

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE *Anisakis* spp. EM CAVALAS (*Scomber colias*)

ALANNY MARIA RICARDO SANTOS

ORIENTADOR:  
MIGUEL JOSÉ SARDINHA DE OLIVEIRA CARDO

COORIENTADOR:  
JACINTO JOSÉ CARNEIRO GOMES

2025

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE *Anisakis* spp. EM CAVALAS (*Scomber colias*)

ALANNY MARIA RICARDO SANTOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR

JÚRI

PRESIDENTE: DOUTOR LUÍS MANUEL MADEIRA  
DE CARVALHO

VOGAIS: DOUTOR JOÃO DE BETTENCOURT  
BARCELOS COTA

DOUTOR MIGUEL JOSÉ SARDINHA OLIVEIRA  
CARDÓ

ORIENTADOR: MIGUEL JOSÉ SARDINHA DE  
OLIVEIRA CARDÓ

COORIENTADOR: JACINTO JOSÉ CARNEIRO  
GOMES

2025

Nome: Alamy Maria Ricardo Santos  
Título da Tese ou Dissertação: Resquisa e Identificação de Amisakio spp. em Cavalos (Seomber colias)  
Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2025  
Designação do curso de  
Mestrado ou de  
Doutoramento: Mestrado em Segurança Alimentar  
Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica  Produção Animal e Segurança Alimentar  
 Morfologia e Função  Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de  6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 11 de Junho de 2025

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura: Alamy Maria Ricardo Santos

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Professor Miguel Cardo, pela sua disponibilidade e orientação. E ao meu coorientador, Professor Jacinto Gomes, pela partilha de conhecimentos e constantes incentivos.

À Docapesca e a todos os seus colaboradores, pela oportunidade de integrar a equipa e realizar as recolhas de amostras necessárias para esta pesquisa. Um agradecimento especial à Isabel Guerreiro, pelo apoio durante as recolhas de amostras, e a todos os colegas que se tornaram amigos.

Aos amigos que fiz ao longo do curso, que tornaram esta caminhada mais leve e alegre. Em especial, à Sylvia, pela sua amizade, e à Beatriz, que foi não só amiga como também orientadora nos momentos finais deste percurso.

Ao João, pelo carinho, amor e confiança. O seu apoio incentivou-me a querer sempre fazer o meu melhor.

A todos aqueles que, de alguma forma, participaram nesta jornada, mesmo que não tenham sido aqui mencionados, deixo o meu sincero e profundo agradecimento.

Ao meu irmão Bruno, cuja inteligência sempre me inspirou a querer aprender mais.

À minha vó Cícera, mulher de força, amor e fé.

Aos meus pais, Cilene e Jean, pela confiança, amor incondicional e esforço constante em proporcionar-me o melhor, mesmo aquilo que, muitas vezes, não puderam ter. Ainda que à distância, sinto a vossa presença e apoio em cada momento.

Agradeço a Deus por ter me permitido viver este sonho. Mesmo com tantas adversidades, nunca me sentir só. Foi em meios a tantos desafios que pude ver o Seu amor na minha vida. Ele colocou pessoas especiais ao meu lado para me apoiarem nesta jornada.

## RESUMO

### PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE *Anisakis* spp. EM CAVALAS (*Scomber colias*)

A presença de parasitas em produtos da pesca representa um risco para a saúde pública e segurança dos alimentos ao longo da cadeia de produção. Entre os principais agentes zoonóticos associados ao consumo de peixes, destaca-se os parasitas *Anisakis* spp., responsáveis por causar anisakuíase em humanos. O presente estudo teve como objetivo investigar a presença de larvas de parasitas do género *Anisakis* em cavalas (*Scomber colias*) capturados na Costa Portuguesa. A amostra foi constituída por 50 exemplares, na qual foi realizada a deteção e identificação das larvas até ao género. A prevalência geral foi de 96%, com predominância de infeção visceral (99%), e 1% na musculatura. Todas as larvas foram classificadas morfológicamente como pertencentes ao Tipo I. A análise estatística revelou correlação moderada entre o peso dos indivíduos e o nível de infeção parasitária ( $r = 0,425$ ;  $p = 0,002$ ), e correlação fraca com o comprimento ( $r = 0,350$ ;  $p = 0,012$ ). Os resultados demonstraram que o método de deteção das larvas com lanterna UV foi capaz de identificar 33,84% mais larvas do que apenas com a inspeção visual. O método com lanterna UV, mesmo na sua forma modificada e de baixo custo, mostrou-se eficaz e aplicável em contextos operacionais com recursos limitados. Os resultados obtidos reforçam a necessidade da implementação de estratégias para mitigação do potencial risco de infeção por *Anisakis* spp. Além disso, destaca-se a importância de ações integradas que envolvam vigilância epidemiológica, sensibilização do consumidor através de divulgação de informação sobre segurança dos alimentos e eventual revisão da legislação em vigor.

**Palavras-chave:** Anisakuíase; Portugal; Produtos da pesca; Segurança dos alimentos; Zoonoses.

## ABSTRACT

### RESEARCH AND IDENTIFICATION OF *Anisakis* spp. IN MACKEREL (*Scomber colias*)

The presence of parasites in fishery products poses a risk to public health and food safety throughout the production chain. Among the main zoonotic agents associated with the consumption of contaminated fish, the larvae of *Anisakis* spp. stand out, responsible for causing anisakiasis in humans. The present study aimed to investigate the presence of larvae of parasites of the genus *Anisakis* in mackerel (*Scomber colias*) captured on the Portuguese coast. The sample consisted of 50 specimens, in which the detection and identification of larvae down to the genus was carried out. The overall prevalence was 96%, with a predominance of visceral infection (99%), and 1% in the muscles. All larvae were morphologically classified as belonging to Type I. Statistical analysis revealed a moderate correlation between individual weight and parasite abundance ( $r = 0.425$ ;  $p = 0.002$ ), and a weak correlation with length ( $r = 0.350$ ;  $p = 0.012$ ). The results showed that the method of detecting larvae using a UV flashlight was able to identify 33.84% more larvae than inspection with the naked eye. The UV flashlight method, even in its modified and low-cost form, has proven to be effective and applicable in operational contexts with limited resources. The results obtained reinforce the need to implement strategies to mitigate the potential risk of infection by *Anisakis* spp. Furthermore, the importance of integrated actions involving epidemiological surveillance, dissemination of information for consumer awareness on food safety and eventually, the need for a review of current legislation is highlighted.

