



***Estudo da Presença de Anisakis sp. no
Polvo – vulgar (Octopus vulgaris Cuvier, 1797) na
Costa Portuguesa e Análise dos Hábitos de Consumo***

Isa Daniela Fino Ferreira

[2013]



***Estudo da Presença de Anisakis sp. no
Polvo – vulgar (Octopus vulgaris Cuvier, 1797) na
Costa Portuguesa e Análise dos Hábitos de Consumo***

Isa Daniela Fino Ferreira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Gestão da Qualidade e
Segurança Alimentar

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Doutora Paula Cristina Rodrigues
de Sousa Ramos e co-orientação da Doutora Ana Carina Barbosa

[2013]

Título: Estudo da Presença de *Anisakis* sp. no Polvo - vulgar
(*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) na Costa Portuguesa e Análise dos Hábitos de Consumo

Copyright © Isa Daniela Fino Ferreira

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2013

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação/trabalho de projecto/relatório de estágio através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

¹ School of Tourism and Maritime Technology – Campus 4, Polytechnic Institute of Leiria, Portugal

² Directorate-General for Food and Veterinary, DGAV, Ministry of Agriculture, Sea, Environment and Spatial Planning, Largo da Academia de Belas Artes n.º 2, 1249-105 Lisbon, Portugal

³ School of Tourism and Maritime Technology, Marine Resources Research Group, Polytechnic Institute of Leiria, Portugal

⁴ Pathology Laboratory of Aquatic Animals, Portuguese Institute of Sea and Atmosphere, IPMA, I.P. Avenida de Brasília, 1449-006 Lisbon, Portugal

INTRODUCTION

▪ The presence of L3 *Anisakis sp.* larvae in fish caught over the Portuguese coast and the absence of parasite monitoring and surveillance systems, led us to question the presence of this parasite in common octopus and risk assessment to the consumers.

MATERIALS AND METHODS

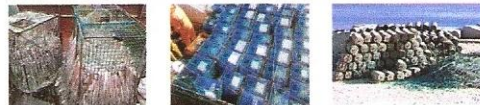
1. Geographical location and capture method of common octopus:

▪ A total of 140 common octopus (1218.9±333.1g, mantle dimensions: 158.9±18.8cm) captured in the Northeast Atlantic (FAO n.º 27) in the period between 11 November 2011 and 28 November 2012 were sampled.

Figure 1. Geographical location of the catching area of common octopus (red points). Northeast Atlantic (FAO n.º 27).



Common octopus were captured by two different kind of traps:



Figures 2 and 3. Traps.

Figure 4. Pots.



2. **Visual inspection and candling:** Visceral tissues were analyzed by visual inspection, candling and the particular site of infection was noted. The larvae recovered were processed and examined using light microscopy for morphological identification to genus level.

3. Survey about consumer habits of common octopus in Portugal:

It was used a questionnaire survey of direct administration in paper mode and online mode to all districts of Portugal, Azores and Madeira islands, from which were obtained 1477 complete responses. The sample size studied was considered statistically significant and representative for an error level of 5%.

RESULTS

▪ In the 140 analyzed common octopus, nematodes and one cestode were identified with the following location:

Table 1. Place and number of parasites recovered from the samples.

Parasite Identification	Infection Site	n =	Prevalence (%)	Intensity	Abundance	
Nematodes	<i>Anisakis</i> spp.	Gonads	1	1,4	1	1,4
		Mantle	1			
	<i>Cystidicola</i> spp.	Caecum	1	17,9	3,12	55,8
		Esophagus	56			
Exterior of the digestive gland		1				
Cestode	<i>Trypanorhyncha</i> sp.	Intestine	19	0,71	1	0,71
		Mantle	1			
		Total	81			

▪ All parasites were detected by candling. Intensity: 1-26.

▪ No parasites were observed in 80% of the analyzed common octopus.

▪ *Anisakis* sp.:

- Two filiform larvae are encapsulated as flat tight spirals observed in two common octopus:



Figure 5. *Anisakis* larvae. Bar: 500 µm.

- L3 *Anisakis* type I (Berland, 1961):



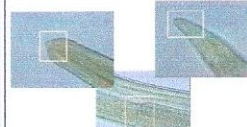
Figures 6, 7 and 8. Cephalic end of larvae showing the boring tooth; ventriculus – intestine oblique junction; caudal end showing the mucron. Bar: 50 µm.

▪ *Cystidicola* sp.:

- A larvae with filiform body and surface grooves that correspond to the nematode *Cystidicola* sp. (Fisher, 1798) was registered:



Figure 9. *Cystidicola* sp. Bar: 500 µm.



Figures 10, 11 and 12. Cephalic end of larvae showing the boring tooth; ventriculus – intestine junction; caudal end. Bar: 20 µm.

▪ *Trypanorhyncha* sp.:

- A plerocercoid larvae with solid body and a developed tentacular apparatus (Braun, 1883) was observed:



Figure 13. *Trypanorhyncha* sp. Bar: 200 µm.



Figures 14. *Trypanorhyncha* sp. Scolex with two bothridia bearing 4 reversible tentacles armed with hooks. Bar: 50 µm.

CONCLUSION

▪ The consumers have consumption practices which can destroy viable larvae: they buy frozen common octopus and when obtained fresh, the common octopus is frozen for a period exceeding one week and consumers (98.6%) use to cook it before consumption. According to the Regulation (EU) N.º 1276/2011, the freezing is effective to kill viable parasites if lowering the temperature in all parts of the product to: at least -20°C for not less than 24 hours or -35°C for not less than 15 hours or frozen for a sufficiently long period to kill the viable parasites. The heat treatment also can kill the viable parasites if the product is heated to a core temperature of 60°C or more for at least one minute (cook the octopus require a binomial time/temperature greater than indicated).

▪ This study concluded that the common octopus captured in the studied area of the Portuguese coast has a low rate of infection and additionally, consumers adopt measures that prevent the risk of parasitic infection. These are excellent results to promote the consumption of common octopus caught in the Portuguese coast and suggests extending this study to other fishing areas of common octopus over the Portuguese coast.

REFERENCES

- Abalo, E., Gestal, C., González, A., Querra, A., & Pascual, S. (2003) What makes a cephalopod a suitable host for parasite? The case of Galician vectors. *Fisheries Research* 60: 177-183
Abalo, E., Arias, C., Estévez, J.M., Gestal, C., Pascual, S., Rodríguez, H., & Soto, M. (1998) Parasites in commercially-exploited cephalopods (Mollusca, Cephalopoda) in Spain: an updated perspective. *Aquaculture* 142: 1-10.

AGRADECIMENTOS

Necessito de demonstrar a minha gratidão a várias pessoas, que sem a sua ajuda, apoio, incentivo, sabedoria, não seria possível concretizar este trabalho:

- À orientadora Doutora Paula Ramos pelos conhecimentos transmitidos, apoio, acompanhamento, orientação do trabalho e revisão crítica do mesmo.
- À co-orientadora Doutora Ana Barbosa pelo seu apoio, motivação e revisão crítica do trabalho.
- À professora Doutora Susana Mendes pela sua pronta disponibilidade e apoio no tratamento estatístico do presente trabalho.
- À professora Doutora Maria Manuel Gil pela sua pronta disponibilidade e apoio na elaboração da análise de risco.
- Ao Doutor João Oliveira, pelos conhecimentos transmitidos sob a dissecação do polvo e a identificação das várias estruturas que compõem o seu sistema digestivo.
- Agradeço à minha irmã Telma, a todos os colegas, amigos, professores e escolas, inclusive a Escola Superior de Tecnologia do Mar, que me ajudaram na difusão do Inquérito sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal, uma vez que sem a ajuda de todos não conseguiria obter a dimensão da amostra que foi atingida em todos distritos de Portugal.
- À minha família e ao Pedro, pelo seu grande apoio durante esta longa caminhada e compreensão dos longos períodos de ausência e pela motivação que me deram nos momentos mais difíceis desta caminhada.
- À geóloga Célia Martins, que me auxiliou na elaboração do mapa das coordenadas de captura do polvo-vulgar.
- Ao Gonçalo Completo, por me ceder imagens de artes de pesca utilizadas para a captura dos polvos.

- Tenho um agradecimento especial à minha colega e amiga Cátia Bulhões. Esta longa caminhada permitiu que nos conhecêssemos e que uma forte amizade nascesse, proveniente das “maratonas” ao fim-de-semana na escola, fim-de-semana após fim-de-semana, alguns até de madrugada. O facto de não estar sozinha nesta caminhada, deu-me força para continuar, agradeço todo o apoio, compreensão e força que me transmitiste. Muito obrigada.

Agradeço a todas as pessoas que de forma direta ou indireta me ajudaram nesta longa caminhada.

RESUMO

RESUMO

A presença de larvas L3 de *Anisakis* sp. em peixe capturado na Costa Portuguesa e a inexistência de sistemas de monitorização de parasitoses, levou-nos a questionar a presença deste parasita em polvo proveniente da nossa Costa, molusco bastante consumido em Portugal, e avaliar o risco para o consumidor.

Foram analisadas 140 amostras de polvo-vulgar (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) capturados no Atlântico Nordeste (FAO n.º 27) no período entre 11 de Novembro de 2011 e 28 de Novembro de 2012. Procedeu-se à observação macroscópica das cavidades abdominal e visceral por inspeção visual e transiluminação, registando-se o local de infeção. Foram recolhidos nematodos, *Anisakis* sp., apenas 2 exemplares localizados no manto e nas gónadas (taxa de infeção de 1,4 %) e *Cystidicola* sp. (taxa de infeção de 17,9 %) e um céstodo, *Trypanorhyncha* sp. (taxa de infeção inferior a 1%).

Com o objetivo de estudar os hábitos de consumo de polvo foi realizado um inquérito abrangendo todos os distritos de Portugal e Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira, tendo sido obtidas 1477 respostas completas. Verificou-se que a maior parte dos inquiridos compram polvo congelado, que polvo adquirido fresco é congelado durante um período superior a uma semana e que 98,6% dos inquiridos cozinham o polvo antes de ser consumido.

Os resultados laboratoriais permitiram concluir que o polvo capturado nesta zona definida da costa portuguesa apresenta uma baixa taxa de infeção, o que aliado ao facto dos consumidores adotarem medidas que inviabilizam os eventuais parasitas presentes no polvo, diminui o risco de infeção parasitária, o que se traduz em excelentes resultados na promoção do consumo deste produto da pesca e sugere o alargamento deste estudo a outras áreas de captura do polvo, na Costa Portuguesa.

Palavras-chave: Costa Portuguesa, cefalópodes, polvo, *Octopus vulgaris*, segurança alimentar, *Anisakis*, *Cystidicola*, *Trypanorhyncha*, anisaquidose, análise de risco semi-quantitativa.

ABSTRACT

ABSTRACT

The presence of L3 *Anisakis* sp. larvae in fish caught over the Portuguese coast and the absence of parasite monitoring and surveillance systems, led us to question the presence of this parasite in common octopus and risk assessment to the consumers.

A total of 140 common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) captured in the Northeast Atlantic (FAO n.º 27) in the period between 11 November 2011 and 28 November 2012 were sampled. Visceral tissues were analyzed by visual inspection, candling and the particular site of infection was noted. Nematoda were collected: *Anisakis* sp. located in the mantle and gonad (infection rate of less than 1%) and *Cystidicola* sp. (infection rate of 56%); and Cestoda: *Trypanorhyncha* sp. (infection rate of less than 1%).

A survey was conducted covering all districts of Portugal and the Azores and Madeira islands aiming to study consumer habits of common octopus. A total of 1477 complete responses were obtained. It was found that the consumers buy frozen common octopus and when obtained fresh, the common octopus is frozen for a period exceeding one week. Consumers (98.6%) cook the common octopus before consuming it.

The laboratory results allowed us to conclude that the common octopus captured in the defined area of the Portuguese coast has a low rate of infection and additionally, consumers adopt measures that prevent the risk of parasitic infection. This are excellent results to promote the consumption of common octopus caught in the Portuguese coast and suggests extending this study to other fishing grounds of common octopus over the Portuguese coast.

Keywords: Portuguese coast, cephalopods, octopus, *Octopus vulgaris*, safety, *Anisakis*, *Cystidicola*, *Trypanorhyncha*, anisakiasis, semi-quantitative risk assessment.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
ÍNDICE GERAL	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
ÍNDICE DE TABELAS	xix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xxi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. Enquadramento do Tema	2
1.2. Objetivos	3
2. REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1. Importância do setor das pescas	6
2.2. Porto de Peniche.....	6
2.3. Importância do consumo de produtos da pesca: benefícios associados.....	6
2.4. Cefalópodes.....	8
2.4.1. Aspetos históricos e mitológicos.....	8
2.4.2. Caracterização dos cefalópodes.....	9
2.4.3. Distribuição geográfica de <i>Octopus vulgaris</i>	10
2.4.4. Artes de pesca.....	11
2.4.4.1. Armadilha de abrigo: Alcatruzes.....	11
2.4.4.2. Armadilha tipo gaiola: Covos.....	12
2.4.5. Morfologia externa.....	13
2.5. Parasitas.....	14
2.5.1. Nematodos.....	14
2.6. Importância da análise de risco.....	18
2.7. Enquadramento legal do controlo de parasitas nos estabelecimentos do sector alimentar.....	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1. Amostra.....	24
3.2. Reagentes e outros materiais.....	26
3.3. Equipamentos e utensílios.....	26

3.4. Métodos.....	27
3.4.1. Inspeção visual e observação por transiluminação.....	27
3.4.2. Inquérito sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal.....	29
3.4.2.1. A escolha metodológica.....	29
3.4.2.2. O instrumento.....	30
3.4.2.3. Pré-teste.....	30
3.4.2.4. Aplicação do instrumento.....	32
3.4.2.5. A amostra.....	32
3.4.3. Análise estatística no âmbito do Inquérito sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal.....	34
3.4.4. Análise estatística no âmbito dos resultados obtidos durante a inspeção visual e observação por transiluminação.....	37
3.4.5. Contributo para avaliação de risco de <i>Anisakis</i> sp. em polvo-vulgar.....	39
3.4.5.1. Identificação do perigo.....	39
3.4.5.2. Caracterização do perigo.....	40
3.4.5.3. Avaliação da exposição.....	40
3.4.5.4. Caracterização do risco.....	41
4. RESULTADOS.....	43
4.1. Características das amostras analisadas.....	44
4.2. Descrição dos parasitas identificados nas amostras analisadas.....	45
4.2.1. Descrição morfológica de <i>Anisakis</i> sp.....	46
4.2.2. Descrição morfológica de <i>Cystidicola</i> sp.....	47
4.2.3. Descrição morfológica de <i>Trypanorhyncha</i> sp.....	48
4.3. Análise dos resultados do inquérito sobre o consumo de polvo- vulgar em Portugal.....	49
4.3.1. Caracterização da amostra.....	49
4.3.2. Análise da associação entre as questões.....	54
4.3.3. Outras associações.....	57
4.4. Análise estatística dos resultados obtidos na investigação das amostras de polvo-vulgar por inspeção visual e por transiluminação..	58
4.5. Análise de risco semi-quantitativa de <i>Anisakis</i> sp. no polvo-vulgar....	64
4.5.1. Identificação do perigo.....	64

4.5.2. Caracterização do perigo.....	64
4.5.3. Avaliação da exposição.....	64
4.5.4. Caracterização do risco.....	65
5. DISCUSSÃO.....	67
6. CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	79
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
Anexos.....	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Ciclo de vida de <i>Anisakis simplex</i>	16
Figura 3.1. Zona geográfica referente de captura das amostras de polvo-vulgar analisadas.....	24
Figura 3.2. A e B – Gaiolas.....	24
Figura 3.3. Alcatruzes.....	25
Figura 3.4. Medição do comprimento do manto (mm) de polvo-vulgar. A – Medição do comprimento do manto (mm) (ML). B – Morfologia externa de polvo-vulgar.....	27
Figura 3.5. Morfologia de polvo-vulgar (<i>Octopus vulgaris</i>).....	28
Figura 3.6. Questionário sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal.....	31
Figura 4.1. Gónada na parte superior do manto do polvo-vulgar.....	44
Figura 4.2. Gónada de polvo-vulgar macho. A – Exterior da gónada. B – Interior da gónada com evidencia do espermatóforo.....	44
Figura 4.3. Gónada de polvo-vulgar fêmea. A – Exterior da gónada. B – Interior da gónada, com destaque de um oviducto.....	45
Figura 4.4. Parasita enquistado no manto.....	46
Figura 4.5. L3 de <i>Anisakis</i> tipo I enrolada em espiral plana.....	46
Figura 4.6. Morfologia de <i>Anisakis</i> sp. por microscopia ótica. A – Extremidade anterior com presença de um dente perfurante. B – Ligação oblíqua na junção entre ventrículo e intestino. C – Mucron presente na extremidade caudal.....	47
Figura 4.7. <i>Cystidicola</i> sp.....	47
Figura 4.8. Morfologia de <i>Cystidicola</i> sp. por microscopia ótica. A – Extremidade anterior com dente perfurante. B – Ligação horizontal entre ventrículo e intestino. C – Cauda.....	48
Figura 4.9. <i>Trypanorhyncha</i> sp.....	48

Figura 4.10. Morfologia de <i>Trypanorhyncha</i> sp. por microscopia ótica. A – Armadura tentacular constituída por quatro tentáculos recontráteis armados com ganchos. B – Armadura tentacular constituída por quatro ganchos recontráteis armados com ganchos. C – Corpo não segmentado.....	48
Figura 4.11. Distribuição da amostra (%) por grupos etários.....	49
Figura 4.12. Distribuição dos inquiridos (%) por distritos / Regiões Autónomas de residência.....	50
Figura 4.13. Distribuição da amostra (%) pelos inquiridos que costumam ou não congelar o polvo-vulgar que adquirem fresco.....	51
Figura 4.14. Distribuição da amostra (%) pelos equipamentos onde os inquiridos costumam congelar o polvo-vulgar que adquirem fresco.....	52
Figura 4.15. Distribuição da amostra (%) pelo tempo de congelação do polvo-vulgar fresco.....	52
Figura 4.16. Distribuição da amostra (%) pelos locais de aquisição de polvo-vulgar.	53
Figura 4.17. Associação dos resultados obtidos entre as questões “Distrito de residência” e “Onde costumam costuma adquirir o polvo que consome”.....	55
Figura 4.18. Associação entre os distritos / Regiões Autónomas dos inquiridos e as épocas do ano em que consomem polvo-vulgar.....	56
Figura 4.19. Associação dos resultados obtidos entre as questões “Como costuma adquirir polvo fresco” e “Costuma congelar o polvo que adquire fresco antes de o consumir”.....	57
Figura 4.20. Relação entre o comprimento do manto (mm) e o peso (g) de polvo-vulgar, juntamente com as estações do ano relativas à captura das amostras de polvo-vulgar analisadas.....	59
Figura 4.21. Distribuição, pelas estações do ano, dos valores do comprimento do manto (mm) de polvo-vulgar expressos sob a forma de média \pm desvio-padrão (DP). O símbolo (*) indica diferenças estatisticamente significativas entre o Verão e o Outono (<i>Tukey, p-value</i> < 0,05).....	60
Figura 4.22. Distribuição, pelas estações do ano, dos valores do peso (g) de polvo-vulgar expressos sob a forma de média \pm DP. O símbolo (*) indica diferenças estatisticamente significativas entre o Verão e o Outono (<i>Tukey, p-value</i> < 0,05) e o símbolo (#) evidencia diferenças	

estatisticamente significativas entre o Verão e Inverno (<i>Tukey, p-value < 0,05</i>).....	60
Figura 4.23. Relação entre o número de parasitas observados (agrupados) e o sexo das amostras de polvo-vulgar analisadas.....	61
Figura 4.24. Distribuição, pelo número de parasitas observados (agrupados), dos valores do peso (g) de polvo-vulgar expressos sob a forma média ± DP. O símbolo (*) indica diferenças estatisticamente significativas entre 2 a 3 ou mais parasitas (<i>Tukey, p-value < 0,05</i>) e o símbolo (#) indica diferenças estatisticamente significativas entre 2 a 3 ou mais parasitas (<i>Tukey, p-value < 0,05</i>).....	62
Figura 4.25. Distribuição, pelo número médio de parasitas observados (agrupados), dos valores do comprimento do manto (mm) de polvo-vulgar expressos sob a forma média ± DP. O símbolo (*) indica diferenças estatisticamente significativas entre 2 a 3 ou mais parasitas (<i>Tukey, p-value < 0,05</i>).....	63
Figura 4.26. Distribuição, pelas épocas do ano, dos valores do tamanho dos parasitas (<i>Cystidicola</i> spp.) (mm) expressos sob a forma média ± DP. O símbolo (*) indica diferenças estatisticamente significativas entre os meses de Outono e Verão (<i>Games-Howell, p-value < 0,05</i>).....	63
Figura 4.27. Identificação de cenários estudados para a caracterização de risco de <i>Anisakis</i> sp. no polvo-vulgar.....	65

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1. Informação nutricional do polvo-vulgar cru e cozido por 100 g.....	8
Tabela 3.1. Cronograma mensal de obtenção de amostras.....	25
Tabela 3.2. Número de habitantes residentes em Portugal.....	34
Tabela 3.3. Descrição das questões em estudo submetidas à análise de dependência mediante o Teste de Qui-Quadrado.....	37
Tabela 4.1. Localização e número de parasitas identificados nas amostras.....	45
Tabela 4.2. Resultados obtidos na caracterização do risco de <i>Anisakis</i> sp. no polvo-vulgar.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

No presente trabalho foram utilizadas algumas abreviaturas que correspondem à língua inglesa, por serem utilizadas na literatura da especialidade.

- ACOPE** – Associação dos Comerciantes de Pescado
AESA – Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos
AESAN – Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
ANOVA – “Analysis of Variance” – Análise de Variância
ASAE – Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
b-on – Biblioteca do Conhecimento online
°C – Graus Celsius
CFF – Comprimento de fora a fora
cm - Centímetros
CO₂ – Dióxido de Carbono
DGAV – Direção-Geral de Alimentação e Veterinária
DHA – “Docosahexaenoic Acid” – Ácido Docosahexaenóico
DP – Desvio-padrão
EFSA – European Food Safety Authority
EPA – “Eicosapentaenoic Acid” – Ácido Eicosapentaenóico
E/S – Excreção / Secreção
ESTM – Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar
FAO – “Food and Agriculture Organization of the United Nations” – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
GTI – Gabinete de Trocas Intracomunitárias
HACCP – “Hazard Analysis and Critical Control Points” – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo
hab – Habitantes
HA – Hospedeiro Acidental
HD – Hospedeiro Definitivo
HI – Hospedeiro Intermediário
HT – Hospedeiro de Transporte ou Paraténico
IgE – Imunoglobulina E
INE – Instituto Nacional de Estatística
INSA – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
IPMA – Instituto de Investigação do Mar e da Atmosfera

mm – Milímetro
ML – Comprimento do manto
n – Dimensão da Amostra
° N – Graus Norte
NaCl – Cloreto de sódio
OCDE – FAO – Organization for Economic Co-operation and Development – Food and Agriculture Organization of the United Nation
OMS – Organização Mundial de Saúde
ONU – Organização das Nações Unidas
kDa - Kilodalton
kg - Kilograma
R – Escala de Risco
R² - Coeficiente de Determinação
r – Coeficiente de Correlação Linear
RASFF – Rapid Alert System for Food and Feed
WHO – World Health Organization
UE – União Europeia
µm - Micrómetro
% - Percentagem
% v/v – Percentagem volume / volume
Ω3 – Ómega 3

1. INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Enquadramento do tema

Os cefalópodes desempenham um papel importante no ecossistema marinho e são valiosos para o homem como alimento (Pascoal *et al.*, 1996).

Este grupo de espécies é importante ao nível da pesca comercial internacional, contribuindo com mais de 1 milhão de toneladas desde 2002 (The State of World Fisheries and Aquaculture, 2010). Em termos económicos, o setor da pesca revela uma importância económica e social, ao nível regional e local, existindo muitas comunidades costeiras que têm a pesca como a sua principal atividade, apresentando dificuldades de reconversão e/ou diversificação profissional. Neste seguimento, refere-se que, em 2005, o emprego direto no setor (pesca/captura, aquicultura e indústria transformadora dos produtos da pesca) representou 0,6 % numa população ativa de cerca de 5,5 milhões de pessoas, com uma produção total de pescado (captura e aquicultura) de 218 mil toneladas aproximadamente correspondentes a 481 milhões de euros (DGPA, 2007). Em 2012, os pescadores portugueses capturaram 200 mil toneladas de peixe, o que representou um volume de negócios de 277 milhões de euros (Docapesca, 2013). Há uma grande diversidade de espécies desembarcadas, ascendendo as 365, sendo a sardinha, o carapau, o polvo-vulgar, a pescada e o peixe-espada as mais expressivas (Nunes *et al.*, 2008). O polvo-vulgar consiste numa das principais espécies consumidas em Portugal, sendo uma das cinco espécies mais vendidas nas lotas nacionais, inclusive na lota de Peniche (Docapesca, 2013). Em 2012, houve um aumento do volume de capturas de moluscos (superior a 14,1%) e do seu valor correspondente (mais de 14,1%), devido à existência de uma maior quantidade de polvos (superior a 32,9%). Neste sentido, foram descarregadas 9573 toneladas de polvo-vulgar nas lotas nacionais (Instituto Nacional de Estatística, 2012).

Os parasitas são uma ferramenta importante no estudo da ecologia e biologia dos animais marinhos, pois permitem avaliar a interação parasita-hospedeiro. A ocorrência de um parasita marinho, em qualquer espécie hospedeira ou área de pesca, depende da presença dos hospedeiros definitivos, intermediários e de transporte e ainda, de fatores abióticos e bióticos (González *et al.*, 2003). Pascoal *et al.* (1996) estudaram a presença de parasitas em 1576 cefalópodes selvagens (chocos, lulas e polvos) de dez espécies em três ordens (*Sepioidea*, *Teuthoidea*, *Octopoda*). Os resultados revelaram que das dez

espécies de cefalópodes estudadas, cinco tinham protozoários (coccídeos, ciliados, mesozoários) e parasitas metazoários (*Phyllobothriidae*, *Tentaculariidae*, *Cystidicolidae*, *Anisakidae*, *Lichomolgidae*, *Pennellidae*). Nos cefalópodes, as larvas L3 de *Anisakis* foram observadas livres na cavidade abdominal e enquistadas no estômago, manto, gónadas e mesentério (González *et al.*, 2003). *Anisakis simplex* (*A. simplex*) poderá ter 2 cm de comprimento, o que permite que haja facilidade de ser visualizado nas vísceras, mas difícil de ser observado na musculatura dos peixes e nas abas da barriga do peixe branco (EFSA, 2010). A presença de larvas L3 de anisacuídeos em peixe com valor comercial pode acarretar consequências económicas, oriundas do aumento de incidência destes parasitas em peixes selvagens com valor comercial, em áreas de pesca de todo o mundo (Vidacek *et al.*, 2009), assim como se pode tornar num problema de saúde pública através do risco de doença (anisacuídose) (Ramos, 2011). A larva (L3) viável de *A. simplex* se for acidentalmente ingerida pelo Homem, em produtos da pesca crus ou pouco confeccionados, pode originar inflamação aguda, acompanhada de sintomatologia gastrointestinal (Audicana *et al.*, 2002).

1.2. Objetivos

O objetivo deste trabalho consistiu no estudo da ocorrência do parasita *Anisakis simplex* no polvo-vulgar (*Octopus vulgaris*), de forma a avaliar a sua importância enquanto hospedeiro de transporte no ciclo biológico deste parasita.

No presente trabalho também foi realizado um estudo sobre os hábitos de consumo de polvo em Portugal (todos os distritos de Portugal, Região Autónoma dos Açores e da Madeira), através de um inquérito por questionário. Com este inquérito, pretendeu-se analisar os hábitos de consumo de polvo dos consumidores ao nível nacional e o risco de infeção parasitária.

Com este trabalho, pretendeu-se dar um contributo para uma avaliação de risco da presença de *Anisakis* sp. no polvo. Procedeu-se à agregação de elementos necessários à construção de um modelo de avaliação de risco de *Anisakis* sp., por consumo de polvo. A avaliação da exposição ao parasita *Anisakis* sp. foi também objeto de estudo. Esta avaliação teve em conta os hábitos de consumo dos consumidores inquiridos (obtidos no questionário sobre o consumo de polvo em Portugal e por pesquisa de dados bibliográficos).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2. Revisão de Literatura

2.1. Importância do setor das pescas

O consumo global de pescado praticamente duplicou entre 1960 e 2007, aumentando de 9,0 kg para 17,1 kg *per capita* anualmente (Ocean, 2012). A FAO prevê que o consumo de pescado *per capita* na UE (União Europeia) continue a aumentar (Ocean, 2012). Dada a localização geográfica de Portugal junto ao Oceano Atlântico, o consumo de peixe sempre teve um papel importante na alimentação da sua população (DGPA, 2007). Neste sentido, os portugueses são dos maiores consumidores *per capita* dos produtos da pesca no seio da União Europeia (DGPA, 2007), consumindo 61,10 kg / capita / ano de produtos da pesca, em que 4,10 kg / capita / ano são relativos aos cefalópodes (FAO, 2013a). De acordo com as perspetivas da OCDE-FAO, está previsto que a captura de produtos da pesca aumentará em 5% até 2022, e que a aquicultura aumentará em 35%. Este aumento, mais significativo na aquicultura, pode estar relacionado com o facto de esta atividade estar projetada como a principal fonte de produtos da pesca para o consumo humano até 2015 (OCDE-FAO, 2013).

