



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Prevalência de Nematodes Anisakidae no Bacalhau

Filipa Borralho Araújo

Coimbra, julho 2021



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Prevalência de Nematodes Anisakidae no Bacalhau

Coimbra, julho 2021

Filipa Araújo

Aluna do Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Professora Doutora Maria Eduarda

Moreno da Silveira

Arguente: Professora Doutora Sofia Alexandra Giestas

Cancela Duarte

*Orientador: Professor Doutor Sérgio Eduardo Ramalho
de Sousa*

Orientador Interno

Professor Doutor Sérgio Sousa

Coorientador Interno

Engenheiro Ricardo Cabeças

Orientador Externo

Doutora Anabela Costa

Direção Geral de Alimentação e Veterinária –
Divisão de intervenção de Alimentação e
Veterinária de Aveiro

Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de
Estudos Conducente ao Grau de Mestre em
Medicina Veterinária da EUVG

“As doutrinas apresentadas são da exclusiva
responsabilidade da autora.”

Agradecimentos

À Escola Universitária Vasco da Gama por me ter possibilitado a chance de realizar o curso conducente ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Ao Professor Sérgio Sousa por não só ter aceitado ser meu orientador como por todo o apoio, disponibilidade, sentido prático como sempre me orientou e amizade que sempre me dedicou durante todo o curso.

À Dra. Anabela Costa por ter aceite ser minha orientadora, pelo apoio incondicional, amizade, confiança e por todas as experiências que me proporcionou durante o estágio.

Ao Eng. Ricardo Cabeças pela disponibilidade para ser meu coorientador e pela sua paciência, apoio e boa energia na elaboração da tese.

Ao Eng. Pedro Santos e Dra. Patrícia Santos pela disponibilidade, por todos os momentos de ensino, e pela constante boa disposição.

À Direção-Geral de Alimentação e Veterinária por ter possibilitado a realização deste estágio.

A toda a equipa da Divisão de Alimentação e Veterinária de Aveiro pelo respeito e simpatia durante o percurso do estágio.

À Dra. Ivete Azevedo pela ajuda na recolha dos dados e pela paciência ao ouvir os meus pedidos.

Ao Grupo Rui Costa e Sousa & Irmão por me ter permitido recolher dados nas instalações.

Aos meus pais e irmã pelos conselhos, dedicação, apoio e paciência durante todo o meu percurso.

Aos meus tios e em especial à tia madrinha Cristina pela disponibilidade e encorajamento no percurso do Mestrado.

À minha amiga Patrícia Vaz por ter estado sempre presente e não me deixar baixar os braços mesmo nos momentos mais difíceis.

À Bela por todo o encorajamento e amizade.

Desejo igualmente agradecer aos meus colegas do curso, especialmente a Diana Silva, Diana Valente, Joana Jesus, Ricardo Ramos e as minhas afilhadas, por todo o apoio, amizade e por nunca me deixarem desmotivar.

Às minhas gatas pela alegria que me transmitem todos os dias.

A todos aqueles que não mencionei, mas que contribuíram de alguma forma para a concretização desta dissertação.

Índice geral

| | |
|--|------|
| Índice de figuras | vii |
| Índice de gráficos | viii |
| Índice de tabelas | ix |
| Lista de abreviaturas | x |
| 1) Introdução | 3 |
| I. Espécies de Bacalhau | 3 |
| 1. Bacalhau-do Atlântico (<i>Gadus morhua</i>) | 3 |
| 2. Bacalhau-do-Pacífico (<i>Gadus macrocephalus</i>) | 4 |
| 3. Paloco-do-Pacífico (<i>Gadus chalcogramma</i>) | 5 |
| II. Pesca de Bacalhau | 5 |
| III. Parasitas Anisakidae | 7 |
| IV. Saúde Pública | 10 |
| V. Segurança Alimentar | 10 |
| 2) Materiais e Métodos | 11 |
| 3) Resultados | 13 |
| I. Prevalência Geral | 13 |
| II. Prevalência total nos lotes | 13 |
| III. Prevalência por Espécie | 15 |
| IV. Prevalência por Zona de Captura | 16 |
| V. Prevalência por Peso | 17 |
| VI. Amostras físicas de nematodes | 17 |
| 4) Discussão e Conclusões | 18 |
| Referências Bibliográficas | 20 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Bacalhau-do-Atlântico (<i>Gadus morhua</i>) | 3 |
| Figura 2 - Bacalhau-do-Pacífico (<i>Gadus macrocephalus</i>) | 4 |
| Figura 3 - Paloco-do-Pacífico (<i>Gadus chalcogramma</i>) | 5 |
| Figura 4 - Principais zonas de pesca definidas pela FAO | 6 |
| Figura 5 - Subáreas da zona de pesca FAO 27 | 7 |
| Figura 6 - Diferenças morfológicas na terceira fase larval (L3) dos nematodes da família Anisakidae . | 8 |
| Figura 7 - Ciclo de vida geral Anisakidae e desenvolvimento de Anisakidose | 9 |
| Figura 8 - Inspeção visual macroscópica do pescado com auxílio de bancada com luz branca de alta intensidade | 12 |
| Figura 9 - Nematodes Anisakidae, observados à lupa. | 18 |

Índice de gráficos

| | |
|---|----|
| Gráfico 1 - Quantidade de parasitas (total) por total de peixes analisados | 13 |
| Gráfico 2 - Quantidade de parasitas (total) por peixes analisado por cada lote, referente a <i>Gadus morhua</i> | 14 |
| Gráfico 3 - Quantidade de parasitas (total) por peixes analisado por cada lote, referente a <i>Gadus macrocephalus</i> | 14 |
| Gráfico 4 - Quantidade de parasitas (total) por peixes analisado por cada lote, referente a <i>Gadus chalcogramma</i> | 15 |
| Gráfico 5 - Quantidade de parasitas (grau de aceitação) por peixes analisado em função à espécie. 16 | |
| Gráfico 6 - Quantidade de parasitas (grau de aceitação) por peixes analisado em função à zona de captura..... | 16 |
| Gráfico 7 - Quantidade de parasitas (grau de aceitação) por peixes analisados em função do peso, referente a <i>Gadus macrocephalus</i> | 17 |

Índice de tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Plano de Amostragem por volume do lote | 12 |
|---|----|

Lista de abreviaturas

CDC - Centers for Disease Control and Prevention (Centro de Controle e Prevenção de Doenças)

COSEWIC - Committee on the Status of Endangered Wildlife in Canada (Comité sobre a Situação da Vida Selvagem Ameaçada de Extinção no Canadá)

DGAV - Direção Geral de Alimentação e Veterinária

EFSA - European Food Safety Authority (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar)

FAO - Food and Agriculture Organization (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)

FDA - Food and Drug Administration (Administração de Alimentação e Medicamentos)

INE - Instituto Nacional de Estatística

IUCN - International Union for Conservation of Nature (União Internacional para Conservação da Natureza)

L3 - Terceira fase larval

NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration (Administração Nacional Oceânica e Atmosférica)

Prevalência de Nematodes Anisakidae no Bacalhau

Filipa Araújo^a, Anabela Costa^b, Ricardo Cabeças^a, Sérgio Sousa^a

^aDepartamento de Ciências Veterinárias, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (fibigor@gmail.com, sergio.sousa@euvg.pt, jcabecas@gmail.com)

^bDireção-Geral de Alimentação e Veterinária, Divisão de Alimentação e Veterinária de Aveiro, Rua de Anadia S/N, 3810-208, Aveiro, Portugal (anabela.costa@dgav.pt)

Resumo

O Bacalhau é o peixe mais consumido em Portugal. Assim sendo, estudos que garantam a sua Segurança Alimentar para os consumidores são de extrema importância. Neste estudo, a prevalência de nematodes Anisakidae no Bacalhau foi avaliada a nível industrial. Recolheram-se no total 240 amostras de lotes de peixe aleatórios, destas 150 de Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) capturado nas subdivisões da zona de pesca FAO 27 (Região Nordeste do Atlântico), 80 de Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) e 10 de Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) capturado na zona de pesca FAO 67 (Região Nordeste do Pacífico). Foi efetuada uma inspeção visual macroscópica numa bancada com luz branca de alta intensidade via "Candle table" para avaliar a presença dos parasitas e proceder à sua remoção da musculatura. Foi relatada uma aparente relação da carga parasitária com a espécie de Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*), uma potencial relação com a zona de captura da FAO 67 e uma aparente relação entre o peso do peixe e a carga parasitária. Este estudo permitiu efetivamente avaliar a importância de um elevado rigor de controlo a nível de Segurança Alimentar em determinados lotes que apresentem os fatores de risco associados a maior carga parasitária.

Palavras-chave

Alergia alimentar, Anisakidae, Bacalhau, *Gadus morhua*, *Gadus macrocephalus*, *Gadus chalcogramma*, Segurança Alimentar

Abstract

Codfish is the most consumed fish in Portugal. Therefore, studies that assure Food Safety to the consumers are extremely important. In this study, the prevalence of Anisakidae nematodes in codfish was evaluated in an industrial level. A total of 240 samples of random fish lots were collected, 150 of these samples where Atlantic cod (*Gadus morhua*) captured in the subdivisions of the major fishing area FAO 27 (Atlantic, Northeast) and 80 samples of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) and 10 samples of Walleye pollock (*Gadus chalcogramma*) captured in the major fishing area FAO 67 (Northeast Pacific). A macroscopic visual inspection was made on top of a high-intensity white light table, Candle table, to evaluate the presence of parasites and remove them from the muscle tissue. A relation was established between the presence of parasites and the species Pacific cod (*Gadus macrocephalus*), a potential relation with the fishing area FAO 67 and a relation between fish size and the parasitic load. This study allowed for an effective evaluation of the need for a rigorous control in Food Safety for certain lots that present the risk factors associated with a higher parasitic load.