**Key-words:** Anisakiasis; Portugal; Fishery products; Food safety; Zoonoses.

## Índice

LISTA DE FIGURAS .....	VIII
LISTA DE TABELAS .....	IX
LISTA DE GRÁFICOS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	XI
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 CAVALA .....	3
2.2 PARASITAS EM PEIXES .....	4
2.2.1 Nematodes .....	4
2.3 <i>ANISAKIS</i> SPP. ....	5
2.3.1 Ciclo de Vida de <i>Anisakis</i> spp. ....	7
2.3.2 Anisaquíase e Reações Alérgicas .....	9
2.3.3 Anisaquíase em Portugal: Casos clínicos e Padrões de consumo 11	
2.4 MÉTODOS DE DETEÇÃO DE <i>ANISAKIS</i> EM PRODUTOS DA PESCA .....	12
2.5 TÉCNICAS IDENTIFICAÇÕES DE <i>ANISAKIS</i> EM PRODUTOS DA PESCA....	13
2.5.1 Técnicas parasitológicas .....	13
2.5.2 Métodos imunológicos.....	15
2.5.3 Identificação molecular .....	16
2.6 ENQUADRAMENTO LEGAL .....	16
2.7 MEDIDAS DE CONTROLO.....	18
3. OBJETIVOS.....	21

<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
<b>4.1 AMOSTRAGEM.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2 ANÁLISE MORFORMÉTRICA DOS EXEMPLARES.....</b>	<b>22</b>
<b>4.3 NECROPSIA E RECOLHA DOS NEMATODES.....</b>	<b>23</b>
<b>4.4 IDENTIFICAÇÃO DOS NEMATODES.....</b>	<b>24</b>
<b>4.5 ANÁLISE DE DADOS.....</b>	<b>24</b>
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>25</b>
<b>7. DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>36</b>
<b>ANEXOS 1.....</b>	<b>42</b>
<b>ANEXO 2.....</b>	<b>43</b>
<b>ANEXO 3.....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXO 4.....</b>	<b>46</b>

## Lista de figuras

Figura 1. <b>Classificação da Cavala (<i>Scomber colias</i>)</b> . .....	3
Figura 2. <b>Cavala (<i>Scomber colias</i>)</b> . .....	3
Figura 3. <b>Larvas de <i>Anisakis</i> spp.</b> . .....	6
Figura 4. <b>Ciclo biológico Anisaquídeos</b> . .....	8
Figura 5. <b>Larvas de <i>Anisakis</i> spp.</b> . .....	23
Figura 6. <b>Larvas de <i>Anisakis</i> spp.</b> . .....	26
Figura 7. <b><i>Anisakis</i> spp.</b> .....	27

## **Lista de tabelas**

Tabela 1. <b>Características morfométricas de espécies de <i>Anisakis</i> por clado ..</b>	15
Tabela 2. <b>Condições recomendadas para inativação de larvas de parasitas. ...</b>	18
Tabela 3. <b>Caracterização dos lotes.....</b>	25
Tabela 4. <b>Caraterização da amostra quanto ao método de detecção das larvas.</b>	26
Tabela 5. <b>Correlação entre as variáveis peso e comprimento.....</b>	27

## **Lista de gráficos**

**Gráfico 1. Relação entre Peso e Abundância ..... 28**

**Gráfico 2. Relação entre Comprimento e Abundância ..... 28**

## Lista de abreviaturas e símbolos

% - Percentagem

**ACFMNP** - Aliança Contra a Fome e Má-Nutrição Portugal

**EFSA** - European Food Safety Authority (Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos)

**EUMOFA** - European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products (Observatório do Mercado Europeu para Produtos de Pesca e Aquicultura)

**EUROSTAT** - Instituto de Estatística da União Europeia

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

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

**FMV** - Faculdade de Medicina Veterinária

**IC** – Intervalo de confiança

**ISO** – International Organization for Standardization (Organização Internacional de Padronização)

**Km<sup>2</sup>** - Quilómetros quadrado

**L3** - Larvas do 3º estágio

**°C** - Grau Celsius

**PCR** - *Polymerase chain reaction* (Reação em cadeia da polimerase)

**RASFF** - Rapid Alert System for Food and Feed (Sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Rações)

**sp.** – Espécie

**spp.** – Espécies

**UE** - União Europeia

**UV** - Ultravioleta

## 1. INTRODUÇÃO

O estado europeu com a maior Zona Económica Exclusiva (ZEE) é Portugal, com cerca de 4 milhões de Km<sup>2</sup> de zona marítima, estando entre os maiores do mundo (DGRM 2018). A costa de Portugal está localizada na subárea 27.9, pertencente a Zona de pesca do Atlântico Nordeste (Área 27), conforme definida pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), essa zona abrange uma vasta área marítima dos oceanos Atlântico e Ártico, e seus mares dependentes (FAO 2017). Em virtude da sua extensa zona marítima, o seu ecossistema possui uma grande diversidade de espécies, sendo na atualidade uma importante fonte recursos naturais (MarBIS 2021). Entre esses recursos, os produtos da pesca destacam-se por fornecer proteínas de alta qualidade e nutrientes essenciais, como o ácido gordo ómega-3 (FAO 2024).

O consumo de produtos da pesca apresentou um crescimento significativo a partir de 1970, como resultado da evolução da cadeia produtiva. Entre os principais fatores que favoreceram esse aumento, destacam-se o aperfeiçoamento dos meios de captura, o desenvolvimento industrial, aumento do poder de compra e a melhoria na distribuição do pescado (Carvalho-Varela 2005). A FAO (2024) assinala que o desenvolvimento de tecnologias de conservação e distribuição, a expansão da oferta, o aumento da rentabilidade e as novas tendências alimentares têm sido elementos cruciais para o crescimento contínuo do consumo *per capita* de produtos da pesca. Dessa forma, tanto os avanços na cadeia produtiva quanto as mudanças nas dinâmicas de consumo desempenham um papel fundamental na elevação do consumo global de produtos da pesca.

O consumo médio mundial alcançou 20,7 kg *per capita* em 2022, representando um aumento de 11,6 kg em relação ao consumo registado em 1961 (FAO 2024). Portugal está entre os três maiores consumidores de produtos da pesca *per capita* no mundo, e ocupa o primeiro lugar na União Europeia (ACFMNP 2021). Estima-se que, em 2021, o consumo de produtos da pesca e aquicultura em Portugal foi de 56,52 Kg per capita (EUMOFA 2023).

Em 2022, 89% da produção mundial de produtos da pesca, foram destinados ao consumo humano, enquanto os 11% remanescentes foram alocados para usos não alimentares, como farinha e óleo de peixe. Os produtos foram predominantemente distribuídos sem qualquer tipo de processamento, representando 43% do total na forma viva, fresca ou refrigerada. Em seguida, encontraram-se os congelados, que corresponderam a 35%,

seguidos pelos produtos preparados e preservados, com 12%, e pelos curados, que totalizaram 10% (FAO 2024).

