 (KUBITZA et al., 2007). Estima-se que o Brasil deva registrar um crescimento de 104% na aquicultura até 2025 (FAO, 2016).

Atualmente, o Estado de Mato Grosso é o 5º colocado no ranking da piscicultura brasileira, com produção de 49.400 toneladas de peixes cultivados (PEIXE BR, 2020) e 93% desse total corresponde a espécies nativas, tais como os peixes redondos, Tambaqui (*Colossoma macromum*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e o híbrido Tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) (DE BARROS et al., 2020).

O termo pescado abrange, segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA), por meio do Decreto nº 9.013, de 2017, são peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, répteis, equinodermos e demais habitantes dos meios aquáticos, de água doce ou salgada, desde que destinados à alimentação humana (BRASIL, 2020).

O consumo de pescado pode ser influenciado por diversos fatores, dos quais se destacam os socioeconômicos, os padrões de consumo alimentar, características pessoais, estado de saúde e dimensões atitudinais (TRONDSSEN et al., 2003).

Para a nutrição humana, o peixe é uma fonte de proteínas de alto valor biológico; porém, por ser um alimento altamente perecível, requer muitos cuidados no manuseio, desde o processo de captura e armazenamento em barcos pesqueiros até a comercialização (FAO, 2012; LEITÃO et al., 1997). Essas etapas são importantes para manter o tempo de vida útil do alimento e garantir a saúde dos seres humanos.

Os pescados podem se tornar um risco ao consumidor caso não sejam observados cuidados nas etapas de processamento em geral, desde a despesca até à manipulação e armazenamento, visto que pode haver presença e multiplicação de microrganismos patogênicos, como *Salmonella* spp., resultando em enfermidades alimentares, de grande impacto a saúde pública (PEDROSA, 2009). Com isso, sabe-se que as bactérias

patogênicas que se alocam em pescados são provenientes do ambiente aquático, derivadas de águas poluídas e/ou de contaminação pós-captura ou associado a conteúdo intestinal de outros animais, (FERNANDES et al., 2018).

A contaminação dos animais aquáticos criados em tanques escavados na terra ou em reservatórios de água desprotegidos, facilita o contato com as fezes de outros animais tais como animais de produção (aves, bovinos, caprinos e suínos), animais silvestres e domésticos que circulam nas proximidades, pelo recebimento de esgotos ou por processos de lixiviação que carregam os contaminantes do solo durante as estações chuvosas (SANTOS, 2015).

## **2.2 *Salmonella* spp.**

As bactérias do gênero *Salmonella* são bacilos gram negativas, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, não formadoras de esporos, anaeróbios facultativos, que produzem gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S) a partir da fermentação da glicose, com exceção de *S. Typhimurium* não fermentadores de lactose, gerando reações alcalinas em ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) (SILVA et al., 2010).

Vários autores já sugeriram diferentes formas de classificação para *Salmonella*, mas o padrão mais utilizado na atualidade é o proposto por Kauffman-White e de acordo com o International Committee on Systematics of Prokaryotes (ICSP) que denominou duas espécies principais, *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*, sendo esta última dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*, sendo as demais classificadas como sorovares, num total de 2.659 sorovares (MONTE et al., 2020). *Salmonella bongori* foi considerada uma espécie diferente apenas em estudos recentes e tem poucos sorovares, normalmente não causadores de doença em humanos, sendo mais associada a doenças em animais de sangue frio (POPOFF et al., 2000, CHAN et al. 2003).

Embora *Salmonella* seja bem estudada em aves e mamíferos, é possível isolar algumas cepas de animais de sangue ectotérmicos e do ambiente (FERNANDES et al., 2018). A espécie *S. enterica* e seus sorovares são um grupo de patógenos que se adaptam em vários hospedeiros e ambientes. Os sorotipos pertencentes a *S. enterica* II a VI e *S. bongori* estão associados a animais de sangue frio, enquanto os mais de 1500 sorovares

de *S. enterica* subespécie I são frequentemente isolados de animais de sangue quente (mamíferos e aves) (GAZAL et al., 2018).

*Salmonella* spp. é uma bactéria causadora de surtos alimentares no Brasil e no Mundo, que consegue colonizar diversos hospedeiros com variadas formas de contágio (MAIJALA et al., 2005; WANG et al., 2007; BARBOSA et al., 2009; AMAGLIANI et al., 2012). Sendo que, o primeiro surto relatado na literatura ocorreu na Alemanha em 1888 (SANTOS, 2015). Em geral é transmitida aos seres humanos através da ingestão de produtos de origem animal contaminados com o patógeno (PIRES, 2012).

A contaminação do ecossistema aquático por *Salmonella* spp. torna o ambiente uma fonte de disseminação deste microrganismo (PUI et al., 2011). Ingredientes ou a matéria prima das rações utilizadas na alimentação dos peixes também representam uma das vias de introdução de *Salmonella* spp. na produção (LUNESTAD et al., 2007).

### **2.3 *Salmonella* spp. em Peixes Nativos**

A patogenia de *Salmonella* em peixes é desconhecida (FERNANDES et al., 2018), podendo permanecer no trato intestinal destes animais de forma transitória (SANTOS, 2015).

Os sorotipos de *Salmonella enterica* predominantes em pescados são: *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Wandsworth (YANG et al., 2015), *Salmonella* Potsdam (NGUYEN et al., 2016), *Salmonella* Corvallis (BUDIATI et al., 2013; SING et al., 2016), *Salmonella* Albany (BUDIATI et al., 2013), *Salmonella* Hadar (RAUFU et al., 2014), *Salmonella* Schwarzengrund (CUNHA-NETO et al., 2019), *Salmonella* Enteritidis (RAHIMI, SHAKERIAN, & FALAVARJANI, 2013) e *Salmonella* Panama (PAMUK, INAT, & SIRIKEN, 2019).

*Salmonella* spp. não é um contaminante biológico originalmente relatado em peixes, sendo introduzida por meio de água contaminada ou manuseio inadequado (SANT'ANA, 2012). 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 da manipulação na despesca e no processamento (KUMAR et al., 2003).

A presença desses microrganismos na matéria-prima pode estar relacionada ao seu ambiente de desenvolvimento, contaminação durante o desembarque, processamento ou

armazenamento, o que contribui para um produto de baixa qualidade e conseqüentemente produtos com risco a saúde dos seres humanos (DIAS et al., 2010).

Os produtos da pesca têm sido reconhecidos como os principais transportadores de patógenos de origem alimentar (YUCEL & BALCI, 2010). O pescado vivo apresenta contaminação bacteriana principalmente na pele, guelras e vísceras, passando os demais tecidos a serem infectados após a morte do animal (MATACA, 2014; BIBI et al., 2015). Ressalta-se que a faixa de temperatura em que as bactérias se desenvolvem em peixes precisa ser baixa, quando comparado a animais terrestres (BIBI et al., 2015).

Alimentos contaminados com *Salmonella* spp. podem causar doenças desde uma simples gastroenterite até casos mais graves como a febre tifóide, febre paratifóide e intoxicação alimentar grave (SONGE et al., 2016). Os humanos são frequentemente expostos ao patógeno por consumirem alimentos contaminados inadequadamente cozidos ou até mesmo cru (SANTIAGO et al., 2013). Ambientes contaminados, água e contato próximo com animais infectados estão entre as possíveis fontes de contaminação por *Salmonella* (CHOO et al., 2011).

Dados fornecidos pela Secretaria de Vigilância em Saúde demonstram que ocorreram cerca de 6.632 surtos de doenças alimentares no Brasil no período de 2007 a 2016, sendo 0,8% relacionados com o consumo de pescado, frutos do mar e processados derivados de pescado contaminados. Desse total, predominaram as bactérias *Salmonella* spp. (7,5%), *Escherichia coli* (7,2%) e *Staphylococcus aureus* (5,8%), além de outras com percentuais menos expressivos (SVS, 2017).

A contaminação de peixes em matadouros pode ocorrer em todas as etapas do processamento, como transporte, lavagem com água hiperclorada, evisceração, descascamento e filetagem, além do contato com gelo utilizado para conservação, água contaminada, tábuas, facas, bandejas e caixas plásticas (FERNANDES et al., 2018). Dessa forma, medidas de proteção contra patógenos em alimentos devem ser tomadas, bem como as condições sanitárias adequadas desde o processamento até a comercialização desses peixes. Além do uso de água limpa e clorada em todas as etapas que pode ser essencial para evitar contaminação cruzada (DUARTE et al., 2010).

A utilização de antimicrobianos na aquicultura é um importante recurso para o tratamento de doenças bacterianas de peixes, na manutenção da saúde e bem-estar dos animais e para garantir uma maior rentabilidade da produção (MIRANDA, TELLO & KEEN, 2013). Mas, é importante salientar que o uso de antimicrobianos deve ser de forma

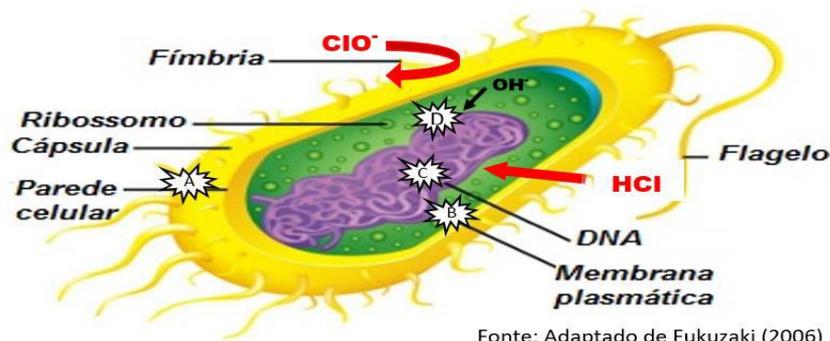
moderada e sob supervisão, uma vez que, bactérias podem se tornam resistentes contra os antimicrobianos utilizados.

O ambiente aquático de água doce e marinha, pode servir como reservatório tanto de bactérias resistentes aos antimicrobianos como de resistomas que podem ser transferidos aos animais e humanos (CABELLO et al., 2016; FERNANDES et al., 2018). Neste sentido, outros esforços que não agridam o meio ambiente como a utilização de vacinas, probióticos e bacteriófagos também podem ser utilizados na prevenção de doenças na cadeia produtiva de pescados (CABELLO et al., 2016).

#### **2.4 Hipoclorito de Sódio (NaClO)**

O hipoclorito de sódio (NaClO) é o sanitizante mais utilizado em estabelecimentos que produzem alimentos, sendo a técnica de sanitização mais utilizada para minimizar os riscos microbiológicos associados à indústria (LOPES-VELASCO et al., 2012). Mesmo com o avanço das indústrias para o desenvolvimento de novos produtos que tenham eficácia similar ou superior no processo de desinfecção, a eficiência dos mesmos sempre é associada ao NaClO (CAVALCANTE, 2020). Vantagens como ação rápida bactericida, solúvel em água, facilidade de uso, espectro antimicrobiano, incolor e pouca toxicidade foram relatadas por alguns autores (FUKUZAKI, 2006; LOPES-VELASCO et al., 2012) e.

A solução de hipoclorito dissolvido em água apresenta concentrações de cloro total que é a soma das concentrações de cloro livre e cloro combinado (CAVALCANTE, 2020). O pH tem função direta na ação de desinfecção e oxidação da matéria orgânica, sendo o pH neutro, ideal para que o cloro livre esteja predominantemente na forma de íon hipoclorito ( $\text{ClO}^-$ ) e ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ), esse considerado a forma mais ativa para desinfecção (LÓPEZ-VELASCO et al., 2012; FUKUZAKI, 2006).