Key words

Anisakidae, Codfish, Food Security, Food allergy, *Gadus morhua*, *Gadus macrocephalus*, *Gadus chalcogramma*

1) Introdução

I. Espécies de Bacalhau

1. Bacalhau-do Atlântico (*Gadus morhua*)

O Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) pertence ao Reino Animalia, Filo Chordata, Classe Actinopterygii, Ordem Gadiformes, Família Gadidae, Género *Gadus* e Espécie *Gadus morhua* (Froese & Pauly, 2021b). Apresenta-se como uma das espécies de peixes com maior interesse comercial no mercado mundial (NOAA, 2021). Em Portugal, tem elevada importância cultural e económica sendo o peixe mais vendido ultrapassando as 63 mil toneladas só em 2018 (INE, 2020) com consumo em média per capita por ano de 3,7 kg (INE, 2017). Pode ser vendido congelado, salgado, seco ou fresco tanto inteiro como em postas (Pettersen & Myrland, 2016), para além da musculatura também é frequentemente consumido sob a forma de óleo de fígado (Cleland *et al.*, 2006).

Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) (Figura 1) distingue-se pela cabeça estreita com coloração variável acastanhada a esverdeada ou cinzenta a nível dorsal e pálido ventralmente com o peritoneu prateado (Cohen *et al.*, 1990). É um peixe demersal que habita o fundo do mar podendo ter alguns comportamentos pelágicos consoante as condições ambientais. Os ovos encontram-se normalmente nas zonas mais superiores da coluna de água devido à sua capacidade de boiar (Fahay *et al.*, 1999). A sua distribuição geográfica estende-se desde o Oceano Atlântico no Cabo Hatteras na Carolina do Norte até o Oceano Glacial Ártico no Mar de Barents a norte da Noruega. Apresenta algumas subespécies com coloração e tamanho distintas consoante as preferências de salinidade, padrões migratórios e distribuição geográfica (Cohen *et al.*, 1990). Encontram-se em temperaturas entre 0-10°C com padrão de crescimento rápido podendo atingir 130 cm de comprimento (Fahay *et al.*, 1999) sendo este crescimento mais lento em populações que vivem em latitudes mais elevadas. A espécie tem uma esperança média de vida de 20 anos (Cohen *et al.*, 1990).

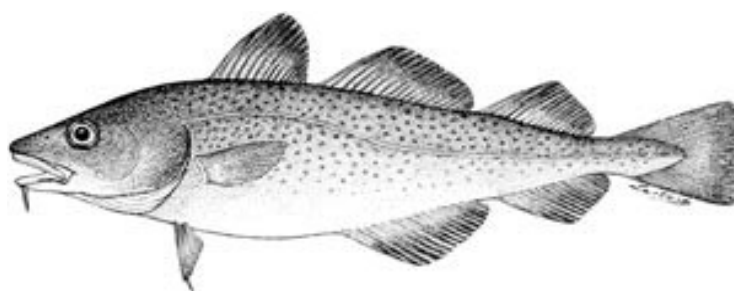


Figura 1 - Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) (Cohen *et al.*, 1990).

Nas fases iniciais do seu desenvolvimento o Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) alimenta-se maioritariamente de zooplâncton. Ao longo do seu crescimento, vai consumindo presas maiores como pequenos crustáceos, por exemplo misidáceos (*Mysida*) e Krill (*Euphasiacea*). Quando atinge tamanho de boca suficiente começa a incluir peixe na dieta, como por exemplo Capelím (*Mallotus villosus*), Arenque (*Clupea harengus*) e Peixe-vermelho (*Sebastes* sp.) assim como outros Bacalhaus, podendo

também alimentar-se de lula (Teuthida), caranguejo (Brachyura), camarão (Decapoda) e bivalves (Bivalvia) (COSEWIC, 2010).

O Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) é a única espécie que pode ter a denominação comercial de apenas Bacalhau segundo o Decreto-Lei nº 25/2005 de 28 de Janeiro. É considerada uma espécie Vulnerável (Gärdenfors & Stattersfield, 1996) estando sujeita a um processo de sobrepesca constante e uma pressão negativa de desenvolvimento relacionada com as alterações climáticas (Rose, 2004). Sendo assim, é importante estudar as restantes espécies de interesse comercial do género *Gadus* tais como o Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) ou o Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) como potenciais substitutos para esta matéria-prima muito importante para a economia portuguesa, visto já bastante relevantes a nível mundial (NOAA, 2020).

2. Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*)

Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) (Figura 2) pertence ao Reino Animalia, Filo Chordata, Classe Actinopterygii, Ordem Gadiformes, Família Gadidae, Género *Gadus* e Espécie *Gadus macrocephalus* (Froese & Pauly, 2021a). É identificável pela cabeça mais larga, coloração dorsal castanha ou cinzenta com algumas pintas ou vermiculações e ventre mais pálido. É um peixe pelágico que habita as colunas de água e a sua distribuição geográfica estende-se pelo norte do Oceano Pacífico desde o Mar Amarelo que banha o leste da República Popular da China até Los Angeles nos Estados Unidos da América. Apresenta um crescimento rápido nas fases iniciais do seu desenvolvimento atingindo um tamanho máximo teórico de 94 cm, com padrões de crescimento diferentes consoante o local de maturação da população. Tem uma esperança média de vida de 8-9 anos podendo viver até aos 12 anos (Cohen *et al.*, 1990).

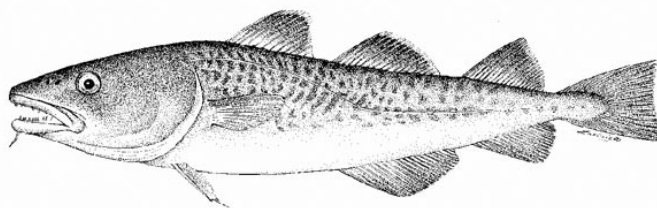


Figura 2 - Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) (Cohen *et al.*, 1990).

Os membros do género *Gadus* apresentam uma dieta semelhante, sendo que o Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) adulto apresenta um padrão alimentar mais focado em peixes “Eelpout” (*Zoarces*), crustáceos, como Caranguejo-da-neve (*Chionoecetes bairdi*), caranguejo-eremita (Paguroidea), Camarões-crangonídeos (Crangonidae) e Poliquetas (Polychaeta) (Yang, 2004).

3. Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*), anteriormente designado (*Theragra chalcogramma*)

Segundo a denominação oficial no Decreto-Lei nº 25/2005 de 28 de Janeiro e nas denominações comerciais definidas pela Comissão Europeia (2021) o Paloco-do-Pacífico apresenta como Género *Theragra* e Espécie *Theragra chalcogramma*. No entanto estudos genéticos realizados por Marshall *et al.* (2008) comprovam uma semelhança genética desta espécie com os outros membros do Género *Gadus*, denominando a espécie de *Gadus chalcogramma*.

Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) (Figura 3) pertence ao Reino Animalia, Filo Chordata, Classe Actinopterygii, Ordem Gadiformes, Família Gadidae, Género *Gadus* e Espécie *Gadus chalcogramma* (Marshall *et al.*, 2008). Distingue-se por ter uma ligeira projeção do maxilar inferior e coloração verde-azeitona a castanho dorsalmente com algumas manchas ou imperfeições, prateado de lado e pálido ventralmente com barbatanas escuras. É um peixe geralmente demersal habitando profundidades de 30 a 400 metros. A distribuição geográfica estende-se pelo norte do Oceano Pacífico desde o Mar do Japão até ao Centro da Califórnia, nos Estados Unidos da América. Apresenta crescimento rápido e tem uma esperança média de vida de 14-15 anos, atingindo um tamanho médio de 80 cm (Cohen *et al.*, 1990).

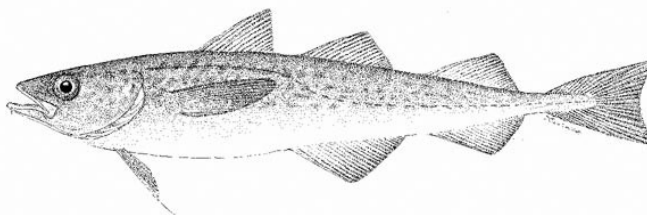


Figura 3 - Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) (Cohen *et al.*, 1990).

O Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) adulto apresenta uma dieta composta por Krill (Euphausiacea), crustáceos (Decapoda), e membros da própria espécie de tamanho mais reduzido (Adams *et al.*, 2007).

II. Pesca de Bacalhau

A pesca do Bacalhau para além dos benefícios financeiros que apresenta, sendo o peixe mais vendido em Portugal (INE, 2020), apresenta também uma grande importância cultural havendo registos da captura deste peixe no Atlântico Norte desde o tempo dos reis no Século XIV, e comércio com a Escandinávia pelo sal das salinas no Norte de Portugal de modo a realizar a secagem e salga do Bacalhau (Moutinho, 1985). No entanto, a grande exploração deste recurso de forma continuada pelos portugueses teve início apenas no Século XIX com o envio de veleiros para a Terra Nova. Com o auxílio de pequenos barcos chamados dóris, os pescadores pescavam individualmente com recurso a uma linha com anzol múltiplo capturando pequenas quantidades de peixe. Com o desenvolvimento dos navios foi da mesma forma desenvolvido um melhor sistema de armazenamento e processamento do Bacalhau até à sua comercialização. De forma a realizar recolhas de peixe mais rápidas e de maior

volume, no Século XX iniciou-se a captura com recurso à pesca de arrasto (Matias, 2016), sendo desde então a técnica maioritariamente utilizada nas capturas pelos navios bacalhoeiros que circulam com bandeira portuguesa. Estes estão abrangidos pelos estabelecimentos e atividades a necessitar de aprovação e controlo regular pela DGAV, sendo verificado os critérios de higiene das estruturas e registos de evisceração e controlos parasitários a bordo (DGAV, 2018).