Todas as espécies de peixes de origem selvagem marinha podem ser expostas ou infetadas por parasitas zoonóticos, devido à baixa especificidade em relação às espécies de hospedeiros intermediário (EFSA 2024b). Assim, todos os produtos da pesca selvagem apresentam um potencial risco de presença de parasitas viáveis, quando consumidos crus ou sem tratamento adequado (EFSA 2010). A presença de parasitas no pescado é um fenómeno relativamente comum (Chong 2015). No entanto, o número de espécies de parasitas capazes de representar perigo para a saúde humana é baixo (EFSA 2024a).

Além dos potenciais danos causados ao consumidor pela infeção de parasitas veiculados por produtos da pesca, a ingestão de partículas do agente parasitário pode também ocasionar reações alérgicas aos consumidores (DGAV 2014). Portanto, é fundamental realizar a identificação adequada das espécies de parasitas presentes e avaliar seu potencial patogénico, a fim de compreender os impactos que esses organismos podem causar na saúde dos consumidores (Chong 2015).

O género de parasitas *Anisakis* spp. é um dos principais associados ao risco de infeções pelo consumo de produtos da pesca contaminados, e sua presença nesses produtos tem impacto na segurança dos alimentos e na economia azul. Os casos de infeção por *Anisakis* estão associados ao consumo de preparações tradicionais de peixe fresco, caracterizadas por cozedura insuficiente, fermentação ou secagem. As espécies de produtos da pesca utilizadas nestes tipos de preparados variam consoante a localização geográfica e os hábitos culturais (DGAV 2014; Mattiucci et al. 2018). A espécie *Anisakis simplex* foi identificada como agente causador de reações alérgicas após a ingestão de produtos da pesca infetados (EFSA 2024a).

Desta forma, atendendo ao elevado consumo de pescado pela população Portuguesa, ao qual se somam as novas gastronomias com utilização de pescado cru (como os pratos de sushi, sashimi, ceviche, gravlax, etc.) e a sua potencial infeção com *Anisakis* spp., levou-nos a conceber este estudo em cavalas, como forma de avaliar o seu potencial risco para a infeção humana em Portugal.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cavala

De acordo com o Sistema Integrado de Informação Taxonómica (2025), a classificação (Figura 1) da cavala do Atlântico (*Scomber colias*) é:

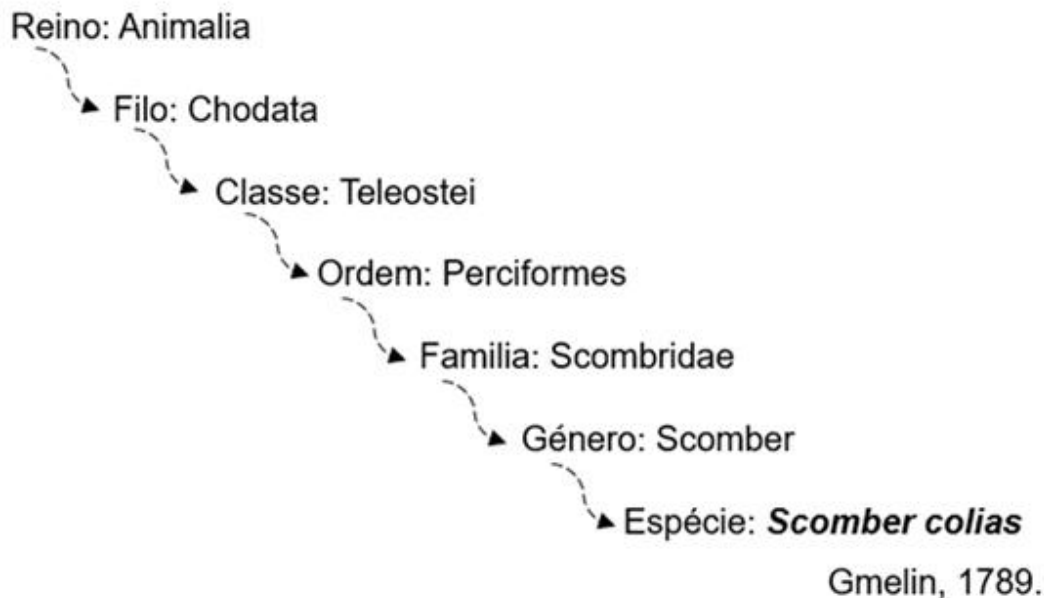


Figura 1. **Classificação da Cavala (*Scomber colias*)**. (Original).

A Cavala (*Scomber colias*) é uma espécie caracterizada pela ausência de escamas, corpo fusiforme e cabeça cônica (Figura 2). Sua coloração dorsal é formada por tonalidades azul-esverdeadas e linhas irregulares e escuras que lembram a pelagem de tigres. No ventre, a espécie apresenta uma coloração prateada com presença de pequenas marcas escuras (sardas), que a distinguem da Sarda (*Scomber scombrus*) (Gmelin 1789; SFS 2014; Martins e Carneiro 2018).



Figura 2. **Cavala (*Scomber colias*)**. (Original).

É uma espécie marinha de domínio pelágico, encontrada no nordeste do Oceano Atlântico e no Mar Mediterrâneo, em zonas costeiras com profundidade de até 300 metros. São observados em grandes cardumes, caracterizados por comportamento migratório. Os cardumes da espécie realizam atividade de caça de peixes, moluscos e pequenos crustáceos durante o período noturno. O período de reprodução ocorre entre os meses de fevereiro a abril. A captura é realizada pela utilização de diferentes artes de pesca, nomeadamente as do cerco, arrasto e redes de emalhar, e o tamanho mínimo de captura em águas portuguesas é de 20cm (SFS 2014; CE 2015; MVBIO 2025).

Em 2023, os resultados da captura de cavala demonstraram relevância na Zona do Atlântico Nordeste, representando 10% do total das capturas realizadas. Essa percentagem posiciona a cavala como a quarta espécie mais capturada nesta zona (Eurostat 2024), revelando a sua importância no sistema produtivo da pesca.

## **2.2 Parasitas em peixes**

Os parasitas em peixes são considerados patógenos primários, visto que não necessitam de afeções prévias para infectar o hospedeiro. Essa característica, atribui-lhes um maior potencial de disseminação no ambiente, e conseqüentemente, estando amplamente distribuídos em diversos ecossistemas aquáticos (Valladão 2022).

Os sinais e lesões observados podem ser semelhantes a diversas afeções, esta baixa especificidade torna complexa a identificação da infecção. A demonstração de sinais pode variar, com base em três fatores, que podem estar ou não inter-relacionados, sendo eles, as características do indivíduo, do parasita e do ambiente (Carvalho-Varela 2005).

Entre os parasitas com potencial zoonótico, destacam-se os nematodes, trematodes e cestodes viáveis, que constituem os principais grupos com capacidade de transmissão de doenças ao ser humano (EFSA 2010).