2.2. Porto de Peniche

Entre os portos de pesca nacionais, a lota de Peniche foi classificada como a segunda lota com maior volume de desembarque de polvo-vulgar (*Octopus vulgaris*) em 2012 com 739 126 kg (Docapesca, 2013).

2.3. Importância do consumo de produtos da pesca: benefícios associados

É dada especial importância aos produtos da pesca ao nível da composição da gordura e de vários micronutrientes (Nunes *et al.*, 2008). Existem vários estudos que associam o consumo de produtos da pesca a benefícios para a saúde, tais como a diminuição de fatores de risco para doenças cardiovasculares, colesterol ou hipertensão, e é fundamental na prevenção da obesidade e doenças associadas, como a diabetes (Nunes *et al.*, 2008).

A FAO (Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas) e a OMS (Organização Mundial de Saúde) (2010) referem, num parecer conjunto, que o consumo de pescado fornece um conjunto de nutrientes essenciais ao organismo, dos quais se destacam as proteínas e os ácidos gordos polinsaturados ómega-3. Em relação aos benefícios dos ácidos ómega-3, a FAO e OMS defendem o consumo de pescado durante a gravidez e o aleitamento (devido à diminuição do risco de um inadequado desenvolvimento neuronal dos bebés), entre a população adulta (por reduzir o risco de mortalidade por doença coronária) e entre as crianças e adolescentes, uma vez que o consumo de pescado tem influência na saúde atual e nos hábitos alimentares da sua vida adulta (FAO e OMS, 2010).

De acordo com o parecer da FAO e OMS (2010), os produtos da pesca são alimentos ricos em ómega-3, isto é, ácidos gordos essenciais provenientes de dois tipos de gorduras polinsaturadas: EPA (ácido eicosapentaenóico) e DHA (ácido docosa-hexaenóico). Os ácidos ómega-3 não são produzidos pelo organismo, pelo que necessitam de ser obtidos através da ingestão de alimentos. Assim, a ingestão de produtos alimentares com níveis elevados de ómega-3 tem efeitos benéficos para a saúde. O polvo é uma fonte destes ácidos, entre outras espécies marinhas. Contudo, os peixes gordos (atum, salmão, sardinha, carapau, arenque, truta, cavala, entre outros) apresentam os valores mais elevados de ómega-3. Segundo a AESA (Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos), a dose diária recomendada de EPA com DHA para adultos deve ser de 250 mg por dia. Salienta-se que 100 g de polvo contém 500 mg de EPA com DHA. Desta forma, é necessário consumir 50 g de polvo para suprir a dose diária recomendada de EPA com DHA, tendo em conta a AESA (Nunes *et al.*, 2008).

O polvo-vulgar, além de conter ómega 3, é rico em proteínas, fósforo e potássio (Bandarra *et al.*, 2004). De seguida, estão descritos os dados nutricionais da espécie *Octopus vulgaris* na **Tabela 2.1.** (Nunes *et al.*, 2008).

Tabela 2.1. Informação nutricional do polvo-vulgar cru e cozido por 100 g.

DADOS NUTRICIONAIS POR 100 g		
Polvo-vulgar		
	Cru	Cozido
Valor Energético (kcal)	77,4	116,5
Proteína (g)	15,6	23,7
Gordura Total (g)	1,2	1,3
Gordura Saturada (mg)	265,9	282,9
EPA (mg)	196,5	211,0
DHA (mg)	225,3	239,2
Ω3 (mg)	496,9	525,6
Colesterol (mg)	64	105
Vitamina A (µg)	2,7	6,7
Vitamina E (mg)	0,73	2,1
Potássio (mg)	236	164
Fósforo (mg)	165	185
Cálcio (mg)	13	26
Sódio (mg)	259	178

Fonte: Nunes *et al.*, 2008.

2.4. Cefalópodes

2.4.1. Aspetos históricos e mitológicos

Os cefalópodes são um grupo antigo e especializado do filo *Mollusca*. O termo *Cephalopoda* deriva das palavras gregas *kephale*, que significa cabeça, e *pous*, pés. Esta designação foi atribuída por Schneider em 1784 e utilizada, pela primeira vez, na literatura científica por Cuvier em 1798 (Rosa e Reis, 2005).

Desde a Antiguidade Clássica, no século XVI, que existem referências dos cefalópodes, muito comuns em ilustrações de cartas e mapas marítimos. Muitas destas ilustrações representavam mitos e lendas de “monstros marinhos”, destruidores de embarcações e devoradores de homens (Rosa e Reis, 2005). As primeiras observações escritas conhecidas sobre a espécie *Octopus vulgaris* foram realizadas por Aristóteles, identificando esta espécie entre uma dúzia de outras espécies do Mediterrâneo Este. As primeiras indicações da eventual importância económica e social deste recurso surgem

na cerâmica cretense, onde estão representadas figurações de polvo-vulgar. Nos povos da remota Antiguidade, existiam desenhos em antigas ânforas e cerâmicas romanas, moedas e azulejos (Gonçalves, 1993).

Atualmente, já se combateram estas ideias fictícias em torno do polvo, pois o polvo (*Octopus vulgaris*) não é um animal perigoso. O polvo-vulgar pode encontrar-se com o Homem devido à sua curiosidade, mas foge na primeira oportunidade (Gonçalves, 1993).

2.4.2. Caracterização dos cefalópodes

Os cefalópodes apresentam uma biodiversidade baixa (700 espécies) comparativamente com a dos peixes teleósteos (aproximadamente 30 000 espécies). Encontram-se em todos os oceanos, desde os trópicos até aos pólos, desde a zona entre marés até à zona abissal, tratando-se de espécies exclusivamente marinhas, não tolerando águas salobras (Rosa e Reis, 2005).

Este grupo de organismos apresenta elevadas taxas de crescimento e de conversão alimentar, rápida maturação sexual e ciclos de vida curtos (entre 12 – 18 meses). Geralmente, numa fase inicial crescem 4 a 8% da sua massa corporal por dia, abrandando até aos 0,5% na altura da maturação sexual. Após a reprodução, os cefalópodes param de se alimentar (consequentemente perdem massa) e morrem. Até recentemente, pensava-se que todos os cefalópodes se reproduziam uma única vez (semelparidade) (Rosa e Reis, 2005).

Estes organismos caracterizam-se pela capacidade de mimetizar o meio circundante através da mudança de coloração, comunicam entre si através da utilização de complexos padrões na pele e são predadores, principalmente oportunistas, de peixes, moluscos e crustáceos, e também há casos registados de autofagia e canibalismo (Rosa e Reis, 2005).

Nas últimas décadas, a intensificação da exploração dos recursos de pesca convencionais contribuíram para o redireccionamento da atividade piscatória para os recursos ditos não convencionais, como é o caso dos cefalópodes. No passado, suportavam algumas pescarias costeiras de pequena escala, porém, ganharam reconhecimento no mercado mundial e vieram auxiliar ou fornecer grandes explorações

comerciais, particularmente na parte oriental do Atlântico Central, no Noroeste do Pacífico e no Mediterrâneo (Rosa e Reis, 2005). As capturas de cefalópodes têm aumentado significativamente ao longo dos últimos 25 anos, o que pode refletir a procura de mercado, bem como evidenciar a reação do ecossistema à excessiva pressão de pesca nos mananciais piscícolas convencionais (Caddy e Rodhouse, 1998; Pierce e Guerra, 1994). Para além disso, pode refletir a diminuição da competição e da predação exercidas por mamíferos marinhos e por algumas comunidades piscícolas. As flutuações interanuais verificadas nos principais grupos de cefalópodes podem estar relacionadas com as condições de sucesso da reprodução (que depende das condições ambientais), visto que estas espécies apresentam um ciclo de vida curto e, normalmente, com uma única reprodução (semelparidade). Contudo, os cefalópodes têm-se mostrado extremamente adaptáveis ao meio, uma vez que apresentam uma elevada plasticidade fisiológica, um elevado investimento reprodutor e taxa de crescimento e uma dieta essencialmente oportunista (Rosa e Reis, 2005).

2.4.3. Distribuição geográfica de *Octopus vulgaris*

Esta espécie apresenta uma área de distribuição muito ampla, desde zonas tropicais e subtropicais a zonas temperadas dos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico e mares adjacentes (Rosa e Reis, 2005). O polvo-vulgar ocorre desde o litoral até à extremidade da plataforma continental (em profundidades de 0 a 200 m) (FAO, 2013b), sendo mais abundante entre os 0-50 m (Sánchez, *et al.*, 1998). Foi registada a ocorrência de capturas pontuais na batimétrica dos 170 m na costa portuguesa (Sousa Reis *et al.*, 1984). É encontrado numa variedade de habitats, tais como rochas, recifes de coral, e fundos de algas. Está inativo nas águas frias a 7°C ou a temperaturas inferiores (FAO, 2013b).

A reprodução ocorre, normalmente, durante um longo período nas zonas temperadas e subtropicais, geralmente com duas épocas de postura, uma na Primavera (Abril / Maio) quando o grupo está a migrar para a zona costeira (mais importante do Mediterrâneo) e outra no Outono (Outubro), correspondendo à migração do grupo em Outono. Durante as épocas de postura, os animais de maiores dimensões realizam migrações horizontais para junto da costa. Estas migrações podem estar relacionadas com a necessidade das fêmeas maduras encontrarem substratos rochosos para as suas posturas. Contudo, alguns animais fazem a postura em águas mais profundas que os 80-90 m. Na costa

portuguesa, normalmente os dois períodos de postura coincidem com o aumento da temperatura da água do mar (Rosa e Reis, 2005). As fêmeas podem produzir entre 120000 e 400000 ovos com dois milímetros aproximadamente, os quais são colocados em fendas ou buracos, geralmente em águas rasas. A desova pode se estender até 1 mês. Durante o período inicial (25-65 dias), as fêmeas quase deixam de se alimentar e muitos morrem após a incubação das larvas. Os “juvenis” são pelágicos, e tornam-se bentônicos após 40 dias, com um tamanho mínimo de 12 mm aproximadamente (FAO, 2013b).

2.4.4. Artes de pesca

Os métodos tradicionais são utilizados em menos de metade das capturas mundiais de cefalópodes. Desde há milhares de anos, têm sido aperfeiçoados numerosos engenhos para a pesca dos cefalópodes, nomeadamente para a captura de polvo. A primeira frota de pesca ao polvo com alcatruzes surgiu somente no início do século XX na costa do Sotavento Algarvio, mais especificamente em Tavira (Rosa e Reis, 2005).

As armadilhas são as artes de pesca responsáveis pela maioria das capturas dos polvos em Portugal, sendo as mais utilizadas os alcatruzes (armadilha de abrigo) ou covos (armadilha tipo gaiola) (Franca *et al.*, 1998).

2.4.4.1. Armadilha de abrigo: Alcatruzes

A pesca por armadilha de abrigo consiste na atração da presa através da criação artificial de ambientes similares a locais de abrigo ou poiso e dos quais pode sair livremente. Só pode ser efetuada com potes ou alcatruzes, destinada à captura de polvo. Cada embarcação só pode utilizar 3000 armadilhas no máximo, não podendo ser colocadas a uma distância inferior a 1/2 milha de distância da linha de costa, para embarcações até 9 m de comprimento de fora a fora (CFF), e a uma distância inferior a 1 milha de distância da linha da costa para embarcações com CFF superior a 9 m (Portaria n.º 447/2009, de 28 de Abril). Os alcatruzes consistem em potes geralmente de barro ou de plástico de secção circular (Gonçalves, 2003) e, geralmente, não são iscados (Franca *et al.*, 1998). Contêm um orifício no fundo e encontram-se dispostos em teias compostas

por um número variável de potes, que estão presos em intervalos regulares, por cabos finos designados alfoques, a uma linha madre.

A utilização destas armadilhas baseia-se no comportamento dos polvos, nomeadamente no facto de se refugiarem em anfractuosidades (Rosa e Reis, 2005). São muito utilizados na costa Algarvia, principalmente na zona de Sotavento (Portimão, Santa Luzia, Tavira e Olhão). Esta arte de pesca é menos utilizada de Sul para Norte, desaparecendo a partir da Nazaré (Gonçalves, 1993).

2.4.4.2. Armadilha tipo gaiola: Covos

A pesca por armadilha de gaiola recorre a um dispositivo de dimensões e formas muito diversas, constituído por estrutura rígida tal que, por si só ou servindo de suporte a pano de rede, delimitam um compartimento cujo acesso é feito através de uma ou mais aberturas fáceis de abrir de fora para dentro (endiches) (Portaria n.º 447/2009, de 28 de Abril; Rebordão, 2000), mas cuja utilização, em sentido contrário, é dificultada às presas. Só é possível utilizar e manter a bordo 250 armadilhas por embarcação na captura do polvo. No caso específico da pesca por armadilha com a forma de um cilindro ou paralelepípedo com as características acima mencionadas, a mesma não pode ser utilizada nos meses de Fevereiro a Julho (Portaria n.º 447/2009, de 28 de Abril).

Na armadilha tipo gaiola é possível distinguir os sub-tipos covos e nassa.

Os covos consistem num qualquer método de pesca que utiliza estruturas que permitam recolção essencialmente compostas por uma bolsa, que pode ser prolongada para os lados (Decreto Regulamentar n.º 7/2000, de 30 de Maio). O covos mais comum é construído com rede de plástico em estrutura de metal, sendo utilizado em toda a costa portuguesa para a captura de cefalópodes, bem como de peixes e crustáceos, dependendo da posição dos endiches (Franca, *et al.*, 1998). Normalmente, o covos consiste numa gaiola rígida indismontável ou que se mantém aberta através de varas ou canas ou outros dispositivos próprios para as armar, dispondo de um ou dois endiches (Rebordão, 2000). São armadilhas passivas de atração alimentar (iscadas).

O sub-tipo nassa refere-se a gaiolas limitadas por rede flexível, dispondo de aros, de verga ou arame, transversais circulares, desmontáveis, que sustentam um saco de rede

de malha de pequena dimensão. Tipicamente com dois ou mais endiches em sequência e, geralmente, não são iscadas (Rebordão, 2000; Franca *et al.*, 1998). Este tipo de armadilha pode ter uma ou mais asas, isto é, panos de rede ligados à boca da armadilha, tendo como finalidade auxiliar o encaminhamento das presas para o saco (Franca *et al.*, 1998).

2.4.5. Morfologia externa

Os cefalópodes são moluscos com simetria bilateral. No grupo Octopoda, a concha encontra-se reduzida a pequenos bastonetes ou ausente (Rosa e Reis, 2005).

Os cefalópodes têm o corpo mole, em forma de saco, rodeado por tentáculos com ventosas. Têm dois olhos posicionados de cada lado da cabeça. Contêm uma boca com maxilas semelhantes aos bicos de papagaio. São dotados de mimetismo e, para dissuadir os seus predadores, emitem “tinta” (sépia) (Bernardo e Martins, 1997).

Existem dois subgrupos dos cefalópodes: os que têm oito tentáculos iguais (Octópodes), como é o caso do polvo-vulgar e o polvo cabeçudo, e os que possuem oito tentáculos iguais e dois maiores (Decápodes), como é o caso das lulas, potas e choco (Bernardo e Martins, 1997). O polvo-vulgar tem um corpo mole, constituído pelo manto, cabeça com olhos, e os braços com numerosas ventosas, sendo estes os aspetos mais evidentes na sua morfologia externa. O manto contém todos os sistemas de órgãos internos (a massa visceral dos moluscos), assim como um funil musculoso orientável (característica dos cefalópodes), que permite a deslocação do animal por jatos de água. Por sua vez, a cabeça localiza-se entre o manto e os braços, contendo um par de olhos laterais (Gonçalves, 1993). É constituído por oito braços robustos e muito alongados, contendo duas fiadas de ventosas (Bernardo e Martins, 1997). Comparativamente com outras espécies de polvos, a espécie *Octopus vulgaris* não tem braços muito longos (não excedem o triplo do comprimento do manto), sendo que o segundo e terceiro pares de braços são os mais longos normalmente e, o primeiro par, é o mais curto. Normalmente, os braços do primeiro par são utilizados como braços exploratórios, os do segundo par servem para capturar e segurar objetos e, os do terceiro e quarto par são usados na locomoção (Gonçalves, 1993). Atinge um comprimento de 30 a 80 cm, podendo alcançar os 130 cm (Bernardo e Martins, 1997).

2.5. Parasitas

Os produtos da pesca podem transmitir doenças parasitárias ao Homem, principalmente através da ingestão de algumas espécies de céstodos, tremátodos e nematodos. Estas doenças resultam de infeção após a ingestão de parasitas viáveis, ou de uma reação alérgica (hipersensibilidade) a antigénios de parasitas da família *Anisakidae* (EFSA, 2010).

2.5.1. Nematodos

Alguns nematodos são agentes patogénicos ao Homem. Alguns deles estão presentes, naturalmente, no ambiente marinho, onde são comuns e podem ser encontrados em vários hospedeiros. As zoonoses, transmitidas por alimentos através de animais aquáticos, são frequentemente associadas a anisaquídeos (nematodos) dos géneros *Anisakis* Dujardin, 1845, *Contracaecum* Railliet e Henry, de 1912, e *Pseudoterranova* Mozgovi de 1951. Estes parasitas são encontrados frequentemente no tubo digestivo dos mamíferos marinhos e infetam hospedeiros intermediários, nomeadamente invertebrados aquáticos e vertebrados (Klimpel e Palm, 2011).

Os nematodos anisaquídeos pertencem à família *Anisakidae* e parasitam peixes e cefalópodes durante a fase larvar (Audicana e Kennedy, 2008), sendo o género *Anisakis* conhecido por causar a infeção parasitária humana mais vulgarmente associada ao consumo de produtos da pesca (EFSA, 2010).

Relativamente a esta parasitose, tem sido desenvolvido um trabalho em Portugal pelo Laboratório de Patologia do IPMA (Instituto de Investigação do Mar e da Atmosfera). Foram identificadas larvas de *Anisakis simplex* s.l. (*sensu lato*) em peixe inteiro refrigerado ou congelado, em produtos da pesca transformados e em bacalhau. Em relação ao peixe inteiro refrigerado ou congelado, foram identificadas larvas de *Anisakis simplex* s.l. (*sensu lato*) em abrótea, carapau, carapau-negrão, cavala, dourada, linguado, peixe-galo, pescada, robalo, safio, sarda, sardinha, solha, truta, verdinho, e xaputa. Quanto aos produtos da pesca transformados, foram identificadas larvas de *Anisakis simplex* s.l. (*sensu lato*) em postas de peixe refrigeradas ou congeladas de redfish, dourada, peixe-espada-branco, pescada, maruca, garoupa, espadarte, corvina, liro-antártico e cavala. No bacalhau foram identificadas larvas de *Anisakis simplex* s.l. (*sensu*

lato) em diferentes formas de apresentação, nomeadamente no bacalhau salgado seco inteiro, em postas ou desfiado e ultracongelado. Também foram identificadas larvas de *Anisakis simplex* s.l. (*senso lato*) em ovas de pescada mas não, em conservas de diferentes espécies de peixe, nem em salmão nem em peixe utilizado na confeção de refeições tradicionais chinesas, tais como sashimi e sushi (Ramos, 2011).

As espécies do género *Anisakis* estão distribuídas mundialmente. A sua distribuição resulta de vários fatores, tais como: a distribuição hospedeiro final, a especificidade do hospedeiro nos hospedeiros intermediários e finais, os padrões de migração dos hospedeiros, e o ciclo de vida característico. Esses fatores permitem que as espécies *Anisakis* explorem todos os tipos de ambientes marinhos, desde mares rasos até alto-mar. A maioria das espécies de *Anisakis* foram detetadas nas águas temperadas, subtropicais e tropicais entre o equador e a 35° Norte e Sul, enquanto algumas espécies parecem ser mais frequentes nas regiões boreais do Atlântico e do Pacífico. Nas águas da Antártida (Oceano Austral), esses nematodos estão localizados na faixa mais a Sul da sua distribuição e, neste local, o conhecimento ainda é extremamente escasso (Klimpel e Palm, 2011). *Anisakis simplex* (s.s.) é um nematodo muito frequente no Atlântico Norte e no Oceano Pacífico. Tendo em conta a identificação genética, esta espécie é limitada ao Hemisfério Norte. Pode-se concluir que, após a extensa gama de distribuição de seus hospedeiros finais de mamíferos, a especificidade baixa do hospedeiro intermediário na migração e os anfitriões paraténicos, os nematodos anisacuídeos têm extensas faixas de distribuição (Klimpel e Palm, 2011).

Os anisacuídeos são parasitas marinhos cosmopolitas, tendo como hospedeiros definitivos baleias, os golfinhos e as toninhas, infetando uma grande variedade de espécies de peixes pelágicos com interesse comercial. A taxa de infeção e de prevalência dependem da zona de captura (Vidacek *et al.*, 2010).

No ciclo biológico dos géneros *Anisakis* (**Figura 2.1.**), existem hospedeiros intermediários (HI), hospedeiros de transporte ou paraténicos (HT) e hospedeiros definitivos (HD). Os crustáceos bentónicos e planctónicos são os HI, os peixes e cefalópodes (lula) consistem nos HT e os mamíferos marinhos atuam como HD (Gómez Sáenz *et al.*, 1999). Os parasitas adultos vivem no estômago dos mamíferos marinhos, os ovos são libertados na água juntamente com as fezes do HD. No interior do ovo, as larvas de *A. simplex* L1 desenvolvem-se e, após duas mudas, transformam-se em L3 (Køie *et al.*, 1995). Após a eclosão, a L3 livre no meio aquático servirá de alimento e é

ingerida por crustáceos e copépodes (HI) (Audicana e Kennedy, 2008). Por sua vez, os crustáceos servem de alimento a peixes e cefalópodes (HT), os quais, por esta via de transmissão, ficam infetados com as larvas na fase L3. As larvas são libertadas no tubo digestivo do peixe/cefalópode, podendo encapsular no tecido muscular e nas vísceras dos peixes / cefalópodes, mantendo a sua capacidade infetante. Os peixes e cefalópodes são HT ou paraténicos deste parasita, contribuindo para a sua dispersão temporal e espacial no meio marinho, podendo existir a transferência da larva L3 de peixe para peixe (Campillo *et al*, 2001). A larva L3, com capacidade infetante, é transferida para os hospedeiros finais (mamíferos marinhos) pela ingestão de peixes e cefalópodes (no caso dos golfinhos, focas, leões marinhos e morsas) ou através dos crustáceos (no caso das baleias). No hospedeiro definitivo, podem ocorrer duas mudas (L4 e L5), antes da sua maturidade sexual para produzir ovos e ser iniciado um novo ciclo de vida. O Homem, hospedeiro acidental (HA), entra no ciclo de vida deste parasita quando ingere peixes ou cefalópodes crus contaminados com larvas L3 encapsuladas deste parasita (Audicana e Kennedy, 2008).

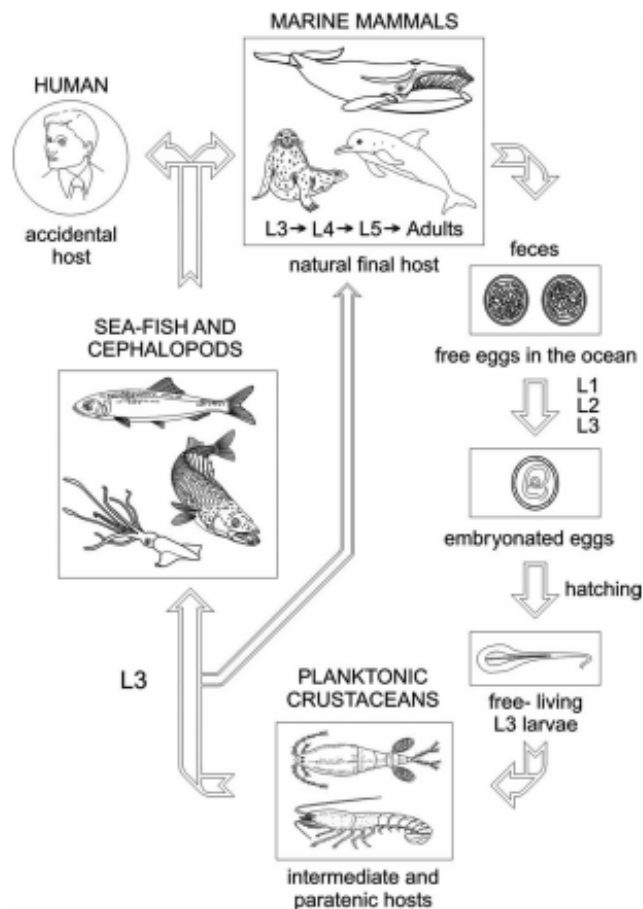


Figura 2.1. Ciclo de vida de *Anisakis simplex* (Audicana e Kennedy, 2008).

O termo "anisaquidose" reporta-se a doenças causadas por parasitas da família *Anisakidae*, enquanto o termo "anisaquiose" define a infecção parasitária do tubo digestivo causada pela ingestão de larvas do género *Anisakis* (Kassai *et al.*, 1988). Embora estejam identificadas nove espécies de *Anisakis* atualmente, esta parasitose está associada principalmente às espécies *Anisakis pegreffii*, no Mediterrâneo e *Anisakis simplex* s.s. no Japão (Quiazon *et al.*, 2011).

O primeiro caso de infecção causada por anisaquídeos foi descrito por Leuckart na Gronelândia em 1876 (Van Thiel; 1960, 1962). Dos cerca de 20.000 casos de anisaquidose reportados até ao momento em todo o mundo, mais de 90% são provenientes do Japão (onde cerca de 2.000 casos são diagnosticados anualmente), sendo os restantes maioritariamente da Espanha, da Holanda e da Alemanha (EFSA, 2010). Ao longo dos últimos 30 anos, tem existido um aumento significativo na prevalência desta parasitose em todo o mundo, que poderá ter resultado do aumento de procura global dos produtos da pesca crus ou insuficientemente cozinhados (McCarthy e Moore, 2000), devido às novas tendências alimentares, e da aplicação mais generalizada de técnicas de diagnóstico, como a endoscopia (Oshima, 1987). Desta forma, deve ser dada especial atenção ao consumo de produtos crus ou não submetidos a um tratamento tecnológico eficaz na inativação da larva de *Anisakis simplex*, nomeadamente *sushi*, *sashimi*, arenque fumado, arenque marinado, entre outros (EFSA, 2010).

O homem pode ser um hospedeiro acidental (HA) através da ingestão de peixe ou cefalópodes com larvas (L3) viáveis. Quando estão presentes larvas vivas de *Anisakis* no homem, os sintomas podem evoluir para quadros clínicos distintos: infecção do tubo digestivo (anisaquiose gástrica ou intestinal) ou ocasionalmente ocorre infecção de outros órgãos (forma clínica ectópica) e, quando estão presentes larvas de *A. simplex*, podem ocorrer formas alérgicas (alergia a *A. simplex* e anisaquíase gastroalérgica). Os sintomas de anisaquíase gástrica ou intestinal surgem quando o nematodo perfura a mucosa gástrica ou intestinal e caracterizam-se por dor abdominal acompanhada de diarreia, náuseas e vômitos (Audicana e Kennedy, 2008). As náuseas e vômitos podem manter-se durante semanas ou anos (infecção crónica). A forma clínica mais frequente de parasitismo por *A. simplex* é a anisaquiose gástrica. Embora estejam descritos casos de parasitismo massivo, mais de 90% dos casos de anisaquiose são causados por uma única larva (Daschner *et al.*, 1997). Alguns doentes, para além da sintomatologia abdominal, também evidenciam reações alérgicas de hipersensibilidade, mediadas pela imunoglobulina E (IgE), resultante da presença de alergénios presentes nos produtos da

pesca, sem a necessária presença da larva de *A. simplex* viva. As reações alérgicas manifestam-se através do aparecimento de angioedema, urticária e anafilaxia, sendo designado este síndrome por anisaquíase gastroalérgica (Daschner *et al.*, 2000). É frequente nalgumas regiões de Espanha, o aparecimento de sintomas clínicos relativos a alergia de *A. simplex*, contudo menos frequente noutros países (Audicana e Kennedy, 2008).