Por outro lado, as principais artes de pesca de Bacalhau na Noruega em 2016 foram a pesca de arrasto, pesca com redes de emalhar e pesca de cerco. A pesca de arrasto é um dos principais métodos usados na pesca industrial. Neste caso, as redes são atiradas ao mar e arrastadas, muitas vezes pelo fundo, para capturar uma grande quantidade de peixe (Bertheussen & Dreyer, 2019). Na pesca com redes de emalhar utilizam-se redes com várias malhagens diferentes que são colocadas verticalmente na água. Os animais ficam presos nas redes que, ao contrário da pesca de arrasto, não são movidas ao longo da coluna de água, apenas são puxadas para cima. Na pesca de cerco, são usadas redes para cercar populações de peixe. Esta cerca vai sendo fechada lentamente culminando na retirada das redes da água com a captura lá dentro (Rebordão, 2000). Estas três artes de pesca representam 77-79% da atividade focando-se em apanhar um grande volume de indivíduos. Os restantes 21-23% contam com apanha de peixe à linha e anzol onde se apanham menos indivíduos mas de melhor qualidade (Bertheussen & Dreyer, 2019). Na pesca de linha e anzol são utilizadas estruturas com vários anzóis que apenas conseguem capturar um peixe de cada vez. Nesta técnica são capturados menos animais, mas é possível fazer uma seleção muito mais rigorosa do que nas artes de pesca referidas anteriormente (Rebordão, 2000).

As zonas de pesca de interesse neste estudo estão definidas pela FAO (Food and Agriculture Organization), como FAO 27 (Região Nordeste do Atlântico) e FAO 67 (Região Nordeste do Pacífico), referidas na Figura 4 (FAO, 2004). A FAO 27 encontra-se dividida em subáreas (Figura 5).

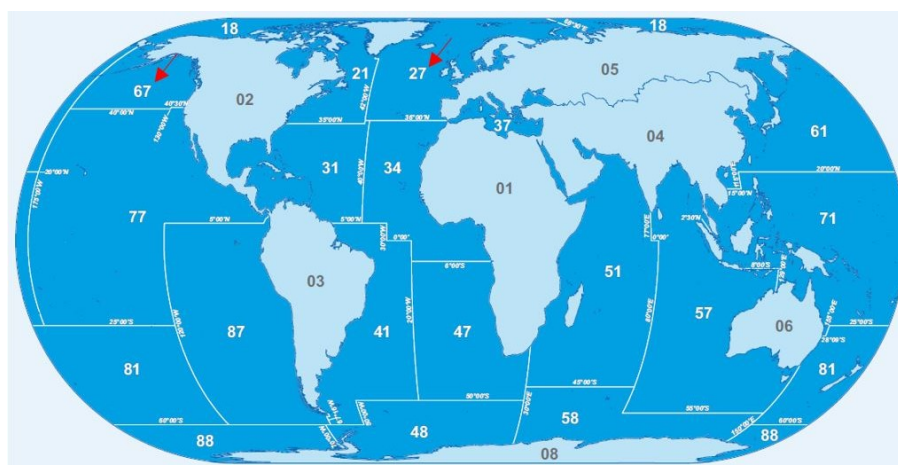


Figura 4 - Principais zonas de pesca definidas pela FAO (FAO, 2015).

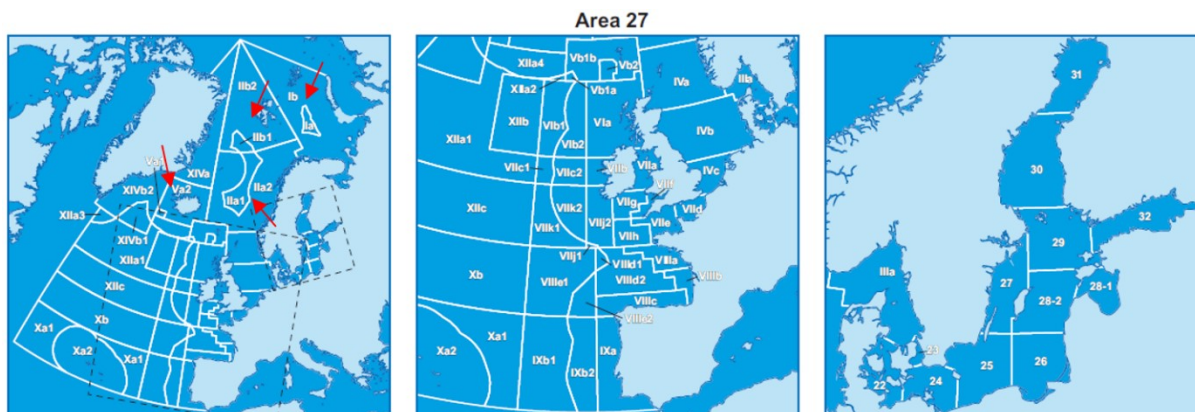


Figura 5 - Subáreas da zona de pesca FAO 27 (FAO, 2015).

III. Parasitas Anisakidae

Os parasitas nematodes da família Anisakidae pertencem ao Reino Animalia, Filo Nematoda, Classe Chromadorea, Ordem Rhabditida, Superfamília Ascaridoidea e Família Anisakidae (Bezerra *et al.*, 2021). São os principais parasitas a ser avaliados no processo da pesca e comercialização de Bacalhau sendo encontrados frequentemente nas vísceras e tecido muscular do pescado (Hemmingsen & MacKenzie, 2001; Nadolna & Podolska, 2014). Verifica-se uma maior acumulação no tecido muscular do lado esquerdo e ventral do corpo, que é o local com maior proximidade das vísceras (Petrie *et al.*, 2007). Os géneros desta família descritos na literatura mais frequentemente são *Anisakis*, *Pseudoterranova* e *Contracaecum* (Figura 6). Estes apresentam como hospedeiros intermediários crustáceos aquáticos pertencentes à ordem Euphausiacea sendo os hospedeiros definitivos mamíferos aquáticos como os Cetáceos (Cetacea) (Cavallero *et al.*, 2011) e Focas (Phocidae) (Lunneryd *et al.*, 2015), aves aquáticas, répteis e peixes, havendo também relatos de peixes e moluscos como hospedeiros de transporte (EFSA, 2010).

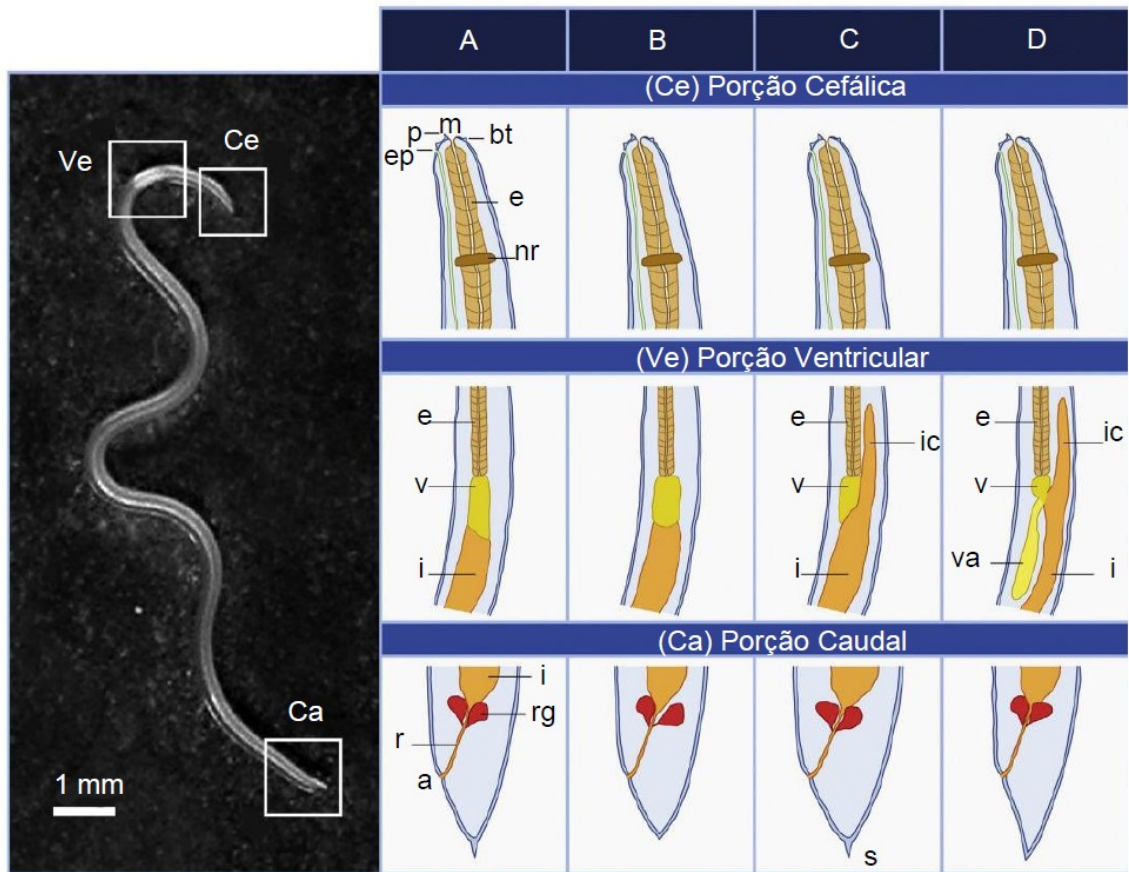


Figura 6 - Diferenças morfológicas na terceira fase larval (L3) dos nematodes da família Anisakidae. Imagem da esquerda de um L3 de *Anisakis*, imagem da direita com representação da morfologia das várias L3 dividido por porções cervical, ventricular e caudal. A- *Anisakis* tipo 1; B- *Anisakis* tipo 2; C- *Pseudoterranova*; D- *Contracaecum*; a- anus; bt- “boring tooth”; e- esôfago; ep- poro excretor; i- intestino; ic- ceco intestinal; m- boca; nr- anel nervoso; p- papila; r- reto; rg- glândula retal; s, espigão; v- ventrículo; va- apêndice ventricular (adaptado de Adroher-Auroux & Benítez-Rodríguez, 2020).