### **2.2.1 Nematodes**

Em peixes infectados por nematodes, é comum a observação de redução do índice de condição corporal. Em casos mais graves, pode ocorrer anemia, embora estes sinais sejam menos frequentes. Também podem ser observados sinais de inflamação e danos nos tecidos devido à migração de estádios lavares antes do enquistamento (Chong 2015).

Os estádios larvares dos nematodes ocorrem em hospedeiros intermediários, como peixes ou crustáceos. Comumente, esses estádios encontram-se fora do intestino até serem ingeridos pelo hospedeiro definitivo, caracterizando um ciclo de vida indireto. Neste, desenvolvem-se os adultos e ocorre a fase reprodutiva (Chong 2015).

A abundância e presença dos nematodes nos hospedeiros intermediários estão fortemente influenciadas pelas características específicas da espécie hospedeira e pelas condições ambientais (Caballero-Huertas 2023). A colheita de parasitas para identificação da espécie em estágio adulto é realizada no lúmen do trato intestinal do hospedeiro definitivo, enquanto a colheita de amostras para identificação de estádios larvares ocorre noutros órgãos internos.

A identificação definitiva da espécie de nematode exige a recolha e preparação adequadas dos espécimes, seguida da aplicação de métodos específicos, como a Reação em Cadeia da Polimerase (*PCR*) (Chong 2015).

Os nematodes da família Anisakidae representam uma importante preocupação para as autoridades reguladoras de segurança dos alimentos, devido ao seu reconhecido potencial zoonótico (Chong 2015; EFSA 2024a). Esta família possui elevada relevância em saúde pública, uma vez que pode infetar humanos através da ingestão de produtos da pesca contaminados (Otranto e Wall 2024). Os principais géneros associados a zoonoses são *Anisakis*, *Phocanema* e *Contraecum* (EFSA 2024a), com larvas frequentemente identificadas em peixes e cefalópodes (FDA 2012).

As espécies da família Anisakidae estão presentes em todas as áreas de pesca marinha da FAO. O género *Anisakis* não é relatado na área 58 (Oceano Indico, Antártica); no entanto, há relatos de *Contraecum osculatum* e *Phocanema decipiens* nessa área (EFSA 2024b). Os peixes capturados nas águas portuguesa são comumente parasitados por *Anisakis* spp. (Silva e Eiras 2003).

### **2.3 *Anisakis* spp.**

O género *Anisakis* é constituído por nove espécies reconhecidas: *A. simplex* (s.s.), *A. pegreffii*, *A. berlandi*, *A. ziphidarum*, *A. nascettii*, *A. physeteris*, *A. brevispiculata*, *A. paggiae* e *A. typica*. Estas espécies estão amplamente distribuídas em ambientes aquáticos de todo o mundo. Análises filogenéticas identificaram quatro clados distintos dentro do género (Mattiuci et. al 2018), cujas características morfológicas específicas serão descritas na secção dedicada à identificação morfológica das larvas e adultos.

As espécies do género *Anisakis* são caracterizadas por apresentarem um ventrículo esofágico oblongo e ausência de apêndice. Este parasita não possui ceco intestinal, e o seu poro excretor está localizado na base dos lábios (Euzéby 2008). Como outros parasitas que apresentam um ciclo biológico complexo, o *Anisakis* apresenta alterações morfológicas conforme o estágio do desenvolvimento e hospedeiro infetado (Aibinu et al. 2019).

As larvas de terceiro estágio (L3) de *Anisakis* spp. (Figura 3), frequentemente identificadas em produtos da pesca, apresentam-se encapsuladas em estruturas com formato de espiral plana (semelhantes a molas de relógio), com tamanho médio de 4 a 5 mm (Euzéby 2008; EFSA 2010). Essas larvas localizam-se preferencialmente na cavidade celômica, sendo encontradas na superfície do fígado, gônadas, mesentério e intestino, e por vezes a penetrar na musculatura (Silva e Eiras 2003; Mattiuci et. al 2018).

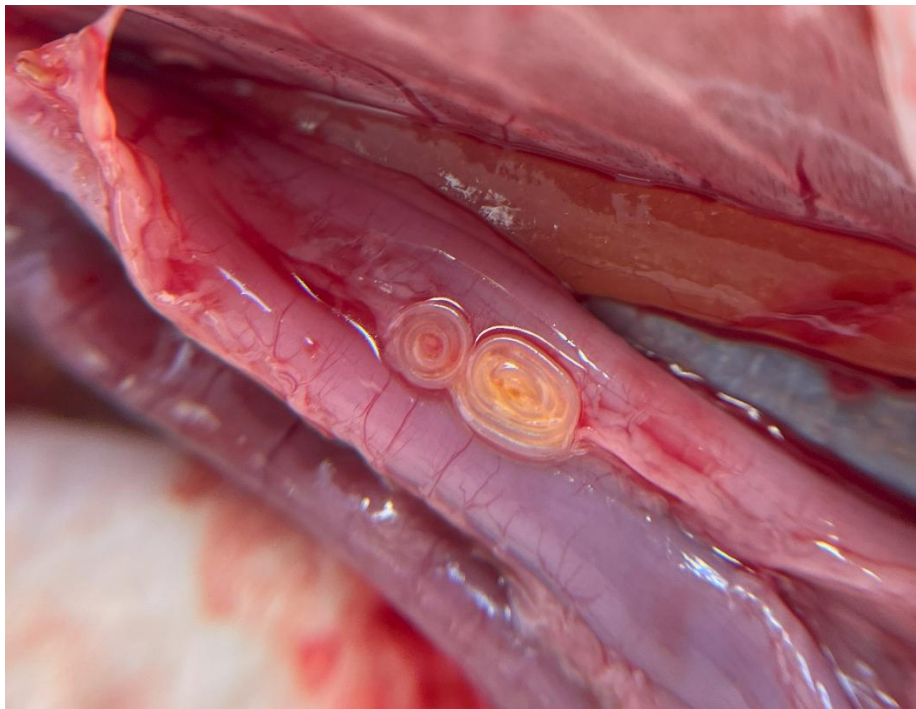


Figura 3. **Larvas de *Anisakis* spp.** (Original).

Os parasitas podem ser observados no trato digestivo de 3 a 6 horas após a infecção; de 6 a 48 horas, no trato digestivo e na cavidade celômica; e, entre 48 e 144 horas, encontrados encapsulados no mesentério, onde a cápsula espiral se forma (López-Verdejo 2022). Os peixes infetados por larvas de L3 de *Anisakis simplex* (s.l.) apresentam lesões leves, principalmente no início da infecção. Nos cortes histológicos, foram observadas hemorragias e resposta inflamatória. Entretanto, essas alterações não eram visíveis macroscopicamente. Após três meses da infecção, a resposta inflamatória diminui, e as alterações raramente são observadas (López-Verdejo 2022).