2.6. Importância da análise de risco

A utilização da avaliação de risco tem tido cada vez mais importância e reconhecimento como uma abordagem de base científica para o desenvolvimento da segurança alimentar e padrões de qualidade. Em termos gerais, nos últimos anos tem existido aumento do uso da palavra "risco" em conexão com a segurança alimentar, em particular na segurança alimentar dos produtos da pesca. Há afirmações como "a aplicação dos regulamentos comunitários deve ser baseada no risco", "uma análise de risco deve ser feita pelos operadores de empresas do setor alimentar" e "precisamos de comunicar o risco de todas as partes interessadas". O risco é provavelmente uma extensão lógica do HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Points* - Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo), que surgiu na indústria entre 1980 e 1990. O 1.º princípio do HACCP refere que deve ser feita uma análise de perigos. Os perigos que podem ocorrer, são primeiramente identificados, em seguida, é feita uma avaliação da gravidade de cada perigo, seguido por uma avaliação da sua probabilidade de ocorrer. Esses dois fatores (gravidade e probabilidade) pretendem dar-nos uma estimativa do risco e da significância dos perigos em cada etapa de um processo de fabrico ou relativamente a uma matéria-prima, dependendo da abordagem escolhida. Outro facto importante para a avaliação de risco consistiu no aumento do comércio internacional, o que trouxe novos desafios de segurança alimentar e qualidade. Têm sido desenvolvidas novas abordagens de qualidade e de segurança alimentar pró-ativa para lidar com o risco de transmissão transfronteiriça de agentes infecciosos e perigosos e para lidar com doenças emergentes de origem alimentar e problemas de qualidade (FAO, 2004). Desta forma, os avanços do conhecimento, técnicas de análise e informação sobre saúde pública, o aumento da sensibilização do consumidor, as considerações do comércio global e uma melhor compreensão dos impactos económicos e sociais reais de doenças transmitidas por alimentos, contribuiu para que a avaliação quantitativa dos riscos seja utilizada para apoiar a tomada de decisão na gestão da segurança alimentar (Altekruse,

Cohen e Swerdlow, 1997; CAST, 1994; CAST, 1998; Vose, 1998; WHO, 1998; FAO, 2005).

A avaliação de risco é um processo que se destina a facilitar a descrição, compreensão e gestão de sistemas complexos (por exemplo, propagação de bactérias através do fornecimento de alimentos) ou questões controversas (por exemplo, risco de saúde pública relacionada com disputas comerciais ou produtos agrícolas), fornecendo um quadro que permite evidências e informações associadas com a questão ou sistemas a serem objetivamente recolhidos e combinados para se chegar a uma conclusão (FAO, 2005). O processo de uma análise de risco compreende três componentes: avaliação de risco, gestão de risco e comunicação de risco. A avaliação de risco, tem como objetivo estimar o nível de doença que pode ser esperado na população-alvo de um produto (FAO, 2004) e será objeto de estudo.

2.7. Enquadramento legal do controlo de parasitas nos estabelecimentos do setor alimentar

Os resultados obtidos com a identificação de parasitas nos produtos da pesca, são de extrema utilidade na construção de sistemas de controlo da segurança alimentar, nomeadamente na elaboração de planos analíticos, de avaliação destes produtos nas diferentes fases da cadeia alimentar, para deteção dos parasitas visíveis, conforme a legislação aplicável para determinados operadores do setor alimentar.

O Regulamento (CE) N.º 852/2004 de 29 de Abril, relativo à higiene dos géneros alimentícios, indica que os operadores do setor alimentar devem realizar um controlo das matérias-primas. Este controlo deve iniciar-se na receção, através da não aceitação de matérias-primas que apresentem, ou que se possa razoavelmente esperar que apresentem contaminação por parasitas (item n.º 1 do Capítulo IX do Regulamento (CE) N.º 852/2004 de 29 de Abril), pelo que devem instituir procedimentos adequados para controlar parasitas (item n.º 4 do Capítulo IX do Regulamento (CE) N.º 852/2004 de 29 de Abril). Desta forma, os operadores das empresas do sector alimentar têm a responsabilidade de efetuarem seus próprios controlos em todas as fases da produção de produtos da pesca (parte D do capítulo V da secção VIII do anexo III do Regulamento (CE) n.º 853/2004), para garantir que não haja colocação no mercado de produtos da pesca obviamente contaminados por parasitas (Regulamento (CE) N.º 2074/2005 de 5 de

Dezembro). Neste sentido, os operadores das empresas do sector alimentar deverão garantir que os produtos da pesca foram submetidos a um exame visual para deteção de parasitas visíveis antes de serem colocados no mercado (parte D do capítulo V da secção VIII do anexo III do Regulamento (CE) n.º 853/2004). Os planos de amostragem, que deverão ser aplicados no controlo de parasitas pelos operadores do setor alimentar, estão definidos no Regulamento N.º (CE) N.º 2074/2005 de 5 de Dezembro, que aborda a questão da elaboração de planos de amostragem. Deve ser efetuada uma inspeção visual num número representativo de amostras. As pessoas encarregadas dos estabelecimentos em terra e as pessoas qualificadas a bordo de navios-fábrica devem determinar a dimensão e a frequência das inspeções em função do tipo de produto da pesca, da sua origem geográfica e da sua utilização. Durante a produção, a inspeção visual dos peixes eviscerados deve ser realizada por pessoas qualificadas, na cavidade abdominal, nos fígados e nas ovas destinados ao consumo humano. Dependendo do sistema de evisceração utilizado, a inspeção visual deve ser realizada no caso de evisceração manual, de forma contínua pelo manipulador no momento da evisceração e lavagem e, no caso de evisceração mecânica, por amostragem efetuada num número representativo de amostras não inferior a 10 peixes por lote (Regulamento N.º (CE) N.º 2074/2005 de 5 de Dezembro).

De acordo com o Regulamento (UE) N.º 1276/2011 de 8 de Dezembro, os operadores das empresas do setor alimentar que colocarem no mercado produtos da pesca derivados de peixes ósseos ou moluscos cefalópodes (onde se enquadra o polvo-vulgar) para serem consumidos crus ou marinados, salgados e quaisquer outros produtos da pesca tratados, se o tratamento for insuficiente para eliminar o parasita viável, têm de garantir que a matéria-prima ou o produto acabado são submetidos a um tratamento por congelação para eliminar parasitas viáveis que possam constituir um risco para a saúde do consumidor. O tratamento por congelação tem de consistir na redução da temperatura em todas as partes do produto, no mínimo, até – 20 °C durante, no mínimo, 24 horas ou – 35 °C durante, no mínimo, 15 horas. No entanto, os operadores de empresas do setor alimentar não necessitam de realizar o tratamento por congelação no caso dos produtos da pesca que tiverem sido submetidos, ou que se destinem a ser submetidos antes de serem consumidos, a um tratamento térmico que elimine os parasitas viáveis, sendo também aplicável no caso de parasitas que não trematodos em que o produto é aquecido a uma temperatura interna de 60°C ou mais durante, no mínimo, um minuto. Se os produtos da pesca forem congelados durante um período suficientemente longo para eliminar os parasitas viáveis, também não é necessário

realizar a congelação supracitada. A mesma situação aplica-se aos produtos da pesca provenientes de capturas em meio natural, desde que existam dados epidemiológicos disponíveis que indiquem que os pescadores de origem não apresentam um risco sanitário no que diz respeito à presença de parasitas e se a autoridade competente assim o autorizar (Regulamento (UE) N.º 1276/2011 de 8 de Dezembro).

O Regulamento (CE) N.º 178/2002 de 28 de Janeiro estabelece um sistema de alerta rápido em rede para a notificação de riscos diretos ou indiretos para a saúde humana, ligados a géneros alimentícios ou a alimentos para animais. Este sistema é abrangido pelos Estados-Membros, a Comissão e a Autoridade (item n.º 1 do artigo 50 do Capítulo IV do Regulamento (CE) N.º 178/2002 de 28 de Janeiro). Neste seguimento, sempre que um membro da rede dispuser de informações relacionadas com a existência de um risco grave, direto ou indireto, para a saúde humana, ligado a um género alimentício ou a um alimento para animais deverá comunicar à Comissão através do sistema de alerta rápido. Por sua vez, a Comissão transmitirá imediatamente essas informações aos membros da rede (item n.º 2 do artigo 50 do Capítulo IV do Regulamento (CE) N.º 178/2002 de 28 de Janeiro). Em Portugal, a DGAV (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária) é o elo de ligação, mais especificamente no GTI (Gabinete de Trocas Intracomunitárias) que comunica as notificações à ASAE (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica), que procede à elaboração de Ordens de Operações, com vista à retirada dos mesmos do circuito comercial (ASAE, 2013). Atualmente, existem 386 notificações no Sistema de Alerta Rápido (RAFF – *Rapid Alert System for Food and Feed*) resultantes de infestações parasitárias por *Anisakis* nos produtos da pesca, em que 21 notificações referem-se a cefalópodes ou produtos derivados, especificamente ao produto lula (20 notificações relativas à lula congelada proveniente da Nova Zelândia e 1 notificação referente à lula com origem nos Estados Unidos). Em Portugal, existem 7 notificações relativas à infestação parasitária por *Anisakis* nos produtos da pesca, em que 3 não se referem a produtos com origem em Portugal, mas distribuídos em Portugal. Estas notificações incidiram nos seguintes produtos: cavala fresca e congelada, bacalhau seco, salongo fresco e peixe-espada fresco (Comissão Europeia, 2013).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Amostra

Local e método de captura do polvo-vulgar

As amostras de polvo-vulgar (*Octopus vulgaris*), analisadas no âmbito deste estudo, foram capturadas no Atlântico Nordeste (FAO n.º 27) com as seguintes coordenadas (**Figura 3.1.**): na parte superior esquerda 39.08.000 N / 09.34.000 W; na parte superior direita 39.08.000 N / 09.30.000 W; na parte inferior esquerda 39.04.000 N / 09.34.000 W e na parte inferior direita 39.04.000 N / 09.30.000 W.

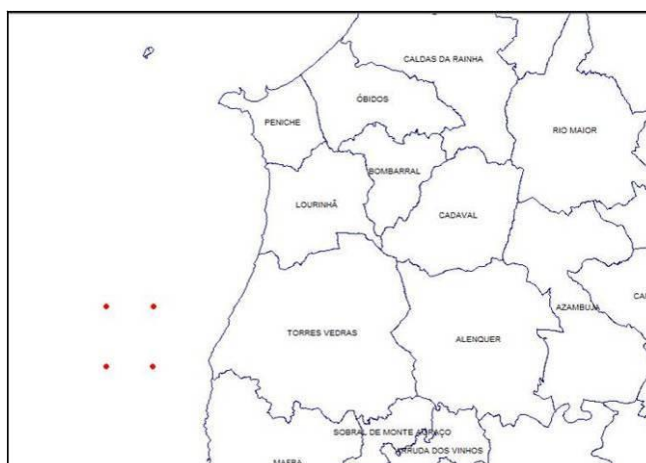


Figura 3.1. Zona geográfica de captura das amostras de polvo-vulgar analisadas (*software* Geomedia Professional 6.1. da Intergraph).

Os polvos foram capturados nas artes de pesca designadas por covos ou gaiolas (**Figura 3.2. A e B**) e alcatruzes (**Figura 3.3.**).



Figura 3.2. A e B – Gaiolas (Fotografias: Gonçalo Completo).



Figura 3.3. Alcatruzes.

(Fotografias: Gonçalo Completo)

A embarcação de captura permanece no mar desde as 3h até às 14h, estando sujeita ao Plano de Controlo Oficial de Navios (PCON), realizado pelo médico veterinário oficial e que é regido pelo Decreto-Lei N.º111/2006 de 9 de Junho.

Origem e identificação

Para este estudo, foram utilizadas 140 amostras de polvo-vulgar (*Octopus vulgaris*) fresco, capturado na zona identificada na **Figura 3.1.**, no período entre 11 de Novembro de 2011 e 28 de Novembro de 2012. O período de estudo foi abrangente, de modo a contemplar todas as estações do ano (Figura x).

Tabela 3.1. Cronograma mensal de obtenção de amostras.

Ano	Mês	N.º de Polvos Analisados
2011	Novembro	10
	Dezembro	14
	Janeiro	10
	Fevereiro	10
	Março	16
	Maio	10
2012	Junho	20
	Julho	19
	Agosto	5
	Setembro	10
	Outubro	5
	Novembro	11
Total		140

O número de amostras de polvo-vulgar analisadas por mês variou entre as 5 e as 20 amostras / mês, uma vez que a captura dos polvos esteve dependente de fatores externos, tais como as intempéries, que impediram as embarcações de saírem para o

mar e a ausência de polvos no interior dos covos ou gaiolas. Os polvos estavam acondicionados em caixas de esferovite e cobertos com gelo no momento do seu levantamento no fornecedor.

De acordo com a Portaria n.º 27/2001 de 15 de Janeiro, o tamanho mínimo de captura do polvo-vulgar é 0,75 kg e todas as amostras analisadas pesavam entre 0,75 kg e 2,560 kg.

3.2. Reagentes e outros materiais

- Água Destilada;
- Água Salgada;
- Álcool a 70% (v/v);
- Lactofenol (Merck);
- Formol Tamponado (100 ml de formaldeído 40% + 4g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ + 6,5g Na_2HPO_4 + 900 ml).

3.3. Equipamentos e utensílios

- Balança de cozinha, marca SilverCrest, modelo IAN 52195;
- Bisturi;
- Caixas de Petri;
- Candeeiro, marca Massive, com lâmpada de halogéneo da marca OSRAM;
- Frascos de plástico;
- Lupa Stemi Dv4, com lente da marca Carl Zeiss;
- Luvas descartáveis;
- Microscópio óptico, marca Axiostar Plus, lentes da marca Carl Zeiss;
- Microscópio óptico invertido, marca Axiostar Plus, lentes da marca Carl Zeiss;
- Pinça metálica;
- Pincel;
- Pipeta graduada de 5ml \pm 0,03 ml, marca Normax;
- Pompets de 5 ml;
- Régua;
- Tábua de pvc;
- Tesoura;
- Tina;

- Tubo de falcon 15 ml, da marca Sachet.

3.4. Métodos

3.4.1. Inspeção visual e observação por transiluminação

Procedeu-se ao registo das morfometrias dos polvos. Os polvos com tamanho comercial foram pesados (até à segunda casa decimal) e medidos (em milímetros). A medição do comprimento do manto foi efetuada de acordo com as **Figura 3.4**.

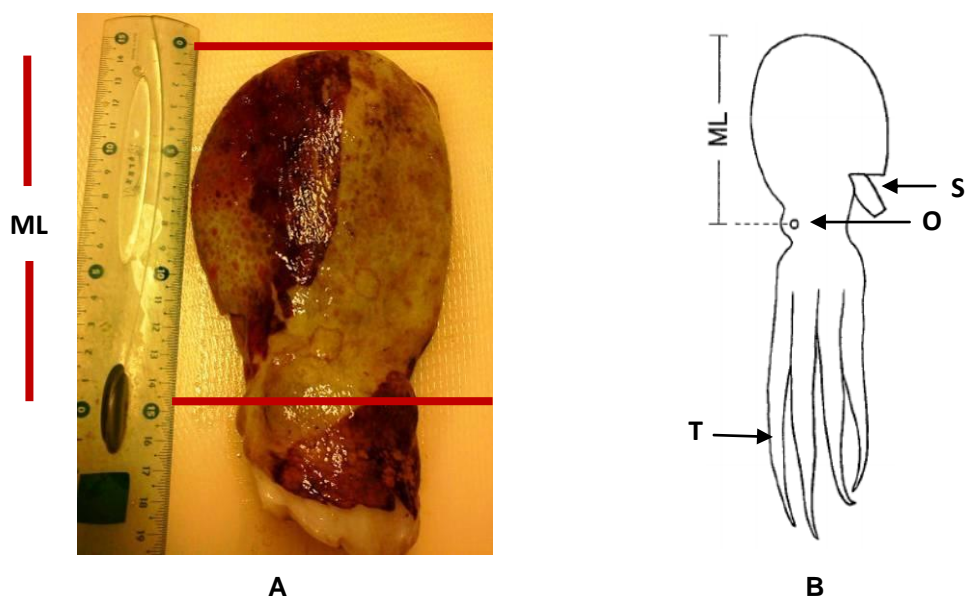


Figura 3.4. Medição do comprimento do manto (mm) do polvo-vulgar. **A** - Medição do comprimento do manto (ML) (mm). **B** – Morfologia externa do polvo-vulgar: T: tentáculo; S: Sifão; O: Olho.

As estruturas internas que constituem o sistema anatómico do polvo-vulgar (**Figura 3.5.**):

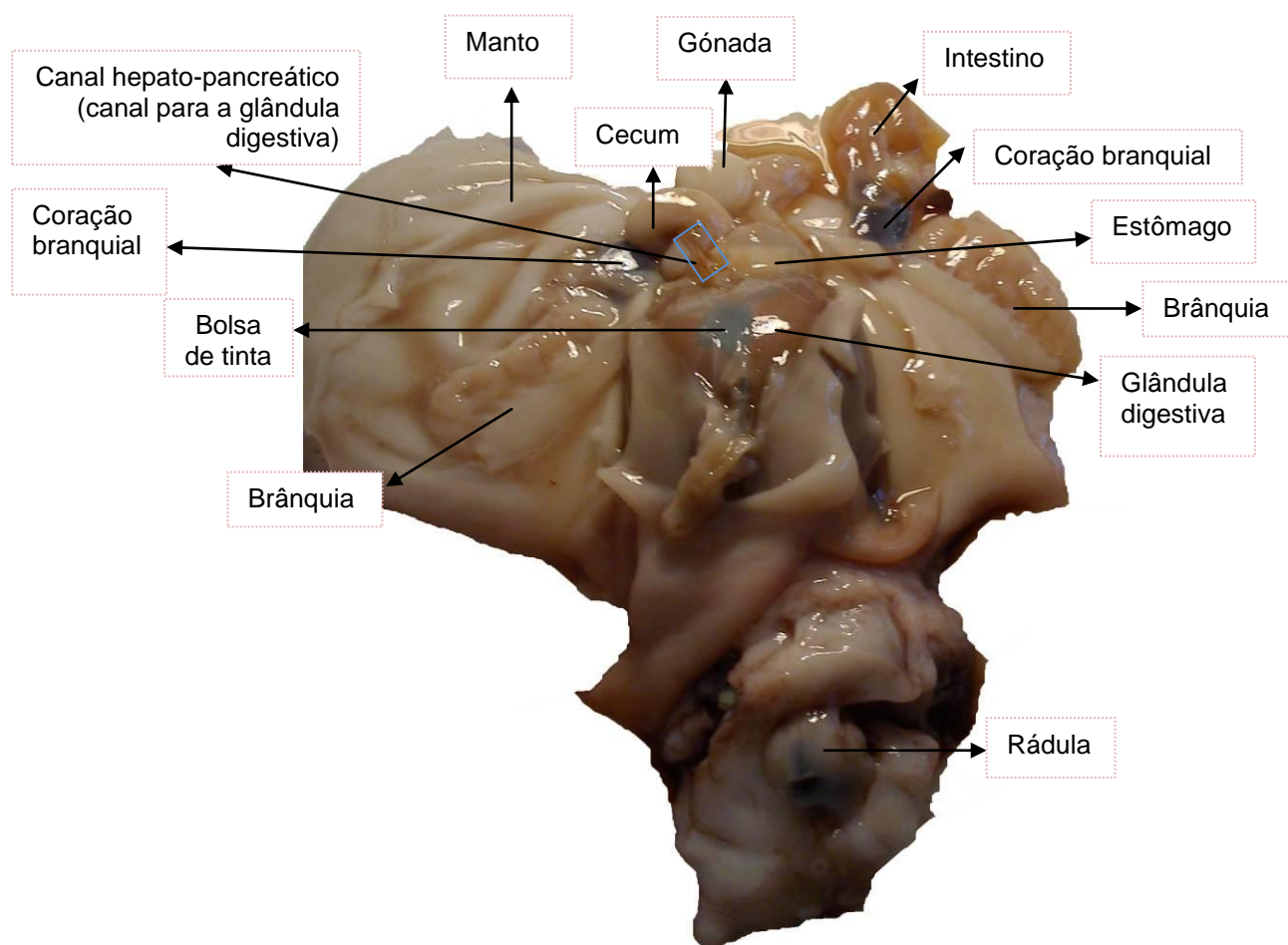


Figura 3.5. Morfologia do polvo-vulgar (*Octopus vulgaris*).

Observou-se macroscopicamente as cavidades abdominal e visceral, registando-se o local de infeção. Procedeu-se à dissecação do sistema digestivo do polvo. O conteúdo das várias estruturas foi removido com o auxílio de um bisturi e de uma pinça. Posteriormente, procedeu-se à inspeção visual macroscópica e, através da lupa, observaram-se os conteúdos. Os tecidos foram observados macroscopicamente e por transiluminação. A transiluminação consiste na observação do produto da pesca contra uma fonte de iluminação. O manto foi removido do polvo, eliminou-se a pele exterior com o auxílio de um bisturi e de uma pinça e procedeu-se à sua observação por inspeção visual e transiluminação.

Recolheram-se os parasitas observados, anotando o local de infeção e foram fixados em álcool a 70% v/v num tubo de falcon. Os tubos de falcon foram identificados com o

número de amostra correspondente (indicação do número da amostra analisada, mês correspondente à análise da amostra e identificação da estrutura onde foram observados os parasitas). As amostras, após estarem devidamente rotuladas e acondicionadas, foram transportadas para o IPMA, para identificação dos parasitas.

Identificação dos parasitas

Os parasitas recolhidos foram processados para estudo morfológico em microscopia ótica. Procedeu-se ao desencapsulamento dos parasitas enquistados com o auxílio de uma pinça, seguido da remoção de detritos em água salgada. Por último, os parasitas foram colocados em lactofenol (Lactofenol, Merck) para diafanização das suas estruturas internas. Foram identificados até ao género, através da chave dicotómica de Berland (1961). Posteriormente, os parasitas foram preservados em álcool a 70° v/v.

Análise estatística

Foi calculada a prevalência e intensidade média, conforme Bush *et al.* (1997)., de acordo com as fórmulas:

- **Prevalência:**

$$\text{Prevalência (\%)} = \frac{\text{N.º de polvos parasitados}}{\text{N.º de polvos examinados}} \times 100$$

- **Intensidade média de parasitas de uma determinada espécie:**

$$\text{Intensidade média} = \frac{\text{N.º total de parasitas}}{\text{N.º de polvos parasitados}}$$

3.4.2. Inquérito sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal

3.4.2.1. A escolha metodológica

A escolha metodológica consistiu na aplicação de um inquérito por questionário, de administração direta, em modalidade de papel e *online*, a todos os distritos de Portugal Continental e Regiões Autónomas dos Açores e Madeira. Para o presente estudo, o

software utilizado para a construção e aplicação do questionário *online* foi o Google Docs (<http://docs.google.com>).

3.4.2.2. O instrumento

O questionário elaborado é constituído por 13 perguntas, maioritariamente fechadas, envolvendo aspetos fatuais, com uma predominância de variáveis qualitativas, nomeadamente de escalas nominais. As tipologias utilizadas foram escolhidas tendo em conta a natureza da investigação, uma vez que o que se pretendia era medir aspetos concretos dos hábitos de consumo de polvo-vulgar em Portugal.

3.4.2.3. Pré-teste

O questionário foi submetido a um primeiro pré-teste, anterior à sua criação no *Google Doc*, de forma a validar o texto, o seu conteúdo e a estrutura. Da aplicação do primeiro pré-teste resultaram diversas correções, que foram devidamente incorporadas na versão final do questionário. Após finalização de todo o processo de validação do questionário, este foi introduzido na plataforma *Google Doc*. De seguida, procedeu-se à realização de um segundo pré-teste, garantindo assim a não ocorrência de possíveis erros de funcionamento. A versão final do questionário (ver **Figura 3.6.**) foi aplicada à população residente em Portugal Continental e Regiões Autónomas dos Açores e Madeira.

QUESTIONÁRIO SOBRE O CONSUMO DE POLVO

Este questionário enquadra-se numa investigação no âmbito de uma tese de Mestrado em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar, realizada na Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche. Todos os dados são confidenciais e os resultados obtidos serão utilizados apenas para fins académicos (tese de Mestrado). Agradecemos a sua participação. Não existem respostas certas ou erradas, pelo que solicitamos que responda de forma espontânea e sincera a todas as questões. Na maioria das questões terá apenas de assinalar com uma cruz a sua opção de resposta.

1. Idade: 18 – 30 anos 31 – 40 anos 42 – 54 anos Mais de 55 anos
2. Sexo: Feminino Masculino
3. Assinale com uma cruz quem consome polvo no seu agregado familiar (pode selecionar mais do que uma opção):
 Crianças Grávidas Adultos Idosos Todos
4. Vive no distrito de: _____
5. Como costuma adquirir o polvo: Fresco Congelado Cozido Em conserva
 Outro. Qual? _____
6. Como costuma adquirir o polvo fresco:
 Inteiro Limpo
 Não aplicável/não adquire fresco. Siga para a questão 10.
7. Costuma congelar o polvo que adquire fresco antes de o consumir?
 Sim Não Não aplicável/não adquire fresco. Siga para a questão 10.
8. Onde costuma congelar o polvo fresco?
 No congelador do frigorífico Nos frigoríficos-congeladores
 Nos congeladores verticais Nos congeladores tipo arca No abatedor
9. Indique durante quanto tempo congela o polvo:
 Inferior a 24 horas 24 horas
 Mais de 24 horas e inferior a 1 semana 1 semana
 Superior a 1 semana
10. Indique onde costuma adquirir o polvo que consome (pode selecionar mais do que uma opção):
 Pesca desportiva Diretamente ao pescador Comércio a retalho
 Restauração Outro. Qual? _____
11. Quais as épocas do ano em que consome polvo? Verão Inverno Natal Indiferente
12. Tem facilidade em adquirir polvo fresco/congelado? Sim Não
13. Como costuma consumir o polvo: Cru (por exemplo, sushi, outros) Cozinhado (ex: cozido, frito, etc)

OBRIGADO PELA SUA COLABORAÇÃO.

Figura 3.6. Questionário sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal.

3.4.2.4. Aplicação do instrumento

Por conseguinte, e no início de Outubro, o questionário foi tornado público *online* e disponibilizado em formato de papel nos distritos de Leiria, Lisboa e Setúbal. Após uma fase inicial (decorrida entre 4 de Outubro de 2012 a 15 de Fevereiro de 2013), que evidenciou uma reduzida taxa de resposta (aproximadamente 19%), foi realizada uma segunda divulgação do questionário via *email* personalizado para novos contactos que auxiliaram na divulgação do mesmo (e.g., solicitou-se auxílio à Escola Superior de Tecnologia e Turismo do Mar em Peniche, a qual também difundiu o questionário junto de outros Institutos Politécnicos e Universidades). Adicionalmente, efetuou-se um reforço na divulgação nas redes sociais. Esta segunda divulgação evidenciou-se bastante mais eficaz na obtenção de resposta, e num período de tempo mais reduzido (nomeadamente, entre 16 de Fevereiro de 2013 a 4 de Abril de 2013), tendo sido obtido o número suficiente para garantir uma dimensão da amostra com um nível de erro de 5%.

3.4.2.5. A amostra

Decorrido o período de recolha de dados (entre 4 de Outubro de 2012 até 4 de Abril de 2013), foram quantificadas 1477 respostas completas, as quais constituem a amostra do presente estudo. O método de inquirição considerou a aplicação do questionário ao universo, não contemplando uma amostra pré-definida do mesmo, pelo que não foi explorada a abordagem da tipologia da amostragem. Porém, considerou-se que era fundamental garantir que a dimensão da amostra, resultante do processo de inquirição, permitiria extrapolar conclusões para o universo, ou seja, que a amostra seria representativa do universo em causa. De acordo com Vicente (2012), estimou-se a dimensão da amostra, de modo a obter o número mínimo de elementos necessários à validade das conclusões obtidas através do inquérito. Assim, determinou-se a dimensão da amostra, considerando a amostragem aleatória simples, segundo a definição de Giuseppe Iarossi (2011), em que qualquer elemento individual da população tem a mesma probabilidade de ser selecionado. A amostragem aleatória simples depende de três fatores:

- Dimensão da população;
- A variabilidade do parâmetro que se pretende calcular;
- O nível desejado de precisão e de confiança pretendida.

Deste modo, procedeu-se ao cálculo da dimensão mínima da amostra através da seguinte fórmula:

$$n = \frac{\frac{Z_{\alpha/2}^2 P(1-P)}{2}}{e_0^2 + \frac{Z_{\alpha/2}^2 P(1-P)}{N}}$$

onde:

N = dimensão da população;

n = dimensão da amostra;

P = proporção da população de Y;

e₀ = nível desejado de precisão;

α = nível desejado de confiança;

Z_{α/2} = distribuição Z correspondente a um nível α de confiança.

e considerando os seguintes pressupostos:

- População alvo: população residente em Portugal e Regiões Autónomas dos Açores Madeira, e de acordo com os dados obtidos nos Censos 2011 (**Tabela 3.2.**);
- Margem de erro: 5%;
- Grau de confiança: 95%;
- Variância da verdadeira proporção: 0,5 - considerou-se o pior cenário possível, selecionando a maior dimensão possível para o nível desejado de precisão e de confiança.

