



**CONTAMINAÇÃO PARASITOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA EM BONITO-  
LISTRADO (*Katsuwonus pelamis*) E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE**

**Clarissa Maia de Aquino**

**Florianópolis**

**2023**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS**

**Clarissa Maia de Aquino**

**CONTAMINAÇÃO PARASITOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA EM BONITO-  
LISTRADO (*Katsuwonus pelamis*) E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Doutora em Ciência dos Alimentos.

**Orientador:** Dr. Giustino Tribuzi

**Florianópolis**

**2023**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Aquino, Clarissa Maia de  
CONTAMINAÇÃO PARASITOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA EM BONITO  
LISTRADO (*Katsuwonus pelamis*) E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE /  
Clarissa Maia de Aquino ; orientador, Giustino Tribuzi,  
2023.

157 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós  
Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Anisakis. 3. Parasito. 4.  
Controle de qualidade. 5. Pescado. I. Tribuzi, Giustino .  
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

Clarissa Maia de Aquino

**CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA E PARASITOLÓGICA EM BONITO-  
LISTRADO (*Katsuwonus pelamis*) E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Marlene Nunes Damaceno

Elenice Martins Brasil

José William Alves da Silva

Pedro Luiz Manique Barreto

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutora em Ciência dos Alimentos.

Prof. Itaciara Larroza Nunes, Dr. (a)

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Giustino Tribuzi, Dr.

Orientador



Dedico este trabalho à  
minha família, e, em especial, a  
pessoa que é o centro da minha  
vida, se não ela mesma, minha  
filha Livia. A você, minha  
querida, todo meu amor e carinho,  
com a certeza de que tudo é por  
você e para você.

*Dedico.*



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus! "A cada vitória o reconhecimento devido ao meu Deus, pois só Ele é digno de toda honra, glória e louvor".

À minha mãe Socorro Maia e ao meu pai Antônio Paulino (*in memoriam*) por acreditarem e investirem em mim. Aos meus irmãos Paulino e Icaro e a minha cunhada Patrícia Malena pelo apoio, pela torcida e pelo incentivo para meu sucesso nessa jornada.

A minha filha Livia e aos meus sobrinhos – Maria Letícia, Maria Lêda e Luis Antônio. Por vocês e pra vocês eu tento ser uma pessoa melhor todos os dias. Vocês são a razão da minha alegria.

A professora Dra. Vildes Scussel, pelas oportunidades cedidas e orientação.

Ao professor Dr. Giustino Tribuzi, por aceitar me orientar com a pesquisa já andando, me apoiar e incentivar. Obrigada por todos os ensinamentos.

Ao professor Dr. Maurício Laterça Martins, por toda a disponibilidade, pelo acolhimento, por toda a paciência, por todas as lições, pelo exemplo de ética e profissionalismo.

Aos membros da banca, pela disponibilidade, sugestões, observações e considerações que enriqueceram esta tese.

Aos professores que fizeram parte da minha caminhada acadêmica, desde o infantil até este momento. A todos vocês, meu respeito e minha admiração.

Aos técnicos Lucas, Marília e Silvia, do laboratório Aquos pelo auxílio para que o trabalho fosse feito da melhor forma possível.

Ao secretário do PPGCAL Sérgio Souza, pela amizade e pelos conselhos.

Aos meus amigos e companheiros de curso, que dividiram comigo toda esta trajetória, e fizeram da minha jornada um caminho menos solitário. Em especial ao Adolfo, Bruna, Cristina, Domickson, Edilene, Elenice, Graci, Lúcia Mara, Neyeli, Renata Amanda e Thiago Portela. Fica a certeza de que cada um fez o melhor que pôde, e que tudo vai valer a pena.

A empresa Gomes da Costa LTDA, por ceder as amostras de atum utilizadas nessa pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela bolsa concedida.

Ao povo brasileiro que, por meio do pagamento dos seus impostos, viabilizaram a minha graduação e pós-graduação dentro de instituições públicas renomadas. Espero retribuir para a sociedade, à altura, o investimento feito em meu nome.

A todos aqueles que o destino e a vida pediram para embarcar em busca dos seus sonhos, se distanciarem dos que mais amam e pagar o alto preço de viver longe de casa. Nós que viemos não estamos livres do medo e de tantas fraquezas, mas estamos para sempre livres do medo de nunca ter tentado.



Eu sou de uma terra que o povo padece  
Mas não esmorece e procura vencer.  
Da terra querida, que a linda cabocla  
De riso na boca zomba no sofrer  
Não nego meu sangue, não nego meu nome  
Olho para a fome, pergunto o que há?  
Eu sou brasileiro, filho do Nordeste,  
Sou cabra da Peste, sou do Ceará.

***Patativa do Assaré***

Levantar cedo pra labuta que eu tô pronto  
Eu muito conto com meu Deus que tá no céu

***João Gomes***



## **RESUMO**

O pescado é um alimento altamente perecível, exigindo cuidados especiais em seu transporte, recebimento, manipulação, conservação e armazenamento, conferindo alguns riscos à saúde do consumidor se não houver um controle da qualidade rigoroso em toda cadeia de produção. O objetivo deste trabalho é analisar o grau de frescor do pescado por meio do Método do Índice de Qualidade (MIQ), determinar os parâmetros físico-químicos, verificar a presença de histamina e BVT (bases voláteis totais), pesquisar a presença de contaminação parasitológica em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*), registrar o nível de conhecimento da população sobre parasitos e zoonoses transmitidas pelo consumo de peixes e verificar a eficiência e os efeitos do gás ozônio como método de descontaminação fúngica no pescado. Todos os peixes analisados apresentaram características de frescor como aparência, mucosidade, características dos olhos, opérculos, brânquias, abdômen, músculos e odor satisfatórios. Não foi detectada a presença de histamina, enquanto os valores obtidos para BVT variaram entre 13,66 e 22,45 mgN/100 g. A média obtida para os parâmetros de pH e atividade de água ( $a_w$ ) foram de 6,02 e 0,949, respectivamente. Para avaliação da contaminação parasitológica, os espécimes foram inspecionados visualmente e as estruturas com morfologia condizente com formas parasitárias foram analisadas estereoscopicamente, microscopicamente e através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Dois gêneros de parasitos zoonóticos foram encontrados, o *Anisakis* sp. (Nematoda) e *Trypanorhyncha* sp. (Cestoda). Os órgãos mais infectados foram intestino, carne e estômago (596, 441 e 408 parasitas, respectivamente). A pesquisa com consumidores demonstrou que 72,5% dos participantes tinham conhecimento da contaminação por parasitas em peixes e, dentre eles, 8% já haviam encontrado algum parasito em peixes; entretanto, 88,2% afirmaram desconhecer a anisakiase. Para investigação da descontaminação fúngica do ozônio gasoso ( $O_3$ ) foi utilizado peixe cavala (*Acanthocybium solandri*) em diferentes tipos de preservação (*in natura*, seco e salgado). As amostras foram contaminadas com cepas de fungos (*Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*), depois tratados com gás a 50  $\mu\text{mol } O_3/\text{mol}$ , por 10, 20 e 30 min, incubadas (25 °C, 7 dias). As amostras que foram expostas ao  $O_3$  por mais tempo tiveram o crescimento fúngico totalmente inibido (100%), enquanto as demais apresentaram apenas efeito de crescimento reduzido. Os esporos de *Fusarium* não cresceram em nenhum grupo das amostras. Por outro lado, o *Aspergillus* e *Penicillium* embora tenham iniciado seu desenvolvimento, tiveram seu crescimento inibido pelo  $O_3$ . Os resultados das análises sensorial e físico-químicas estavam dentro do que preconiza a legislação brasileira para

frescor, histamina, BVT e pH, estando aptas para o processamento e consumo. Para análise parasitológica, os resultados reforçaram a importância da fiscalização e a importância da evisceração rápida do pescado para evitar a migração das larvas das vísceras para a musculatura. O questionário com consumidores reforça a importância da conscientização da população sobre a possibilidade de presença de parasitos em peixes e sobre a anisakiase. Como consequência, a presença de parasitos pode reduzir a comercialização e o valor dos pescados devido às implicações na segurança e qualidade, reduzindo a confiança do consumidor e, assim, causando perdas econômicas para o setor pesqueiro. Quanto ao O<sub>3</sub>, mostrou-se eficaz (nas condições aplicadas) para o controle de fungos em diferentes formas de conservação em peixe.

**Palavras-chave:** *Anisakis*, Controle de Qualidade, Indústria de Pescado, Ozônio, Parasitos

## **ABSTRACT**

Fish are highly perishable foods, thus requiring special care in their transport, receipt, storage, conservation, and handling, which may represent a risk to consumer health if there is no strict quality control throughout the production chain. The objective of this work is to analyze the degree of freshness of the fish before its processing through the Quality Index Method (QIM) and the determination of physical-chemical parameters, detecting the possible formation of histamine and BVT, research the presence of parasitological contamination in skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), record the level of knowledge of the general population about parasites and zoonoses transmitted by the consumption of contaminated fish and verify the efficiency and effects of ozone gas when used as a method of fungal decontamination in fish. All analyzed fish presented characteristics of freshness such as appearance, mucosity, characteristics of the eyes, operculum, gills, abdomen, muscles, and satisfactory odor. The presence of histamine was not detected, while the values obtained for BVT varied between 13.66 and 22.45 mg N/100 g. The average obtained for the pH and Aw parameters were 6.02 and 0.949, respectively. For the evaluation of parasitological contamination, the specimens were visually inspected and the structures with morphology consistent with parasitic forms were analyzed stereoscopically, microscopically and through Scanning Electron Microscopy (SEM). Two genera of zoonotic parasites were found, *Anisakis* sp. (Nematoda) and Trypanorhyncha sp. (Cestode). The most infected organs were intestine, meat, and stomach (596, 441 and 408 parasites, respectively). The online survey with consumers the survey with consumers showed that 72.5% of the participants were aware of contamination by parasites in fish and, among them, 8% had already found a parasite in fish; however, 88.2% stated that they were unaware of anisakiasis. To investigate the fungal decontamination of gaseous ozone (O<sub>3</sub>) mackerel fish (*Acanthocybium solandri*) in different types of preservation (in natura, dry and salted) was used. The samples were contaminated with fungal strains (*Fusarium*, *Aspergillus* and *Penicillium*), then treated with gas at 50 µmol O<sub>3</sub> /mol, for 10, 20 and 30 min, and incubated (25 °C, 7 days). The samples that were exposed to O<sub>3</sub> for a longer time had fungal growth completely inhibited (100%), while the others showed only a reduced growth effect. *Fusarium* spores did not grow in any group of samples. On the other hand, *Aspergillus* and *Penicillium*, although they started their development, had their growth inhibited by O<sub>3</sub>. The results of the sensory and physical-chemical analyzes showed that the samples were within the requirements of Brazilian legislation for freshness, histamine, BVT and pH, being suitable for processing and

consumption. For parasitological analysis, the results reinforced the importance of inspection and the importance of rapid evisceration of the fish to prevent the migration of larvae from the viscera to the musculature. The questionnaire with consumers reinforces the importance of making the population aware of the possibility of the presence of parasites in fish and about anisakiasis. Therefore, the presence of parasites can reduce the commercialization and value of fish due to safety and quality implications, reducing consumer confidence and thus causing economic losses for the fishing industry. As for O<sub>3</sub>, it proved to be effective (under the conditions applied) for controlling fungi in different ways of preserving fish.

**Keywords:** *Anisakis*, Quality Control, Fish Industry, Ozone, Parasites

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Representação química do aminoácido precursor e amina biogênica.....	31
<b>Figura 2:</b> Dente perfurador em parasito do gênero <i>Anisakis</i> .....	43
<b>Figura 3:</b> Diferentes características morfológicas de anisaquídeos.....	44
<b>Figura 4:</b> Visualização de larvas espiraladas de <i>Anisakis</i> spp. em bonito-listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ) sob luz ultravioletas e parasitando o estômago. ....	46
<b>Figura 5:</b> Bonito-listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ). ....	48
<b>Figura 6:</b> Captura do bonito-listrado ( <i>Katsuwonus Pelamis</i> ) com vara e linha.....	48
<b>Figura 7:</b> Zonas de captura do bonito-listrado ( <i>Katsuwonus Pelamis</i> ) na costa brasileira.....	49
<b>Figura 8:</b> Bonito-listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ) fresco. ....	66
<b>Figura 9:</b> Ciclo de vida do <i>Anisakis</i> .....	74
<b>Figura 10:</b> Coleta de dados biométricos do bonito-listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ).....	76
<b>Figura 11:</b> Órgãos internos necropsiados em bonito-listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ) .....	77
<b>Figura 12:</b> Parasitos encontrados em bonito-listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ).....	79
<b>Figura 13:</b> Características morfológicas de parasitos encontrados em bonito-listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ).....	80
<b>Figura 14:</b> Caracterização socioeconômica dos participantes. ....	89
<b>Figura 15:</b> Cavala ( <i>Acanthocybium solandri</i> ) Diferentes tipos de tecidos de conservação a) frescos, b) secos e c) salgados. ....	96
<b>Figura 16:</b> Crescimento fúngico em cavala ( <i>Acanthocybium solandri</i> ) antes e após a aplicação do O <sub>3</sub> (7º dia de incubação) [NG: sem crescimento, GC: grupo controle] .....	100
<b>Figura 17:</b> Desenvolvimento de colônias de <i>Aspergillus</i> em amostras frescas de cavala ( <i>Acanthocybium solandri</i> ) observadas em: (a) estereoscópio e (b): microscópio [80x e 40x, respectivamente].....	104

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Peixes associados a uma quantidade elevada concentração de histidina livre no tecido muscular.....	32
<b>Tabela 2:</b> Surtos de origem alimentar comprovados causados pela ingestão de histamina....	33
<b>Tabela 3:</b> Resumo dos 4 tipos de <i>Anisakis</i> spp.....	43
<b>Tabela 4:</b> Parasitos detectados em <i>Katsuwonus pelamis</i> , sítio de infecção e origem do peixe relatados na literatura.....	50
<b>Tabela 5:</b> Tipos e origem de culinária a base de peixe ( <i>in natura</i> e processado) na dieta de vários países.....	52
<b>Tabela 6:</b> Principais metodologias de monitoramento de frescor de pescado .....	62
<b>Tabela 7:</b> Parâmetros e critérios para cotação de frescura de peixes azuis.....	62
<b>Tabela 8:</b> Esquema de Método de Índice de Qualidade - MIQ utilizado para avaliação de bonito-listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ). .....	64
<b>Tabela 9:</b> Resultados da análise sensorial MIQ e das análises físico-químicas de histamina, BVT, pH e Aw realizadas em amostras de bonito- listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ).....	68
<b>Tabela 10:</b> Ocorrência de parasitos em bonito-listrado ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ) .....	78
<b>Tabela 11:</b> Parâmetros de umidade e Aw de amostras frescas, secas e salgadas de cavala ( <i>Acanthocybium solandri</i> ) antes do tratamento com ozônio .....	98
<b>Tabela 12:</b> Contagem total de fungos em cavala ( <i>Acanthocybium solandri</i> ) tratada com O <sub>3</sub> .....	103



## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

APPCC: Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

ATP: Trifosfato de Adenosina

Aw: Atividade de água

BPF's: Boas Práticas de Fabricação

BVT: Bases voláteis totais

cm: Centímetros

CO<sub>2</sub>: Gás carbônico

DTA's: Doenças transmitidas por alimentos

ECR: *European Commission Regulation*

EFSA: *European Food Safety Authority*

EUA: Estados Unidos da América

FAO: Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

FDA: *Food and Drug Administration*

g: Gramas

h: Hora

HACCP: *Hazard Analysis and Critical Control Point*

ICCAT: *International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas*

IN: Instrução normativa

IQ: Índice de Qualidade

kg: Quilograma

LANARA: Laboratório Nacional de Referência Animal

LCME: Laboratório Central de Microscopia Eletrônica

m: Metro

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MEV: Microscopia eletrônica de varredura

mg: Miligramas

min: Minuto

MIQ: Método de Índice de Qualidade

mm: Milímetros

NH<sub>3</sub>: Amônia

nm: Nanômetros

NO<sub>2</sub>: Nitrito

O<sub>3</sub>: Gás ozônio

° C: Graus Celsius

OMS: Organização Mundial de Saúde

PCR: *Polymerase Chain Reaction*

PDA: Potato Dextrose Ágar

pH: Potencial Hidrogeniônico

QIM: Quality Index Method

RIISPOA: Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

SM: *Stereo Microscopy*

UE: União Europeia

UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina

# **Sumário**

## **CAPÍTULO 1**

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>24</b>
<b>2.1 Geral .....</b>	<b>24</b>
<b>2.2 Específicos .....</b>	<b>24</b>
<b>3. ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO .....</b>	<b>25</b>
<b>3.1 Estrutura .....</b>	<b>25</b>

## **CAPÍTULO 2**

<b>4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Método do Índice de Qualidade (MIQ) .....</b>	<b>28</b>
<b>4.2 Histamina .....</b>	<b>30</b>
<b>4.3 BVT .....</b>	<b>34</b>
<b>4.4 Contaminação de peixes por parasitos .....</b>	<b>36</b>
<b>4.5 Classes de parasitos em peixes.....</b>	<b>37</b>
<b>4.5.1 Nematódeos .....</b>	<b>37</b>
<b>4.5.2 Trematódeos.....</b>	<b>38</b>
<b>4.5.3 Cestódeos .....</b>	<b>39</b>
<b>4.6 Anisakiase .....</b>	<b>40</b>
<b>4.6.1 Anisakiase gástrica / intestinal.....</b>	<b>41</b>
<b>4.6.2 Anisakiase alérgica.....</b>	<b>41</b>
<b>4.7 <i>Anisakis</i>.....</b>	<b>42</b>
<b>4.8 Ciclo de vida.....</b>	<b>45</b>
<b>4.9 Formas de infecção .....</b>	<b>46</b>
<b>4.10 Diagnóstico e tratamento .....</b>	<b>46</b>
<b>4.11 Bonito-listrado (<i>Katsuwonus pelamis</i>).....</b>	<b>47</b>
<b>4.12 Alimentos passíveis de contaminação por parasitos.....</b>	<b>51</b>
<b>4.13 Efeitos do processamento na destruição de parasitos .....</b>	<b>53</b>
<b>4.14 Legislação .....</b>	<b>55</b>
<b>4.14.1 Nacional.....</b>	<b>55</b>
<b>4.14.2 Internacional.....</b>	<b>55</b>
<b>4.15 Estratégias de controle .....</b>	<b>56</b>

## **CAPÍTULO 3**

### **CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA EM**

<b>BONITO LISTRADO (<i>Katsuwonus pelamis</i>).....</b>	<b>58</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>62</b>
<b>2.1 Amostra .....</b>	<b>62</b>
<b>2.2 Análises.....</b>	<b>62</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>70</b>

#### **CAPÍTULO 4**

<b>CONTAMINAÇÃO PARASITÁRIA EM BONITO-LISTRADO (<i>Katsuwonus pelamis</i>) E SEU POTENCIAL IMPACTO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS E NA SAÚDE DO CONSUMIDOR.....</b>	<b>71</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>72</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>75</b>
<b>2.1 Coleta de amostras.....</b>	<b>75</b>
<b>2.2 Biometria .....</b>	<b>75</b>
<b>2.3 Necrópsia e identificação de parasitos .....</b>	<b>76</b>
<b>2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV.....</b>	<b>76</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>77</b>
<b>3.1 Biometria e identificação de parasitos .....</b>	<b>77</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>82</b>

#### **CAPÍTULO 5**

<b>ATITUDE DO CONSUMIDOR PERANTE A EXISTÊNCIA DE PARASITOS EM PEIXES NO BRASIL E GRAU DE CONHECIMENTO SOBRE ANISAQUIÍASE .....</b>	<b>84</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>85</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>86</b>
<b>2.1. Questionário on-line .....</b>	<b>86</b>
<b>2.1.2 Desenho do questionário .....</b>	<b>87</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>88</b>
<b>3.1 Questionário - Análise de dados da pesquisa com consumidores.....</b>	<b>88</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>91</b>

#### **CAPÍTULO 6**

<b>DESCONTAMINAÇÃO FÚNGICA UTILIZANDO OZÔNIO GASOSO (O<sub>3</sub>) EM CAVALA (<i>Acanthocybium solandri</i>) FRESCA, SECA E SALGADA.....</b>	<b>105</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>93</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>95</b>

<b>2.1 Material .....</b>	<b>95</b>
<b>2.2 Métodos .....</b>	<b>96</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>97</b>
<b>3.1 Umidade e Aw .....</b>	<b>97</b>
<b>3.2 Efeito do O<sub>3</sub> .....</b>	<b>99</b>
<b>3.3. Contagem total e suscetibilidade fúngica ao O<sub>3</sub> .....</b>	<b>102</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>104</b>
<b>CAPÍTULO 7 .....</b>	<b>105</b>
<b>1. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>105</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>106</b>

## CAPÍTULO 1

### 1. INTRODUÇÃO

Existe uma crescente demanda por parte da população mundial para o consumo de pescado. Pesquisas vem demonstrando cada vez mais a importância nutricional e os benefícios do consumo desse tipo de alimento. Porém, essa tendência encontra uma dificuldade intrínseca do próprio alimento, que é a sua alta perecibilidade, o que limita e dificulta o processo de comercialização desse produto *in natura* (BRABO et al., 2016; AQUINO et al., 2019)

Em alguns países o pescado faz parte da cultura e dos costumes da população, podendo representar a fonte principal de proteína animal na dieta. Com uma costa litorânea extensa, grande quantidade de água disponível, clima e geografia favoráveis à atividade pesqueira, além da biodiversidade e fronteiras para a pesca extrativa ainda não exploradas, o Brasil pode se tornar um dos grandes produtores mundiais de pescado. A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), coloca o país como um dos maiores produtores em 2030, com uma produção de 20 milhões de toneladas anuais (FAO, 2020).

Além da aquicultura (criação em cativeiro) no Brasil, a pesca extrativista ainda é muito comum em diversas regiões do país, sendo a fonte de renda de várias famílias. Até este momento estão registrados 1.097.384 pescadores profissionais em território brasileiro, sendo grande parte pescadores artesanais e somente 1% pratica a pesca de forma industrial (BRASIL, 2018).

O bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) é também conhecido pelos nomes comuns de bonito, bonito-listrado, gaiado, atum-bonito ou atum-gaiado, sendo a espécie de atum mais pescado em todo o mundo. Pertence à família *Scombridae* com distribuição natural em águas tropicais e temperadas, estando apenas ausente no Mediterrâneo oriental e no Mar Negro. A espécie apresenta valor comercial elevado, representando cerca de 40% do total das capturas mundiais de atum. Apesar de apresentar um tamanho menor que os outros atuns mais conhecidos, pode atingir até 1m de comprimento e chegar até 20 kg. Devido à produtividade flutuante do bonito-listrado, é difícil avaliar o estado e os impactos da pesca sobre as suas populações (MADUREIRA et al., 2016; AOKI et al., 2017).

Este peixe pode ser consumido tanto em sua forma *in natura* quanto processado, através de produtos como patês, enlatados e conservas diversas fazendo com que a sua produção e consumo aumentem nos últimos anos. Assim, é essencial que haja avanços na avaliação de frescor, de forma que otimize a análise da qualidade, melhorando a segurança do

consumidor e reduzindo perdas econômicas. São necessárias metodologias rápidas, não-destrutivas e objetivas para analisar a qualidade nesta matriz (BERNARDO, 2020).

A deterioração do pescado é o resultado de uma associação de eventos bioquímicos, físico-químicos e de processos microbiológicos, característicos de cada espécie, que limitam o seu maior aproveitamento, comercialização e consumo. O atum é particularmente suscetível à formação de histamina, uma vez que contém grandes quantidades de histidina livre em seu tecido muscular. Em paralelo, existem parâmetros físico-químicos - como bases voláteis totais - BVT, pH e a atividade de água (Aw) que, além de refletirem na qualidade deste alimento, também são indicadores de deterioração (GUÉRIN et al., 2011; STORELLI et al., 2013).

Atualmente, o Codex Alimentarius, programa internacional que objetiva estabelecer normas na área de alimentos (como padrões, diretrizes e guias) estabelece a utilização de análises sensoriais por avaliadores treinados como um dos métodos de avaliação de frescor para peixes. O Método de Índice de Qualidade (MIQ) é uma ferramenta aplicada para indicar frescor através de avaliação sensorial feita por um grupo de avaliadores treinados. Entretanto, seu uso é limitado pelo protocolo, tamanho da amostragem, especificidades das espécies, condições de armazenamento e experiência dos avaliadores, tornando esse método subjetivo (BERNARDO, 2020).

Além do já citado acima, os peixes podem ser contaminados com o mais amplo e variado grupo de microrganismos através de águas contaminadas ou poluídas dos estuários e das bacias pesqueiras. A contaminação de pescado pode ocorrer tanto pelo contato com resíduos físicos presentes no meio em que vivem, como também de contaminações químicas e biológicas (FERREIRA et al., 2014; MACEDO; MARTINS; WEBER, 2015).

As zoonoses parasitárias transmitidas por pescado vêm merecendo destaque por serem ligadas a surtos de enfermidades transmitidas por alimentos associados ao consumo de pescado cru ou insuficientemente cozido (FAESTE et al., 2015). Esta informação tem sido motivo de preocupação da vigilância sanitária porque estes parasitos além de ter um potencialzoonótico, causam grande repugnância nos consumidores e são condenados pela fiscalização sanitária, ocasionando assim perdas econômicas importantes para a cadeia do pescado. Neste sentido, é de extrema importância o conhecimento dos parasitos de peixes para uma inspeção sanitária correta, pois a patogenia em seres humanos pode ocorrer por ação espóliativa, tóxica ou mecânica (AQUINO et al., 2019; BAO et al., 2019).

Além disso, o pescado *in natura* é mais passível de deterioração e contaminação, visto que não há barreira que impeça os microrganismos de agir imediatamente sobre o alimento. A única avaliação feita pelo consumidor antes da compra é a sensorial, para detectar se o peixe

está com aspecto bom. O problema é que por ser apenas visual, essa avaliação não consegue detectar outros problemas, que só são possíveis de se perceber com auxílio de equipamentos como o microscópio.

Considerando o interesse econômico e nutricional do pescado, existe a necessidade de garantir a sua segurança sanitária por meio de medidas que possam evitar ou reduzir a presença de perigos nesse alimento.

Diante disso, esse trabalho se propõe a analisar o frescor do pescado desembarcado em uma indústria de conservas, pesquisar se há a formação de compostos como histamina e BVT, investigar a presença de parasitoses em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) e avaliar opções de prevenção e controle, para fornecer alternativas à indústria pesqueira e contribuir na qualidade e no valor agregado a esta espécie.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Analisar o grau de frescor do pescado na indústria antes do processamento, observar se há a formação de histamina e BVT, pesquisar a presença de contaminação parasitológica em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*), entender os impactos que podem ter na indústria e na saúde dos consumidores, registrar o nível de conhecimento da população em geral sobre parasitas e zoonoses transmitidas pelo consumo de peixes contaminados e verificar a eficiência e os efeitos do gás ozônio quando utilizado como método de descontaminação fúngica nos pescado.

### 2.2 Específicos

- Avaliar as características de frescor do pescado utilizando o método sensorial MIQ;
- Determinar parâmetros de qualidade físico-química (histamina, BVT) em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*).
- Verificar a presença de parasitos em bonito-listrado;
- Identificar os parasitos encontrados, classificando-os de acordo com o seu potencial zoonótico para humanos;
- Registrar o nível do conhecimento da população sobre a presença de parasitos em peixes e sobre a anisaquíase;
- Observar a ação do gás ozônio (O<sub>3</sub>) como método preventivo sobre a contaminação fúngica em pescado.

### 3. ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

O presente trabalho está dividido em 4 etapas. A primeira etapa consiste na revisão bibliográfica da tese, publicada na revista *Brazilian Journal Critical of Hygiene and Animal Sanity* com o título: *Different parasites in fishery products: A review* (AQUINO et al., 2019) e como capítulo do livro intitulado “Ciência e Tecnologia dos Alimentos: Pesquisas e avanços sob o título “Parasitas zoonóticos transmitidos pelo consumo inadequado de peixes: Revisão” (2021). Para as etapas seguintes (2, 3 e 4) foram descritos os materiais e métodos e os resultados e discussão. A etapa 2 (objetivos 1 e 2) é composta pela obtenção das amostras na indústria, através de animais coletados aleatoriamente antes do processamento e pela realização das seguintes análises: sensorial de frescor (MIQ) e análises laboratoriais de histamina, BVT, pH e Aw. Parte dos resultados obtidos nesta etapa foi publicadosob o título “Qualidade físico-química em bonito listrado (*Katsuwonus pelamis*)” como capítulo do livro “Pesquisas e Atualizações em Ciência dos Alimentos” (AQUINO et al., 2022). Na etapa 3 (objetivos 3, 4 e 5) foi realizada a necropsia dos animais para coleta e identificação de parasitos por meio de imagens em MEV e de chaves de identificação e a pesquisa com consumidores através de questionário online acerca do conhecimento sobre parasitos em peixes e sobre a zoonose anisaquíase; os resultados parciais desta etapa foram publicados no artigo intitulado “Pesquisa de parasitos em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*)” (AQUINO et al., 2021) publicado no periódico Revista Brasileira de Agrotecnologia e no artigo “*Research of parasites with zoonotic potential for humans in skipjack tuna (Katsuwonus pelamis)*” (AQUINO et al., 2021) no periódico Scientia Plena. Os resultados finais foram organizados no artigo intitulado “Contaminação parasitária em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) e seu potencial impacto na indústria de alimentos e na saúde do consumidor” submetido ao periódico Conexões – Ciência e Tecnologia. Na etapa 4 (objetivo 6) foi observado a eficiência do gás ozônio (O<sub>3</sub>) na descontaminação fúngica do pescado em diferentes estados (frescos, secos e salgados) e em diferentes tempos de exposição. Os resultados finais dessa etapa foram publicados no artigo intitulado “*Fungi decontamination by gaseous ozone of fresh, dried and salted mackerel (Acanthocybium solandri)*” na revista *Research, Society and Development* (AQUINO; SCUSSEL, 2020).

#### 3.1 Estrutura

**Capítulo 1:** Introdução sobre o tema da tese e descrição dos objetivos e estrutura.

**Capítulo 2:** Etapa 1 - Revisão bibliográfica, que aborda os temas principais da pesquisa, que são: MIQ, Histamina, BVT, contaminação de peixes por parasitos, anisaquíase, bonito-listrado,

legislação, estratégias de controle e gás ozônio.

**Capítulo 3:** Resultados obtidos na etapa 2 da pesquisa, escrito em forma de artigo.

**Capítulo 4:** Resultados obtidos na etapa 3, escrito em forma de artigo.

**Capítulo 5:** Descrição dos procedimentos de pesquisa e os resultados obtidos através de questionário *on-line* para consumidores sobre a presença de parasitos em peixes e o conhecimento da população sobre a anisakiase.

**Capítulo 6:** Estão apresentados os resultados da etapa 4 do plano de trabalho.

**Capítulo 7:** Considerações finais sobre a pesquisa.

## CAPÍTULO 2

### **4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

O consumo de pescado tem sido cada vez mais frequente e reúne cada vez mais adeptos. Por ser um alimento fonte de proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos insaturados e vitaminas, bem como apresentar baixo teor de colesterol, constitui uma opção de consumo mais saudável do que as outras carnes (GONÇALVES, 2011). Dessa forma, se faz necessário evidenciar a importância do pescado tanto como alimento quanto no comércio mundial e conseqüentemente na geração de ocupação, emprego e renda em diversos países (BRABO et al., 2016).

Todo produto capturado do meio aquático, que direta ou indiretamente, tenha ou não valor comercial, e possa ser utilizado como alimento para o homem, é denominado pescado. Esse termo envolve peixes, crustáceos, moluscos, rãs, anfíbios, quelônios, cefalópodes, mamíferos de água doce ou salgada (NHS, 2018). Dentre eles, o grupo dos peixes, moluscos e crustáceos tem o maior valor nutricional e econômico, o que torna a sua contaminação por parasitos uma preocupação para os órgãos públicos de saúde (BARROS, 2003; BRASIL, 2018; NHS, 2018).

Os tunídeos são um recurso pesqueiro muito apreciado tanto pela indústria de processamento quanto pelos consumidores, e, os fatores determinantes para o valor comercial da espécie é a qualidade da parte comestível. A pesca do atum além de gerar um enorme fluxo comercial criou também uma importante indústria de transformação e processamento deste peixe em conserva (a principal indústria de transformação de pescado a nível mundial) tanto no Brasil quanto na União Europeia (UE) e no resto do mundo. Devido a isso, foi registrado um aumento constante do seu consumo nos últimos anos (LEITE, 2017).

As espécies de atum que se destinam à indústria de conservas são, fundamentalmente, tropicais e são capturadas nos oceanos Índico, Pacífico e Atlântico. Entre as espécies mais capturadas encontram-se o albacora (*Thunnus albacares*), também denominado atum de barbatanas amarelas, o bonito-listrado ou skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), o patudo ou bigeye (*Thunnus obesus*), e, em muito menor escala, o voador ou bonito-do-norte (*Thunnus alalunga*) (SUANZES-CARPEGNA, 2003; LEITE, 2017).

A Tailândia, Equador, Espanha, China e Indonésia são os cinco principais exportadores de atum enlatado no mercado global, sendo a Tailândia o maior exportador (mais de 250 000 t em 2016) (FAO, 2010). A Tailândia possui uma indústria de conservas dinâmica e converteu-se na principal potência importadora a nível mundial (407 000 t em 1993) a fim de abastecer a

sua própria indústria, seguida pelo Japão (para peixe fresco e sashimi) e pelos EUA, para a sua indústria de conservas (COSTA, 2013; SUANZES-CARPEGNA, 2003; FAO, 2010).

Tendo em conta todos estes dados, compreende-se a elevada importância que esta espécie de pescado tem na alimentação a nível mundial e que são necessárias medidas muito rigorosas, de forma a reduzir a possibilidade destes alimentos provocarem doenças de origem alimentar.

#### **4.1 Método do Índice de Qualidade (MIQ)**

Quando comparado a outras proteínas de origem animal, o pescado possui alta taxa de perecibilidade. Por ser um alimento extremamente vulnerável às variações bioquímicas e à contaminação através de microrganismos, é o produto de origem animal mais sujeito ao processo de deterioração (BERNARDES et al., 2021). Isso porque esse tipo de alimento apresenta pH mais próximo a neutralidade, possui elevada quantidade de água livre em seus tecidos e um elevado conteúdo de nutrientes, o que facilita a multiplicação dos microrganismos (ALEXANDRE et al., 2021).

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), pode ser classificado como pescado fresco aquele que não passou por processo de conservação, com exceção da conservação através da ação do gelo, podendo ser mantidos em temperaturas próximas a do gelo fundente, exceto aqueles pescados que são comercializados vivos (BRASIL, 2017).

O estado de frescor do pescado pode ser avaliado através de parâmetros químicos (por exemplo o nitrogênio das bases voláteis totais), físicos (como a análise de textura, cor e propriedades elétricas) e os químicos (pH e atividade de água-Aw). Além disso, a avaliação sensorial também avalia qualidade do pescado e apresenta vantagens como a rapidez e baixo custo, além de não ser destrutiva e estar associada aos critérios de aceitação adotados pelos consumidores, como apresentação, aspecto, consistência, resistência e o odor (ALEXANDRE et al., 2021). Na indústria de pescados, a análise sensorial é amplamente utilizada, principalmente na inspeção e controle de qualidade dos produtos, isso porque é necessário contar com rapidez e facilidade no momento das avaliações (CORDEIRO, 2019).

Dentre as análises sensoriais existentes, podemos destacar alguns métodos; por exemplo, a escala de “Torry”, criada em 1950 na Escócia. Esse método busca avaliar o odor e o sabor dos pescados cozidos, podendo ser realizado em pescados crus. Outro método bastante utilizado é o Esquema da União Europeia, criado em 1976 pelo Regulamento 103/76, que tem como objetivo avaliar os graus do frescor do pescado através de parâmetros gerais. Existe ainda

o Método do Índice de Qualidade (MIQ), um método rápido e objetivo que avalia os atributos sensoriais do pescado fresco em uma avaliação visual (olhos, pele, escamas e brânquias), avaliação olfativa (odor), e através da avaliação da textura, através de pontos demérito, que podem variar de 0 a 3 (GARCIA, 2017; CORDEIRO, 2019).

Denominado originalmente como “Quality Index Method” (QIM), o MIQ (sigla traduzida para o português) foi desenvolvido pelo Serviço Alimentar da Tasmânia – Austrália (Tasmanian Food Research Unit), e está baseado na avaliação dos principais parâmetros sensoriais significativos para o peixe fresco; o método também pode ser utilizado para filés, peixe congelado e para outros produtos originados da pesca (PAULI, 2019).

O MIQ é utilizado para estabelecer o frescor e a qualidade do pescado, analisando a sua modificação sensorial conforme o tempo de estocagem. Esse método possui como vantagens ter um baixo custo, menor exigência de capacitação dos avaliadores em relação aos outros métodos, não destruir a amostra analisada, levar em consideração as diferenças que existem entre as espécies dos pescados e apresentar pouca necessidade de preparo da amostra. É executada de maneira organizada e segura, podendo ser utilizada como uma ferramenta objetiva do controle de qualidade; além disso, é um método que possibilita não apenas a avaliação do frescor e a qualidade do pescado, mas também permite a previsão da validade comercial da espécie em questão (GARCIA, 2017; CORDEIRO, 2019; PAULI, 2019).

O MIQ é utilizado na União Europeia como método alternativo para ultrapassar as dificuldades encontradas nas tabelas sensoriais de inspeção sensorial do Regulamento CE nº 2406/96. Nesse esquema as espécies são classificadas em 3 categorias para frescor: E (extra), A e B, sendo que extra corresponde à qualidade mais elevada e abaixo do nível B o produto não está próprio para consumo. Além dessas, a norma traz uma quarta categoria com características de animais que não são admitidos pelo MIQ (AMARAL; FREITAS, 2013; CE, 1996).

Alexandre et al. (2021) descreveu as etapas de execução do MIQ, sendo elas: recrutamento e treinamento, protocolo de análise e aplicação do teste. Na primeira etapa, os provadores devem estar treinados no que diz respeito aos atributos que precisam ser avaliados. Deve-se treinar o julgador para que ele se habitue à espécie em questão, já que deverá relatar cada atributo responsável pela qualidade do pescado. Em seguida, ocorre o protocolo de análise, onde se desenvolverá uma tabela com os atributos obtidos através dos julgadores. Já a terceira etapa trata-se da aplicação do teste.

A finalidade do método é avaliar o pescado visualmente e olfativamente, através de uma pontuação que pode ir de 0 a 3, pontuação essa que é realizada a somatória de todos os

atributos originando uma pontuação total global, denominada de Índice de Qualidade (IQ); atributos que recebem notas menores, próximas a 0 ou 0, caracterizam-se como um pescado muito fresco, já aqueles que recebem notas próximas a 3 apresentam baixa qualidade sensorial (CORDEIRO, 2019). O sistema MIQ é preciso porque é adaptado para cada espécie, considerando as características do próprio peixe (RODRIGUES et al., 2016).

Embora o MIQ seja uma ferramenta importante para prever o fim da validade comercial ou o tempo de rejeição, ele deve ser estimado com a ajuda e o apoio de outros métodos de avaliação, tais como, as análises microbiológicas e físico-químicas (AMARAL; FREITAS, 2013; BERNARDI et al., 2013).