A localização do encapsulamento larvar está fortemente relacionada com a resposta imunológica individual do hospedeiro, e não à disponibilidade de nutrientes, sendo esse um fator determinante na contenção do desenvolvimento e migração do nematode (EFSA 2010).

A migração pós-morte das larvas de *A. simplex* para a musculatura ainda não é completamente compreendida, com lacunas quanto às condições exatas, momento da ocorrência e espécies afetadas (EFSA 2010). Um estudo observou a migração das larvas de *A. simplex* (s.s.) in vivo e pós-morte, das vísceras para a musculatura nas espécies arenque (*Clupea harengus*), verdelho (*Micromesistius poutassou*) e sarda (*Scomber scombrus*), e demonstrou que a migração nessas espécies pode ocorrer em ambos os períodos (Cipriani et al. 2024).

A distribuição das espécies de *Anisakis spp.* nos oceanos é influenciada por múltiplos fatores, incluindo aspectos bióticos e as características ecológicas dos hospedeiros intermediários, paratênicos e definitivos (Mattiuci et al., 2018; Cipriani et al., 2022). Destacam-se, entre esses fatores, a distribuição geográfica dos hospedeiros definitivos (principalmente cetáceos), bem como a ocorrência dos estádios larvares nos hospedeiros intermediários, nomeadamente os peixes (Cipriani et al., 2022).

As cavalas capturadas nos pesqueiros do Oceano Atlântico apresentaram maior prevalência de *Anisakis spp.* em comparação com seus congêneres capturados no mar Mediterrâneo. A costa oeste da Península Ibérica apresenta os maiores resultados de prevalência e abundância larvar, entre os principais pesqueiros europeus. Nessa área, a prevalência das larvas em amostras colhidas foi de aproximadamente 90%. Em Portugal e noroeste da Espanha, a espécie identificada com maior frequência foi *A. simplex* (s.s.), constituindo 86% dos parasitas identificados, seguido de *A. pegreffi*, com 11%, e 3% das amostras eram heterozigoto entre *A. pegreffi* e *A. simplex* (ss) (Levsen et al. 2018a). Uma das variáveis que contribui para a diferença da distribuição geográfica entre *Anisakis simplex* s.s. e *Anisakis pegreffi* deve-se à sua capacidade de tolerância à temperatura da água do mar. Os estádios iniciais (ovos, larvas de vida livre e L3) de *Anisakis simplex* (s.s.) estão adaptados a temperaturas mais baixas, enquanto *Anisakis pegreffi* apresentam maior tolerância a ambiente com temperatura mais elevada (Gomes et al. 2023).

### **2.3.1 Ciclo de Vida de *Anisakis spp.***

O ciclo de vida dos *Anisakis* envolve várias espécies animais aquáticas, como os mamíferos marinhos e peixes, também podendo acidentalmente infectar humanos (Otranto e Wall 2024). As espécies de *Anisakis* apresentam hospedeiros semelhantes nos seus ciclos

biológicos. Os hospedeiros definitivos são os mamíferos marinhos, os cetáceos; os hospedeiros intermediários são crustáceos planctônicos ou semi-planctônicos; e os paratênicos/transporte são peixes ou lulas (EFSA 2024a).

O ciclo de vida (Figura 4) inicia-se na libertação de ovos não embrionados no ambiente marinho através das fezes do hospedeiro definitivo. No interior do ovo, ocorre a embriogênese, e formação da larva de primeiro e segundo estágio, que eclode e liberta a larvas em estágio 2 (L2). As L2 livres são ingeridas por pequenos crustáceos e após a infecção, o parasita invade a hemocélio e faz a muda para terceiro estágio (L3). Os peixes predadores e cefalópodes são infetados através da ingestão de peixes e crustáceos menores já infetados com a larva de *Anisakis spp.* Neste novo hospedeiro, as larvas migram do trato intestinal para a cavidade celômica onde podem ficar encapsulados, principalmente quando o hospedeiro morre. O ciclo é completado quando o hospedeiro definitivo faz a ingestão do hospedeiro intermediário/paratênico infetado com larvas viáveis no estágio L3. O homem pode ser um hospedeiro acidental após a ingestão de L3 viáveis (Buchmanny e Mehrdana 2016).

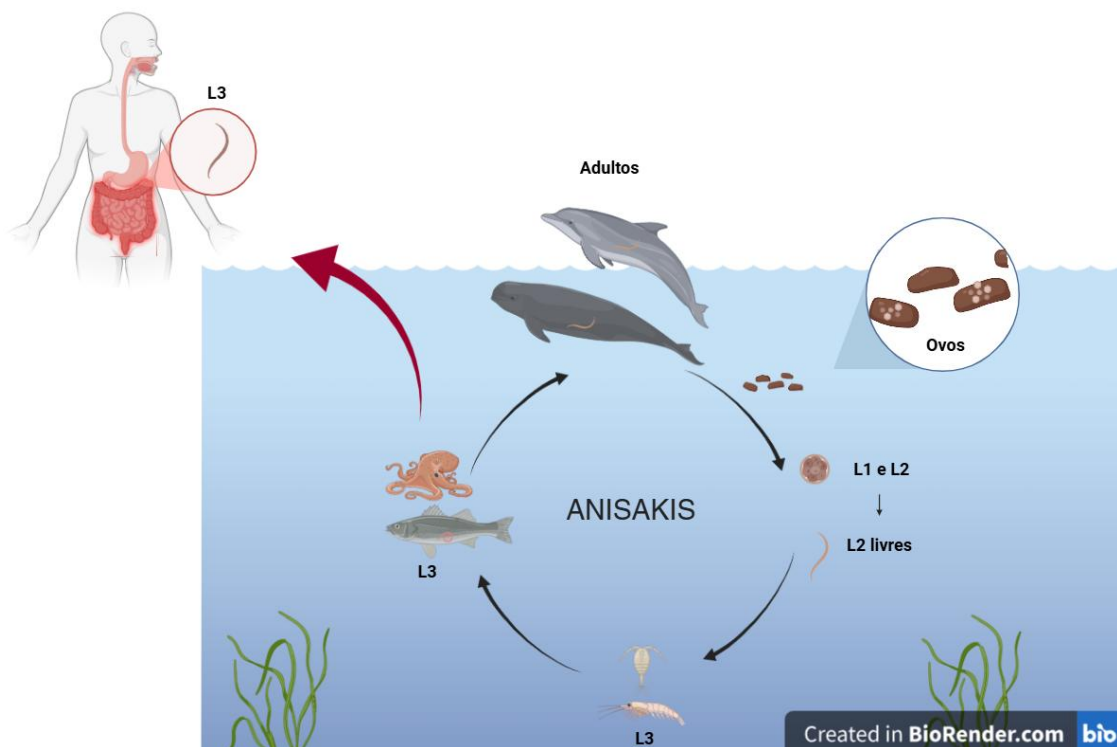


Figura 4. **Ciclo biológico Anisakuídeos.** Fonte: Elaborada pela autora com o programa BioRender.