Fonte: Adaptado de Fukuzaki (2006)

**Figura 1.** Mecanismos das ações bactericida de HClO e  $\text{ClO}^-$  com base em sua capacidade de penetrar a membrana na célula microbiana. O HOCl pode penetrar na bicamada lipídica na membrana plasmática por difusão passiva devido à sua neutralidade elétrica. O HOCl age na superfície da parede celular (Ponto A) e no meio intracelular (Pontos B e C), é o principal responsável pela atividade bactericida do NaClO. Devido a incapacidade do  $\text{ClO}^-$  atravessar a membrana plasmática faz com que sua ação seja somente na superfície celular (Ponto A). Danos ao DNA pela ação da  $\text{OH}^-$  (Ponto D).

O efeito oxidante está associado a oxidação de grupos sulfidril de enzimas essenciais e antioxidantes e a efeitos deletérios na síntese de DNA (CHAVES et al, 2019; ESTRELA et al. 2002).

É possível observar a presença de espécies reativas de oxigênio (ERO) quando o HClO penetra no interior do microrganismo, essa ação ocorre em função do estresse celular (CHAVES et al, 2019). Cavalcante (2020) diz que a forma de defesa da célula são os antioxidantes presentes, sendo eles glutatona e enzimas, catalases, peroxidases e superóxido dismutases e quando esses antioxidantes de esgotam pela ação do HClO, o  $\text{O}_2$  e o  $\text{H}_2\text{O}_2$  se acumulam internamente. O acúmulo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e ferro livre leva à produção de íons  $\text{OH}^-$  altamente reativo, podendo ocasionar danos ao DNA da bactéria (FUKUZAKI, 2006; ESTRELA, 2002).

A cloração da água pode ser feita com a utilização de diferentes compostos clorados, sendo o hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ) o princípio ativo mais utilizado na indústria de processamento de alimentos, onde seu uso é atribuído a sua capacidade de eliminar patógenos, com o mínimo impacto na qualidade do produto, apresentando fácil manuseio e baixo custo (SHEN et al., 2012; GONZALEZ et al., 2004). Nas indústrias, o sistema mais comum é utilizar tanques para produzir uma solução a partir de soluções hiper concentradas de hipoclorito de sódio, onde esta solução é bombeada e misturada, seguida de transferência para o reservatório de água clorada (CAVALCANTE, 2020).

Um fator relatado por Cavalcante (2020) é a atuação e presença da matéria orgânica no processo de desinfecção, reduzindo a eficácia do hipoclorito de sódio por

reagir com a matéria orgânica. Por essa razão, a concentração de cloro livre tem um declínio rápido e conseqüentemente uma diminuição da eficiência bactericida (TONG THI et al., 2015; GÓMEZ-LOPEZ et al., 2014).

A água clorada é considerada importante nas etapas de higienização e processamento dos peixes abatidos. Ela deve ser utilizada na primeira etapa de processamento do pescado e recomenda-se que seja na concentração de 5 ppm de cloro residual livre (BRASIL, 2009). O intuito desta lavagem é remover o muco superficial dos peixes e a microbiota intrínseca ao pescado (GOMES, 2018).

Afim de se controlar a contaminação cruzada de *Salmonella* spp. Durante todo o processamento, deve-se realizar a lavagem da cavidade intestinal e da superfície dos peixes com água hiperclorada após a fase de evisceração, a fim de eliminar restos de sangue e intestinos (SANTOS, 2015). Quanto ao processamento do pescado, a adequada higienização do estabelecimento, das superfícies e utensílios, além do controle da qualidade da água, devem ser procedimentos realizados rotineiramente a fim de se evitar a contaminação cruzada (CARRASCO et al., 2012).

Além da água hiperclorada existem outros métodos a serem considerados importantes na higienização e inativação de bactérias patogênicas em pescados. O calor é uma forma eficiente para a destruição de *Salmonella* spp. nos alimentos, que devem ser aquecidos até atingir uma temperatura suficiente para eliminar a bactéria, ou seja, de 65 a 74°C, bem como serem conservados em temperaturas abaixo de 5°C (TRABULSI & ALTERTHUM, 2005).

Nos abatedouros frigoríficos de pescado, o controle de *Salmonella* spp. é um desafio, pois a dinâmica de dispersão e as formas de controle são ainda pouco conhecidas no âmbito do processamento do pescado (FERNANDES, 2018). Uma forma de controlar essa contaminação na indústria é executar a etapa de lavagem com água hiperclorada (BRASIL, 2009).

Em um estudo realizado na Bélgica, Tong Thi et al (2016) verificaram que para inativação de *Salmonella* spp. em peixe panga (*Pangasius hypophthalmus*) foi utilizado 10 ppm por no mínimo 30 segundos. Embora a lavagem com água hiperclorada seja frequentemente um ponto de controle (PC), não foi estabelecido e nem validado um limite crítico de controle até o momento (ZHOU et al., 2015). Faz-se necessário estudos que possam contribuir com os autores.

As etapas de lavagem com a água hiperclorada podem trazer problemas tais como acabar permitindo a contaminação cruzada, uma vez que os peixes ficam em contato

direto uns com os outros, fato que foi observado por Fernandes (2017). Possivelmente, a grande quantidade de peixe presente na esteira e o enxágue deficiente ocasionam baixas concentrações de cloro ativo ou tempo de ação insuficiente na superfície do peixe (MACHADO, 2010).

A importância da manutenção da qualidade da água durante a lavagem atraiu muita atenção, pois agora está especificado que “produtos químicos antimicrobianos, quando usados adequadamente com água de qualidade adequada, ajudam a minimizar o potencial de contaminação microbiana da água de processamento e a subsequente contaminação cruzada do produto (FDA, 2008).

O tempo de exposição e as concentrações de cloro devem ser adequados para eliminar os patógenos presentes nas superfícies dos peixes (MACHADO et al., 2010). Neste sentido Fernandes (2018) cita que a etapa de lavagem tem finalidade de eliminar as bactérias do ambiente de processamento e o muco presente na superfície dos peixes, onde se encontra as glicoproteínas liberadas pelas glândulas da pele e serve como um meio de cultura para o crescimento e a proliferação de microrganismos indesejáveis.

## **2.5 Legislação de padrões de qualidade e identidade para pescado**

Diversos regulamentos, nacionais e internacionais, estabelecem requisitos mínimos de padrões de qualidade e identidade para o pescado (CODEX, 2016; BRASIL, 2017; 2019). Em cada país, o status de regulamentação das soluções de sanitizantes são distinto. A definição do produto utilizado para desinfetar a água de lavagem depende do tipo de produto a ser lavado e em alguns casos, do local onde o desinfetante será utilizado (IFPA, 2001). Cada país importador de pescado estabelece seus próprios padrões microbiológicos e físico-químicos e cada empresa importadora tem também estabelece seus critérios de avaliação, geralmente de caráter sigiloso (FERNANDES, 2018).

Embora as práticas sejam diferentes, a maioria dos países seguem diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS) para água potável e o Código de Prática para Peixes e Produtos da Pesca (CPPPP) para o nível de cloro da água que entra em contato com o peixe e outros produtos da pesca (FAO / OMS, 2008; CODEX, 2011).

No Brasil, as indústrias de produtos de origem animal, utilizam amplamente o cloro e seus derivados como agentes desinfetantes, para eliminar microrganismos patogênicos (FAO/OMS, 2008). Sendo que, a identificação dos microrganismos no

produto final tem como consequência recolhimento e apreensão dos lotes, causando prejuízos a indústria do pescado e ao setor produtivo (CAVALCANTE, 2020).

A instrução normativa N°161/2022 estabelece os padrões microbiológicos para alimentos, com exceção dos alimentos comercialmente estéreis, nesta normativa a indicação de *Salmonella* spp. em 25g do alimento deve ser de ausência (BRASIL, 2022). Não serão permitidas nas formulações substâncias que sejam comprovadamente carcinogênicas mutagênicas e teratogênicas para o homem, segundo a Agência Internacional de Investigação sobre o Câncer (BRASIL, 2007). O decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, para sanitizantes descreve a classificação dos microrganismos para avaliação da atividade antimicrobiana em Indústria alimentícia e afins *Salmonella choleraesuis*, *Eschericia coli* e *Staphylococcus aureus* (BRASIL, 2007).

A solução de hipoclorito dissolvida em água apresenta concentrações de cloro total que é a soma das concentrações de cloro livre e cloro combinado (CAVALCANTE, 2020). A água utilizada no processamento deve ser potável, principalmente por integrar o produto final e previamente clorada em tratamentos hídricos realizados antes do abastecimento humano e industrial. Ao entrar na indústria, deverá sofrer hiper cloração, recebendo de 2,5 a 5,0 ppm de cloro livre por litro de água, uma vez que o cloro é eficaz no controle e redução da carga bacteriana presente (CODEX, 1995).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Identificar a melhor concentração de hipoclorito de sódio (NaClO) com menor tempo de exposição ao patógeno e temperatura da água para o controle de *Salmonella* spp. isolada em peixes nativos.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Construir os pontos a serem avaliados pelo delineamento composto central rotacional (DCCR);
- Exposição das cepas de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Schwarzengrund aos pontos determinados pelo DCCR;
- Avaliar o modelo obtido e estimativa de inativação de *Salmonella* spp. e comparação com valores de prevalência descritos em estudos para determinar o potencial de risco na produção de pescados.
- Verificar a eficiência da concentração de 5ppm de hipoclorito de sódio (NaClO) autorizada pela Legislação Brasileira.

#### 4. Referências Bibliográficas

AMAGLIANI, G; BRANDI, G; SCHIAVANO, G.F. Incidence and role of Salmonella in seafood safety. **Food Res. Int.** v.45, n.2, p.780-788, 2012.

BARBOSA, T.C.R. Surtos de algumas doenças transmitidas por alimentos no Brasil. 2009. 28f. **Monografia** (Pós Graduação em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

BARROS, A. F., MARTINS, M. I. E. G., & de SOUZA, O. M. (2018). Caracterização da piscicultura na microrregião da baixada cuiabana, Mato Grosso, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37(3), 261-273.

BIBI F., QAISRANI S. N., AHMAD A. N., AKHTAR M., KHAN B. N., ALI Z. Occurrence of Salmonella in freshwater fishes: a review. **The Journal of Animal & Plant Sciences**.2015; 25(2): 303-310.

BRABO, M. F., PEREIRA, L. F. S., SANTANA, J. V. M., CAMPELO, D. A. V., & VERAS, G. C. (2016). Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 4(2), 50-58.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 7 jul. Seção 1, p.10785.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de procedimentos para implantação de estabelecimentos industriais de pescado: produtos frescos e congelados/ MAPA; **Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca**. MAPA; SEAP/PR. Brasília – DF, 2007.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**: Brasil 2015. MPA, 2015a. Disponível em: < [http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes\\_e\\_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%ADs%20tico%20MPA%2.pdf](http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%ADs%20tico%20MPA%2.pdf) >

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. **Dispõe sobre os princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, dez. 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 161, de 1 de julho de 2022. **Dispõe sobre os princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, jul. 2022.

BOSCOLO, W. R., SIGNOR, A., FREITAS, J. D., BITTENCOURT, F., & FEIDEN, A. (2011). Nutrição de peixes nativos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40(supl. especial), 145-154.

BUDIATI, T, RUSUL, G., WAN - ABDULLAH, W. N., ARIP, Y.M., AHMAD, R., & THONG, K.L. (2013). Prevalência, resistência a antibióticos e perfil de plasmídeo de *Salmonella* em bagres (*Clarias gariepinus*) e tilápia (*Tilapia mossambica*) obtidos em mercados úmidos e lagoas na Malásia. **Aquicultura**, 372, 127 - 132.