Tabela 3.2. Número de habitantes residentes em Portugal.

Distritos	População
Aveiro	714200
Beja	152758
Braga	848185
Bragança	136252
Castelo Branco	196264
Coimbra	430184
Évora	166726
Faro	451006
Guarda	160939
Leiria	470930
Lisboa	2250533
Portalegre	118506
Porto	1817172
Santarém	453638
Setúbal	851258
Viana do Castelo	244836
Vila Real	206661
Viseu	377653
Região Autónoma: Açores	246772
Região Autónoma: Madeira	262302

Fonte: Instituto Nacional de Estatística, Censos 2011.

Neste sentido, tendo em conta os pressupostos supra indicados, pode-se considerar que a dimensão da amostra obtida para todos os distritos de Portugal, Região Autónoma dos Açores e Região Autónoma da Madeira foi considerada estatisticamente significativa e representativa para um nível de erro de 5% (Anexo 1).

3.4.3. Análise estatística no âmbito do Inquérito sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal

As estatísticas descritivas descrevem, resumidamente, algumas características de uma ou mais variáveis obtidas através de uma amostra de dados, bem como a descrição sumária da variação dos valores de uma variável (Hill e Hill, 2009). Adicionalmente, mediante a análise inferencial dos dados é possível generalizar conclusões, assim como,

inferir os resultados obtidos ao nível da população em foco. Desta forma, procedeu-se à relação entre questões do inquérito sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal com o intuito de se averiguar se existia dependência entre alguns dos atributos abordados no inquérito. Estes foram selecionados mediante a sua relevância para o presente estudo, bem como pela forma como possibilitavam conhecer as práticas e hábitos de consumo de polvo-vulgar em Portugal. Para tal, foi necessário reorganizar (aglutinando e/ou reagrupando) algumas das opções de resposta patentes no questionário, uma vez que foram obtidas respostas residuais (de diminuta expressividade) que poderiam afetar a análise estatística dos dados. Por conseguinte, as seguintes opções de resposta foram assim reorganizadas:

(1) Na questão “Quem consome polvo-vulgar no seu agregado familiar”: Criada uma nova opção, “adultos, idosos e grávidas”, cujo conteúdo engloba “grávidas, adultos, idosos com grávidas, adultos e adultos, idosos”;

- Criada uma nova opção com a designação de “crianças, adultos, idosos, grávidas” constituída por “crianças, grávidas, adultos e por crianças, adultos, idosos”.

(2) Na questão “Como costuma adquirir o polvo”:

- Criada uma outra categoria com a denominação de “Outras situações”, composta pelo “consumo de polvo fresco e cozido / fresco e pronto a consumir e por fresco, congelado e em conserva”.

(3) Na questão “Onde costuma congelar o polvo fresco”:

- Agruparam-se várias variáveis numa única categoria designada por “no congelador do frigorífico e nos congeladores tipo arca”, constituída pelas opções de resposta “no congelador do frigorífico, nos congeladores tipo arca e por no congelador do frigorífico”.

(4) Na questão “Onde costuma adquirir o polvo que consome”:

- Criada uma nova opção designada por “comércio a retalho, mercado e mercado ambulante” composta por “comércio a retalho, mercado e mercado ambulante e por loja e mercado”;
- Formação de uma categoria mais ampla denominada por “pesca desportiva e outros locais”, e formada pelas opções “pesca desportiva, comércio a retalho, por pesca desportiva e diretamente ao pescador, por pesca desportiva, diretamente ao pescador e comércio a retalho, por pesca desportiva, por pesca desportiva,

diretamente ao pescador, comércio a retalho e restauração, por pesca desportiva, diretamente ao pescador e restauração”;

- Inclusão de uma nova opção identificada como ”diretamente ao pescador e outros locais”, constituída pela junção de “diretamente ao pescador, comércio a retalho e mercado e por diretamente ao pescador, comércio a retalho”.

Neste sentido, para o presente estudo, para além da análise exploratória dos dados (mediante estatísticas descritivas adequadas) realizada numa primeira etapa, foi igualmente decidido fazer uma abordagem inferencial, mais concretamente mediante o teste de independência Qui-Quadrado através do estudo de tabelas de contingência. Este consiste num teste estatístico não-paramétrico, utilizado para averiguar se duas ou mais populações (ou grupos) independentes diferem em relação a uma determinada característica. Por conseguinte, é possível verificar se existe dependência entre duas amostras distintas. Contudo, a aplicação do presente teste tem como inerentes a validação dos seguintes pressupostos: dimensão da amostra (n) superior a 20; todas as categorias apresentarem valores esperados superior a 1 e, pelo menos, 80% dos valores esperados serem iguais ou superiores a 5 (Maroco, 2007). Por outras palavras, o teste de independência do Qui-quadrado é indicado para comparar dois atributos e, por conseguinte, determinar a existência (ou não) de um padrão de associação ou dependência entre os mesmos. A conclusão da análise de resultados é obtida através do cálculo da estatística do teste (χ^2) conjuntamente com a análise do valor de significância (aqui designado por *p-value*).

Neste seguimento, procedeu-se à associação de questões do inquérito sobre o consumo de polvo-vulgar, necessárias ao presente estudo e de forma a analisar os resultados obtidos por esse cruzamento de dados, bem como para verificar se os resultados são (não) estatisticamente significativos. As associações das questões em estudo estão descritas na **Tabela 3.3**.

Tabela 3.3. Descrição das questões em estudo submetidas à análise de dependência mediante o Teste de Qui-Quadrado.

N.º da Questão do Inquérito	Descrição da Questão	Objetivo da Associação
Q4 e Q10	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Distrito de residência ▪ Onde costuma adquirir o polvo que consome 	- Averiguar se o polvo-vulgar é proveniente de estabelecimentos que obedecem a um controlo sanitário.
Q4 e Q11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Distrito de residência ▪ Quais as épocas do ano em que consome polvo? 	- Analisar se o consumo de polvo incide em determinadas épocas do ano consoante os distritos.
Q4 e Q12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Distrito de residência ▪ Tem facilidade em adquirir polvo fresco/congelado? 	- Verificar se existe facilidade de aquisição de polvo em todos os distritos, mesmo os que não estão situados em zonas litorais.
Q6 e Q7	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Como costuma adquirir o polvo fresco? ▪ Costuma congelar o polvo que adquire fresco antes de o consumir? 	- Averiguar se os consumidores que adquirem polvo-vulgar fresco se costumam congelar antes de consumir.
Q7 e Q13	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Costuma congelar o polvo que adquire fresco antes de o consumir? ▪ Como costuma consumir o polvo 	- Analisar se os consumidores que adquirem polvo fresco e não congelam, se o cozinham antes de consumir.
Q8 e Q9	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Onde costuma congelar o polvo fresco? ▪ Indique durante quanto tempo congela o polvo 	- Verificar se os consumidores que congelam o polvo-vulgar fresco, se aplicam um binómio de tempo/temperatura suficiente para inativar a larva viável de <i>Anisakis</i> sp.

3.4.4. Análise estatística no âmbito dos resultados obtidos durante a inspeção visual e observação por transiluminação

Com o intuito de averiguar se existia alguma relação entre determinados fatores resultantes da inspeção visual e observação por transiluminação, procedeu-se à associação de características intrínsecas de polvo-vulgar (comprimento do manto (mm), peso (g) e sexo) com fatores externos (épocas do ano em que amostras de polvo-vulgar analisadas foram capturadas) e com características intrínsecas dos próprios parasitas (tamanho e número de parasitas observados por polvo-vulgar).

Por conseguinte, no sentido de averiguar se o peso (g) dos indivíduos explica, de forma linear, as variações observadas no respetivo comprimento do manto (mm), realizou-se uma análise de regressão linear simples (Zar, 2010). Esta combinou a observação da reta de regressão (isto é, da tendência linear entre as variáveis em

estudo, peso e comprimento do manto) e respectivos coeficientes de correlação (nomeadamente coeficiente de correlação linear de *Pearson*, r , e coeficiente de determinação, R^2). A conjugação de tais indicadores permitiu assim medir a dimensão do efeito do peso dos indivíduos sobre o comprimento do manto, assim como, determinar a qualidade de ajustamento que existe entre ambas as características (Maroco, 2007).

No seguimento da presente análise, aplicou-se o teste de independência do Qui-Quadrado de forma a caracterizar o possível padrão de associação entre alguns dos atributos considerados fulcrais para a presente investigação. Mais concretamente, tais atributos são:

- Épocas do ano de captura das amostras de polvo-vulgar analisadas versus número de parasitas observados no polvo-vulgar;
- Sexo do polvo-vulgar versus número de parasitas observados no polvo-vulgar.

Por último, com o objetivo de investigar a influência estações do ano (Outono, Inverno, Primavera, Verão) no comprimento do manto (mm) das amostras de polvo-vulgar analisadas, assim como, a influência do número de parasitas observados (analisados sob a forma categórica em três classes: 1 parasita; 2 parasitas e 3 ou mais parasita) no peso (g) e comprimento do manto (mm), realizou-se uma análise de variância (ANOVA) com um fator (Zar, 2010). De salientar que, todos os pressupostos inerentes a esta análise (nomeadamente homogeneidade de variâncias e normalidade dos dados) foram devidamente validados. Contudo, e sempre que estes foram violados, utilizou-se o teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis*. Adicionalmente, sempre que os resultados evidenciaram diferenças estatisticamente significativas, as respetivas comparações múltiplas foram devidamente analisadas mediante os testes de *Tukey* ou *Games-Howell* (dependendo do cumprimento, ou não, da homogeneidade de variâncias, respetivamente) (Zar, 2010).

De notar que, para o presente estudo todos os resultados são considerados estatisticamente significativos ao nível de significância (α) de 5%. Por outro lado, todos os cálculos inerentes à análise estatística realizada foram executados mediante o *software* IBM SPSS Statistics 20.0.

3.4.5. Contributo para avaliação de risco de *Anisakis* sp. em polvo-vulgar.

A avaliação de risco pode ser quantitativa, qualitativa ou semi-quantitativa. A avaliação de risco quantitativa fornece expressões numéricas de risco e indicação das incertezas inerentes (FAO / WHO, 1995). Por sua vez, a avaliação de risco qualitativa é baseada em dados que, embora constitua uma base inadequada para as estimativas de risco numéricos, quando condicionados por conhecimento especializado prévio e identificação das incertezas inerentes, permite a classificação de risco ou separação em categorias descritivas de risco. Esta avaliação de risco é estimada de acordo com termos subjetivos, tais como alto, baixo ou médio. Por último, a avaliação de risco semi-quantitativa estima um risco numérico com base numa mistura de dados qualitativos e quantitativos (FAO, 2004). Segundo o *Codex*, a avaliação de risco é composta por quatro etapas: identificação de perigos, caracterização do perigo, avaliação da exposição e caracterização dos riscos (*Codex Alimentarius* Comission, 1999).

No presente trabalho foi realizada uma avaliação de risco semi-quantitativa, uma vez que o presente estudo consiste num contributo para análise a avaliação de risco de *Anisakis* sp. no polvo-vulgar.

3.4.5.1. Identificação do perigo

Esta é a primeira etapa de avaliação de risco e é um processo de triagem para se ter a certeza de que o perigo realmente existe neste produto particular (FAO, 2004). Nesta etapa, procede-se à identificação de agentes biológicos, químicos e físicos capazes de causar efeitos adversos à saúde e que podem estar presentes num determinado alimento ou grupo de alimentos (FAO, 2004). Desta forma, um perigo define-se como um agente biológico, químico ou físico, ou condição, de alimento com potencial para provocar um efeito nocivo para a saúde (*Codex Alimentarius* Comission, 1999).

Procedeu-se à análise semi-quantitativa de *Anisakis* sp. no polvo e avaliação de risco de ingestão de *Anisakis* sp. no consumidor final. Para tal, foi pesquisada informação em motores de busca [Google; b-on (Biblioteca do Conhecimento Online); ScienceDirect; Pubmed] e em sites oficiais (EFSA – European Food Safety Authority, WHO – World Health Organization, AESAN - Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, ASAE, INSA - Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge) para a obtenção de

documentos técnicos e dados epidemiológicos sobre *Anisakis sp.*. De forma a facilitar a procura de informação, foram utilizadas as seguintes palavras-chave: segurança alimentar, avaliação de risco, avaliação de risco quantitativa, avaliação de risco microbiológica, doenças de origem alimentar, anisaquidose, *Anisakis sp.*, *Anisakis simplex*, produtos da pesca, cefalópodes, polvo.

3.4.5.2. Caracterização do perigo

A caracterização do perigo consiste na avaliação qualitativa e / ou quantitativa da natureza dos efeitos adversos de saúde associados a agentes biológicos, químicos e físicos que podem estar presentes nos alimentos. A caracterização do perigo é constituída por duas partes, isto é, por uma descrição dos efeitos do perigo (e.g., microrganismo ou toxina) e pela relação dose-resposta (se existir). A avaliação da dose-resposta baseia-se na determinação da relação entre a magnitude da exposição (dose) a um agente químico, físico e biológico ou a gravidade e / ou a frequência dos efeitos adversos na população (resposta) (FAO, 2004), consistindo possivelmente no passo mais importante (*Codex Alimentarius* Commission, 2011).

O homem pode ser um hospedeiro acidental (HA) através da ingestão de polvo-vulgar com larvas (L3) viáveis de *Anisakis sp.* (somente a L3 é susceptível de causar infeção) (Audicana e Kennedy, 2008). Embora estejam descritos casos de parasitismo massivo, mais de 90% dos casos de anisaquiose são causados por uma única larva (Daschner, *et al.*, 1997). Neste sentido, no presente estudo a dose resposta é constituída por uma larva viva de *Anisakis sp.* no polvo, quanto ao perigo de anisaquíase gástrica ou intestinal.

3.4.5.3. Avaliação da exposição

Segue-se a fase de avaliação da exposição da população ao agente em consequência da ingestão do alimento considerado. Esta baseia-se em modelos preditivos matemáticos que têm em conta a probabilidade de ocorrência do agente no alimento, o impacto do processamento e manuseamento sobre o mesmo, a frequência de exposição da população, a duração dessa exposição e o seu padrão de suscetibilidade (*Codex Alimentarius* Commission, 2011). Para realizar uma avaliação da exposição, é

necessário obter a seguinte informação: número de porções de alimentos ingeridos potencialmente perigosos e o nível de contaminação com o microrganismo ou toxina no momento do consumo. Para a obtenção deste dados, provavelmente será necessário seguir o microrganismo ou toxina através da cadeia alimentar e a estimativa das alterações que ocorrem para o perigo em toda a cadeia (FAO, 2004).

No presente estudo, foi aplicado um inquérito por questionário sobre consumo de polvo-vulgar em Portugal de administração direta, em modalidade de papel e em modalidade *online* a todos os distritos de Portugal Continental, e Regiões Autónomas dos Açores e Madeira para análise dos hábitos de consumo de polvo em Portugal, tal como já foi referido anteriormente. O nível de contaminação de *Anisakis* sp. foi obtido através da observação de amostras de polvo-vulgar pelo processo de transiluminação, descrito no ponto “3.4.1. Inspeção visual e observação por transiluminação”. A fórmula de cálculo utilizada para a determinação do nível de contaminação também está descrita no ponto “3.4.1. Inspeção visual e observação por transiluminação”, especificamente na fórmula de cálculo utilizada para a prevalência.

3.4.5.4. Caracterização do risco

A caracterização do risco consiste na etapa final da avaliação do risco e envolve a integração dos resultados das avaliações de dose-resposta e de exposição, fornecendo uma estimativa da probabilidade de ocorrência do problema, bem como da sua magnitude (Wooldridge, 2008). Importa referir que o risco é definido como uma função da probabilidade de um efeito nocivo para a saúde e da gravidade desse efeito, como consequência de um perigo(s) no alimento *Codex Alimentarius* Commission, 1999). Procedeu-se à caracterização do risco de ingestão de *Anisakis* sp. no polvo-vulgar, considerando cenários descritos na avaliação da exposição (ponto 4.5.3.) e recorrendo ao *software* “Risk Ranger” versão 2* (Ross, T. e Sumner, J., 2002).

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Características das amostras analisadas

As amostras de polvo-vulgar analisadas apresentaram um peso médio de $1218,94 \pm 333,08$ g e um comprimento médio do manto de $158,92 \pm 18,295$ mm. Em relação ao sexo das amostras analisadas de polvo-vulgar, maioritariamente eram machos (67,1%). Foi possível observar que as gónadas encontravam-se na parte superior do manto (Figura 4.1.):

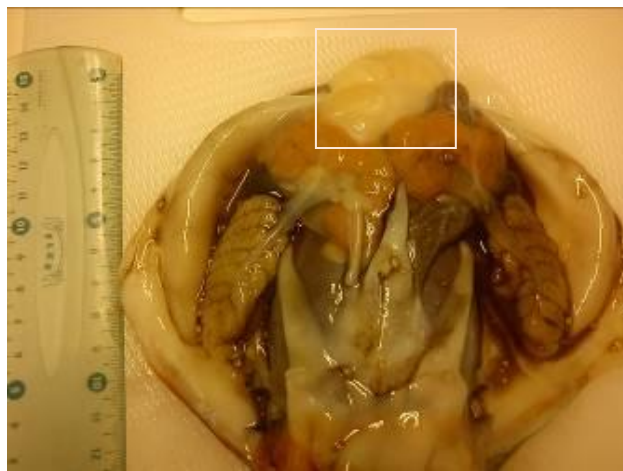


Figura 4.1. Gónada na parte superior do manto do polvo-vulgar.

O polvo-vulgar macho apresentava gónadas esféricas, com uma coloração branca a creme, estando, no seu interior, espermátóforos armazenados na bolsa de Needham (Figura 4.2.).

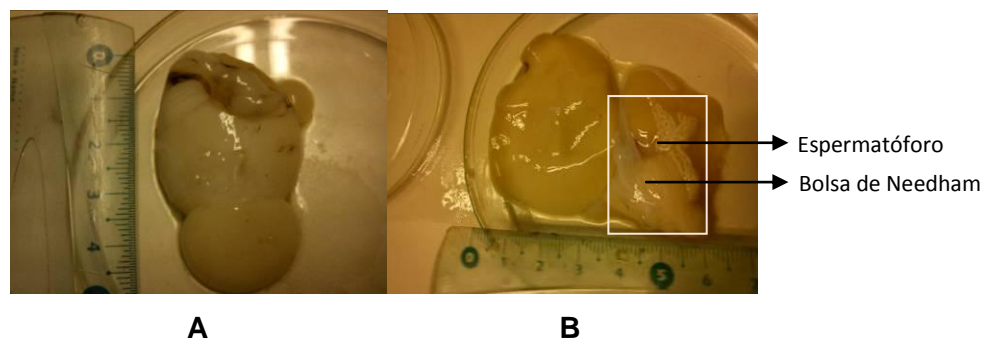


Figura 4.2. Gónada de polvo-vulgar macho. **A** - Exterior da gónada. **B**- Interior da gónada com evidência do espermátóforo.

Quanto à gónoda de polvo-vulgar fêmea, observou-se que apresentavam também uma forma esférica, com uma coloração amarelada e com dois oviductos (**Figura 4.3.**):

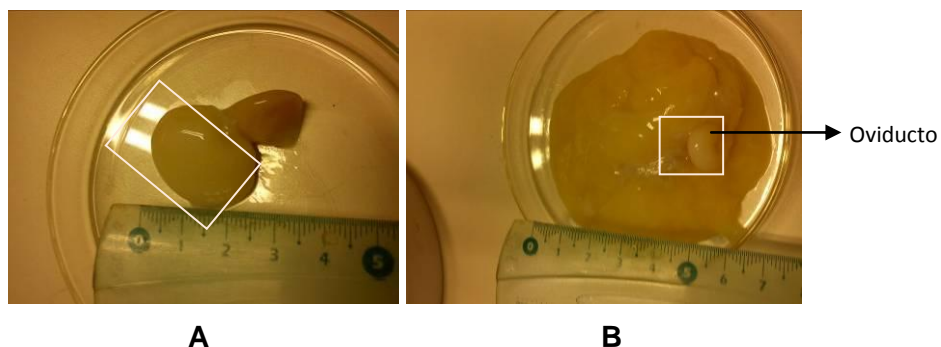


Figura 4.3. Gónada de polvo-vulgar fêmea. **A** - Exterior da gónada. **B** – Interior da gónoda, com destaque de um oviducto.

4.2. Descrição dos parasitas identificados nas amostras analisadas

A análise das amostras de polvo-vulgar, resultante do processo de transiluminação, permitiu identificar nematodos e um céstodo nas 140 amostras de polvo-vulgar analisadas. Relativamente ao total dos parasitas observados no polvo-vulgar, pode-se verificar que maioritariamente pertencem ao nematodo *Cystidicola* sp. (78%) e, com uma percentagem reduzida, observou-se o nematodo *Anisakis* sp. (2%), seguido pelo céstodo *Trypanorhyncha* sp. (1%). O local de infeção onde os parasitas foram observados, bem como a sua prevalência (%) e intensidade, estão indicados na **Tabela 4.1.**

Tabela 4.1. Localização e número de parasitas identificados nas amostras.

	Identificação do Parasita	Local de Infeção	n =	Prevalência (%)	Intensidade
Nematodos	<i>Anisakis</i> spp.	Gónadas	1	1,41	1
		Manto	1		
	<i>Cystidicola</i> spp.	Ceco	1	17,9	3,12
		Esófago	56		
		Exterior da glândula digestiva	1		
Céstodo	<i>Trypanorhyncha</i> sp.	Intestinos	19	0,71	1
		Manto	1		
		Total	81		

Todos os parasitas observados foram detetados durante o processo de transiluminação. O número de parasitas observados por polvo-vulgar variou de 1 a 26 parasitas, não tendo sido observados parasitas em 80% das amostras analisadas. Todos os parasitas recolhidos apresentavam-se viáveis. Foram recolhidos nematodos, *Anisakis* spp. com uma prevalência de 1,4% e *Cystidicola* spp. com uma prevalência de 17,9% e um céstodo, *Trypanorhyncha* sp. com uma prevalência de 0,71%. Quanto ao nematodo *Cystidicola* sp., foi possível observar que a sua abundância era muito superior comparativamente com os restantes parasitas analisados (variou de 1 a 26 parasitas), assim como a sua intensidade parasitária também era a superior (3,12) (*Anisakis* sp. e *Trypanorhyncha* sp. com uma intensidade parasitária igual a 1).

4.2.1. Descrição morfológica de *Anisakis* sp.

Foram observadas duas larvas filiformes, com corpo não segmentado, enroladas em espiral plana (**Figura 4.5.**) em duas amostras de polvo-vulgar distintas. Uma larva foi encontrada no manto (**Figura 4.4.**), observada num polvo-vulgar capturado no início do mês de Dezembro de 2011 (Outono), e a segunda foi observada no interior das gónadas, correspondendo a um polvo-vulgar capturado no mês de Maio de 2012 (Primavera).



Figura 4.4. Parasita enquistado no manto.

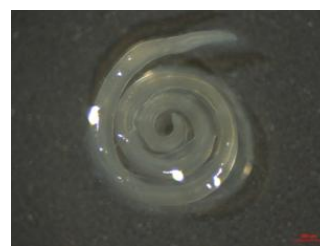


Figura 4.5. L3 de *Anisakis* tipo I enrolada em espiral plana . Escala: 500 μ m.

As larvas recolhidas correspondiam a L3 de *Anisakis* tipo I (Berland, 1961) e apresentavam as seguintes características morfológicas (por microscopia ótica): extremidade anterior com dente perfurante (**Figura 4.6. A**); ligação oblíqua entre o ventrículo e o intestino (**Figura 4.6. B**); extremidade posterior / cauda com mucron (**Figura 4.6.C**).

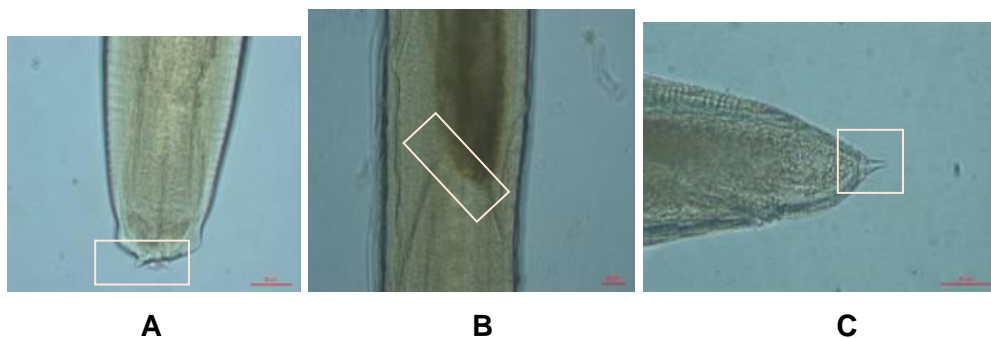


Figura 4.6. Morfologia de *Anisakis* sp. por microscopia ótica. **A** - Extremidade anterior com presença de um dente perfurante. Escala: 50 μ m; **B** - Ligação oblíqua na junção entre ventrículo e intestino. Escala: 50 μ m. **C** - Mucron presente na extremidade caudal. Escala: 50 μ m.

4.2.2. Descrição morfológica de *Cystidicola* sp.

Foram recolhidos 78 nematodos *Cystidicola* spp. em 25 amostras de polvo-vulgar distintas. O n.º de parasitas variou de 1 a 26 parasitas por polvo, apresentando uma média de $4,73 \pm 4,40$ parasitas/polvo. Por transiluminação, foi possível observar um corpo filiforme com estrias superficiais que correspondia ao nematodo *Cystidicola* sp. - **Figura 4.7.** (Fisher, 1798).



Figura 4.7. *Cystidicola* sp. Escala: 500 μ m.

As larvas encontravam-se encapsuladas em espiral na parede do esófago (62,8%), na parede do intestino (12,8%), no manto (1,3%), na parede do cecum (1,3%) e, apresentaram-se livres no suco intestinal (11,5%), no suco do esófago (9,0%) e no exterior da glândula digestiva (1,3%).

Relativamente à sua morfologia interna, apresentam-se as principais características que caracterizam *Cystidicola* sp.: extremidade anterior com presença de dente perfurante (**Figura 4.8. A**); ligação horizontal entre o ventrículo e o intestino (**Figura 4.8. B**); Ausência de mucron na extremidade posterior / cauda (**Figura 4.8. C**):

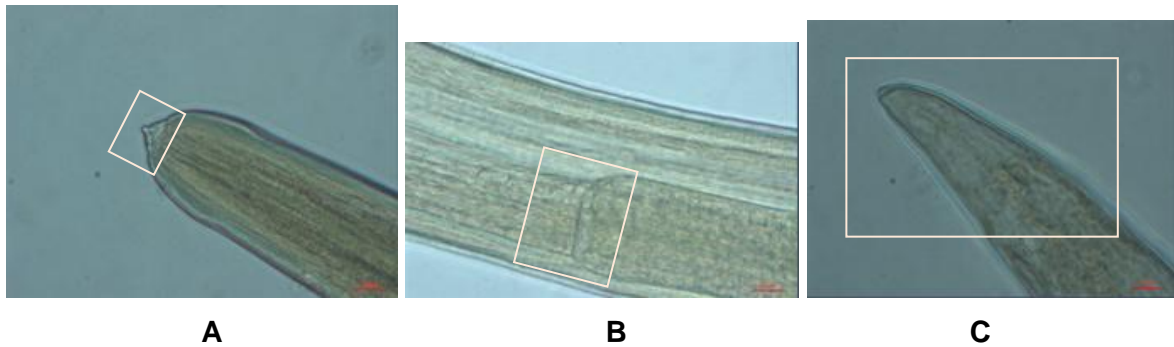


Figura 4.8. Morfologia de *Cystidicola* sp. por microscopia ótica. **A** - Extremidade anterior com dente perfurante. Escala: 20 μ m. **B** - Ligação horizontal entre ventrículo e intestino. Escala: 20 μ m. **C** - Cauda. Escala: 20 μ m.

Foi medido o comprimento longitudinal das 72 larvas não danificadas, tendo sido observado que o comprimento das larvas de *Cystidicola* spp. variou entre os 4 mm e os 14 mm, apresentando uma média de $8,86 \pm 1,78$ mm.