## 4.2 Histamina

A histamina (2-[4-imidazolil] etilamina) é uma substância endógena que ocorre naturalmente no corpo humano, tem funções fisiológicas importantes relacionadas com respostas imunitárias locais, reações alérgicas e neuromodulação. É uma amina biogênica não volátil, resultante da descarboxilação enzimática da histidina, resistente ao tratamento térmico e detectável em níveis baixos no pescado recém - capturado (SHALABY, 1996; FDA, 2011). Pode também estar presente em certos alimentos que contêm histidina livre, e gerada por determinadas bactérias deterioradoras e fermentadoras de alimentos. Pode ser proveniente da atividade dos microrganismos residentes no intestino grosso que descarboxilam histidina presente em alimentos proteicos (LEURS et al., 2012; KOVACOVA- HANUSKOVA et al., 2015).

A histamina está presente em todos os alimentos que contenham proteínas ou histidina livre e que estão sujeitos a condições que permitam a atividade microbiana (LANDETE et al., 2008). No caso do pescado, existe uma grande diversidade de microrganismos capazes de produzir histamina e outras aminas biogênicas, tais como *Enterobacteriaceae* spp., *Clostridium* spp., *Lactobacillus* spp., *Morganella* spp., *Proteus morganii* spp., *Pseudomonas* spp., *Hafnia alvei* spp., *Raoultella* spp. e *Klebsiella* spp. (FLICK; GRANATA, 2005; GOUVEIA, 2009; LIN et al., 2016). As espécies mais relevantes para a produção de histamina são a *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Hafnia alvei*, e, por isso, tem um papel importante no controle microbiológico e de qualidade nos produtos de pesca e seus derivados (GLÓRIA, 2005; EMBORG; PAW, 2008). De forma geral, a quantidade de bactérias presente no pescado armazenado depende da contaminação inicial da matéria-prima, assim como da temperatura e período de armazenamento (KORDIOVSKÁ et al., 2006; GOUVEIA, 2009).

A contaminação bacteriana de peixes, e a produção de histamina podem ser atribuídas a falhas na cadeia produtiva e/ou no armazenamento dos alimentos (TOPP et al., 2018; MANYI-LOH et al., 2018). A formação das amins biogênicas é desencadeada através da descarboxilação do seu respectivo aminoácido formador e/ou pela aminação e transaminação de aldeídos e cetonas (MAIJALA et al., 1993; SANTOS, 1996). A Figura 1 mostra a representação química da histidina (aminoácido precursor) e da histamina. Embora alguns alimentos sejam naturalmente ricos em aminoácidos livres, o seu teor aumenta *post mortem* (FLICK; GRANATA, 2005; SAAID et al., 2009). Geralmente, as amins biogênicas estão ausentes ou encontram-se em concentrações mínimas (< 10 ppm) em alimentos frescos. Contudo em alimentos como peixe, queijos, carnes, ovos e alimentos fermentados (SHALABY, 1996; FLICK; GRANATA, 2005), podem estar presentes em concentrações significativas (> 50 ppm), podendo desencadear uma intoxicação alimentar. Alimentos com concentrações de histamina superiores a 50 mg por 100 g de alimento são geralmente considerados perigosos (TAKEMOTO et al., 2019).

**Figura 1:** Representação química do aminoácido precursor e amina biogênica  
**Histidina** **Histamina**



A ingestão de altos teores de histamina, pode levar a um quadro de intoxicação alimentar, denominada de escombrototoxicose, intoxicação por histamina ou intoxicação por escombrotóxina, que pode resultar do desenvolvimento de *Enterobacteriaceae* no pescado (EVANGELISTA et al., 2016). Os sintomas são semelhantes aos de reações alérgicas agudas. Podemos citar a hiper ou hipotensão, dores de cabeça, erupção cutânea generalizada, problemas respiratórios, rinite, edema pulmonar, sensação de queimação oral ou gosto de pimenta, coceira, dor de cabeça, urticária/prurido, palpitações/taquicardias e outros sintomas gastrointestinais, comuns a outras DTA's, como cólicas abdominais, diarreia, náusea e vômito (PRESTER, 2011, EVANGELISTA et al., 2016).

Os sintomas e a sua intensidade vão depender da quantidade de histamina ingerida, da sensibilidade individual e da capacidade de desintoxicação do organismo, e podem ocorrer dentro de 30 min à 2h do consumo do alimento contaminado. Porém, em raros casos, podem



persistir por 12h até alguns dias (RUETHERS et al., 2018). Em alguns casos, a recuperação pode levar dias, mas geralmente é completa em 24h (HUNGERFORD, 2021).

A intoxicação por histamina está associada ao consumo de peixes das famílias *Scombridae* e *Scomberesocidae*, principalmente, o atum, a cavala e o bonito-listrado (HUNGERFORD, 2010). O tipo de tecido muscular dos peixes dessa família influencia a formação e acúmulo de histamina nos peixes. De fato, o músculo escuro apresenta níveis mais elevados de histamina em seus tecidos do que o músculo branco (DANQUAH; BENJAKUL; SIMPSON, 2012). Na Tabela 1 estão descritas as principais espécies de peixes da família *Scombridae* que contém histidina livre no músculo.

**Tabela 1:** Peixes associados a uma quantidade elevada concentração de histidina livre no tecido muscular.

<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>Nome comum</b>
<i>Scombridae</i>	<i>Thunnus maccoyii</i>	Atum
	<i>Thunnus obesus</i>	Albacora
	<i>Thunnus albacares</i>	Albacora bandolim
	<i>Thunnus alalunga</i>	Albacora laje
	<i>Thunnus thynnus</i>	Albacora branca e albacora azul
	<i>Katsuwonus pelamis</i>	Bonito-listrado
	<i>Acanthocybium solandri</i>	Cavala
	<i>Pristis pectinata</i>	Serra

Fonte: LIRA, 2019

A formação de histamina em peixes está correlacionada com a manutenção de peixes escombrídeos em temperaturas inadequadas (geralmente acima dos 4,4 °C) (FENG; TEUBER; GERSHWIM, 2016). Em atum fresco não é encontrada histamina, no entanto, se não existir manuseamento adequado desde o momento de captura no mar, a histamina tenderá a formar-se e a acumular-se (ADAMS et al., 2018).

A intoxicação por histamina é a principal causa de doença relacionada ao pescado em todo mundo (YU et al., 2018). Na Europa em 2017, foi o terceiro agente mais comum identificado em surtos alimentares. Nos EUA, representa 5% das intoxicações alimentares. Portanto, a histamina é uma toxina bastante relevante para a segurança alimentar (TORTORELLA et al., 2014; EFSA; ECDC, 2018).

O maior surto já registrado por histamina, envolveu 2.656 pessoas e foi registrado no Japão em 1973 (TAYLOR; STRATTON; NORDLEE, 1989). Feng et al. (2016) diz que entre 2009 a 2012, apenas nos Estados Unidos foram reportados mais de 40 surtos de intoxicação por histamina, que envolveu ao menos 136 pessoas com uma hospitalização. A Califórnia,

Havaí e Nova Iorque foram os estados com maior número de surtos. A seguir, os países que mais registraram casos de intoxicação pelo consumo de peixes foram o Japão e o Reino Unido.

No Brasil, os casos da doença ainda são pouco relatados devido à não associação dos sintomas à intoxicação por histamina ou os sintomas serem relativamente brandos. Dessa forma, as pessoas acometidas não procuram atendimento médico e os casos não são devidamente registrados. Os relatos têm sido feitos apenas quando um grande número de pessoas é acometido (TAKEMOTO et al., 2019).

Evangelista (2010) relatou três surtos de intoxicação por escombrideos na região nordeste do Brasil, ocorridos entre janeiro de 2007 e dezembro de 2009. Um total de 25 pessoas foi atingido, e, em todos os casos, os peixes envolvidos eram atuns. Outro surto foi registrado em 2013, acometendo alunos de uma escola do Município de São Paulo; 18 dos 77 alunos que consumiram merenda escolar que continha salada com atum ralado com óleo comestível apresentaram edema de face e vermelhidão pelo corpo. Foram analisados uma embalagem original fechada da conserva utilizada, o atum preparado (atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal temperado) e fragmentos do que foi distribuído na merenda escolar. Na embalagem fechada não foi detectada histamina, entretanto, no atum preparado e nos fragmentos de atum da salada servida, os teores foram de 1076,5 e 1534,7 mg/kg, respectivamente (TAKEMOTO et al., 2014). A Tabela 2 mostra os surtos alimentares por histamina ocorrida pela ingestão de pescado em diversos países.

**Tabela 2:** Surtos de origem alimentar comprovados causados pela ingestão de histamina.

<b>País</b>	<b>Ano</b>	<b>Pescado</b>	<b>Referência</b>
Australia	1988-2010	----	FENG et al., 2016
EUA	2009-2012	----	FENG et al., 2016
Senegal	2010	Atum	DEMONCHEAUX et al., 2012
Brasil	2010	Atum	EVANGELISTA, 2010
Brasil	2013	Atum em conserva	TAKEMOTO et al., 2014
Espanha	2014	Atum embalado à vacuo	EC, 2015
Itália	2014	Posta de atum refrigerado	EC, 2015
Espanha	2015	Filé de atum	EC, 2016
Inglaterra	1992–2004	----	FENG et al., 2016
China	2016	Siri cozido	YU et al., 2018
Coréia	2016	Isca de seriola	KANG et al., 2018

**Fonte:** Autora

É necessário atentar ao fato da histamina ter a característica de ser termoestável, e por isso, não é inativada pelos tratamentos térmicos utilizados no processamento e preparação dos alimentos. Atualmente, apenas as estratégias de prevenção e monitoramento permitem o

controle da formação de histamina nos alimentos durante a cadeia produtiva (ALVAREZ; MORENO-ARRIBAS, 2014).

O risco de intoxicação por histamina pode ser controlado pela aplicação de BPF's (Boas Práticas de Fabricação) e higiene básica associada a um sistema apropriado de ponto crítico de controle de risco. Todas as operações de processamento e beneficiamento do peixe devem ser realizadas de forma higiênica a bordo dos navios e nos entrepostos de pescado para garantir a qualidade do alimento (VISCIANO et al., 2014).

#### **4.3 BVT**

A qualidade do pescado está relacionada com sua composição intrínseca, fatores extrínsecos, nível de deterioração e características sensoriais (MOURA et al., 2018). Dentre as mudanças químicas que ocorrem no pescado após a sua morte, a mudança nos níveis de bases voláteis é uma delas. O valor de BVT expressa o conteúdo de bases voláteis de baixo peso molecular e de aminas oriundas da descarboxilação microbiana dos aminoácidos (ORDOÑEZ, 2005). O grau de conservação do pescado pode ser indicado pelo teor de bases voláteis totais (BVT), cujo valor é diretamente proporcional à deterioração do produto (NUNES; PEDRO, 2011).

Após a captura o pescado sofre uma série de alterações físicas, químicas, bioquímicas e microbiológicas (CICERO et al., 2014), em que as mudanças nas propriedades físicas e químicas dos músculos são decorrentes da degradação de ATP (Trifosfato de Adenosina), produção de compostos voláteis e outras substâncias (GASPAR; SILVA, 2009). Resumidamente, a deterioração do pescado ocorre por ação enzimática (degradação autolítica) e microbiana de diversas origens, que resultam na produção de metabólitos que em sua maioria são compostos nitrogenados. Os mais frequentes são a trimetilamina, a dimetilamina, amônia e ácidos voláteis, que aumentam em função da deterioração do produto (HOWGATE, 2010; SHI et al., 2012; ZHANG et al., 2019).

Dentre os fatores intrínsecos de qualidade, podemos enfatizar o seu elevado teor de nutrientes que são propícios para o desenvolvimento de microrganismos e sua atividade metabólica; o pH próximo à neutralidade; a alta atividade de água nos tecidos musculares; o elevado teor de lipídeos insaturados que podem ser convenientes a oxidação e a rápida ação degradante das enzimas existentes nos tecidos e vísceras do pescado. Quanto aos fatores extrínsecos, a captura e abate, a falta de boas práticas e o manejo adequado nas etapas de produção, a qualidade da água do habitat do animal e da água utilizada durante o processamento, períodos prolongados entre o abate e consumo e oscilações significativas de

temperaturas até o pescado chegar à mesa do consumidor são as principais condições relacionadas à qualidade e inocuidade desse alimento (REZENDE-DE-SOUZA et al., 2020).

Existem alguns fatores que precisam ser levados em consideração no momento de analisar os teores de BVT de uma amostra, visto que estes podem influenciar diretamente na produção desses compostos. Características inerentes à espécie, incluindo sua anatomia; sazonalidade da época de captura; temperaturas e formas de processamento, armazenamento e comercialização; práticas higiênicas na manipulação e processamento; além das diferenças existentes entre os métodos analíticos escolhidos são exemplos desses fatores (MOURA et al., 2009; REZENDE-DE-SOUZA et al, 2020). Em relação ao tipo de músculo, o escuro expressa maiores teores de BVT em relação ao branco devido a maior presença de hemoproteínas (como hemoglobina e a mioglobina) no músculo escuro (OGAWA; MAIA, 1999; CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

O limite máximo tolerável e que coincide com alterações sensoriais acentuadas é de 30 a 35 mg BVT/100g. No caso de pescado gordo, como arenque (*Clupea harengus*) e cavala (*Scomber scombrus*), propuseram-se taxas inferiores (20 mg BVT/100 g), assim como para ostras (17 mg BVT/100 g) (ORDOÑEZ, 2005). Algumas espécies, como o cação (*Carcharhinus plumbeus*), a raia (*Raja clavata*), o siri (*Callinectes sapidus*) e a lula (*Loligo vulgaris*) podem apresentar valores elevados de BVT sem estarem, necessariamente, em estado de decomposição (NUNES; PEDRO, 2011; ORDOÑEZ, 2005).

O valor de BVT adotado como limite para comércio de pescado é bastante discutido. Oficialmente, a legislação brasileira indica parâmetros específicos para comercialização de pescado fresco e apto para o consumo, através de limites pré-determinados para as análises de pH e Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BVT). Os parâmetros de frescor do pescado são regulamentados pelo Decreto nº 10.468/2020, o qual determina que o limite das BVT é de 30 mg de N.100 g<sup>-1</sup> para todas as espécies de pescado comercializadas como frescas (BRASIL, 2020).

A análise de BVT, é de fácil realização, mas, só revela os estágios mais avançados da decomposição do pescado, não revelando o início de sua decomposição. Dessa forma, esse parâmetro deve ser utilizado com cautela, visto que amostras com valores de acordo com os limites preconizados pela legislação podem apresentar-se com claros sinais de deterioração a nível sensorial e microbiológico. Portanto, esse índice nunca deve ser utilizado de forma única e isolada (REZENDE-DE-SOUZA, 2019).

#### 4.4 Contaminação de peixes por parasitos

Na natureza e em cultivos, os peixes coexistem com parasitos em equilíbrio. Porém, distúrbios e alterações ambientais como queda dos teores de oxigênio dissolvido, aumento de gás carbônico (CO<sub>2</sub>), amônia (NH<sub>3</sub>) e nitrito (NO<sub>2</sub>), altas estocagens e níveis de arraçoamento, dentre outros fatores podem causar estresse, redução da resistência, ferimentos e facilitar o desenvolvimento parasitário (PAKDEENARONG et al., 2014; RIBAS et al., 2017).

Os parasitos são apontados como agentes responsáveis por significativos prejuízos econômicos na aquicultura. Entretanto os prejuízos podem ser ainda maiores na comercialização devido ao aspecto repugnante da presença de cistos macroscópicos ou mesmo do parasito na musculatura (SALGADO, 2010; MENEGUETTI; LARAY; CAMARGO, 2013; AQUINO et al., 2019).

Diversos estudos tem relatado contaminação no músculo (filé) de peixes por parasitos (DIAS, 2008; MELLO et al., 2014; FAESTE et al., 2014 e 2015; AQUINO et al., 2021) e nas vísceras (GONÇALVES; PINTO; DURETTE-DESSET, 2007; GRAÇA; MACHADO, 2007; MULLER; MADI; UETA, 2008; KHALIL; EL-SHAHAWY; ABDELKADER, 2014; SILVA; LIMA; FIGUEIREDO, 2017). Dasespécies de peixes mais reportados por contaminação com parasito no Brasil estão, a pescada-branca (*Cynoscion leiarchus*), o congro-rosa (*Genypterus blacodes*), o bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*), o tucunaré (*Cichla ocellaris*), o robalo (*Dicentrarchus labrax*) e a tilápia (*Oreochromis niloticus*) (GONÇALVES et al., 2022; PAULI-YAMADA et al., 2019; ALVES, 2017; QUEIROZ, 2019, XAVIER, 2021; NEUMANN, 2017), sendo que os estágios de desenvolvimento do parasito mais detectados entre os peixes analisados, foi o larval e adulto. Em alguns casos, mais especificamente no salmão, foram detectados ovos (MELLO et al., 2014).

A ictioparasitologia é a ciência que estuda os parasitos de peixes. Essa área vem crescendo ao longo das últimas décadas, motivada pelo aumento da poluição ambiental em mares/rios. Portanto, o parasitismo e as patologias resultantes têm se tornado uma das principais preocupações de criadores e profissionais da área (TAKEMOTO et al., 2004; BAO et al., 2019).

Embora existam muitas espécies de parasitos já conhecidas, grande parte ainda não foi registrada ou mesmo classificada, e, portanto, há muito a se pesquisar nessa área, principalmente no que diz respeito as espécies de peixes silvestres (DEARDORFF et al., 1989; PAVANELLI; TAKEMOTO; EIRAS, 2013; NHS, 2018). Na realidade, o estudo sobre parasitos de peixes marinhos é considerado um campo de conhecimento relativamente novo e crescente em diversos países (CAVALCANTI et al., 2012 e 2013; LIMA et al., 2013; CARVALHO et al., 2015).

Os parasitos são organismos que vivem associados a outros (chamados de hospedeiros), portanto, essa relação determina sua sobrevivência (PAVANELLI et al., 2003). Estão presentes em quase todos os ecossistemas e em todos os níveis tróficos, sendo que os peixes estão entre os vertebrados mais susceptíveis ao parasitismo. Isso se deve principalmente, ao ambiente aquático, suas características e componentes (HOSHINO, 2013). As condições do ambiente além de influenciarem a qualidade de vida dos hospedeiros, influenciam na composição da fauna de parasitos, bem como nos seus níveis de parasitismo (PAVANELLI et al., 2001; RIBAS et al., 2017).

Da mesma forma, o tamanho do corpo dos hospedeiros tem sido relatado como tendo relação com a diversidade e abundância de parasitos. Quando os hospedeiros possuem corpo de tamanho maior, esses precisam se alimentar mais e têm vida longa, viabilizando o desenvolvimento completo do parasito e dessa forma são proporcionados habitats mais estáveis para seus parasitos, enquanto que hospedeiros com tamanho do corpo menor, se alimentam menos e têm vida mais curta (LUQUE et al., 2013).

#### **4.5 Classes de parasitos em peixes**

Dos diversos grupos de parasitos que apresentam importância na produção e comercialização de peixes, os principais são os dos grupos dos nematódeos, trematódeos e cestódeos. Eles são apontados como agentes responsáveis por significativos prejuízos econômicos em peixes de vida livre (marinhos ou estuarinos) e cultivados (piscicultura) (KIM et al., 2016).

Entre as características dos parasitos de peixes, estão sua morfologia nas diferentes fases de desenvolvimento, sua variação entre os gêneros bem como as enfermidades causadas em humanos por sua ingestão.

##### **4.5.1 Nematóides**

Os nematódeos têm sido vastamente relatados na literatura (REZENDE, 2008; SAAD; VIEIRA; LUQUE, 2012; RODRIGUES, 2010; DOS SANTOS, 2010; FAESTE et al., 2014; FAESTE et al., 2015; BUCHMANN; MEHRDANA, 2016; HERMIDA et al., 2018). São parasitos de formato cilíndrico, alongados e de vida livre. Ocorrem em ambientes aquáticos (doce e marinhos) e no solo (ACOSTA et al., 2016).

O ciclo de vida desse parasito marinho ocorre em regiões mais frias dos oceanos, envolvendo dois hospedeiros intermediários e a possibilidade de um grande número de hospedeiros definitivos. Já o verme adulto parasita o estômago e intestino delgado de mamíferos marinhos e seus ovos são eliminados junto com as fezes do hospedeiro definitivo.

Esses ovos se desenvolvem na água formando as larvas, as quais são ingeridas pelo primeiro hospedeiro intermediário. Muitas espécies de peixes (bacalhau, atum, arenque e salmão) participam do ciclo evolutivo como segundo hospedeiro intermediário. Estes hospedeiros, ao se alimentarem de crustáceos contaminados adquirem as larvas (no terceiro estágio) que migram através da parede intestinal para sua cavidade corpórea ou para a musculatura dos peixes (YOSHINAGA; WAKABAYASHI, 1989; PEREIRA, 2000).

Efeitos em humanos - estes nematódeos, principalmente as espécies *Anisakis simplex* e *Pseudoterranova decipiens* são de grande importância em saúde pública, pois causam a anisaquíase após a ingestão acidental de pescado cru, malcozido, defumado ou salgado contendo a larva infectante (ADAMS, MURREL, CROSS, 1997; ACHA, SZYFRES, 2003). O ser humano é hospedeiro acidental de larvas que não completam seu desenvolvimento, podendo penetrar no trato digestivo e invadir os órgãos anexos provocando uma série de efeitos patológicos (CHAI; DARWIN MURREL; LYMBERG, 2005).

#### 4.5.2 Trematódeos

Os trematódeos são organismos muito abundantes, conhecidos desde a antiguidade, geralmente visíveis a olho nu, que parasitam todos os grupos de vertebrados (TOLEDO; FRIED, 2014). Apresentam corpo achatado, no entanto algumas espécies apresentam formato cilíndrico, esférico ou piriforme. O corpo possui ventosa oral e ventral para fins de fixação e o tegumento (superfície externa) pode ser espinhoso (ACOSTA et al., 2016; RUPPERT, 2005). Entre os trematódeos estão vários parasitos importantes na medicina, causadores de doenças em humanos, agrupados na infra classe Digenea (BUSH et al., 2001; ACOSTA et al., 2016; TOLEDO; FRIED, 2014).

Tem como hospedeiro intermediário cerca de 20 espécies de caramujos aquáticos do gênero *Lymnaea* ou *Galba*, sendo *L. columella* e *L. viatrix* as principais espécies hospedeiras encontradas no Brasil. As pessoas se contaminam quando formas larvais do parasito (cercárias), oriundas de caramujos de água doce, penetram a pele durante contato com águas infestadas. No organismo humano as larvas se desenvolvem até a fase adulta. Os parasitos adultos vivem em vasos sanguíneos, onde as fêmeas realizam a postura de seus ovos. Parte destes ovos são eliminados do organismo juntamente com as fezes ou urina do hospedeiro humano, para dar continuidade ao ciclo de vida do parasito. Outros, permanecem nos vários tecidos do organismo, causando reação imune e danos progressivos a este (ACOSTA et al., 2016).

Há registros de parasitismo pelas espécies pertencentes à subordem Digenea em

humanos. Essas são as principais responsáveis, entretanto, essas infecções são raras, ocasionais, e de baixa patogenicidade - exceto em casos de elevada infestação (EIRAS, 1994). As espécies *Diplostomum pathaceum*, *Clinostomum complanatum* e *Phagicola longa* são as mais importantes sob o ponto de vista de saúde pública, sendo a última responsável por elevados percentuais de infecção em tainhas (família *Mugilidae*) e paratis (*Mugil curema*) sendo registrados 11 casos humanos de infecção por esse trematódeo no Brasil (BARROS et al., 2004). As metacercárias de *Clinostomum complanatum* são comumente encontradas encistadas na musculatura de peixes teleósteos. Quando em pequena quantidade passam despercebidas e muitas vezes não são descartadas pelo consumidor ou condenadas pelos órgãos de fiscalização. Uma vez consumido cru, o pescado infectado pode causar laringofaringe e até a morte por asfixia, já as larvas são capazes de infectar a cavidade oral de seres humanos (EIRAS, 1994; CHAN-WOONG et al., 2009).

#### 4.5.3 Cestoides

Parasitam o intestino de vertebrados quando adultos, e exibem duas características morfológicas marcantes: o corpo alongado em forma de fita e ausência de canal alimentar (YAMAGUTI, 1934). O tamanho pode variar de alguns milímetros até vários metros (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008). São animais exclusivamente parasitas, hermafroditas e sem aparelho digestivo (GAJADHAR, 2015).

Os helmintos da Classe Cestoda caracterizam-se por serem endoparasitos de ciclo evolutivo complexo, envolvendo quase sempre mais de dois hospedeiros, representados pelos crustáceos como hospedeiros intermediários e peixes, aves e mamíferos, como possíveis hospedeiros definitivos. As larvas comumente se encistam nas vísceras e mesentério e os adultos habitam o lúmen intestinal ou cecos pilóricos (EIRAS, 1994; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008).

Sob o ponto de vista de saúde pública, a difilobotriose é a zoonose causada por cestoides mais importante, principalmente em países ou regiões onde existe o hábito de comer peixes crus (BARROS; LIM; KLESIUS, 2002), pois o parasito *Diphyllobothrium* sp. tem o homem como um dos seus hospedeiros definitivos. Muitas vezes a pessoa infectada não apresenta sintomas. Alguns sinais importantes são: dores na parte superior da barriga, diarreia, perda de peso inexplicável, fraqueza, fadiga, respiração curta, anemia. Já sob o ponto de vista higiênico-sanitário, os cestoides da ordem *Trypanorhyncha* merecem destaque. Essa ordem é composta por uma grande diversidade de famílias, todas parasitas de peixes e invertebrados marinhos



(TOLEDO; FRIED, 2014). O parasitismo na musculatura dos peixes os torna impróprios para o consumo, sendo condenados pelos órgãos de fiscalização (BRASIL, 2017), e rejeitados pelo consumidor.

Infecções por tênia adulta são diagnosticadas pela identificação de ovos ou segmentos de proglote prene nas fezes. A doença larval é mais bem identificada por meio de estudos de imagem, como tomografia computadorizada ou ressonância magnética de cérebro, e, para algumas espécies, por testes sorológicos (GAJADHAR, 2015).

#### 4.6 Anisakiase

São poucas as pesquisas em relação a estas parasitoses transmitidas por pescados em humanos no Brasil, o que necessita uma maior atenção dos profissionais de saúde quanto à identificação da sintomatologia clínica, dos profissionais da indústria de alimentos da matéria-prima e do processamento do pescado. Dentre as zoonoses parasitárias comumente associadas ao consumo de peixes *in natura* estão a difilobotríase e a anisakiase, também chamadas de antropozoonoses, ou seja, doenças de animais que são transmitidas ao homem (NEVES, 2006; ROSSI et al., 2014).

A anisakiase é a infecção emergente resultante da ingestão de pescado contaminado com larvas *Anisakis* spp. (MATTIUCCI et al., 2007; SANTOS et al., 2017). A doença ainda é considerada subestimada pois, como não existe a obrigatoriedade de declaração, pode ser subnotificada (FIORENZA et al., 2020). Além disso, existe o fato dos sintomas da anisakiase se confundirem com outros problemas de saúde, o que pode levar ao subdiagnóstico (AQUINO et al., 2019; GUIMARÃES et al., 2018).

Nos últimos anos, houve um aumento significativo na prevalência da infecção por anisakiídeos em todo o mundo, o que pode ser resultado de uma internacionalização da culinária baseada no consumo de peixes crus ou malcozidos (CALDEIRA et al., 2021; FIORENZA et al., 2020).

A doença apresenta duas características distintas: 1) efeito local do parasito no trato digestivo; e 2) alergia, devido à hipersensibilidade imediata da imunoglobulina E (AUDICANA; KENNEDY, 2008; MATTIUCCI et al., 2013). Casos esporádicos da doença podem ser fatais, na falta de intervenção médica apropriada (AUDICANA; KENNEDY, 2008). Como não existe área marítima de pesca de peixes selvagens considerada livre da presença de *Anisakis* spp., não é viável a obtenção de produtos do mar sem riscos à saúde dos consumidores, principalmente se esses produtos forem consumidos crus ou quase crus.

Portanto, os consumidores devem adotar medidas de controle. O aumento de casos também

pode ser resultado da aplicação mais difundida de técnicas de diagnóstico, como a endoscopia (AUDICANA; KENNEDY, 2008; SANTOS; RANGEL; CALDEIRA, 2020).

#### **4.6.1 Anisakiase gástrica / intestinal**

Nos seres humanos a doença pode se manifestar de várias formas. A forma gastrintestinal aguda pode ocorrer em poucas horas e/ou demorar até sete dias após o consumo do pescado infectado (forma de manifestação tardia) (JUNIOR et al., 2013; SOUZA et al., 2016).

Não tem sintomas específicos se sua permanência for intraluminal (dentro do intestino), e, na maioria dos casos, os pacientes expõem o verme por tosse, vômito, ou os eliminam junto às fezes. Caso haja perfuração da mucosa do trato gastrintestinal, pode causar a sensação de formigamento no esôfago, quadros de diarreia com sangue, vômitos, náuseas, cólicas, distensão abdominal, febre baixa e hemorragia digestiva alta. Nesses casos, podem acontecer diagnósticos equivocados por apresentarem sintomatologias semelhantes com gastrites, gastroenterites por vírus ou bacterianas, obstrução intestinal, apendicite aguda, má digestão, úlcera gástrica, peritonite e até doença de Crohn. Em casos de dor intensa, é necessária cirurgia para remover o nematóide (TIARA, 2011; JUNIOR et al, 2013, SOUZA et al, 2016).

Embora estejam descritos casos de parasitismo massivo, mais de 90% dos casos de anisakiase são causados por uma única larva (SOHN; CHAI, 2011).

#### **4.6.2 Anisakiase alérgica**

O primeiro relato de alergia a *Anisakis simplex* foi registrado no Japão, em um estudo que avaliou se a urticária causada por peixes do mar poderia ser uma resposta alérgica a um antígeno das larvas de *Anisakis* e não ao próprio peixe (KASUYA; HAMANO; IZUMI, 1990).

A forma alérgica da anisakiase é causada pelos antígenos dos parasitos, que podem causar quadros clínicos que variam de urticária simples a angioedema, eosinofilia, granuloma eosinofílico, podendo chegar ao choque anafilático (DASCHNER; CUELLAR; RODERO, 2012; FERNÁNDEZ-DELGADO et al., 2015). Podem acontecer ainda reações anafiláticas sistêmicas, cutâneas, gástricas ou respiratórias, com prurido, conjuntivite, asma alérgica, vômitos e fortes dores abdominais. O choque anafilático pode ser causado pela simples presença do parasito (vivo ou morto), sem que haja, necessariamente, a ingestão do mesmo (OLIVEIRA, 2018).

Até o momento, 17 alérgenos *Anisakis* spp. são considerados. O mais correlacionado com a alergia ao *Anisakis* spp. é o Alergênio Recombinante de *Anisakis* (Ani s1), que é uma

proteína excretada/secretada pelo parasito com ação inibidora de tripsina pancreática que se liga ao IgE do paciente (TIARA, 2011). A maioria destes alérgenos foram detectados nos produtos excretos / secretórios dos parasitas. Vários deles são resistentes ao calor e / ou à pepsina; outros, apresentam características termoestáveis. Alérgenos resistentes ao calor e à pepsina de *Anisakis* spp. foram detectados em produtos congelados, cozidos e enlatados (BAO et al., 2019). A presença desses compostos também já foi detectada em produtos da pesca, mesmo que o parasito esteja morto ou não presente fisicamente no produto (FASTE et al., 2015).

#### **4.7 *Anisakis***

É frequente encontrar larvas de anisacídeos em espécies de peixes destinados ao consumo humano (FONTENELLE et al., 2015; SANTOS; ALVES, 2016). A prevalência e o grau de parasitismo são variáveis e dependem de diferentes fatores como: as características tanto da espécie quanto individuais de cada exemplar do peixe pesquisado, a época do ano, a zona geográfica, a presença de mamíferos marinhos que atuam como hospedeiros definitivos e de hospedeiros intermediários, entre outros (ALARCOS et al., 2016).

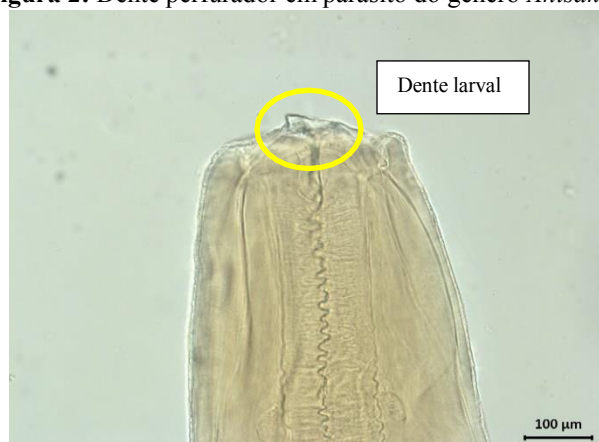
Atualmente se tem conhecimento de 4 ramos principais de espécies do gênero *Anisakis* que são baseados nas diferenças genéticas e morfológicas (Tabela 3) (MATTIUCCI et al., 2018). Além das diferenças morfológicas visíveis no estado larvar e adulto, foram efetuados estudos filogenéticos cruzando biomarcadores aloenzimáticos e sequências mitocondriais do gene *cox-2* que apresentaram coerência entre si e concordância com as diferenças morfológicas, com a localização geográfica e evolução das diferentes espécies hospedeiras (MATTIUCCI et al., 2014).

**Tabela 3:** Resumo dos 4 tipos de *Anisakis* spp.

	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
Diferenças morfológicas	Espículas compridas e finas e desiguais. Ventrículos mais compridos do que largos.	Espículas longas e finas, mas iguais ou muito semelhantes. Ventrículos longos, mas sem forma sigmoide.	Espículas largas e iguais. Ventrículos mais curtos e largos do que compridos.	Ventrículo longo e as espículas do macho são longas, delgadas e de diferente dimensão, onde uma é 3 vezes maior do que a outra.
Espécies	<i>A. pegreffi</i> , <i>A. simplex</i> , <i>A. berlandi</i>	<i>A. nascetti</i> ; <i>A. ziphidarum</i>	<i>A. physeteris</i> <i>A. brevispiculata</i> <i>A. paggiae</i>	<i>A. typica</i>

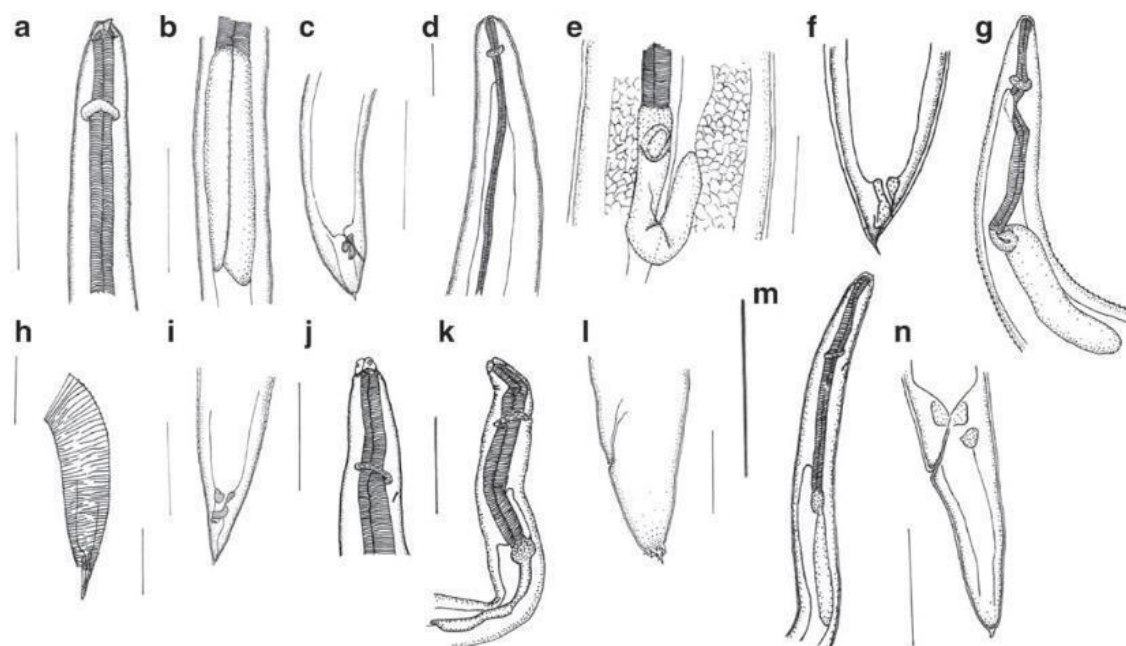
Fonte: Adaptado de MATTIUCCI et al. (2018)

De modo geral, na questão morfológica, o gênero *Anisakis* spp apresenta como características principais: corpo alongado; zona anterior com 3 lábios pouco desenvolvidos, um dorsal e dois ventro-laterais; ainda anteriormente existe um dente perfurador, e por baixo dele, do lado ventral, localiza-se a abertura do poro excretor, na base dos lábios ventro-laterais; tubo digestivo completo, constituído por um esófago muscular anterior, seguido de um ventrículo glandular curto sem divertículo, e um intestino simples também sem divertículo; posteriormente existe uma cauda cônica, que pode ter ou não um mucron (BERLAND, 1961). A Figura 2 ilustra o dente larval, que caracteriza os parasitos do gênero *Anisakis*, enquanto a Figura 3 representa as chaves de identificação para os diferentes grupos de espécie registrados.

**Figura 2:** Dente perfurador em parasito do gênero *Anisakis* spp.

Fonte: Autora

**Figura 3:** Diferentes características morfológicas de anisaquídeos.



Fonte: SHAMSI et al., 2010.

a-c: Larva de *Anisakis* tipo I, a) dente larval, poro de excreção e anel nervoso; b) ventrículo; c) extremidade posterior mostrando glândulas anais e mucron;  
d-f: *Contracaecum* larval tipo I, d) extremidade anterior mostrando dente chato, nervo anel e ceco intestinal; e) ventrículo com apêndice ventricular; f) extremidade posterior;  
g-i: *Contracaecum* tipo larval II, g) parte anterior mostrando anel nervoso, ceco intestinal e órgão ventricular; h) parte posterior, estrutura da superfície; i) extremidade posterior mostrando glândulas anais;  
j-l: *Hysterothylacium* larval tipo IV, j) extremidade anterior mostrando lábios, anel nervoso, ceco intestinal e órgão ventricular; k) extremidade anterior mostrando lábios, interlábios, anel nervoso e poro de excreção; l) extremidade posterior;  
m-n: *Hysterothylacium* larval, m e n) parte anterior mostrando anel nervoso, poro de excreção, ceco intestinal e órgão ventricular; o extremidade posterior mostrando glândulas anais

A identificação morfológica de larvas de *Anisakis* spp. ao nível das espécies é complexa, especialmente no estágio larval do parasito (MATTIUCCI et al., 2017). Desse modo, as características estruturais, de importância taxonômica, são aplicáveis apenas ao estado adulto, que apresenta mais características distinguíveis entre as espécies. Para a determinação de espécies de *Anisakis* spp. no estágio larval, técnicas moleculares passaram a ser utilizadas (MATTIUCCI et al., 2018).

O método se baseia principalmente na forma e no comprimento do ventrículo. Nos antigos caracteres morfológicos, a presença de um dente perfurador anterior, e a distância relativa do dente perfurador ao poro excretor, também são usados para distinguir as diferentes espécies de *Anisakis* spp. (BERLAND, 1961; MATTIUCCI et al., 2018). Em relação às larvas existem atualmente 4 morfotipos distintos. Estes morfotipos distinguem-se, fundamentalmente, pela forma do ventrículo, e pela forma e dimensão da cauda, e pela presença/ausência de mucron no extremo da cauda (MATTIUCCI et al., 2018).