Embora as espécies do género *Anisakis spp.* apresentem baixa especificidade em relação aos hospedeiros intermediários, sugere-se que os parasitas adultos tenham preferências por determinadas espécies e famílias de cetáceos, como hospedeiros finais (Cipriani et al. 2022). As famílias de cetáceos, Delphinidae, Monodontidae e Phocoenidae

são descritas como hospedeiros definitivos das espécies do complexo *Anisakis simplex*. Os peixes de domínio pelágico, bentopelágico e bentodemersal atuam majoritariamente como hospedeiros intermediários das espécies do complexo *Anisakis simplex* (s.l.), entre as principais famílias desses peixes estão, Gadidae, Merlucciidae, Scombridae (Mattiucci et al. 2018). Nesses peixes, as características do indivíduo, como estágio de vida e padrões alimentares, demonstram que o padrão de infecção causados pelas espécies do complexo *A. simplex* é influenciada pelo ciclo biológico individual (EFSA 2010).

### 2.3.2 Anisaquíase e Reações Alérgicas

A infecção do trato gastrointestinal humano causada por larvas do parasita *Anisakis* spp. em humanos é denominada anisaquíase, uma zoonose emergente de distribuição cosmopolita, cujo número de casos tem aumentado em função do crescimento do consumo de produtos da pesca crus ou pouco processados (Baptista-Fernandes 2017; Mattiucci et al. 2018). Os casos de anisaquíase são frequentemente relatados em países asiáticos, onde há um elevado nível de consumo de produtos crus, e em países do continente europeu, com consumo de preparados tradicionais que não são submetidos a congelação ou aquecimento térmico adequado (Mattiucci et al. 2018). Os principais alimentos associados a essa infecção são as anchovas em conservas, o arenque salgado, o sushi e o sashimi (Audicana et al. 2002; Furuya et al. 2018; Mattiucci 2018; EFSA 2024a).

Atualmente, *A. simplex* (s.s.) e *A. pegreffii* são as espécies associadas a casos de anisaquíase. A espécie *A. berlandi* não foi associada a casos de anisaquíase. As espécies de peixes infetados por *A. ziphidarum* e *A. nascetti* são de baixa relevância comercial. Comumente, são detetadas em espécies de lulas de alta profundidade, e essas não são utilizadas para consumo. Não há dados suficientes para comprovar que as espécies, *A. typica*, *A. physeteris*, *A. brevispiculata* e *A. paggiae* possam causar anisaquíase (Mattiucci et al. 2018).

Estudo conduzido no Japão com análise de larvas provenientes de pacientes infetados e de amostras de cavala (*Scomber japonicus*) demonstrou que todas as larvas envolvidas nas infecções humanas pertenciam à espécie *A. simplex* (s.s.). Os resultados demonstraram que as larvas de *A. simplex* são capazes de invadir mucosas do estômago, intestino delgado e intestino grosso. Em condições experimentais de laboratório, essas larvas apresentaram maior resistência ao suco gástrico e maior capacidade de penetração no ágar sólido quando comparadas com as larvas de *A. pegreffii* (Arizono et al. 2012).

A anisaquíase pode ser classificada de acordo com a localização das larvas no hospedeiro humano em: gástrica, intestinal, gastroalérgica e ectópica (Mattiucci, 2018).

As lesões observadas no trato gastrointestinal durante a anisaquíase resultam da ação da larva no organismo do hospedeiro, bem como da resposta imunitária desencadeada pelas substâncias libertadas ou presente nos parasitas (Audicana e Kennedy 2008). Os sintomas da anisaquíase são variados e, comumente, estão associados a distúrbios gastrointestinais agudos. Podem manifestar-se entre 24 horas e duas semanas após a ingestão de produtos da pesca infetados. O sintoma observado com maior frequência é a dor epigástrica, podendo também ser observadas náuseas, vômitos e diarreias (FDA 2012; Bucci et al. 2013; Furuya et al. 2018; Mattiucci 2018).

Em caso de suspeita de anisaquíase, é essencial realizar uma anamnese detalhada que inclua informações sobre a ingestão de produtos derivados da pesca. Esse procedimento deve ser seguido pela realização de endoscopia e ecografia abdominal, visando o diagnóstico e o tratamento (FDA 2012; Bucci et al. 2013; Furuya et al. 2018; Mattiucci et al. 2018; Rama e Silva 2022). Outro procedimento, que deve ser considerado em casos de suspeita, é a realização de testes imunológicos (IgE específica), por ser um método pouco invasivo (Furuya et al. 2018). No entanto, testes imunológicos para detecção de anticorpos contra o parasita, podem apresentar resultados de reação cruzada entre o *A. simplex* e outras espécies de invertebrados, como o *Ascaris lumbricoides* (EFSA 2010; FDA 2012).

A anisaquíase gastroalérgica é uma reação aguda associada a infecção após a ingestão de larva viável, resultando em sintomas alérgicos que costumam reduzir em 24 horas. No entanto, a resolução dos sintomas gastrointestinais está de acordo com os danos causados no organismo. Além dessas manifestações, outras condições clínicas podem estar associadas à resposta imunológica ao alérgeno, como urticária crônica, gastroenterite eosinofílica, sintomas reumatológicos e dermatológicos (EFSA 2010).

Nos casos clínicos em que os pacientes apresentam reações de hipersensibilidade após a ingestão de produtos da pesca, a exposição ao alérgeno de *A. simplex* deve ser considerada como um diagnóstico diferencial (Audicana et al. 1995).

Os procedimentos de cozedura e congelação de produtos da pesca contaminados com larvas de *Anisakis* (L3) são ineficazes na prevenção de reações alérgicas e de hipersensibilidade. Embora esses métodos sejam eficazes na eliminação do parasita viável, os mesmos não inativam a sua capacidade alergénica (FDA 2012; Morsys 2017). Os resultados dos testes cutâneos demonstraram essa resistência do alérgeno proveniente do *A. simplex*, mesmo após exposição a processos de congelação e tratamento térmico. Consequentemente, demonstra-se que as reações alérgicas podem ocorrer após exposição

apenas ao alérgeno (Audicana et al. 1995). Esta afirmação é reforçada por outros autores, que contestam a ideia de que apenas larvas viáveis são responsáveis pela sensibilização a *A. simplex* (Falcão et al., 2002). Contudo, a probabilidade da ocorrência de sensibilização e reação alérgicas em humanos é maior quando ocorre a ingestão de produtos da pesca contendo larvas viáveis de *A. simplex* em comparação com a ingestão de produtos que contenham fragmentos do parasita (Audicana et al. 2002; EFSA 2010).