4.2.3. Descrição morfológica de *Trypanorhyncha* sp.

Foi observada uma larva plerocercóide com uma armadura tentacular desenvolvida, numa amostra de polvo-vulgar, recolhida na parede do esófago (observada numa amostra capturada no mês de Março de 2012), correspondendo a uma larva de *Trypanorhyncha* sp. (**Figura 4.9.**):

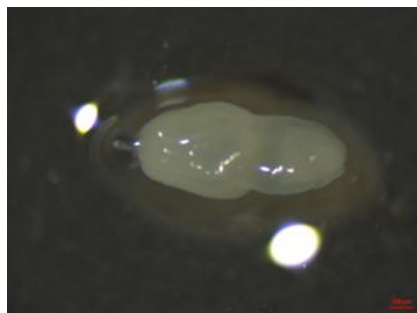


Figura 4.9. *Trypanorhyncha* sp. Escala: 200 μ m.

Por microscopia ótica, observou-se a presença de escólex com quatro botrídeas e quatro tentáculos retráteis armados com ganchos (armadura tentacular – **Figura 4.10. A e B**) e corpo não segmentado (**Figura 4.10. C**):



Figura 4.10. Morfologia de *Trypanorhyncha* sp. por microscopia ótica. **A** - Armadura tentacular constituída por quatro tentáculos recontráteis armados com ganchos. Escala: 100 µm. **B** - Armadura tentacular constituída por tentáculos recontráteis armados com ganchos. Escala: 50 µm. **C** - Corpo não segmentado. Escala: 100 µm.

4.3. Análise dos resultados do inquérito sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal

4.3.1. Caracterização da amostra

A amostra é constituída por 1477 inquiridos obtidos de modo totalmente aleatório. Os resultados obtidos apresentam-se sintetizados nas figuras seguintes (expressos quantitativamente e/ou em percentagem).

Relativamente aos aspetos sócio-demográficos que caracterizam a amostra em estudo, verifica-se que esta é predominante jovem (com idades compreendidas entre os 18 – 30 anos, 60,5%, seguido do grupo etário dos 31 – 40 anos, 22,0%, 41 – 54 anos, 13,2%, e, por fim, o grupo etário “mais de 55 anos” como sendo o menos expressivo, isto é, 4,2% - **Figura 4.11.**) e liderada pelo sexo feminino (72% em oposição aos 28% do sexo masculino).

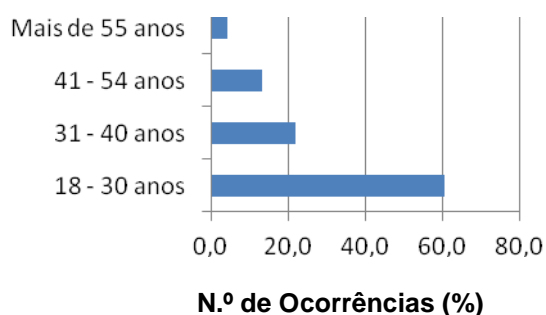


Figura 4.11. Distribuição da amostra (%) por grupos etários.

No que respeita à área de residência dos consumidores inquiridos, destaca-se a Região Autónoma dos Açores (17,8%), assim como os distritos de Lisboa (14,9%) e Leiria (13,2%). Os restantes distritos estão igualmente representados na amostra, muito embora com um carácter menos relevante, ou até mesmo residual (**Figura 4.12.**).

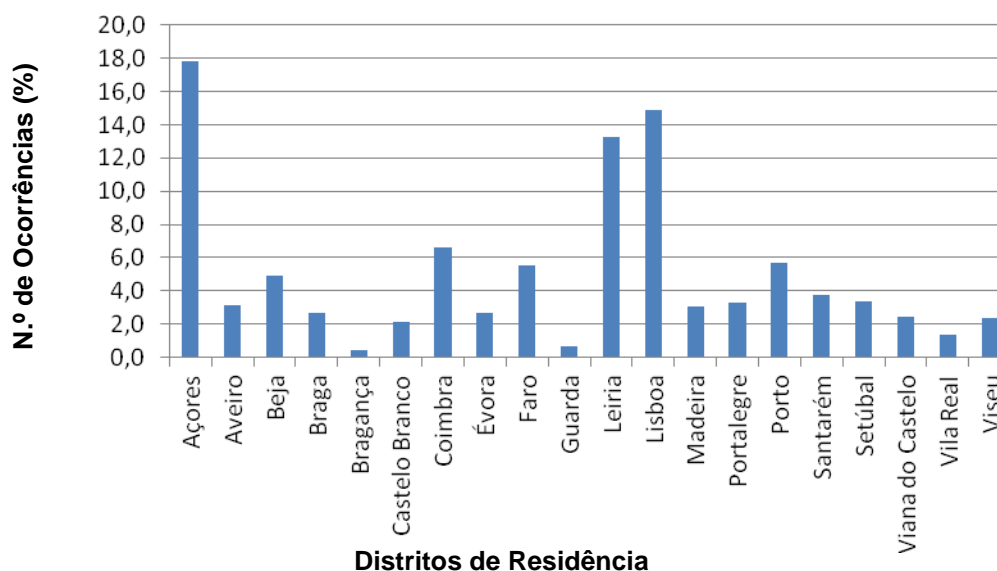
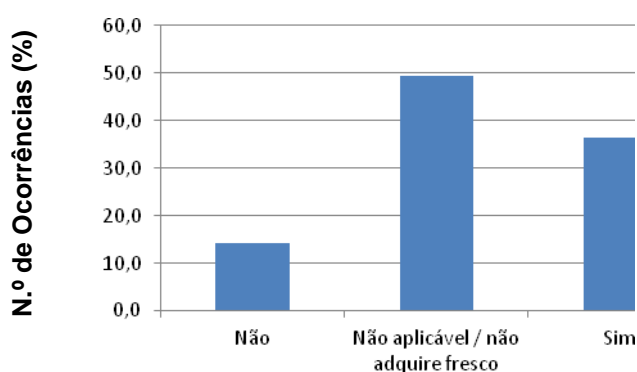


Figura 4.12. Distribuição dos inquiridos (%) por distritos / Regiões Autónomas de residência.

Quanto à constituição do agregado familiar dos consumidores inquiridos que consomem polvo-vulgar (Anexo 2), destacam-se aqueles que indicaram que o consumo de polvo-vulgar era realizado pela totalidade dos indivíduos que o compõem (48,5%), seguindo-se os adultos, que representam 34,5% da amostra. Com uma menor expressão encontram-se os agregados familiares constituídos pelas crianças e adultos (7,5%), seguida pelos grupos que integram adultos, idosos e grávidas (4,3%) e crianças, grávidas e idosos (0,3%).

Analisando a distribuição da amostra pelo modo como os inquiridos costumam adquirir o polvo-vulgar (Anexo 2), constata-se que 46,7% dos indivíduos compra polvo-vulgar congelado, seguindo-se aqueles que compram polvo-vulgar fresco (40,1%). Com resultados menos significativos, encontra-se a compra de polvo-vulgar fresco e congelado (8,1%), em conserva (2,0%), cozido (1,4%), polvo-vulgar pronto a consumir (0,7%), outras situações (0,5%), e a compra de congelado e em conserva / congelado e cozido (0,2%).

Quanto ao modo como os inquiridos costumam adquirir polvo-vulgar fresco (Anexo 2), verifica-se que para 49,3% dos consumidores inquiridos, esta questão não é aplicável, dado que não adquirem polvo-vulgar fresco. Relativamente aos inquiridos que costumam comprar polvo-vulgar fresco, 29,9% adquirem-no de forma inteira, 20,6% costumam comprá-lo limpo e 0,2% opta por ambas as formas. Quanto à forma de conservação de polvo-vulgar fresco (antes do consumo) (**Figura 4.13.**), verifica-se que os resultados mais significativos indicaram que 36,4% dos consumidores inquiridos costumam congelar polvo-vulgar fresco antes de o consumirem. Apenas 14,1% dos inquiridos referiu que não costuma congelar polvo-vulgar fresco antes de o consumir.



Q7. Costuma congelar o polvo que adquire fresco

Figura 4.13. Distribuição da amostra (%) pelos inquiridos que costumam congelar ou não o polvo-vulgar que adquirem fresco.

Já no que respeita ao equipamento de conservação (**Figura 4.14**), o padrão encontrado caracteriza-se pelo facto de 19,8% dos consumidores inquiridos terem por hábito utilizar congeladores tipo arca, seguindo-se aqueles que utilizam o congelador do frigorífico (14,7%). Com menor expressão, encontram-se os congeladores verticais (5,0%), seguido dos frigoríficos congeladores (1,6%) e, por último, pelo abatedor com 0,1% dos consumidores inquiridos.

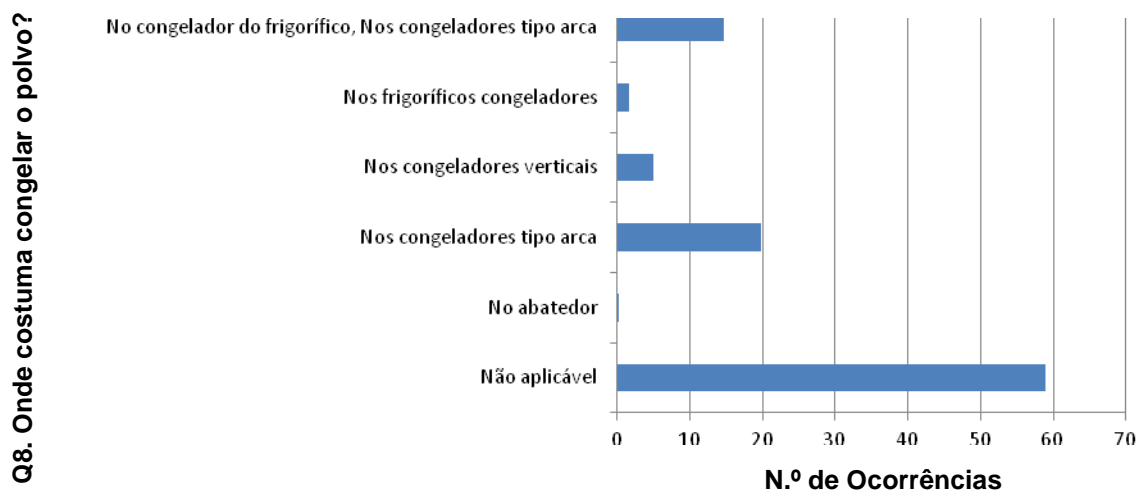
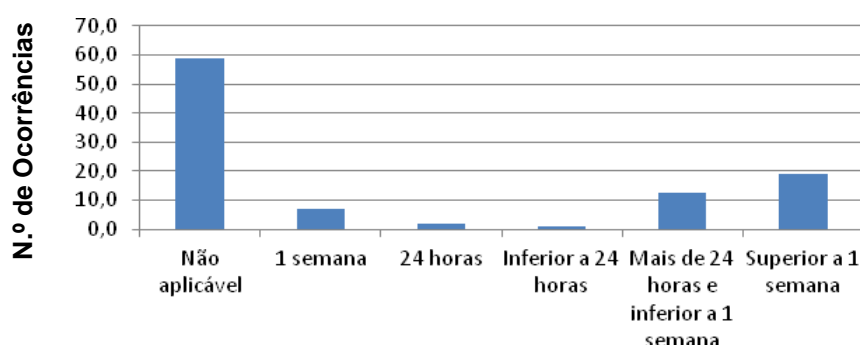


Figura 4.14. Distribuição da amostra (%) pelos equipamentos onde os inquiridos costumam congelar o polvo-vulgar que adquirem fresco.

Ainda no âmbito da conservação de polvo-vulgar fresco (**Figura 4.15.**), os resultados demonstraram que 19,2% dos inquiridos congelam polvo-vulgar por um período superior a uma semana. Por outro lado, 12,5% dos consumidores inquiridos referiram que congelam polvo-vulgar por um período superior a 24 horas e inferior a uma semana, sendo que apenas 6,0% dos indivíduos mencionou que o período de congelação é exatamente igual a uma semana. Com uma representação residual surgem os inquiridos que congelam polvo-vulgar por um período de 24 horas (1,8%) ou até mesmo por período inferior a 24 horas (0,8%).



Q9. Durante quanto tempo congela o polvo?

Figura 4.15. Distribuição da amostra (%) pelo tempo de congelação do polvo-vulgar fresco.

Procedendo à análise dos locais de aquisição de polvo-vulgar (**Figura 4.16**), realça-se que 61,3% dos consumidores inquiridos compram polvo-vulgar maioritariamente no comércio a retalho. Com resultados menos significativos, encontra-se a compra de

polvo-vulgar diretamente ao pescador (12,4%), seguido por compra de polvo-vulgar no comércio a retalho e restauração¹ com 8,7%, diretamente ao pescador e outros locais¹ com 6,0% e pesca desportiva e outros locais¹ com 5,8% dos consumidores inquiridos. Foram obtidos resultados residuais na compra de polvo-vulgar no comércio a retalho, restauração e pesca desportiva¹ juntamente com comércio a retalho, loja, mercado e mercado ambulante (0,7%) e, por último, para aqueles que adquirem polvo-vulgar diretamente ao pescador, restauração e pesca desportiva¹ com 0,5 % dos consumidores inquiridos.

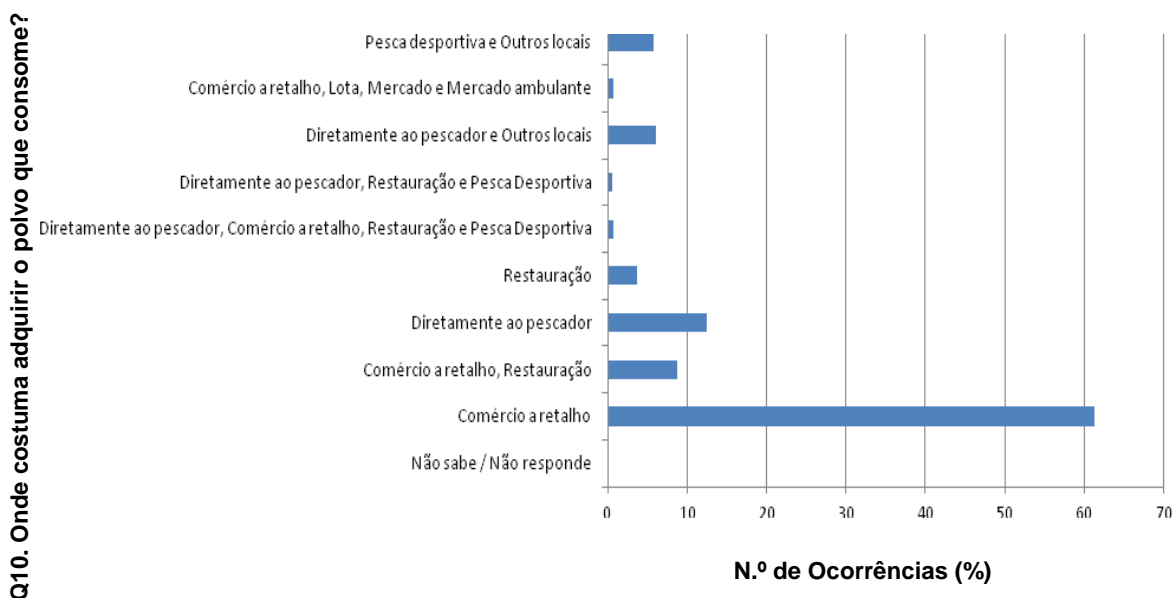


Figura 4.16. Distribuição da amostra (%) pelos locais de aquisição de polvo-vulgar.

No que se refere às épocas do ano em que os inquiridos consomem polvo-vulgar (Anexo 2), constatou-se na sua maioria esta era indiferente (80,9%), seguindo-se o Verão (9,6%), o Inverno (5,6%) e, por último, o Natal (3,8%). Analisando as respostas compostas, isto é, as respostas contemplando mais do que uma opção, verifica-se que cada um delas apresenta a percentagem de 0,1% dos consumidores inquiridos (relativo ao Inverno e Natal, Verão e Inverno e Verão e Natal).

Quanto à facilidade em adquirir polvo-vulgar fresco/congelado, destaca-se que a maior parte dos consumidores inquiridos têm essa comodidade (86,9%), existindo uma pequena parte dos inquiridos (13,1%) que referiram que não tinham tal acessibilidade.

¹ Os inquiridos assinalaram os vários locais de aquisição de polvo-vulgar no inquérito efetuado, ou seja, podem comprar polvo-vulgar em qualquer um dos locais mencionados.

De salientar que, no que se refere concretamente ao modo de consumo de polvo-vulgar, o padrão encontrado caracteriza-se pelo consumo de polvo-vulgar cozinhado (98,6%), existindo uma minoria dos consumidores inquiridos que o consomem cru (1,4%).

4.3.2. Análise da associação entre as questões

Tal como já foi descrito anteriormente, e de forma a dar resposta a um dos objetivos patentes nesta investigação, procedeu-se à análise da associação entre algumas das questões fulcrais do inquérito em análise.

Como forma de perceber a origem do polvo-vulgar que é adquirido pelos consumidores nos diferentes distritos, analisou-se a correlação entre o distrito e o local onde os inquiridos costumam adquirir o polvo-vulgar que consomem. Os resultados evidenciam que há dependência estatisticamente significativa entre ambos os atributos (Qui-quadrado; $\chi^2_{(152)} = 384,381$; $p\text{-value} = 0,000 < 0,05$). Por conseguinte, a residência dos inquiridos condiciona o local de aquisição de polvo-vulgar. Tal é claramente expresso pelo padrão representado na **Figura 4.17**. Os valores mais significativos foram obtidos no comércio a retalho na maior parte dos distritos (61,3%), seguida pela compra de polvo-vulgar diretamente ao pescador (12,4%). Os consumidores inquiridos da Região Autónoma dos Açores apresentaram os resultados mais significativos com 24,0%, seguido pelo distrito de Faro com 23,2%³ dos consumidores inquiridos.

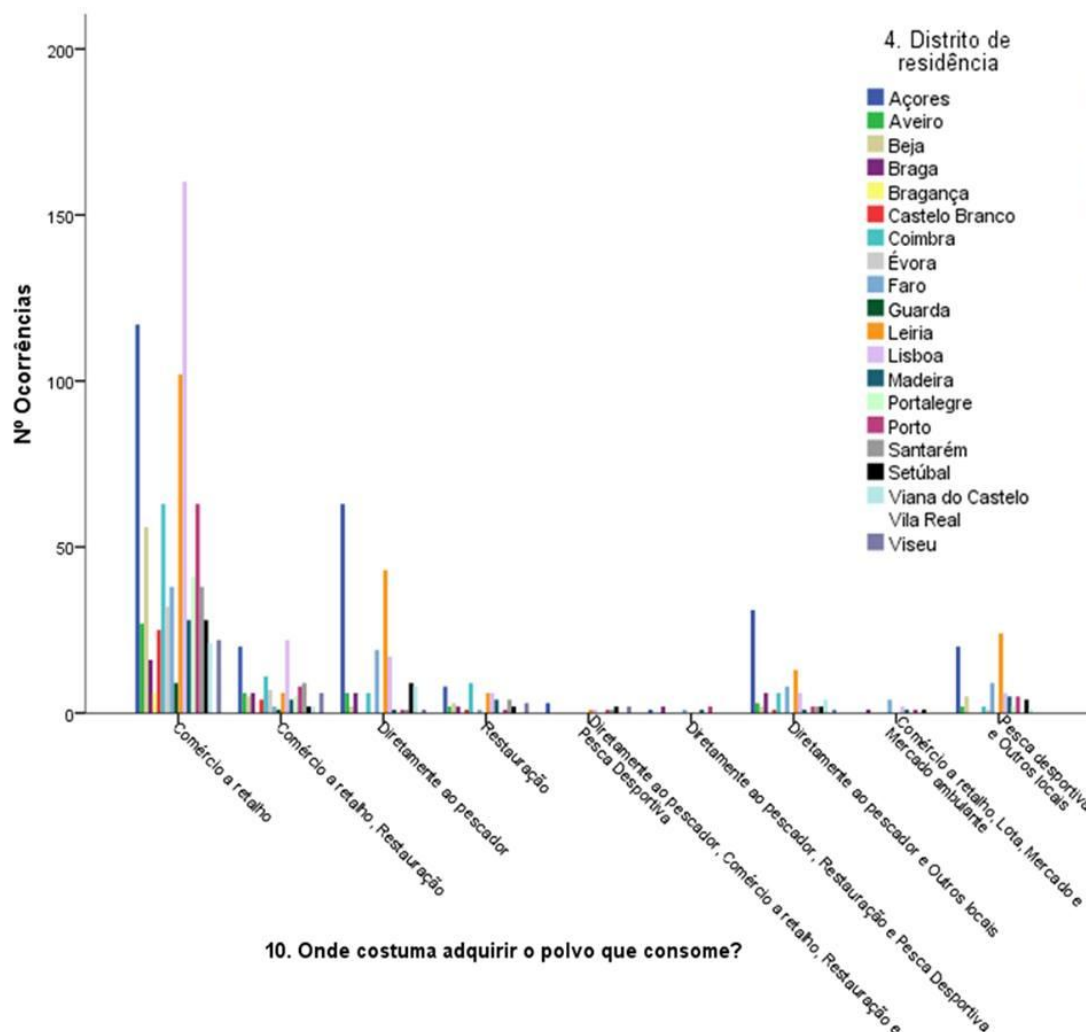


Figura 4.17. Associação dos resultados obtidos entre as questões “Distrito de residência” e “Onde costuma adquirir o polvo que consome”.

A análise da relação entre o distrito e as épocas do ano em que os inquiridos consomem polvo-vulgar (**Figura 4.18.**), com o intuito de se averiguar se o consumo do polvo-vulgar incidia em determinadas épocas do ano consoante os distritos, evidenciou uma associação significativa (Qui-quadrado; $\chi^2_{(114)} = 242,445$; $p\text{-value} = 0,000 < 0,05$). Assim, uma vez mais a residência apresenta-se como um fator condicionante ao perfil de consumo dos indivíduos em análise. O consumo de polvo-vulgar durante a época de Verão especificamente, apresentou a percentagem mais elevada com 15,6%² dos consumidores inquiridos na Região Autónoma da Madeira, seguida pelo distrito de Beja e de Santarém com 15,1%² e 12,7%² dos consumidores inquiridos respetivamente. Para os distritos de Bragança, Guarda e Vila Real, nenhum inquirido assinalou que consumia polvo-vulgar especificamente na época do Verão. Relativamente ao consumo de

² Percentagem expressa pelo total dos consumidores inquiridos referentes a esse distrito / Região Autónoma.

polvo-vulgar durante a época natalícia, destacam-se os distritos da Guarda e Vila Real ambos com 30,0%³ dos consumidores inquiridos desses distritos, seguidos pelo distrito de Bragança com 10,7%³ dos consumidores inquiridos. Os restantes distritos / Regiões Autónomas apresentaram resultados residuais quanto ao consumo de polvo-vulgar na época do Natal.

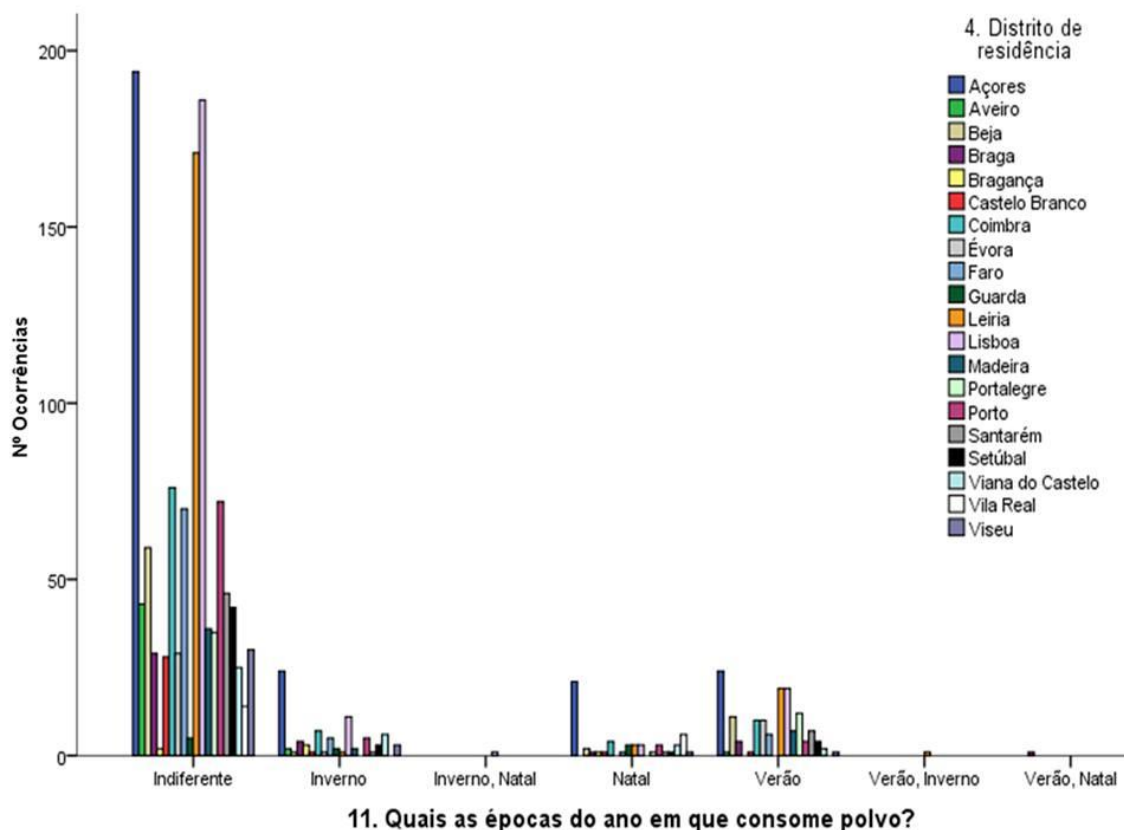


Figura 4.18. Associação entre os distritos / Regiões Autónomas dos inquiridos e as épocas do ano em que consomem polvo-vulgar.

Analisando a relação entre o modo como os consumidores inquiridos costumam adquirir polvo-vulgar fresco e com o facto se costumam congelar, o polvo-vulgar que adquirem fresco, antes de o consumir (**Figura 4.19.**), é possível verificar que existe uma dependência estatisticamente significativa entre estes dois atributos (Qui-quadrado; $\chi^2_{(2)} = 16,029$; $p\text{-value} = 0,000 < 0,05$), sendo que os consumidores inquiridos que compram polvo-vulgar inteiro (58,9%)⁴ referiram que costumam congelar (77,6%)⁴. Relativamente aos consumidores que indicaram que compram polvo-vulgar limpo (40,8%)⁴, 64,3%⁵ indicaram que o congelam.

3 Percentagem expressa pelo total dos inquiridos referentes a esse distrito / Região Autónoma.

4 Percentagem expressa pelo total dos inquiridos que indicaram que compram polvo-vulgar fresco (742 inquiridos).

5 Percentagem expressa pelo total dos inquiridos que compram polvo-vulgar limpo (303 inquiridos).

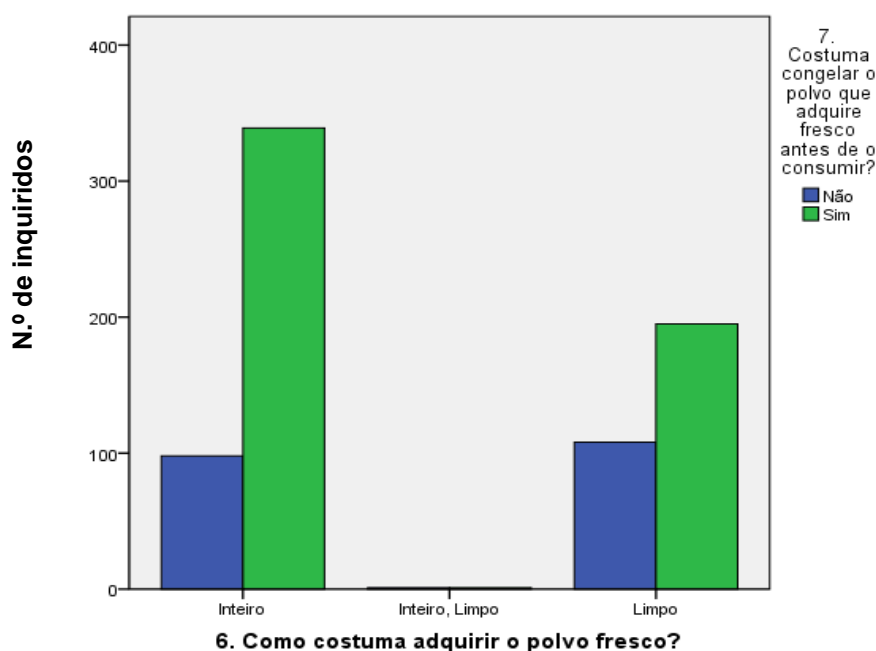


Figura 4.19. Associação dos resultados obtidos entre as questões “Como costuma adquirir polvo fresco” e “Costuma congelar o polvo que adquire fresco antes de o consumir”.