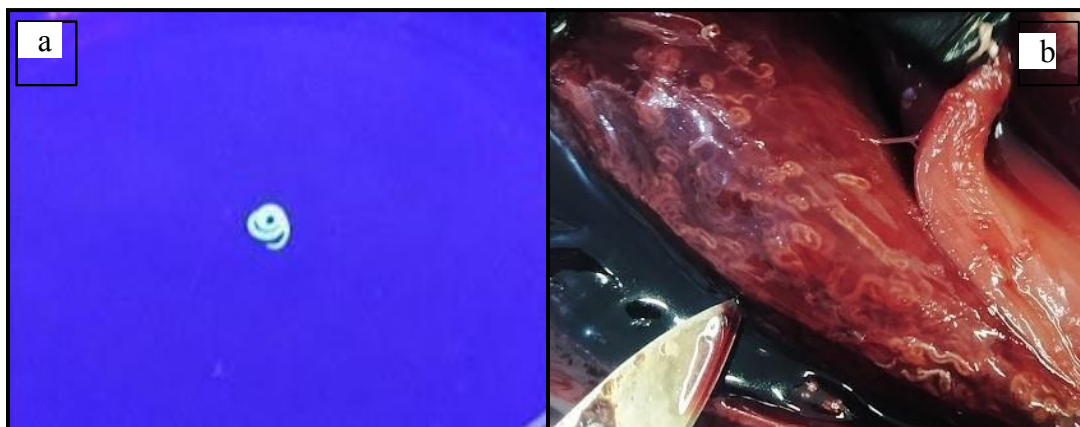
#### 4.8 Ciclo de vida

O ciclo evolutivo destes nematódeos é composto por ovo, quatro estágios larvais (L1, L2, L3 e L4) e a fase adulta e inicia-se com a postura de ovos pelas fêmeas, que são eliminados para o ambiente juntamente com fezes dos hospedeiros definitivos. Tem alta capacidade de entrar em diapausa, ou seja, viver com as mínimas condições alimentares, em ambientes com circunstâncias adversas como mudanças bruscas de temperatura e umidade, para que possa aguardar as condições ideais para continuarem o ciclo (RITZINGER; FANCELLI; RITZINGER, 2010).

O desenvolvimento da larva nas fases L1 e L2 ocorre na água. Crustáceos e plânctons ao se alimentarem destas larvas se tornam hospedeiros intermediários, sendo neles que o estágio larval avança para fase L3 (fase infectante). O peixe ao alimentar-se de crustáceos infectados, também alberga a larva infectante, que pode se alojar no seu fígado, cavidade abdominal ou musculatura. O parasito fica encistado na forma L3 até que possa completar seu ciclo no hospedeiro definitivo pela ingestão de peixes e cefalópodes (no caso dos golfinhos, focas, leões marinhos e morsas) ou diretamente através dos crustáceos que se alimentam de zooplâncton. Assim, ocorre o fechamento do ciclo evolutivo destes seres com o desenvolvimento dos estágios adultos e sexualmente maduros no trato gastrointestinal dos hospedeiros definitivos. Os humanos participam do ciclo ao ingerir peixes e cefalópodes infectados com as larvas L3 (CHAI; DARWIN MURRELL; LYMBERG, 2005; RITZINGER; FANCELLI; RITZINGER, 2010; TIARA, 2011; SOUZA et al., 2016; MATTIUCCI et al., 2018).

No peixe, o parasito se aloja no intestino, fígado ou coração, causando baixo peso, atrofias, diminuição da taxa reprodutiva e da capacidade natatória, facilitando assim a predação (OKUMURA; PEREZ; SPINDOLA, 1999; BUCHMANN; MEHRDANA, 2016). A presença destas larvas na musculatura pode ocorrer após a morte do animal ou durante o processo de congelamento, devido o processo de migração para sobrevivência, permanecendo por tempo indeterminado (TIARA, 2011; ALVES; SANTOS, 2016), afetando a sobrevivência do animal de acordo com a carga parasitária (BUCHMANN; MEHRDANA, 2016). As larvas podem permanecer vivas por diversos anos na musculatura dos peixes, ficando enroladas em espirais para melhor proteção (Figura 4) (KONOFF et al., 2004; BUCHMANN; MEHRDANA, 2016).

**Figura 4:** Visualização de larvas espiraladas de *Anisakis* spp. em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) sob luz ultravioletas (a) e parasitando o estômago (b).



Fonte: Autora

#### 4.9 Formas de infecção

A transmissão de *Anisakis* spp. para os seres humanos relaciona-se ao consumo de peixe ou cefalópodes contaminados com larvas viáveis L3. Desta forma o ser humano infecta-se ao comer estes peixes crus, malcozidos, salgados ou defumados. Após a ingestão, as larvas penetram na mucosa gástrica e intestinal, causando os sintomas da anisiquiase (AIBINU; SMOOKER; LOPATA, 2019; BAO et al., 2019).

Os humanos são hospedeiros acidentais, isto é, não são parte do ciclo de vida natural de *Anisakis* e assim, o parasito eventualmente morre dentro do sistema digestivo humano, uma vez que não encontra meios para continuar o seu desenvolvimento e terminar o seu ciclo de vida (AUDICANA; KENNEDY, 2008).

#### 4.10 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico e tratamento da anisiquiase baseia-se no histórico de ingestão de peixes contendo larvas de *Anisakis* no terceiro estágio, chamado L3 (BUCHMANN et al., 2016).

Os sinais clínicos serão dependentes do local da fixação da larva (LÓPEZ-SERRANO et al., 2000). Sintomas como urticária e reação anafilática podem ocorrer mesmo quando há o consumo do peixe cozido, devido a intensa resposta inflamatória causada pela presença do parasito, com liberação de diversas proteínas antigênicas (IVANOVIĆ et al., 2017).

Para os sintomas de anafilaxia, o tratamento é emergencial e sintomático. Em geral, é realizado o tratamento com anti-helmínticos. Se houver desconforto gastrointestinal, é indicado a realização de teste PCR, imunofluorescência e exames de imagem (endoscopia e colonoscopia). Nesse caso, além de visualizar a larva faz-se sua retirada junto a fragmentos de tecido para análise histopatológica. Em casos mais avançados como a obstrução intestinal e

abdome agudo, indica-se a remoção cirúrgica da larva (JUNIOR et al., 2013; SOUZA et al., 2016). Na maioria dos casos, os pacientes expõem o verme por tosse ou vômito. Em algumas situações, os doentes tomam antiparasitário (ACHA; SZYFRES, 2003; AQUINO et al., 2019; GUIMARÃES et al., 2018).

Para casos alérgicos, o diagnóstico é baseado em um histórico médico mostrando reações alérgicas dentro de 24 h após o consumo de peixe. A alergia é confirmada através de teste cutâneo positivo e / ou detecção de IgE específica contra *Anisakis* spp. (BAO et al., 2019; DASCHNER; CUELLAR; RODERO, 2012; BAIRD et al., 2014).

A reação alérgica ao *Anisakis* pode ocorrer também pela manipulação e inalação de peixes infestados, assim se torna também uma doença ocupacional (BAIRD et al., 2014). Há registros de conjuntivite, asma alérgica, broncoespasmos e dermatite causados pela manipulação de peixes com este parasito (SCALA et al., 2001).

A monitorização das populações das espécies de pescado mais prováveis de estarem contaminadas podem representar um excelente controle na proliferação de *Anisakis* spp. (CUNHA, 2017). Contudo, existem medidas profiláticas que possibilitam a eliminação das larvas *Anisakis* spp. em peixes contaminados, como a evisceração imediata após captura e a inspeção visual para detecção de parasitas visíveis (ORDÓÑEZ, 2005).

#### **4.11 Bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*)**

O bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) Linnaeus, 1758 – família Scombridae, é uma espécie migratória distribuída de águas tropicais para águas temperadas em todo o mundo, principalmente entre 15 e 30 °C, estando ausente apenas no Mediterrâneo oriental e no Mar Negro (AOKI et al., 2017). Tem corpo fusiforme, com ausência de bexiga natatória, forma arredondada e alongada, com aspecto robusto e sem presença de escamas (Figura 5). O comprimento máximo registrado é de 108 cm, com 32,5 a 34,5 kg de peso vivo, mas a maioria dos exemplares capturados mede menos de 80 cm e pesa entre 8 e 10 kg. A coloração é escura na zona dorsal e prateada nos flancos inferiores e barriga, apresentando 4 a 6 bandas longitudinais negras ou cinzento-escuras ao longo de cada flanco (COLLETTE; NAUEN, 1983). É também conhecido pelos nomes comuns de bonito, bonito-listrado, gaiado ou atum-gaiado. É uma espécie de peixe comercialmente importante para alimentação e comércio em todo o mundo, onde sua captura corresponde a aproximadamente 1,4 milhão de toneladas por ano (YEN et al., 2017).



**Figura 5:** Bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*).



**Fonte:** Autora

Essa espécie tem ampla distribuição e ocorre em águas tropicais e subtropicais de todos os oceanos. Existe um domínio de técnicas de pesca eficientes para a sua captura, que em conjunto com a abundância relativamente elevada e a grande aceitação no mercado, torna o bonito-listrado um dos principais recursos pesqueiros mundiais (ANDRADE, 2008).

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de atum na pesca com vara e linha com isca viva (pesca de salto e vara), tendo como principal alvo o bonito-lisrado (Figura 6). A frota pesqueira brasileira inclui 40 navios em operação nas proximidades do Rio de Janeiro, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, que são os Estados onde estão localizadas as maiores fábricas de conservas e exportadoras de atum do país. As capturas estão estáveis em cerca de 25.000 toneladas/ano, e são feitas ao longo da borda da plataforma continental no Sudeste/Sul do Brasil, entre o Rio de Janeiro e a fronteira com o Uruguai (MADUREIRA et al., 2016).

**Figura 6:** Captura do bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) com vara e linha (salto e vara).

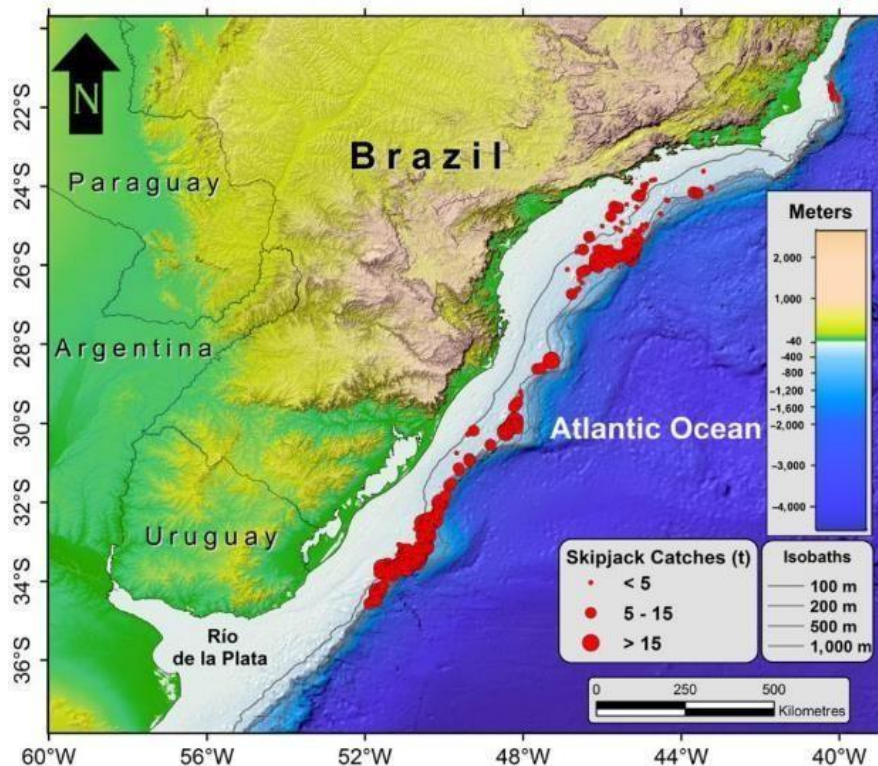


**Fonte:** MADUREIRA et al. (2016)

O aumento da intensidade da pesca geralmente ocorre entre novembro e março, período durante o qual grande parte da frota pesqueira opera ao sul do Brasil até a fronteira com o

Uruguai. A Figura 7 mostra as áreas onde o bonito-listrado é capturado (em vermelho) (MADUREIRA et al., 2018).

**Figura 7:** Zonas de captura do bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) na costa brasileira.



Fonte: MADUREIRA et al. (2018)

O bonito-listrado é de grande importância comercial no país, pois é muito utilizada na indústria de conservas de peixe (JUSTO et al., 2013). A alimentação dessa espécie inclui peixes, crustáceos e moluscos, e é comum que haja canibalismo (COLETTE; NAUEN 1983). O conhecimento desse fator biológico pode ajudar a esclarecer quais parasitos - sejam eles hospedeiros ou acidentais, podem ser encontrados no bonito-listrado. Quanto a essa questão, a presença de parasitos na carne de atum é considerada grave por duas questões: em primeiro lugar, temos os parasitos com importância zoonótica, que podem causar problemas a saúde humana caso sejam consumidos acidentalmente; segundo, temos a questão comercial, pois a presença de parasitos no pescado diminui a comercialização do produto gerando assim perdas econômicas (DIAS; SÃO CLEMENTE; KNOFF, 2010).

Considerando sua importância para a pesca em todo o mundo, estudos sobre os parasitos do bonito-listrado ainda são pouco relatados. Porém, os trabalhos realizados são de fundamental importância para identificação da fauna parasitária e o sítio de infecção nessa espécie de pescado. Na Tabela 4 estão descritos alguns dos parasitos já encontrados no bonito-listrado, sítio de infecção e a origem do pescado relatados na literatura.

**Tabela 4:** Parasitos detectados em *Katsuwonus pelamis*, sítio de infecção e origem do peixe relatados na literatura.

Parasitos	Sítio de infecção	Origem	Autor
<b>Monogenea</b>			
<i>Capsala katsuwoni</i>	Brânquias	Portugal	HERMIDA et al., 2018
<i>Gotocotyla acanthura</i>	Brânquias	Brasil	SILVA; LIMA; FIGUEIREDO, 2017
<i>Allopseudaxinoides euthynni</i>	Brânquias	Brasil	FREIRE et al., 2016.
<i>Allopseudaxine macrova</i>	Brânquias	Mediterrâneo	MELE et al., 2012
<b>Digenea</b>			
<i>Pozdnyakovia gibsoni</i>	Estômago	Brasil	JUSTO et al., 2015
<i>Didymocylindrus simplex</i>	Brânquias		JUSTO et al., 2013
<b>Trematódeos</b>			
<i>Didymocylindrus filiformis</i>	Brânquias	Portugal, Mediterrâneo	HERMIDA et al., 2018; MELE et al., 2012
<i>Didymocylindrus fusiformis</i>	Brânquias	Portugal	HERMIDA et al., 2018
<i>Lobatozoum multisacculatum</i>			
<i>Didymocystis kamegaii</i>	Intestino	Portugal, Mediterrâneo	HERMIDA et al., 2018; MELE et al., 2012
<i>Allodidymocodium sp.</i>			
<i>Didymocystis reniformis</i>	Estômago, brânquias	Portugal, Mediterrâneo	HERMIDA et al., 2018; MELE et al., 2012
<i>Didymocystis sp.</i>	Estômago, intestino		
<i>Neodiplostrema pelamydis</i>	Pseudobrânquias	Portugal	HERMIDA et al., 2018
<i>Nematobothrium scombri</i>	Estômago		
<i>Oesophagocystis dissimilis</i>			
<i>Oesophagocystis lydiae</i>			
<i>Atalostrophion cf. biovarium</i>	Brânquias	Mediterrâneo	MELE et al., 2012
<i>Diplostrema pelamydis</i>			
<i>Hirudinella ventricosa</i>	Estômago	Brasil	KOHN; SANTOS; COHEN, 2003
<b>Cestoda</b>			
<i>Tentacularia coryphaenae</i>	Cavidade visceral	Portugal	HERMIDA et al., 2018
<i>Trypanorhyncha</i>		Irã	SATTARI et al., 2014
<i>Trypanorhyncha</i>	Músculo	Brasil	AQUINO et al., 2021
<i>Tentacularia sp.</i>			FREIRE et al., 2016
<i>Pseudophyllidea</i>			Iran
<i>Trypanorhyncha</i>			
<b>Nematódeos</b>			
<i>Anisakis sp. (larvas)</i>	Cavidade visceral, vísceras	Portugal, Brasil, Indonésia	HERMIDA et al., 2018; SOEWARLAN et al., 2014; ANSHARY et al., 2014; EIRAS et al., 2016
<i>Anisakis sp. larva tipos I e II</i>	N.E.*	N.E.*	EIRAS et al., 2016
<i>Ctenascarophis lesteri</i>	Estômago	Portugal	HERMIDA et al., 2018
<i>Philometra katsuwoni</i>	Gônoda	Brasil	CÁRDENAS; MORAVEC; KOHN, 2009
<i>Ctenascarophis lesteri n. sp.</i>	Vísceras	Austrália	CRITES;
<i>Prospinitectus exiguus n. sp.</i>			OVERSTREET; MAUNG, 1993
<i>Anisakis sp. (larvas)</i>	Fígado	Brasil	AQUINO et al., 2021

<b>Acanthocephala</b>			
<i>Rhadinorhynchus sp.</i>	Intestino, estômago	Portugal, Brasil	HERMIDA et al., 2018; FREIRE et al., 2016; SANTOS et al., 2008
<i>Raorhynchus sp.</i> <i>Rhadinorhynchidae gen. sp.</i>	Intestino	Portugal	HERMIDA et al., 2018
<i>Rhadinorhynchus ornatus</i>	Intestino	América do Sul	AMIM et al., 2009

\*N.E. – Não especificado

Como pode ser observado, a maioria dos sítios infectados com parasitos no bonito-listrado são as brânquias ou fazem parte do sistema gastrointestinal. Esse fato evidencia a importância da evisceração ser realizada o mais rápido possível, evitando assim que os parasitos migrem para o tecido muscular do peixe (KNOFF et al., 2007; MAGALHÃES et al., 2012).

#### **4.12 Alimentos passíveis de contaminação por parasitos**

Diversos alimentos contendo peixe são elaborados em diferentes regiões do mundo e são consumidos em condições de preparo que podem favorecer a contaminação com parasitos. Seja ele (a) *in natura* / marinado (ácidos cítrico/acético, sumos de limão/laranja, shoyu) ou (b) processado - defumado (compostos da fumaça), salgado (salmoura) desidratado (com ou sem sal) em conserva (vinagre, óleo ou misturas - molhos), bem como fermentado (ácido láctico), acondicionado tanto em vidro quanto enlatado. A Tabela 5 apresenta detalhes desses pratos incluindo algumas características regionais de ingredientes agregados.

**Tabela 1:** Tipos e origem de culinária a base de peixe (*in natura* e processado) na dieta de vários países.

Prato/Produto		Preparo				
Nome	Origem	Processamento	Tipo	Ácido	°C	Ingredientes
<b><i>In natura – crú/marinado</i></b>						
Domburi		NA**		NA	NA	Arroz
Sashimi***	Japão	NA	Cru	NA	NA	NA
Sushi***		NA		NA	NA	Arroz/alga
Tirashi***		NA		NA	NA	Arroz
Suutarinlohi		Escandinávia		NA	Vinagre	NA
Cibichi***	Peru/Chile/C olômbia	NA		Limão	NA	Cebola/pimenta/ cheiro verde
Carpaccio***	Italia	NA		Limão	NA	Azeite/mostarda/ molho inglês
KoiPla	Laos/Thailan dia	NA		Limão	NA	Ervas/formigas/ vermelhas
Lomi-lomi	Havaí	NA	Marinado	Limão	NA	Cebola/tomate/ azeite/açúcar/sal
Poisson cru	Polinesia francesa	NA		Laranja	NA	Cebola/tomate/leite de coco/sal
Poke***	Havaí	NA		Limão/l aranja	NA	Arroz/alga/frutas/ shoyu/sal
Tartar***	Alemanha/U SA	NA		Limão	NA	Cebola/cebolinha/ sal
<b><i>Processado – produto</i></b>						
Atum***	EU/USA/AL/ Oriente*	Enlatado	Esteriliza ção	Alta pressão	118	Óleo/ água/ sal
Sardinha	EU/USA/AL/ Oriente*	(Cocção)		Alta pressão	118	Óleo / molho de tomate / sal
Rollmops	Alemanha/Ho landa	Conserva	Fermenta ção	Acético	NA	Açúcar/cebola/pim enta/mostarda
Surstronning	Suécia	(Vidro)		Lático	NA	Sal
Anchova	Chile/Peru	NA	Salga	NA	NA	Sal / azeite
Sardinha	Brasil	NA		NA	NA	Sal
Arenque	Inglaterra	Desidrata ção	Defuma ção	Fumaça	60 a 80	Sal
Haddock	Escócia	Secagem		Fumaça	60 a 80	Sal / manteiga
Bacalhau	Portugal			Sol/estu fa	25 a 35	Sal
Cambira	Brasil	Desidrata ção	Salga	Sol	25 a 35	Sal
Kusaya	Japão			Sol	25 a 35	Sal

\* Europa/Estados Unidos, América Latina/países do oriente (não foi possível determinar o país de origem); \*\*não aplicável; \*\*\* Pratos que tem como ingrediente o bonito-listrado

#### 4.13 Efeitos do processamento na destruição de parasitos

O preparo de pratos que utilizam peixes crus e/ou pouco processados, bem como o processamento de produtos comerciais pode interferir ou não na contaminação por parasitos.

(a) Preparo:

(a.1) cru – envolve tanto a limpeza do peixe, previamente ao seu preparo e a filetagem, quanto os ingredientes que são adicionados para obter o prato final. Um procedimento redutor de perigo de contaminação quanto a parasitos é a remoção das vísceras do peixe, seguido da observação física de sua carne no processo de filetagem, através do uso de luz incidente (que permite a localização dos nódulos encistados) (FDA, 2001).

(a.2) marinado – nesses peixes, a adição de ácido (acético) e/ou uso de sumos de frutas (ricas em ácido cítrico) também tem papel importante na desnaturação de proteína (incluindo enzimas do próprio parasito).

(a.3) outros – utilização de molhos (mistura de diferentes ingredientes) como o shoyu (molho de soja fermentado – rico em ácido láctico e sal) levam também o parasito a sofrer dos mesmos efeitos citados acima sobre as proteínas e outros componentes do peixe e parasitos (em suas diferentes fases de crescimento) quando presentes infectando o alimento cru (LJUBOJEVIC et al., 2015; NORDIC, 2018).

(b) Processamento: em relação aos processos aplicados em produtos comerciais, tem sido relatados na literatura diversos tipos que envolvem temperatura (cocção/esterilização), alteração do pH, redução da umidade (desidratação), adição de conservantes naturais - sal (salga) e compostos da fumaça (defumação), através dos quais levam a redução de contaminação por organismos vivos, incluindo parasitos, pela alteração das condições de seus meios de sobrevivência (BAILEY; BURGESS, 2000).

(b.1) tratamentos térmicos: esses processos podem ser realizados pelo método a frio (congelamento) e/ou calor (cocção). São capazes de eliminar a atividade de parasitas (forma larval e/ou adulta). Vários estudos demonstram que, tanto larvas de parasitos quanto seus ovos são sensíveis a tratamentos térmicos (independente se frio ou calor), desde que se respeitem os tempos de exposição, bem como as temperaturas eficientes a serem selecionadas e aplicadas. Congelamento – a exposição do peixe a temperaturas de congelamento *versus* o tempo de exposição é relatada como eficiente (MAGALHÃES et al., 2012). O congelamento do pescado, por tempo e temperatura suficientes, promove a morte das larvas de *Anisakis* spp., sendo, portanto, um procedimento importante para a prevenção da infecção humana. Porém, fatores como a temperatura do congelador, peso dos peixes e tempo de exposição, influenciam o alcance da temperatura ideal nos pescados armazenados (FDA, 2001; WHARTON; ALDERS,

2002). Diversos países adotam o congelamento como forma de controle da anisakiase. Nos Estados Unidos, a Agência de Controle Norte-Americana para os Medicamentos e Alimentos recomenda o congelamento à temperatura de 20 °C negativos por sete dias ou à 35 °C negativos por 15 h, para a destruição de larvas de nematóides (FDA, 2001). Já, a Comunidade Econômica Europeia, recomenda que todo peixe destinado ao consumo *in natura* ou parcialmente cozido, seja previamente congelado à uma temperatura igual ou inferior a 20 °C negativos por, no mínimo, 24 h (CEE, 2002).

Aquecimento – assim como a aplicação do frio, a utilização do calor é outra medida que assegura a destruição de larvas de parasitos. Como temperatura e tempo ideais, recomenda-se que a temperatura interna do peixe atinja 60 °C ou mais, por um período mínimo de 10 min (FDA, 2001; PRADO; CAPUANO, 2006). Nos produtos enlatados (peixes em conserva em óleo / água, molhos), a aplicação de calor envolve temperaturas de esterilização, ou seja, acima de 100 °C, o que o torna seguro quanto a presença de parasito viável (independente do estágio de vida) no produto final (FDA, 2001; MAGALHÃES et al., 2012).

(b.2) secagem, salga e defumação: além de processos de aquecimento de produtos comerciais aplicando altas temperaturas citados acima, outras medidas de controle que envolvem temperaturas mais brandas tais como a desidratação (secagem) e defumação também podem ser utilizadas. A conservação através da salga, reduz o perigo dos parasitos, porém não o elimina (OLIVEIRA et al., 2012). Larvas de nematódeos são capazes de sobreviver em salgas a 21 % em sal (cloreto de sódio). Contudo, a utilização de altas concentrações de sal pode ser capaz de inativar larvas. Em um estudo desenvolvido por São Clemente e colaboradores (1996), os autores relataram que 72 h em salmoura é o tempo necessário para morte das larvas de parasitos. Também a utilização de salmouras com elevadas concentrações de ácido acético pode assegurar a morte das larvas (SÁNCHEZ-MONSALVEZ et al., 2005). Já a desidratação e defumação podem ser eficientes na inativação de parasitos, porém com ressalvas (DEDEH, 2003). Para a defumação à frio, onde a temperatura no interior da massa muscular não supera os 40 °C, ainda há a possibilidade de sobrevivência de larvas de parasitos e, portanto, esta só deve ser utilizada em pescado previamente congelado a 20 °C negativos por mais de 24 h (CEE, 2002).

(b.3) Fermentação e pH ácido: dentre os produtos comerciais de pescado e tipos de processos de conservação aplicados, temos também as conservas, normalmente acondicionadas em frascos de vidro (SINGH; PATHAK; VERMA, 2012). Por exemplo os *rollmops* que são conservas de peixe fermentados e/ou em meio com pH ácido (vinagre) que mantém os parasitos (em seus diferentes estágios de desenvolvimento) inativos, já que o pH baixo/ácido

desnatura/inativa proteínas do peixe assim como enzimas dos possíveis parasitos presentes no produto (ADAMS; MURREL; CROSS, 1997; SINGH; PATHAK; VERMA, 2012). É importante observar o tempo que esse produto ficou em processo de fermentação e/ou exposto a pH baixo para confirmar sua eficiência na inativação dos parasitos.

#### **4.14 Legislação**

##### **4.14.1 Nacional**

O Brasil teve avanços significativos no que tange ao controle e legislação de produtos aquáticos. Até o ano de 2002, as normas eram estabelecidas pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 1952) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. A partir de 1º de janeiro do ano de 2003, com a criação do Ministério de Pesca e Aquicultura, este órgão se tornou responsável pela formulação das políticas e diretrizes para o desenvolvimento e o fomento da produção aquícola e pesqueira do país. Foram então criadas Instruções Normativas como a IN n.4, de 4/02 de 2015 (BRASIL, 2015), que Institui o Programa Nacional de Sanidade de Animais Aquáticos de Cultivo - “Aquicultura com Sanidade” e a IN n.20, de 22/12 de 2014 (BRASIL, 2014), que Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Embarcações Pesqueiras e Infraestruturas de Desembarque de Pescado - Embarque Nessa. Este Ministério foi extinto e incorporado ao MAPA na reforma ministerial de 2015. Durante o período de sua existência foram criadas normas específicas para o estado brasileiro, além de uma intensificação na fiscalização de embarcações pesqueiras e nos estabelecimentos que processam e comercializam o pescado. O novo RIISPOA - Decreto nº 9.013, de 29/03 de 2017 (BRASIL, 2017) entrou em vigência no ano de 2017, e é a que está em vigor até o momento. O artigo 212 cita que nos estabelecimentos de pescado é obrigatória a verificação visual de lesões atribuídas a doenças ou infecções, bem como a presença de parasitos. O artigo 216 informa que os produtos da pesca e da aquicultura infectados com endoparasitas transmissíveis ao homem não podem ser destinados ao consumo cru sem que sejam submetidos previamente ao congelamento à temperatura de 20 °C negativos por 24 h ou a 35 °C negativos durante 15 h. Parágrafo único. Podem ser utilizados processos diferentes dos propostos, desde que se atinja ao final as mesmas garantias, com embasamento técnico-científico e aprovação do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal.

##### **4.14.2 Internacional**



Existem diversas legislações internacionais que versam sobre a existência de parasitas em pescados. O *Codex Alimentarius*, na Norma CODEX STAN 190 adotada em 1995 e revisada em 2011, 2013, 2014 (CODEX, 1995) determina que para filés de peixe congelado a presença de dois ou mais parasitas por kg de unidade amostral com um diâmetro capsular superior a 3 mm ou um parasita não encapsulado e superior a 10 mm de comprimento caracteriza a peça como defeituosa. O FDA (2001) diz que congelar e armazenar a temperatura até 20 °C negativos por 7 dias ou congelar a temperatura até -35 °C até o estado sólido e armazenar até 35 °C negativos por 15 h ou congelar a uma temperatura de até -35 °C até o estado sólido e armazenar até 20 °C negativos por 24 h são suficientes para matar os parasitas.

#### **4.15 Estratégias de controle**

Uma das maiores dificuldades que a indústria de processamento de pescados vem enfrentando é a prevenção e o controle da contaminação desses organismos. A inspeção visual realizada como determina a legislação brasileira é de grande valia quando essa questão é levantada. Porém, em determinados estádios de maturação dos parasitos não é possível a identificação a olho nu, podendo, em alguns casos, existir apenas traços de proteínas desses seres, que também podem causar zoonoses em humanos. Dessa forma, se faz necessária uma forma de detecção rápida para que se possa prevenir a matéria prima utilizada na produção de diferentes alimentos a partir de pescados.

O ozônio (O<sub>3</sub>) tem sido utilizado na indústria de processamento de alimentos na forma de ozônio gasoso ou água ozonizada. Ambos tem sido utilizados como bactericida em uma vasta gama de produtos alimentares, incluindo peixes, carne, aves, ovos, frutas e vegetais crus, frutos e sumos de frutos, bem como o saneamento de superfícies de contato com o produto (VAZ-VELHO et al., 2006; CHAWLA; BELL; MARLENE, 2007; GONÇALVES; KECHINSKI, 2011; MCDONOUGH et al., 2011; GIORDANO et al., 2012; SAVI et al., 2014; BEBER-RODRIGUES et al., 2015; SILVA, 2015; KREIBICH et al., 2016; LUIZ et al., 2017; SCUSSEL et al., 2018).

No Brasil, não há uma legislação específica para o seu uso em alimentos e sua aplicação com essa finalidade ainda é limitada, apesar de a ozonização estar entre as mais recentes tecnologias sanitizantes que não geram resíduos e ser uma técnica segura e microbicida. O O<sub>3</sub> é o segundo mais poderoso agente oxidante perdendo apenas para o flúor (LAPOLLI et al., 2003; RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999). Deste modo, o alto poder de oxidação do O<sub>3</sub> lhe imprime elevada capacidade de desinfecção e esterilização permitindo que a ação sanitizante ocorra em menor tempo de contato e concentração (SILVA et al., 2011).

A ozonização já está sendo utilizada na indústria de pescado, e tem sido promissora, apesar de ser de forma predominantemente experimental e pouco documentada. Tem sido eficaz contra microrganismos como bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, bolores, leveduras, vírus, protozoários, inclusive formas esporuladas e cistos de protozoários, que são mais resistentes (SILVA et al., 2011; CHRIST; SAVI; SCUSSEL, 2016).

Outros métodos – a utilização de irradiação e extratos de plantas são métodos brandos possíveis de serem utilizados, contudo ainda não reconhecidos pelo governo brasileiro (CHRIST; SAVI; SCUSSEL, 2016).

### **CAPÍTULO 3**

#### **CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA EM BONITO LISTRADO (*Katsuwonus pelamis*)**

#### **SENSORY CHARACTERISTICS AND PHYSICOCHEMICAL QUALITY IN FISH – SKIPJACK TUNA (*Katsuwonus pelamis*)**

#### **RESUMO**

A deterioração do pescado é o resultado de uma associação de eventos bioquímicos, físico-químicos e de processos microbiológicos, característicos de cada espécie, que limitam o seu aproveitamento, comercialização e consumo. O atum é particularmente suscetível à formação de histamina, uma vez que contém grandes quantidades de histidina livre em seu tecido muscular. Alguns parâmetros físico-químicos, como bases voláteis totais - BVT, pH e a atividade de água (Aw) além de refletirem na qualidade do pescado também são indicadores de deterioração. Este estudo avaliou as características sensoriais através do Método de Índice de Qualidade - MIQ (frescor, superfície do corpo, olhos, brânquias, abdômen e odor) e a qualidade físico-química (histamina, bases voláteis totais - BVT, pH, e atividade de água - Aw) em 20 amostras de bonito listrado (*Katsuwonus pelamis*). Todos os peixes analisados apresentaram características de frescor como aparência, mucosidade, características dos olhos, opérculos, brânquias, abdômen, músculos e odor satisfatórios. Não foi detectada a presença de histamina, enquanto os valores obtidos para BVT variaram entre 13,66 e 22,45 mg N/100 g. Os parâmetros de pH e Aw apresentaram valores médios de 6,02 e 0,949, respectivamente. Concluiu-se que as amostras estavam dentro do preconizado pela legislação brasileira, estando aptas para o processamento e consumo.

**PALAVRAS-CHAVE:** atum; controle de qualidade; frescor

## **ABSTRACT**

The deterioration of fish is the result of the combination of biochemical, physical-chemical events and microbiological processes, characteristic of each specie, which limit could limit commercialization and consumption. Tuna is particularly susceptible to histamine formation, as it contains large amounts of free histidine in muscle tissue. Some physical-chemical parameters, such as total volatile bases - BVT, pH and water activity (Aw), affect the quality of the fish and are indicators of the intensity of possible deterioration. This study evaluated the sensory characteristics through the Quality Index Method - MIQ (freshness, body surface, eyes, gills, abdomen and odor) and the physical-chemical quality (histamine, total volatile bases - BVT, pH, and water activity - Aw) of 20 specimens of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). All the analyzed fish presented characteristics of freshness such as appearance, mucosity, characteristics of the eyes, operculum, gills, abdomen, muscles and satisfactory odor. The presence of histamine was not detected, while the values obtained for BVT varied between 13.66 and 22.45 mg N/100 g. The average obtained for the pH and Aw parameters were 6.02 and 0.949, respectively. The results showed that all the samples were within what is recommended by Brazilian legislation, thus suitable for processing and consumption.

**KEYWORDS:** tuna; quality control; freshness.

## **1. INTRODUÇÃO**

Atender à exigência da população por alimentos saudáveis e de elevada qualidade sempre foi um dos grandes desafios da indústria. O desenvolvimento, adaptação e aplicação de técnicas de conservação de pescado que promovem a manutenção da qualidade vêm sendo adotadas para condições locais de acordo com o país de captura e da modalidade de pesca (BARBOSA, 2017).

A composição nutricional do pescado é reconhecida mundialmente por sua alta qualidade, sendo considerado benéfico a saúde dos consumidores. Tem alto valor nutricional graças à presença de proteínas, minerais e ácidos graxos poliinsaturados essenciais (GUÉRIN et al, 2011; STORELLI et al, 2013).

O peixe é uma matriz de alto valor nutricional. É consumido tanto em sua forma *in natura* quanto processado, através de produtos como patês, enlatados e conservas diversas fazendo com que a sua produção e consumo aumentem nos últimos anos. Assim,

é essencial que haja progressos na avaliação de frescor, de forma que otimize a avaliação da qualidade, melhorando a segurança do consumidor e reduzindo perdas econômicas. São necessárias metodologias rápidas, não-destrutivas e objetivas para analisar a qualidade nesta matriz (BERNARDO, 2020).

Atualmente, o *Codex Alimentarius*, programa internacional que objetiva estabelecer normas na área de alimentos (como padrões, diretrizes e guias) estabelece a utilização de análises sensoriais por avaliadores treinados como um dos métodos de avaliação de frescor para peixes (FAO/WHO, 2017). O Método de Índice de Qualidade (MIQ) é uma ferramenta aplicada para indicar frescor através de avaliação sensorial feita por um grupo de avaliadores treinados. Entretanto, seu uso é limitado pelo protocolo, tamanho da amostragem, especificidades das espécies, condições de armazenamento e experiência dos avaliadores, tornando esse método subjetivo (BERNARDO, 2020).

O MIQ é baseado na avaliação visual e olfativa de certos atributos do peixe, principalmente a aparência dos olhos, pele e brânquias, juntamente com o odor e textura. É utilizado um sistema de classificação por pontos de demérito, que varia de 0 a 3 (SVEINSDÓTTIR et al., 2003). A pontuação global é resultado da soma de todos os atributos, o chamado Índice de Qualidade (IQ). Quanto menor a pontuação, mais fresco o peixe (NUNES; BATISTA, 2004). Todos os atributos são avaliados em cada peixe seguindo a mesma ordem, além de que não é levado em consideração nenhum aspecto em particular e, portanto, a avaliação não é baseada em apenas num único atributo (MARTINSDÓTTIR et al., 2001).

A deterioração química do pescado ocorre em diferentes proporções dependendo da sua composição, que pode variar segundo fatores como: tempo, condições e local de capturado pescado, habitat, gênero, idade, espécie e indivíduo. Até em um mesmo indivíduo, a deterioração pode acontecer de forma heterogênea, devido a fatores intrínsecos da composição entre as distintas áreas do animal (GUÉRIN et al., 2011).

A histamina [4-(2aminoetil)imidazol] é uma diamina biogênica primária, heterocíclica, não volátil, termoestável – devido a esta última, presente no produto até mesmo após processo de esterilização comercial. Sua formação tem início a partir da descarboxilação da L-histidina, quando as condições de manuseio e estocagem do pescado são inadequadas, favorecendo o crescimento de bactérias que produzam a enzima histidina descarboxilase, e ainda, criando condições que favoreçam sua atividade (CARMO et al., 2010; SOUZA et al., 2015).

O perigo da histamina em pescado é intensificado pela sua característica de não

volatilidade – pois pode conferir toxicidade ao produto mesmo antes deste ser considerado deteriorado ou sensorialmente inaceitável (SOUZA et al., 2015), conforme os parâmetros químicos de qualidade como as Bases Voláteis Totais - BVT exigidas pelo RIISPOA – Regulamento de Inspeção sanitária e Industrial de Produtos de Origem Animal do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2017).

A determinação de BVT é um dos testes mais utilizados para determinar o grau de frescor dos peixes. As bases voláteis são produzidas por enzimas de origem bacteriana, e são responsáveis pela perda do frescor e aparecimento dos primeiros sinais de putrefação do pescado (BARBOSA, 2017). O limite máximo de aceitação no Brasil é de 30 mg N/100 g para pescado fresco, porém esse valor ainda é muito discutido pelos pesquisadores, por isso a necessidade de estudos em diferentes espécies (TEODORO, ANDRADE, MANO, 2007; BRASIL, 2017). A quantificação de BVT é um dos métodos mais utilizados para a determinação da qualidade do pescado, pois apresenta procedimento analítico simples, de baixo custo e independe de grande aparato de equipamentos (BAIXAS-NOGUERAS et al., 2003; HOWGATE, 2010).