Os casos de anisaquíase gastroalérgica e reações alérgicas ao *A. simplex* têm sido frequentemente identificados em algumas regiões de Espanha, com variações nas manifestações clínicas observadas entre essas áreas. No entanto, em outras partes da Europa, a ausência de casos relatados levanta incertezas sobre a real inexistência dessa patologia ou, alternativamente, sobre a falta de conscientização e de investigação diagnóstica adequada (EFSA, 2010).

Segundo Bao et al. (2019), a sensibilização a *Anisakis spp.* é comum em todo o mundo e pode ocorrer de forma assintomática. Contudo, com o consumo contínuo de produtos da pesca contaminados, indivíduos sensibilizados poderiam, eventualmente, desenvolver reações alérgicas após atingirem um determinado limiar de exposição ao alérgeno.

### **2.3.3 Anisaquíase em Portugal: Casos clínicos e Padrões de consumo**

Em Portugal, foram relatados alguns casos clínicos de anisaquíase associados ao consumo de produtos da pesca contaminados. Carmo et al. (2017) descreveram um caso em um paciente do sexo masculino, de 32 anos, que apresentava dor abdominal aguda, vômito e febre. Durante a anamnese, o paciente relatou ingestão recente de sushi. A endoscopia digestiva alta revelou a presença de um parasita aderido à mucosa gástrica. A larva foi removida e identificada como pertencente ao género *Anisakis*, embora não tenha sido realizada a identificação da espécie.

No mesmo ano, Baptista-Fernandes et al. (2017) relataram outro caso, envolvendo uma paciente de 43 anos com sintomas gastrointestinais e alérgicos que surgiram 24 horas após o consumo de peixe-espada grelhado. A endoscopia revelou inflamação gástrica e infecção por um número elevado de parasitas. Foram extraídas 140 larvas viáveis, identificadas como pertencentes ao complexo *Anisakis simplex (s.l.)* por meio de análise morfológica e molecular (rDNA-ITS).

No ano seguinte, Bernardo e Castro-Poças (2018) documentaram o caso de uma paciente com dor epigástrica intensa após consumir peixe cru. Durante a endoscopia gástrica,

foram observadas seis larvas penetrando a mucosa do estômago. A análise parasitológica confirmou a presença de *Anisakis simplex*.

Além dos casos clínicos relatados, a exposição ao parasita pode estar subestimada, principalmente no que diz respeito a manifestações imunológicas e reações de hipersensibilidade, que frequentemente permanecem subdiagnosticadas (Rama e Silva 2022).

Complementarmente, Golden et al. (2022) investigaram os hábitos de consumo de peixe e o conhecimento da população portuguesa sobre *Anisakis* por meio de inquérito. Os participantes relataram um consumo médio de 6,3 kg per capita de peixe cru por ano, representando cerca de 10% do consumo total de pescado. As preparações mais citadas foram sushi, sashimi e peixe temperados com vinagre e limão ou marinados.

#### **2.4 Métodos de detecção de *Anisakis* em produtos da pesca**

Os métodos utilizados para detecção dos parasitas nos produtos da pesca são a inspeção visual e ótica, a digestão artificial e o método de prensagem associado a iluminação ultravioleta (UV). Entre estes, os métodos UV-Press e de digestão artificial foram normalizados pela Organização Internacional de Normalização (ISO) sob os códigos ISO 23036-1 e ISO 23036-2, respetivamente, desde 2021. Adicionalmente, outras tecnologias estão em desenvolvimento e em fase de validação, com potencial para aplicação na indústria e em laboratórios de referência, como ressonância magnética, imagens hiperespectrais, ultrassonografia e radiografia (Mattiucci et al., 2018; EFSA, 2024a).

A técnica de inspeção visual por transiluminação demonstrou eficácia na prática comercial para reduzir a quantidade de nematodes visíveis, em condições específicas, quando realizadas em filetes finos de peixes de carne branca e sem pele, geralmente para detecção de *Pseudoterranova* spp. No entanto, essa técnica não se mostrou eficaz para a detecção de *A. simplex* (EFSA 2010; FDA 2012). Fatores como a presença de pele, a espessura, a textura e a cor dos filetes influenciam a eficiência dos resultados obtidos pela transiluminação (Levsen et al. 2005; EFSA 2010). Nos filetes de peixes, as larvas de *Anisakis* são de difícil visualização, devido a sua coloração clara, em alguns casos o tecido adjacente à cápsula apresenta zonas com presença de melanina que permite a sua identificação (Levsen et al. 2022).

Um estudo realizado em três espécies de peixes pelágicos, o arenque norueguês (*Clupea harengus*), o verdinho (*Micromesistius poutassou*) e a cavala (*Scomber scombrus*),

comparou os diferentes métodos de detecção de nematodes e revelou que a transiluminação apresenta uma taxa máxima de detecção de apenas 10% das larvas presentes nos filetes, independentemente do tamanho ou espessura dos mesmos (Levsen et al. 2005).

O método de digestão artificial utiliza uma solução de pepsina e ácido clorídrico para degradar o tecido do peixe, e assim isolar os parasitas. Os parasitas vivos sobrevivem ao processo sem lesões, podendo ser facilmente identificados, também é possível identificar os mortos. No entanto, esse método não é utilizado em análises de alimento na indústria e quando há um grande número de amostras, devido ao longo tempo de execução (EFSA 2010; FDA 2012).

A técnica de prensagem fluorescência (UV-Press), descrita por Karl e Leinemann (1993), consiste na prensagem das amostras de produtos da pesca numa fina camada (2-3mm), seguida de congelação, e posterior inspeção sob luz UV a 366 nm. Durante o processo de congelação as células das larvas de *Anisakis* se rompem, libertando a lipofuscina, pigmento responsável pela fluorescência das larvas quando expostas à luz UV. A intensidade da fluorescência da larva pode variar em função de diversos fatores, como as lesões causadas à larva durante processo de congelação e descongelação, a espécie de anisacídeos e o tamanho da larva (Levsen et al. 2018b). As larvas de *Anisakis spp.* observadas por esta técnica apresentam uma coloração violeta fluorescente, possibilitando assim a identificação das larvas e o local de infeção no hospedeiro (Levsen et al. 2018b; Mattiucci 2018; Caballero-Huertas et al. 2023). Esta metodologia, apresentou taxas de recuperação de nematodes iguais ou superiores ao método de digestão (Karl e Leinemann 1993).

## **2.5 Técnicas de identificação de *Anisakis spp.* em produtos da pesca**

Atualmente, os principais métodos utilizados para a identificação de espécies de *Anisakis* em produtos da pesca incluem abordagens parasitológicas, imunológicas e moleculares (EFSA, 2024a).