No ciclo de vida geral de Anisakidae (Figura 7) os hospedeiros definitivos excretam ovos não embrionados nas fezes (1 da Figura 7), de seguida desenvolve-se o embrião na água formando-se a L3 dentro do ovo (2a da Figura 7), essas L3 libertam-se dos ovos para a água (2b da Figura 7) e são ingeridas pelos crustáceos (hospedeiros intermediários) desenvolvendo-se no hemocele (3 da Figura 7). Os crustáceos infetados são por sua vez ingeridos por peixes e cefalópodes (hospedeiros paraténicos) e as L3 libertas durante a digestão, migrando para o mesentério e tecido muscular, podendo ser transferido para outros hospedeiros paraténicos via predação (4 da Figura 7). Os mamíferos aquáticos (hospedeiros definitivos) ingerem os hospedeiros paraténicos com L3 nos tecidos e as L3 desenvolvem-se para a sua fase adulta na mucosa gástrica (6 da Figura 7). A Anisakidose desenvolve-se quando um humano ingere peixe mal cozinhado ou cru (5 da Figura 7), sendo este diagnóstico possível via endoscopia digestiva alta onde se podem retirar as larvas da mucosa gástrica e intestinal (7 da Figura 7) (CDC, 2019). A infeção do Bacalhau com L3 ocorre devido ao consumo dos

hospedeiros intermediários numa fase inicial do seu desenvolvimento ou no consumo de hospedeiros paraténicos durante a sua vida adulta (EFSA, 2010).

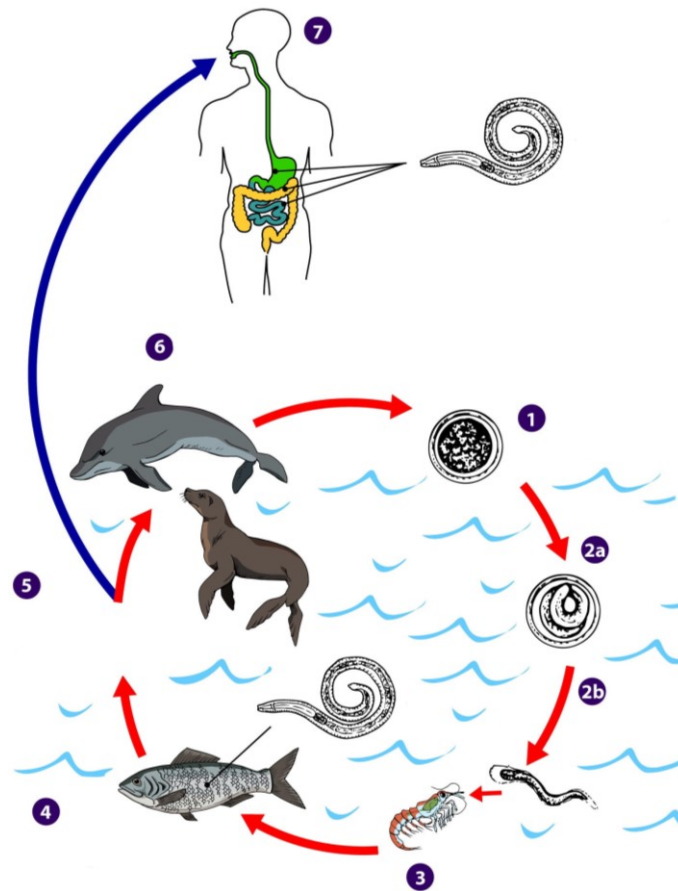


Figura 7 - Ciclo de vida geral Anisakidae e desenvolvimento de Anisakiíase. 1- Ovo não embrionado na água; 2a- Desenvolvimento da L3 dentro do ovo; 2b- Libertação da L3 na água; 3- Ingestão da L3 pelos hospedeiros intermediários; 4- Ingestão dos hospedeiros intermediários pelos hospedeiros paraténicos, migração das L3 para a musculatura; 5- Ingestão dos hospedeiros paraténicos por humanos; 6- Ingestão dos hospedeiros paraténicos pelos hospedeiros definitivos; 7- Desenvolvimento de Anisakiíase com presença de L3 no sistema digestivo (adaptado de CDC, 2019).

A presença de parasitas da família Anisakidae está bem documentada em relação a determinadas espécies como o Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) havendo relação direta entre o tamanho ou peso do peixe e a intensidade de infeção parasitária. O aumento de peso está relacionado com a idade do peixe o que sugere a acumulação de parasitas durante a vida deste e consumo de presas maiores com carga parasitária já elevada. Está também descrita uma relação entre a prevalência de infeção com o local de captura e época do ano (Gay *et al.*, 2018). Por outro lado a presença de Anisakidae no Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) e no Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) (Quiazon *et al.*, 2009) encontra-se quase só documentada nas águas do Japão com deteção de nematodes do género *Anisakis* com prevalência extremamente elevada de 80% e 100% respetivamente (Gomes *et al.*, 2020).

IV. Saúde Pública

A presença de Anisakidae na musculatura do pescado pode ter impactos na saúde humana, havendo relatos de problemas digestivos e/ou reações alérgicas. A presença de parasitas pode conferir ao pescado um aspeto repugnante podendo ter, também, consequências financeiras por rejeição do produto (Audicana & Kennedy, 2008). Foram relatados casos de alergia alimentar causados por ingestão de *Anisakis* (Choi *et al.*, 2009) e, apesar das larvas serem sensíveis ao processo de congelação a -15°C (Podolska *et al.*, 2019) e aquecimento a temperaturas acima de 67°C, determinados alérgenos são resistentes aos processos físicos e, como tal, tornam-se um perigo com potencial risco para a população (Vidaček *et al.*, 2009). Da mesma forma, foram relatadas reações alérgicas por exposição não oral dos alérgenos de *Anisakis* via contacto com a pele ou pelo trato respiratório. Estes casos foram maioritariamente reportados em trabalhadores que lidam diretamente com peixe podendo tornar-se um potencial novo risco ocupacional, nas zonas endémicas de *Anisakis* spp. podem ser frequentes os casos de hipersensibilidade e como tal não se pode considerar estes casos como situações raras (Moneo *et al.*, 2017).

V. Segurança Alimentar

A garantia de fornecer um produto com elevado rigor na Segurança Alimentar é um fator extremamente importante na indústria alimentar, como tal são necessários controlos regulares de parâmetros como a presença de parasitas de forma garantir um produto de melhor qualidade e minimizar a preocupação do consumidor.

Os regulamentos europeus, Regulamento (CE) N° 853/2004 de 29 de Abril de 2004, Regulamento (UE) N° 1276/2011 de 8 de Dezembro de 2011 estabelecem as regras referentes aos tratamentos a nível industrial para eliminar parasitas nos produtos de pesca com destino ao consumo humano, sendo estes focados em medidas de processos de congelação para peixe destinado a consumo cru e inspeção visual de modo a evitar comercialização de peixe contaminado.

Segundo as leis definidas pelo Brasil no Memorando-Circular n° 2/2018/CGI/DIPOA/MAPA/SDA/MAPA de 08 de fevereiro de 2018, é necessário que seja feito um controlo por amostragem de todo o Bacalhau processado para envio para o país, a falta de métodos de tratamento de parasitas ou a não retirada de parasitas visíveis de lotes sobre os quais foram detetados pode implicar o total impedimento de envio de lotes, apresentando um elevado impacto económico sendo o Brasil o principal país de destino de exportações de Bacalhau de origem Portuguesa (INE, 2020).

Sendo que a musculatura deste peixe é branca, torna-se difícil identificar os parasitas. No entanto, a Inspeção visual macroscópica do pescado eviscerado e aplicação de luz branca de alta intensidade torna possível a avaliação e remoção dos parasitas da musculatura do pescado (FDA, 2021).

Com o aumento da preocupação com a Segurança Alimentar poderá ser necessária, no futuro, a realização de uma deteção adicional antes de chegar ao comércio final de modo a minimizar a comercialização de peixe infetado, sendo que os métodos comuns de deteção por luz branca de alta

intensidade ou por luz UV apresentam uma baixa eficiência de deteção dos nematodes (Levsen *et al.*, 2005). Um estudo Belga apresenta dados sobre a presença de fases larvares de Anisakidae em postas de Bacalhau a nível do comércio a retalho, detetando os nematodes em um quinto das amostras analisadas, comprovando a necessidade de um controlo mais apertado do que é implementado de momento (Mercken *et al.*, 2021).

Este estudo tem como objetivos avaliar a prevalência de Anisakidae e realizar uma correlação de dados relativos à carga parasitária com as espécies de Bacalhau, Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*), Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) e do Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*), a sua área de captura e o seu peso, determinando efetivamente a importância de um elevado rigor de controlo a nível de Segurança Alimentar a nível industrial em determinados lotes que apresentem os fatores de risco associados a maior carga parasitária.