Alguns parâmetros físico-químicos, como pH e  $A_w$  além de refletirem na textura do pescado, também medem a intensidade da deterioração. O pH da carne de peixes frescos é um parâmetro que fornece informações sobre o seu estado de conservação, uma vez que o processo de deterioração altera os níveis de pH devido à decomposição de aminoácidos (CHYTIRI et al., 2004; AKSE et al., 2008; ANDRÉS-BELLO et al., 2013).

O controle de qualidade da indústria de pescado preconiza que as análises realizadas estejam descritas pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 2017), como pH e BVT, e pela Instrução Normativa nº 60 (BRASIL, 2019), incluindo limites para histamina, *Estafilococos* coagulase positiva, *Escherichia coli*, e presença ou ausência de *Salmonella*. Além destas, diferentes metodologias sensoriais, físicas, químicas e microbiológicas têm sido empregadas ao longo da cadeia produtiva de pescado. Estas, em sua maioria, apresentam inúmeras limitações em diversos aspectos. Na Tabela 6 estão descritas as principais metodologias sensoriais, físicas, químicas, microbiológicas e de espectroscopia utilizadas pelo controle de qualidade da indústria de pescados para peixe fresco.

**Tabela 6:** Principais metodologias de monitoramento de frescor de pescado.

<b>Indicadores</b>	<b>Metodologia</b>
Sensorial	Método de Índice de Qualidade, Esquema da União Europeia e Esquema de Torry
Físico	Análises de textura e cor instrumentais
Químico	Histamina, Bases voláteis totais nitrogenadas – BVT, Oxidação lipídica e pH
Microbiológico	Bactérias ácido-láticas, bactérias produtoras de sulfeto de hidrogênio, contagem total de mesófilos e psicrotróficos, Enterobacteriaceae, <i>Pseudomonas</i> spp.
Espectroscopia	Espectrofotometria ultravioleta, Espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier, Ressonância Magnética Nuclear

**Fonte:** Adaptado de Freitas, Vaz-Pires e Câmara (2020).

O objetivo desse estudo foi avaliar as características de frescor e determinar os parâmetros de qualidade físico-química (histamina, BVT, pH e  $A_w$ ) em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostra

Foram utilizadas 20 unidades de bonito - listrado, doados por uma empresa de pescados localizada na cidade de Itajaí – SC. Os espécimes foram acondicionados em caixas isotérmicas com gelo, e transportadas aos laboratórios da UFSC.

### 2.2 Análises

Método de Índice de Qualidade – MIQ: As amostras foram avaliadas visualmente utilizando os parâmetros descritos na Tabela 7. Essas características são utilizadas para peixes azuis, grupo do qual fazem parte o atum, verdelho, arenque, sardinha, sarda, cavala e anchovas.

**Tabela 7:** Parâmetros e critérios para cotação de frescura de peixes azuis.

	<b>Critérios</b>			
	<b>Categoria de frescura</b>			
	<b>Extra</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>Não admitidos</b>
<b>Pele</b>	Pigmentação viva, cores vivas, brilhantes, irisados; diferença nítida entre superfície dorsal e ventral	Perda de brilho; cores mais baças; menos diferença entre superfície dorsal e ventral	Baça, sem brilho, cores deslavadas; pele plissada quando se dobra o peixe	Pigmentação muito baça; pele a destacar-se da carne

<b>Muco cutâneo</b>	Aquoso, transparente	Ligeiramente turvo	Leitoso	Cinzento amarelado, opaco
<b>Consistência da carne</b>	Muito firme, rígida	Bastante rígida, firme	Ligeiramente mole	Mole (flácida)
<b>Opérculos</b>	Prateados	Prateados, ligeiramente tingidos de vermelho ou de castanho	Escurecimento e extravasações sanguíneas extensas	Amarelados
<b>Olho</b>	Convexo, abaulado; pupila azul-preto vivo, “pálpebra” transparente	Convexo e ligeiramente encovado; pupila escura; córnea ligeiramente opalescente	Chato; pupila enevoadada; extravasações sanguíneas à volta do olho	Côncavo no centro; pupila cinzenta; córnea leitosa
<b>Brânquias</b>	Vermelho vivo a púrpura por todo o lado; sem muco	Cor menos viva, mais pálida nos bordos; muco transparente	Em descoloração; muco opaco	Amareladas; muco leitoso
<b>Cheiro das brânquias</b>	A algas marinhas frescas; picante; iodado	Ausência de cheiro a algas marinhas; cheiro neutro	Cheiro gordo, um pouco sulfuroso, a toucinho rançoso ou a fruta podre	Extremamente acre

Fonte: REGULAMENTO (CE) N. o 2406/96 DO CONSELHO (1996)

Na Tabela 8 estão relacionados os critérios, os descritores e os pontos de demérito utilizados para essa pesquisa. A pontuação vai de 0 a 16, sendo que, quando mais próximo de 0 mais fresca é a amostra. O somatório da pontuação dos atributos sensoriais permite uma estimativa da qualidade do pescado segundo o grau de frescor, que de acordo com a pontuação obtida, pode ser considerado ótimo (0 a 4 pontos), muito bom (5 a 8 pontos), regular (9 a 12 pontos) ou ruim (13 a 16 pontos). Serão consideradas próprias para consumo as amostras que apresentarem classificação ótimo e muito bom.

Os principais atributos avaliados estão descritos a seguir:

- Aspecto geral: relacionado à integridade e ao aspecto da pele, como brilho e cor.
- Firmeza da carne: avaliada pressionando com o dedo a parte dorsal do músculo.
- Olhos: relacionado à cor e o formato.
- Brânquias: levantando o opérculo, são avaliados o odor, cor e aspecto do muco.
- Abdômen: relacionado à firmeza da carne no interior.



**Tabela 2:** Esquema de Método de Índice de Qualidade - MIQ utilizado para avaliação de bonito-listrado (*Katsunus pelamis*).

<b>Crítérios</b>	<b>Descritores</b>	<b>Pontos de demérito</b>	
<b>Aspecto Geral</b>	Pigmentação	Brilhante	0
		Menos viva e brilhante	1
		Baça e ligeiramente amarelada	2
	Firmeza da pele	Muito firme, rígida	0
		Firme e elástica	1
		Ligeiramente mole	2
<b>Olhos</b>	Cor da pupila	Preta-azulada viva	0
		Preta enevoadada	1
		Cinzenta leitosa	2
	Forma	Convexa	0
		Achatada, plana	1
		Côncava, encovada	2
<b>Brânquias</b>	Cor	Vermelho púrpura	0
		Vermelho acastanhado	1
		Acastanhado	2
		Descorado	3
	Cheiro	Algas fresco	0
		Algas, pouco intenso	1
<b>Abdômen</b>	Parede abdominal	Ligeiramente azedo	2
		Azedo, rançoso	3
		Firme, intacta	0
		Pouco firme, mas ainda intacta	1
		Mole, enrugada, rupturada	2

Histamina: A análise de histamina foi realizada por cromatografia em camada delgada. Para isso pesou-se 1 g da amostra em tubo de ensaio, adicionando 2 mL de álcool

metílico em cada tubo e homogeneizando no agitador tipo vórtex. Os tubos foram colocados em banho maria até levantar fervura e, em seguida, centrifugados a 3.000 rpm durante 1 min. A seguir, foram pipetados 100 µL do sobrenadante de cada amostra e do líquido padrão de histamina (30, 50 e 100 ppm) e aplicados em placa para cromatografia. Ao final, era borrifada uma solução de ninidrina e aguardava-se secar até obter uma visualização das manchas dos padrões de aminas e das amostras (caso houvesse amostra positiva). Se a amostra apresentasse possibilidade de possuir mais de 100 mg/kg de histamina, era realizado o teste no “Biofish 300®1”, aparelho capaz de quantificar a histamina de forma precisa, para confirmação do resultado.

**BVT:** A análise de BVT foi realizada através do método de microdifusão em placas de Conway, que possui dois compartimentos. Pesou-se 10 gramas da amostra e misturou-se em um béquer com 10 mL de ácido tricloroacético a 10% que, em contato com o tecido, ajuda a extrair as bases voláteis. A seguir, a amostra foi triturada e filtrada em bomba de vácuo com o auxílio do papel filtro de Whatman nº 4 em um funil de Büchner acoplado em kitasato conectado à bomba. Foram transferidos 2 mL de ácido bórico para o compartimento interno e 2 mL da amostra no compartimento externo da placa de Conway, que foi vedada parcialmente com auxílio de lâmina de vidro e vaselina sólida. Por fim, eram adicionados 2 mL de carbonato de potássio no compartimento externo da placa e feita a vedação completa da mesma. A placa foi colocada em estufa a 37 °C por duas horas para que o carbonato de potássio acelerasse a volatilização das bases da amostra, que migram para o compartimento interno. Quando entram em contato com o ácido bórico, no compartimento interno, as bases voláteis tornam a solução alcalina e a cor muda para verde. A etapa final da análise consiste na titulação da solução do compartimento interno da placa com ácido clorídrico a 0,01 N até a cor verde passar ao azul. Para se determinar os níveis de BVT na amostra era utilizada a seguinte fórmula:

**Cálculo:**

$$\frac{(V - B) \times F \times 140}{m} = BVT \text{ mg}/100g$$

**Onde:**

V = volume de solução de HCl 0,1 M gasto na titulação (mL);

B = volume do branco (mL);

f = fator de correção da solução de HCl 0,1 M (ou 0,01 M, dependendo do método usado);

m = massa de amostra (g).

As análises descritas acima seguiram metodologias preconizadas pelo LANARA (2014).

pH: A metodologia para determinação de pH foi descrita pela AOAC (2002). Pesou-se 10 g da amostra em um béquer, diluídos com auxílio de 100 mL de água. O conteúdo foi agitado em agitador magnético até que a mistura ficasse com aspecto uniforme. O pH foi determinado com o aparelho previamente calibrado, introduzindo os eletrodos para leitura da amostra.

Aw: a medição de Aw foi realizada utilizando um aparelho medidor que fornece a leitura em temperatura próxima de 25 °C (18).

Análise Estatística: Os dados foram avaliados estatisticamente através de valores médios, desvio padrão, análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação das médias, utilizando o software Statistica 13. Todas as análises descritas acima foram realizadas em triplicata (n=3).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O máximo frescor, numa ampla definição, representa um estado ideal de conservação, no qual as propriedades da matéria-prima (de origem animal) encontram-se o mais próximo possível daquelas apresentadas antes do abate ou imediatamente após a captura/despesca (FREITAS; VAZ-PIRES; CÂMARA, 2020). Todos os peixes analisados apresentavam características de frescor como aparência, mucosidade, características dos olhos, opérculos, brânquias, abdômen, músculos e odor satisfatórios (Figura 8). Tinham aspecto limpo e brilhante, livres de contaminantes físicos (sujeiras ou insetos como mosca), a pele úmida e bem aderida ao músculo, olhos brilhantes e salientes, brânquias de coloração vermelho-intenso e apresentavam odor suave.

**Figura 8:** Bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) fresco.



**Fonte:** Autora

No MIQ não é dada maior importância a nenhum aspecto em particular e, portanto, a avaliação não é baseada em apenas um único atributo (MARTINSDÓTTIR et

al., 2001). Quanto menor a pontuação, mais fresco o peixe. Todos os atributos são avaliados em cada peixe seguindo a mesma ordem. As características mais afetadas foram a descoloração das brânquias, a firmeza do abdômen e a perda do brilho dos olhos. Entretanto, esses aspectos não são definitivos para se assegurar que o pescado esteja apto para consumo humano (AMARAL; FREITAS, 2013; BRASIL, 2017).

Dentre os indicadores sensoriais da qualidade o MIQ se destaca, pois é considerado preciso e não destrutivo quando comparado a outras metodologias sensoriais existentes, consideradas destrutivas e altamente específicas (FREITAS; VAZ-PIRES; CÂMARA, 2020). Apesar de ser um método sensorial prático e de baixo custo para determinação do frescor em pescados, o QIM apresenta algumas limitações que dificultam sua utilização como método oficial de avaliação da qualidade. Podemos citar como exemplo o tamanho da amostragem, a especificidade das espécies, as condições de estocagem e a demora do procedimento. Além disso, o esquema de treinamento dos avaliadores pode levar a análises sensoriais errôneas, devido a subjetividade dos sentidos humanos (BERNARDO, 2020). Desta forma, os resultados subjetivos podem ser contraditórios às análises bacteriológica e físico-químicas.

Embora o QIM seja uma ferramenta importante para prever o fim da validade comercial ou o tempo de rejeição, ele deve ser estimado com a ajuda e o apoio de outros métodos de avaliação, como as análises microbiológicas e físico-químicas (SANT'ANA; SOARES; VAZ-PIRES, et al., 2011).

Neste caso, o QIM é usado como ferramenta do controle de qualidade da indústria antes de processar o pescado. Como não é feito a estocagem desse alimento *in natura*, o QIM é aplicado uma única vez.

Os resultados das análises de MIQ, histamina, BVT, pH e Aw estão descritas na Tabela 9.

**Tabela 9:** Média e desvio padrão da análise sensorial MIQ e das análises físico-químicas de histamina, BVT, pH e Aw realizadas em amostras de bonito- listrado (*Katsuwonus pelamis*).

Amostra	MIQ	Classificação do frescor	Histamina	N-BVT±	pH	Aw
1	1	Ótimo	Ausência	17,62±0,24 <sup>c</sup>	6,02±0,06 <sup>a</sup>	0,923±0,014 <sup>a</sup>
2	0	Ótimo	Ausência	14,09±0,19 <sup>a</sup>	5,73±0,03 <sup>a</sup>	0,976±0,002 <sup>ab</sup>
3	0	Ótimo	Ausência	13,66±0,14 <sup>e</sup>	6,09±0,4 <sup>a</sup>	0,924±0,007 <sup>a</sup>
4	3	Ótimo	Ausência	18,29±0,27 <sup>b</sup>	5,93±0,03 <sup>bc</sup>	0,956±0,002 <sup>a</sup>
5	2	Ótimo	Ausência	16,05±0,04 <sup>b</sup>	5,99±0,05 <sup>a</sup>	0,943±0,019 <sup>ab</sup>
6	1	Ótimo	Ausência	15,36±0,05 <sup>c</sup>	5,97±0,03 <sup>c</sup>	0,954±0,005 <sup>a</sup>
7	5	Muito bom	Ausência	20,35±0,05 <sup>c</sup>	6,82±0,13 <sup>b</sup>	0,949±0,004 <sup>abc</sup>
8	3	Ótimo	Ausência	16,00±0,10 <sup>d</sup>	5,80±0,09 <sup>acb</sup>	0,964±0,004 <sup>ab</sup>
9	3	Ótimo	Ausência	19,53±0,02 <sup>a</sup>	5,99±0,08 <sup>a</sup>	0,979±0,009 <sup>c</sup>
10	0	Ótimo	Ausência	14,64±0,06 <sup>e</sup>	5,72±0,04 <sup>a</sup>	0,943±0,008 <sup>ab</sup>
11	4	Ótimo	Ausência	19,06±0,21 <sup>a</sup>	6,16±0,15 <sup>a</sup>	0,950±0,003 <sup>abc</sup>
12	0	Ótimo	Ausência	14,00±0,10 <sup>a</sup>	5,77±0,07 <sup>ab</sup>	0,960±0,001 <sup>a</sup>
13	3	Ótimo	Ausência	16,55±0,53 <sup>b</sup>	6,02±0,01 <sup>a</sup>	0,955±0,008 <sup>abc</sup>
14	3	Ótimo	Ausência	17,75±0,22 <sup>c</sup>	5,82±0,07 <sup>acb</sup>	0,957±0,003 <sup>a</sup>
15	2	Ótimo	Ausência	18,23±0,08 <sup>b</sup>	5,75±0,04 <sup>a</sup>	0,968±0,003 <sup>ab</sup>
16	5	Muito bom	Ausência	22,45±0,04 <sup>d</sup>	6,03±0,03 <sup>a</sup>	0,928±0,001 <sup>a</sup>
17	0	Ótimo	Ausência	14,00±0,03 <sup>a</sup>	5,79±0,09 <sup>ab</sup>	0,955±0,004 <sup>a</sup>
18	4	Ótimo	Ausência	20,34±0,02 <sup>c</sup>	6,03±0,08 <sup>a</sup>	0,945±0,011 <sup>ab</sup>
19	0	Ótimo	Ausência	13,95±0,07 <sup>a</sup>	5,68±0,03 <sup>a</sup>	0,964±0,014 <sup>ab</sup>
20	5	Muito bom	Ausência	21,86±0,12 <sup>d</sup>	6,07±0,02 <sup>a</sup>	0,967±0,003 <sup>bc</sup>

**Fonte:** Autora

Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).

As amostras analisadas apresentaram ausência de histamina; no Brasil o nível máximo permitido de histamina é de 100 ppm (partes por milhão) no tecido muscular (BRASIL, 2017). Mesmo com os limites impostos, há a necessidade de inspecionar toda sua cadeia produtiva de pescados, visto que ainda é possível detectar a presença da histamina durante seu processamento (SOUZA et al., 2015). Em pesquisa realizada por Aquino e colaboradores (2021) em bonito-listrado, houve ausência de histamina nas amostras analisadas. Silva et al. (2011) em seu artigo sobre a presença de histamina em atuns frescos e enlatados detectaram a presença de histamina em ambos os produtos. Takemoto et al. (2014), relataram um surto decorrente do consumo de atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal em conserva onde após análise das amostras do atum preparado e nos fragmentos de atum, os teores encontrados foram de 1.076,5 e 1.534,7 mg/kg, respectivamente. Esses teores estavam muito acima, cerca de 10 a 15 vezes, do

limite máximo estabelecido pela legislação brasileira, confirmando a intoxicação histamínica. Olivo (2013) analisou amostras de atum fresco recém-capturadas conservadas em salmoura e em gelo de embarcações, e adquiridas de empresas pesqueiras de Itajaí-SC. Nenhuma apresentou teor de histamina superior ao estabelecido pela legislação brasileira. Já Takemoto (2016) analisando 12 amostras de atum *in natura* adquiridas no comércio da cidade de São Paulo, SP encontrou duas com valores acima do permitido.

A análise de BVT é o método químico mais antigo utilizado como indicador da qualidade e frescor do pescado. É um método que permite determinar se o pescado está apto para consumo assim como quantificar o seu grau de alteração, pois detecta as aminas produzidas a partir da deterioração das proteínas de baixo peso molecular (CICERO et al., 2012).

Os valores de BVT variaram entre 13,66 e 22,45 mg N/100 g, com diferença estatística entre si. Considerando que as amostras não foram analisadas no dia em que foram capturadas e passaram pelo processo de congelamento antes dos testes, as variações observadas podem ter ocorrido em função do tempo de transporte dos peixes desde o momento da captura até a chegada no local de desembarque, método de captura e tempo de exposição dos peixes ao congelamento. Esses fatores, juntos ou individualmente, podem contribuir para o aumento da taxa de degradação dos compostos que levam a formação das BVT, bem como variações individuais dos próprios peixes (BAIXAS-NOGUERAS et al., 2003; HOWGATE, 2010). Essas variações podem ter sido influenciadas também por fatores biológicos como estação do ano e local de captura (HOWGATE, 2010). A legislação brasileira (BRASIL, 2017) admite um máximo de 30 mg de N/100 g de tecido muscular. Assim, as amostras estavam de acordo com o preconizado.

O pH em peixes vivos é em torno de 7. Porém este valor pode ser alterado quando ocorre a decomposição hidrolítica, oxidativa ou fermentativa da musculatura do peixe. Algumas horas após a morte do peixe acontece o *rigor mortis*, no qual ocorrem várias reações bioquímicas que utilizam o glicogênio muscular como fonte de energia e produzem ácido lático, resultando na redução do pH para valores em torno de 6,0 – 6,1 (SIMAT et al., 2012). O RIISPOA estabelece que o pH da carne seja inferior a 7 (GONÇALVES, 2011; BRASIL, 2017). Assim, as amostras analisadas se encontram dentro do limite permitido. Contudo, os valores variaram entre as amostras, e esta situação pode ter explicação em virtude de diversos fatores como: técnica de captura, padrão de

decomposição proteica, tipo e carga microbiana, e as condições de manipulação e armazenamento (CHAGAS et al., 2010; FARIAS; FREITAS, 2011). Kiwak e colaboradores (2018) encontraram valores de pH compreendidos entre 5,00 e 6,00 em atum-bonito. De acordo com o FDA (2012) o pH do atum está na faixa compreendida entre 5.2 e 6.1.

A Aw é um dos fatores mais importantes no crescimento bacteriano, uma vez que ambientes aquosos são propícios para o desenvolvimento de bactérias (GASPAR, 2009). Os peixes frescos são muito susceptíveis ao desenvolvimento de bactérias devido à alta Aw, enquanto que os peixes salgados e secos são mais propensos a deterioração por fungos (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). A tabela CVO/Food Safety Knowledge Centre (CVO, 2019) mostra que a Aw do peixe é de 0,950. Esse fator pode variar de acordo com a forma de conservação e espécie da matéria prima. Aquino et al. (2021) encontraram valores de atividade de água que variavam entre 0,954 e 0,976 em bonito-listrado. Valores semelhantes aos obtidos nessa pesquisa.

#### **4. CONCLUSÃO**

De maneira geral os peixes analisados sensorialmente através do MIQ estão aptos para o consumo humano, sendo este método uma maneira de análise rápida e eficiente, interessante também para o consumidor fazer sua própria avaliação.

As análises de BVT, histamina, pH e Aw estavam dentro dos limites permitidos pela legislação.

O conhecimento dos fatores (físico-químicos, microbiológicos e sensoriais) envolvidos na progressão da deterioração é fundamental para a segurança alimentar aos consumidores finais e para protocolos de beneficiamento e armazenamento ideal nas indústrias.

Os peixes analisados pelo método métodos utilizados nessa pesquisa estavam aptos para o consumo humano e/ou processamento.

## **CAPÍTULO 4**

### **CONTAMINAÇÃO PARASITÁRIA EM BONITO-LISTRADO (*Katsuwonus pelamis*) E SEU POTENCIAL IMPACTO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS E NA SAÚDE DO CONSUMIDOR**

#### **PARASITIC CONTAMINATION IN SKIPJACK TUNA (*Katsuwonus pelamis*) AND ITS POTENTIAL IMPACT ON THE FOOD INDUSTRY AND CONSUMER HEALTH**

#### **RESUMO**

O bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) é um recurso pesqueiro de alto valor econômico e amplamente utilizado na indústria de processamento de pescado, principalmente para produtos enlatados. Este estudo teve como objetivo identificar a fauna parasitária do bonito-listrado através de métodos morfológicos, analisar o impacto que esses organismos trazem a indústria de alimentos, o risco de transmissão de zoonoses ao consumidor final e analisar o nível de conhecimento do consumidor sobre anisakiase e contaminação parasitária geral. Para avaliação da contaminação parasitológica, 53 animais foram inspecionados visualmente e as estruturas com morfologia condizente com formas parasitárias foram analisadas estereoscopicamente, microscopicamente e por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Dois gêneros de parasitos zoonóticos foram encontrados, o *Anisakis* spp. (Nematoda) e *Trypanorhyncha* sp. (Cestoda). 96,22%; os órgãos mais infectados foram intestino, carne e estômago (596, 441 e 408 parasitos, respectivamente). Os resultados reforçaram a importância da fiscalização e a importância da evisceração rápida do pescado para evitar a migração das larvas das vísceras para a musculatura. A presença de parasitos pode reduzir a comercialização e o valor dos produtos pesqueiros devido às implicações na segurança e qualidade dos alimentos, reduzindo a confiança do consumidor e, assim, causando perdas econômicas para o setor pesqueiro.

**Palavras-chave:** *Anisakis*. Atum. Parasitos. Segurança dos alimentos. Zoonose.



## **ABSTRACT**

The skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) is a fish resource of high economic value and widely used in the fish processing industry, mainly for canned products. The objective of this study was to identify the parasitic fauna of the bonito through morphological methods, to analyze the impact that these organisms bring to the food industry, the risk of transmission of zoonoses to the final consumer, and analyze the consumer's level of knowledge about anisakiasis and general parasitic contamination. For the evaluation of parasitological contamination, fifty-three animals were visually inspected and the structures with morphology consistent with parasitic forms were analyzed stereoscopically, microscopically, and through Scanning Electron Microscopy (SEM). Two genera of zoonotic parasites have been found, the *Anisakis* sp. (Nematoda) and *Trypanorhyncha* gen.sp. (Cestoda). Of the 53 samples analyzed, 51 showed parasitic contamination; the most infected organs were the intestine, meat and stomach (596, 441, and 408 parasites, respectively). The results emphasized the importance of inspection and the importance of evisceration as soon as possible to avoid the migration of larvae from the viscera to the musculature. The presence of parasites can reduce the marketability and value of fishery products due to implications for food safety and quality, reducing consumer confidence and thus causing economic losses to the fisheries sector.

**Keywords:** *Anisakis*. Tuna.Parasites. Food safety. Zoonosis.

## **1. INTRODUÇÃO**

O bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) (Scombridae) pertence ao grupo dos atuns; é uma espécie pelágica migratória distribuída em águas tropicais e temperadas em todo o mundo, onde a temperatura da água está entre 15 e 30 °C (AOKI et al., 2017; MURUA et al., 2017). Também é conhecido pelos nomes comuns de bonito, bonito-listrado, gaiado, atum listrado ou atum gaiado (YEN et al., 2017). Possui alto potencial comercial, ocupando o terceiro lugar entre as espécies marinhas mais capturadas em todo o mundo (FAO, 2020). No Brasil, é a espécie de atum mais abundante e tem grande importância comercial, sendo a mais utilizada na indústria conserveira (JUSTO et al., 2013; AQUINO et al., 2021). Também é amplamente comercializado como peixe cru ou congelado (MADUREIRA et al., 2016).

No Brasil, a captura dessa espécie totalizou 15.355 toneladas em 2019. A principal forma de pesca do atum gaiado utilizada no país é a pesca com vara e isca viva, realizada

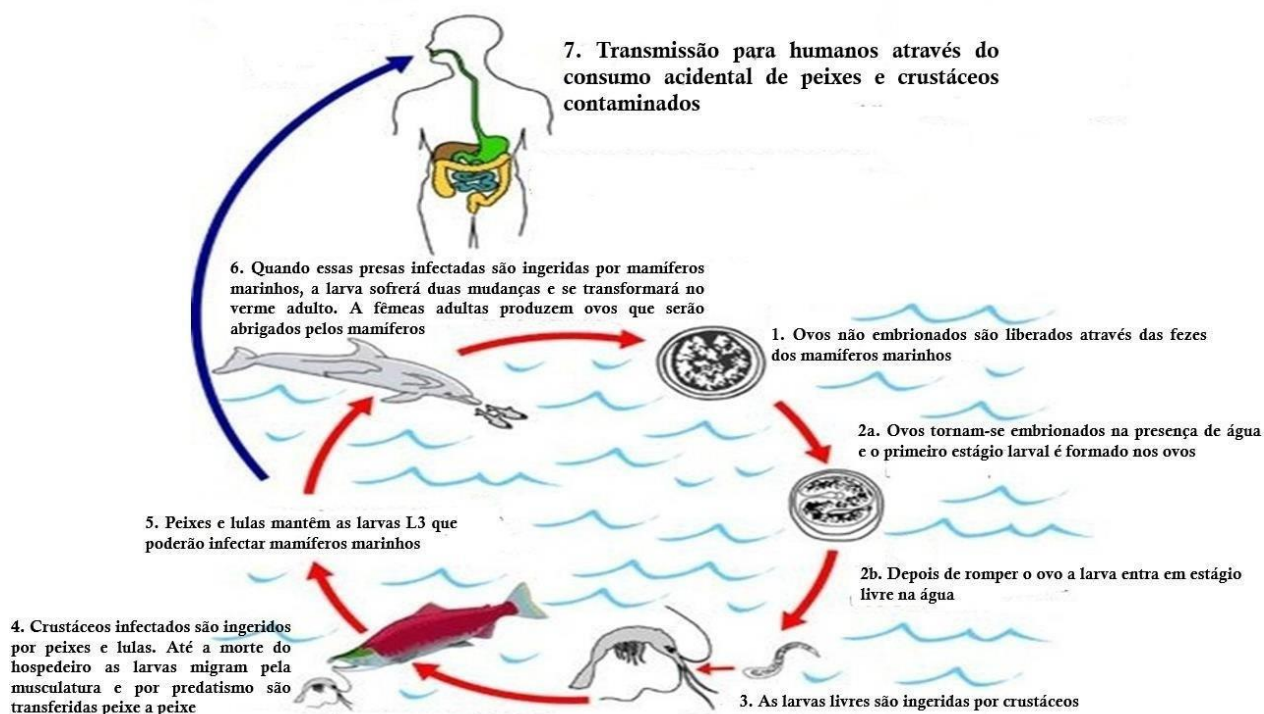
na região sudeste/sul, onde a espécie representa 90% das capturas (ICCAT 2021). Apesar deste volume de peixes e a importância do pescado no país, são poucos os estudos voltados para a carga parasitária deste peixe.

A presença de parasitos na carne do pescado é considerada um grave problema de saúde por duas razões principais: a) existem parasitos com importância zoonótica, que podem ser prejudiciais para a saúde humana se forem ingeridos, e b) a presença de parasitos em pescado reduz o valor comercial do produto, gerando assim perdas econômicas consideráveis (DIAS et al., 2010; FAESTE et al., 2015; CASTELLANOS-GARZÓN et al., 2020).

As zoonoses ocorrem quando os seres humanos consomem acidentalmente produtos infectados (FAESTE et al., 2015). Dentre as zoonoses que podem ser transmitidas pela ingestão de parasitos, a anisakiase é uma das mais importantes, pois pode impactar negativamente a saúde humana. Esta zoonose é causada pela ingestão do parasita marinho do gênero *Anisakis*, que tem cetáceos como hospedeiro final e pequenos crustáceos e peixes como intermediários. Nos peixes, a maioria das larvas desses nematóides está situada dentro e sobre os órgãos viscerais, mesentérios e peritônio. As larvas migram para os tecidos circundantes e alguns indivíduos penetram profundamente no músculo do peixe (LEVSEN; LUNESTAD, 2010).

O ciclo de vida do *Anisakis* começa com a expulsão de ovos através das fezes de mamíferos marinhos (hospedeiros definitivos). Na água, os ovos eclodem embriões e liberam larvas de primeiro estágio (L1), que posteriormente evoluem para um segundo estágio larval (L2) (CASTELLANOS-GARZÓN et al., 2020). As larvas L2 são comidas por pequenos crustáceos (WILHELM et al., 2012), que por sua vez são consumidos por peixes, hospedeiros intermediários, onde mudam para o terceiro estágio larval (L3). Peixes parasitados com L3 são ingeridos por mamíferos marinhos, seus hospedeiros definitivos, onde evoluem para L4 e a forma adulta; reproduzem e liberam ovos, iniciando um novo ciclo (KLIMPEL; PALM, 2011) (Figura 9).

**Figura 9:** Ciclo de vida do *Anisakis*



Fonte: Adaptado de MARIE; PETRI JR (2022)

A anisakiase humana tem duas características distintas: a) o efeito local do parasito no trato digestivo e b) alergia devido à hipersensibilidade imediata da imunoglobulina E (IgE). Portanto, considera-se que a doença tem formas clínicas ectópicas, gástricas, intestinais e gastroalérgicas (AUDICANA; KENNEDY, 2008; MIZUMURA et al., 2018; CALDEIRA et al., 2020). O tempo de sobrevivência do *Anisakis* em humanos é muito curto e eles geralmente são expulsos ou destruídos em poucos dias ou semanas (AUDICANA; KENNEDY, 2008). No entanto, algumas horas após a ingestão através de peixes contaminados, o nematóide penetra na parede intestinal humana resultando em uma infecção aguda e transitória com sintomas como dor abdominal, vômitos, náuseas e / ou diarreia (AUDICANA; KENNEDY, 2008; BUCCI et al., 2013). A manifestação clínica da anisakiase não se limita aos sintomas gastrointestinais, mas tem sido relatada como associada a reações alérgicas em alguns indivíduos (GUARDONE et al., 2018; IVANOVIĆ et al., 2017). Os sintomas das reações alérgicas variam de urticária e angioedema a choque anafilático com risco de vida, frequentemente associado a sintomas gastrointestinais (VILLAZANAKRETZER et al., 2016). A fase alérgica desta doença pode se manifestar logo após o consumo de produtos de peixe crus ou levemente cozidos que contêm larvas de *Anisakis*. A alergia a esse

parasito também pode ocorrer em indivíduos sensibilizados em decorrência do consumo de peixes contaminados com alérgenos desse organismo (CARBALLEDA-SANGIAO et al., 2016; MATTIUCCI; D'AMELIO, 2014). Sem tratamento médico adequado, a doença pode ser letal (AUDICANA; KENNEDY, 2008). Na maioria dos casos, os pacientes expõem os nematóides tossindo ou vomitando. Nos casos mais graves, a cirurgia é necessária para remover o parasito. Em algumas situações, os pacientes necessitam de tratamento com antiparasitários (AQUINO et al., 2019; GUIMARÃES et al., 2018).

A maioria dos alérgenos do *Anisakis* foram detectados nos produtos excretadores/secretadores dos parasitos. Parte deles é resistente ao calor e foram detectados em produtos congelados, cozidos e enlatados (BAO et al. 2019).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo identificar a presença de parasito em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) e avaliar o nível de conhecimento da população em geral sobre parasitos e zoonoses transmitidas pelo consumo de pescado contaminado.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

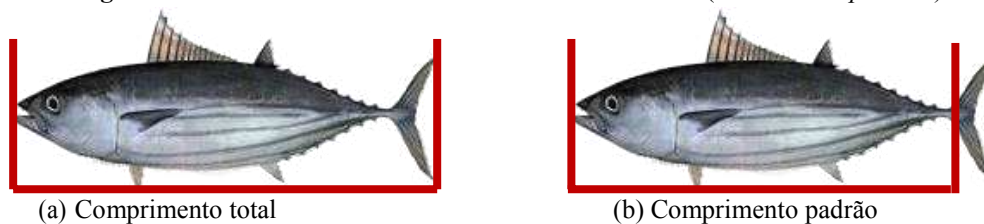
### **2.1 Coleta de amostras**

As amostras de bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) foram doadas por uma empresa de processamento de pescado localizada na cidade de Itajaí, SC, Brasil (26° 54' 28" S 48° 39' 43" O). Os espécimes eram provenientes da pesca em mar aberto, no atlântico centro meridional. Os cinquenta e três atuns foram acondicionados em caixas isotérmicas e transportados para o AQUOS-Laboratório de Saúde dos Organismos Aquáticos da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, e mantidos congelados (-18 °C).

### **2.2 Biometria**

A biometria dos animais foi realizada utilizando-se paquímetro e ictiômetro. O sexo, o peso (kg) e o comprimento total e padrão (cm) dos animais foram registrados. O comprimento total (cm) foi a medida da boca até a ponta da barbatana caudal e o comprimento padrão (cm) foi a medida tomada da boca até o final do pedúnculo caudal, (Figura 10).

**Figura 10:** Coleta de dados biométricos do bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*).



**Fonte:** Autora

### 2.3 Necrópsia e identificação de parasitas

Os espécimes foram necropsiados para avaliação parasitológica da musculatura e órgãos internos. Para isso, os olhos, brânquias, trato gastrointestinal e vísceras foram removidos e examinados.

A evisceração foi realizada a partir de um corte longitudinal ventral, do opérculo à região cefálica. Para investigar o parasitismo na carne (músculo), foram realizados dois cortes longitudinais em ambos os lados, partindo da inserção da cauda em direção à cabeça até o nível do opérculo, obtendo-se dois filés por peixe.

As amostras foram inspecionadas visualmente e as estruturas com morfologia compatível com formas parasitárias foram analisadas tanto sob óptica estereoscópica quanto sob microscópio - Olympus CX22 (Tóquio, Japão). Os parasitos encontrados foram fixados em álcool 70% para posterior identificação. A metodologia utilizada para a coleta e fixação de parasitas foi descrita por Eiras et al. (2006), utilizando o processo de desidratação regressivo. O tempo de cada etapa variou de acordo com o tamanho e a espessura do parasito.

Após a coleta dos parasitos, foi realizado o processo de clarificação utilizando Creosoto de Faia; seguido da montagem dos parasitos em lâminas permanentes com Bálsamo do Canadá e, em seguida, analisados em microscópio para identificar as estruturas e as espécies usando chaves de identificação (BEVERIDGE et al., 2017; PALM, 2004; MORAVEC, 1998).

### 2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada nas amostras dos parasitos coletados, fixados em stubs e revestidos com uma camada (40 nm) de ouro com auxílio de vácuo em base planetária de acordo com metodologia descrita por Bozzola e Russel

(1999) no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC. Por fim, foram levadas ao Microscópio Eletrônico de Varredura (X5000), modelo JSM-6390LV, Jeol (Peabody, Mass., EUA) para visualização e obtenção das imagens.

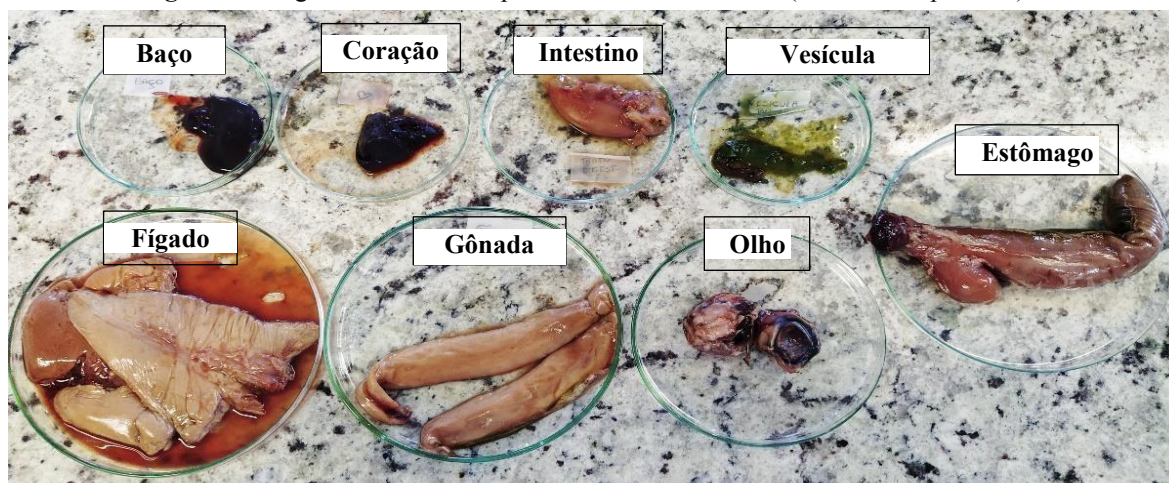
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Biometria dos peixes e identificação de parasitos

Os espécimes dos peixes apresentaram as seguintes características: 24 eram machos, 25 fêmeas e 4 não foram identificados quanto ao sexo. Os dados biométricos coletados foram: peso de  $3.430 \pm 1,41$  kg, comprimento total de  $39,06 \pm 17,39$  cm e comprimento padrão de  $33,48 \pm 15,37$  cm.

A necropsia foi realizada em 10 órgãos (baço, coração, intestino, vesícula biliar, estômago, fígado, gônada, olhos, carne e brânquias - Figura 11); destes, 8 mostraram a presença de algum tipo de parasito, sendo que os mais infectados foram o intestino, músculo (carne) e estômago. Os resultados obtidos foram descritos na Tabela 10.

**Figura 11:** Órgãos internos necropsiados em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*)



Fonte: Autora

**Tabela 10:** Ocorrência de parasitos em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*)

<b>Órgão</b>	<b>N.H.I.*</b>	<b>P (%)*</b>	<b>NTP*</b>	<b>Prevalência</b>
Cavidade visceral	2	3,7	27	<i>Anisakis</i> sp.
Fígado	23	43,4	105	<i>Anisakis</i> sp.
Coração	0	0	0	-----
Baço	3	5,7	4	<i>Anisakis</i> sp.
Rim	0	0	0	-----
Vesícula biliar	4	7,5	7	<i>Anisakis</i> sp.
Estômago	18	34	408	<i>Anisakis</i> sp.
Intestino	35	66	596	<i>Rhadinorhynchus</i> sp.; <i>Anisakis</i> sp.
Gônada	6	11,3	30	<i>Anisakis</i> sp.
Músculo	31	58,5	441	<i>Trypanorhyncha</i> ; <i>Anisakis</i> sp.