CABELLO, F. C.; GODFREY, H. P.; BUSCHMANN, A. H.; DÖLZ, H. J. Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalisation of antimicrobial resistance. **The Lancet Infectious diseases**, New York, v.16, p. e127-133, 2016.

CAVALCANTE, C.B. **Hipoclorito de Sódio (NaClO) e inativação de *Salmonella* spp. no contexto do processamento de peixes**. 2020. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), 208 Faculdade de Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2020.

CARRASCO E., MORALES-RUEDA A., GARCÍA-GIMENO R. M. Crosscontamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. **Food Research International**. 2012; 45, 545-556.

CHAN K., BAKER S., KIM C. C., DETWEILER C. S., DOUGAN G. & FALKOW S. 2003. Genomic comparison of *Salmonella enterica* serovars and *Salmonella bongori* by use of a *S. enterica* serovar Tiphymurium DNA microarray. **J. Bacteriol.** 185:533-563.

CHAVES, R. D., ASPRIDOU, Z., SANT'ANA, A. S., & KOUTSOUMANIS, K. P. Effect of chlorine stress on the subsequent growth behavior of individual *Salmonella* cells. **Food Research International**, 123, 311–316, 2019.

CHOO, L.; SALEHA, A.; WAI, S.; FAUZIAH, N. Isolation of *Campylobacter* and *Salmonella* from houseflies (*Musca domestica*) em um campus Universitario e uma Granja Arvicola em Selangor, Malaysia. **Trop.Biomed.** 2011, 28, 16–20.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex standard for quick frozen finfish**, uneviscerated and eviscerated – Codex Stan 36-1981. Noruega: FAO/WHO, 1995. 5 p.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/RCP 1-1969/2011 General Principles of Food Hygiene**. Disponível em: <[www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/committees/committee/pt/?committee=CCFH](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/committees/committee/pt/?committee=CCFH)> Acesso em 28 de dezembro 2022.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/RCP 52-2003/2016 Code of Practice for Fish and Fishery Products**. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/committees/committee/en/?committee=CCFFP>> Acesso em: 28 de dezembro 2022.

CUNHA-NETO, A., PANZENHAGEN, P., CARVALHO, L., RODRIGUES, D., Conte, C., & FIGUEIREDO, E. (2019). Perfil de ocorrência e resistência antimicrobiana de *Salmonella* isolada de peixes nativos abatidos e comercializados no Brasil. **Jornal de Segurança Alimentar e Qualidade Alimentar**, 70 (4), 94 - 98.

DE BARROS, A. F. et al. Investimento e custo de produção de peixes nativos em sistema de policultivo e monocultivo-estudo de caso. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 16342-16359, 2020.

DIAS, V.L.N.; FERREIRA, E.F; CORÉIA, G. de A.; SILVA, E.C.R.; OLIVEIRA, I. de N.; MOUCHEK FILHO, V.E.; LOPES, J.M.; CARVALHO, N.C.C. Avaliação da qualidade de peixe comercializado em Imperatriz, MA. **Revista Higiene Alimentar**, v.24, n.186 / 187, p.109-112, 2010.

DUARTE, D.A.M. et al. Ocorrência de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva em pescado no Nordeste, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, 77: 711-713. 2010. Disponível em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v77\\_4/duarte.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v77_4/duarte.pdf)>.

ESTRELA, C., ESTRELA, C. R. A., BARBIN, E. L., SPANÓ, J. C. E., MARCHESAN, M. A., & PÉCORA, J. D. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Brazilian Dental Journal**, 13(2), 113–117, 2002.

FAO. Fisheries and Aquaculture Department. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. 2014. Disponível em <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acesso em 27 de maio, 2021.

FAO / OMS. **Benefits and Risks of the Use of Chlorine-containing Disinfectants in Food Production and Food**: report of a joint FAO/WHO expert meeting, Ann Arbor, MI, USA, 27-30 May 2008.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2018). **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018**. Meeting the sustainable development goals. Rome. pp < [www.fao.org/3/i9540en/I9540EN.pdf](http://www.fao.org/3/i9540en/I9540EN.pdf)> Acesso em 27 de abril, 2021.

FAO, 2020. **206 p**. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/ca9229en/CA9229EN.pdf>> Acesso em: 27 de abril, 2021.

FDA. Administração de Alimentos e Medicamentos. Código de Regulamentações Federais CFR Parte 179: Irradiação na Produção, Processamento e Manuseio de Alimentos (2008) FDA-1999-F-2405, 1999F-5522. Disponível em <<http://www.cfsan.fds.gov/~lrd/fr080822.html>> Acesso em: 29 de dezembro, 2022;

FERNANDES, D. V. G. S. et al. *Salmonella* spp. na cadeia produtiva da pesca: uma revisão. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 8, e20180141, 2018. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782018000800451&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782018000800451&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 13 de Agosto de 2021.

FILHO D.S. JOÃO, CECILIA MARIA D.F.S, JOÃO MANUEL C. A., FERNANDA R.A.S. A Tilapicultura e seus insumos, relações econômicas,2010. **Revista Brasileira de zootecnia**. Acesso em 18 de janeiro de 2023.

FUKUZAKI, S. (2006). Mechanisms of Actions of Sodium Hypochlorite in Cleaning and Disinfection Processes. **Biocontrol Science**, 11(4), 147–157.

FRAGOSO-MOURA, E. N., OPORTO, L. T., MAIA-BARBOSA, P. M., & BARBOSA, F. A. R. (2016). Loss of biodiversity in a conservation unit of the Brazilian Atlantic

Forest: the effect of introducing non-native fish species. **Brazilian Journal of Biology**, 76, 18-27.

GAZAL, L. E. de S. et al. *Salmonella* spp. em peixes - qual importância para sanidade em pescado? **PESQ. AGROP. GAÚCHA**, Porto Alegre, v.24, ns.1/2, p. 55 - 64, 2018. Disponível em: <<http://revistapag.agricultura.rs.gov.br/ojs/index.php/revistapag/article/view/47/38>>

GOMES, A. M. (2018). Acompanhamento das linhas de processamento de peixes na indústria INTERFRIOS-Intercâmbio de Frios SA, localizada em Fortaleza/CE.

GONZALEZ, R. J., Y. LUO, S. RUIZ-CRUZ, AND J. L. MCEVOY. Efficacy of sanitizers to inactivate 729 *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut carrot shreds under simulated process water conditions. **J. Food Prot.** 730 67:2375–2380, 2004.

HEINITZ, M.L., RUBLE, R.D., WAGNER, D.E., TATINI, S.R. (2000) Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. **Journal of Food Protection** 63, 579–592

INTERNATIONAL FRESH-CUT PRODUCE ASSOCIATION et al. (IFPA) Wash water sanitation. Food safety guidelines for the fresh-cut produce industry. **International Fresh-Cut Produce Association**, Alexandria, Va, p. 121-136, 2001.

KUBITZA, F.; ONO, E.A.; CAMPOS, J.L. 2007 Os caminhos da produção de peixes nativos no Brasil: Uma análise da produção e obstáculos da piscicultura. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, 102: 14-23.

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.

LEITÃO, MFF; RIOS, DPFA; GUIMARÃES, JGL; BALDINI, VLS; MAINADES PINTO, CSR Alterações alteradas e microbiológicas em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) armazenado sob refrigeração a 5°C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.17, n.2, p.160-166, 1997.

LI, N., WU, X., ZHUANG, W., XIA, L., CHEN, Y., WU, C., RAO, Z., DU, L., ZHAO, R., YI, M., WAN, Q. 761 ZHOU, Y. (2020). Fish consumption and multiple health outcomes: Umbrella review. **Trends in Food Science & Technology**. doi: 10.1016/j.tifs.2020.02.033.

LÓPEZ-VELASCO, G., TOMÁS-CALLEJAS, A., SBODIO, A., ARTÉS-HERNÁNDEZ, F., & SUSLOW, T. V. Chlorine dioxide dose, water quality and temperature affect the oxidative status of tomato processing water and its ability to inactivate *Salmonella*. **Food Control**, 26(1), 28–35, 2012.

LUNESTAD, B. T.; NESSE, L.; LASSEN, J.; SVIHUS, B.; NESBAKKEN, T.; FOSSUM, K.; ROSNES, J. T.; KRUSE, H.; YAZDANKHAH, S. *Salmonella* in fish feed; occurrence and implications for fish and human health in Norway. **Aquaculture, Amsterdam**, v. 265, n. 1 - 4, p. 1 - 8, 2007.

MACHADO, T. R. M., MALHEIROS, P. D. S., BRANDELLI, A., & TONDO, E. C. (2010). Avaliação da 401 resistência de *Salmonella* à ação de desinfetantes ácido

peracético, quaternário de amônio e hipoclorito de sódio. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** (Impresso), 69(4), 475-481.

MAIJALA, R., RANTA, J., SEUNA, E., & PELTOLA, J. (2005). A eficiência do programa finlandês de controle de Salmonella. **Food Control**, 16 (8), 669-675.

MARTINS M.L., HIRADELLI L., AZEVEDO T.M. Ectoparasitos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas no Estado de Santa Catarina, Brasil. In: Silva-Souza AT. (org) **Sanidade de Organismos Aquáticos**, 2006; p. 253-270.

MATACA A. R. Estudo da frequência de Salmonella spp. no pescado comercializado no Brasil [Dissertação]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

MIRANDA, C.D.; TELLO, A.; KEEN, P.L. **Mechanisms of antimicrobial resistance in finfish aquaculture environments**. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, v. 4, p. 1-6, article 233, 2013.

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.

MONTE, D. M., & SELLERA, F. P. (2020). *Salmonella*. **Emerging Infectious Diseases**, 26(12), 2955. <https://doi.org/10.3201/eid2612.et2612>

NARAYAN C.P, SULLIVAN TS, SHAH. DH. Differences in antimicrobial activity of chlorine against twelve most prevalent poultry-associated *Salmonella* serotypes. **Food Microbiology**, Volume 64, 202 -209, 2017.

NGUYEN, D. T., KANKI M., NGUYEN, P. D., LE H.T, NGO P. T., TRAN D. N., YAMAMOTO Y. (2016). Prevalência, resistência a antibióticos e produtividade de espectro estendido e beta-lactamase AmpC de isolados de *Salmonella* de carne crua e amostras de frutos do mar na cidade de Ho Chi Minh, Vietnã. **International Journal of Food Microbiology**, 236, 115 - 122.

NUNES M. L, BATISTA I. Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado. **IPIMAR Divulgação**. Lisboa, 29; 2004.

PAMUK S., INAT G., & SIRIKEN, B. (2019). Prevalência, distribuição de sorotipos e caracterização de *Salmonella* em carpa comum (*Cyprinus Carpio*), Província de Afyonkarahisar, Turquia. **Jornal iraniano de Ciências da Pesca**, 18 (4), 924 - 940.

PEDROSA V. F. Lesões anatomopatológicas associadas à ocorrência de bacterioses em tilápias (*Oreochromis niloticus*) em diferentes sistemas de cultivo em Pernambuco [Dissertação]. Recife (PE): Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009

PEIXE BR. **Associação Brasileira de Psicultura** (2020). Disponível em <<https://www.peixebr.com.br/Anuario2018/AnuarioPeixeBR2020.pdf?>>>. Acesso em: 24 de Abril, 2021.

PEIXE BR. **Associação Brasileira de Psicultura** (2021). Disponível em <<https://www.peixebr.com.br/anuario-2021/>>>. Acesso em: 24 de abril, 2021.