2) Materiais e Métodos

Aquando de uma vistoria de controlo oficial ao estabelecimento de produtos de pesca, foi pedido, via endereço eletrónico, o envio de informação de lotes aleatórios de entrada de Bacalhau. Os dados fornecidos foram relativos a lotes desde janeiro de 2020 até fevereiro de 2021.

Neste estudo retrospectivo, foram considerados os resultados de análise de 240 amostras de pescado, dos quais 150 de Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*), 80 de Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) e 10 de Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*).

Cada amostra corresponde a um peixe e de cada uma foram fornecidos dados relativos à espécie, quantidade de parasitas, zona de captura, peso, data de análise, volume do lote, método de captura e tipo de matéria-prima de forma a realizar uma corelação destes parâmetros com a carga parasitária. Após a vistoria ao local foram recolhidas amostras físicas de nematodes para posterior identificação e recolha fotográfica no laboratório de Parasitologia na Escola Universitária Vasco da Gama.

Foram recolhidos dados relativos a amostras provenientes de lotes de Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) capturado na FAO 27, nomeadamente na Subárea 27.1 “Mar de Barents” e Subárea 27.2 “Mar da Noruega, Spitsbergen e Ilha do Urso”, assim como na Divisão 27.5.a “Islândia”. Foram também recolhidos dados dos lotes de Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) e dos lotes de Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) na zona de pesca FAO 67, que não apresenta Subáreas ou Divisões.

Dos lotes analisados, 268, 337, 338 e 392 correspondem a Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) congelado e o lote 299 a Bacalhau salgado verde, capturado nas Subáreas 27.1 e 27.2. Os lotes 292, 362 e 371 correspondem a Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) salgado verde capturado na Divisão 27.5.a. Os lotes MD01, MD03 e 329 correspondem a Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) salgado verde e os lotes 411, 415 C1 e 415 C2 correspondem a Bacalhau congelado capturado na zona de pesca FAO 67. Os lotes MQ03 e MQ04 correspondem a Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) salgado seco capturado na zona de pesca FAO 67.

Segundo a instrução de trabalho industrial, é realizado um controlo por amostragem pela equipa de segurança alimentar em cada lote de peixe. O controlo é realizado em função do volume total do lote em quilogramas sendo o nível de aceitação avaliado em função do peso da amostra (Tabela 1). Este controlo é realizado por ser legalmente exigido para exportação para o mercado brasileiro.

Tabela 1 - Plano de Amostragem por volume do lote (comunicação pessoal).

| Peixe sem cabeça e sem víscera, congelado, fresco ou salgado | | |
|---|--|---------------------------|
| Volume do lote (em quilogramas) | Número de peixe a ser inspecionados | Nível de aceitação |
| ≤ 20.000 kg | 10 | ≤ 5 parasitas por peixe |
| > 20.000 kg a ≤ 80.000 kg | 15 | |
| > 80.000 kg a ≤ 150.000 kg | 20 | |
| > 150.000 kg | 25 | |

Após obter as amostras de pescado eviscerado, foi efetuada uma inspeção visual macroscópica numa bancada com luz branca de alta intensidade via "Candle table" para avaliar a presença dos parasitas e proceder à sua remoção da musculatura (Figura 8). O lote foi rejeitado ou retrabalhado sempre que foram detetados dois ou mais parasitas, por cada quilograma de peixe, encapsulados com mais de 3 mm de diâmetro ou um parasita não encapsulado com mais de 10 mm.



Figura 8 - Inspeção visual macroscópica do pescado com auxílio de bancada com luz branca de alta intensidade (Memorando-Circular nº 2/2018/CGI/DIPOA/MAPA/SDA/MAPA de 08 de fevereiro de 2018).

Foi feita a estatística descritiva dos dados recolhidos relativos ao grau de infeção parasitária, relacionando-os com a espécie, peso e local de captura com recurso ao Microsoft Excel. Posteriormente, foi feita a análise bivariada usando o teste qui-quadrado de Pearson com recurso ao R Statistical Software (R Core Team, 2019). Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos (Stangroom, 2021).

3) Resultados

I. Prevalência Geral

A prevalência total de larvas de Anisakidae para a totalidade das 240 amostras foi de 47%, sendo 169 destas negativas e 71 positivas (Gráfico 1).

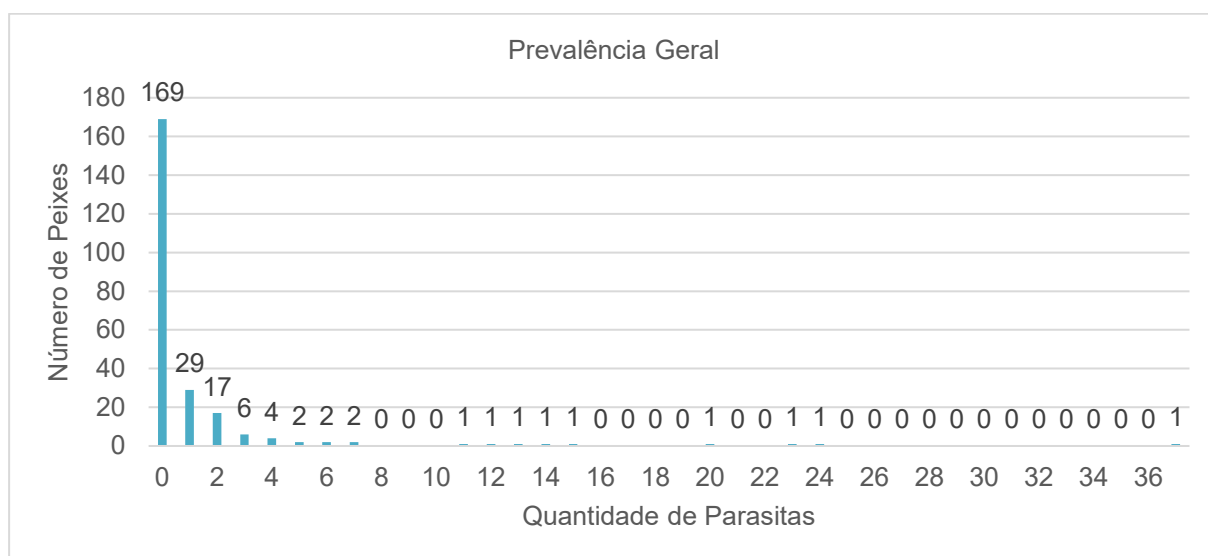


Gráfico 1 - Quantidade de parasitas (total) por total de peixes analisados.

II. Prevalência total nos lotes

Dos lotes de Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) a média de parasitas do lote 362 é de 0,133, média de parasitas do lote 371 é de 0,0667, os restantes lotes apresentam média 0 (Gráfico 2). Dos lotes de Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) a média de parasitas do lote MD01 é de 0,2, média de parasitas do lote MD03 é de 0,6, média de parasitas do lote 329 é de 1,5, média de parasitas do lote 411 é de 10,6, média de parasitas do lote 415 C1 é de 1,53, média de parasitas do lote 415 C2 é de 1,84 (Gráfico 3). Os lotes de Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) apresentam média 0 (Gráfico 4).

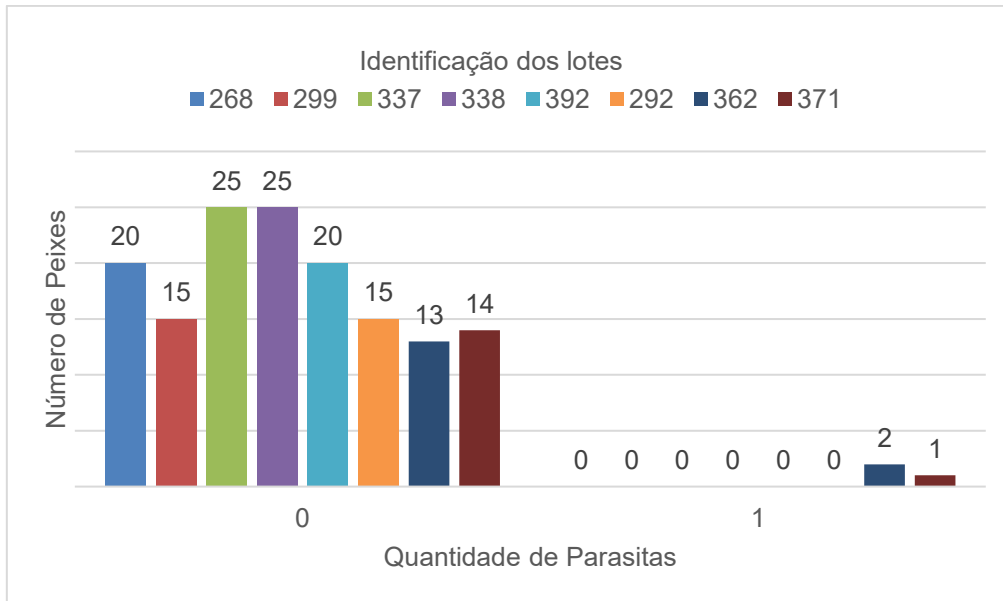


Gráfico 2 - Quantidade de parasitas (total) por peixes analisado por cada lote, referente a *Gadus morhua*.