4.3.3. Outras associações

A análise da correlação entre o distrito e a acessibilidade em adquirir polvo-vulgar fresco / congelado”, evidenciou que os resultados não são estatisticamente significativos (Qui-quadrado; $\chi^2_{(19)} = 28,750$; $p\text{-value} = 0,07 > 0,05$). Na maioria dos distritos amostrados, inclusive Regiões Autónomas, os inquiridos indicaram que tinham facilidade em adquirir polvo-vulgar fresco / congelado (86,9%)⁶. Destaca-se o distrito da Guarda com 100% dos consumidores inquiridos a indicar que têm facilidade em adquirir polvo-vulgar fresco / congelado, seguido pelo distrito de Setúbal com 96% dos consumidores inquiridos. Viseu apresentou-se como sendo o distrito com os valores menos significativos, representado por 80,0%⁷ dos consumidores inquiridos a indicar que tinham facilidade na aquisição de polvo-vulgar fresco / congelado.

De igual modo, a relação entre o modo de como costumam congelar o polvo-vulgar que adquirem fresco antes de o consumir e o modo como costumam consumir o polvo-vulgar, mostrou que os resultados não são estatisticamente significativos

⁶ Percentagem expressa pelo total dos consumidores inquiridos (1475 inquiridos).

⁷ Percentagem expressa pelo total dos consumidores inquiridos desse distrito.

(Qui-quadrado; $\chi^2_{(1)} = 0,002$; $p\text{-value} = 0,631 > 0,05$). Contudo, obteve-se que a maioria dos consumidores inquiridos costuma congelar e cozinhar o polvo-vulgar (71,1%)⁸. Relativamente aos consumidores inquiridos que indicaram que não congelam polvo-vulgar fresco (27,9%)⁸, é possível observar que o costumam consumir cozinhado (98,6%).

Quanto à análise entre o local onde costumam congelar polvo-vulgar fresco e durante quanto tempo o mantêm em congelação, esta evidenciou que não existe uma dependência estatisticamente significativa entre os dois atributos (Qui-quadrado; $\chi^2_{(12)} = 15,884$; $p\text{-value} = 0,197 > 0,05$). Os valores mais significativos indicam que os consumidores inquiridos congelam polvo-vulgar nos congeladores tipo arca por um período de tempo superior a 1 semana (23,8%)⁹, seguidos pelos consumidores inquiridos que mencionaram que congelam no congelador do frigorífico ou no congelador tipo arca por um período superior a uma semana com 14,7%⁹ e pelos consumidores inquiridos que referiram que congelam polvo-vulgar nos congeladores tipo arca por um período superior a 24 horas e inferior a uma semana com 13,5%⁹.

4.4. Análise estatística dos resultados obtidos na investigação das amostras de polvo-vulgar por inspeção visual e por transiluminação

A análise dos resultados relativos à correlação realizada entre o comprimento do manto (mm) e o peso (g) de polvo-vulgar permitiu verificar que ambas as características se encontram fortemente associadas ($r = 0,71$), uma vez que 50% das variações, que se observam no comprimento do manto dos indivíduos em análise, são explicadas pela variabilidade média que ocorre no peso destes ($R^2 = 0,50$). Deste modo, é possível concluir que, de uma forma geral, o incremento no manto será, em média, de 0,04 mm por cada unidade que o peso do polvo-vulgar aumente (**Figura 4.20.**). Adicionalmente, foi ainda possível concluir que para todas as estações do ano, o padrão observado é globalmente idêntico, sendo que apenas se deteta um ligeiro incremento durante a Primavera ($R^2 = 0,70$) (**Figura 4.20.**).

8 Percentagem expressa pelo total dos consumidores inquiridos que indicaram que consomem polvo-vulgar fresco (745 inquiridos).

9 Percentagem expressa pelo total dos consumidores inquiridos que indicaram que costumam congelar polvo-vulgar fresco (606 inquiridos).

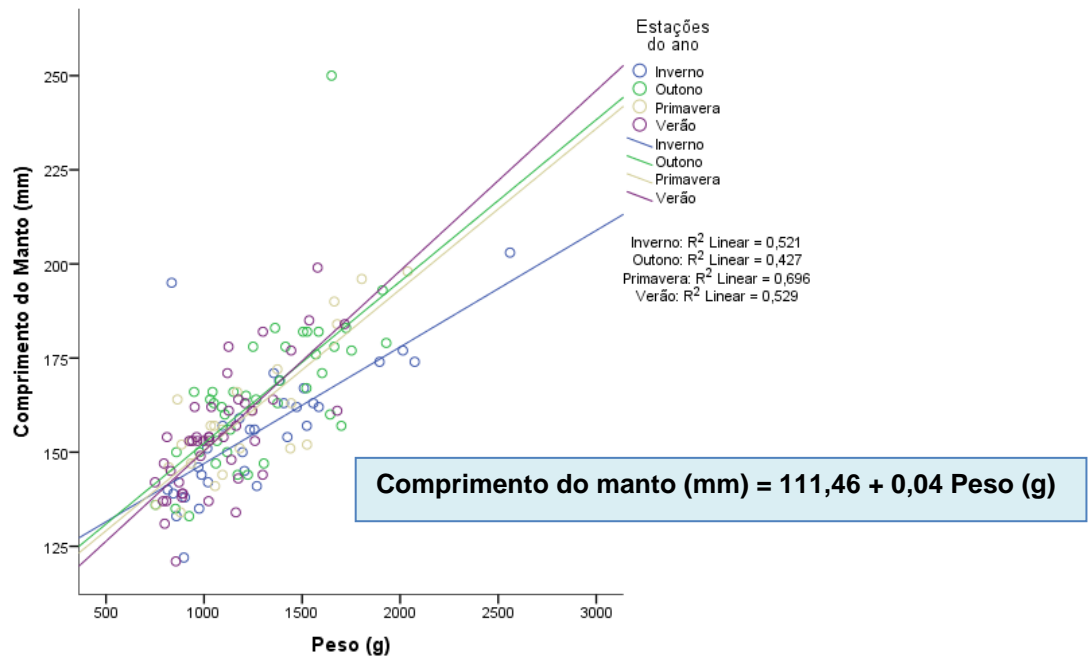


Figura 4.20. Relação entre o comprimento do manto (mm) e o peso (g) do polvo-vulgar, juntamente com as estações do ano relativas à captura das amostras de polvo-vulgar analisadas.

No que respeita à influência das estações do ano no comprimento do manto do polvo-vulgar, os resultados evidenciaram diferenças estatisticamente significativas (ANOVA, $F_{(3)} = 3,108$; p -value = 0,029 < 0,05; **Figura 4.21.**). Adicionalmente, foi ainda possível concluir que tais diferenças são mais notórias quando comparados os meses de Verão com os de Outono (*Tukey*; p -value = 0,025 < 0,05; **Figura 4.21.**). Por outro lado, ao comparar o peso médio do polvo-vulgar nas quatro estações do ano, os resultados evidenciaram diferenças estatisticamente significativas (*Kruskal-Wallis*, $\chi^2_{(3)} = 12,46$; p -value = 0,006 < 0,05; **Figura 4.21.**). Observando detalhadamente estes resultados, conclui-se que tais diferenças residem entre as estações do ano Verão e Outono (*Tukey*, p -value = 0,009 < 0,05; **Figura 4.22.**), assim como, Verão e Inverno (*Tukey*, p -value = 0,025 < 0,05; **Figura 4.22.**).

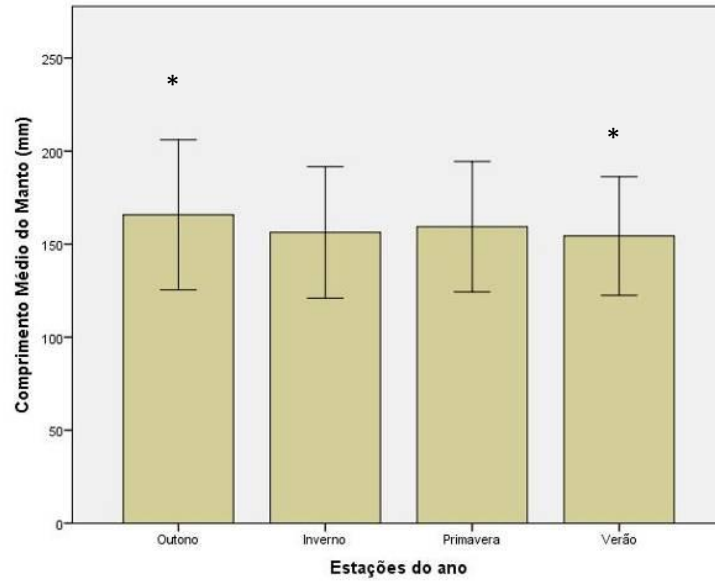


Figura 4.21. Distribuição, pelas estações do ano, dos valores do comprimento do manto (mm) do polvo-vulgar expressos sob a forma média \pm desvio-padrão (DP). O símbolo (*) indica diferenças estatisticamente significativas entre o Verão e o Outono (*Tukey*, *p-value* <0,05).

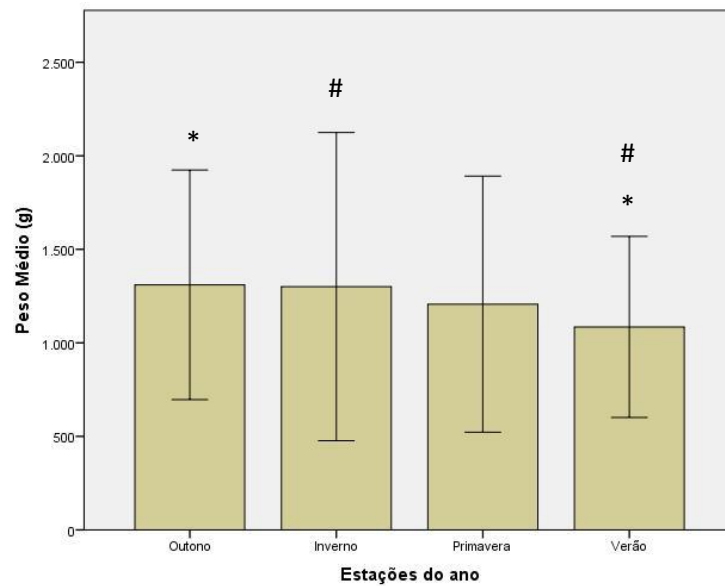


Figura 4.22. Distribuição, pelas estações do ano, dos valores do peso (g) do polvo-vulgar expressos sob a forma média \pm DP. O símbolo (*) indica diferenças estatisticamente significativas entre o Verão e o Outono (*Tukey*, *p-value* < 0,05) e o símbolo (#) evidencia diferenças estatisticamente significativas entre o Verão e o Inverno (*Tukey*, *p-value* < 0,05).

Pela análise da relação entre o número de parasitas (*Cystidicola* spp.) e as épocas do ano em que as amostras do polvo-vulgar foram capturadas, os resultados

evidenciaram um total padrão de independência entre ambos os atributos (Qui-Quadrado, $\chi^2_{(4)} = 20,81$; $p\text{-value} = 0,240$).

Por oposição, a análise da relação entre o sexo do polvo-vulgar e o número de parasitas¹⁰ (*Cystidicola* spp.) evidenciou uma associação significativa (Qui-Quadrado, $\chi^2_{(2)} = 11,82$; $p\text{-value} = 0,03 < 0,05$; **Figura 4.23.**).

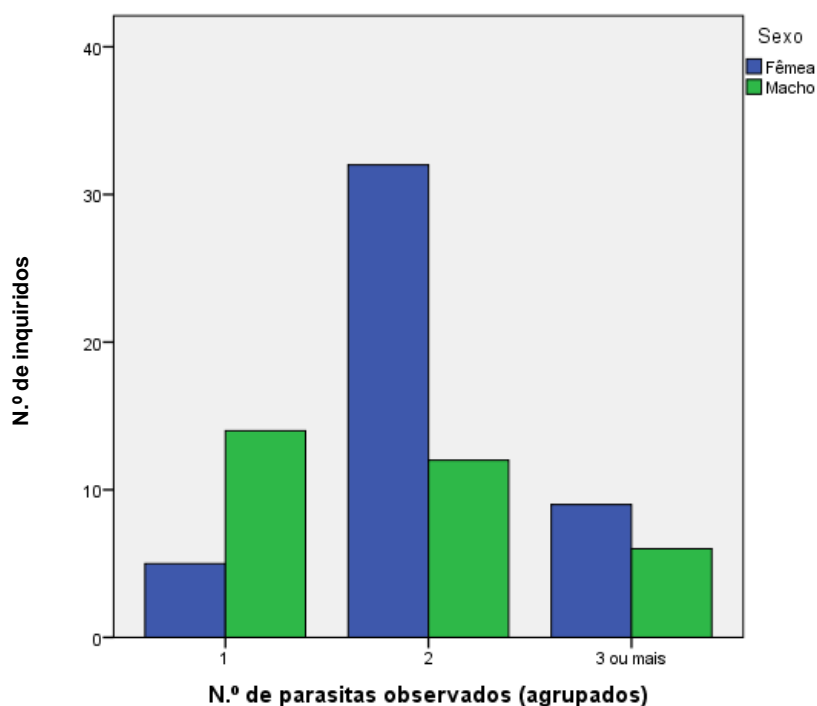


Figura 4.23. Relação entre o número de parasitas observados (agrupados) e o sexo das amostras de polvo-vulgar analisadas.

Quando comparado o peso médio do polvo-vulgar relativamente ao número de parasitas¹⁰ *Cystidicola* spp., os resultados indicaram a existência de diferenças estatisticamente significativas (ANOVA, $F_{(2)}=13,04$; $p\text{-value} = 0,000 < 0,05$; **Figura 4.24.**). Especificamente, é possível concluir que tais diferenças são significativas quando a magnitude do número de parasitas passa de 1 a 2 (Tukey, $p\text{-value} = 0,009 < 0,05$) para 2, 3 ou mais parasitas (Tukey, $p\text{-value} = 0,000 < 0,05$).

10 Quando analisados sob a forma categórica em três classes: 1 parasita; 2 parasitas e 3 ou mais parasitas.

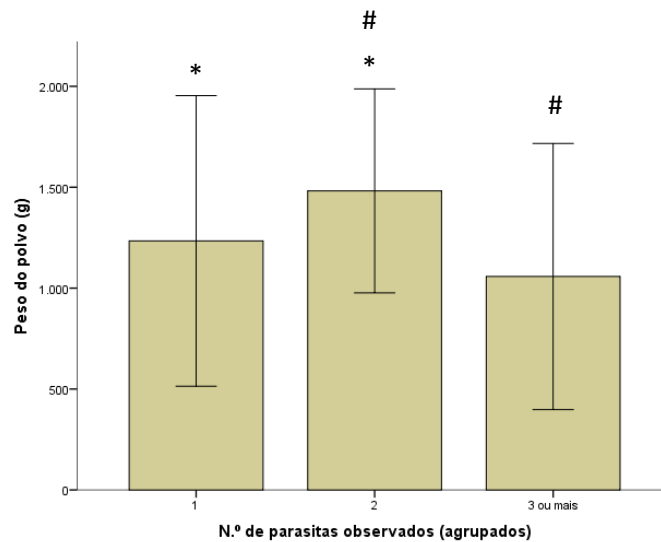


Figura 4.24. Distribuição, pelo número de parasitas observados (agrupados), dos valores do peso (g) do polvo-vulgar expressos sob a forma média \pm DP. O símbolo (*) indica diferenças significativas entre 1 a 2 parasitas (Tukey, p -value < 0,05) e o símbolo (#) indica diferenças estatisticamente significativas entre 2 a 3 ou mais parasitas (Tukey, p -value < 0,05)].

De igual modo se procedeu no estudo do comprimento do manto do polvo-vulgar relativamente ao número de parasitas¹¹ *Cystidicola* spp. observado. Uma vez mais foi possível detetar a existência de diferenças estatisticamente significativas (ANOVA, $F_{(2)}=8,82$; p -value = 0,000 < 0,05 – **Figura 4.25.**). Deste modo, os resultados permitiram concluir que tais diferenças se observam quando se comparam as amostras com 2 a 3 ou mais parasitas (Tukey, p -value = 0,000 < 0,05 – **Figura 4.25.**) relativamente a 1 a 2 parasitas (Tukey, p -value = 0,257 > 0,05) e /ou a 1 a 3 ou mais parasitas (Tukey, p -value = 0,055 > 0,05 – **Figura 4.25.**).

11 Quando analisados sob a forma categórica em três classes: 1 parasita; 2 parasitas e 3 ou mais parasitas.

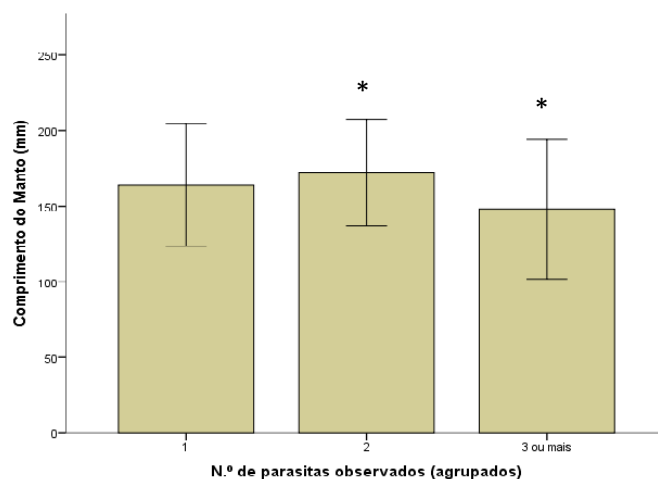


Figura 4.25. Distribuição, pelo número de parasitas observados (agrupados), dos valores do comprimento do manto (mm) do polvo-vulgar expressos sob a forma média \pm DP. O símbolo (*) indica diferenças estatisticamente significativas entre 2 a 3 ou mais parasitas (Tukey, p -value $< 0,05$).

Ao avaliar o efeito que as épocas do ano sobre o tamanho dos parasitas¹² (mm) *Cystidicola* spp., os resultados revelaram a existência de diferenças estatisticamente significativas (Kruskal-Wallis, $X^2_{(2)} = 7,47$; p -value = 0,024 $< 0,05$ – **Figura 4.26.**). Em concreto, o tamanho dos parasitas difere significativamente quando comparados os meses de Outono com os de Verão (Games-Howell, p -value = 0,003 $< 0,05$ – **Figura 4.26.**).

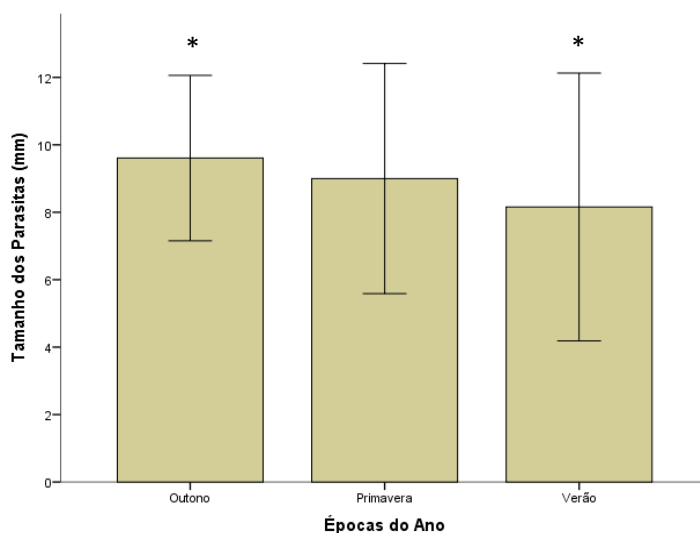


Figura 4.26. Distribuição, pelas épocas do ano, dos valores do tamanho dos parasitas (*Cystidicola* spp.) (mm) expressos sob a forma média \pm DP. O símbolo (*) indica diferenças estatisticamente significativas entre os meses de Outono e Verão (Games-Howell, p -value $< 0,05$).

¹² Quando analisados sob a forma categórica em três classes: 1 parasita; 2 parasitas e 3 ou mais parasitas.

4.5. Análise de risco semi-quantitativa de *Anisakis* sp. no polvo-vulgar

Os resultados obtidos na análise de risco semi-quantitativa de *Anisakis* sp. no polvo-vulgar estão descritos de seguida.

4.5.1. Identificação do perigo

Este estudo teve como objetivo avaliar o perigo de anisaquíase, através da ingestão da larva viável de *Anisakis* sp. que poderá estar presente no polvo-vulgar.

A anisaquíase consiste numa infeção parasitária do tubo digestivo causada pela ingestão de larvas do género *Anisakis* (Kassai *et al.*, 1988). Os sintomas de anisaquíase gástrica ou intestinal surgem quando o nematodo perfura a mucosa gástrica ou intestinal e caracterizam-se por dor abdominal acompanhada de diarreia, náuseas e vómitos, que podem manter-se durante semanas ou anos (infeção crónica) (Audicana e Kennedy, 2008). As consequências nefastas provocadas pela ingestão da larva de *Anisakis* sp. e/ou dos seus antigénios, estão descritas de forma mais pormenorizada no ponto “2.5.1. Nematodos”.

4.5.2. Caracterização do perigo

A dose-resposta, do presente estudo, está descrita no ponto “3.4.5.2. Caracterização do perigo”, onde está mencionado que a dose resposta é constituída por uma larva viva de *Anisakis* sp. no polvo-vulgar, quanto ao perigo de anisaquíase.

4.5.3. Avaliação de exposição

Os dados de consumo resultantes do inquérito e relevantes para o presente estudo estão mencionados na **Figura 4.27.**, assim como os cenários estudados na avaliação da exposição.

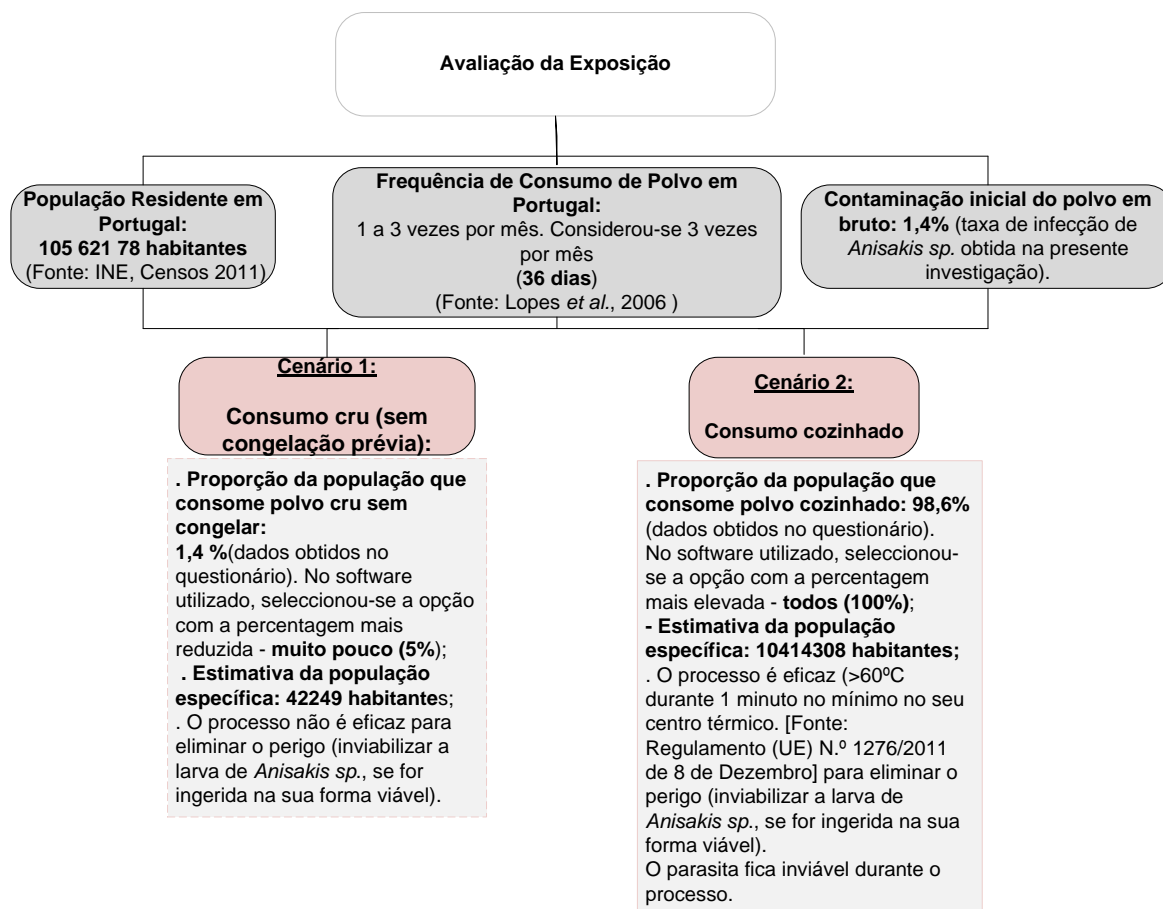


Figura 4.27. Identificação dos cenários estudados para a caracterização do risco de *Anisakis sp.* no polvo-vulgar.

4.5.4. Caracterização do risco

Para a caracterização do risco de *Anisakis sp.* no polvo-vulgar, foram considerados os cenários descritos na avaliação da exposição (ponto 4.5.3.), recorrendo ao *software* “Risk Ranger” versão 2* (Ross, T. e Sumner, J.L. , 2002). Este *software* foi utilizado para estimar uma classificação de risco. Os dados necessários, para responder às questões do *software*¹³, foram obtidos a partir da pesquisa de informação em motores de busca e em sites oficiais, através dos resultados obtidos durante a investigação do presente trabalho, inclusive os resultados obtidos no inquérito por questionário sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal. Os resultados obtidos estão indicados na **Tabela 4.2.**

13 O *software* “Risk Ranger” foi desenvolvido pelo Centro Australiano “Food Safety Centre” e publicado no International Journal of Food Microbiology.

Tabela 4.2. Resultados obtidos na caracterização do risco de *Anisakis* sp. no polvo-vulgar

N.º dos Cenários	Descrição do Cenário	Risco* (Escala 0 – 100)
Cenário 1	Consumo cru (sem confeção e sem congelação)	62
Cenário 2	Consumo cozinhado	0

Analisando os resultados obtidos nos dois cenários estudados para a caracterização do risco de *Anisakis* sp. no polvo-vulgar (somente para o perigo de anisakiase) (**Tabela 4.3.**), é possível verificar que o risco é reduzido se consumirem cozinhado (> 60°C durante pelo menos um minuto). Contudo, o risco é considerável se consumirem o polvo-vulgar cru (sem congelação prévia).

5. DISCUSSÃO

5. Discussão

Em cumprimento da legislação em vigor, os operadores das empresas do setor alimentar têm a responsabilidade de efetuar os seus próprios controlos em todas as fases da produção de produtos da pesca (parte D do capítulo V da secção VIII do anexo III do Regulamento (CE) n.º 853/2004), para garantir que não haja colocação no mercado de produtos da pesca obviamente contaminados por parasitas (Regulamento (CE) N.º 2074/2005 de 5 de Dezembro). Neste sentido, existem métodos regulamentados para avaliar a presença de parasitas nos produtos da pesca, nomeadamente a inspeção visual e transiluminação (Regulamento (CE) N.º 2074/2005 de 5 de Dezembro). Para além destes métodos regulamentados, podem ser utilizados outros, como o exame destrutivo, prensagem, observação com luz ultravioleta (Karl e Leinemann, 1993), espectrofotometria (Heia *et al.*, 2007), digestão peptídica e técnicas moleculares (PCR-RFLP, região ITS-1) (Espíneira *et al.*, 2010). No setor da indústria, são utilizados os métodos de inspeção visual e transiluminação. Estes métodos são eficazes na deteção de pelo menos 75,5% das larvas de *Anisakis* presentes na musculatura abdominal, no entanto detetam apenas cerca de 33,3% *Anisakis* em filetes de bacalhau (Petrie *et al.*, 2007). O processo de transiluminação é menos eficaz a detetar *Anisakis* (EFSA, 2010). Numa comparação entre métodos de deteção progressivamente mais precisos, mais especificamente o processo de transiluminação, degradação enzimática e radiação ultravioleta, utilizados na observação de filetes, foi demonstrado que apenas 7 a 10% das larvas eram detetadas por transiluminação (Levsen *et al.*, 2005).