PEIXE BR. **Associação Brasileira de Piscicultura** (2022). Disponível em <<https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>> acesso em: 06 de dezembro, 2022.

PELICICE, F. M., VITULE, J. R. S., LIMA JUNIOR, D. P., ORSI, M. L., & AGOSTINHO, A. A. (2014). A serious new threat to Brazilian freshwater ecosystems: the naturalization of nonnative fish by decree. **Conservation Letters**, 7(1), 55-60.

PIRES, T.E. Principais bactérias presentes em doenças transmitidas por alimentos. 2012. 118f. **Dissertação** (Mestrado) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

POPOFF, M.Y., BOCKEMUHL, J. & BRENNER, F.W. 2000. Supplement 1999 (no.43) to the Kauffmann-White scheme. **Res. Microbiol.** 151:893-896. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0923250800011578>>.

PUI, C. F.; WONG, W. C.; CHAI, L. C.; TUNUNG, R.; JEYALETCHUMI, P.; HIDAYAH, M. S. N.; UBONG, A.; FARINAZLEEN, M. G.; CHEAH, Y. K.; SON, R. Salmonella: A foodborne pathogen. **International Food Research Journal**, Malaysia, v. 18, n. 2, p. 465 - 473, 2011.

RAHIMI, E., SHAKERIAN, A., & FALAYARJANI, A.G. (2013). Prevalência e resistência antimicrobiana de *Salmonella* isolada de peixes, camarões, lagostas e caranguejos no Irã. **Comparativo Clinical Pathology**, 22 (1), 59 - 62.

RAUFU, I. A., LAWAN, F. A., BELLO, H. S., MUSA, A. S., AMEH, J. A., & AMBALI, A. G. (2014). Perfis de ocorrência e suscetibilidade antimicrobiana de sorovares de *Salmonella* de peixes em Maiduguri, sub-Saharah, Nigéria. **Jornal egípcio de investigação aquática**, 40, 59 - 63

SANT'ANA, A. Introdução ao número especial: *Salmonella* em alimentos: evolução, estratégias e desafios. **Food Research International** 45: 451-454. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912000294?via%3Dihub> >

SANTIAGO, J. D. A. S., ARAÚJO, P. F. R., SANTIAGO, A. P., CARVALHO, F. C. T. D., & VEIRA, R. H. S. D. F. (2013). Bactérias patogênicas relacionadas à ingestão de pescados-revisão.

SANTOS, R. R. D. Ocorrência, tipagem molecular e capacidade de colonização da *Salmonella* enterica em peixes nativos. **Tese de doutorado**. Universidade Federal de Minas Gerais. 2015. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/SMOC-A7LHUD>

SANTOS, R. R., XAVIER, R. G. C., OLIVEIRA, T. F. O., 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**, v.501, p. 304-312, 2019

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde. Surto de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Apresenta dados epidemiológicos no Brasil entre 2007 a 2016. Disponível em: Acesso em 29 de dezembro, 2022

SILVA, M. A. et al. A importância da ordem Ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella* spp. para a saúde pública e a conservação da diversidade biológica. **Pesq. Vet.**

**Bras.**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 7, p. 573-580, July 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2010000700011&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2010000700011&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em 12 abril. 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010000700011>

SONGE, M.; HANG'OMBE, B. KNIGHT-JONES, T.; GRACE, D. *Escherichia coli* enteropatogênica resistente a antimicrobianos e *Salmonella* spp. em moscas domésticas que infestam peixes em mercados de alimentos na Zâmbia. **Int. J. Environ. Res. Public Health** 2016, 14, 21

SOUZA, M. A. Eficiência do processo de ultrafiltração seguido de biodigestão anaeróbia no tratamento de efluente de frigorífico de tilápia. 2010. 76 f. **Tese** (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010

SHEN, C., LUO, Y., NOU, X., WANG, Q. & MILLNER, P. Dynamic Effects of Free Chlorine Concentration, 792 Organic Load, and Exposure Time on the Inactivation of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and Non-O157 793 Shiga Toxin–Producing *E. coli*. **Journal of Food Protection**, 76, 386-393, 2013

TRABULSI L. R., ALTERTHUM. F. Microbiologia. São Paulo: **Atheneu**, 2005; p.718.

TONG THI, A. N., SAMPERS, I., VAN HAUTE, S., SAMAPUNDO, S., LY NGUYEN, B., HEYNDRICKX, M., & DEVLIEGHERE, F. Decontamination of *Pangasius fish (Pangasius hypophthalmus)* with chlorine or peracetic acid in the laboratory and in a Vietnamese processing company. **International Journal of Food Microbiology**, 208, 93–101, 2015

TRONDSSEN T., SCHOLDERER J., LUND E., EGGEN A. E. Perceived barriers to consumption of fish among Norwegian women. **Appetite**. 2003;41(3):301-14

TSAI, L.S., SCHADE, J.E., MOLYNEXU, B.T. Chlorination of poultry chiller water: Chlorine demand and disinfection efficiency. **Poult. Science**. 71, 188 e 196, 1992

VITULE, J. 2009 Introdução de peixes em ecossistemas continentais brasileiros: revisão, comentários e sugestões de ações contra o inimigo quase invisível. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, 4(2): 111-122

WANG, S.; DUAN, H.; ZHANG, W. Analysis of bacterial foodborne disease outbreaks in China between 1994 and 2005. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.** v.51, n.1, p.8 – 13, 2007

YUCEL, N., BALCI, S. Prevalência de espécies de *Listeria*, *Aeromonas* e *Vibrio* em peixes usados para consumo humano na Turquia **J Food Prot**, 73 (2) (2010), pp. 380 – 384

ZHOU, B., LUO, Y., NOU, X., LYU, S., & WANG, Q. (2015). Inactivation dynamics of *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157: H7 in wash water during simulated chlorine depletion and replenishment processes. **Food microbiology**, 50, 88-96

## ARTIGO

### **Determinação do ponto ótimo de atividade antimicrobiana de hipoclorito de sódio (NaClO) para controle de *Salmonella* spp. isolada de peixe nativo**

#### **RESUMO**

A prática de aquicultura ao longo dos anos vem produzindo toneladas de peixes nativos em todo o mundo. O pescado é um produto rico nutricionalmente, no entanto, facilmente contaminado por microrganismos deteriorantes e patogênicos, tais como *Salmonella* spp. Este patógeno não faz parte da microbiota natural dos peixes, que se tornam hospedeiros intermediários por meio de contaminação, podendo causar infecção alimentar nos seres humanos que o consomem. Controlar *Salmonella* spp. no processamento de peixes é essencial para o avanço do comércio e desenvolvimento da cadeia produtiva. Nesse contexto, este estudo objetivou identificar a melhor concentração de hipoclorito de sódio (NaClO, tempo de exposição e temperatura da água, que possibilite o melhor efeito antimicrobiano possível sobre população de *Salmonella* spp. Para tanto, avaliou-se o nível de inativação de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Schwarzengrund desafiadas em diferentes tempos que variaram entre 5 minutos à 38 minutos e meio, temperaturas entre 5°C à 38,5°C e concentrações de NaClO entre 0,36 ppm à 6,36 ppm através de um experimento com delineamento composto central rotacional (DCCR). Os resultados encontrados confirmam que a concentração de 5 ppm, recomendado pelos Órgãos reguladores do Brasil foi eficiente para inativação de *Salmonella* Enteritidis, onde esse efeito foi alcançado independente das outras variáveis utilizadas. Contudo, pôde ser constatado que a concentração de 6,36 ppm gerou uma redução de 7 log<sub>10</sub> UFC/ml. Para a cepa de *Salmonella* Schwarzengrund foi observado que a concentração de NaClO e tempo de exposição atuaram significativamente na inativação, não sofrendo influência da variável temperatura. Dessa maneira, as análises realizadas indicam que cepas de *Salmonella* spp. utilizadas em experimento *in vitro* se mostraram sensíveis as concentrações iguais ou superior ao recomendado pela legislação, havendo necessidade de métodos eficazes, como mais tempo de exposição aliado a concentração de NaClO preconizada a serem adotados nas indústrias para promover melhor ponto de controle para garantir um alimento seguro a população consumidora.

**Palavras-chave:** *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Schwarzengrund, NaClO, tempo de exposição, temperatura da água, DCCR.

## INTRODUÇÃO

A aquicultura é considerada uma atividade zootécnica que vem se destacando como uma alternativa econômica, tanto para os grandes, quanto para médios e pequenos produtores, por ser uma forma de aproveitar áreas rurais inativas (RACKI, 2018). Estima-se que o Brasil deva registrar um crescimento de 104% na produção da pesca e aquicultura até 2025 (FAO, 2016). Conforme o Anuário da Pesca de 2022, o Estado de Mato Grosso vem se destacando na produção de pescado, sendo classificado em 7<sup>a</sup> colocado entre os 10 maiores produtores de peixe de cultivo no Brasil, produzindo aproximadamente 42.600 toneladas (PEIXE BR, 2022).

O peixe e produtos da pesca representam uma fonte importante no consumo da população, além de ser nutricionalmente rico com a presença de elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados, proteínas de alto valor biológico e de fácil digestibilidade (SARTORI E AMANCIO, 2012). Dessa forma, o pescado vem sendo altamente consumido ao redor do mundo, devido ao seu alto valor nutritivo e potenciais benefícios a saúde (NILI et al., 2020).

O pescado é um alimento altamente perecível, dessa forma requer muitos cuidados no manuseio, que vão desde o processo de captura ao armazenamento e comercialização, sendo estas etapas importantes para manter o tempo de vida útil do alimento (FAO, 2016). A maior preocupação é em relação à sua segurança do alimento, não apresentando contaminação por microrganismos patogênicos que podem prejudicar a saúde dos consumidores (ARAUJO et al. 2020). Diversos patógenos podem estar presentes no peixe, entre eles a *Salmonella* spp.(HEINITZ et al., 2000).

*Salmonella* spp. não é um contaminante biológico originalmente relatado em peixes, sendo introduzida por meio de água contaminada ou manuseio inadequado (de SOUZA SANT'ANA, 2012). Na espécie existem cerca de 2.659 sorovares (MONTE et al. 2020), sendo que, o sorotipo Typhimurium é o mais prevalente em produtos de origem animal (FERRARI et al., 2019). Nos EUA, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Newport* representam os sorotipos de *Salmonella* spp. transmitidos por alimentos frequentemente isolados (BROWN et al. 2017). Porém, no Brasil existem poucos estudos epidemiológicos que indiquem *Salmonella* Typhimurium em peixes (FERNANDES et al. 2021), embora outros sorotipos como *S. Abony* e *S. Schwarzengrund* tenham sido encontrados em pescado (CUNHA-NETO et al. 2019). Ainda, há indícios da circulação

do sorotipo *S. Typhimurium* em peixes oriundos da aquicultura no Estado de Mato Grosso (FERNANDES et al. 2021).

A presença desse patógeno pode estar relacionada a diversos fatores, tais como, elevada densidade de biomassa de peixes em uma área limitada nos sistemas de criação intensiva, acesso de animais silvestres e domésticos nessas áreas, efluentes, lixiviação, alimento contaminado e intervenções humanas, podem levar a contaminação de patógenos como como *Salmonella* spp. ( SANTOS et al. 2019). A contaminação do ecossistema aquático por *Salmonella* spp. torna o ambiente uma fonte de disseminação deste microrganismo, pois, esta bactéria pode sobreviver no ambiente por longos períodos (PUI et al. 2011). Além de poder ser introduzida através do contato com fezes de outros animais e plantas (DRÓZDŽ et al. 2021).