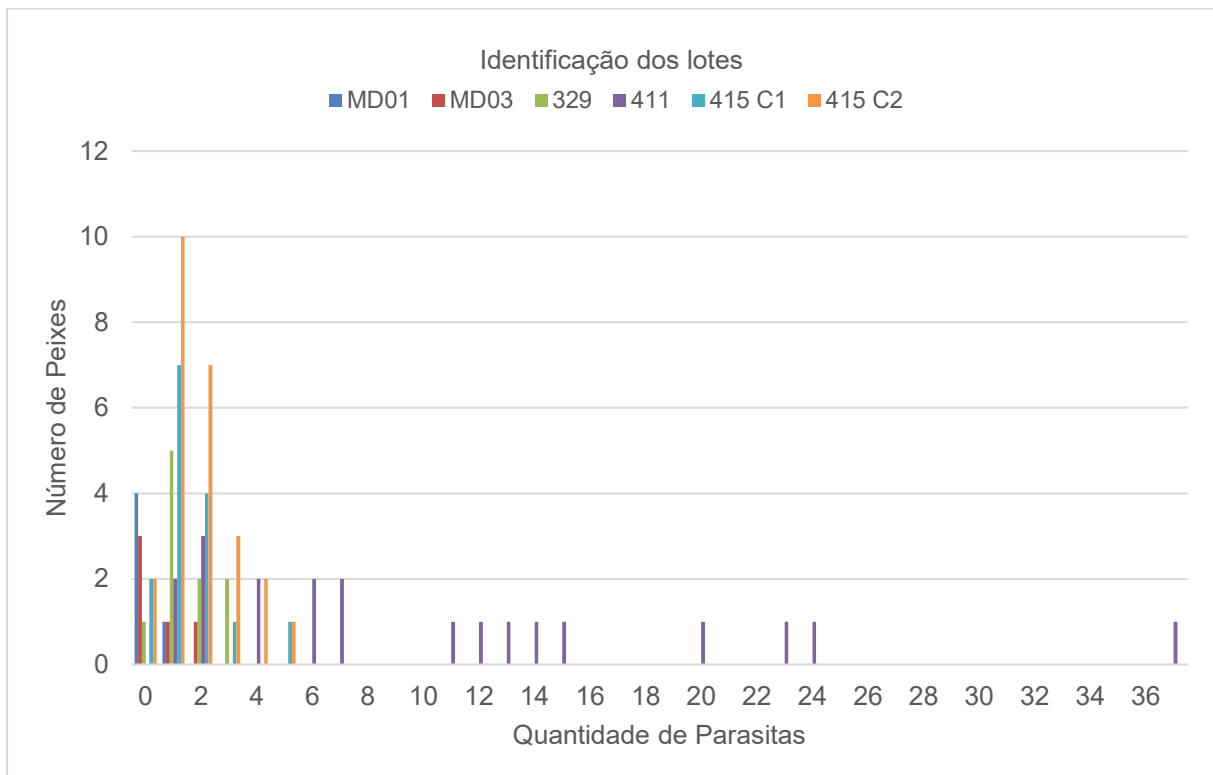


Gráfico 3 - Quantidade de parasitas (total) por peixes analisado por cada lote, referente a *Gadus macrocephalus*.

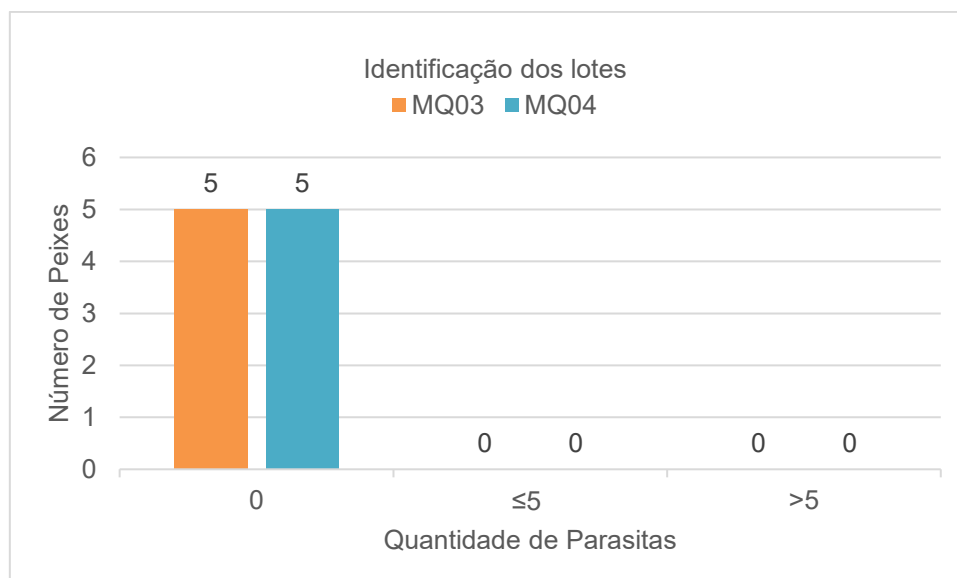


Gráfico 4 - Quantidade de parasitas (total) por peixes analisado por cada lote, referente a *Gadus chalcogramma*.

III. Prevalência por Espécie

Foram analisadas 150 amostras de Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*), destes, três amostras foram positivas para presença de parasitas (2%). Das 80 amostras analisadas de Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*), 68 foram positivas (85%) das quais 13 encontravam-se com acima do grau aceitação. Nenhuma das 10 amostras de Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) foram positivas (0%) (Gráfico 5). Foi realizado um teste de independência do qui-quadrado para examinar a relação entre a quantidade de parasitas e a espécie. A relação entre essas variáveis foi significativa para a espécie *Gadus macrocephalus* $X^2 (4, N = 240) = 177, p < 0,001$.

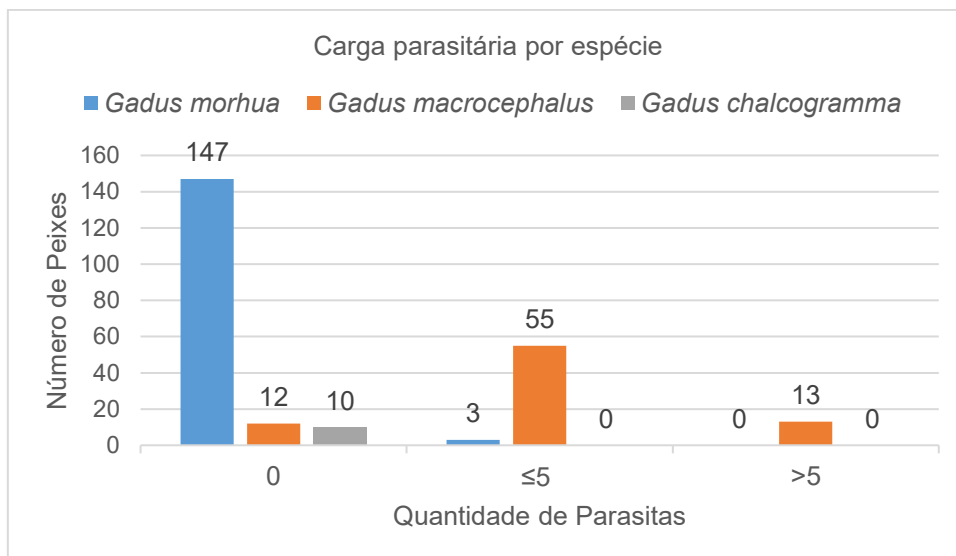


Gráfico 5 - Quantidade de parasitas (grau de aceitação) por peixes analisado em função à espécie.

IV. Prevalência por Zona de Captura

Foram analisadas 105 amostras de Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) capturado nas Subáreas 27.1 e 27.2, destes zero amostras foram positivas (0%). Das 45 amostras analisadas de Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) capturado na Subárea 27.5.a, três amostras foram positivas (3%). Das 90 amostras analisadas de pescado capturado na zona de pesca FAO 67, 68 foram positivas (76%) (Gráfico 6). Foi realizado um teste de independência do qui-quadrado para examinar a relação entre a quantidade de parasitas e a zona de captura. A relação entre essas variáveis foi significativa para a FAO 67 $\chi^2(4, N = 240) = 147, p < 0,001$.

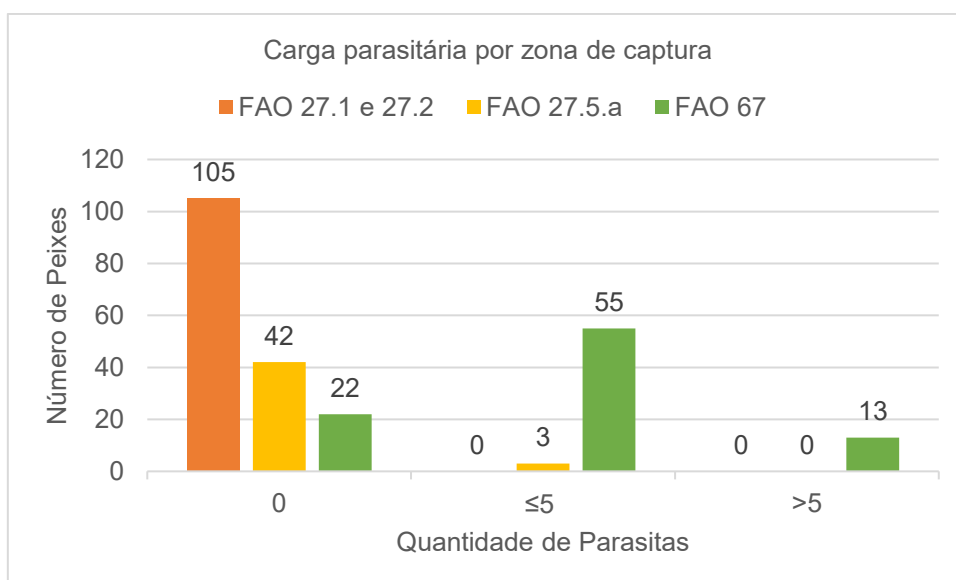


Gráfico 6 - Quantidade de parasitas (grau de aceitação) por peixes analisado em função à zona de captura.