**Fonte:** Autora

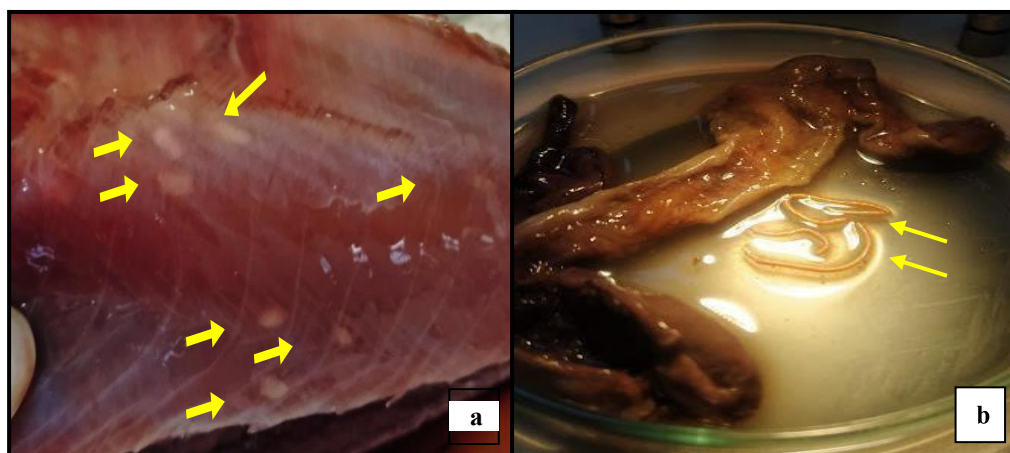
n=53; \*Número de hospedeiros infectados (N.H.I); Taxa de prevalência de infecção (P%); Número total de parasitas (NTP)

Na natureza os peixes coexistem com parasitas, em equilíbrio. Porém, distúrbios e alterações ambientais (geralmente associadas a ação humana) como queda dos teores de oxigênio dissolvido, aumento de gás carbônico (CO<sub>2</sub>), amônia (NH<sub>3</sub>) e nitrito (NO<sub>2</sub>), altas densidade de estocagens e níveis de arraçoamento, dentre outros fatores podem causar estresse, redução da resistência, ferimentos e facilitar o desenvolvimento parasitário (PAKDEENARONG et al., 2014; RIBAS et al., 2017). Já na piscicultura de cativeiro, a existência desses organismos não é tão comum quando o sistema é bem controlado. Isso se deve ao fato da existência de uma alimentação com rações específicas para cada espécie e de boa qualidade entre outros fatores.

Entre as amostras analisadas, apenas dois dos 53 animais não apresentaram nenhum tipo de parasito. A partir dos resultados, observou-se que 58,5% dos animais apresentaram contaminação parasitária no músculo, enquanto 41,5% apresentaram contaminação parasitária nos outros órgãos (Figura 12). A contaminação parasitária começa a partir das vísceras dos peixes e se espalha para outros órgãos e para o tecido muscular (LEVSEN; LUNESTAD, 2010). Nesta pesquisa, o intestino foi o órgão mais acometido, apresentando um total de 596 parasitas em 51 exemplares.



**Figura 12:** Parasitos encontrados em bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*)



**Fonte:** Autora

- a) *Trypanorhyncha* encontrado no músculo;  
 b) *Rhadinorhynchus* sp. Encontrado no intestino

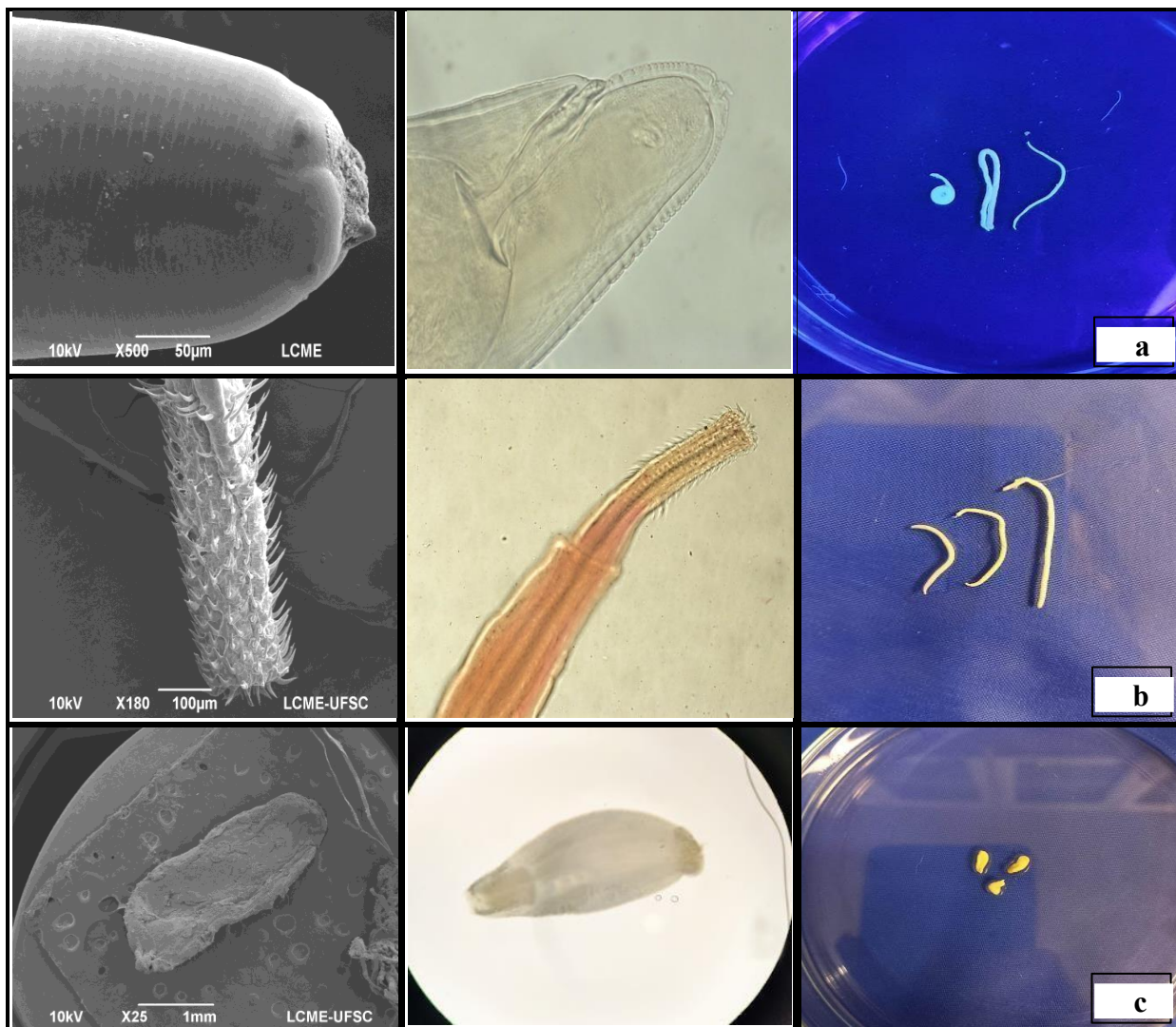
Quanto aos parasitos encontrados, foi possível identificar os gêneros *Anisakis* sp. e *Rhadinorhynchus* sp. e a ordem *Trypanorhyncha*. A observação das estruturas em microscópio e por MEV foram fundamentais para identificação. As imagens obtidas estão registradas na Figura 13.

Dos parasitos citados, apenas o *Rhadinorhynchus* sp. não é relatado na literatura como zoonótico.

Estudos sobre manifestações alérgicas a antígenos de parasitas de peixes são frequentes, envolvendo principalmente nematóides do gênero *Anisakis*. Foram realizadas investigações sobre esse potencial em outros parasitas, como o cestódeo *Trypanorhyncha*. A infecção acidental de humanos por larvas de *Trypanorhyncha* é rara, porém existem estudos que têm apontado o potencial alergênico de algumas espécies desse grupo (RODERO; CUÉLLAR, 1999; VAZQUEZ-LOPEZ et al., 2001; VAZQUEZ-LOPEZ et al., 2002; GOMEZ-MORALES et al., 2008; MATTOS et al., 2015).



**Figura 13:** Características morfológicas de parasitos encontrados em bonito-listrado (*Katsuwomus pelamis*)



**Fonte:** Autora

- a) *Anisakis* observado por meio de MEV, em microscópio e a olho nu;
- b) *Rhadinorhynchus* Sp. observado por meio de MEV, em microscópio e a olho nu;
- c) *Trypanorhyncha* observado por meio de MEV, em microscópio e a olho nu

Ferreira et al. (2006) avaliaram a importância dos parasitos da ordem *Trypanorhyncha* na Inspeção de Peixes, concluindo que os inspetores sanitários devem estar cientes da presença desses parasitos devido ao aspecto repulsivo que dão aos peixes; Mattos, Verícimo e São Clemente (2013) sugerem que eles poderiam causar reações de hipersensibilidade em humanos. De acordo com esses autores, a localização de larvas de *Trypanorhyncha* na musculatura dos peixes poderia produzir toxinas, indicando a possibilidade de desencadear uma reação de hipersensibilidade em pessoas intolerantes.

Pelayo et al. (2009) estudaram a soroprevalência de anticorpos anti-*Gymnorhynchus gigas* em uma população da Espanha, sendo este apontado como o primeiro trabalho sobre a existência de um antígeno específico para *Trypanorhyncha* em humanos. Os pesquisadores relataram que os antígenos do parasito permanecem ativos mesmo depois que o peixe é congelado, destacando a possibilidade de representar um risco para a saúde humana. No Brasil, estudos utilizando um modelo murino demonstraram a capacidade de induzir a produção de imunoglobulinas específicas, tanto IgG quanto IgE, contra antígenos de *Protoperdinium heteracanthum* e *Pterobotrium crassicolle* por diferentes vias de imunização, indicando que esses parasitos possivelmente seriam capazes de induzir uma reação alérgica em humanos (MATTOS et al., 2013).

Os nematóides marinhos da família *Anisakidae* são conhecidos por serem prejudiciais à saúde humana, pois podem causar zoonoses chamadas anisaquíase (FAESTE et al., 2015; FAESTE et al., 2014; BAO et al., 2019).

Questões relacionadas às alergias alimentares decorrentes da ingestão de *Anisakis* sp. já são proeminentes na comunidade científica, resultando em inúmeras publicações sobre o tema. No caso do *Anisakis simplex*, embora as larvas sejam inativadas por aquecimento a temperaturas acima de 60 °C por um período mínimo de 10 min, ou congelamento a -20 °C por 24 h, alguns alérgenos são resistentes ao cozimento e congelamento (BAHNA, 2016). Esta resistência ao tratamento térmico foi abordada por Caballero; Moneo (2004), quando estudaram pacientes que manifestaram reações e sintomas após a ingestão de peixe cozido ou enlatado. Vidacek et al. (2009) e Audicana et al. (2002) também relataram em seus estudos a resistência dos alérgenos de *Anisakis* após o tratamento por calor e congelamento e que mesmo suas larvas inativadas podem ser potencialmente perigosas.

A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) concluiu em um parecer científico que são necessários testes de rotina em produtos do mar para a presença de *Anisakis* (EFSA, 2010). Como medidas de salvaguarda para a prevenção da anisaquíase, foram implementados na União Européia regulamentos para produtos da pesca crus, defumados a frio, marinados ou salgados que exigem o congelamento ou tratamentos térmicos (ECR, 2004; ADAMS et al., 2005). Regulamentos semelhantes existem nos EUA e no Canadá (FDA 2012). A indústria pesqueira adotou essas medidas como parte de seus sistemas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

(APPCC/HACCP) (FDA 2011). Os fabricantes de produtos de peixe também têm que garantir a ausência de parasitos visíveis por inspeção visual (FDA 2011, 2012).

Os relatos da literatura sugerem que cozinhar e/ou congelar o pescado pode não ser suficiente para proteger contra reações de hipersensibilidade ao *Anisakis*. Alérgenos termoestáveis foram detectados em extratos de *Anisakis simplex*, e isso questiona a controvérsia sobre a segurança do consumo humano acidental desses parasitas em peixes cozidos (CABALLERO; MONEO, 2004; MONERET-VAUTRIN et al., 2005; NIEUWENHUIZEN; LOPATA, 2013; FAESTE et al., 2014). Tal como acontece com outros alérgenos alimentares, pequenas quantidades podem ser suficientes para induzir uma reação alérgica em pessoas sensíveis. A presença de proteínas de anisaquídeos em peixes e seus produtos é um risco potencial para a saúde dos consumidores alérgicos a este parasito; pode haver alergias reativas cruzadas, por exemplo, a ácaros ou crustáceos (AIBINU; SMOOKER; LOPATA, 2019)

Poucos artigos relataram infecções humanas por anisaquídeos transmitidos por peixes (CHAVES et al., 2016; DANI et al., 2009; EIRAS et al., 2016; ROSA DA CRUZ et al., 2010; VARGAS et al., 2012). No entanto, quanto maior o número de espécies de peixes infectadas, especialmente no caso de espécies economicamente importantes, como o bonito-listrado, maior o risco para os seres humanos de ingerir nematóides presentes em peixes infectados.

A inspeção oficial e a indústria são corresponsáveis pela qualidade e segurança dos alimentos; a inspeção visual tornou-se o método oficial a ser incluído nos programas de autocontrole para detectar parasitas visíveis antes que o produto seja processado, ou mesmo o peixe seja comercializado (FDA, 2001; CODEX, 1995; EFSA, 2010; BRASIL, 2017). Os produtos da pesca visivelmente contaminados com parasitos não devem ser colocados no mercado para consumo humano (EFSA, 2010; BRASIL, 2018).

#### **4. CONCLUSÃO**

Dois gêneros de parasitos zoonóticos foram encontrados nos espécimes analisados de bonito-listrado - o *Anisakis* sp. e *Trypanorhyncha*. O *Anisakis* sp, presente nas vísceras, enquanto *Trypanorhyncha* foi encontrado no músculo dos peixes analisados.

Além do potencial impacto na saúde humana, os parasitos visíveis a olho nu, quando percebidos pelos consumidores, afetam diretamente o comércio de pescado, diminuindo seu valor comercial.

Os parasitos podem reduzir a comercialização e o valor dos produtos da pesca devido às implicações na segurança e qualidade dos alimentos, reduzindo a confiança do consumidor e, assim, causando perdas econômicas para a indústria pesqueira. Portanto, o conhecimento dos parasitos dos peixes é importante para uma correta inspeção sanitária, pois a patogênese em humanos pode ocorrer por ação espoliativa, tóxica ou mecânica.

Além disso, a formação de profissionais da cadeia que captura e processa pescados também representa um aspecto primordial da prevenção de doenças. Neste contexto, os manipuladores de alimentos desempenham um papel importante na qualidade das preparações do peixe e, do ponto de vista da saúde pública, a segurança dos alimentos deve incluir a análise dos potenciais riscos de contaminação em toda a cadeia alimentar, terminando no ponto de consumo.

## **CAPÍTULO 5**

### **ATITUDE DO CONSUMIDOR PERANTE A EXISTÊNCIA DE PARASITOS EM PEIXES NO BRASIL E GRAU DE CONHECIMENTO SOBRE ANISAQUIÁSE**

CONSUMER ATTITUDE TOWARDS THE EXISTENCE OF PARASITES IN  
FISHES IN BRAZIL AND DEGREE OF KNOWLEDGE ABOUT ANISAKÍASE

#### **RESUMO**

A presença de parasitos em pescado representa um risco para o homem saúde através de uma zoonose transmitida por peixes, nomeadamente anisaquíase, que pode causar doenças gastrointestinais e alergias. A presença de parasitos também pode dissuadir os consumidores de comprar esse tipo de produto, resultando em perdas econômicas para a indústria pesqueira. Este estudo teve como objetivo identificar o risco de transmissão de zoonoses ao consumidor final e analisar o nível de conhecimento da população sobre anisaquíase e contaminação parasitária geral. Para isso, foi aplicado um questionário on-line, através da plataforma Google Forms, com perguntas sobre parasitos e anisaquíase. A pesquisa com consumidores demonstrou que 72,5% dos participantes tinham conhecimento da contaminação por parasitas em peixes e, dentre eles, 8% já haviam encontrado algum parasito em peixes; entretanto, 88,2% afirmaram desconhecer a anisaquíase. Os resultados reforçaram a importância da conscientização da população sobre a possibilidade de presença de parasitos em peixes e sobre a anisaquíase.

**Palavras-chave:** *Anisakis*. Parasitos. Segurança dos alimentos. Zoonose.

## **ABSTRACT**

The presence of parasites in fish poses a risk to human health through a zoonosis transmitted by fish, namely anisakiasis, which can cause gastrointestinal diseases and allergies. The presence of parasites can also dissuade consumers from buying this type of product, resulting in economic losses for the fishing industry. This study aimed to identify the risk of transmission of zoonoses to the final consumer and to analyze the population's level of knowledge about anisakiasis and general parasitic contamination. For this, an online questionnaire was applied through the Google Forms platform, with questions about parasites and anisakiasis. The research with consumers showed that 72.5% of the participants were aware of contamination by parasites in fish and, among them, 8% had already found some parasite in fish; however, 88.2% stated that they were unaware of anisakiasis. The results reinforced the importance of making the population aware of the possibility of the presence of parasites in fish and about anisakiasis.

**Keywords:** *Anisakis*. Parasites. Food safety. Zoonosis. Tuna.

## **1. INTRODUÇÃO**

A anisaquíase é uma zoonose causada através do consumo acidental de um parasito marinho do gênero *Anisakis* (Nematoda: Anisakidae), que tem como hospedeiro final os cetáceos e como intermediários pequenos crustáceos e peixes dentro de seu ciclo de vida (EFSA-BIOHAZ, 2010; GREGORI et al., 2015; KLIMPEL et al., 2004 ; MATTIUCCI; D'AMELIO, 2014). Eles podem causar uma enfermidade chamada anisaquíase em humanos, que pode estar associada com sintomas alérgicos após o consumo de alimentos crus ou produtos da pesca levemente cozidos que abrigam larvas L3. A alergia a esse parasito também pode ocorrer em indivíduos sensibilizados, como resultado do consumo de produtos da pesca contaminados com alérgenos desse organismo (AUDICANA; KENNEDY, 2008 ; CARBALLEDA-SANGIAO et al., 2016 ;EFSA-BIOHAZ, 2010; MATTIUCCI; D'AMELIO, 2014).

A presença de anisaquídeos pode reduzir a comercialização e valor dos produtos da pesca devido às implicações na segurança e qualidade dos alimentos, reduzindo a confiança do consumidor e, assim, provocando perdas econômicas para a indústria pesqueira (ABOLLO et al., 2001; D'AMICO et al., 2014; LLARENA-REINO et al., 2015; MATTIUCCI; D'AMELIO, 2014). Além disso, os procedimentos de inspeção para

controlar e remover os nematóides visíveis também introduzem custos adicionais para o processamento comercial (ABOLLO et al., 2001; MCCLELLAND, 2002; LLARENA-REINO et al., 2015).

Tem sido crescente o número de infecções parasitárias transmitidas por peixes, causando doenças e distúrbios alérgicos em consumidores (HOCHBERG & HAMER, 2010; NAWA et al., 2005; MINETA et al., 2006) é influenciado pela tendência crescente de consumir produtos do mar crus, mal cozidos ou processados inadequadamente (CHAI et al., 2005). Além do impacto potencial na saúde humana, os parasitos visíveis a olho nu quando percebidos pelos consumidores afetam diretamente o comércio de pescados, diminuindo a aquisição do pescado e provoca uma queda nas vendas no comércio (VIDACEK et al., 2009; EFSA, 2010).

Uma vez que a corresponsabilidade pela qualidade e segurança dos alimentos recai sobre a indústria, a inspeção visual tornou-se o método oficial a ser incluído dentro de programas de autocontrole para detectar parasitas visíveis antes do processamento do produto, ou mesmo da comercialização do pescado. Produtos da pesca que estão visivelmente contaminados com parasitas não devem ser colocados no mercado para consumo humano (EC 853, 2004.). A falta de padronização tem sido de longe um dos problemas de gargalo durante a inspeção de parasitas em pescados na indústria. As questões mais discutíveis foram a subjetividade e a ambiguidade de alguns conceitos definidos pela legislação, como “parasito visível”, “claramente contaminado” e “obviamente infestado de parasitas”, especificado no Pacote Europeu de Higiene (e em suas modificações (Regulamentos da Comissão (CE) 1662-1664/2006).

Esses conceitos evidenciam a falta de configurações padrões no que diz respeito à concepção “quantum satis”, pois nenhum limite é definido entre risco zero versus risco tolerável. Além disso, a precisão de um esquema de inspeção visual na indústria pesqueira depende do treinamento e habilidades dos inspetores (LEVSEN et al., 2005; LLARENA-REINO et al., 2012).

O objetivo deste trabalho é registrar o nível de conhecimento dos consumidores brasileiros sobre parasitos e zoonoses transmitidos pelo consumo de peixes contaminados e entender qual seria a atitude do consumidor caso encontrasse algum parasito em peixes in natura.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Questionário on-line**

Uma pesquisa on-line foi realizada com 683 participantes para avaliar seus conhecimentos sobre parasitos em peixes e impacto causado pelo consumo acidental na saúde humana.

Para a realização do estudo com consumidores primeiramente um projeto contendo os aspectos da pesquisa e o questionário foi submetido à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - (CONEP/MS), para aprovação em seus aspectos éticos e metodológicos, atendendo ao disposto na Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012) e suas complementares. Além disso, este trabalho seguiu as orientações do Ofício Circular nº 2/2021 (CONEP/SECNS/MS) sobre procedimentos de pesquisa com qualquer etapa em ambiente virtual.

Os participantes receberam um link sobre a pesquisa disponibilizado por meio de plataformas virtuais, via e-mail, ou por meio de divulgação realizada por meio de redes sociais (Whatsapp, Instagram, Facebook) contendo o convite para participar do estudo, além do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), com os objetivos, benefícios e riscos da participação na pesquisa. Também foram informados sobre a total confidencialidade dos dados. Após a leitura deste documento, os participantes que concordaram com os termos do TCLE tiveram acesso ao questionário online (através da plataforma Google Forms).

### **2.1.2 Desenho do questionário**

O questionário foi composto por 28 questões, que foram organizadas em seções para coletar dados sobre: 1) informações sociodemográficas do entrevistado (sexo, idade, nacionalidade, escolaridade, situação profissional, ocupação e renda); 2) alergia e estado de saúde; 3) comportamento de consumo de pescado (frequência de consumo de pescado, espécie de pescado consumido, preparo dos produtos da pesca consumidos - frescos, crus e processados); 4) conhecimento sobre anisakiase (conscientização sobre os anisakiídeos e como evitar a infecção por esses seres); 5) atitudes diante de cenários hipotéticos quanto à presença de parasitos em peixes.

O questionário foi disponibilizado durante o período de janeiro a maio de 2022 e, no total, foram recebidas 714 respostas. Foram excluídos os participantes que não concordavam com a TCLE, que não consumiam pescado (questão 11) ou responderam



incorretamente à questão de verificação (questão 18). A total de respostas disponível para a análise descritiva totalizou, assim, 683 respostas.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Não foram encontrados na literatura uma pesquisa específica para analisar percepções e atitudes dos consumidores de pescado brasileiros em relação à presença de parasitos em peixes e sobre a anisaquíase

Este questionário foi aplicado com o objetivo de se obter respostas de consumidores de todo o território nacional, de forma que os participantes de todas as regiões representassem uma parcela considerável e proporcional de consumidores.

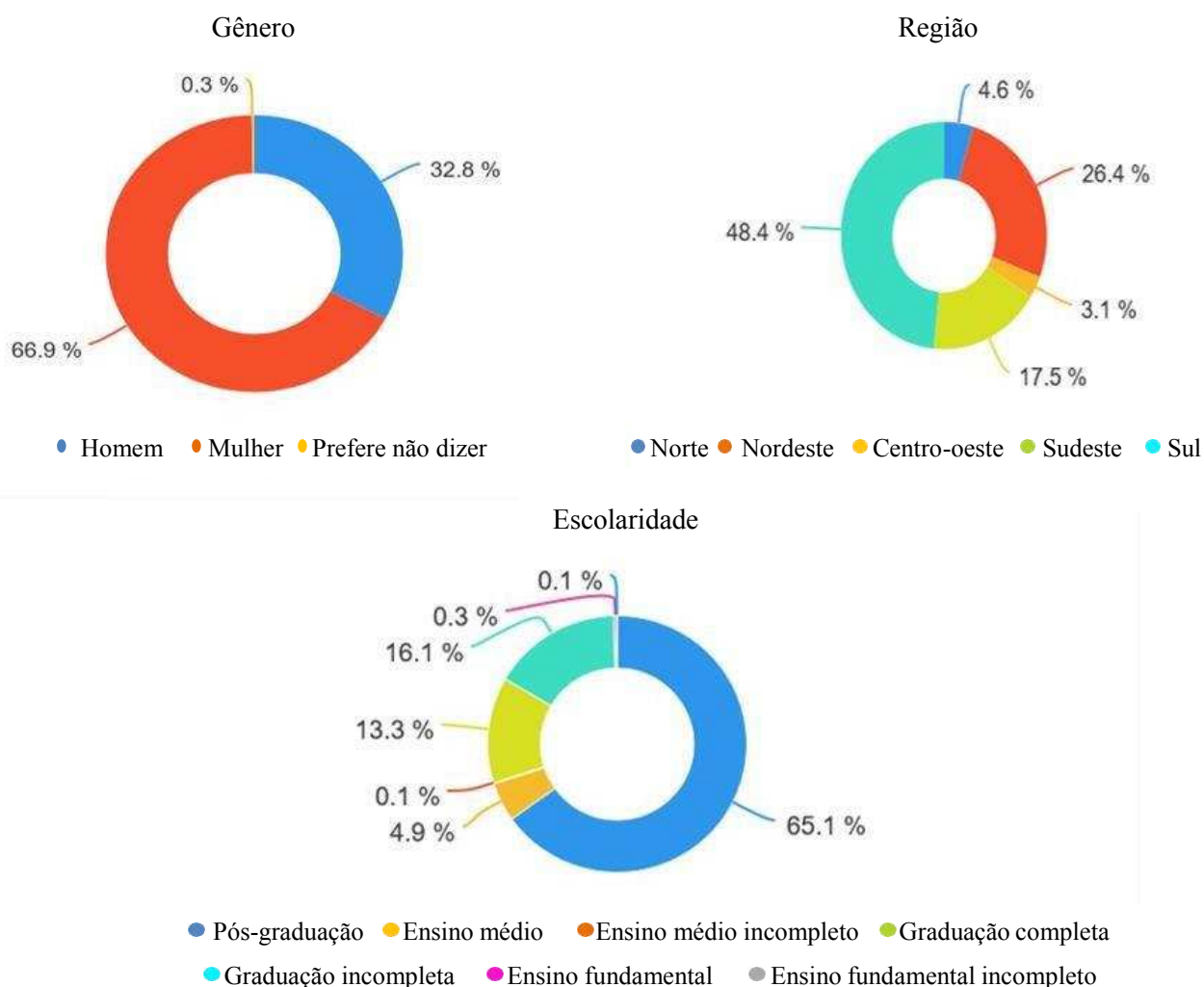
No entanto, dados adicionais de outras regiões e setores podem aumentar a robustez dos resultados.

Devemos destacar que os entrevistados se auto-selecionaram e aqueles com conhecimento ou interesse no assunto tem maior probabilidade de responder. Mas, isso não deve ser interpretado como uma indicação de que há menos preocupação pública com Anisakis do que o sugerido neste estudo.

#### **3.1 Questionário - Análise de dados da pesquisa com consumidores**

Entre os participantes que responderam ao questionário, 66,9% eram mulheres, 32,8% homens e 0,3% preferiram não se identificar. A maioria era pós-graduada (64,9%) e residia nas regiões Sul e Nordeste do país (48,4% e 26,4%, respectivamente) (Figura 14). Dos participantes, 32,8% tinham renda de até dois salários mínimos. Esses dados são importantes para compreender e caracterizar o perfil do consumidor que respondeu ao questionário

**Figura 14:** Caracterização socioeconômica dos participantes.



Cerca de 6% dos participantes disseram ter algum tipo de alergia ou intolerância a pescados e/ou seus produtos; 9,7% relataram alergia a camarões e frutos do mar, 95,8% responderam que consomem peixe e, quando questionados sobre a frequência com que consomem, 47,8% responderam que raramente e 38,3% uma vez por semana. Quando questionados sobre o que lhes veio à mente quando pensavam em peixe, as respostas mais citadas foram: saudável, saudável e sushi.

A maioria dos participantes compra peixe em supermercados (45%) e peixarias (25%); quando perguntados onde consumiam, 38,6% responderam em casa, 14,4% em restaurantes e 44,6% em ambos. A forma mais comum de preparação foi frita ou assada.

A maioria (72,5%) tinha conhecimento de contaminação por parasitos em peixes e, destes, 8% (57 participantes) já haviam encontrado algum parasito em peixes. Quando questionados sobre as espécies de peixes em que o parasito foi encontrado, as respostas mais citadas foram: Traíra – *Hoplias malabaricus* (6 respostas), Salmão – *Salmo salar* e

tilápia – *Oreochromis niloticus* (4 respostas cada) e tambaqui – *Colossoma macropomum* e tucunaré – *Cichla ocellaris* (3 respostas cada). Os parasitos foram encontrados nas vísceras (38,6%), no músculo (33,3%) e, em alguns casos, em ambos (28,1%), 50 participantes encontraram o parasito em peixe fresco e 4 em peixe cozido.

Das espécies citadas, os nematóides do gênero *Anisakis* sp. podem estar presente apenas no salmão, pois estes são parasitos de peixes marinhos. Além do salmão, o *Anisakis* sp. parasita invertebrados e vertebrados marinhos e usam diferentes crustáceos e espécies de peixes como hospedeiros intermediários (BERLAND, 2006). Mais de 200 espécies de peixes e 25 cefalópodes foram identificados como hospedeiros de *Anisakis* sp. (AIBINU; SMOOKER; LOPATA, 2019). A transmissão de *Anisakis* sp. para os seres humanos (hospedeiros acidentais), refere-se ao consumo de peixes ou cefalópodes contaminados com larvas L3, preparados crus ou mal cozidos.

Embora a maioria dos participantes tenha relatado conhecer a existência de parasitas em peixes, 88,2% disseram não ter conhecimento sobre anisaquíase; 83,5% disseram que, se encontrassem algum anisaquídeo no peixe, descartariam o peixe inteiro, enquanto 10,2% descartariam apenas a parte infectada, consumindo o restante; 4,9% deixariam de consumir as espécies em que o parasito foi encontrado e 0,8% consumiriam peixe de qualquer maneira.

Cerca de 12% dos participantes afirmaram que nenhum tratamento térmico poderia inativar as larvas de anisaquídeos; 10% dizem que cozinhar com calor acima de 60 °C inativa o parasito. Duzentas e cinquenta e duas pessoas acham que ferver peixe a 90 °C ou fritar a 170 °C são procedimentos altamente eficazes para a prevenção. Quando perguntados sobre tratamentos a frio, 11,6% afirmam que o congelamento rápido a -20 °C por pelo menos 48 horas inativa o parasito, e 11,2% das pessoas acham que o congelamento lento à mesma temperatura por 7 dias é eficaz na destruição de *Anisakis*.

O *Codex Alimentarius*, na Norma CODEX STAN 190 adotada em 1995 e revisada em 2011, 2013, 2014 (CODEX, 1995) determina que para filés de peixes congelados a presença de dois ou mais parasitas por kg de unidade de amostra com diâmetro capsular maior que 3 mm ou parasito não encapsulado e maior que 10 mm de comprimento caracteriza a peça como defeituosa. FDA (2001) diz que congelar e armazenar a - 20 °C por 7 dias ou congelamento a - 35 °C por 15 h ou congelamento a até -35 °C para o estado sólido e armazenamento a menos 20 °C por 24 horas são suficientes para matar os parasitas. Algumas publicações têm discutido essa questão, apontando o possível risco de se comer peixe cru ou mal cozido, ou mesmo peixe seco ou salgado contendo

anisaquídeos mortos (CARDIA; BRESCIANI, 2012; KNOFF et al., 2013; LIMA DOS SANTOS, 2010; FAESTE et al., 2015; FAESTE et al., 2014; MELLO et al., 2014; BUCHMANN; MEHRDANA, 2016; BAO et al., 2019).

Alguns artigos relataram infecções humanas por *Anisakis* transmitidos por peixes (CHAVES et al., 2016; DANI et al., 2009; EIRAS et al., 2016; ROSA DA CRUZ et al., 2010; VARGAS et al., 2012). No entanto, quanto maior o número de espécies de peixes infectados, especialmente no caso de espécies economicamente importantes, maior o risco para os seres humanos de ingerir nematoides acidentalmente.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a presença de parasitos em peixes é motivo de preocupação para a maioria dos consumidores de peixe brasileiros devido à segurança alimentar e questões de qualidade.

Além do potencial impacto na saúde humana, os parasitos visíveis a olho nu, quando percebidos pelos consumidores, afetam diretamente o comércio de pescado, diminuindo seu valor comercial.

Os parasitos podem reduzir a comercialização e o valor dos produtos da pesca devido às implicações na segurança e qualidade dos alimentos, reduzindo a confiança do consumidor e, assim, causando perdas econômicas para a indústria pesqueira. Portanto, o conhecimento dos parasitos dos peixes é importante para uma correta inspeção sanitária, pois a patogênese em humanos pode ocorrer por ação espoliativa, tóxica ou mecânica.

Também é necessário que haja uma maior conscientização do público consumidor desse tipo de alimento sobre a possível presença de parasitos – em especial, os anisaquídeos – em pescados. Informações sobre o preparo correto, o tempo de cocção ou congelamento desses alimentos e também sobre os sintomas causados pela ingestão acidental desses organismos pelos seres humanos. Isso facilitaria e tornaria mais ágil o diagnóstico da anisaquíase, sendo possível iniciar o seu tratamento de forma rápida e eficiente, além de fornecer dados para que os casos fossem devidamente registrados pelos órgãos de saúde competentes.

Além disso, a formação de profissionais da cadeia que captura e processa pescados também representa um aspecto primordial da prevenção de doenças. Neste contexto, os manipuladores de alimentos desempenham um papel importante na qualidade das preparações do peixe e, do ponto de vista da saúde pública, a segurança dos alimentos

deve incluir a análise dos potenciais riscos de contaminação em toda a cadeia alimentar, terminando no ponto de consumo.

## CAPÍTULO 6

### **DESCONTAMINAÇÃO FÚNGICA UTILIZANDO OZÔNIO GASOSO (O<sub>3</sub>) EM CAVALA (*Acanthocybium solandri*) FRESCA, SECA E SALGADA**

#### RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar o efeito antifúngico do gás ozônio (O<sub>3</sub>) (agente verde de descontaminação) em peixe cavala (*Acanthocybium solandri*) em diferentes tipos de conservação (frescos, secos e salgados). Os valores de umidade e atividade de água das amostras antes do tratamento com gás foram 80,7%/0,98, 55,55%/0,74 e 49,5%/0,70, respectivamente. Os peixes foram contaminados propositalmente com gêneros de fungos capazes de crescer em substratos com teores diferentes de umidade - altas (*Fusarium*) e baixas (*Aspergillus / Penicillium*). Depois tratados com gás a 50 µmol O<sub>3</sub>/mol, expostos durante 10, 20 e 30 min, e incubados (25 °C, 7 dias) para avaliar uma possível inativação no desenvolvimento fúngico. Quando expostas ao O<sub>3</sub> por mais tempo (30 min/Dia 7º) as amostras tiveram o crescimento fúngico totalmente inibido (100%) em relação ao grupo controle, enquanto as demais apresentaram apenas efeito de crescimento, ou seja; 40 e 70% por 10 e 20 min, respectivamente. Os esporos de *Fusarium* cresceram em nenhuma das amostras estudadas (ambos, Grupo de Controle e Tratado). Já o *Aspergillus* e *Penicillium* cresceram em todas as amostras dos grupos controle e tratado, mas tiveram seu crescimento inibido pelo O<sub>3</sub>. Esse gás se mostrou (sob as condições aplicadas nesse estudo) ser eficaz no controle de fungos para diferentes formas de conservação desse pescado.

**Palavras-chave:** Antifúngico; Ozônio; Fungos; Esporos; Peixe.

#### **1. INTRODUÇÃO**

O peixe é um alimento proteico de alto valor nutricional, com ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais, além de baixo teor de colesterol (HOSOMI et al., 2012; DHANEESH et al., 2012). É, em geral, uma opção de consumo mais saudável do que as carnes vermelhas (GONÇALVES, 2011), sendo um produto bastante importante em termos de comércio mundial inclusive para emprego e renda em diversos países (BRABO et al., 2016). O Brasil produziu 722.560 toneladas de pescado em 2018, um aumento de 4,5% em relação às 691.700 toneladas do ano anterior (PEIXE BR, 2019). Com uma

produção e consumo tão grande, é necessário monitorar a qualidade e segurança desse tipo de alimento. A exposição dos peixes a contaminantes ambientais (organismos vivos: bactérias, leveduras, fungos, parasitos) pode ocorrer tanto na pesca extrativa quanto na produção aquícola, a depender, além de outros fatores, das condições precárias de armazenamento de produtos finais frescos e processados (secos/salgados) (AQUINO et al., 2019). Manter sua condição de vida de prateleira (tempo desde a produção até o ponto em que o peixe se torna inaceitável para o consumo), é um dos atributos mais importantes da qualidade (FORSYTHE, 2002). Para determinar o prazo de validade dos produtos cárneos, é comum o estudo de seus parâmetros microbiológicos, químicos e sensoriais, independentemente de serem frescos ou secos/salgados (ICMSF, 2015).

Os peixes frescos são mais suscetíveis à deterioração e contaminação, pois não há barreira que impeça os microrganismos de agirem imediatamente sobre eles. A única avaliação feita pelo consumidor, antes da compra é a sensorial, a fim de detectar a qualidade e o frescor dos peixes (FRANCO; LANDGRAF, 2008; ICMSF, 2015). Porém, a avaliação visual não consegue detectar outras alterações que só são possíveis de serem percebidas com o auxílio de equipamentos e análises, como o microscópio, testes microbiológicos e análises químicas.

A desidratação é da forma mais primitiva e é considerada uma das mais eficazes de conservar o peixe. Consiste em retirar o máximo de umidade possível do alimento, diminuindo assim a quantidade de água disponível para o desenvolvimento de microrganismos (NESPOLO et al., 2015; AUGUSTO, 2017). Pode ser realizada de forma mais rústica, com o uso do sol como agente térmico. No entanto, esse método (embora mais barato) não é viável para grandes produções, pois não é possível controlar as condições higiênico-sanitárias do ambiente aberto (FELLOWS, 2006). Os peixes ficam suscetíveis a poeiras, ataques de animais, entre outros problemas. O método de secagem mais utilizado é o uso de estufa, onde o peixe é submetido a temperatura (calor) e tempo de exposição controlados (FELLOWS, 2006; AUGUSTO, 2017).

O processo de salga é composto por três etapas: aplicação de sal no peixe, formação da salmoura-peixe e maturação (com alterações no sabor e aroma). A salga pode ser realizada em diferentes formas, como salga seca, salmoura, salga úmida e salgae fermentação concomitantes. Peixes pequenos e chatos (como espadarte, sardinha e cavala) podem ser salgados inteiros. Por outro lado, peixes médios ou grandes (como atum, robalo e salmão) precisam ser eviscerados, abertos ou cortados em filés antes de serem salgados (caso contrário, o sal não penetrará o suficiente para evitar a deterioração).