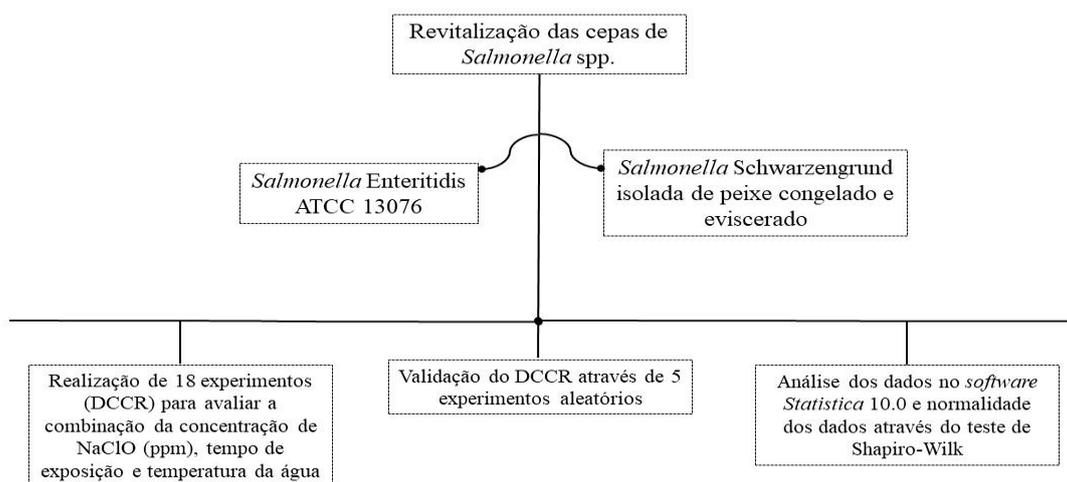
Nos abatedouros frigoríficos de pescado, o controle de *Salmonella* spp. é um desafio e a eficiência das formas de controle ainda são pouco conhecidas (FERNANDES et al. 2021). Na indústria de produtos de origem animal, o cloro e seus derivados são agentes amplamente utilizados para eliminar microrganismos patogênicos (FAO, 2018). A recomendação máxima de concentração de hipoclorito de sódio permitida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA) é de até 5 partes por milhão (ppm) de cloro residual livre (BRASIL, 2007). Na indústria de pescado, o processo de lavagem dos peixes com hipoclorito de sódio pode ser considerado o ponto crítico de controle do risco sendo a principal forma de controle de *Salmonella* spp. Entretanto, um estudo realizado no Estado de Mato Grosso indicou que mesmo após lavagem em água clorada na concentração e tempo autorizados, nas etapas de evisceração e em zona de pré-embalagem de um abatedouro frigorífico foi possível isolar *Salmonella* Ndolo, Mbandaka e Typhimurium (FERNANDES et al. 2021). Embora outros estudos em todo o mundo já tenham avaliado concentrações de cloro acima da autorizada pelo Brasil e tempo de exposição para controlar *Salmonella* spp. na descontaminação durante o processamento de peixe *Pangasius* e na cloração da água para resfriador de aves (TONG THI et al., 2015; TSAI, SCHDE, MOLYNEUX 1992).

Diante disso, o presente estudo buscou determinar o melhor ponto de atividade antimicrobiana considerando a concentração de hipoclorito de sódio preconizada pelo Brasil (Brasil, 2007) bem como concentrações abaixo e acima da mesma, associado ao tempo de exposição ao NaClO e temperatura da água para possibilitar uma expressiva inativação de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Schwarzengrund *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Delineamento experimental

Para a realização do estudo, foram utilizadas cepas de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Schwarzengrund isoladas previamente em estudos anteriores ((CUNHA-NETO et al. 2019) e estocadas à -80°C foram revitalizadas da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Molecular de alimentos - LabMMA. Um total de 18 pontos foram realizados conforme o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), seguido de validação dos resultados com 5 experimentos adicionais aleatórios, seguido de análise dos resultados (Figura 2). Todas as etapas experimentais foram realizadas na Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT, no Laboratório de Microbiologia Molecular de Alimentos (LabMMA).



**Figura 2.** Fluxograma esquemático do delineamento experimental.

### Preparação das cepas

*Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Schwarzengrund previamente isolada de tambaqui (*Colossoma macropomum*) eviscerado e congelado (CUNHA-NETO et al. 2019) foram utilizadas no presente estudo. Ambas estavam preservadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (KASVI®, Espanha) + 15% (v/m) de glicerol (Labsynth®, Brasil), e armazenadas a -80°C.

As cepas foram revitalizadas em 9 ml de caldo BHI (KASVI<sup>®</sup>, Espanha), posteriormente incubadas à 37°C por 24 horas. Em seguida, os tubos contendo as bactérias em crescimento foram centrifugados a 2000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet bacteriano ressuspense em 9 ml de solução salina (0,85%). A concentração da população inicial ( $N_0$ ) foi quantificada antes do desenvolvimento do experimento através do plaqueamento por superfície.

### **Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR)**

O DCCR foi utilizado sob arranjo de fatores e variáveis, conduzidos em 18 pontos a fim de avaliar o efeito combinado da concentração de hipoclorito de sódio (ppm), tempo de exposição (minutos) e temperatura (celsius) em função da sobrevivência de *Salmonella* spp. em pescado. A combinação central dos parâmetros, definida como ponto central (3 ppm, 17,5°C e 17:50 minutos) foi realizada em 4 repetições para medir possíveis erros experimentais e falta de ajuste do modelo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Variáveis utilizadas no DCCR. Pontos do planejamento fatorial (-1; +1), menor e maior valores usados (-1,44; +1,44) e ponto central (0).

Fatores	Variáveis		
	Cloro (ppm)	Tempo (m)	Temperatura (°C)
- 1,44	0,36	3,52	3,52
- 1	1	5	5
0	3	17,5	17,5
1	5	30	30
1,44	6,36	38,5	38,5

A quantificação da carga bacteriana inicial foi realizada com inóculo em  $7 \log_{10}$  UFC/ml. Para cada experimento do DCCR, foram utilizados 300 ml de água estéril, para realização da diluição do NaClO a 12% (Cloro MT<sup>®</sup>, Mato Grosso, BR) na concentração desejada, estando está na temperatura alvo do experimento. As concentrações de NaClO foram medidas através do equipamento Exact<sup>®</sup> Micro7+ (Taiwan), utilizando para os testes a fita denominada teste de cloro livre Micro7+/Micro20 (AKSO<sup>®</sup>, Brasil).

Em seguida, 100 µl de suspensão bacteriana foi adicionada à 9 ml em tubo de ensaio contendo a água estéril com a concentração de NaClO desejada, cronometrando-se o tempo de exposição ao cloro. Após a contagem do tempo, foi utilizado tiosulfato 10% (Labsynth<sup>®</sup>, Brasil), para neutralizar a ação do cloro e realizar as diluições seriadas de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  seguida do plaqueamento por superfície com 100 µl da suspensão bacteriana

em placas de petri com ágar nutriente (KASVI, Brasil), as quais foram incubadas a 37°C durante 24 horas. Após este período, foi realizado a contagem das colônias em contador eletrônico de placas (EduLab, Brasil).

### Desempenho do modelo experimental e ajuste dos dados

Para determinar a sobrevivência bacteriana (SB), a contagem inicial ( $N_0$ ) foi subtraída pela contagem final ( $N$ ) em log ( $SB=N_0 - N$ ), os resultados obtidos através das variáveis utilizadas no estudo foram analisados através da metodologia de superfície de resposta.

Os dados obtidos foram ajustados a um modelo polinomial para cada cepa de *Salmonella* spp., em que foram mantidos os termos estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) do modelo. Está estabelecido através do coeficiente de determinação ajustado ( $R^2_{adj}$ ) a formalidade do ajuste do modelo. A média do modelo erro quadrado (MSE) (te GIFFEL E ZWIETERING, 1999), o desempenho dos índices de fator de viés ( $B_f$ ) e fator de precisão ( $A_f$ ) (BARANYI et al. 1999) foram calculados através das equações.

$$A_f = \exp \left( \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^m (Ln f(x^{(k)}) - Ln \mu^{(k)})^2}{m}} \right)$$

$$B_f = \exp \left( \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^m (Ln f(x^{(k)}) - Ln \mu^{(k)})}{m}} \right)$$

$$MSE = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m (previsto_i - observado_i)^2$$

Sendo que,  $Ln f(x)$  os valores previstos pelo modelo,  $Ln \mu$  são os valores observados e  $m$  o número de experimentos realizados na validação (CASTRO et al., 2019).

## Modelo de inativação e validação de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Schwarzengrund

Para validação do modelo experimental, foram realizados 5 experimentos aleatórios (Tabela 2) para comparar valores observados e previstos. Os resultados foram analisados através de análise de regressão múltipla (SCHMIDT E FINAN 2018).

**Tabela 2.** Validação do modelo experimental utilizando pontos aleatórios para comparação de valores observados e esperados.

Pontos	Tratamentos			<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076		<i>Salmonella</i> Schwarzengrund	
	Cloro ppm	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Observado	Previsto	Observado	Previsto
1	3,5	2,5	17,5°	2,84	3,400821	4,24 3,0669467	4,08
2	2,5	8	17,5°	2,579784	2,397442	9 3,9030899	2,82
3	4	3,5	17,5°	3,826391	4,036951	87 3,6787666	3,74
4	1,5	25	17,5°	2,253022	1,983209	18 4,2932046	3,17
5	3	19	17,5°	3,051153	2,641538	58	3,98

\*Observado e Previsto expressos em Log<sub>10</sub> UFC/ml

### Análise dos dados

Os dados experimentais do DCCR, e todos os demais dados obtidos foram analisados no *software Statistica 10.0* (StartSoft Power Solutions, Tulsa, Estados Unidos). A normalidade dos dados e resíduos e falta de ajuste foram verificados através do teste de Shapiro-Wilk.

### RESULTADOS

A combinação da concentração de NaClO, tempo de exposição e temperatura da água em função da inativação de *Salmonella* Enteritidis permitiu observar que concentração de 5 ppm de hipoclorito de sódio preconizada pela legislação brasileira, em 5 minutos e em temperatura de 5°C foi capaz de reduzir a carga bacteriana, a população de 8,3 Log<sub>10</sub> UFC/ml, para 3,1 Log<sub>10</sub> UFC/ml, representando uma redução de 5,8 Log<sub>10</sub> UFC/ml (ponto 14). Já para a concentração de 5 ppm, 30 minutos à 5°C, houve redução de 3,5 Log<sub>10</sub> UFC/ml (ponto 18). Ainda pode-se verificar que o aumento da concentração

de NaClO para 6,36 ppm teve maior influência na redução, reduzindo uma população 8,5 Log<sub>10</sub> UFC/ml da carga inicial para 7,5 Log<sub>10</sub> UFC/ml (Tabela 2).

Foi testado também concentrações de hipoclorito de sódio de ≤ 1ppm com tempo de exposição 5 e 30 minutos, em temperaturas de 5°C, 30°C e 17,5°C (pontos 4, 5 e 1), constatando o crescimento de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 > 1 Log<sub>10</sub> UFC/ml (Tabela 3). As concentrações testadas de 3 ppm de NaClO para esta cepa se mantiveram com redução de ≥ 2 Log<sub>10</sub> UFC/ml.

**Tabela 3.** Arranjo do DCCR para *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Schwarzengrund sob a concentração de hipoclorito de sódio, tempo de exposição e temperatura. \*indica resultados observados.