Neste estudo, todas as amostras foram adquiridas num local de venda ao público. De acordo com o Regulamento (CE) N.º 852/2004 de 29 de Abril, os operadores do setor alimentar devem realizar um controlo de parasitas que deve ser iniciado na receção, através da não aceitação de matérias-primas que apresentem ou que se possa razoavelmente esperar que apresentem contaminação por parasitas (item n.º 1 do Capítulo IX do Regulamento (CE) N.º 852/2004 de 29 de Abril), pelo que devem instituir procedimentos adequados para efetuarem esse controlo (item n.º 4 do Capítulo IX do Regulamento (CE) N.º 852/2004 de 29 de Abril). Neste sentido, deve ser efetuada uma inspeção visual num número representativo de amostras (Regulamento (CE) N.º 2074/2005 de 5 de Dezembro). Todos os parasitas identificados foram detetados através da transiluminação, apresentando uma prevalência, intensidade e abundância baixa. Foi necessário efetuar cortes em algumas estruturas do sistema digestivo para facilitar a sua inspeção visual e transiluminação, uma vez que apresentavam uma espessura

significativa (e.g., o estômago e o cecum), o que dificultava a sua visualização. Os parasitas detetados (nematodos: *Anisakis* sp. (1,4%), *Cystidicola* sp. (17,86%) e céstodo: *Trypanorhyncha* sp. (0,71%)) foram identificados até ao género através das suas características morfológicas observáveis por microscopia ótica. Para se identificar as espécies dos nematodos observados, seria necessário efetuar estudos de genética molecular. Não foram observados parasitas em 80% das amostras de polvo-vulgar analisadas, o que evidencia a baixa prevalência de parasitas obtidos. Todos os parasitas recolhidos apresentavam-se viáveis, podendo causar infeção no consumidor final. A maioria dos parasitas identificados, foram observados no sistema digestivo do polvo-vulgar (gónadas, ceco, estômago, esófago, intestinos, exterior da glândula digestiva). Desta forma, caso o polvo-vulgar fosse eviscerado, o risco, da larva ser ingerida pelo consumidor final, seria reduzido.

A primeira referência de cefalópodes como hospedeiros de transporte, está descrita por Pascoal *et al.* (1996), num estudo efetuado em Espanha nas águas de Galiza (Norte do Oceano Atlântico Sudeste). Estudaram a presença de parasitas em 1576 cefalópodes selvagens (chocos, lulas e polvos) de dez espécies de três ordens (*Sepioidea*, *Teuthoidea*, *Octopoda*). Os resultados revelaram a presença de protozoários (coccídeos, ciliados, mesozoários) e metazoários (*Phyllobothriidae*, *Tentaculariidae*, *Cystidicolidae*, *Anisakidae*, *Lichomolgidae*, *Pennellidae*). Foram encontradas larvas L3 de *Anisakis* enquistadas no tubo digestivo e gónadas de lulas, também foram observadas larvas de *Cystidicola* sp. no estômago de polvo-vulgar e céstodos de *Trypanorhyncha* sp. de *Tentaculariidae* no tubo digestivo de lulas. Em 2003, foi realizado um novo estudo, que incidiu nas mesmas espécies de cefalópodes (González *et al.*, 2003). Nos cefalópodes, as larvas L3 de *Anisakis* foram observadas livres na cavidade abdominal e enquistadas no estômago, manto, gónadas e mesentério. No polvo-vulgar, *Octopus vulgaris*, foram observados nematodos *Anisakis simplex sensu strictum* e *Cystidicola* sp., assim como o céstodo *Scolex pleuronectis* (*Trypanorhyncha* sp.). A taxa de infeção parasitária foi baixa para todos os cefalópodes em estudo. Foi verificado que a variedade das espécies de parasitas diferiu com as características do ciclo de vida das espécies de cefalópodes (tais como, o comprimento do manto, fecundidade, entre outros) (González *et al.*, 2003). Em ambos os estudos, foi obtida uma taxa de infeção parasitária baixa.

Neste estudo, verificou-se que o polvo desempenhou o papel de hospedeiro de transporte dos parasitas. Presume-se que o polvo seja infetado através do consumo de crustáceos, hospedeiros intermediários do parasita.

No presente estudo, verificou-se que o comprimento do manto aumenta 0,04 mm por cada unidade de peso que o polvo-vulgar aumente, em todas as épocas do ano em que o polvo-vulgar analisado foi capturado, mas de forma mais acentuada na Primavera. Também foi evidenciado que o comprimento do manto do polvo-vulgar apresenta diferenças significativas quando comparado o Verão com o Outono, assim como o seu peso apresentou diferenças significativas entre o Verão e Outono e o Verão e Inverno. Isto poderá estar relacionado com o ciclo de vida do polvo-vulgar, que estando numa fase de crescimento pode aumentar 4 a 8% da sua massa corporal por dia, abrandando até aos 0,5% na altura da maturação sexual (Rosa e Reis, 2005).

Em relação aos parasitas *Cystidicola* spp., identificados nas amostras de polvo-vulgar analisadas, verificou-se que existia uma associação significativa entre o sexo dos polvos analisados e o número de parasitas observados. Os polvos-fêmea correspondem aos polvos com um maior número de parasitas observados (2 parasitas, 3 ou mais). Constatou-se também que o comprimento do manto do polvo-vulgar (mm) influencia no número de parasitas observados, assim como o seu peso (g). Foi também possível verificar que o tamanho dos parasitas difere significativamente quando comparados os meses de Outono com os de Verão, resultados semelhantes aos obtidos na análise da associação do comprimento do manto (mm) e as épocas do ano em que foram capturados os polvos, assim como no estudo da relação entre o peso (g) do polvo-vulgar e as épocas do ano em que foi capturado.

Foram analisados os hábitos de consumo de polvo-vulgar em Portugal, inclusive Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira, de forma a avaliar se os consumidores adotavam práticas que prevenissem o consumo de polvo-vulgar contendo larvas de *Anisakis* sp. viáveis, bem como se eram aplicadas medidas que inviabilizavam a larva (como por exemplo, uma congelação eficaz ou consumir o produto cozinhado antes de ser ingerido). A opção das duas modalidades utilizadas (papel e *online*) justifica-se pela possibilidade de se quantificar um conjunto significativo de dados, e de se proceder a análises de correlação entre os mesmos (Quivy e Campenhoudt, 1998). A decisão de recorrer à sua aplicação em modalidade também *online* incidiu no facto de se tratar de uma dimensão populacional numerosa e que se encontra dispersa geograficamente. Salienta-se igualmente que também o facto de diversos *softwares* utilizados ao nível da inquirição *online* permitirem recolher e armazenar uma grande quantidade de dados (assim como facultarem a sua exportação para outros *softwares* de análise estatística),

contribui amplamente para uma maior facilidade de análise de informação recolhida (Murthy, 2008). Deste modo, a decisão tomada contribuiu para uma economia de recursos, financeiros, materiais e temporais. Pretendeu-se também que o questionário fosse simples e realista, de forma a promover a cooperação dos inquiridos. A aplicação ideal do questionário consistiria na sua realização de forma presencial ou através de o envio de um *email* personalizado com a hiperligação. No entanto, tal mostrou-se inexequível, dada a elevada dimensão da amostra, assim como a sua dispersão geográfica (implicando elevados recursos materiais e financeiros, tal como já foi referido anteriormente). A aplicação do questionário foi efetuada com a consciência das restrições associadas ao procedimento aplicado. Contudo, é previsível, e dado as características da população em análise, que o risco de múltiplas respostas pelo mesmo indivíduo tenha um carácter residual.

Quanto à constituição do agregado familiar, verificou-se que todos os indivíduos que o compõem (que pode ser constituído por crianças, adultos, grávidas e idosos) costumam consumir polvo-vulgar (48,5%). Estes resultados podem estar relacionados com o facto do polvo-vulgar ser um alimento nutritivo, podendo ser consumido em todas as idades, para além do facto de, geralmente, ser preparada apenas uma refeição para ser consumida por toda a família.

Relativamente aos consumidores inquiridos que compram polvo-vulgar fresco, verificou-se que costumam adquiri-lo quer como polvo inteiro quer como polvo limpo. A aquisição de polvo-vulgar limpo, poderá constituir uma medida preventiva da migração dos parasitas, uma vez que a maior parte dos parasitas foram observados nos órgãos que compõem o sistema digestivo do polvo-vulgar.

Foi possível verificar que os inquiridos costumam comprar polvo congelado (46,7%) e, que os consumidores que compram polvo-vulgar fresco, costumam congelá-lo durante um período superior a uma semana (19,2% do total dos consumidores inquiridos). Para além deste facto, 98,6% dos consumidores inquiridos cozinham o polvo antes de o consumir.

Na análise da relação entre a forma como costumam adquirir o polvo-vulgar fresco (inteiro/limpo) e o equipamento onde o costumam congelar, foi possível constatar que existe uma dependência estatisticamente significativa entre estas duas variáveis, demonstrando que, tanto os consumidores inquiridos que adquirem polvo-vulgar inteiro

como os que adquirem fresco, costumam congelar antes de o consumir. Os consumidores costumam congelar o polvo-vulgar pelo efeito na sua textura, uma vez que o torna mais macio, e não pela medida preventiva para a destruição da larva de *Anisakis* sp. A congelação e o armazenamento a temperaturas de congelação pode contribuir para a diminuição da solubilidade da proteína, resultando numa textura com menos resistência e mais desidratada. Os compostos de oxidação lipídica estão envolvidos nestas alterações à medida que interagem com as proteínas e conduzem à sua desnaturação (Kolbe e Kramer, 2007). Na congelação doméstica, como ocorre uma congelação lenta, também pode contribuir para a desnaturação das proteínas. Esta desnaturação depende da temperatura, da concentração de enzimas e de outros compostos presentes. Assim, como a água é congelada de dentro para fora na forma de cristais de gelo puros, a maior concentração de compostos na porção descongelada vai resultar num aumento da taxa de desnaturação (FAO, 1994).

Foi analisada a relação entre o equipamento, onde os consumidores costumam congelar o polvo-vulgar fresco, e o período de tempo que permanece em congelação, embora esta obrigação seja somente aplicável na indústria, pelo que não é obrigatório no comércio a retalho ou no consumo final. Geralmente, os frigoríficos domésticos não têm sistemas rápidos de congelação. A temperatura mínima obtida depende do número de estrelas dos equipamentos. Desta forma, os frigoríficos de 1(*) e 2 (**) estrelas podem atingir uma temperatura mínima de -6°C e -12°C, respetivamente. No entanto, os frigoríficos de 3 (***) estrelas, os frigoríficos congeladores de 4 estrelas *(***), os congeladores verticais e os congeladores tipo arca, atingem temperaturas inferiores a -18°C (AESAN, 2007). Foi possível constatar que os resultados mais significativos indicaram que costumam congelar nos congeladores tipo arca por um período de tempo superior a uma semana. Como os congeladores tipo arca têm 4 estrelas *(***), atingem temperaturas inferiores a -18°C (AESAN, 2007), o que significa que é adotada uma prática que pode inviabilizar a larva de *Anisakis* sp. Os consumidores inquiridos também indicaram que congelam no congelador do frigorífico ou no congelador tipo arca por um período superior a uma semana. De acordo com o Regulamento (UE) N.º 1276/2011, se os produtos da pesca congelados forem preservados durante um período suficientemente longo para eliminar os parasitas viáveis, não é necessário que realizem o tratamento por congelação. Desta forma, se os consumidores inquiridos armazenarem o polvo-vulgar congelado por um período suficientemente longo, não necessitam de cumprir com os binómios de tempo/temperatura, acima mencionados, para inviabilizar a larva viável de *Anisakis* sp. Contudo, não está estipulado o período de tempo que compreende esse

“período suficientemente longo”. Por último, com resultados menos significativos comparativamente com os restantes, os consumidores inquiridos mencionaram que congelam o polvo-vulgar nos congeladores tipo arca ($< -18^{\circ}\text{C}$) por um período superior a 24 horas e inferior a uma semana. Neste caso, não é possível saber se a congelação é eficaz, uma vez que não se sabe se o equipamento atinge os -20°C durante 24 horas, nem se sabe o comportamento do produto relativamente ao período de tempo que demora a alcançar os -20°C no centro térmico do produto. Também não se sabe qual o período de tempo exato em que o produto permaneceu no equipamento de congelação (sabe-se que foi mais de 1 dia e inferior a 7 dias). Desta forma, a congelação efetuada nos equipamentos domésticos poderá não ser suficiente para inviabilizar os parasitas se não forem salvaguardadas as condições supracitadas na legislação vigente. Em relação aos consumidores inquiridos que indicaram que consomem polvo-vulgar fresco mas que não congelam, foi possível verificar que o costuma consumir o cozinhado.

Para a indústria, o tratamento por congelação tem de consistir na redução da temperatura em todas as partes do produto, no mínimo, até -20°C durante, pelo menos, 24 horas ou -35°C durante, no mínimo, 15 horas (Regulamento (UE) N.º 1276/2011 de 8 de Dezembro). Desta forma, trata-se de uma congelação mais rápida num período de tempo mais reduzido, o que poderá estar relacionado com o facto de terem equipamentos mais sofisticados e potentes que não são comparáveis com os equipamentos de congelação domésticos. Para além desta situação, durante o transporte de produtos congelados e ultracongelados e durante a sua permanência nos expositores de venda, há tolerância para temperaturas superiores a -18°C , as quais estão previstas no Decreto-Lei N.º 37/2004 de 26 de Fevereiro (retificado pela Declaração de Retificação n.º 35/2004). Desta forma, no transporte há uma tolerância de 3°C e, nos expositores de venda, permite-se uma tolerância de 6°C . Porém, os produtos congelados e ultracongelados provenientes da indústria devem obedecer ao tratamento por congelação conforme o Regulamento (UE) N.º 1276/2011 de 8 de Dezembro. Assim, antes de serem transportados e colocados nos expositores de venda, os produtos da pesca congelados e ultracongelados já deverão ter tido uma congelação eficaz para inviabilizar as larvas viáveis de parasitas, antes de colocarem o produto no mercado, relativamente aos produtos previstos de acordo com este regulamento.

Foi possível verificar que existe uma dependência estatisticamente significativa entre o distrito e o local onde os consumidores costumam adquirir o polvo-vulgar. No entanto, constatou-se que em todos os distritos foi mencionado o comércio a retalho. O facto dos

consumidores inquiridos adquirirem polvo-vulgar no comércio a retalho, e existindo muitos pontos de venda por todo o país da grande distribuição, de Norte a Sul do país (inclusive em zonas mais interiores), pode ter contribuído para a facilidade de aquisição de polvo-vulgar. Quanto à aquisição de polvo-vulgar diretamente ao pescador, foi obtida uma percentagem reduzida de consumidores inquiridos que selecionaram essa opção. Os resultados mais significativos foram obtidos em distritos/Região Autónomas situados em zonas litorais, como foi o caso dos Açores e de Faro. O facto da maioria dos consumidores adquirir polvo-vulgar no comércio a retalho, poderá constituir numa medida de prevenção da aquisição de produtos obviamente parasitados, uma vez que deverá existir um controlo dos parasitas visíveis ao longo da cadeia alimentar. Este controlo incide na obtenção de produtos da pesca em zonas pesqueiras aprovadas. A DGAV tem promovido uma sensibilização junto dos pescadores ao nível da formação em boas práticas de higiene, tendo sido distribuído um folheto designado por “Boas Práticas de Higiene a Bordo das Embarcações” (Anexo 3). Neste folheto é abordada a temática dos parasitas nos produtos da pesca (parasitas externos e internos), sendo mencionado o caso de *Anisakis simplex* no pescado e as obrigações dos operadores para prevenir a comercialização de pescado parasitado (rejeitar pescado manifestamente parasitado, fígado, ovas e outras vísceras manifestamente parasitadas) (DGAV, 2012). Na receção, desde a indústria ao retalho, também deverá existir um controlo visual de ausência de parasitas visíveis nos produtos da pesca. Desta forma, os produtos da pesca são controlados em vários pontos da cadeia alimentar antes de chegar ao consumidor final. No comércio a retalho também existe facilidade na aquisição de polvo limpo por parte do consumidor, solicitando a sua evisceração no momento da compra. No entanto, se o polvo-vulgar é proveniente de pesca desportiva ou adquirido através da compra direta ao pescador, acarreta um risco acrescido, na medida em que tanto o pescador como o próprio consumidor, podem não ter conhecimento do risco parasitário que poderá estar presente no produto, não havendo a obrigatoriedade de controlo parasitário, que existe nos estabelecimentos que armazenam/manipulam produtos da pesca.

Foi observada uma dependência estaticamente significativa entre o “distrito de residência” e “as épocas do ano em que se consome polvo-vulgar”. Contudo, na maioria dos distritos, foi possível observar que era indiferente a época do ano. No entanto, verificou-se que nalguns distritos do Norte do país, incidia no Natal, como é o caso do distrito de Vila Real e, no Natal e Inverno, como é o caso do distrito de Bragança e Guarda. Isto deve-se à tradição de consumir polvo-vulgar na ceia de Natal. Em relação ao consumo de polvo-vulgar durante o Verão, foi possível constatar que está a tornar-se

um hábito de consumo não só dos distritos litorais, como também já se começa a observar nalguns distritos que não pertencem ao litoral, como foi o caso de Santarém e Beja. Presume-se que este facto é devido à acessibilidade de polvo-vulgar que existe atualmente, assim como a variedade de pratos onde poderá ser utilizado como ingrediente, existindo “pratos” característicos da gastronomia de Portugal, como por exemplo, Polvo à Lagareiro, Arroz de Polvo, Salada de Polvo, entre outros. A maior parte dos consumidores inquiridos, indicaram que tinham facilidade em adquirir polvo-vulgar (fresco/congelado). Este facto está em concordância com os dados da Balança Alimentar correspondentes ao período entre 2003 e 2008, em que houve um aumento de 15% das disponibilidades diárias *per capita* de pescado, resultando no aumento em 21% das disponibilidades para consumo de peixe e de 26% para os crustáceos e moluscos (Instituto Nacional de Estatística, 2010)

Foi caracterizado o risco de ingestão de *Anisakis sp.* no polvo-vulgar, através da utilização do *software* “Risk Ranger”. É de referir que o *software* utilizado não é específico para análise de parasitas. Contudo, este *software* permitiu analisar o risco de ingestão de *Anisakis sp.*, pelo consumidor final, considerando o perigo de infeção (anisaquíase). Há falta de modelos de avaliação de risco quantitativa para parasitas em produtos da pesca. Neste sentido, este estudo consistiu num contributo para uma avaliação de risco qualitativa, com o intuito de se verificar se há necessidade de se aprofundar o presente estudo. Constatou-se que a maior parte dos inquiridos cozinha o polvo-vulgar antes de o consumir, sendo suficiente para inviabilizar a larva, uma vez que a confeção de polvo-vulgar é superior a 1 minuto a 60°C. Posto isto, foi possível verificar que o risco é reduzido se consumirem polvo-vulgar cozinhado (> 60°C durante pelo menos um minuto) (Regulamento (UE) n.º 1276/2011 de 8 de Dezembro).

Os autores Sumner e Ross (2002) realizaram uma análise de risco semi-quantitativa dos produtos da pesca utilizando uma escala de 0 a 100, onde 0 não representa nenhum risco e 100 representa que o alimento contém a dose letal do perigo. Neste estudo, consideraram que os parasitas, de uma forma genérica, presentes em *sushi/sashimi* representavam um risco de 31. Este valor é inferior ao que foi obtido na avaliação do consumo de polvo-vulgar cru sem congelação prévia, apesar desta análise ter sido direcionada especificamente para a identificação de *Anisakis sp.*. Contudo, obteve-se um valor baixo para o cenário que considerava uma confeção eficaz para inviabilizar a larva viável de *Anisakis sp.* (para o perigo de anisaquíase). Isto pode estar relacionado com o facto de terem efetuado um estudo abrangente e não ser específico para o género

Anisakis sp., em particular para a espécie *Anisakis simplex*, que é a única espécie conhecida por provocar reações alérgicas de hipersensibilidade (EFSA, 2010), para além do facto de Sumner e Ross (2002) não terem identificado os parasitas que foram considerados para a atribuição da escala de risco.

Têm sido efetuados alguns estudos sobre outras formas de tratamento para inativar a larva viável de *Anisakis simplex* em produtos da pesca (em peixes). De acordo com dados disponibilizados pela EFSA, a aplicação do tratamento por alta pressão hidrostática é eficaz na destruição da larva de *A. simplex* quando aplicada uma dosagem de 200 MPA durante 10 minutos entre 0 e 15°C. Contudo, este tratamento não está contemplado na legislação vigente. Relativamente ao tratamento por irradiação, foi verificado que a larva de *A. simplex* é resistente a doses elevadas de irradiação, pelo que este tratamento não é eficaz na sua inviabilização. Os métodos tradicionais de fumagem e de marinar os produtos da pesca não inviabilizam a larva viável de *A. simplex* (EFSA, 2010). Quanto à sobrevivência da larva de *Anisakis simplex* nos produtos da pesca frescos refrigerados e embalados em atmosfera modificada com CO₂, verificou-se também que este tipo de tratamento não é eficaz na destruição da larva viável de *Anisakis simplex* (Pascual, *et al.*, 2010). Em relação ao tratamento por descarga elétrica, embora tenha sido patenteado como eficaz na inativação da larva viável de *A. simplex* (ES 2 213 486 B1) em Espanha em 2005, não se pode considerar que o tratamento é eficaz na inviabilização da larva, uma vez que não existem dados suficientes para aprovar a eficácia deste método. Quanto ao tratamento por secagem, não existem estudos que comprovem a sua eficácia na inativação da larva de *A. simplex* (EFSA, 2010).

As diferentes formas de alergia de *A. simplex* são comuns em algumas regiões em Espanha, mas raramente são descritas noutras partes da Europa (EFSA, 2010). Num estudo efetuado em Portugal sobre alergia ao *Anisakis simplex* na população portuguesa do Barlavento algarvio, verificou-se uma percentagem reduzida de indivíduos com presença de anticorpos anti-*Anisakis*, o que indicia o contacto prévio com o parasita (Nunes *et al.*, 2003).

Este trabalho consistiu no primeiro estudo efetuado em Portugal sobre a pesquisa de *Anisakis* sp. em cefalópodes, neste caso no polvo-vulgar capturado na costa portuguesa, mais especificamente no Atlântico Nordeste (FAO n.º 27) na zona definida da costa portuguesa.

No presente trabalho, obteve-se uma taxa de infeção baixa dos parasitas observados no polvo-vulgar (*Anisakis* sp., *Cystidicola* sp. e *Trypanorhyncha* sp.). Também se verificou que os consumidores costumam adotar práticas que os protegem da possibilidade de existir o risco parasitário no polvo-vulgar, através da aquisição de polvo congelado, aliado ao facto de adquirem no comércio a retalho, e também pelo hábito da confeção antes do consumo. Estes tratamentos tecnológicos inviabilizam a larva de *Anisakis* sp. no produto, no entanto, poderá permanecer o risco do produto conter antigénios termorresistentes (e.g., Anis 4 e Anis 10), podendo provocar uma reação alérgica nos consumidores (Vidacek *et al.*, 2009, 2010; López *et al.*, 2005; Caballero *et al.*, 2011) desde urticária até choque anafilático (Audicana *et al.*, 2002).

Desta forma, a prevenção da sensibilização de *A. simplex* deve focar-se na prevenção da infeção (EFSA, 2010) ao longo de toda a cadeia alimentar, desde a produção primária (proveniente de zonas pesqueiras autorizadas), manipulação a bordo ou em terra (rápida evisceração e lavagem da cavidade abdominal) e nos vários estabelecimentos do setor alimentar (que deverão definir um plano de amostragem para controlar os parasitas visíveis durante a receção e evisceração do produto). Nos casos aplicáveis, deve ser efetuado o tratamento por congelação de acordo com o Regulamento (UE) N.º 1276/2011, evitando a colocação no mercado de produto infestado com parasitas. No caso de produtos da pesca infestados sem tratamento tecnológico para inviabilizar a larva de *Anisakis* spp., é fundamental que seja realizada a remoção dos parasitas presentes no produto (Audicana *et al.*, 2002).

6. CONCLUSÕES GERAIS E PERSPETIVAS FUTURAS

6. Conclusão e perspectivas futuras

Neste estudo foi possível verificar que o polvo-vulgar, proveniente da zona de captura analisada (Atlântico Nordeste, FAO n.º 27), é hospedeiro de transporte de alguns parasitas, nomeadamente de nematodos, entre eles, *Anisakis* sp. (taxa de infeção de 1,4%), tendo sido identificados apenas dois exemplares desta espécie, e *Cystidicola* sp. (taxa de infeção de 17,9 %) e de um céstodo, *Trypanorhyncha* sp. (taxa de infeção inferior a 1%). A prevalência e intensidade das espécies supracitadas foram reduzidas nas amostras de polvo-vulgar analisadas.

Os consumidores têm práticas de consumo que podem inviabilizar as larvas viáveis: compram polvo-vulgar congelado e, quando compram polvo-vulgar fresco, é congelado por um período superior a uma semana. Os consumidores também cozinham o polvo (98,6%) antes de ser consumido.

Os resultados laboratoriais permitiram concluir que o polvo-vulgar, capturado nesta zona definida da costa portuguesa, apresenta uma baixa taxa de infeção, o que aliado ao facto dos consumidores adotarem medidas que inviabilizam os eventuais parasitas presentes no polvo-vulgar, diminui o risco de infeção parasitária. Este facto traduz-se em excelentes resultados na promoção do consumo deste produto da pesca.

O estudo pode ser alargado a outras espécies de cefalópodes, como por exemplo choco e lula, para averiguar a sua importância como hospedeiros de transporte no ciclo de vida de *A. simplex* na Costa Portuguesa.

Tendo em conta a percentagem, embora reduzida, dos consumidores inquiridos que compram polvo-vulgar fresco, que não congelam nem submetem a tratamento térmico (1,4%), sugere-se a promoção de ações de consciencialização e formação sobre o risco associado ao consumo de produtos da pesca nas condições acima referidas. Estas ações de consciencialização e formação deveriam ocorrer ao longo de toda a cadeia alimentar, desde a produção primária, como a sensibilização dos pescadores, quer para operadores do setor alimentar a nível industrial até ao comércio a retalho. A divulgação das temperaturas de congelação e medidas preventivas, já referidas, devem ser divulgadas pelos consumidores, junto dos pontos de venda e pelos Técnicos HACCP responsáveis pelas instruções de trabalho neste setor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Medidas para reducir el riesgo asociado a la presencia de *Anisakis*. Revista del Comité Científico de la AESAN, 6, 59-65.

Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Incidencia de la eliminación del pescado o partes del mismo en relación con la reducción de la prevalencia de la anisakiosis humana. Revista del Comité Científico de la AESAN, 10, 19-25.

Altekruse, S.F., Cohen, M.L., Swerdlow, D.L. 1997. The future of foodborne diseases. *Emerg. Infect. Dis.* 3:285.

Añíbarro, B., Seoane, F.J. (1998). Occupational conjunctivitis caused by sensitization to *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*, 102, 331-332.

Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (2013). [Em linha]. Disponível em <http://www.asae.pt/> [Consultado em 20/05/2013].

Audicana, M.T., Fernández de Corres, L., Muñoz, D., Fernández, E., Navarro, J.A., Pozo, M.D. (1995). Recurrent anaphylaxis caused by *Anisakis simplex* parasitizing fish. *J Allergy Clin Immunol*, 96, 558-560.

Audicana, M.T., Ansotegui, I.J., de Corres, L.F., Kennedy, M.W. (2002). *Anisakis simplex*: dangerous – dead and alive? *Trends Parasitol*, 18, 20-25.

Audicana, M.T., Kennedy, M.W. (2008). *Anisakis simplex*: from Obscure Infectious Worm to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clin Microbiol Rev*, 2, 360-379.

Armentia, A., Lombardero, M., Callejo, A., Martín Santos, J.M., Martín Gil, F.J., Vega, J., Arranz, M.L., Martínez, C. (1998). Occupational asthma by *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*, 102, 831-834.

Bandarra, N. M., Calhau, M.A., Oliveira, L., Ramos, M., Da Graça Dias, M., Bártolo, H., Faria, M. R., Fonseca, M.C., Gonçalves, J., Batista, I., Nunes, M. L (2004). *Composição e Valor Nutricional dos Produtos da Pesca mais consumidos em Portugal*, n.º 11, Lisboa, Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas.

Berland, B. (1961). Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia*, 2, 1-50.

Bernardo, F., Martins, H. (1997). *O Pescado na Alimentação Portuguesa*, 2.º Edição, Lisboa, Instituto Nacional de Formação Turística.

Bouree, P., Paugam, A., Petithory, J.C. (1995), Anisakidosis: report of 25 cases and review of the literature. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 18, 75-84.

Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W.,(1997). Parasitology Meets Ecology on its Own Terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol*, 83 (4), p. 575-583.

Caballero, M.L., Umpierrez, A., Moneo, I. Rodríguez-Perez, R. (2011). Anis 10, a new *Anisakis simplex* allergen: Cloning and heterologous expresión. *Parasitology Internacional*, 60, 209-212.

Caddy, J.F., Rodhouse, P.G., 1998. Cephalopod and groundfish landings: evidence for ecological chance in global fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 8, pp. 431 – 444.

Campillo, M., Vázquez, F., Fernández, A., Acedo, C., Rodríguez, S., López-Cozar, I., Baños, P., Romero, H., Varela, M. (2001). *Parasitología Veterinaria*. Madrid: McGraw-Hill.