No caso de peixes gordurosos (com alto teor de lipídios) salgados, seu contato com o ar deve ser evitado para evitar a oxidação durante e após a salga (ORDÓÑEZ, 2005). Em relação à regulação para teor de umidade e níveis de resíduos minerais totais, os peixes salgados devem apresentar valores superiores a 35 e 25%, respectivamente (BRASIL, 2017). O Codex Alimentarius estabelece que os peixes secos e salgados não devem ter quantidade superior a 12% de cloreto de sódio (WHO, 1989).

A alta susceptibilidade do pescado ao processo de deterioração ocorre também devido à associação de fatores intrínsecos e extrínsecos do próprio alimento. Os fatores intrínsecos são de maior relevância: os nutrientes teciduais (substrato que pode ser facilmente utilizado por microrganismos), a atividade de água ( $A_w$ ), a rápida ação destrutiva das enzimas (microbiota natural dos peixes), a grande quantidade de lipídios insaturados e os valores de pH próximos ao neutro (SOARES et al., 1998; GONÇALVES, 2011). Com o intuito de evitar/prevenir e/ou controlar organismos vivos, métodos de descontaminação têm sido estudados; como exemplos, temos os compostos oxidativos (ácido peracético, hipoclorito de sódio, ozônio ( $O_3$ )) entre outros (FREITAS- SILVA et al., 2013; CRISTO et al., 2016; SOARES et al., 2018).

O gás ozônio ( $O_3$ ) é considerado um agente verde de descontaminação de organismos vivos, dentre eles os fungos. Sua aplicação em peixes tem sido pouco estudada. Apesar disso, alguns estudos têm sido relatados na indústria de pescados contra alguns microrganismos (SILVA et al., 2011; SILVA GONÇALVES, 2014; LUIZ et al., 2017). Esse gás tem se mostrado eficaz contra bactérias (gram-negativas e positivas), fungos, leveduras, vírus, protozoários, incluindo as formas esporuladas e cistos de protozoários, que são mais resistentes (ALEXANDRE et al., 2011; SILVA et al., 2011). Considerando a importância econômica e nutricional do pescado na dieta mundial,

há necessidade de garantir sua segurança sanitária e implementar medidas para evitar ou reduzir a presença de riscos para organismos vivos - este trabalho investigou o efeito antifúngico do  $O_3$  em amostras de cavala (*Acanthocybium solandri*) sob diferentes formas de conservação (peixes frescos, secos e salgados).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

(a) Amostra: Amostras de cavala vendida em diferentes condições de conservação - fresca, seca e salgada – foram obtidas no mercado da cidade de Fortaleza, Estado do Ceará (CE), Nordeste do Brasil.



(b) Cepas de fungos: cepas dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* foram obtidas da micoteca do Laboratório de Micotoxicologia e Contaminantes Alimentares Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

(c) Meio de cultura: G25N (Czapek-Dox, 25% glycerolnitrate), Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brazil).

(d) Equipamentos utilizados: câmara de fluxo laminar, Veco (Campinas, SP, Brasil); autoclave vertical, Phoenix (Araraquara, SP, Brasil); forno, Quimis (Diadema, SP, Brasil); balança analítica (variação 0,01-210 g), OHAUS, modelo AR2140 (São Bernardo do Campo, SP, Brasil); ozonizador, Interozônio modelo OP-35-5L (Jundiaí, SP, Brasil); medidor de atividade de água, Decagon Aqualab Lite®; Microscópios: óptico, modelo CX22, Olympus (Tóquio, Japão) e estéreo, Opticam (São Paulo, SP, Brasil).

## 2.2 Métodos

(a) Obtenção e preparo das amostras: amostras de cavala (frescas, secas e salgadas) foram obtidas no Mercado de Peixe da cidade de Fortaleza, CE e armazenadas em sacos de polietileno (300 x 300 mm) estéreis e em caixas térmicas, e depois enviadas ao LABMICO - UFSC. As amostras foram seccionados assepticamente em cubos para prosseguir o estudo de descontaminação.



**Figura 15:** Cavala (*Acanthocybium solandri*) Diferentes tipos de tecidos de conservação a) frescos, b) secos e c) salgados.

b) Determinação da umidade: b.1) Teor de umidade – realizada por secagem direta da amostra por aquecimento (105 °C) durante 3 h em estufa, e resfriadas em dessecador durante meia hora e pesagem até atingir um peso constante (AOAC, 2002); (b.2)  $A_w$  – utilizando um equipamento que permite a leitura da amostra a uma temperatura próxima dos 25 °C (DECAGON, 2016).

(c) Inoculação de fungos: esporos dos fungos *Fusarium*, *Penicillium* e *Aspergillus* foram inoculados em porções de 50 g de cada amostra (n=3) e incubados por 24 h antes do tratamento com gás. Dois grupos controles foram preparados (n=3): GC1 (amostras sem

tratamento com gás e sem inóculo) e GC2 (sem tratamento com gás, porém inoculados com as cepasfúngicas) (MUKHOPADHYAY et al., 2019).

(d) Tratamento com ozônio: o gás (concentração: 50  $\mu\text{mol/mol}$ , vazão: de 5 L/min) foi aplicado durante 10, 20 e 30 min nas amostras (previamente inoculadas com fungos) seguindo a metodologia descrita por Soares et al. (2018). As amostras foram incubadas a 25 °C em estufa biológica e observadas por 7 dias (SILVA et al., 2007).

(e) Testes micológicos (e.1) contagem total de fungos – a contagem total de fungos foi realizada pelo método de Samson et al. (2006) por meio de diluições seriadas ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) em meio PDA com cloranfenicol 50 ppm. (e.2) identificação dos gêneros: foi realizada pela técnica de microcultivo (KONEMAN et al., 2001) onde cada colônia obtida foi fortificada em meio de cultura ágar Czapek em duplicata e incubada a 22-25 °C por 5 dias, seguida de identificação por microscopia óptica. Para isso, as estruturas morfológicas foram avaliadas observando-se a septação micelial, as estruturas produtoras que dão origem aos conídios, e mesmo sua superfície a partir da observação macro e microscópica. As identificações dos gêneros fúngicos foram realizadas de acordo com as chaves de identificação de Weber e Pitt (2000); Frisvad et al., (2004).

(f) Estatística: os dados obtidos para a análise de umidade e atividade de água foram avaliados estatisticamente por meio de médias, desvio padrão, ANOVA e teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2007). Todas as análises (exceto a etapa de identificação) foram realizadas em triplicata.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Como esperado, os resultados obtidos com a aplicação do agente antifúngico - gás  $\text{O}_3$  nas amostras de cavala mostraram algumas variações. Estas ocorreram no desenvolvimento e/ou suscetibilidade dos esporos de fungos - relacionados ao tempo de aplicação do gás: (a) dentro do mesmo tipo de conservação dos peixes ou quando comparado seu efeito (b) entre eles.

#### **3.1 Umidade e $A_w$**

Na tabela 11 são apresentados os resultados obtidos para as análises de umidade e  $A_w$ .

**Tabela 11:** Parâmetros de umidade e Aw de amostras frescas, secas e salgadas de cavala (*Acanthocybium solandri*) antes do tratamento com ozônio

Parâmetros*	Tipos de amostra		
	Fresca	Seca	Salgada
Umidade (%)	80,70±0,36 <sup>a</sup>	55,53±0,40 <sup>b</sup>	49,53±0,42 <sup>c</sup>
Aw	0,9800±0,00 <sup>a</sup>	0,7400±0,00 <sup>b</sup>	0,7000±0,00 <sup>c</sup>

\*média ± desvio padrão (n=3) as médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05) ao nível de 5% de probabilidade

Umidade: peixe fresco - como esperado, a umidade presente na amostra fresca de cavala inteira foi maior do que as processadas (secas e salgadas), atingindo 80,7%. Esse resultado foi comparado com estudos realizados para a truta (*Oncorhynchus mykiss*) com 87,3% e com o filé de peixe mapara (*Hypophthalmus edentatus*) com 76,9% (LÓPEZ et al., 2017; MACIEL et al., 2016). Esses altos valores de umidade obtidos foram considerados adequados, pois a amostra encontra-se em seu estado *in natura*, e são propensas a proliferação de microrganismos. Em relação às cavalas secas e salgadas a umidade atingiu 55,5 e 49,5%, respectivamente. Na literatura, autores têm publicado umidades semelhantes para esses tipos de conservação de peixes desidratados (secos e salgados). Baltazar et al. (2013) relataram valores de umidade variando de 49,14 a 55,71% em amostras de bacalhau salgado (*Gadus morhua*); Lima e Sant'Ana (2011) obtiveram valores de 52,3 e 49,6% ao comparar bacalhau do Atlântico e do Pacífico (ambos salgados), respectivamente.

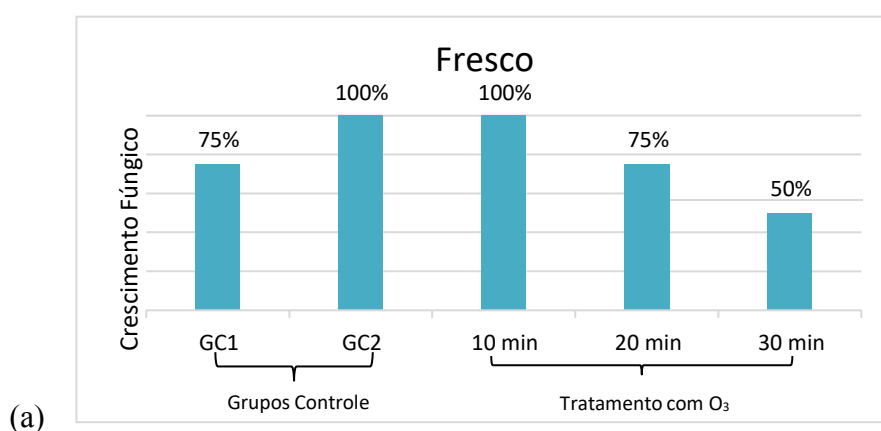
Aw: peixe fresco - comportamento semelhante ao da umidade para os três tipos de preservação, ocorreu para Aw. A cavala fresca apresentou a maior Aw (0,9800). Sabe-se que a Aw média a alta favorece o desenvolvimento de microrganismos e reações enzimáticas. Em estudos com diferentes espécies de peixes frescos, vários resultados para Aw foram encontrados, e variaram de 0,9630 a 0,9900 (LÓPEZ et al., 2017; NUWANTHIB et al., 2016; SANTOS et al., 2017). Por outro lado, os secos e salgados apresentaram valores de Aw (entre 0,7400 e 0,7000, respectivamente) próximos àqueles considerados inadequados para permitir o crescimento microbiano (FRANCO; LANDGRAF, 1999). Baltazar et al., (2013) registraram valores de 0,7500 para bacalhau salgado, enquanto Lima e Sant'Ana, (2011) estudando diferentes espécies de peixes encontraram valores Aw de 0,7420 a 0,7500. Quanto maior a Aw, mais rápido o crescimento dos microrganismos; daí a importância da Aw na conservação dos alimentos (MOLINA-FILHO et al., 2006). Valores de Aw entre zero e 0,20 indicam que a água está

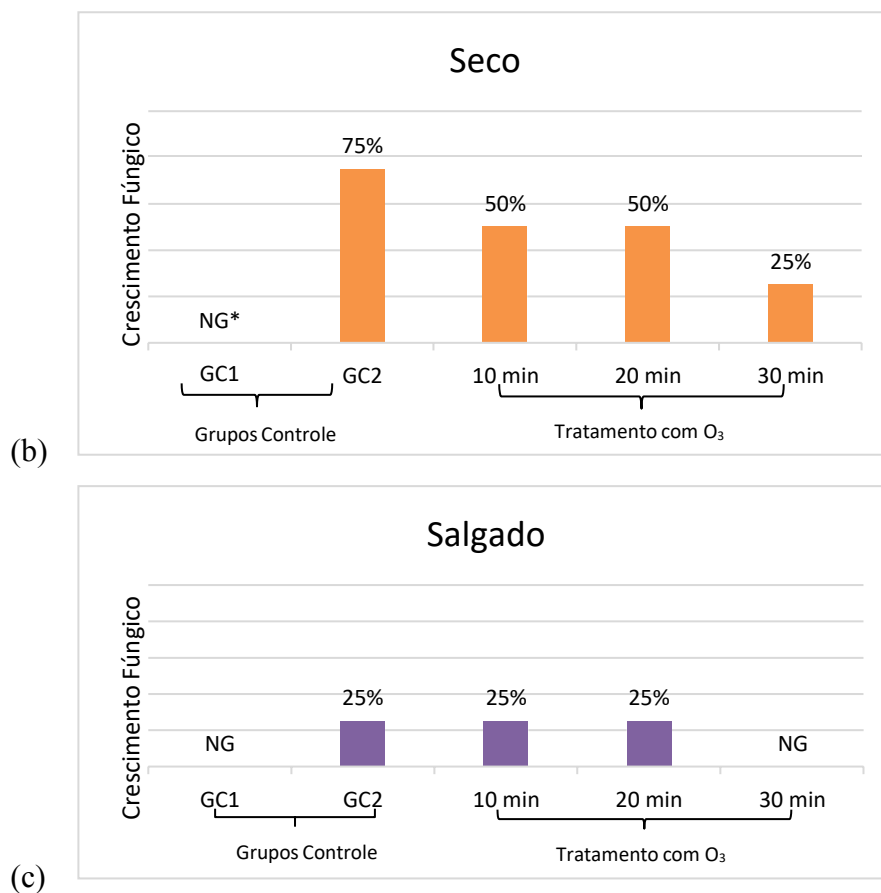
fortemente ligada, enquanto que de 0,70 a 1,00, a maior parte da água está livre para reações químicas/catalisações enzimáticas/desenvolvimento de microrganismos (FRANCO; LANDGRAF, 1999).

Umidade x  $A_w$ : os valores encontrados foram proporcionais quando comparados os dois parâmetros, à medida que a umidade diminuiu, a  $A_w$  também diminuiu. Estatisticamente falando, as amostras mostraram que há diferenças nos parâmetros em relação aos tipos de preservação das amostras. Ambos os parâmetros estão relacionados às isotermas de sorção, que são curvas de sorção de água que representam o equilíbrio em uma dada temperatura e pressão. Informações sobre isotermas de sorção são importantes no planejamento de uma aplicação no processo de desidratação (secagem) para segurança microbiológica. As características de sorção da carne do peixe podem ser afetadas por diferentes fatores, incluindo a presença de solutos dissolvidos (sal) e a temperatura (FELLOWS, 2006).

### 3.2 Efeito do $O_3$

Após a aplicação do gás  $O_3$  (concentração: 50  $\mu\text{mol } O_3/\text{mol}$ ; exposição: 20/10/30 min) nas amostras de peixes frescos, secos e salgados, foi registrado o efeito de inativação nos esporos de fungos durante os 7 dias de incubação. Os resultados estão registrados na Figura 15.a, b, c.





**Figura 16**(7º dia de incubação) [NG: sem crescimento, GC: grupo controle].

Fresco: o tratamento com O<sub>3</sub> na concentração aplicada neste experimento mostrou que houve redução no desenvolvimento fúngico de acordo com o tempo de exposição das amostras ao gás (100, 75 e 50% de crescimento fúngico por 10, 20 e 30 min, respectivamente). Entretanto, mesmo o maior tempo de exposição ao O<sub>3</sub> (30 min) aplicado sobre a cavala fresca não foi totalmente eficiente, inibindo apenas 50% do crescimento fúngico ao final do período de incubação (7º Dia). O peixe fresco é um alimento com alto nível de umidade e *A<sub>w</sub>*, o que favorece o crescimento de microrganismos. Dessa forma, as características de crescimento dos fungos puderam ser claramente observadas nas amostras do CG (exceto para os gêneros *Fusarium* – a serem discutidos na Seção 3.2).

Os peixes frescos são muito perecíveis e podem se deteriorar devido à proliferação de microrganismos; seu controle é baseado na utilização de baixas temperaturas, e, em alguns casos, combinando com atmosfera controlada quando embalado - vácuo ou CO<sub>2</sub> (ICMSF, 2015). A expectativa de vida dos peixes frescos é determinada principalmente por uma série de diferentes espécies de microrganismos, fatores que dependem da microbiota natural e o manejo da captura até o armazenamento (NEIVA, 2002).

Secas: para as amostras secas, quando expostas por 30 min ao gás, estas tiveram o crescimento fúngico inibido em até 75%, enquanto as amostras expostas por 10 e 20 min tiveram uma inibição de 50% ao final do 7º dia (Figura 16.b). Em relação aos grupos Controle (GC1 e GC2) como esperado, as amostras do GC1 não apresentaram crescimento ao longo do período. O oposto ocorreu com GC2 (inoculado com esporos de fungos) mostrando alguma proliferação fúngica no Dia 2 (apesar da condição de desidratação). A secagem consiste em dois fenômenos físicos distintos: a evaporação das águas superficiais e a passagem da água do centro do produto para sua superfície, o que impede a proliferação de microrganismos que precisam de umidade para se desenvolver (bactérias, leveduras e alguns fungos) (FERREIRA et al, 2002; SCUSSEL et al., 2018). Salgados: este tipo de método de conservação foi o que apresentou os melhores resultados quanto à inativação dos esporos do fungo quando comparado ao controle. As amostras expostas ao O<sub>3</sub> por 30 min não apresentaram formação de colônias durante o tempo de incubação, ou seja, 100% de inibição do desenvolvimento (Figura 16 c). A salga é um dos métodos de conservação mais antigos e eficientes conhecidos. Seu princípio baseia-se no uso de sal que, em concentração adequada, diminui ou mesmo evita a decomposição do alimento por autólise ou pela ação de microrganismos. Nesse caso, o sal tem a função de penetrar nos peixes e reduzir a quantidade total de água, reduzindo, assim, a disponibilidade hídrica para o crescimento de microrganismos ou ação enzimática (FERREIRA et al., 2002). As amostras de GC1 não apresentaram proliferação durante todo o período de incubação. O grupo GC2 e as amostras de GT expostas por 10 e 20 min ao gás apresentaram formação de colônias a partir do 3º dia, mas o crescimento não foi tão considerável. Importante ressaltar que, para o gás ser eficiente, deve-se tomar cuidado no seu armazenamento para evitar umidade, caso contrário fungos irão se desenvolver (VIEIRA et al., 2004).

Fungos *versus* O<sub>3</sub>: em relação à descontaminação de fungos em peixes utilizando o O<sub>3</sub> relatada na literatura, nenhum dado foi publicado até o momento para o conhecimento dos autores. O uso do O<sub>3</sub> em alimentos à base de proteína tem sido aplicado para seu armazenamento, seja em câmaras de congelamento ou armazéns frigoríficos (carnes, peixes, mariscos, queijos, embutidos, entre outros produtos) (VAZ-VELHO et al., 2006; CHAWLA et al., 2007). Pesquisas têm sido realizadas sobre o uso de O<sub>3</sub> a fim de garantir a qualidade e segurança dos peixes, porém levando em conta seu efeito (alta capacidade de oxidação) contra o crescimento bacteriano. Qualquer patógeno que possa

ser desinfetado, removido ou alterado por processos oxidativos pode ser afetado pela utilização do O<sub>3</sub> (GONÇALVES, 2009).

Para investigar a eficácia de novos mecanismos de aplicação de O<sub>3</sub>, estudos têm sido conduzidos especialmente para bactérias. Luiz et al. (2017) avaliaram a eficácia do O<sub>3</sub> em peixes contaminados com *Salmonella*, e observaram alguma eficiência para sua erradicação nas condições experimentais aplicadas; Silva (2015) avaliou a eficiência da água ozonizada como agente antimicrobiano também em peixes durante o processamento, obtendo uma redução de 91,78% das populações iniciais de bactérias mesófilas.

A contaminação por fungos pode causar inúmeras perdas econômicas associadas à redução de nutrientes, palatabilidade e presença de micotoxinas, afetando assim a saúde humana (SCUSSEL et al., 2018). Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de desenvolver métodos de descontaminação fúngica em alimentos, incluindo a utilização do O<sub>3</sub> (MCDONOUGH et al., 2011; GIORDANO et al., 2012; BEBER-RODRIGUES et al., 2015; SAVI et al., 2014; KREIBICH et al., 2016). Apesar disso, nenhum deles foi realizado utilizando peixes como amostras. O O<sub>3</sub> atua através da oxidação progressiva dos componentes celulares para destruir microrganismos, impedindo seu crescimento e a formação de micotoxinas (GUZEL-SEYDIM et al., 2004; SAVI et al., 2014). Esse efeito foi registrado no presente estudo.

### 3.3. Contagem total e suscetibilidade fúngica ao O<sub>3</sub>

A maioria dos peixes e seus derivados são perecíveis à temperatura ambiente e podem se deteriorar rapidamente devido à proliferação de microrganismos (ICMSF, 2015). Os microrganismos utilizam esse tipo de alimento como substrato para realizar suas atividades metabólicas, produzindo substâncias que conferem aroma e sabor desagradáveis (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Os resultados obtidos para contagem total de fungos ao final do 7º dia de incubação são apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12:** Contagem total de fungos em cavala (*Acanthocybium solandri*) tratada com O<sub>3</sub>

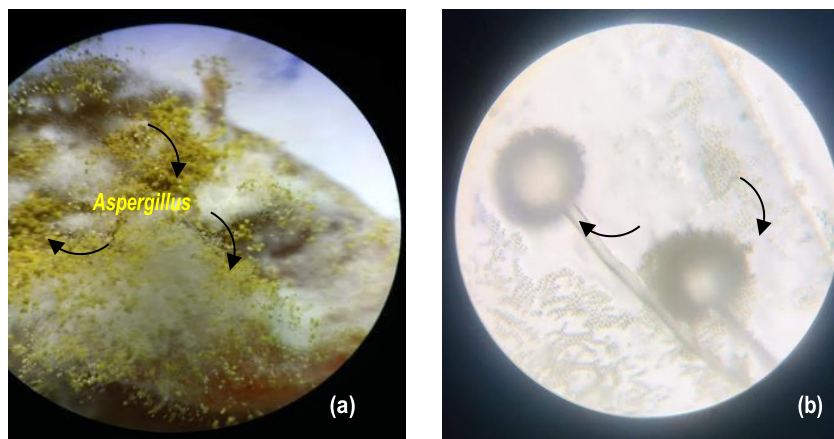
Aplicação do O <sub>3</sub> (min)	Amostras (CFU/g)*		
	Fresca	Seca	Salgada
10	>100	5,3 x 10 <sup>3</sup>	1,0 x 10 <sup>2</sup>
20	2,7 x 10 <sup>4</sup>	5,2 x 10 <sup>3</sup>	0,7 x 10 <sup>2</sup>
30	2,1 x 10 <sup>4</sup>	2,5 x 10 <sup>3</sup>	NG**

\* Dia 7; \*\*NG: sem crescimento; UFC: Unidade Formadora de Colônias

Contagem total dos fungos: os dados obtidos corroboram com os resultados expressos anteriormente para o crescimento fúngico. Pôde-se observar que o O<sub>3</sub> juntamente com o processamento do peixe salgado teve efeito sobre o crescimento fúngico, que foi completamente inibido com a aplicação de gás por 30 min ( $<1 \times 10^2$  UFC/g - GN). Por outro lado, o peixe fresco que estava sob um processo mínimo de conservação (*in natura*) teve menos influencia com a aplicação do O<sub>3</sub>, ou seja, o gás não foi capaz de inibir totalmente o desenvolvimento de fungos nesse tipo de amostra. A contagem total dessas amostras não pôde ser realizada na diluição 10<sup>4</sup> devido ao alto desenvolvimento de colônias ( $>100$ ). As amostras secas apresentaram crescimento fúngico relativamente baixo, com contagens de  $5,3 \times 10^3$ ,  $5,2 \times 10^3$  e  $2,5 \times 10^3$  quando expostas ao gás por 10, 20 e 30 min, respectivamente. Sugere-se que estudos sejam realizados com concentrações de O<sub>3</sub> maiores e maior tempo de exposição do que os aplicados neste trabalho, para ajustar a sua eficiência.

Quanto à identificação da resistência das cepas (*Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*) inoculadas neste estudo, o *Aspergillus* mostrou-se como o mais resistente nas condições aplicadas (Figura 17). Espécies de *Aspergillus* são consideradas iniciadoras de deterioração, podendo crescer com baixa umidade também. Esses fungos são potencialmente micotoxigênicos (MERONUCK, 1987, SCUSSEL, 2018). Há uma falta de regulamentação relacionada à carga fúngica para peixes (BRASIL, 2001). Portanto, mais estudos são necessários para determinar suas características de resistência e, assim, efetivamente inativá-la/destruí-la. As fontes mais comuns de contaminação dos peixes são o próprio manipulador, o armazenamento incorreto, durante o processo de comercialização ou mesmo na sua captura (MARTINS, 2006; GONÇALVES, 2011).





**Figura 17:** Desenvolvimento de colônias de *Aspergillus* em amostras frescas de cavala (*Acanthocybium solandri*) observadas em: (a) estereocópio e (b): microscópio [80x e 40x, respectivamente]

#### 4. CONCLUSÃO

O estudo mostrou que quanto maior a exposição ao  $O_3$ , melhores resultados no controle / redução do crescimento fúngico. As amostras de cavala fresca, quando tratadas com gás  $O_3$ , apresentaram a melhor eficiência de inativação dos peixes aos 20 minutos de exposição.

As amostras secas e salgadas apresentaram a maior eficiência de  $O_3$  em relação à redução de fungos, que foi uma combinação de (a) baixas condições de crescimento ( $\downarrow$  umidade e  $\uparrow$  cloreto de sódio) e (b) efeitos oxidantes do  $O_3$ .

A utilização do  $O_3$  para descontaminação do pescado em diferentes tipos de conservação (fresca, seca e salgada) mostrou-se adequado. Apesar disso, há necessidade de mais estudos sobre a concentração e o tempo de exposição ao gás, a fim de melhorar a eficiência de inativação de fungos.

## **CAPÍTULO 7**

### **1. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Pelo exposto neste trabalho, ficou evidenciado que a conservação, manutenção e o controle de qualidade do pescado, são aspectos importantes e um gargalo na indústria e para os estabelecimentos que comercializam esse tipo de alimento, pois é desse conjunto que depende a qualidade do produto final e a minimização de qualquer tipo de contaminação que poderia ocorrer no decorrer do caminho entre o momento de captura e chegada ao consumidor final.

Existem parasitos zoonóticos em peixes consumidos no Brasil com comprovação de sua ocorrência. Mesmo com a atualização da legislação sobre pescado em 2017 e 2018, a indústria deve lançar mão de outras opções para garantir a qualidade e a segurança dos pescados.

Do ponto de vista zoonótico, necessita-se de uma maior aplicabilidade, em todos os níveis, da legislação vigente para que possa garantir a segurança do consumidor. É importante também que haja entendimento por parte dos profissionais de saúde sobre estas parasitoses, levando ao correto número de notificações, evitando assim, a endemia de doenças de baixa incidência no Brasil.

A constante formação e atualização dos profissionais que trabalham com pescado e o processam (desde os pescadores até os trabalhadores da indústria, peixarias, distribuidoras, restaurantes, etc.), também representa um aspecto primário na prevenção da doença.

Por fim, informar a população em geral, alertando os indivíduos para os riscos implicados no consumo de alimentos potencialmente contaminados, pode resultar na prevenção de casos de anisakiase.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis and Communicable Diseases Common to Man and Animals**. 3ª ed., Vol. III, Scientific and Technical Publication. Washington, D.C., 395 p. 2003.

ACOSTA, A. A.; GODOY, A. T.; YAMADA, F. H.; BRANDÃO, H.; PAES, J. V. K.; BONGIOVANI, M. F.; MÜLLER, M. I.; PRISCILLA DE OLIVEIRA FADEL YAMADA RODRIGO BRAVIN NARCISO REINALDO JOSÉ DA SILVA. **Aspectos parasitológicos dos peixes**. In: SILVA, R.J. orgs. Integridade ambiental da represa de Jurumirim: ictiofauna e relações ecológicas [online]. UNESP, p. 115-192, 2016.

ADAMS, A. M.; MURREL, K. D.; CROSS, J. H. Parasites of fish and risk to public health. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, n. 6, p. 652-660, 1997.

ADAMS, A. M.; TON, M. N.; WEKELL, M. M.; MACKENZIE, A. P.; DONG, F. M. Survival of *Anisakis simplex* in arrowtooth flounder (*Atheresthes stomia*) during frozen storage. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 7, p. 1441–1446, 2005.

ADAMS, F.; NOLTE, F.; COLTON, J.; DEBEER, J.; WEDDING, L. Precooking as a control for histamine formation during the processing of tuna: an industrial process validation. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 3, p. 444-455, 2018.

AIBINU, I. E.; SMOOKER, P. M.; LOPATA, A. L. Anisakis Nematodes in Fish and Shellfish- from infection to allergies. **IJP: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 9, p. 384-393, 2019.

AKSE, L; BIRKELAND, S; TOBIASSEN, T; JOENSEN, S; LARSEN, R. Injection-salting and cold- smoking of farmed atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at different stages of rigor mortis: effect on physical properties. **Food Science**, v. 73, n. 73, p.378-382, 2008.

ALARCOS, A. J.; PEREIRA, A. N.; TABORDA, N. L. LUQUE, J. L.; TIMI, J. T. Parasitological evidence of stocks of *Paralichthys isosceles* (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) at small and large geographical scales in South American Atlantic coasts. **Fisheries Research**, v. 173, n. 3, p. 221-228, 2016.

ALEXANDRE, A. C. S.; ALBERGARIA, F. C.; VENÂNCIO, A. H.; RIBEIRO, A. P. L.; HADDAD, F. F.; TANAKA, M. S.; SOUZA, R. H.; GOMES, M. E. S. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Qualidade de peixes: uma breve revisão.** 1ª Edição, Guarujá, Científica Digital, 2021. Disponível em: <<file:///C:/Users/55619/Downloads/AvanosemCinciaieTecnologiadeAlimentos-Vol42021.pdf>>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2023.

ALEXANDRE, E. M. C., SANTOS-PEDRO, D. M., BRANDAO, T. R. S.; SILVA, C. L. M. Influence of aqueous ozone, blanching and combined treatment son microbial load of red bell peppers, strawberries and water cress. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 1, p. 277-282, 2011.

ALVAREZ, M. A.; MORENO-ARRIBAS, M. V. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. **Trends in Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 146-155, 2014.

ALVES, A. M. Metazoários **Parasitas e registro de espécies com potencial zoonótico em pescados da Família Lutjanidae do Nordeste Brasileiro.** 2017. 45f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) - Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente - Universidade Tiradentes, Aracaju, 2017.

ALVES, D. R.; SANTOS, D. S. Ocorrência de *Anisakis simplex* (nematoda: anisakidae) em bacalhau comercializado em Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos UniFOA**, v. 11, n. 31, 2016.

AMARAL, G. V.; FREITAS, D. G. C. Método do índice de qualidade na determinação do frescor de peixes. **Ciência Rural**, v.43, n.11, p.2093-2100, 2013.

AMIM, O.; HECKMANN, R. A.; RADWAN, N.; ANCHUNDIA, J. S. M.; ALCIVAR, M. A. Z. Redescription of *Rhadinorhynchus ornatus* (Acanthocephala: Rhadinorhynchidae) from Skipjack Tuna, *Katsuwonus pelamis*, Collected in the Pacific Ocean off South America, with Special Reference to New Morphological Features. **Journal of Parasitology**, v. 95, n. 3. P. 656-664, 2009.

ANDRADE, H. A. Taxa de captura para o bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) do sudoeste do oceano atlântico sul. Boletim do **Instituto de Pesca**, v. 34, n. 3, p. 391 - 402, 2008.

ANDRÉS-BELLO, A.; BARRETO-PALACIOS, V.; GARCÍA-SEGOVIA, P.; MIRBEL, J. E.; MARTÍNEZ- MONZÓ, J. Effect of pH on color and texture of food products. **Food Engineering Reviews**, v. 5, p.158-170, 2013.

ANSHARY, H.; SRIWULAN; FREEMAN, M. A.; OGAWA, K. Occurrence and Molecular Identification of *Anisakis* Dujardin, 1845 from Marine Fish in Southern Makassar Strait, Indonesia. **Korean Journal Parasitology**, v. 52, n. 1, p. 9-19, 2014.

AOKI, Y.; KITAGAWA, T.; KIYOFUJI, H.; OKAMOTO, S.; KAWAMURA, T. Changes in energy intake and cost of transport by skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) during northward migration in the northwestern Pacific Ocean. **Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography**, v.140, p.83-93, 2017.

AQUINO, C. M.; ROLLEMBERG, N. C.; SILVA, B. A.; RUNTZEL, C. L.; SILVA, N. C.; SCUSSEL, V. M. Diferentes parasitas em produtos de pesca: Uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA**, v. 13, n. 2, p. 266-288, 2019.

AQUINO, C. M.; SANTOS, G. G.; MARTINS, M. L.; SCUSSEL, V. M. Research of parasites with zoonotic potential for humans in skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Scientia Plena**, v. 17, n. 8, p. 1-7, 2021.

AQUINO, C.M.; BRASIL, E. M.; RIOFRIO, L.V. P.; COSTA, D. S.; MARTINS, M. L.; SCUSSEL, V. M.; TRIBUZI, G. Qualidade físico-química em bonito listrado (*Katsuwonus pelamis*). II CONBRACA – Congresso Brasileiro Online de Ciência dos Alimentos. **Anais. 2022**. p. 350-358, 2022.

Association of Official Analytical Chemists – AOAC. (2002). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th ed. Gaithersburg: AOAC.

AUDICANA, M. T.; ANSOTEGUI, I. J.; DE CORRES, L, F.; KENNEDY, M. W. *Anisakis simplex*: dangerous – dead and alive? **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 1, p. 20-25, 2002.

AUDICANA, M. T.; KENNEDY, M. W. *Anisakis simplex*: From obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 2, p. 360-379, 2008.

AUGUSTO, P. E. D. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**: v. 3 Atheneu; 1ª ed. 424 p. 2017.

BAHNA, S. L. Not every seafood "allergy" is allergy! **Ann Allergy Asthma Immunology**, v. 17, n. 5, p. 458-461, 2016.

BAILEY, M.; BURGESS, P. **Tropical Fishlopaedia**: A Complete Guide to Fish Care. 1 ed. Howell Books, 320 p, 2000.

BAIRD, F. J.; GASSER, R. B.; JABBAR, A.; LOPATA, A. L. Foodborne anisakiasis and allergy. **Molecular and Cellular Probes**, v. 28, n. 4, p. 167-174, 2014.

BAIXAS-NOGUERAS, S.; BOVER-CID, S.; VECIANA-NOGUES, T.; NUNES, M. L.; VIDAL-CAROU, M. C. Development of a quality index method to evaluate freshness in mediterranean hake (*Merluccius merluccius*). **Journal of Food Science**, v. 68, n. 3, p. 1067-1071, 2003.

BALTAZAR, C.; SANCHES, S. A.; TELLES, E. O.; MERUSSE, J. L. B.; BALIAN, S. C. Quality parameters of salt-dried codfish stored at both refrigerated and ambient temperatures. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 3, p. 236-242, 2013.

BAO, M.; PIERCE, G. J.; STRACHAN, N. J. C.; PASCUAL, S.; MUNOZ, M. G.; LEVSEN, A. Human health, legislative and socioeconomic issues caused by the fish-borne zoonotic parasite *Anisakis*: Challenges in risk assessment. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 298–310, 2019.

BARBOSA, R. G. **Avaliação da qualidade de recursos pesqueiros pós captura ao enlatamento**. 2017. 237f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

BARROS, C. G. Perda da Qualidade do Pescado, Deterioração e Putrefação. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v.2, n.30, p.59-66, 2003.

BARROS, L. A.; TORTELLY, R.; PINTO, R. M.; GOMES, D.C. Effects of experimental infections with larvae of *Eustrongylides ignotus* Jäegerskiöld, 1909 and *Contraecaecum*

*multipapillatum* (Drasche, 1882) Baylis, 1920 in rabbits. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n.3, p.325-332, 2004.

BARROS, M. M.; LIM, C.; KLESIUS, P. H. Effect of soybean meal replacement by cottonseed meal and iron supplementation on growth, immune response and resistance of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. **Aquaculture**, v. 207, p. 263-279, 2002.

BEBER-RODRIGUES, M.; SAVI, G. D.; SCUSSEL, V. M. Ozone effect on fungi proliferation and genera susceptibility of treated stored dry paddy rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Food Safety**, v. 35, n. 1, p. 59-65, 2015.

BERLAND, B. **Musings on Nematode Parasites**. Report for Institute of Marine Research, 11. Bergen, Norway: Biologisk institutt, University of Bergen. pp. 29-33, 2006.

BERLAND, B. Nematodes from some Norwegian marine fishes. **Sarsia**, v. 2, n. 1, p. 1–50, 1961.

BERNARDES, L. C.; FERNANDES, R. B.; FREITAS, R. S.; GONÇALVES, I. O.; HONÓRIO, F. C.; LOMBARDI, M. C. M.; CAFFINI, F. C.; NORONHA, C. R. S. A relevância dos processos de acondicionamento e armazenamento de pescados. **ANALECTA-Centro Universitário Academia**, v. 6, n. 3, p. 1-20, 2021.

BERNARDI, D. C.; MÁRSICO, E. T.; FREITAS, M. Q. Quality Index Method (QIM) to assess the freshness and shelf life of fish. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 4, p. 587-598, 2013.

BERNARDO, Y. A. A. **Indicadores de frescor de peixe para monitoramento da qualidade: visão crítica e alternativas**. 2020. 96f. Dissertação, (Mestrado)-Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

BEVERIDGE, I.; HASELI, M.; IVANOV, V. A.; SCHAEFFNER, B. C. *Trypanorhyncha* Diesing, 1863. In: CAIRA, J. N.; JENSEN, K. (Eds.), **Planetary Biodiversity Inventory (2008-2017): Tapeworms from Vertebrate Bowels of the Earth**. Lawrence: University of Kansas, Natural History Museum, Special Publication, v. 25, p. 402-429, 2017.

BOZZOLA, J. J.; RUSSEL, L. D.; **Eletron microscopy: principles and techniques for biologists**. 2 ed. London / Boston: Jones and Bartlett Publishers, 1999. 670p.

BRABO, M. F.; PEREIRA, L. F. S.; SANTANA, J. V. M.; CAMPELO, D. A. V.; VERAS, G. C. Current scenario of fish production in the world, Brazil and Pará State: emphasis on aquaculture. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 2, p. 50-58, 2016.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília: **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, que disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 de março de 2017, Brasília, DF, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Memorando-Circular nº 2/2018/CGI/DIPOA/MAPA/SDA/MAPA de 08 de fevereiro de 2018. Controle oficial de verificação de parasitas em pescados. Orientações. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 09 de fevereiro de 2018, Brasília, DF, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Regulamento de Inspeção Indústria e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Aprovado pelo Decreto 30.691 de 29 de março de 1952. Rio de Janeiro. 1952. Alterado pelo Decreto 29.093, de 30/04/1956, Decreto 1.255, de 25/06/1962, Decreto 1.236, de 02/09/1994, Decreto 1.812, de 08/02/1996, Decreto 2.244, de 04/06/1997 e Decreto 6.385 de 27/02/2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020, o qual dispõe sobre o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2020.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, DE 4 DE FEVEREIRO DE 2015. Institui o Programa Nacional de Sanidade de Animais



Aquáticos de Cultivo - "Aqüicultura com Sanidade". **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 09 de maio de 2015, Brasília, DF, 2015.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 29, DE 22 DE DEZEMBRO DE 2014. Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Embarcações Pesqueiras e Infraestruturas de Desembarque de Pescado - Embarque Nessa. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 de dezembro de 2014, Brasília, DF, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2019, Brasília, DF, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Seção 1, p.45-53. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.