Pontos	Cloro (ppm)	Tempo (m)	Temperatura (°C)	<i>S. Enteritidis</i> ATCC (log N <sub>0</sub> -N)	<i>S. Schwarzengrund</i> (log N <sub>0</sub> -N)
1	0,36	17,5	17,5	1,33	1,9
2	1	5	5	1,28	1,6
3	1	30	5	2	4,17
4	1	5	30	1,5	1,95
5	1	30	30	1,97	3,74
6	3	17,5	3,52	3,15	4,99
7	3	17,5	38,52	1,39	3,49
8	3	3,52	17,5	2,16	2,02
9	3	38,52	17,5	3,8	3,41
10	3	17,5	17,5	2,08	3,43
11	3	17,5	17,5	2,04	4,89
12	3	17,5	17,5	2,7	3,51
13	3	17,5	17,5	2,76	3,85
14	5	5	5	5,8*	4,59
15	5	30	5	3,59	7,28*
16	5	5	30	4,05	6,1*
17	5	30	30	5,19	5,1
18	6,36	17,5	17,5	7,52*	8,96*

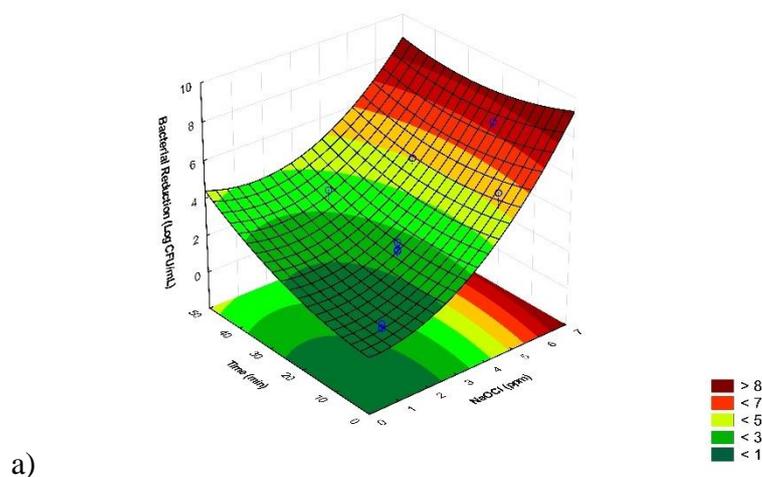
Dados expressos em escala logarítmica

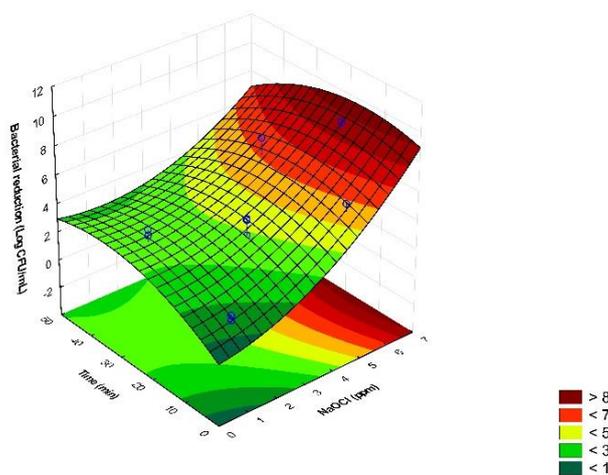
A combinação dos tratamentos para inativação de *Salmonella* Schwarzengrund está representada na Figura 3b e Tabela 3. O resultado encontrado para esta cepa mostrou-se similar à cepa *S. Enteritidis*, apresentando uma redução significativa de crescimento bacteriano na concentração 5 ppm de NaClO, em 30 minutos e 5°C reduzindo uma

população 8,5 Log<sub>10</sub> UFC/ml da carga inicial para 1,3 Log<sub>10</sub> UFC/ml, representando uma redução de 7,2 Log<sub>10</sub> UFC/ml (ponto 15). Ainda em mesma concentração de NaClO e mesmo tempo de exposição, ajustando a temperatura para 30°C (ponto 16) pôde ser observado através da redução de 9,7 Log<sub>10</sub> UFC/ml da carga inicial para 3 Log<sub>10</sub> UFC/ml, redução esta de 6,1 Log<sub>10</sub> UFC/ml.

Na concentração de 1 ppm de NaClO em tempos de 5 e 30 minutos e temperaturas de 5°C, 17,5°C e 30°C, a redução bacteriana foi ineficaz mantendo-se  $\leq 4$  Log<sub>10</sub> UFC/ml, porém, ainda assim, apresentou redução de quase 2 Log<sub>10</sub> UFC/ml a mais do que quando aplicado a mesma concentração de NaClO, tempo e temperatura na cepa *S. Enteritidis* ATCC 13076. A concentração utilizada de 6,36 no experimento, assim como na cepa *S. Enteritidis* ATCC 13076 foi viável pra inativar altas cargas bacteriana reduzindo 8,9 Log<sub>10</sub> UFC/ml da carga inicial para zero, ou seja, inativou completamente a carga bacteriana, chamando atenção para o fato de que essa cepa sofreu mais influência do tempo de exposição do que a cepa *S. Enteritidis* ATCC 13076, com  $p < 0,05$ .

**Figura 3.** Sobrevivência (Log (N<sub>0</sub> - N)) de cepa de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 (a) e *Salmonella* Schwarzengrund Selvagem (b) após exposição do hipoclorito de sódio, tempo e temperatura da água. Verde indica maior sobrevivência após os tratamentos e vermelho indica menor capacidade de sobrevivência após os tratamentos.





b)

Para avaliar a qualidade de ajuste dos modelos obtidos e normalidade dos dados e normalidade dos resíduos, os índices de desempenho estão expressos na Tabela 4. Os resultados indicam que a normalidade dos dados foi considerada normal, sendo  $p > 0.05$ , da mesma forma para os resíduos do modelo. A determinação do coeficiente ( $R^2_{adj}$ ) foi considerado adequado, sendo  $> 80$  para as cepas testadas. O MSE apresentou baixos valores indicando que não houve erros experimentais. Os índices de fator viés ( $B_f$ ), calculado através da média dos dados observados e previstos da validação apresentou valores próximos a 1 para ambas as cepas. O mesmo para o fator de precisão ( $A_f$ ) que indicou valores próximos a 1 para a distância média e dispersão dos dados.

**Tabela 4.** Índices de desempenho de modelo DCCR e sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Schwarzengrund sob concentração de cloro, temperatura e tempo de exposição.

Modelos	Normalidade dos dados (valor de $p$ )	Normalidade dos resíduos (valor de $p$ )	$R^2_{adj}$	MSE	$B_f$	$A_f$	Falta de Ajuste (valor de $p$ )
S. Enteritidis							
ATCC 13076	0,2971	0,1519	0,82337	0,1265	1,13	1,42	0,1100
S. Schwarzengrund	0,296	0,4504	0,83952	0,094	1,1	1,36	0,3956

## DISCUSSÃO

O cloro e suas várias formas são os compostos comumente utilizados para a desinfecção em indústrias de alimentos e serviços de alimentação (MACHADO, 2010). Considerando a legislação brasileira, o NaClO é um dos produtos clorados autorizados na lavagem de peixe nas etapas de processamento (BRASIL, 2007), tendo utilizado a concentração de 5 ppm, sendo esta preconizada pelo MAPA, bem como tempo de exposição de 5 minutos e temperatura da água a 5°C revelaram-se satisfatório para uma inativação 5,8 log<sub>10</sub>UFC/ml em *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 (Tabela 3). Observamos que a concentração de NaClO foi a única variável significativamente afetada, pois houve diferença significativa, sendo o valor de  $p < 0,05$ , o que não aconteceu para as variáveis temperatura e tempo de exposição. O uso de um agente químico desinfetante como o cloro, deve ser capaz de reduzir pelo menos 5 log<sub>10</sub>UFC/ml para bactérias patogênicas, assim como *Salmonella* (SANTAELLA, 2007). Em concentração de 6,36 ppm, acima do preconizado encontramos redução acima de 7 log<sub>10</sub> UFC/ml, o que já é esperado que quanto maior a concentração de NaClO, maior a inativação do microrganismo. Enquanto que em concentrações abaixo do recomendado, *S. Enteritidis* ATCC 13076 mostrou-se resistente.

Para a cepa de *Salmonella* Schwarzengrund, o resultado mostrou-se semelhante, onde 5 ppm foi capaz de inativar seu crescimento em 30 minutos e temperatura de 5°C (Tabela 3), reduzindo a carga microbiana acima de 7 log<sub>10</sub> UFC/ml. Ao elevar a temperatura da água para 30°C, com tempo de exposição de 5 minutos obtivemos redução de 6,1 Log<sub>10</sub> UFC/ml, significando que a temperatura da água influencia negativamente a ação do NaClO. Um dos fatores relatado por Byun et al. (2021) é que a eficácia dos desinfetantes à base de cloro é afetada pela temperatura, concentração e tempo de contato. Contudo, similar a cepa *S. Enteritidis*, a cepa *S. Schwarzengrund* foi sensível a concentração de 6,36 ppm, reduzindo 8 log<sub>10</sub> UFC/ml.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprova o uso de sanitizantes em concentração de 5 ppm, pois é a concentração suficiente para obter um efeito satisfatório sem afetar a genuinidade do alimento e sua qualidade (BRASIL, 2007). Os compostos clorados não deixam sabores nos produtos, desde que sejam usados nas concentrações adequadas (MATOS, 2011). Dessa forma, a concentração de 6,36 ppm utilizada é inviável para as indústrias, por estar acima do preconizado.

No estudo de (CUNHA-NETO et al. 2019, foi demonstrado a identificação de *Salmonella* Schwarzengrund em ambientes de processamento de pescado que utilizam NaClO. No presente estudo, esta cepa se mostrou resistente as variações de concentração de NaClO em que através das análises estatísticas foi constatado que  $p < 0,05$  e a variável tempo também resultando em  $p < 0,05$ , significando que não teve sua carga microbiana reduzida expresso na tabela complementar 2 (ANEXO). A resistência de patógenos a desinfetantes amplamente utilizados em empresas e indústrias de alimentos pode ser um dos fatores que contribuem com o envolvimento de microrganismos específicos em surtos de origem alimentar (MACHADO, 2010).

Um estudo realizado por Tong Thi et al. (2015) mostrou a ineficiência do cloro utilizado no controle de qualidade de Peixe-Panga (*Pangasius hypophthalmus*) em uma indústria de pescado, isto se deu através da aplicação de 10, 20, 50 e 120 ppm em tempos de 10, 20 e 240 segundos, sendo um dos principais motivos a concentração utilizada no estudo. Desta forma, testamos diferentes concentrações em tempos e temperaturas diferentes afim de otimizar esta substância utilizada nos abatedouros frigoríficos. Os mecanismos de resistência térmica estão diretamente ligados a permeabilidade celular, por meio de alterações na composição lipídica da membrana (CASTRO et al., 2019).

As adaptações aos sanitizantes podem e devem ser evitadas através da não utilização dos mesmos abaixo das suas concentrações indicadas (MEYER E COOKSON, 2010), bem como o uso prudente pode garantir a sua contínua eficácia contra os microrganismos (RIAZI E MATTHEWS, 2011). Observamos que as concentrações de 1 ppm, 3 ppm e 0,36 ppm não foram suficientes para uma inativação considerada eficaz, reduzindo apenas 1Log<sub>10</sub> UFC/ml (Tabela 2).