V. Prevalência por Peso

Apenas foi possível recolher os dados relativos ao peso de 70 amostras de Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*). Das 70 amostras analisadas, 40 apresentavam um peso inferior a 5 kg e destas 31 foram positivas (78%). Trinta amostras apresentavam um peso superior a 5 kg, destas 28 foram positivas (93%), dentro destas 13 apresentavam uma carga parasitária superior ao limite aceitável (Gráfico 7). Foi realizado um teste de independência do qui-quadrado para examinar a relação entre a quantidade de parasitas e o peso. A relação entre essas variáveis foi significativa para um peso superior a 5 kg $X^2(2, N = 70) = 22, p < 0,001$.

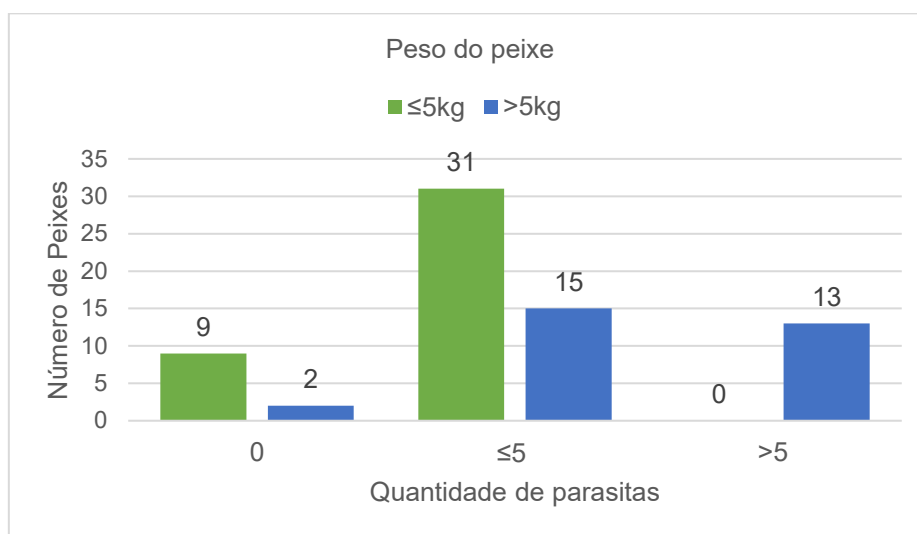


Gráfico 7 - Quantidade de parasitas (grau de aceitação) por peixes analisados em função do peso, referente a *Gadus macrocephalus*.

VI. Amostras físicas de nematodes

Foram recolhidos 6 nematodes identificados como Anisakidae após inspeção visual macroscópica numa bancada com luz branca de alta intensidade via "Candle table", encontrados num lote de Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*), posteriormente foram avaliados à lupa no laboratório de Parasitologia na Escola Universitária Vasco da Gama (Figura 9).



Figura 9 - Nematodes Anisakidae, observados à lupa (Araújo F., 2021).

4) Discussão e Conclusões

Existe uma aparente relação da carga parasitária com a espécie, sendo o valor estatisticamente significativo ($X^2(4, N = 240) = 177, p < 0,001$), havendo uma maior prevalência de infecção no Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*), cerca de 85%. Esta prevalência é suportada por estudos realizados nas águas japonesas (Gomes *et al.*, 2020). Esta elevada carga parasitária poderá estar relacionada com as principais presas que constam na dieta desta espécie (Yang, 2004), pois são consideradas os principais hospedeiros intermediários para Anisakidae (CDC, 2019).

Apesar de haver uma potencial relação com a zona de captura da FAO 67 (valor estatisticamente significativo $X^2(4, N = 240) = 147, p < 0,001$), e uma prevalência de infecção de 76%, seria no entanto necessário recolher mais amostras referentes a Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*) com prevalência de infecção de 0% para poder chegar a uma conclusão mais aprofundada, podendo os resultados estar influenciados com a elevada prevalência de infecção de 85% no Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*). A elevada quantidade de parasitas presente pode estar relacionada com a presença de grandes mamíferos aquáticos na zona de captura, visto que estes provocam uma maior pressão de infecção no ecossistema, como relatado com a população de focas ao longo da costa este da Suécia (Lunneryd *et al.*, 2015). O aumento da maioria das populações de mamíferos marinhos na região (Muto *et al.*, 2020) relacionado com a implementação da Lei de Proteção de Mamíferos Marinhos pelos Estados Unidos da América poderá suportar esta hipótese, sendo necessário realizar mais estudos nesse sentido.

Aquando da análise dos dados não foi possível realizar uma separação efetiva das Subáreas 27.1 e 27.2 devido à junção de lotes a nível industrial, o resultado apresentou uma completa ausência de parasitas o que aparenta um possível desacordo com o relatado na literatura (Gay *et al.*, 2018) que parece demonstrar não só a presença de parasitas nestes locais como diferenças significativas entre estas duas Subáreas. Os resultados não concordantes com a literatura podem estar relacionados com

o controlo ser feito em peixes eviscerados sendo que na sua maioria a literatura avalia a presença em peixes inteiros com a localização das larvas perto das vísceras, sendo que as formas larvares penetram a parede do estômago para tentar alcançar o tecido muscular (Petrie *et al.*, 2007) ou pelo facto de os métodos utilizados a nível industrial não serem os mais eficazes na deteção de nematodes (Levsen *et al.*, 2005).

Existe também uma aparente relação entre o peso do peixe e a carga parasitária, sendo o valor estatisticamente significativo ($\chi^2(2, N = 70) = 22, p < 0,001$), verificando-se uma maior carga parasitária em peixes com mais de 5 kg. É de notar que peixes mais pesados são na sua maioria peixes mais velhos podendo estabelecer-se também uma relação da carga parasitária com a idade, esta relação vai de acordo com os estudos realizados no Bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) (Gay *et al.*, 2018).

A quantidade de amostras analisadas foi bastante reduzida, em especial as amostras referentes a Paloco-do-Pacífico (*Gadus chalcogramma*), o que poderá ter influenciado a análise de dados. Isto poderá ser devido à dificuldade a nível industrial de ter pessoal disponível para fornecer os dados necessários, no entanto, um maior número de amostras poderia ter fortalecido a análise estatística, de modo a aprofundar as conclusões estabelecidas.

A elevada prevalência de parasitas em Bacalhau-do-Pacífico (*Gadus macrocephalus*) (85%) poderá justificar a implementação de um controlo mais apertado na manipulação dos lotes desta espécie com uma particular atenção aos indivíduos com tamanhos maiores. O controlo por amostragem para definir o grau de infeção do lote, deverá ser uniformizado na generalidade do setor industrial do processamento de Bacalhau dado ser uma boa prática para a deteção de parasitas. Na totalidade dos lotes definidos com presença de Anisakidae, deverá ser usada uma bancada de luz branca de alta intensidade via "Candle table" para retirar os parasitas de modo a não chegar ao mercado produto com potencial capacidade de causar reações alérgicas.

Referências Bibliográficas

- Adams, C. F., Pinchuk, A. I., Coyle, K. O. (2007). Seasonal changes in the diet composition and prey selection of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) in the northern Gulf of Alaska. *Fisheries Research*, 84(3), 378–389. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2006.11.032>
- Adroher-Auroux, F. J., Benítez-Rodríguez, R. (2020). Anisakiasis and *Anisakis*: An underdiagnosed emerging disease and its main etiological agents. *Research in Veterinary Science*, 132(May), 535–545. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.08.003>
- Audicana, M. T., Kennedy, M. W. (2008). *Anisakis simplex*: from Obscure Infectious Worm to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clinical microbiology reviews*, 21(2), 360–379. <https://doi.org/10.1128/CMR.00012-07>
- Bertheussen, B. A., Dreyer, B. M. (2019). Is the Norwegian cod industry locked into a value-destructive volume logic?. *Marine Policy*, 103(January), 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2019.02.023>
- Bezerra, T. N., Eisendle, U., Hodda, M., Holovachov, O., Leduc, D., Mokievsky, V., Vanreusel, A. (2021). Nemys: World Database of Nematodes. Anisakidae Railliet & Henry, 1912. Acedido a 15 de junho, 2021, <http://nemys.ugent.be/aphia.php?p=taxdetails&id=19961>
- Cavallero, S., Nadler, S. A., Paggi, L. (2011). Molecular characterization and phylogeny of anisakid nematodes from cetaceans from southeastern Atlantic coasts of USA , Gulf of Mexico , and Caribbean Sea. *Parasitology Research*, 108(4), 781–792. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2226-y>
- CDC. (2019). Parasites - Anisakiasis. Acedido a 10 de maio, 2021, <https://www.cdc.gov/parasites/anisakiasis/biology.html>
- Choi, S., Lee, J., Kim, M., Hur, G., Shin, S., Park, H. (2009). The Clinical Characteristics of *Anisakis* Allergy in Korea. *The Korean journal of internal medicine*, 24(2), 160. <https://doi.org/10.3904/kjim.2009.24.2.160>
- Cleland, L. G., James, M. J., Proudman, S. M. (2006). Fish oil: What the prescriber needs to know. *Arthritis Research and Therapy*, 8(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/ar1876>
- Cohen, D., Inada, T., Iwamoto, T., Scialabba, N. (1990). Fao Species Catalogue Vol. 10. Gadiform Fishes Of The World. *Fao Fisheries Synopsis*, 10(125). <http://www.fao.org/3/T0243E/t0243e.pdf>
- Comissão Europeia. (2021). Denominações comerciais *Theragra chalcogramma*. Acedido a 11 de maio, 2021, https://fish-commercial-names.ec.europa.eu/fish-names/species_pt?sn=35947
- COSEWIC. (2010). *COSEWIC Assessment and Update Status Report on the Atlantic Cod (Gadus morhua) in Canada*. Committee on the Status of Endangered Wildlife in Canada.