BUCCI, C.; GALLOTTA, S.; MORRA, I.; FORTUNATO, A.; CIACCI, C.; IOVINO P. *Anisakis*, just think about it in an emergency! **International Journal of Infectious Diseases**, v. 17, p. 11, p. e1071- e1072, 2013.

BUCHMANN, K.; MEHRDANA, F. Effects of anisakid nematodes *Anisakis simplex* (s.l.), *Pseudoterranova decipiens* (s.l.) and *Contracaecum osculatum* (s.l.) on fish and consumer health. **Food and Waterborne Parasitology**, v.4, p. 13-22, 2016.

BUSH, A. O., FERNÁNDEZ, J. C., ESCH, G. W.; SEED, J. R. **Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites**. Cambridge: Cambridge University Press, 566 p, 2001.

CABALLERO, M. L.; MONEO, I. Several allegerms from *Anisakis simplex* are highly resistant to heat and pepsin treatments. **Parasitology Research**, v. 93, n. 3, p. 248-251, 2004.

CALDEIRA, A. J. R.; ALVES, C. P. P.; SANTOS, M. J. *Anisakis* notification in fish: an assessment of the cases reported in the European Union Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) database. **Food Control**, v. 124, p. 107913, 2021.

CALDEIRA, A. J. R.; ARAÚJO, R. B.; SANTOS, M. J. É seguro consumir pescado cru? Uma perspectiva sobre a ocorrência de *Anisakis* spp. em produtos de pesca. **Revista Anápolis Digital**, v. 12, n. 3, p. 41-60, 2020.

CARBALLEDA-SANGIAO, N.; RODRÍGUEZ-MAHILLO, A. I.; CARECHE, M.; NAVAS, A.; MONEO, I.; GONZÁLEZ-MUÑOZ, M. Changes over time in IgE sensitization to allergens of the fish parasite *Anisakis* spp. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 7, p. 1-11, 2016.

CÁRDENAS, M. Q.; MORAVEC, F.; KOHN, N. First record of *Philometra katsuwoni* (Nematoda, Philometridae), a parasite of skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* (Perciformes, Scombridae), off South American Atlantic Coast. **Biota Neotrópica**, vol. 9, no. 2, p. 263-266, 2009.

CARDIA, D. F. F.; BRESCIANI, K. D. S. Helmintoses zoonóticas transmitidas pelo consumo inadequado de peixes. **Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 1, p. 55–65, 2012.

CARMO, F.B. T.; MÁRSICO, E. T.; CLEMENTE, S. C. S.; CARMO, R. P.; FREITAS, M. Q. Histamina em conservas de sardinha. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 174-180, 2010.

CARVALHO, R. P. S.; TAKEMOTO, R. M.; MELO, C. M.; JERALDO, V. L. S.; MADI, R. R. Structure of the parasite infra community of *Sciades proops* from the Japarutuba River Estuary, Sergipe, Brazil. **Brazilian Journal of Biology (Online)**, v.75, n. 4, p. 906-913, 2015.

CASTELLANOS-GARZÓN, J. A.; FALLA-ZÚÑIGA, L. F.; SALAZAR, L.; PUSTOVRH-RAMOS, M. C. Anisákidos y anisakidosis: generalidades y su actualidad en Colombia. Revisión bibliográfica. **Iatreia**, v. 33, n. 2, p. 143-154, 2020.

CAVALCANTI, E. T. S.; NASCIMENTO, W. S.; TAKEMOTO, R. M.; ALVES, L. C.; CHELLAPPA, S. Ocorrência de crustáceos ectoparasitos no peixe ariacó, *Lutjanus synagris* nas águas costeiras do Rio Grande do Norte, Brasil. **Biota Amazônia**, v.3, n. 1, p. 94-99, 2013.

CAVALCANTI, E. T. S.; TAKEMOTO, R. M.; ALVES, L. C.; CHELLAPPA, S. First report of metazoan fish parasites with zoonotic potential in *Scomberomorus brasiliensis*

and *Trichiurus lepturus* from the coastal waters of Rio Grande do Norte, Brazil. **Marine Biodiversity Records**, v.5, n. 40, p.1-4, 2012.

CEE. Segurança alimentar: medidas reforçadas. A pesca na Europa. **Publicação da Comissão Europeia- direção Geral da Pesca**, v.1, n.11, 2002.

CHAGAS, V. R. S.; GASPAR, A.; RAMOS, G. D. M.; SANTOS, R. R.; PAULA, L.C. Qualidade física e química de sardinhas em pré e pós processamento. **Revista Ciência da Vida**, v. 30, n. 2, p. 25–36, 2010.

CHAI, J. Y.; DARWIN MURRELL, K; LYMBERY, A. J. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 11-12, p. 1233-1254, 2005.

CHAN-WOONG, P.; JONG-SOON K.; HYUN-SOO, J.; JIN, K. A Human Case of *Clinostomum complanatum* Infection in Korea. **Korean Journal of Parasitology**, v. 47, n. 4, p.401-404, 2009.

CHAVES, C. M.; CHAVES, C.; ZOROQUIAIN, P.; BELFORT JÚNIOR, R.; BURNIER JUNIOR, M. N. Ocular *Gnathostomiasis* in Brazil: a case report. **Ocular Oncology and Pathology**, v. 2, n. 3, p. 194–196, 2016.

CHAWLA, A.; BELL, J. W.; MARLENE, E. J. Optimization of Ozonated Water Treatment of Wild-Caught and Mechanically Peeled Shrimp Meat. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 16, n. 2, p. 41-56, 2007.

CHRIST, D.; SAVI, G. D.; SCUSSEL, V. M. Effectiveness of Ozone Gas in Raw and Processed Food for Fungi and Mycotoxin Decontamination - A Review. **Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 326-348, 2016.

CHYTIRI, S.; CHOULIARA, I.; SAVVAIDIS, I. N.; KONTOMINAS, M. G. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. **Food Microbiology**, v. 21, n. 2, p. 157-165, 2004.

CICERO, L. H.; FURLAN, E. F.; TOMINA, R. Y.; PRISCO, R. T. C.; SAVOY, V. L. T.; NEIVA, C. R. P. Estudo das metodologias de destilação na quantificação do

Nitrogênio das Bases Voláteis Totais em pescada, tilápia e camarão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 3, p. 192-197, 2014.

CICERO, L. H.; NEIVA, C. R. P.; FURLAN, É. F. Nitrogênio das bases voláteis totais - BVT em pescado: proposta de uma metodologia sustentável. VIII Seminário de Iniciação Científica do Instituto de Pesca. **Anais...** Santos-SP, 2012.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex Standard for Salted Fish and Dried Salted Fish of the Gadidae Family of Fishes**. Codex Stan 167. 1989. 10 p.

CODEX ALIMENTARIUS. **Norma del Codex para Filetes de Pescado Congelados Rápidamente**. CODEX STAN 190-1995.

COLETTI, J.; PINHO, M.; MADUREIRA, L. Operational oceanography applied to skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) habitat monitoring and fishing in south-western Atlantic. **Fisheries Oceanography**, v. 28, n. 1, p. 1-12, 2018.

COLLETTE, B. B.; NAUEN, C. E. FAO Species Catalogue. Scombrids of the World. An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species known to date. **FAO Fisheries Synopses**, vol. 2, 137p. 1983.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 409p, 1994.

CORDEIRO, D. D. **Método de Índice de Qualidade (MIQ): Determinação do Prazo de Vida Útil de Corvinas (*Micropogonias furnieri*, linnaeus, 1766) Inteiras Estocadas em Gelo**. 2019. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2019.

COSTA, L. M. **O atum em Portugal de 1896 a 2011: Contributos para a sua história ambiental, ecológica e económica**. 2013. 84f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Gestão Ambiental) – Departamento de Biologia Animal, Faculdade de Ciências - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2013.

CRITES, J. L.; OVERSTREET, R. M.; MAUNG, M. *Ctenascarophis lesteri* n. sp. and *Prospinitectus exiguous* n. sp. (Nematoda: Cystidicolidae) from the skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*. **Journal of Parasitology**, v. 79, p. 847-859, 1993.

CUNHA, F. F. R. **Anisaquíase: Revisão de uma parasitose emergente causada por *Anisakis Spp.*** 2017. 54f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Almada, 2017.

CVO/FOOD SAFETY KNOWLEDGE CENTRE. **Water content and water activity: two factors that affect food safety.** 2015. Disponível em <[http://www.gov.mb.ca/agriculture/food-safety/at-the-food-processor/water-content-ater-ctivity.html#water\\_content](http://www.gov.mb.ca/agriculture/food-safety/at-the-food-processor/water-content-ater-ctivity.html#water_content)> Acesso em 19 de novembro de 2022.

DANI, C. M. C.; MOTA, K. F.; SANCHOTENE, P. V.; PIÑERO-MACEIRA, J.; MAIA, C. P. A. *Gnatosomíase* no Brasil - Relato de caso. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 4, p. 400–404, 2009.

DANQUAH, A.; BENJAKUL, S.; SIMPSON, B. K. Biogenic Amines in Foods. In: Simpson, B.K. **Food Biochemistry and Food Processing**, v. 43, p. 820-832, 2012.

DASCHNER, A.; CUELLAR, C.; RODERO, M. The *Anisakis* allergy debate: does na evolutionary approach help? **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 1, p. 9-15, 2012.

DEARDORFF, T. L.; KENT, M. L. Prevalence of larval *Anisakis simplex* in pen-reared and wild-caught salmon (*Salmonidae*) from Puget Sound, Washington. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 25, n. 3, p. 416–419, 1989.

DECAGON, Manual AquaLab ATE Series Manual. Disponível em <<http://aqualab.decagon.com.br/educacao/aqualab-series-4te-manual/>> Acesso: janeiro, 2017.

DEDEH, S. S. **Fish Processing.** 2003. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/fish-processing>>. Acesso em: 14 de outubro de 2022.

DEMONCHEAUX, J. P.; MICHEL, R.; MAZENOT, C.; DUFLOS, G.; IACINI, C.; DELAVAL, F.; SAWARE, E. M.; RENARD, J-C. A large outbreak of scombroid fish poisoning associated with eating yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) at a military mass catering in Dakar, Senegal. **Epidemiology and Infection**, v. 140, n. 6, p. 1008–1012, 2012.

DHANEESH, K. V.; NOUSHAD, K. M.; AJITHKUMAR, T. T. Nutritional Evaluation of Commercially Important Fish Species of Lakshadweep Archipelago, India. **PLOS ON**, v. 7, p. 1-7, 2012.

DIAS, F. J. E.; SÃO CLEMENTE, S. C.; KNOFF, M. Larvae of *Anisakidae* nematodes and *Trypanorhyncha* cestodes of public health importance in *Aluterus monoceros* (Linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 94-97, 2010.

DIAS, L. N. S. **Cestóides da ordem trypanorhyncha em peixes de importância comercial capturados no litoral amazônico**. 2008. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

DOS SANTOS, C. A. M. Doenças Transmitidas por Pescado no Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, n. 4, p. 234-241, 2010.

EC - EUROPEAN COMMISSION. RASFF for safer food. **The Rapid Alert System for Food and Feed - 2014 annual report**. European Union, 2015.

EC - EUROPEAN COMMISSION. RASFF for safer food. **The Rapid Alert System for Food and Feed - 2015 annual report**. European Union, 2016.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. **EFSA Journal**, v. 16, n. 12, 262p., 2018.

EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Fundação Eng. António de Almeida, Porto, 339p., 1994.

EIRAS, J. C. PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; YAMAGUCHI, M. U.; KARKLING, L. C.; NAWA, Y. Potential risk of fish-borne nematode infections in humans in Brazil – Current status based on a literature review. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 5, p. 1–6, 2016.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. 2<sup>a</sup> ed. Maringá: Eduem, 2006.

EMBORG, J.; PAW, D. Growth, inactivation and histamine formation of *Morganella psychrotolerans* and *Morganella morganii* — development and evaluation of predictive models, International. **Journal of Food Microbiology**, v. 128, n. 2, p. 234-243, 2008.

EUROPEAN COMMISSION REGULATION - ECR No 853/2004. **Laying down specific hygiene rules for the hygiene of foodstuffs**, 2004.

European Commission Regulation - ECR No 853/2004. Laying down specific hygiene rules for the hygiene of foodstuffs, 2004.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA. Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products. **EFSA Journal**, v. 8, n. 1543. 91pp, 2010.

EVANGELISTA, W. P. **Prevalência de histamina em peixes escombrídeos e intoxicação histamínica no brasil de 2007 a 2009**. 2010. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

EVANGELISTA, W. P.; SILVA, T. M.; GUIDI, L. R.; TETTE, P. A. S.; BYRRO, R. M. D; SANTIAGO-SILVA, P.; FERNANDES, C.; GLORIA, M. B. A. Quality assurance of histamine analysis in fresh and canned fish. **Food Chemistry**, v. 211, p. 100-106, 2016.

FAESTE, C. K.; JONSCHER, K. R.; DOOPER, M. M. B. W.; EGGE-JACOBSEN, W.; MOEN, A.; DASCHNER, A.; EGAAS, E.; CRISTÃOS, U. Characterisation of potential novel allergens in the fish parasite *Anisakis simplex*. **EuPA Open Proteomics**, v. 4, p. 140–155, 2014.

FAESTE, C. K.; PLASSEN, C.; LOVBERG, K. E.; MOEN, A.; EGAAS E. Detection of proteins from the fish parasite *Anisakis simplex* in norwegian farmed salmon and processed fish products. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 6, p. 1390-1402, 2015.

FAESTE, C.K.; JONSCHER, K. R.; DOOPER, M. M. B. W.; EGGE-JACOBSEN, W.; MOEN, A.; DASCHNER, A.; EGAAS, E.; CHRISTIANS, U. Characterisation of potential novel allergens in the fish parasite *Anisakis simplex*. **EuPA Open Proteomics**, v. 4, p. 140–155, 2014.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Sustainability in action. Rome. 2020.

FAO/WHO. Codex Alimentarius: **Standard for Quick Frozen Fish Fillets**: Adopted in 1995 and Revised in 2017. Codex Alimentarius Commission: Codex Standard 190 – 1995, 2017.

FARIAS, M. DO C. A.; FREITAS, J. DE A. Avaliação sensorial e físico-química de pescado processado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 2, p. 175–179, 2011.

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Fish and fishery products hazards and controls guidance**. Center for Food Safety & Applied Nutrition, 2011.

FDA – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Fish and fishery products hazards and controls guide**. 3 ed. Washington DC: FDA - Center for food safety and applied nutrition. 2001.

FDA. **Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins**. 2 ed. Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) of the Food and Drug Administration (FDA), U.S. Department of Health and Human Services, Silver Springs, USA, 2012.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: Princípios e prática**. Porto Alegre, Artmed, 2<sup>a</sup> ed. 602 p. 2006.

FENG, C.; TEUBER, S.; GERSHWIN, M. E. Histamine (Scombroid) Fish Poisoning: a Comprehensive Review. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 50, p. 64-69, 2016.

FERNÁNDEZ-DELGADO, F. J.; MARTÍNEZ-CASTILLO, R.; LASANTA-MELERO, B.; GAITERO-REINA, C.; DOMÍNGUEZ-ESCOBAR, J. F. Infección por *Anisakis* con presentación atípica: a propósito de un caso (*Anisakis* infection with atypical presentation: Report of a case). **SEMERGEN - Medicina de Familia**, v. 41, n. 3, p. 176–177, 2015.

FERREIRA, E. M.; LOPES, I. S.; PEREIRA, D. M.; RODRIGUES, L. C.; COSTA, F. N. Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo



utilizado na sua conservação. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 49-54, 2014.

FERREIRA, M. F.; SÃO CLEMENTE, S. C.; TORTELLY, T.; LIMA, F. C.; NASCIMENTO, E. R.; OLIVEIRA, G. A.; LIMA, A. R. Parasitas da ordem *Trypanorhyncha*: sua importância na inspeção sanitária do pescado. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 13, n. 3, p. 190-193, 2006.

FERREIRA, M. W.; SILVA, V. K.; BRESSAN, M. C.; FARIA, P. B.; VIEIRA, J. O.; ODA, S. H. I. Pescados processados: Maior vida de prateleira e maior valor agregado. Boletim de extensão rural. Universidade Federal de Lavras- MG 2002.

FIORENZA, E. A.; WENDT, C. A.; DOBKOWSKI, K. A.; KING, T. L.; PAPPAIONOU, M.; RABINOWITZ, P.; SAMHOURI, J. F.; WOOD, C. L. It's a wormy world: meta-analysis reveals several decades of change in the global abundance of the parasitic nematodes *Anisakis* spp. and *Pseudoterranova* spp. in marine fishes and invertebrates. **Global Change Biology**, v. 26, n. 5, p. 2854-2866, 2020.

FLICK, G. J.; GRANATA, L. A. **Biogenic Amines in Foods, Handbook of Toxins in Food**. CRC Press: Estados Unidos da América, Cap. 6, 344p. 2005.

FONTENELLE, G.; KNOFF, M.; FELIZARDO, N. N.; TORRES, E. J.; LOPES, L. M.; GOMES, D. C.; CLEMENTE, S. C. *Anisakidae* and *Raphidascarididae* larvae parasitizing *Selene setapinnis* (Mitchill, 1815) in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 72-77, 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Disponível em: <<https://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en>>. Acessado em: 01 de fevereiro de 2023.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **Fish and fishery products hazards and controls guidance**. 4ªed., cap. 7, p. 113-152. Washington: Office of Seafood, 2011.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 182p.

FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FREIRE, J. F.; FILHO, D. S. T.; SOUZA, G. T. R.; MADI, R. R.; ALVES, A.M.; MELO, C. M. Fauna Parasitária de Escombrídeos (Perciformes: *Scombridae*) desembarcados no Terminal Pesqueiro de Aracaju. **Anais 2016**: 18ª Semana de Pesquisa da Universidade Tiradentes. “A prática interdisciplinar alimentado a Ciência”, p. 1–4, 2016.

FREITAS, J.; VAZ-PIRES, P.; CÂMARA, J. S. Freshness Assessment and Shelf-Life Prediction for *Seriola dumerili* from Aquaculture Based on the Quality Index Method. **Molecules**, v. 24, n. 19, p. 3530, 2019.

FREITAS, J.; VAZ-PIRES, P.; CÂMARA, J. S. From aquaculture production to consumption: Freshness, safety, traceability and authentication, the four pillars of quality. **Aquaculture**, v. 518, 2020.

FREITAS-SILVA, O.; MORALES-VALLE, H.; VENANCIO, A. Potential of aqueous ozone to control aflatoxigenic fungi in brazil nuts. **Biotechnology**, v.13, p.1-6, 2013.

FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. **Studies in mycology**, v. 49, n. 1, p. 1-174, 2004.

GAJADHAR, A. A. **Foodborne Parasites in the Food Supply Web**: Occurrence and Control. 1 ed. Woodhead Publishing, 482 p, 2015.

GAN, S. D.; PATEL, K. R. Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 9, p. 1-3, 2013.

GARCIA, S. S. A. **Desenvolvimento do método do índice de qualidade do peixe voador (*Hirundichthys affinis*, GÜNTHER, 1866) inteiro armazenado em gelo. 2017**. 113f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

GASPAR, A.; SILVA, T. J. P. Validade comercial e aceitabilidade da carne de Tartaruga-da-Amazônia (*P. expansa*). **Acta Amazônica**, v.39, n.3, p.669-674, 2009.

GASPAR, P. D.; DOMINGUES, C.; GONÇALVES, L. C. C.; ANDRADE, L. P. Avaliação da qualidade e segurança alimentar pela previsão do crescimento microbiano em diferentes condições de conservação. **Proceedings of V Congreso Ibérico y III Congreso Iberoamericano de Ciencias y Técnicas del Frío (CYTEF-2009)**, Castelló, Espanha, 2009.

GIORDANO, B. N. E.; NONES, J.; SCUSSEL, V. M. Susceptibility of the in-shell Brazil nut mycoflora and aflatoxin contamination to ozone gas treatment during storage. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 8, p. 1-10, 2012.

GLORIA, M. B. A. **Bioactive Amines, Handbook of science, technology, and engineering**. CRC Press – Estados Unidos da América, v. 1. cap. 13, 2005.

GOMEZ-MORALES, M. A.; LUDOVISI, A.; GIUFFRA, E.; MANFREDI, M. T.; PICCOLO, G.; POZIO, E. Allergenic activity of *Molicola horridus* (Cestoda, *Trypanorhyncha*), a cosmopolitan fish parasite, in a mouse model. **Veterinary Parasitology**, v. 157, n. 3-4, p. 314-320, 2008.

GONÇALVES A. A. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. Atheneu, São Paulo, 608p. 2011.

GONÇALVES, A. A. Ozone – an Emerging Technology for the Seafood Industry. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, v. 52, n. 6, p. 1527-1539, 2009.

GONÇALVES, A. A.; KECHINSKI, C. P. **Ozone technology in food industry**. In: Brendam C. Siegler. (Org.). Refrigeration: Theory, Techonology and Aplications. Hauppauge, Nova York, 423p., 2011.

GONÇALVES, A. Q.; PINTO, R. M.; DURETTE-DESSET, M. C. Parasitism of two zoonotic reservoirs *Dasyprocta leporina* and *D. fuliginosa* (Rodentia) from Amazonas, with *Trichostrongylina* nematodes (*Heligmonellidae*): description of a new genus and a new species. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 6, p. 763-768, 2007.

GONÇALVES, C. H. S.; PIMENTA, G. M.; REIS, A. B. G.; FIGUEIRA, S. V.; ALVES, F. M.; PARANAIBA, W. C. R. B.; SANTOS, T. P.; SILVA, B. P. A.; PONTES, S. R. L.; FILHO, L. I. C. Presença de parasitos em peixes do rio São Bartolomeu. **Vita et Sanitas**, v. 16, n.1, p. 133-142, 2022.

GOUVEIA, N. N. F. **Desenvolvimento de uma metodologia analítica para determinação de aminas biogénicas em tunídeos**. 2009. 83f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Aplicada) - Departamento de Química, Universidade da Madeira, 2009.

GRAÇA, R. J.; MACHADO, M. H. Ocorrência e aspectos ecológicos de metazoários parasitos de peixes do Lago do Parque do Ingá, Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 29, n. 3, p. 321-326, 2007.

GUARDONE L; ARMANIA; NUCERA D; COSTANZO F; MATTIUCCI S; BRUSCHI F. Human anisakiasis in Italy: a retrospective epidemiological study over two decades. **Parasite**, v. 25, n. 41, p. 1-21, 2018.

GUÉRIN, T.; CHEKRI, R.; VASTEL, C.; SIROT, V.; VOLATIER, J-L.; LEBLANC, J-C.; NOËL, L. Determination of 20 trace elements in fish and other seafood from the French market. **Food Chemistry**, v. 127, n.3, p. 934-942, 2011.

GUIMARÃES, T. S.; FERREIRA, M. F.; DONATELE, D. M.; LUCINDO, M. B. Qualidade parasitológica da pescada branca no litoral sul do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 12, n. 4, p. 450-459, 2018.

GUZEL-SEYDIM, Z.; GREENE, A.K.; SEYDIM, A.C. Use of ozone in the foodindustry. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, v.37, p.453-460, 2004.

HERMIDA, M.; CAVALEIRO, B.; GOUVEIA, L.; SARAIVA, A. Parasites of skipjack, *Katsuwonus pelamis*, from Madeira, Eastern Atlantic. **Parasitology Research**, v. 117, n. 4, p. 1025-1033, 2018.

HOSHINO, M. D. F. G. **Parasito fauna em peixes Characidae e Acestrorhynchidae da Bacia do Igarapé Fortaleza, Estado do Amapá, Amazônia Oriental**. 2013. 85f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) - Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2013.

HOSOMI, R.; YOSHIDA, M.; FUKUNAGA, K. Seafood Consumption and Components for Health. *Global Journal of Health Science*, v. 4, n. 3, p. 72-86, 2012.

HOWGATE, P. A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 1: Determination. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 29-57, 2010.

HOWGATE, P. A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 2. Formation of the bases, and application in quality assurance. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 9, p. 55-88, 2010.

HUNGERFORD, J. M. Histamine and Scombrottoxins. **Toxicon**, v. 201, p. 115-126, 2021.

HUNGERFORD, J. M. Scombroid poisoning: a review. **Toxicon**, v. 56, p. 231-243, 2010.

ICCAT- INTERNATIONAL COMMISSION FOR THE CONSERVATION OF ATLANTIC TUNAS. **Report for biennial period, 2021-21 Part I**. Report ICCAT Madrid, Spain, 2021.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIOS FOR FOODS (ICMSF). **Microrganismos em Alimentos 8** – Utilização de Dados para Avaliação do Controle de Processo e Aceitação de Produto. EDGARD BLUCHER FRANCO, B. G. M.; TANIWAKI, M. H.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. 522p, 2015

IVANOVIĆ, J.; BALTIC, M. Z.; BOSKOVIC, M.; KILIBARDA, N.; DOKMANOVIC, M.; MARKOVIC, R.; JANJIC, J.; BALTIC, B. *Anisakis* allergy in human. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 25-29, 2017.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern food microbiology**. 7<sup>a</sup> ed. New York: Springer, 2005. 790p.

JUNIOR, I. F.; VERÍCIMO, M.; SÃO CLEMENTE, S.; TEIXEIRA, G. Anisaquiose Humana. **Revista de pediatria SOPERJ**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2013.

JUSTO, M. C. N. KOHN, A.; PEREIRA, C. S.; FLORES-LOPES, F. Histopathology and autoecology of *Didymocylindrus simplex* (Digenea: Didymozoidae), parasite of

*Katsuwonus pelamis* (Scombridae) in the Southwestern Atlantic Ocean, off South America. **Zoologia**, v. 30, n. 3, p. 312–316, 2013.

JUSTO, M. C. N. LEÃO, M. S. L.; KOHN, A.; FLORES-LOPES, F. Pathological Alterations Induced by *Pozdnyakovia gibsoni* (Digenea, Didymozoidae), a Parasite of the Skipjack Tuna, *Katsuwonus pelamis* (Scombridae). **Comparative Parasitology**, v. 82, n. 2, p. 301–303, 2015.

KANG, C. R.; KIM, Y. Y.; LEE, J. I.; JOO, H. D.; JUNG, S. W.; CHO, S.-I. An outbreak of scombroid fish poisoning associated with consumption of yellowtail fish in Seoul, Korea. **Journal of Korean medical Science**, v, 33, n. 38, p. e235, 2018.

KASUYA, S.; HAMANO, H; IZUMI, S. Mackerel-induced urticaria and *Anisakis*. **Lancet**, v. 335, p. 665, 1990.

KHALIL, M. I.; EL-SHAHAWY, I. S.; ABDELKADER, H. S. Studies on some fish parasites of public health importance in the southern area of Saudi Arabia. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 4, p. 435–442, 2014.

KIM, M. J.; JUNG, B. K.; CHO, J.; KIM, D. G.; SONG, H.; LEE, K. H.; CHO, S.; HTOON, T. T.; TIN, H. H.; CHAI, J. Y. Prevalence of intestinal protozoans among school children in suburban areas near Yangon, Myanmar. **Korean Journal of Parasitology**, v.54, p. 345–348, 2016.

KIWAK, P. H.; MONTOLALU, L. A.; REO, A. R.; PANDEY, E. V.; KASEGER, B. E.; MAKAPEDUA, D. M. Pengujian tpc, kadar air dan ph pada ikan kayu cakalang (*Katsuwonus pelamis*) yang di simpan pada suhu ruang. **Media Teknologi Hasil Perikanan**, v. 6, n. 3, p. 71-76, 2018.

KLIMPEL, S.; PALM, H. W. **Anisakid Nematode (Ascaridoidea) Life Cycles and Distribution:** Increasing Zoonotic Potential in the Time of Climate Change? In: MEHLHORN, H, ed. Berlin, Heidelberg: Springer, p. 201–22, 2011.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S. C.; FONSECA, M. C. G.; ANDRADA, C. D. G.; PADOVANI, R. E. S.; GOMES, D. C. Primeira ocorrência de larvas de *Anisakis* sp. na musculatura de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis*. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 11, n.1/2, p.119-120, 2004.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S. C.; FONSECA, M. C. G.; ANDRADA, C. G.; PADOVANI, R. E. S.; GOMES, D. C. *Anisakidae* parasitos de congrio-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil de interesse na saúde pública. **Parasitologia Latinoamericana**, v.62, p.127-133, 2007.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S. C.; KARLING, L. C.; GAZARINI, J.; GOMES, D. C. Helminhos com Potencial Zoonótico. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (Eds.), *Parasitologia de Peixes da Água Doce do Brasil*. Eduem, Maringá, pp. 17–35, 2013.

KOHN, A.; SANTOS, A. L.; COHEN, S. C. Report of two parasites from brazilian tunas. **Arquivos de Ciências Mar**, v. 36, p. 19 – 22, 2003.

KONEMAN, E.; WINN, JR. W.; ALLEN, S.; JANDA, W.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER P. *Diagnostico microbiológico: texto e atlas colorido*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

KORDIOVSKÁ, P.; VORLOVÁ, L.; BORKOVCOVÁ, I.; KARPÍSKOVÁ, R.; BUCHTOVÁ, H.; SVOBODOVÁ, Z.; KRŽÍZEK, M.; VÁCHA, F. The dynamics of biogenic amine formation in muscle tissue of carp (*Cyprinus carpio*). **Czech Journal of Animal Science**, v. 51, n. 6, p. 262-270, 2006.

KOVACOVA-HANUSKOVA, E.; BUDAY, T.; GAVLIAKOVA, S.; PLEVKOVA, J. Histamine, histamine intoxication and intolerance. **Allergologia et Immunopathologia**, v. 43, n. 5, 498-506, 2015.

KREIBICH, H. H.; CHRIST, D.; MARIA, G. S.; SILVA, J. R.; SAVI, G. D.; SCUSSEL, V. M. Decontamination of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) inoculated with *Aspergillus flavus* by ozone gas. **Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences**, v. 6, p. 560-570, 2016.

LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA ANIMAL - LANARA. **Métodos Analíticos Oficiais Para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes**. Brasília: Ministério da Agricultura, 112p. 2014.

LANDETE, J. M.; DE LAS RIVAS, B.; MARCOBAL, A.; MUÑOZ, R. Updated Molecular Knowledge about Histamine Biosynthesis by Bacteria. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 8, p. 697-714, 2008.

LAPOLLI, F. R.; SANTOS, L. F.; HÁSSEMER, M. E. N.; AISSE, M. M.; PIVELI, R. P. **Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização**. In: GONÇALVES, R. F. (Coord.). Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patogênicos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, aquicultura e hidropônica. Vitória: PROSAB, p. 169-208, 2003.

LEITE, S. F. R. **Influência da temperatura e do tempo de processamento na qualidade e segurança final de lombos de atum**. 2017. 62f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar) – Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Universidade do Ninho, Porto, 2017.

LEURS, R.; HOUGH, L. B.; BLANDINA, P.; HAAS, H. L. **Histamine**. In: BRADY, S. T.; SIEGEL, G. J.; ALBERS, R. W.; PRICE, D. L. Basic Neurochemistry, Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology, c. 16, p. 323-341, 2012.

LEVSEN, A.; LUNESTAD, B. T. *Anisakis simplex* third stage larvae in Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.) with emphasis on larvae distribution in the flesh. **Veterinary Parasitology**, v. 171, n. 3-4, p. 247–253, 2010.

LIMA DOS SANTOS, C. A. M. Doenças transmitidas por pescado no Brasil. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 32, n. 4, p. 234–241, 2010.

LIMA, E. J. V. M. O.; SANT'ANA, L. S. Water activity, moisture and salt levels in imported salted and dried fish. Brazilian Journal of Food Technology, v. 14, n. 2, p. 125-129, 2011.

LIMA, J. T. A. X.; COSTA, E. F. S.; NASCIMENTO, W. S.; CHELLAPPA, S. Tendências evolutivas do parasito isópodo *Livoneca redmani* Leach, 1818 (Crustácea, Isópoda, Cymothoidae) em duas espécies de peixes marinhos do Rio Grande do Norte, Brasil. **Biota Amazônia**, v.3, n 1, p. 66-73, 2013.



LIN, C. S.; KUNG, H. F.; LIN, C. M.; TSAI, H. C.; TSAI, Y. H. Histamine production by *Raoultella ornithinolytica* in mahi-mahi meat at various storage temperatures. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, n. 2, p. 305-310, 2016.

LIRA, A. D. **Caracterização e quantificação de bactérias descarboxiladoras de histidina e sua relação com a presença de histamina no pescado**. 2019. 106f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

LJUBOJEVIC, D.; NOVAKOV, N.; DJORDJEVIC, V.; RADOSAVLJEVIC, V.; PELIC, M.; CIRKOVIC, M. Potential parasitic hazards for humans in fish meat. **Procedia Food Science**, v. 5, p. 172-175, 2015.

LÓPEZ, C. C.; SERIO, A.; MONTALVO, C.; RAMIREZ, C.; ÁLVAREZ, J. A. P.; PAPARELLA, A.; MASTROCOLA, D.; MARTUSCELLI, M. Effect of nisin on biogenic amines and shelf life of vacuum packaged rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 3268–3277, 2017.

LÓPEZ-SERRANO, M. C.; GOMEZ, A. A.; DASCHNER, A.; MORENO-ANCILLO, A.; DE PARGA, J. M.; CABALLERO, M. T.; BARRANCO, P.; CABAÑAS, R. Gastroallergic anisakis: Findings in 22 patients. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.15, p.503-506, 2000.

LUIZ, D. B.; SILVA, C. D. F.; CAMPELO, S. R.; SANTOS, V. R. V.; LIMA, L. K. F.; CHICRALA, P. C. M. S.; IWASHITA, M. K. P. Evaluation of the effectiveness of ozone as a sanitizer for fish experimentally contaminated with *Salmonella* sp. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, p. 1-7, 2017.

LUQUE, J. L.; LACERDA, A. C.; LIZAMA, M. A. P.; BELLAY, S.; TAKEMOTO, R. M. **Aspectos ecológicos**. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (Ogr.). *Parasitologia de peixes de água doce do Brasil*. Maringá: Eduem, p. 67-84, 2013.

MACEDO, D. S.; MARTINS, M. L.; WEBER, M. L. Identificação das condições higiênico-sanitárias na comercialização de peixes em Feiras livres na zona sul de São Paulo. **Life Style Journal**, v. 1, p. 23-30, 2015.

MACIEL, R. A.; RODRIGUES, A. M. C.; PENA, R. S. Influence of the process parameters on osmotic dehydration of mapara (*Hypophthalmus edentatus*) fillet. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 676–684, 2016.

MADUREIRA, L.; COLETTI, J.; PINHO, M.; WEIGERT, S.; LOPART, A. Pole and line fishing and live baiting in Brazil. **INFOFISH International**, v. 3, 14–17, 2016.

MAGALHÃES, A. M. S.; COSTA, B. S.; TAVARES, G. C.; CARVALHO, S. I. G. Zoonoses parasitárias associadas ao consumo de carne de peixe cru. **PUBVET**, Londrina, v. 6, n. 25, ed. 212, art. 1416, 2012.

MAIJALA, R. L.; EEROLA, S. H.; AHO, M. A.; HIRN, J. A. The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. **Journal of Food Protection**, v. 56, n. 2, p. 125-129, 1993.

MANYI-LOH, C.; MAMPHWELI, S.; MEYER, E.; OKOH, A. Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: Potential public health implications. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 795, 2018.

MARIE, C.; PETRI JR, W. A. **Anisakiase (Doença do verme de arenque; doença do verme de bacalhau; doença do verme da foca)**. 2022. Disponível em: <<https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/doen%C3%A7as-infecciosas/nemat%C3%B3deos-vermes-filiformes/anisaku%C3%A7%C3%A3o>> Acesso em 02 de fevereiro de 2023.

MARTINS, F. O. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (sushi e sashimi) a base de pescado cru servidos em bufes na cidade de São Paulo**. 2006. 142f. Dissertação. Mestrado em Saúde Pública. Universidade de São Paulo – usp, São Paulo-SP. 2006

MARTINDÓTTIR, E.; SVEINDÓTTIR, K.; LUTEN, J.; SCHELVIS-SMIT, R.; HYLDIG, G. **Reference manual for the fish sector: sensory evaluation of fish freshness**. Ijmuiden, Netherlands: QIM-Eurofish, 58 p. 2001.

MATTIUCCI, S., PAOLETTI, M., COLANTONI, A., CARBONE, A., GAETA, R., PROIETTI, A., FRATTAROLI, S., FAZII, P., BRUSCHI, F., NASCETTI, G. Invasive anisakiasis by the parasite *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae): diagnosis by real-

time PCR hydrolysis probe system and immunoblotting assay. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, p. 1-9, 2017.

MATTIUCCI, S.; ABAUNZA, P.; DAMIANO, S.; GARCIA, A.; SANTOS, M. N.; NASCETTI, G. Distribution of *Anisakis* larvae, identified by genetic markers, and their use for stock characterization of demersal and pelagic fish from European waters: an update. **Journal of Helminthology**, v. 81, n. 2, p. 117-127, 2007.

MATTIUCCI, S.; CIPRIANI, P.; LEVSEN, A.; PAOLETTI, M.; NASCETTI, G. Molecular epidemiology of *Anisakis* and anisakiasis: an ecological and evolutionary road map. **Advances in Parasitology**, v. 99, p. 93-263, 2018.

MATTIUCCI, S.; CIPRIANI, P.; WEBB, S. C.; PAOLETTI, M.; MARCER, F.; BELLISARIO, B.; GIBSON, D. I.; NASCETTI, G. Genetic and morphological approaches distinguish the three sibling species of the *Anisakis simplex* species complex, with a species designation as *Anisakis berlandi* n. sp. for *A. simplex* sp. C (Nematoda: Anisakidae). **The Journal of Parasitology**, v. 100, n. 2, p. 199–214, 2014.

MATTIUCCI, S.; FAZII, P.; DE ROSA, A.; PAOLETTI, M.; MEGNA, A. S.; GLIELMO, A.; DE ANGELIS, M.; COSTA, A.; MEUCCI, C.; CALVARUSO, V.; SORRENTINI, I.; PALMA, G.; BRUSCHI, F.; NASCETTI, G. Anisakiasis and gastroallergic reactions associated with *Anisakis pegreffii* infection, Italy. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 3, p. 496-499, 2013.

MATTOS, D. P. B. G.; VERÍCIMO, M. A.; LOPES, L. M. S.; SÃO CLEMENTE, S. C. Immunogenic activity of the fish tapeworm *Pterobothrium heteracanthum* (Trypanorhyncha: Pterobothriidae) in BALB/c mice. **Journal of Helminthology**, v. 88, n. 2, p. 203-207, 2015.

MATTOS, D. P. B. G.; VERÍCIMO, M. A.; SÃO CLEMENTE, S. C. O Pescado e os Cestoides *Trypanorhyncha* – do aspecto higiênico ao potencial alergênico. **Veterinária Notícias**, v. 19, n. 2, p. 127-139, 2013.

MCDONOUGH, M. X.; CAMPABADAL, C. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E.; DENVIR, A.; WOLOSHUK, C. Ozone application in a modified screw conveyor to treat grain for insect pests, fungal contaminants, and mycotoxins. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 3, p. 249-254, 2011.

MELE, S.; MACÍAS, D.; GÓMEZ-VIVES, M. J.; GARIPPA, G.; ALEMANY, F.; MERELLA, P. Metazoan parasites on the gills of the skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* (Osteichthyes: Scombridae) from the Alboran Sea (western Mediterranean Sea). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 97, n. 3, p. 219–225, 2012.