Existe limitada informação a respeito do efeito das concentrações de cloro livre sobre a sobrevivência de bactérias em peixes (TONG THI et al. 2015). Demonstrando a importância e relevância do estudo, visto que existe pouca informação relatada na literatura. A concentração do cloro e tempo de exposição devem ser adequados para eliminação dos patógenos que podem estar presentes na superfície dos peixes (MACHADO, 2010), bem como relatado por Menegaro et al. (2016) o tempo de contato com o sanitizante e a concentração podem afetar significativamente a eficácia deste sanitizante.

No presente estudo constatou-se que a cepa *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 não sofreu influência do tempo de contato e nem da temperatura, mas sim da concentração de NaClO, já a cepa *Salmonella* Schwarzengrund sofreu influência da concentração de NaClO e do tempo de exposição, não sofrendo influência da temperatura. A etapa de lavagem dos peixes tem finalidade de eliminar as bactérias do ambiente de processamento e o muco presente na superfície dos peixes, onde estão localizadas as glicoproteínas liberadas pelas glândulas da pele, cria um ambiente favorável ao crescimento e proliferação de microrganismos indesejáveis (FERNANDES et al. 2021). A lavagem correta com NaClO é um fator preventivo para o controle de microrganismos patogênicos, de maneira que evita problemas na saúde do consumidor que adquiriu este produto, entretanto, se tratando de uma cepa patogênica como *Salmonella* spp. pode causar danos maiores (LEITE, SACASAS E OETTERER 2016).

Os dados da sobrevivência de cepas testadas *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Schwarzengrund foram normais ( $p>0,05$ ), assim sendo também para os resíduos do modelo, mostrados na Tabela 4. A determinação ajustada do coeficiente ( $R^2_{adj}$ ) para ambas as cepas foi considerado adequado ( $>80$ ). A média do modelo erro quadrado (MSE) indicou baixos valores, significando que não houve erros experimentais, já que valores de MSE simboliza possíveis variabilidades e erros no experimento (TE GIFFEL E ZWIETERING, 1999), sendo capaz de medir a confiabilidade dos dados obtidos (Castro et al. 2019).

O índice de fator de viés ( $B_f$ ) mede a concordância média entre os dados previstos e observados (ROSS, 1996), foi calculado através dos experimentos da validação com 5 pontos aleatórios que não foram utilizados no modelo experimental, tendo como resultados valores próximos a 1. O fator de precisão ( $A_f$ ) mostra a distância média e dispersão dos dados à medida da equivalência (BARANYI, PIN, e ROSS 1999), resultados esperados para  $A_f$  são de 0,10 – 0,15 para as variáveis (ROSS 2000), entretanto, em modelos experimentais atuais, 1,2 – 1,4 é considerado aceitável, os resultados encontrados corroboram com os modelos experimentais atuais, onde  $A_f$  da cepa *S. Enteritidis* ATCC 13076 obteve valor de 1,4 e *S. Schwarzengrund* obteve valor de 1,3, significando que os modelos explicitados estão adequados. A falta de ajuste fornece uma estimativa de ajuste do modelo experimental, que no presente estudo não foi significativa para os modelos, sendo ( $p>0,05$ ) expressado na Tabela 4. Sendo assim,  $R^2_{adj}$ , MSE,  $B_f$ ,  $A_f$  e Falta de ajuste demonstram que o modelo experimental foi adequado para

medir a sobrevivência de *S. Enteritidis* e *S. Schwarzengrund* submetidas ao hipoclorito de sódio, tempo de exposição e temperatura.

Perante isso, destaca-se a relevância do estudo no que diz respeito a adoção de medidas efetivas para o controle de *Salmonella* spp. nos ambientes de processamento de pescado em abatedouros frigoríficos, uma vez que na ausência dessas medidas o pescado se torna um ambiente de proliferação de microrganismos patogênicos, por exemplo, tempos de exposição mais eficientes dentro das indústrias aliado a utilização da concentração de NaClO em 5 ppm.

## CONCLUSÃO

Constatou-se que o padrão de inativação foi quadrático, sendo independente para ambas as cepas. A cepa *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 se mostrou suscetível ao aumento da dosagem de NaClO independente das variáveis tempo e temperatura, por se tratar de uma cepa que estava armazenada em baixas temperaturas em ultra freezer acredita-se que esteja adaptada a este ambiente, ou seja, a concentração de NaClO teve influência direta na inativação significativa desta cepa. *Salmonella* Schwarzengrund, isolada de peixe nativo, revelou-se suscetível as variáveis de concentração de NaClO e tempo de exposição, onde 5 ppm de NaClO em 30 minutos foram determinantes para uma inativação bacteriana significativa, embora 6,36 ppm tenha sido mais eficiente para inativar uma maior carga populacional de *Salmonella* Schwarzengrund .

## ANEXO I

### Tabela complementar 1

TABELA DA ANOVA; Var.: *Salmonella* Enteritidis; R-sqr=,91688; Adj:,82337 (2\*\*(3) composto central, nc=8 ns=6 n0=2 Pontos=16 (Planilha7) na pasta de trabalho1)

3 fatores, 1 Bloco, 18 Pontos, MS Erro puro = ,1519485

DV: *Salmonella* Enteritidis

Factor	SS	df	MS	F	<i>p</i>
(1) °C (L)	0,62571	1	0,62571	4,1179	0,13544
°C (Q)	0,05686	1	0,05686	0,3742	0,583965
(2) NaClO (L)	36,38508	1	36,38508	239,4566	0,000586
NaClO (Q)	6,10283	1	6,10283	40,1638	0,007945
(3) Tempo (L)	0,60396	1	0,60396	3,9748	0,140182
Tempo (Q)	0,42898	1	0,42898	2,8232	0,191504
1L by 2L	0,01417	1	0,01417	0,0933	0,780013
1L by 3L	1,19847	1	1,19847	7,8874	0,067379
2L by 3L	0,63661	1	0,63661	4,1896	0,133166
Falta de ajuste	3,73634	5	0,74727	4,9179	0,110064
Erro puro	0,45585	3	0,15195		
<b>Total SS</b>	50,4342	17			

\*L: Linear

\*Q: Quadrático

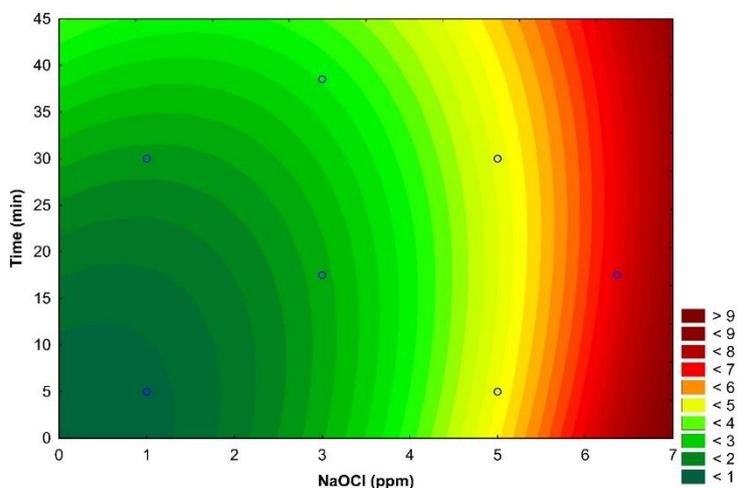


Figura 2D cepa *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076

## Tabela complementar 2

TABELA DA ANOVA; Var.: *Salmonella* Schwarzengrund; R-sqr=,92448; Adj:,83952 (2\*\*(3) composto central, nc=8 ns=6 n0=2 Pontos=16 (Planilha7) na pasta de trabalho 1)

3 fatores, 1 Bloco, 18 pontos, MS Erro puro = ,4504172

DV: *Salmonella* Schwarzengrund

Factor	SS	df	MS	F	<i>p</i>
(1) °C (L)	0,7816	1	0,7816	1,73529	0,279313
°C (Q)	0,28738	1	0,28738	0,63802	0,482817
(2) NaClO (L)	40,39918	1	40,39918	89,6928	0,002496
NaClO (Q)	4,13074	1	4,13074	9,17093	0,056384
(3) Tempo (L)	5,14897	1	5,14867	11,43089	0,043061
Tempo (Q)	1,8899	1	1,8899	4,1959	0,13297
1L by 2L	0,0453	1	0,0453	0,10058	0,771926
1L by 3L	2,49269	1	2,49269	5,53418	0,10008
2L by 3L	0,90071	1	0,90071	1,99973	0,252241
Falta de ajuste	3,34443	5	0,66889	1,48504	0,395645
Erro puro	1,35125	3	0,45042		
Total SS	62,17682	17			

\*L: Linear

\*Q: Quadrático

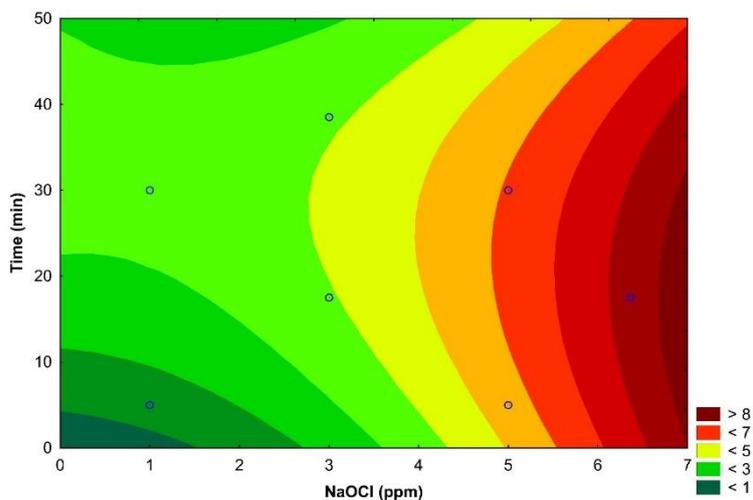


Figura 2D cepa *Salmonella* Schwarzengrund

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, Letícia Pedra de, Larissa Pacheco Ferreira, Maria Fernanda Uhl Freitas, e Clara dos Reis Nunes. 2020. “ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS COMERCIALIZADOS EM CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ”. *Revista Interdisciplinar Pensamento Científico* 6 (1). <http://143.244.215.40/index.php/reinpec/article/view/547>.
- BARANYI, József, Carmen Pin, e Thomas Ross. 1999. “Validating and Comparing Predictive Models”. *International Journal of Food Microbiology* 48 (3): 159–66. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00035-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00035-5).
- BROWN, A. C., J. E. GRASS, L. C. RICHARDSON, A. L. NISLER, A. S. BICKNESE, e L. H. GOULD. 2017. “Antimicrobial Resistance in *Salmonella* That Caused Foodborne Disease Outbreaks: United States, 2003–2012”. *Epidemiology & Infection* 145 (4): 766–74. <https://doi.org/10.1017/S0950268816002867>.
- CASTRO, V. S., D. K. A. ROSARIO, Y. S. MUTZ, A. C. C. PALETTA, E. E. S. FIGUEIREDO, e C. A. CONTE-JUNIOR. 2019. “Modelling Inactivation of Wild-Type and Clinical *Escherichia Coli* O26 Strains Using UV-C and Thermal Treatment and Subsequent Persistence in Simulated Gastric Fluid”. *Journal of Applied Microbiology* 127 (5): 1564–75. <https://doi.org/10.1111/jam.14397>.
- CUNHA NETO, Adelino, Pedro PANZENHAGEN, Larrayane CARVALHO, Dalia RODRIGUES, Carlos CONTE JUNIOR, e Eduardo FIGUEIREDO. 2019. “Occurrence and antimicrobial resistance -profile of *Salmonella* isolated from native fish slaughtered and commercialised in Brazil”. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 70 (agosto): 94–98. <https://doi.org/10.2376/0003-925X-70-94>.
- DRÓZDŹ, Mateusz, Michał MAŁASZCZUK, Emil PALUCH, e Aleksandra PAWLAK. 2021. “Zoonotic potential and prevalence of *Salmonella* serovars isolated from pets”. *Infection Ecology & Epidemiology* 11 (1): 1975530. <https://doi.org/10.1080/20008686.2021.1975530>.
- FAO, org. 2016. *Contributing to Food Security and Nutrition for All. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016*. Rome.
- FAO, org. 2018. *Meeting the Sustainable Development Goals. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018*. Rome.
- FERNANDES, Dandara Virginia Guia Semedo, Ricardo César Tavares Carvalho, Vinicius Silva Castro, Adelino Cunha-Neto, Barbara Muller, Fernanda Tavares Carvalho, Dália dos Prazeres Rodrigues, Bruno Serpa Vieira, e Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo. 2021. “*Salmonella* in the Processing Line of Farmed Tambatinga (*Colossoma Macropomum* x *Piaractus Brachypomus*) in Mato Grosso, Brazil: Serotypes of Occurrence and Antimicrobial Profile”. *Tropical Animal Health and Production* 53 (1): 146. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02584-8>.