CAST. 1994. Foodborne pathogens: risk and consequences. Ames, Iowa, USA, Council for Agricultural Science and Technology. Task Force Report No. 122.

CAST. 1998. Foodborne pathogens: review of recommendations. Special Report No. 22. Ames, Iowa, USA, Council for Agricultural Science and Technology.

Chaligiannis, I., Lalle, M., Pozio, E. & Sotiraki, S. (2012). *Anisakidae* infection in fish of the Aegean Sea. *Veterinary Parasitology*, 184: 362-366.

Codex Alimentarius Commission, 1999. Principles and guidelines for the conduct of a microbiological risk assessment. FAO, Rome, CAC / GL – 30.

Codex Alimentarius Commission, 2011. Guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance. CAC / GL – 77

Comissão Europeia. [Em linha]. Disponível em <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/index.cfm?event=searchResultList> [Consultado em 20/08/2013].

Cuende, E., Audicana, M.T., Garcia, M., Anda, M., Fernandez Corres, L., Jimenez, C. , Vesga, J.C. (1998). Rheumatic manifestations in the course of anaphylaxis caused by *Anisakis simplex*. *Clin Exp Rheumatol*, 16, 303-304.

Daschner, A., Alonso-Gómez, A., Cabañas, R., Suarez-de-Parga, M.L., López-Serrano, M.C. (2000). Gastroallergic anisakiasis: Bordline between food allergy and parasitic disease-Clinical and allergologic evaluation of 20 patients with confirmed acute parasitism by *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*, 105, 176-181.

Declaração de Rectificação N.º 35/2004. Rectifica o Decreto-lei n.º 37/2004. *Diário da República n.º 96*, Série I-A de 2004-04-23.

Decreto-Lei N.º 37/2004. Estabelece condições a que deve obedecer a comercialização dos produtos da pesca e aquicultura congelados, ultracongelados e descongelados. *Diário da República n.º 48*, Série I-A de 2004-02-26.

Decreto-Lei N.º 111/2006. Transpõe para a ordem jurídica nacional a Directiva n.º 2004/41/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de Abril, que revoga legislação relativa à higiene dos géneros alimentícios e às regras aplicáveis à produção e à comercialização de determinados produtos de origem animal destinados ao consumo humano, e altera as Portarias n.ºs 492/95, de 23 de Maio, e 576/93, de 4 de Junho. *Diário da República n.º 112*, Série I-A de 2006-06-09.

Decreto Regulamentar N.º 7/2000. Altera o Decreto Regulamentar n.º 43/87, de 17 de Julho, estabelecendo as medidas nacionais dos recursos vivos aplicáveis ao exercício da pesca em águas sob soberania e jurisdição nacional. *Diário da República n.º 125*, Série I-B de 2000-05-30.

González, A.F., Pascual, S., Gestal, C., Abollo, E., Guerra, A. (2003) What makes a cephalopod a suitable host for parasite? The case of Galician waters. *Fisheries Research* 60: 177-183 .

Del Rey Moreno, A., Valero, A., Mayorga, C., Gómez, B., Torres, M.J., Hernández, J., Ortiz, M., Maldonado, J.L. (2006). Sensitization to *Anisakis simplex* s.l. in a healthy population. *Acta Tropica*, 97, 265-269.

Direção-Geral de Alimentação e Veterinária. *Boas práticas de higiene a bordo das embarcações: Parasitas nos produtos da pesca*. [desdobrável] Corpo de Inspeção Sanitária da Lota de Peniche: Direção-geral de Alimentação e Veterinária, 2012.

Direcção-Geral das Pescas e Aquicultura (2007). [Em linha]. Disponível em http://ec.europa.eu/fisheries/cfp/eff/national_plans/list_of_national_strategic_plans/portugal_pt.pdf [Consultado em 22/02/2013].

Docapesca (2013). [Em linha]. Disponível em <http://www.docapesca.pt/pt/estatisticas/mensais.html> [Consultado em 03/07/2013]

EFSA (2010). Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products. EFSA Journal, 8, 1543. (91pp).

Espiñeira, M., Herrero, B., Vieites, J.M., Santaclara, F.J. (2010). Detection and identification of anisakids in seafood by fragment length polymorphism analysis and PCR-RFLP of ITS-1 region. Food Control, 21, 1051-1060.

FAO / WHO, 1995. Application of risk analysis to food standards issues. Report of the Joint FAO / WHO Expert Consultation. WHO, Geneva. WHO / FNU / FOS / 95.3.

Fernandes, P., (2012), Consumo de pescado em Portugal. Autoridade de Segurança Alimentar [Ed.]. N.º 4. *Riscos e Alimentos*. pp. 4 – 6.

Fischer, G. (1798). Sur un nouveau genre de vers intestins, *Cystidicola farionis*, suivi de quelques remarques sur les milieux dans lesquels les vers intestins vivent. J. Phys. Chim. Hist. Nat. Paris 4: 304 – 309.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (1994). [Em linha]. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/003/v3630e/v3630e00.HTM> [Consultado em 20/07/2013]

Food and Agriculture Organization of the United Nations (2004). [Em linha]. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y4722e/y4722e00.pdf> [Consultado em 20/07/2013]

Food and Agriculture Organization of the United Nations (2005). [Em linha]. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/009/a0238e/a0238e00.HTM> [Consultado em 20/07/2013]

Food and Agriculture Organization of the United Nations (2013a). [Em linha]. Disponível em: http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/FB/*/E [Consultado em 09/07/2013].

Food and Agriculture Organization of the United Nations (2013b). [Em linha]. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/species/3571/en> [Consultado em 14/11/2012].

Franca, M.L.P., Martins, R., Carneiro, M. (1998). *A pesca artesanal local na costa continental portuguesa*. Instituto de Investigação das Pescas e do Mar. 236 p.

Guerra, A. 1982. "Reflexiones sobre la distribución geográfica de *Octopus vulgaris* (Cephalopoda: Octopoda)". IV Congreso Nacional de Malacología, Gijón. pp. 11-13. Daschner, A., Alonso-Gómez, A., Mora, C., Moreno-Ancillo, R., Villanueva, R. e López-Serrano, M.C. (1997). Anisakiasis gastro-alérgica con parasitación masiva. Rev Esp Alergol Immunol Clín, 12, 370-372.

Gómez Sáenz, J.T., Gérez Callejas, M.J., Zangróniz Uruñuela, M.R., Muro Ovejas, .E, González, J.J. , García Palacios, M.J. (1999). Reacciones de hipersensibilidad y manifestaciones digestivas producidas pela ingestión de pescado parasitado por *Anisakis simplex*. *Semergen*, 25, 792-797.

Gonçalves, J. (1993). *Octopus vulgaris Cuvier, 1797 (polvo-comum): Sinopse da Biologia e Exploração*. Açores: Universidade dos Açores.

Heia, K., Sivertsen, A.H., Stormo, S.K., Elvevoll, E., Wold, J.P., Nilsen, H. (2007). Detection of nematodes in cod (*Gadus morhua*) fillets by Imaging Spectroscopy. *J Food Sci*, 72, 11-15.

Hill, M., Hill, A. (2009), *Investigação por Questionário*, Lisboa, Edições Sílabo.

Iarossi, G. (2011). *O Poder da Conceção em Inquéritos por Questionários*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Instituto Nacional de Estatística (Censos 2011). [Em linha] disponíveis em http://censos.ine.pt/xportal/xmain?xpid=CENSOS&xpgid=censos2011_apresentacao [Consultado em 05/02/2013].

Instituto Nacional de Estatística (Balança Alimentar Portuguesa). [Em linha]. Disponível em http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaquas&DESTAQUESdest_boui=83386467&DESTAQUESmodo=2&xlang=pt. [Consultado em 10/06/2013]

Karl, M. e Leinmann, M. (1993). A fast and quantitative detection method for nematodes in fish fillets and fishery products. *Arsh Lebensmittelhyg*, 44, 105-128.

Kassai, T., Cordero del Campillo, M., Euzeby, J., Gaafar, S., Hiepe, T.H. e Himonas, C.A. (1988). Standardized nomenclature of animal parasite diseases (SNOAPAD). *Vet Parasitol*, 29, 299-326.

Klimpel, S., Palm., H. (2011). Anisakid Nematode (Ascaridoidea) Life Cycles and Distribution: Increasing Zoonotic Potential in the Time of Climate Change?. In: Mehlhorn, H. (Ed.). *Progress in Parasitology*. Germany: Springer. pp. 201 -222.

Kobayashi, Y., Ohsaki, K., Ikeda, K., Kakemoto, S., Ishizaki, S., Shimakura, K., Nagashima, Y., Shiomi, K. (2012). Identification of novel three allergens from *Anisakis simplex* by chemiluminescent immunoscreening of an expression cDNA library. *Parasitology International*, 60, 144-150.

Køie, M., Berland, B., Burt MDB (1995). Development to third-stage larvae occurs in the eggs of *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Can J Fish Aquat Sci*, 52(Suppl. 1), 134139.

- Kolbe, E., Kramer, D. (2007). Planning for Seafood Freezing. Alaska, Sea Grant Alaska.
- Levsen, A., Lunestad, B.T. e Berland, B. (2005). Low Detection Efficiency of Candling as a Commonly Recommended Inspection Method for Nematode Larvae in the Flesh of Pelagic Fish. *J Food Prot*, 68, 828-832.
- Llarena-Reino, M., González, A.F., Vello, C., Outeriño, L. e Pascual, S. (2012). The accuracy of visual inspection for preventing risk of *Anisakis spp.* infection in unprocessed fish. *Food Control*, 23: 54-58.
- Lopes, C., Oliveira, A., Santos, A., Ramos, E., Severo, M., Barros, H. (2006). Consumo Alimentar no Porto.[Em linha]. Disponível em www.consumoalimentarporto.med.up.pt. [Consultado em 20/05/2013].
- Maroco, J. (2007). *Análise Estatística: com Utilização do SPSS*. 3.^a Edição. Lisboa, Edições Sílabo.
- McCarthy, J., Moore, T., 2000, Emerging helminth zoonoses. *Int. J. Parasitol* 30, 1351-1360.
- Moneo, I., Caballero, M.L., Gómez, F., Ortega, E. e Alonso, M.J. (2000). Isolation and characterization of a major allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *J Allergy Immunol*, 106, 177-182.
- Moneo, I., Caballero, M.L., González-Muñoz, M., Rodríguez Mahillo, A.I.; Rodríguez-Perez, R. e Silva, A. (2005). Isolation of a heat-resistant allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *Parasitol Res*, 96, 285-289.
- Moravec, F., Justine, J. (2010). Two new genera and species of cystidicolids (Nematoda, Cystidicolidae) from marine fishes off New Caledonia. *Parasitology International* 59: 198 – 205.
- Murthy, D. (2008). Digital Ethnography: An Examination of the Use of New Technologies for Social Research. *Sociology*, 42, pp. 837-855.
- Nieuwenhuizen, N., Lopata, A.L., Jeebhay, F., Herbert, B.R., Robins, T.G. e Brombacher, F. (2006). Exposure to the fish parasite *Anisakis* causes allergic airway hyperreactivity and dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 117, 1098-1105.

Nunes, M.L., Batista, I., Bandarra, N.M., Morais, M.G., Rodrigues, P.O., (2008). *Produtos da Pesca: Valor Nutricional e Importância para a Saúde e Bem-Estar dos Consumidores*, n.º 18, Lisboa, Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas.

Nunes, C., Ladeira, S. e Mergulhão, A. (2003). Alergia ao *Anisakis simplex* na população portuguesa. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, XI, 30-40.

Ocean. [Em linha]. Disponível em http://ocean2012.eu/press_releases/68-portugal-produz-apenas-um-ter-o. [Consultado em 10/02/2013].

Olson, P., Caira, J., Jensen, K., Overstreet, R.M., Palm, H.W., Beveridge, I. (2010). Evolution of the trypanorhynch tapeworms: Parasite phylogeny supports independent lineages of sharks and rays. *International Journal for Parasitology* 40: 223 – 242.

Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura e Organização Mundial de Saúde. [Em linha]. Disponível em ftp://ftp.fao.org/fi/DOCUMENT/risk_consumption/executive_summary.pdf [Consultado em 20/05/2013].

Organization for Economic Co-operation and Development – Food and Agriculture Organization of the United Nation. [Em linha]. Disponível em <http://www.oecd.org/site/oecd-faoagriculturaloutlook/summary-2013-EN.pdf>. [Consultado em 05/08/2013].

Oshima, T., 1987, Anisakiasis — Is the sushi bar guilty? . *Trends in Parasitology* 3, 44-48.

Pascual, S., Gestal, C., Estévez, J.M., Rodríguez, H., Soto, M., Abollo, E. e Arias, C. (1996) Parasites in commercially-exploited cephalopods (Mollusca, Cephalopoda) in Spain: an updated perspective. *Aquaculture* 142: 1-10.

Pascual, S., Antonio, J., Cabo M.L., Piñeiro, C. (2010). *Anisakis* survival in refrigerated fish products under CO₂ modified-atmosphere. *Food Control* 21, 1254-1256.

Petrie, A., Wootten, R., Bruno, D., MacKenzie, K. e Bron, J. (2007). A survey of *Anisakis* and *Pseudoterranova* in Scottish fisheries and the efficacy of current detection methods. Report of Food Standard Agency – FSAS Project S 14008. 121p.

Pierce, G.J., Guerra, A. (1994). Stock assessment methods used for cephalopod fisheries. *Fisheries Research* 21, pp.225-285.

Portaria n.º 27/2001. Fixa os tamanhos mínimos dos peixes, crustáceos e moluscos, de acordo com o previsto no artigo 48.º do Decreto Regulamentar n.º 43/87, de 17 de Julho, na redacção dada pelo Decreto Regulamentar n.º 7/2000, de 30 de Maio. *Diário da República* n.º 12, Série I-B de 2001-01-15.

Portaria n.º 447/2009. Altera o Regulamento da Pesca por Arte de Armadilha, aprovado pela Portaria n.º 1102-D/2000, de 22 de Novembro, e procede à sua republicação. *Diário da República* n.º 82, Série I de 2009-04-28.

Portaria N.º 230/2012. Altera o Regulamento da Pesca por Arte de Armadilha, aprovado pela Portaria n.º 1102-D/2000, de 22 de novembro. *Diário da República* n.º 150, Série I- de 2012.08.03.

Quiazon, K.M.A., Yoshinaga, T., Ogawa, K. (2011). Experimental challenge of *Anisakis simplex* sensu stricto and *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) in rainbow trout and olive flounder. *Parasitology International*, 60: 126-131.

Quivy, R., Campenhoudt, L. (1998). *Manual de Investigação em Ciências Sociais*. Lisboa, Gradiva.

Ramos, P. (2011). *Anisakis* spp. em bacalhau, sushi e sashimi: risco de infecção parasitária e alergia. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 110(577-580): 87-97.

Ramos, P. (2012). *Anisakis* e Anisakióse. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica [Ed.]. *Riscos e Alimentos*, n.º 4, pp. 30 – 33.

Rebordão, F. (2000). *Classificação de Artes de Pesca e Métodos de Pesca*, n.º 4, Lisboa, Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas.

Regulamento (CE) n.º 178/2002, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de Janeiro de 2002, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios. *Jornal das Comunidades Europeias*, 1.2.2002. **L31/1**.

Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril de 2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*, 30.04.2004. **L139/1**.

Regulamento (CE) Nº 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril de 2004, que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. *Jornal Oficial da União Europeia*, 30.04.2004. **L139/55**.

Regulamento (CE) N.º 2074/2005 da Comissão, de 5 de Dezembro de 2005, que estabelece medidas de execução para determinados produtos ao abrigo do Regulamento (CE) N.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho e para a organização de controlos oficiais ao abrigo dos Regulamentos (CE) N.º 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho e N.º 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, que derroga o Regulamento (CE) N.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho e altera os Regulamentos (CE) N.º 853/2004 e (CE) N.º 854/2004. *Jornal Oficial da União Europeia*. 22.12.2005. **L338/27**.

Regulamento (UE) N.º 1276/2011 da Comissão, de 8 de Dezembro, que altera o anexo III do Regulamento (CE) N.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho no que se refere ao tratamento para eliminar parasitas viáveis em produtos da pesca destinados ao consumo humano. *Jornal Oficial da União Europeia*. 08.12.2011. **L327/39**.

Rodriguez-Perez, R., Moneo, I., Rodriguez-Mahillo, A. e Caballero, M.L. (2008). Cloning and expression of Ani s 9, a new *Anisakis simplex* allergen. *Mol Biochem Parasitol*, 159, 92-97.

Rosa, R., e Reis, C. (2005). *Polvos, Lulas e Chocos*. Lisboa: Assírio & Alvim.

Scala, E., Giani, M., Pirrotta, L., Guerra, E.C., Cadoni, S., Girardelli, C.R., De Pita, O. e Puddu, P. (2001). Occupational generalised urticaria and allergic airborne asthma due to *anisakis simplex*. *Eur J Dermatol*, 11, 249-50.

Sousa Reis, C., Cabido, M., Leal, F., 1984. Distribuição na costa portuguesa de 4 espécies da Família Octopodidae (Mollusca: Cephalopoda). *Actas do IV Simpósio Ibérico de Estudos do Benthos Marinho*, vol.1, pp. 203 – 217.

Sumner, J., Ross, T. (2002). A semi-quantitative seafood safety risk assessment. *International Journal of Food Microbiology*, 77, 55-59.

The State of Worl Fisheries and Aquaculture. [Em linha]. Disponível em <http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e01.pdf> [Consultado em 22/02/2013].

Van Thiel, P., 1960 *Anisakis*. *Parasitology* 53 16.

Van Thiel, P., Kuipers, F.C., Roskam, R.T., 1962 A nematode parasitic to herring causing acute abdominal syndromes in man. *Trop Geogr Med* 2, 97-113.

Ventura, M.T., Tummolo, R.A., Leo, E., D' Erasmo, M., Arsieni, A. (2008). Immediate and Cell-Mediated Reactions in Parasitic Infections by *Anisakis simplex*. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 18, 253-259.

Vidacek, S., Heras, C., Solas, M.T., Mendizábal, A., Rodriguez Mahillo, A.I., González-Muñoz, M. e Tejada, M. (2009). *Anisakis simplex* allergens remain active after conventional or microwave heating and pepsin treatments of chilled and frozen L3 larvae. *J Sci Food Agric*, 89, 1997-2002.

Vidacek, S., Heras, C., Solas, M.T., Solas, M.T., Mendizábal, A., Rodriguez-Mahillo, A.I. e Tejada, M. (2010). Antigenicity and viability of *Anisakis* larvae infesting hake heated at different time-temperature conditions. *J Food Prot*, 73, 62-68.

Vicente, P. (2012). *Estudos de Mercado e de Opinião: Princípios e Aplicações de Amostragem*. Lisboa, Edições Sílabo.

Vose, D. 1998. The application of quantitative risk assessment to microbial food safety. *J. Food Prot.*, 61: 640.

WHO. 1998. Food safety and globalization of trade in food - a challenge to the public health sector. WHO/FSF/FOS/97.8 Rev 1. Geneva, Switzerland, WHO.

Wooldridge M. (2008) Qualitative risk assessment. In *Microbial Risk Analysis of Foods* ed Schaffner D.W. pp 1-28. ASM Press, Washington D.C.

Zar, J.H., 2010. *Biostatistical Analysis*. 5.^a Edição. Pearson International Edition. p. 944.

Anexos

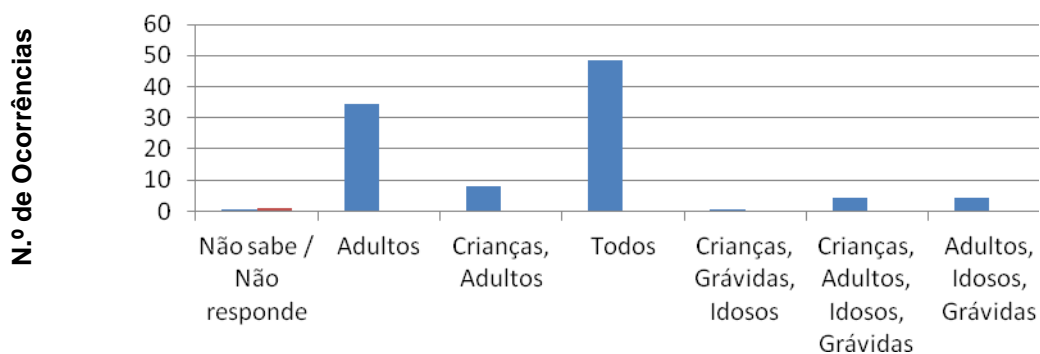
Anexo 1

Determinação da dimensão mínima da amostra por distrito e por Região Autónoma de Portugal para um nível de erro de 5% e o n.º de respostas completas obtidas por distrito e Região Autónoma de Portugal.

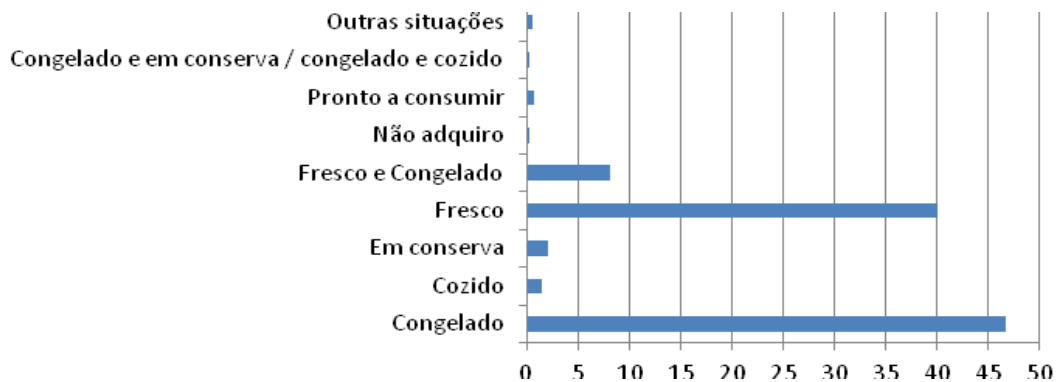
Distritos /Região Autónomas	Dimensão mínima da amostra (nível de erro de 5%)	Dimensão Real da Amostra
Aveiro	12	46
Beja	6	73
Braga	26	39
Bragança	6	6
Castelo Branco	9	31
Coimbra	21	97
Évora	9	40
Faro	10	82
Guarda	7	10
Leiria	19	195
Lisboa	76	222
Portalegre	4	48
Porto	34	84
Santarém	9	55
Setúbal	18	50
Viana do Castelo	13	36
Vila Real	8	20
Viseu	15	35
Região Autónoma: Açores	36	263
Região Autónoma: Madeira	38	45
TOTAL	376	1477

Anexo 2

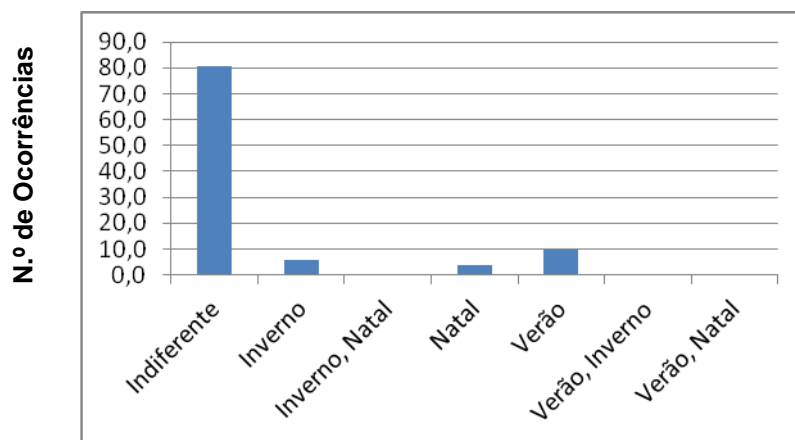
Dados estatísticos do Inquérito sobre o consumo de polvo-vulgar em Portugal



Q5. Como costuma adquirir o polvo?



N.º de Ocorrências (%)



Q11. Quais as épocas do ano em que consome polvo?

Anexo 3

Folheto desdobrável sobre “Boas práticas de higiene a bordo de embarcações: Parasitas nos Produtos da Pesca” (Fonte: DGAV, 2012)

Curiosidades...



⇒ A maior parte dos casos de doença associada a parasitas no pescado se deve ao consumo de peixe cru ou mal cozinhado.

Por este motivo recomenda-se:

⇒ Em pratos como o sushi, sashimi ou outros, em que o pescado é servido cru, este deve ser congelado previamente no mínimo até:

- 20 °C durante, no mínimo, 24 horas; ou
- 35 °C durante, no mínimo, 15 horas.

⇒ Como medida de prevenção o pescado deve ser cozinhado no mínimo a 63°C (na zona mais espessa) durante pelo menos 15 segundos.

⇒ Adquirir peixe eviscerado ou proceda à sua evisceração o mais rapidamente possível (previne migrações parasita da

Legislação Aplicável (e respetivas alterações):
Regulamento (CE) n.º 2074/2005 de 5 dezembro
Regulamento (CE) n.º 852/2004 de 29 de abril
Regulamento (CE) n.º 853/2004 de 29 de abril
Regulamento (CE) n.º 854/2004 de 29 de abril

O primeiro passo é seu...

Valorize o seu esforço,
venda peixe de qualidade!



Nota: Este Boletim faz parte de uma série que poderá comprar o seu **Manual de Boas Práticas a Bordo**.

Corpo de Inspeção Sanitária da Lota de Peniche
DSAVRLVT/ DIV OESTE
lotapeniche@dgv.pt
Telef/fax: 262 786 776

Ministério da Agricultura,
Mar, Ambiente e
Ordenamento do Território

DGAV
Direção - Geral
de Alimentação
e Veterinária

BOAS PRÁTICAS DE HIGIENE A BORDO DAS EMBARCAÇÕES

BOLETIM 4
outubro 2012

PARASITAS NOS PRODUTOS DA PESCA

Corpo de Inspeção Sanitária da Lota de Peniche -DGAV/DSAVRLVT/DIVO
Ana Barbosa/ Ana Filipa Sousa
Paula Ramos - IPMA, I.P.

Anexo 3

Folheto desdobrável sobre “Boas práticas de higiene a bordo de embarcações: Parasitas nos Produtos da Pesca” (Fonte: DGAV, 2012) (continuação)

PARASITAS DOS PRODUTOS DA PESCA

Parasitas são organismos que vivem à custa de outros e normalmente prejudicam o organismo hospedeiro.

A presença de parasitas no peixe é muito frequente, sendo por vezes **causa de rejeição** em lota (total / parcial) caso se verifique:

- ⇒ Elevado número de parasitas
- ⇒ Lesões graves provocadas pela sua presença magreza excessiva, o “picado”, entre outros.

Os parasitas provocam doenças ao consumidor, devido a: inflamações no estômago ou intestino (gastroenterites), alergias, etc.

PARASITAS EXTERNOS

Os **Parasitas Externos** afetam essencialmente a superfície externa do pescado, como a “pulga-do-mar” (*Anyloca*).

A presença destes parasitas torna-se repugnante, sem no entanto causar dano no consumidor.



Faneça com “Pulga do Mar” Tamboril “picado”

PARASITAS INTERNOS

Onde se encontram?

Encontram-se no interior do peixe (**ovas, vísceras e músculo**) onde provocam lesões que podem chegar a alterar a cor do peixe, criar quistos ou escavar autênticas galerias.

Os parasitas internos mais comuns são geralmente os **anisakiídeos**.

O que é o *Anisakis*?

Anisakis é um parasita que pode encontrar-se nos produtos da pesca e provocar alterações digestivas e reações alérgicas no homem. O parasita pode estar presente numa grande variedade de espécies de peixe, como por exemplo: **carapau, pescada, sardinha, bacalhau, entre outras.**

São vermes redondos com 1 a 3 cm de comprimento que, se forem ingeridos vivos, podem penetrar nas paredes dos nossos órgãos digestivos e causar uma inflamação aguda.



Anisakis simplex Cavidade Abdominal de Carapau parasitada



Peixe Galo “picado” Faneça (guelra) com *Lernaocera branchialis* Fígado de Pescada parasitada

Outros parasitas

Nos últimos anos, entre a zona da Nazaré e a Figueira da Foz têm surgido faneças com uma coloração negra anormal observada exteriormente. Este facto deve-se à presença de ovos do parasita *Huffmanella* sp. no músculo.

Não deve ser confundida com a “faneça da pedra” que tem uma coloração geral



Faneça com cor “negra” Comparação de cor muscular

OBRIGAÇÕES

Para prevenir a comercialização de pescado parasitado deverá...

- ⇒ Rejeitar pescado manifestamente parasitado (não descarregar em lota)
- ⇒ Rejeitar fígado, ovas e outras vísceras manifestamente parasitadas
- ⇒ Navio-fábrica: deverá avaliar pesqueiros associados a parasitas e elaborar planos de amostragem