MELLO, M. V. C.; HOLANDA, M. O.; MARTINS, N. M.; RODRIGUES, R. L. Ocorrência de helmintos em sushis e sashimis comercializados em supermercados de Fortaleza, Ceará. **Nutrivisa – Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 1, n. 3, p. 11-16, 2014.

MENEGUETTI, D. U. O.; LARAY, M. P. O.; CAMARGO, L. M. A. Primeiro relato de larvas de *Eustrongylides* sp. (Nematoda: Dioctophymatidae) em *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 4, n. 3, p. 55-58, 2013.

MERONUCK, R. A. The significance of fungi in cereal grains. **Plant Disease**, v. 71, p. 287-291, 1987.

MIZUMURA, N.; OKUMURA, S.; TSUCHIHASHI, H.; OGAWA, M.; KAWASAKI M. A Second Attack of *Anisakis*: intestinal anisakiasis following gastric anisakiasis. **ACG Case Reports Journal**, v. 5, n. 1, p. e65, 2018.

MOLINA-FILHO, L.; PEDRO, M. A. M.; TELIS-ROMERO, J.; BARBOZA, S. H. R. Influence of temperature and concentration of the chloride sodium (NaCl) on sorption isotherms of tambaqui meat (*Colossoma macroparum*). **Food Science and Technology**, v.26, n. 2, p. 453-458, 2006.

MONERET-VAUTRIN, D. A.; MORISSET, M.; FLABBEE, J.; BEAUDOUIN, E.; KANNY, G. Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: a review. **Allergy**, v. 60, n. 4, p. 443-451, 2005.

MORAVEC, F. **Nematodes of freshwater fishes of the neotropical region**. České Budejovice: Academy of sciences of the Czech Republic, 464p, 1998.

MOURA, C. M. C.; COSTA, J. A.; SOUSA, A. M.; SANTOS FILHO, J. H.; BACELAR, R. G. A.; SANTOS, J. T. O.; MURATORI, M. C. S. Avaliação da qualidade microbiológica de filés de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e do gelo e a interação

dos fatores após armazenagem. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v.12, n.1, p.10-16, 2018.

MOURA, M. A. M.; GALVÃO, J. A.; HENRIQUE, C. M.; SAVAY-DA-SILVA, L. K.; OETERRER, M. Physical-chemical and freshness characterization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets from extractive catching in the medium Tietê River/SP, Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 3, p. 487-495, 2009.

MUKHOPADHYAYA, S.; SOKORAIA, K.; UKUKUB, D.O.; FANA, X.; OLANYAB, M.; JUNEJAA, V. Effects of pulsed light and sanitizer wash combination on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, microbial loads and apparent quality of spinach leaves. **Food Microbiology**, v.82, P. 127–134, 2019.

MÜLLER, M. I.; MADI, R. R.; UETA, M.T. Primeiro registro de ocorrência de cestódeos da família *Bothriocephalidae* Blanchard, 1849 (Pseudophyllidea), parasitando *Cichla monoculus* (Cichlidae) nas lagoas da Fazenda Rio das Pedras, Campinas (SP). **Bioikos**, v. 22, n. 1, p. 45-49, 2008.

MURUA, H.; RODRIGUEZ-MARIN, E.; NEILSON, J. D.; FARLEY, J. H.; JUAN-JORDÁ, M. J. Fast versus slow growing tuna species: age, growth, and implications for population dynamics and fisheries management. **Fish Biology and Fisheries**, v. 27, n. 4, p. 733-773, 2017.

NEIVA, C.R.P. Valor Agregado e Qualidade do Pescado. Revista Panorama da Aqüicultura, Rio de Janeiro, p. 46-47, 2002.

NESPOLO, C. R.; OLIVEIRA, F. A.; PINTO, F. S. T.; OLIVERA, F. C. **Práticas em Tecnologia de Alimentos**. Artmed; 1ª ed. 220 p. 2015.

NEUMANN, G. **Ocorrência de parasitas em produtos de pesca**. 2017. 37f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

NEVES, D. P. **Parasitologia Dinâmica**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, Cap. 61, p. 465-468, 2006.

NHS. **Wild salmon parasite warning**. 2018. Disponível em: <<https://www.nhs.uk/live-well/eat-well/wild-salmon-parasite-warning/>>. Acesso em: 10 de dezembro de 2022.

NIEUWENHUIZEN, N. E.; LOPATA, A. L. *Anisakis* – a food-borne parasite that triggers allergic host defences. **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 1047–1057, 2013.

NORDIC GROUP. **Processed Fresh Fish**. Disponível em: <<https://nordicgroup.no/products/processed-fish>>. Acesso em: 11 de outubro de 2022.

NUNES, M. L.; BATISTA, I. Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado Lisboa: **IPIMAR Divulgação** 29, 4p. 2004.

NUNES, M. L.; PEDRO, S. **Salga do pescado**. In: GONÇALVES, A. A. Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação. São Paulo: Atheneu, 608p. cap. 2.1.4, p. 156-165, 2011.

NUWANTHIB, S. G. L. I.; MADAGEA, S. S. K.; HEWAJULIGEA, I. G. N.; WIJESEKERA, R. G. S. Comparative study on organoleptic, microbiological and chemical qualities of dried fish, Goldstripe Sardinella (*Sardinella gibbosa*) with low salt levels and spices. **Procedia Food Science**, v. 6, p. 356 – 361, 2016.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, v.1, 430p. 1999.

OKUMURA, M. P. M.; PEREZ, A. C. A.; SPINDOLA, A. F. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado. Revisão. **Revista de Educação Continuada**, v. 2, n. 2, p. 66-80, 1999.

OLIVEIRA, G. B. **Principais parasitoses zoonóticas associadas ao consumo de salmonídeos no Brasil**. 2018. 48f. TCC (Graduação em Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2018.

OLIVEIRA, H.; PEDRO, S.; NUNES, M.L.; COSTA, R. PIRES, P. V. Processing of Salted Cod (*Gadus* spp.): A Review. **Comprehensive Reviews**, v. 11, n. 6, p. 546-564, 2012.

OLIVO, G. **Validação e estimativa de incerteza de medição de um método para determinação de aminas biogênicas por cromatografia líquida de alta eficiência em matriz de atum (*Thunnus spp*)**. 2013. 123f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2013.

ORDOÑEZ, J. A. **Tecnologia dos alimentos: Componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, v.1, 294p, 2005.

PAKDEENARONG, N.; SIRIBAT, P.; CHAISIRI, K.; DOUANGBOUPHA, B.; RIBAS, A.; CHAVAL, Y.; HERBRETEAU, V.; MORAND, S. Helminth communities in murid rodents from southern and northern localities in Lao PDR: The role of habitat and season. **Journal of Helminthology**, v. 88, p. 302-309, 2014.

PALM, H.W. **The *Trypanorhyncha* Diesing, 1863**. Bogor: PKSPL-IPB Press, 710 p., 2004.

PAULI, E. R. **Índice de Qualidade de Peixes Comercializados em Feiras Livres na Cidade de Rio Verde – Goiás. 2019**. 19f. TCC (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2019.

PAULI-YAMADA, L. F. D.; AQUINO, C. I.; MARCIANO, M. A.; SILVA, A. M.; NOGUEIRA, M. D). Detecção de parasitos em filés de polaca do Alasca (*Gadus chalcogrammus*, Pallas, 1814) comercializados em São Paulo, Brasil. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 7, n. 3, p. 46-52, 2019.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; **Doença de peixes, profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: Eduem, 311 p,2008.

PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: Eduem. 435 p, 2013.

PAVANELLI, G. C; TAKEMOTO, R. M.; GUIDELLI, G. M.; LIZAMA, M. A. P.; MACHADO, P. M.; TANAKA, L. K.; SOUZA, G. T. R.; MOREIRA, S. T.; ITO, K. F.; FRANÇA, J. G.; CARVALHO, S.; LACERDA, A. C. F.; BELLAY, S.; TAVERNARI F. C. **Ictioparasitologia**. Universidade Estadual de Maringá - Nupélia – PEA. 2003.

Disponível em: <<http://www.peld.uem.br/Relat2003/pdf/Ictioparasitologia.pdf>>. Acesso em: 14 de novembro de 2022.

PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; GUIDELLI, G. M.; LIZAMA, M. A. P.; MACHADO, P. M.; TANAKA, L. K.; ISAAC, A.; FRANÇA, J. G.; CARVALHO, S. **Ictioparasitologia**. Universidade Estadual de Maringá - Nupélia – PEA. 2001. Disponível em: <[http://www.peld.uem.br/Relat2001/pdf/componente\\_bioticos\\_ictioparasitologia.PDF](http://www.peld.uem.br/Relat2001/pdf/componente_bioticos_ictioparasitologia.PDF)>. Acesso em: 14 de novembro de 2022.

PEIXEBR (Associação Brasileira da Piscicultura). Anuário PEIXEBR da Piscicultura 2019. 148p. 2019.

PELAYO, V.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, P.; PUENTE, P.; RODERO, M.; CUÉLLAR, C. Seroprevalence of Anti-*Gymnorhynchus gigas* (Trypanorhyncha, Gymnorhynchidae) Antibodies in a Spanish Population. **Journal of Parasitology**, v. 95, n. 3, p. 778-780, 2009.

PEREIRA, A. D.; ATUI, M. B.; ZAMBONI, C. Q.; TORRES, D. M. A. G. V.; MANGINI, A. C. S. Incidência de parasitos da Família *Anisakidae* em bacalhau (*Gadus morhua*) comercializado no Estado de São Paulo. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 59, p.45-49, 2000.

PRADO, S. P. T.; CAPUANO, D. M. Relato de nematóides da família *Anisakidae* em bacalhau comercializado em Ribeirão Preto, São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n. 6, p. 580-581, 2006.

PRESTER, L. Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: a review. **Food Additives & Contaminants**, v. 28, n. 11, p. 1547-1560, 2011.

QUEIROZ, A. S. M. **Identificação de parasitos em *Katsuwonus pelamis* (bonito listrado); *Thunnus albacares* (yellowfin) e *Thunnus atlanticus* (blackfin) através de luz ultravioleta fluorescente**. 2019. 61f. Dissertação (Mestrado Profissional em Alimentos de Origem Animal) - Programa de Pós-Graduação em Alimentos de Origem Animal - Faculdade de Veterinária - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2019.

REZENDE, J. M. Nematoides, nematódeos, nematodes, nematodos. **Revista de Patologia Tropical**, v. 36, n. 3, p. 269-272, 2008.



REZENDE-DE-SOUZA, J. H. **Utilização de aplicativo digital como método alternativo para avaliação de frescor em pescado.** 2019. 55f. TCC (Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2019.

REZENDE-DE-SOUZA, J. H.; BRUNO, V. C. F. G. S.; REZENDE, P. V. D.; ARRUDA, A. V. S.; OLIVEIRA, K. L. S. R.; SAVAY-DA-SILVA, L. K. Qualidade sensorial e físico-química como parâmetros de frescor de diferentes espécies de peixes comercializados em supermercados de Cuiabá - MT. In.: CORDEIRO, C. A. M. (Org.). **Tecnologia de Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos - Volume 2.** Editora Científica Digital, p. 545-556, 2020.

RIBAS, A.; JOLLIVET, C.; MORAND, S.; THONGMALAYVONG, B.; SOMPHAVONG, S.; SIEW, C-C.; TING, P-J.; SUPUTTAMONGKOL, S.; SAENSOMBATH, V.; SANGUANKIAT, S.; TAN, T-H.; PABORIBOUNE, P.; AKKHAVONG, K.; CHAISIRI, K. Intestinal Parasitic Infections and Environmental Water Contamination in a Rural Village of Northern Lao PDR. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 55, n. 5, p. 523-532, 2017.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M.; RITZINGER, R. Nematoides: bioindicadores de sustentabilidade e mudanças edafoclimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, 2010.

RODERO, M; CUÉLLAR, C. Humoral immune responses induced by *Gymnorhynchus gigas* extracts in BALB/c mice. **Journal of Helminthology**, v. 73, n. 3, p. 239-243, 1999.

RODRIGUES, M. V. **Presença do parasita anisaquídeo em pescada (*Cynoscion spp.*) como ponto crítico de controle na cadeia produtiva do pescado comercializado na Baixada Santista.** 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, São Paulo, 2010.

RODRIGUES, T. P.; MÁRSICO, E. T.; FRANCO, R. M.; MELLO, S. C. R. P.; SOARES, I. C.; ZÚNIGA, N. O. C.; FREITAS, M. Q. Quality index method (QIM) and quantitative descriptive analysis (QDA) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) quality indices. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 3, p. 209-216, 2016.

RODRIGUEZ, M.; CARNEIRO, C.; FEIJÓ, M.; JÚNIOR, C.; MANO, S. Bioactive Amines: Aspects of Quality and Safety in Food. **Food and Nutrition Sciences**, v. 5, n. 2, p. 138-146, 2014.

ROSA DA CRUZ, A.; SOUTO, P. C. S.; FERRARI, C. K. B.; ALLEGRETTI, S. M.; ARRAIS-SILVA, W. W. Endoscopic imaging of the first clinical case of anisakidosis in Brazil. **Scientia Parasitologica**, v. 11, n. 2, p. 97–100, 2010.

ROSSI, G. A. M.; HOPPE, E. G. L.; MARTINS, A. M. C. V.; PRATA, L. F. Zoonoses parasitárias veiculadas por alimentos de origem animal: revisão sobre a situação no Brasil. **Arquivo Instituto Biológico**, v.81, n.3, p.290-298, 2014.

RUETHERS, T.; TAKI, A. C.; JOHNSTON, E. B.; NUGRAHA, R.; LE, T. T. K.; KALIC, T.; KAMATH, S. D.; LOPATA, A. L. Seafood allergy: A comprehensive review of fish and shellfish allergens. **Molecular Immunology**, n. 100, p. 28–57, 2018.

RUPPERT E.E. **Zoologia dos Invertebrados: Uma Abordagem Funcional-Evolutiva**. 7 ed. Rio de Janeiro: Roca, 1168 p, 2005.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B.; AVLIFFE, G. A. J. **Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization**. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 826 p., 1999.

SAAD, C. D. R.; VIEIRA, F. M.; LUQUE, J. L. Larvae of *Anisakidae* Skrjabin & Karokhin, 1945 (Nematoda, Ascaridoidea) in *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 (*Actinopterygii*, *Lophiidae*) from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Neotropical Helminthology**, vol. 6, n. 2, p. 159-177, 2012.

SAAID, M.; SAAD, B.; HASHIM, N. H.; ALI, A. S. M.; SALEH, M. I. Determination of biogenic amines in selected Malaysian food. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p.1356-1362, 2009.

SALGADO, R. L. **Avaliação parasitológica do pescado fresco comercializado no sudeste do Pará**. 2010. 81f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.

SAMSON, R. A.; HONG, S. B.; FRISVAD, J. C. Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. **Medical Micology**, v. 44, n. 1, p.133–148, 2006.

SÁNCHEZ-MONSALVEZ, I.; DE ARMAS-SERRA, C.; MARTÍNEZ, J.; DORADO, M.; SÁNCHEZ, A.; RODRÍGUEZ-CAABEIRO, F. A new procedure for marinating fresh anchovies and ensuring the rapid destruction of *Anisakis* larvae. **Journal of Food Protection**, v.68, n.5, p.1066-1072, 2005.

SANT'ANA, L. S.; SOARES, S.; VAZ-PIRES, P. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). **LWT - Food Science and Technology**, v.44, p.2253-2259, 2011.

SANTOS, C. P.; GIBSON, D. I.; TAVARES, L. R.; LUQUE, J. L. Checklist of *Acanthocephala* associated with the fishes of Brazil. **Zootaxa**, v. 1938, p. 1-22, 2008.

SANTOS, D. S.; ALVES, D. R. Ocorrência de *Anisakis simplex* (nematoda: *anisakidae*) em bacalhau comercializado em Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos UniFOA**, n. 31, p. 131-140, 2016.

SANTOS, F. M. S.; SILVA, A. I. M.; VIEIRA, C. B.; ARAÚJO, M. H.; SILVA, A. L. C.; CUNHA, M. G. C.; SOUZA, B. W. S.; BEZERRA, R. S. Use of chitosan coating in increasing the shelf life of liquid smoked Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillet. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 1304–1311, 2017.

SANTOS, M. H. S. Biogenic amines: their importance in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 29, n. 2-3, p.213-231, 1996.

SANTOS, M. J. CASTRO, R.; CAVALEIRO, F.; RANGEL, L.; PALM, H. W. Comparison of anisakid infection levels between two species of Atlantic mackerel (*Scomber colias* and *S. scombrus*) off the Atlantic Portuguese coast. **Scientia Marina**, v. 81, n. 2, p. 179-185, 2017.

SANTOS, M. J.; RANGEL, L. F.; CALDEIRA, A. J. R. Anisiquiase, uma zoonose subestimada globalmente, causada por *Anisakis* spp. **Revista Anápolis Digital**, v. 12, n. 3, p. 21-40, 2020.

SÃO CLEMENTE, S. C.; SILVA, M. C.; LUCENA, F. P. Sobrevivência de larvas de anisakídeos de peixe espada, *Trichiurus lepturus* L., submetidos aos processos de salmoragem e cocção. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 3, p. 79-80, 1996.

SATTARI, A.; KHEIRANDISH, R.; NOUROLLAHI-FARD, S. R.; SHOAI BI OMRANI, B.; SHARIFPOUR, I. Infection of skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* (Linnaeus 1758) of Oman Sea with cestode *Trypanorhyncha* (Diesing 1863). **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 13, n. 2, p. 469-476, 2014.

SAVI, G. D.; PIACENTINI, K. C.; BITTENCOURT, K. O.; SCUSSEL, V. M. Ozone treatment efficiency on *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol degradation and its effects on whole wheat grains (*Triticum aestivum* L.) quality and germination. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 245–253, 2014.

SCALA, E.; GIANI, M.; PIRROTTA, L.; GUERRA, E. C.; CADONI, S.; GIRARDELLI, C. R.; DE PITÀ, O.; PUDDU, P. Occupational generalised urticaria and allergic airborne asthma due to *Anisakis simplex*. **European Journal of Dermatology**, v. 11, n. 3, p. 249-250, 2001.

SCUSSEL, V. M.; SAVI, G. D.; KLAUMAN, T.; TONON, K. M. **Micotoxinas em grãos armazenados e seus limites máximos tolerados**. In: LORINI, I.; MIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M.; FARONI, L. R. D. Armazenagem de grãos. Jundiaí: Instituto BioGeneziz, p 759-831. 2018.

SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research International**, v. 29, n. 7, p. 675-690, 1996.

SHAMSI, S.; EISENBARTH, A.; SAPTARSHI, S.; BEVERIDGE, I.; GASSER, R. B.; LOPATA, A. L. Occurrence and abundance of anisakid nematode larvae in five species of fish from southern Australian Waters. **Parasitology Research**, v. 108, p. 927-934, 2010.

SHI, C.; CUI, J.; LU, H.; SHEN, H.; LUO, Y. Changes in biogenic amines of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets stored at different temperatures and their relation to total volatile base nitrogen, microbiological and sensory score. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 3079-3084, 2012.

SILVA S. B.; LUVIELMO, M. M.; GEYER, M. C.; PRÁ, I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p 659-682, 2011.

SILVA, A. M. M. 2015. **Efeito antimicrobiano do ozônio no processamento da tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS, 1758)**. 2015. 75f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, Universidade Federal Rural do Semi Árido, Mossoró, 2015.

SILVA, A. M. M.; GONÇALVES, A. A. Potencialidade do uso de água ozonizada no processamento de peixes. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 2, n. 1, p. 15-28, 2014.

SILVA, C. G.; LIMA, J. T. A. X; FIGUEIREDO, N. C. First record of *Gotocotyla acanthura* on the gills of *Katsuwonus pelamis* in the southwestern atlantic ocean. **Ciência Animal**, v. 27, n. 3, p. 80-88, 2017.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela. 2007. 536p.

SILVA, S. B. DA; LUVIELMO, M. DE M.; GEYER, M. C.; PRA, I. Potencialidades do uso de ozônio no processamento de alimentos. **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 659 – 682, 2011.

SILVA, T. M.; SABAINI, P. S.; EVANGELISTA, W. P.; GLÓRIA, M. B. A. Occurrence of histamine in Brazilian fresh and canned tuna. **Food Control**, v. 22, n. 2, p. 323-327, 2011.

SIMAT, V.; BOGDANOVIĆ, T.; KRŽELJ, M.; SOLDI, A.; MARŠIĆ-LUČIĆ, J. Differences in chemical, physical and sensory properties during shelf life assessment of wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 28, n. 1, p. 95 – 101, 2012.

SINGH, V. P.; PATHAK, V.; VERMA, A. K. Fermented meat products: organoleptic qualities and biogenic amines – a review. **American Journal Food Technology**, v.7, p. 278-288, 2012.

SOARES, C. E.; WEBER, A.; MOECKE, E.; SOUZA, C. K.; REITER, M. G. R.; SCUSSEL, V. M. Use of Ozone Gas as a Green Control Alternative to Beetles *Alphitobius diaperinus* (Panzer) Infestation in Aviary Bed Utilized in the Poultry Industry. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. 586-594, 2018.

SOARES, F. M. V.; VALE, S. R.; JUNQUEIRA, R. G.; GLÓRIA, B. A. Teores de histamina e qualidade físico-química sensorial de filé de peixe congelado. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v. 18, n. 4, p. 462-470, 1998.

SOEWARLAN, L. C.; SUPRAYITNO, E.; HARDOKO; NURSYAM, H. Identification of anisakid nematode infection on skipjack (*Katsuwonus pelamis* L.) from Savu Sea, East Nusa Tenggara, Indonesia. **International Journal of Biosciences**, v. 5, n. 9, p. 423-432, 2014.

SOHN, W. M.; CHAI, J.Y. **Anisakiosis (Anisakidosis)**. In: S. R. Palmer, Lord Soulsby, P. Torgerson, & D. W. G. Brown (Eds.). Oxford Textbook of Zoonoses: Biology, Clinical Practice, and Public Health Control. 2 ed, Cap. 63, Oxford, UK: Oxford University Press, 2011.

SOUZA, A. L. M.; CALIXTO, F. A. A.; DE MESQUITA, E. D. F. M.; PACKNESS, M.; AZEREDO, D. P. Histamina e rastreamento de pescado: revisão de literatura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 01-11, 2015.

SOUZA, M. E.; CARDOSO, E. O.; LEAL, L. A.; LIMA, T. M. P.; TOLEDO, R. C. C. Anisakidose humana: zoonose com risco potencial para consumidores de pescado cru. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n.1, p. 25-37, 2016.

STATSOFT. **STATISTICA for Window** - Computer programa manual. Versão 7.0. Tulsa: Statsoft Inc. 2007.

STORELLI, M.; BARONE, G.; PERRONE, V.; STORELLI, A. Risk characterization for polycyclic aromatic hydrocarbons and toxic metals associated with fish consumption. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, n. 1, p. 115-119, 2013.

SUANZES-CARPEGNA, D. **Relatório sobre o atum: frota e indústria. Situação e perspectivas de futuro na UE e no mundo**. Comissão de Pescas, Parlamento Europeu, 2003.

SVEINSDÓTTIR, K.; MARTINSDÓTTIR, E.; HYLDIG, G.; JORGENSEN, B.; KRISTBERGSSON, K. Application of Quality Index Method (QIM) Scheme in Shelf-life Study of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Journal of Food Science**, v. 67, n. 4, p. 1570-1579, 2002.

TAKEMOTO, E. **Desenvolvimento de metodologia por cromatografia líquida de ultra eficiência para determinação de histamina em pescados in natura e em conservas**. 2016. 106f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Pirassununga, 2016.

TAKEMOTO, E.; EVANGELISTA, W. P.; MINAZZI-RODRIGUES, R. S.; MARSIGLIA, D. A. P.; OLIVEIRA, C. A. F.; GLÓRIA, M. B. A. Histamine intoxication outbreak associated to canned tuna intake in the State of São Paulo, Brazil. **BEPA: Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 11, p. 29-32, 2014.

TAKEMOTO, E.; EVANGELISTA, W. P.; MINAZZI-RODRIGUES, R. S.; MARSIGLIA, D. A. P.; OLIVEIRA, C. A. F.; GLÓRIA, M. A. G. Histamine intoxication outbreak associated to canned tuna intake in the State of São Paulo, Brazil. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 11, n. 126, p. 29-32, 2014.

TAKEMOTO, E.; MORICONI, P. R.; MAZON, E. M. A.; RODRIGUES, R. S. M.; GLÓRIA, M.B. A.; PINOTTI, A. M. S.; BERNARDES, E. R. Peixe bonito assado: um caso de surto de intoxicação por histamina. **BEPA**, v. 16, n. 185, p. 1-10, 2019.

TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P.; GUIDELLI, G. M.; PAVANELLI, G. C. (2004) **Parasitas de peixes de águas continentais**. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P.; GUIDELLI, G. M.; PAVANELLI, G. C. Sanidade de organismos aquáticos, São Paulo: Varela. p. 179-197, 2004.

TAYLOR, S. L.; GUTHERTZ, L. S.; LEATHERWOOD, M.; TILLMAN, F.; LIEBER, E. R. Histamine production by food-borne bacterial species. **Journal of Food Safety**, v. 1, n. 3, p. 173-187, 1978.

TEODORO, A. J.; ANDRADE, E.C. B.; MANO, S. B. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). **Food Science and Technology**, v. 27, n.1, p. 158-161, 2007.

TIARA, K. K. **Principais parasitas com potencial zoonótico transmitidos pelo consumo de pescado no Brasil**. 2011.45f. Monografia (Título de especialista) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

TOLEDO, R.; FRIED, B. **Digenetic Trematodes**. 1 ed. Springer, 480 p, 2014.

TOPP, E.; LARSSON, D. G. J.; MILLER, D. N.; VAN DEN EEDE, C.; VIRTA, M. P. J. Antimicrobial resistance and the environment: assessment of advances, gaps and recommendations for agriculture, aquaculture and pharmaceutical manufacturing. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 94, n. 3, p. 1-5, 2018.

TORTORELLA, V.; MASCIARI, P.; PEZZI, M.; MOLA, A.; TIBURZI, S. P.; ZINZI, M. C.; SCOZZAFAVA, A. M.; VERRE, M. Case Report: Histamine poisoning from ingestion of fish or scombroid syndrome. hindawi publishing corporation. **Case Reports in Emergency Medicine**, v. 2014, p. 1-5, 2014.

VARGAS, T. J. S.; KAHLER, S.; DIB, C.; CAVALIERE, M. B.; SOUSA, J. M. A. *Autochthonous gnathostomiasis* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 12, p. 2087–2089, 2012.

VAZQUEZ-LOPEZ, C.; DE ARMAS-SERRA, C.; BERNARDINA, W.; RODRIGUEZ-CAABEIR, F. A 24-kDa collagenase from *Gymnorhynchus gigas* elicits rat ileum hyperreactivity and is a target of humoral responses in mice previously given a single oral dose of parasite extract. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 47, n. 4, p. 935-942, 2002.

VAZQUEZ-LOPEZ, C.; DE ARMAS-SERRA, C.; BERNARDINA, W.; RODRIGUEZ-CAABEIR, F. Oral inoculation with *Gymnorhynchus gigas* induces anti-parasite naphylactic antibody production in both mice and rats and adverse reactions in challenge mice. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 307-315, 2001.

VAZ-VELHO, M.; SILVA, M. V.; PESSOA, J.; GIBBS, P. A. Inactivation by ozone of *Listeria innocua* on salmon-trout during cold-smoke processing. **Food Control**, v. 17, n. 8. P. 609-616, 2006.

VIDACEK, S.; DE LAS HERAS, C.; SOLAS, M. T.; MENDIZÁBAL, A.; RODRIGUEZ-MAHILLO, A.; MUNOZ, M. G.; TEJADA, M. *Anisakis simplex* allergens remain active after conventional or microwave heating and pepsin treatments of chilled



and frozen L3 larvae. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 12. P. 1997-2002, 2009.

VIEIRA, R.H.S.F. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado. Ed. Varela. São Paulo, 2004.

VILLAZANAKRETZER, D. L.; NAPOLITANO, P. G.; CUMMINGS, K. F.; MAGANN, E. F. Fish parasites: a growing concern during pregnancy. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 71, n. 4, p. 253–259, 2016.

VISCIANO, P.; SCHIRONE, M.; TOFALO, R.; SUZZI, G. Histamine poisoning and control measures in fish and fishery products. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 1-3, 2014.

WEBER, R.W.S; PITT, D. Teaching techniques for mycology: 11. Riddell's slide cultures. **Mycologist**, v. 14, n. 3, p. 118-120, 2000.

WHARTON, D. A.; ALDERS, O. The response of *Anisakis* l arvae to freezing. **Journal of helminthology**, v. 76, p.363-368, 2002.

WILHELM, B. M.; KUHN, T.; MUNSTER, J.; KLIMPEL, S. **Marine Crustaceans as Potencial Hosts and Vectors for Metazoan Parasites**. In: Mehlhorn Heinz, editor. Parasitology Research Monographs. 3 ed. Heidelberg: Springer; p. 332–40, 2012.

XAVIER, A. G. L. **Identificação de parasitos marinhos do litoral brasileiro, em peixes da espécie *Mycteroperca bonaci*: um alerta à saúde pública**. 2021. 40f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2021.

YAMAGUTI, S. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 4. Cestodes of fishes. **Japanes Journal of Zoology**, v.6, n.1, p.1-112, 1934.

YEN, K.; WANG, G.; LU, H. Evaluating habitat suitability and relative abundance of skipjack (*Katsuwonus pelamis*) in the Western and Central Pacific during various El Nino events. **Ocean Coast Management**, v. 139, p.1 53–160, 2017.

YOSHHINAGA, T. K. O.; WAKABAYASHI, H. Life cycle of *Histerothylacium haze* (Nematoda: Anisakidae: Raphidascauridinae). **Journal of Parasitology**, v. 75, n. 5, p. 756-763, 1989.

YU, Y.; WANG, P.; BIAN, L.; HONG, S. Rare death via histamine poisoning following crab consumption: a case report. **Journal of Forensic Sciences**, v. 63, n. 3, p. 980-982, 2018.

ZHANG, C.; ZHANG, Y.; LUAN, D.; QU, Y.; FAN, Y.; LAI, K. Changes in biogenic amines and total volatile base nitrogen in *Gonatopsis borealis* muscle during storage. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 14, p. 106-113, 2020.

## ANEXOS

**ANEXO 1****Questionário****Seção 1****ATITUDE DO CONSUMIDOR PERANTE A EXISTÊNCIA DE PARASITOSEM  
PEIXE NO BRASIL****Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**

Você concorda em participar da pesquisa, estando de acordo com o TCLE?

- Concordo (Continua para a próxima seção)
- Não concordo (Continua para a seção 29)

**Seção 2**

Você reside em que região do Brasil?\*

- Norte
- Nordeste
- Centro-Oeste
- Sudeste
- Sul

\*Independente da resposta continua para a próxima questão

**Seção 3**

Em qual estado você reside?\*

- Acre (AC)
- Alagoas (AL)
- Amapá (AP)
- Amazonas
- (AM) Bahia
- (BA)
- Ceará (CE)
- Distrito Federal

- (DF)  Espírito Santo  
(ES)  
 Goiás (GO)  
 Maranhão (MA)  
 Mato Grosso (MT)  
 Mato Grosso do Sul (MS)  
 Minas Gerais (MG)  
 Pará (PA)  
 Paraíba (PB)  
 Paraná (PR)  
 Pernambuco  
(PE)  Piauí (PI)  
 Rio de Janeiro (RJ)  
 Rio Grande do Norte  
(RN)  Rio Grande do Sul  
(RS)  
 Rondônia  
(RO)  Roraima  
(RR)  
 Santa Catarina  
(SC)  
 São Paulo (SP)  
 Sergipe (SE)  
 Tocantins (TO)

\*Independente da resposta continua para a próxima questão

#### **Seção 4**

Em qual cidade você reside?\*

Resposta:

\*Independente da resposta continua para a próxima questão

#### **Seção 5**

Qual é a sua faixa etária?\*

- Menor de 18 anos (Continua para a seção 29)
- Entre 18 e 29 anos (Continua para a próxima seção)
- Entre 30 e 39 anos (Continua para a próxima seção)
- Entre 40 e 49 anos (Continua para a próxima seção)
- Entre 50 e 59 anos (Continua para a próxima seção)
- Acima de 59 anos (Continua para a próxima seção)

### **Seção 6**

Qual gênero você se identifica?\*( ) Feminino

- Masculino
- Prefiro não dizer( ) Outros

\*Independente da resposta continua para a próxima questão

### **Seção 7**

Qual é o seu grau de escolaridade?\*( ) Ensino fundamental incompleto

- Ensino fundamental completo
- Ensino médio incompleto( ) Ensino médio completo
- Ensino superior (graduação) incompleto
- Ensino superior (graduação) completo ( ) Pós-graduação

\*Independente da resposta continua para a próxima questão

### **Seção 8**

Assinale a opção que mais se enquadra com a sua remuneração (considerando que osalário mínimo atual é R\$1.100,00): \*

- Menos de 01 salário mínimo ( ) De 01 a 02

salários mínimos( ) De 03 a

04 salários mínimos( ) De 05

a 06 salários mínimos

( ) Acima de 06 salários mínimos

\*Independente da resposta continua para a próxima seção

### **Seção 9**

Você tem algum tipo de alergia ou intolerância a pescados (peixes, camarão, frutos do mar)?\*

( ) Sim

( ) Não

Caso sim, descreva abaixo:

\*Independente da resposta continua para a próxima seção

### **Seção 10**

Você consome peixes?

( ) Sim (Continua para a seção 13)

( ) Não (Continua para a seção 11 e 12)

### **Seção 11**

Identifique os motivos que te levam a não gostar/consumir peixe: (pode selecionar mais de uma opção)\*

( )

Aparência

( ) Aroma

( )

Preço(

)

Sabor

( ) Não sei

opinar( )

Outros

\*Independente da resposta continua para a próxima seção

### **Seção 12**

Quais palavras vem à mente quando você pensa em peixe? (Incluir no mínimo umapalavra e no máximo 3) \*

Palavra 1:

Palavra 2:

Palavra 3:

\*Independente da resposta continua para a seção 15

### **Seção 13**

Quais palavras vem à mente quando você pensa em peixe? (Incluir no mínimo umapalavra e no máximo 3) \*

Palavra 1:

Palavra 2:

Palavra 3:

\*Independente da resposta continua para próxima seção

### **Seção 14**

Qual é a sua frequência de consumo de peixe?

\* Diariamente

De 4 a 6 vezes por

semana  De 2 a 3 vezes

por semana  1 vez por

semana

Raramente

\*Independente da resposta continua para próxima questão

### **Seção 15**

Onde você costuma comprar



peixe?\*( ) Supermercado

( )Peixaria

( ) Mercado

público ( ) Feira

livre

( ) Outros

\*Independente da resposta continua para próxima questão

### Seção 16

Onde você costuma consumir

peixe?\*

( ) Em casa

( ) Em

restaurantes

( ) Em ambos

\*Independente da resposta continua para a próxima seção

### Seção 17

Como você costuma consumir o peixe? (pode selecionar mais de uma opção)\*

( ) Fins culinários (receitas)

( ) Cozido

( ) Na forma de

sushi/sashimi

( ) Frito

( ) Assado

( ) Em

conserva ( )

Outros

\*Independente da resposta continua para próxima questão

### Seção 18

Questão de verificação: Nessa questão você deve marcar a opção que contém o número "37" (resposta incorreta nessa questão anulará todo o questionário)\* (

) 27

( ) 7

( ) 47

( ) 37

( ) 17

\*Independente da resposta continua para próxima seção

### **Seção 19**

Você já ouviu falar sobre contaminação por parasitos em peixes?\*

( ) Sim

( ) Não

\*Independente da resposta continua para próxima seção

### **Seção 20**

Você já encontrou algum parasito em peixe? ( ) Sim (Continua para a seção 21)

( ) Não (Continua para a seção 25)

### **Seção 21**

Qual o nome da espécie de peixe que você encontrou o parasito?\*

Resposta:

\*Independente da resposta continua para próxima seção

### **Seção 22**

Em que local do corpo do peixe estava o parasito?\*( ) Músculo/carne

( ) Vísceras

\*Independente da resposta continua para próxima seção

### Seção 23

No momento que você encontrou o parasito o peixe estava:

- in natura*
- Cozido
- Frito
- Assado
- Em conserva
- Outros Resposta

\*Independente da resposta continua para próxima seção

### Seção 24

Como você descreveria o parasito encontrado? Use suas palavras, se expresse da forma que você se sentir confortável.

Resposta:

\*Independente da resposta continua para próxima seção

### Seção 25

Você já ouviu falar ou tem algum conhecimento sobre anisaquíase\*

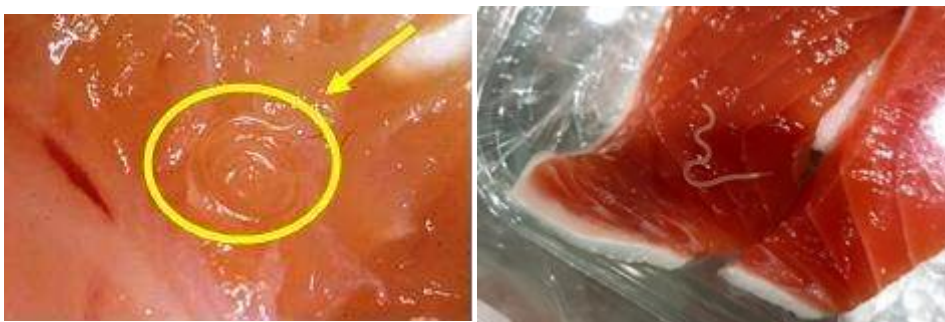
- Sim
- Não

\*Independente da resposta continua para próxima questão

### Seção 26

A anisaquíase é uma zoonose transmitida por parasitos do gênero *Anisakis*, através do consumo de peixes marinhos contaminados com larvas vivas ou viáveis desse parasito. O ser humano é um hospedeiro acidental, visto que não faz parte do ciclo de desenvolvimento desse parasito. Os sintomas dessa

zoonose podem ser observados em até oito horas após a ingestão das larvas e são caracterizados por cólicas, náuseas, vômitos e diarreia. No caso de infecções intestinais, os sintomas podem demorar até 5 dias a aparecer e podem causar diarreia com sangue. O diagnóstico médico do paciente em geral está relacionado ao consumo de pescado cru ou malpassado e por meio de gástrica ou entérica.



Qual a sua reação caso encontrasse um parasito na carne do peixe?\*

- Descartar apenas a parte infectada e consumiria o restante
- Descartar todo o peixe
- Consumiria o peixe inteiro
- Deixaria de consumir a espécie de peixe em questão
- Outros

\*Independente da resposta continua para próxima questão

### Seção 27

Abaixo listaremos alguns tratamentos térmicos; de acordo com a sua percepção/conhecimento, indique a sua concordância sobre a inativação desses parasitos da seguinte forma: 1 – Concordo totalmente; 2 – Concordo parcialmente; 3 – não concordo/nem discordo; 4 – Discordo parcialmente; 5 – Discordo totalmente.\*

- Nenhum tratamento térmico tem a capacidade de inativar o Anisakis.
- Cozinhar com calor superior a 60°C por pelo menos 2 minutos em todo o peixe inativa o parasita.

- Ferver o peixe (90°C) ou fritar (170°C) são procedimentos altamente eficazes de prevenção.
- O congelamento rápido do peixe a -20°C ou mais frio por pelo menos 48 horas é eficaz para destruição do parasito
- O congelamento mais lento a -20°C por 7 dias é eficaz para destruição do parasito.

\*Independente da resposta continua para próxima questão

### **Seção 28**

Você teria interesse em participar de uma nova pesquisa sobre o assunto?

( ) Sim

( ) Não

\*Independente da resposta continua para próxima seção

### **Seção 29**

Chegamos ao final da pesquisa, agora basta clicar em ENVIAR ali embaixo  para gravar a sua resposta.