- FERRARI, Rafaela G., Denes K. A. ROSARIO, Adelino CUNHA-NETO, Sérgio B. MANO, Eduardo E. S. FIGUEIREDO, e Carlos A. CONTE-JUNIOR. 2019. “Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: A Meta-Analysis”. *Applied and Environmental Microbiology* 85 (14): e00591-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.00591-19>.
- GIFFEL, M.C. te, e M.H. ZWIETERING. 1999. “Validation of Predictive Models Describing the Growth of *Listeria Monocytogenes*”. *International Journal of Food Microbiology* 46 (2): 135–49. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00189-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00189-5).
- LEITE, Suzan Blima Paulino, Lia Ferraz de Arruda Sucasas, e Marília Oetterer. 2016. “RESÍDUOS DA COMERCIALIZAÇÃO DE PESCADO MARINHO – VOLUME DE DESCARTE E ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS”. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial* 10 (1). <https://doi.org/10.3895/rbta.v10n1.2692>.
- MACHADO, Taís Raquel Marcon. s.d. “The resistance of *Salmonella* strains to the biocides peracetic acid, quaternary ammonium and sodium hypochlorite”, 7.
- MATOS, A. A. (2011). AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE DESINFECTANTES NA INDÚSTRIA AGRO–ALIMENTAR.
- MEYER, B., e B. COOKSON. 2010. “Does Microbial Resistance or Adaptation to Biocides Create a Hazard in Infection Prevention and Control?” *The Journal of Hospital Infection* 76 (3): 200–205. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2010.05.020>.
- MONTE, Daniel F. M., Fábio P. Sellera, Ralf Lopes, Shivaramu Keelara, Mariza Landgraf, Shermalyn Greene, Paula J. Fedorka-Cray, e Siddhartha Thakur. 2020. “Class 1 integron-borne cassettes harboring blaCARB-2 gene in multidrug-resistant and virulent *Salmonella* Typhimurium ST19 strains recovered from clinical human stool samples, United States”. *PLOS ONE* 15 (10): e0240978. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240978>.
- NI LI, Xiaoting Wu, Wen Zhuang, Lin Xia, Yi Chen, Chuncheng Wu, Zhiyong Rao, et al. 2020. “Fish Consumption and Multiple Health Outcomes: Umbrella Review”. *Trends in Food Science & Technology* 99: 273–83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.033>.
- PAGANINI, Camila Casagrande. s.d. “UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO TECNOLÓGICO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS”.
- PUI, CF, WC Wong, LC Chai, R Tunung, P Jeyaletchumi, Noor Hidayah, A Ubong, MG Farinazleen, YK Cheah, e R Son. 2011. “*Salmonella*: A foodborne pathogen.” *International Food Research Journal* 18 (2).
- RACKI, Aline Sandoval. 2018. “RISCOS AMBIENTAIS EM UM FRIGORÍFICO DE PEIXES”.
- RIAZI, Shadi, e Karl R. Matthews. 2011. “Failure of Foodborne Pathogens to Develop Resistance to Sanitizers Following Repeated Exposure to Common Sanitizers”.

- International Biodeterioration & Biodegradation* 65 (2): 374–78.  
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.12.001>.
- ROSS, T. 1996. “Indices for Performance Evaluation of Predictive Models in Food Microbiology”. *Journal of Applied Bacteriology* 81 (5): 501–8.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1996.tb03539.x>.
- ROSS, T. 2000. “Predictive Modelling of the Growth and Survival of *Listeria* in Fishery Products”. *International Journal of Food Microbiology* 62 (3): 231–45.  
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00340-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00340-8).
- SANTAELLA, Silvia Regina Reis. 2007. “Controle de soluções sanificantes por meio do potencial de óxido-redução em alface americana minimamente processada”. Doutorado em Serviços de Saúde Pública, São Paulo: Universidade de São Paulo. <https://doi.org/10.11606/T.6.2007.tde-07122020-123859>.
- SANTOS, Raquel Ribeiro dos, R.G.C. Xavier, Thaís Ferreira de Oliveira, Rômulo Cerqueira Leite, Henrique Cesar Pereira Figueiredo, e Carlos Augusto Gomes Leal. 2019. “Occurrence, Genetic Diversity, and Control of *Salmonella* Enterica in Native Brazilian Farmed Fish”. *Aquaculture* 501 (fevereiro): 304–12.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.034>.
- SARTORI, Alan Giovanini de Oliveira, e Rodrigo Dantas Amancio. 2012. “Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil”. *Segurança Alimentar e Nutricional* 19 (2): 83–93. <https://doi.org/10.20396/san.v19i2.8634613>.
- SCHMIDT, Amand F., e Chris FINAN. 2018. “Linear Regression and the Normality Assumption”. *Journal of Clinical Epidemiology* 98 (junho): 146–51.  
<https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2017.12.006>.
- SOUZA SANT’ANA, Anderson de. 2012. “Introduction to the Special Issue: *Salmonella* in Foods: Evolution, Strategies and Challenges”. *Food Research International* 45 (2): 451–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.01.003>.
- TONG THI, Anh Ngoc, Imca Sampers, Sam Van Haute, Simbarashe Samapundo, Binh Ly Nguyen, Marc Heyndrickx, e Frank Devlieghere. 2015. “Decontamination of *Pangasius* Fish (*Pangasius Hypophthalmus*) with Chlorine or Peracetic Acid in the Laboratory and in a Vietnamese Processing Company”. *International Journal of Food Microbiology* 208 (setembro): 93–101.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.017>.
- TSAI, Lee-Shin, John E. Schade, e Buenafe T. Molyneux. 1992. “Chlorination of Poultry Chiller Water: Chlorine Demand and Disinfection Efficiency”. *Poultry Science* 71 (1): 188–96. <https://doi.org/10.3382/ps.0710188>.

## ANEXO II

### RESUMO DA MOSTRA DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFMT

**Título:** Identificação do ponto ótimo de Hipoclorito de Sódio (NaClO), tempo e temperatura para o controle e *Salmonella* spp. no processo tecnológico do abate de peixes nativos

**Resumo:** O pescado representa um alimento de alto valor nutritivo e com inúmeros benefícios a saúde, dessa forma, existe a necessidade de proteção e segurança desse alimento que chega até seus consumidores, visto que, se não forem bem processados podem ser uma fonte de contaminação com a presença de microrganismos patogênicos. *Salmonella* spp. não faz parte da microbiota natural dos peixes, mas já foi relatada sua presença em diferentes estudos. Diversas tecnologias tem sido propostas para inativar este microrganismo. Neste aspecto, o cloro e seus derivados são agentes amplamente utilizados na eliminação de microrganismos patogênicos em que, a utilização de hipoclorito de sódio (NaClO) nas etapas de lavagem e processamento dos peixes abatidos é autorizada pelo Ministério da Saúde com apenas 5 ppm de cloro residual livre. Diante da problemática, o objetivo do presente projeto é identificar o ponto ótimo entre os parâmetros de concentração da substância de hipoclorito de sódio (NaClO), o tempo de exposição do patógeno a substância, e temperatura da água a qual o patógeno estará submetido durante o abate de peixes nativos, para isso será estabelecido um modelo de inativação da *Salmonella* spp. com as variáveis supracitadas. Será utilizada como metodologia o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para avaliar 18 experimentos quanto a temperatura, tempo e concentração do cloro (ppm) em função da sobrevivência da *Salmonella* spp. em peixes nativos. Os dados serão submetidos a análise por *software Statistica 10.0* para o experimento DCCR e enumeração de células. Espera-se com este trabalho obter resultados positivos quanto a inativação da *Salmonella* spp. com o novo protocolo tecnológico otimizado. É um trabalho que gera impacto positivo nos setores saúde pública, setor econômico, tecnológico e social, contribuindo com a prevenção de doenças, a agregação de valor ao produto local, o aumento de produtividade, gerando impactos a economia regional.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Salmonella* spp., aquicultura, pescados, segurança alimentar.

## VÍDEOS ONLINE APRESENTADOS NA MOSTRA DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFMT

Vídeo 2021: <https://www.youtube.com/watch?v=ucl6dNAsKRg>

Vídeo 2022: <https://www.youtube.com/watch?v=irW7zYL-txk>



  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

## Certificado

Certificamos que **NATHALY BARROS NUNES** participou da **XII MOSTRA DA PÓS-GRADUAÇÃO** da Pró-reitoria de Ensino de Pós-graduação/UFMT, no período de 1 a 5 de novembro de 2021, **APRESENTANDO** o trabalho intitulado **APERFEIÇOAMENTO DO USO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO (NAClO) PARA O CONTROLE DE SALMONELLA SPP. NO PROCESSO TECNOLÓGICO DO ABATE DE PEIXES NATIVOS.**

CUIABÁ, 05 de Novembro de 2021

Documento assinado eletronicamente por **Vinícius Carvalho Pereira** :  
Coordenador de Ensino de Pós-Graduação, em 29/11/2021, às 14:53  
PORTARIA REITORIA-UFMT Nº 017, DE 13 DE JANEIRO DE 2021  
Conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [DECRETO Nº 8.539, DE 8 DE OUTUBRO DE 2015](#).  
A autenticidade deste documento pode ser conferida no site:  
<https://certificado-eventos.ufmt.br>,  
informando o código do verificador **597** e o código CRC **3AWUOFE**

**PROPG**

  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

## Certificado

Certificamos que **Nathaly Barros Nunes** participou da **XIII MOSTRA DA PÓS-GRADUAÇÃO** da Pró-reitoria de Ensino de Pós-graduação/UFMT, no período de 9 a 11 de novembro de 2022, **APRESENTANDO** o trabalho intitulado **IDENTIFICAÇÃO DO PONTO ÓTIMO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO (NAClO), TEMPO E TEMPERATURA PARA O CONTROLE DE SALMONELLA SPP. NO PROCESSO TECNOLÓGICO DO ABATE DE PEIXES NATIVOS.**

CUIABÁ, 11 de Novembro de 2022

Documento assinado eletronicamente por **Vinícius Carvalho Pereira** :  
Coordenador de Ensino de Pós-Graduação, em 30/01/2023, às 17:28  
PORTARIA REITORIA-UFMT Nº 017, DE 13 DE JANEIRO DE 2021  
Conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [DECRETO Nº 8.539, DE 8 DE OUTUBRO DE 2015](#).  
A autenticidade deste documento pode ser conferida no site:  
<https://certificado-eventos.ufmt.br>,  
informando o código do verificador **1341** e o código CRC **305JBFQ**

**PROPG**