https://www.sararegistry.gc.ca/virtual_sara/files/cosewic/sr_Atlantic%20Cod_0810_e1.pdf

- Decreto-Lei nº 25/2005 de 28 de Janeiro. Ministério da Agricultura, Peixes e Alimentação, Pub. L. No. Diário da República nº 20 – Série I-A. (2005). Lisboa. <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/25/2005/01/28/p/dre/pt/html>
- DGAV. (2018). Aprovação de estabelecimentos do setor alimentar - Guia de Orientação. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. https://www.fipa.pt/uploads/fotos_artigos/files/Guia.pdf
- EFSA. (2010). Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) - Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA journal*, 8(4), 1543. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1543>.
- Fahay, M. P., Berrien, P. L., Johnson, D. L., Morse, W. W. (1999). Atlantic Cod, *Gadus morhua*, Life History and Habitat Characteristics. Essential Fish Habitat Source Document. *NOAA Technical Memorandum, NMFS-NE, 124*, 50. <https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/3099>
- FAO. (2004). *The CWP Handbook of Fishery Statistical Standards*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/3/j4000e/j4000e.pdf>
- FAO. (2015). FAO Major Fishing Areas for Statistical Purposes. Acedido a 4 de fevereiro, 2021, <http://www.fao.org/3/i4763e/i4763e.pdf>
- FDA. (2021). *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance*. US Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. <https://www.fda.gov/media/80637/download>
- Froese, R., Pauly, D. (2021a). FishBase. *Gadus macrocephalus* Tilesius, 1810. Acedido a 15 de junho, 2021, no World Register of Marine Species <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=254538>
- Froese, R., Pauly, D. (2021b). FishBase. *Gadus morhua* Linnaeus, 1758. Acedido a 15 de junho, 2021, no World Register of Marine Species <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=126436>
- Gärdenfors, U., Stattersfield, A. J. (1996). *1996 IUCN Red List of Threatened Animals*. IUCN. <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/RL-1996-001.pdf>
- Gay, M., Bao, M., Mackenzie, K., Pascual, S., Buchmann, K., Bourgau, O., Pierce, G. J. (2018). Infection levels and species diversity of ascaridoid nematodes in Atlantic cod, *Gadus morhua*, are correlated with geographic area and fish size. *Fisheries Research*, 202, 90–102. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.06.006>
- Gomes, T. L., Quiazon, K. M. A., Kotake, M., Itoh, N., Yoshinaga, T. (2020). *Anisakis* spp. in fishery products from Japanese waters: Updated insights on host prevalence and human infection risk factors. *Parasitology International*, 78, 102137. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102137>

- Hemmingsen, W., MacKenzie, K. (2001). The Parasite Fauna of the Atlantic Cod, *Gadus*. *Advances in Marine Biology*, 40, 1-80. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(01\)40002-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(01)40002-2)
- INE. (2017). *Balança Alimentar Portuguesa 2012-2016*. Instituto Nacional de Estatística. https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=289818234&PUBLICACOESmodo=2
- INE. (2020). *Estatísticas da Pesca: 2019*. Instituto Nacional de Estatística. <https://www.ine.pt/xurl/pub/435690295>
- Levsen, A., Lunestad, B. T., Berland, B. (2005). Low detection efficiency of candling as a commonly recommended inspection method for nematode larvae in the flesh of pelagic fish. *Journal of Food Protection*, 68(4), 828–832. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.4.828>
- Lunneryd, S., Boström, M. K., Aspholm, P. E. (2015). Sealworm (*Pseudoterranova decipiens*) infection in grey seals (*Halichoerus grypus*), cod (*Gadus morhua*) and shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*) in the Baltic Sea. *Parasitology research*, 114(1), 257–264. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4187-z>
- Marshall, H. D., Coulson, M. W., Carr, S. M. (2008). Near neutrality, rate heterogeneity, and linkage govern mitochondrial genome evolution in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) and other gadine fish. *Molecular Biology and Evolution*, 26(3), 579–589. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn279>
- Matias, R. L. da G. (2016). Os Arrastões do Bacalhau (1909-1993) [Master's thesis, Universidade de Lisboa]. Repositório da Universidade de Lisboa. https://repositorio.ul.pt/handle/10451/27175?locale=pt_PT
- Memorando-Circular nº 2/2018/CGI/DIPOA/MAPA/SDA/MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2 § (2018). Brasília. https://www.seafoodbrasil.com.br/wp-content/uploads/2018/02/Memorando-Circular-CGI-02-18.-Controle-oficial-de-parasitas-em-pescado.-SEI_21000.004629_2018_36.pdf
- Mercken, E., Damme, I. Van, Š, B., Vangeenberghe, S., Serradell, A., Lumain, J. P. L., Gabriël, S. (2021). High occurrence of Anisakidae at retail level in cod (*Gadus morhua*) belly flaps and the impact of extensive candling. *Food and Waterborne Parasitology*, 22, e00108. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2020.e00108>
- Moneo, I., Carballeda-sangiao, N., González-muñoz, M. (2017). New Perspectives on the Diagnosis of Allergy to *Anisakis* spp. *Current allergy and asthma reports*, 17(5), 27. <https://doi.org/10.1007/s11882-017-0698-x>
- Moutinho, M. (1985). *História da pesca do Bacalhau*. Editorial Estampa. <http://www.mariomoutinho.pt/images/PDFs/LIVROSdigitalizados/HistoriaBacalhau.pdf>
- Muto, M. M., Helker, V. T., Delean, B. J., Angliss, R. P., Boveng, P. L., Breiwick, J. M., ... Zerbini, A. N.

- (2020). *Alaska Marine Mammal Stock Assessments, 2019*. Alaska Fisheries Science Center. <https://doi.org/https://doi.org/10.25923/9c3r-xp53>
- Nadolna, K., Podolska, M. (2014). Anisakid larvae in the liver of cod (*Gadus morhua*) from the southern Baltic Sea. *Journal of Helminthology*, 88(2), 237–246. <https://doi.org/10.1017/S0022149X13000096>
- NOAA. (2020). Behind the Scenes of the Most Consumed Seafood. Acedido a 20 de junho, 2021, <https://www.fisheries.noaa.gov/feature-story/behind-scenes-most-consumed-seafood>
- NOAA. (2021). Species Directory: Atlantic Cod. Acedido a 20 de junho, 2021. <https://www.fisheries.noaa.gov/species/atlantic-cod>
- Petrie, A., Wootten, R., Bruno, D., MacKenzie, K., Bron, J. (2007). A Survey of *Anisakis* and *Pseudoterranova* in Scottish fisheries and the efficacy of current detection methods. *FSAS Project*, S14008. https://www.researchgate.net/publication/228362845_A_Survey_of_Anisakis_and_Pseudoterranova_in_Scottish_fisheries_and_the_efficacy_of_current_detection_methods_FSAS_Project_S14008
- Pettersen, I. K., Myrland, Ø. (2016). A cod is a cod, but is it a commodity?. *Journal of Commodity Markets*, 3(1), 70-75. <https://doi.org/10.1016/j.jcomm.2016.07.003>
- Podolska, M., Nadolna-a, K., Pawlak, J. (2019). How effective is freezing at killing *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova krabbei*, and *P. decipiens* larvae? An experimental evaluation of time-temperature conditions. *Parasitology research*, 118(7), 2139–2147. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06339-1>
- Quiazon, A. K. M. A., Yoshinaga, T., Santos, M. D., Ogawa, K., Quiazon, K. M. A., Yoshinaga, T. À., State, C. L. (2009). Identification of Larval *Anisakis* spp. (Nematoda : Anisakidae) in Alaska Pollock (*Theragra chalcogramma*) in Northern Japan Using Morphological and Molecular Markers. *Journal of Parasitology*, 95(5), 1227–1232. <https://doi.org/10.1645/GE-1751.1>
- R Core Team (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>.
- Rebordão, F. R. (2000). *Classificação artes e métodos de pesca*. IPIMAR. [https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/33831/1/Classificação artes e métodos de pesca.pdf](https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/33831/1/Classificação%20artes%20e%20m%C3%A9todos%20de%20pesca.pdf)
- Regulamento (CE) N° 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004. (2004). *Jornal Oficial Da União Europeia*, 139, 1–51. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A02004R0853-20100715>
- Regulamento (UE) N.o 1276/2011 da Comissão de 8 de Dezembro de 2011. (2011), 8(6), 2010–2012. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX:32011R1276>

- Rose, G. A. (2004). Reconciling overfishing and climate change with stock dynamics of Atlantic cod (*Gadus morhua*) over 500 years. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61(9), 1553–1557. <https://doi.org/10.1139/F04-173>
- Stangroom, J. (2021). How to Report a Chi-Square Test Result (APA). Acedido a 4 de junho, 2021, <https://www.socscistatistics.com/tutorials/chisquare/default.aspx>
- Vidaček, S., Heras, D., Solas, T., Rodriguez-mahillo, A. I., Gonz, M., Mendiz, A. (2009). *Anisakis simplex* allergens remain active after conventional or microwave heating and pepsin treatments of chilled and frozen L3. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(12), 1997–2002. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3677>
- Yang, M. (2004). Diet changes of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) in Pavlof Bay associated with climate changes in the Gulf of Alaska between 1980 and 1995. *Fishery Bulletin*, 102(2), 400–405. <https://spo.nmfs.noaa.gov/sites/default/files/pdf-content/2004/1022/yang.pdf>