### **2.5.1 Técnicas parasitológicas**

#### **2.5.1.1 Identificação de Larvas de terceiro estágio (L3)**

A identificação morfológica e morfométrica por microscopia baseia-se na análise de características como o comprimento e a forma do ventrículo, e a presença ou ausência do mucron. Embora esses parâmetros não permitam, de forma isolada, a diferenciação precisa da espécie, eles possibilitam a identificação até o nível taxonómico do género (EFSA, 2024a; Euzéby, 2008).

As larvas de *Anisakis spp.* são classificadas em quatro tipos, Tipo I, Tipo II, Tipo III e Tipo IV, com base nas suas características morfológicas (Berland 1961; Shiraki 1974; Mattiuci et al. 2018). As larvas de tipo I possuem um órgão excretor que estende do poro excretor, localizado ventralmente sob o dente perfurante suportado pelo lábio ventral até cerca aproximadamente 4 mm atrás do ventrículo, sendo essa porção de coloração castanha. O ventrículo e intestino são divididos por linha oblíqua, e extremidade caudal arredondada e com presença de mucron. Além disso, apresentam glândulas anais. As larvas tipo II possuem esófago muscular com ventrículo glandular posterior curto, caracterizado por uma linha horizontal entre o ventrículo e o intestino. O intestino é simples, sem divertículos, e as glândulas anais estão presentes. A cauda cônica, torna-se uniformemente mais estreita, e ausência do mucron na extremidade posterior (Berland 1961 e Euzéby 2008). As larvas do tipo I são observadas com maior frequência que as do tipo II (Euzéby 2008). As larvas do Tipo III possuem um ventrículo curto e uma cauda curta, arredondada e sem mucron. As larvas do tipo IV possuem ventrículo curto, cauda curta e delgada (Shiraki 1974).

A identificação morfológica das larvas é corroborada por evidências bioquímicas e genéticas (Euzéby, 2008). As espécies do clado I (complexo *Anisakis simplex* (s.l.), clado II (*A. ziphidarum* e *A. nascettii*) e clado IV (*A. typica*), apresentam morfologia larvar compatível com estágio 3 do tipo I (Berland 1961, Mattiuci 2018). As espécies *A. physeteris*, *A. brevispiculata* e *A. paggiae* (clado III), são do Tipo II, III e IV, respetivamente. Elas apresentam diferenças morfológicas, que permitem não só a identificação molecular, mas também por análise morfológica nos estádios larval e adulto (Mattiuci et al. 2018).

#### **2.5.1.2 Identificação de adultos**

Os caracteres morfológicos auxiliam na diferenciação dos parasitas adultos de *Anisakis spp.* ao nível do clado, uma vez que as espécies do mesmo clado compartilham características morfométricas e fenotípicas. Além disso, esses caracteres permitem a distinção entre as espécies de outros cladros (Mattiuci 2018).

Tabela 1. **Características morfométricas de espécies de Anisakis por clado** (adaptado de Mattiucci et al. 2018)

Clado	Espécie	Características
I	<i>A. simplex</i> (s.s) <i>A. pegreffi</i> <i>A. berlandi</i>	Ventrículo longo e sigmóide; Espículas masculinas são longas, finas e comprimento irregular;
II	<i>A. nascetti</i> <i>A. ziphidarum</i>	Ventrículo longo e não sigmóide; Espículas masculinas longas, finas e comprimento regular;
III	<i>A. physeteris</i> <i>A. paggie</i> <i>A. brevipiculata</i>	Ventrículo curto e largo, não sigmóide; Espículas masculinas são curtas, robustas e comprimento regular;
IV	<i>A. typica</i>	Ventrículo longo; Espículas masculinas são longas, finas e comprimento irregular; Lábio dorsal bilobado anteriormente; Papilas caudais masculinas não são duplas;

## 2.5.2 Métodos imunológicos

Os métodos imunológicos ainda se encontram em desenvolvimento e têm sido aplicados maioritariamente em investigação. Esses testes demonstram alta sensibilidade, embora o limite de deteção possa variar em função do tipo de produto da pesca analisado e a especificidade dependa do anticorpo utilizado (EFSA, 2024a).

Werner et. al (2010), desenvolveram e validaram um ensaio imunoenzimático (ELISA) para detetar e quantificar a proteína de *A. simplex* em produtos da pesca processados. Os resultados demonstraram sensibilidade para determinação quantitativa, e foi validado em dois tipos de produtos da pesca processados. O método tem como objetivo ser utilizado para o controlo de qualidade da matéria-prima e produto final, assim como, para a fiscalização de produtos alimentares pelas autoridades de segurança dos alimentos.

Estudo recente realizado por Kochanowski et al. (2020) teve como objetivo desenvolver e validar um método de imunoensaio por quimiluminescência (CL-ELISA) para a deteção de proteínas de *A. simplex* em produtos da pesca processados. Os resultados demonstraram que os ensaios CL-ELISA são eficazes na identificação do antigénio de *A. simplex*. A presença desses antigénios foi avaliada em diferentes produtos da pesca em retalhistas na Polónia, e identificada predominantemente em peixes fumados, como cavala,

arenque, bacalhau e pescada, além de produtos como arenque marinado, fígado de bacalhau enlatado, cavala enlatada e palitos de surimi.

### **2.5.3 Identificação molecular**

As técnicas moleculares representam atualmente a abordagem mais precisa para a identificação de *Anisakis* spp., sendo utilizadas tanto para diagnóstico específico, como em estudos epidemiológicos, filogenéticos e populacionais. A escolha dos marcadores moleculares deve ser orientada pelos objetivos da investigação, como a diferenciação de espécies ao longo do ciclo biológico, produzir uma avaliação populacional e estimar variabilidade genética. Entre os principais marcadores utilizados destacam-se: Eletroforese de aloenzimas multilocular (MAE); espaçador transcrito interno rDNA (ITS); EF1  $\alpha$ -1 nADN; Microsatélites; e ADN mitocondrial (Mattiucci et al. 2018).

Estudos demonstraram que a identificação baseada exclusivamente em características morfológicas pode ser imprecisa, especialmente interespecies de *Anisakis*, *Pseudoterranova* e *Contracaecum*, e baseada em características morfológicas que não eram precisas, devido à semelhança desses caracteres e à divergência genética entre as espécies, potencialmente resultante de processos de convergência adaptativa (Mattiucci e Nascetti 2008; Mattiucci et. al 2018).

A identificação microscópica associada a técnicas moleculares, por PCR (nuclear e mitocondrial), são atualmente as técnicas que proporcionam os resultados mais confiáveis (EFSA 2024a). A correta identificação das espécies é fundamental para a compreensão dos mecanismos de patogenicidade, das manifestações clínicas específicas e para a formulação de estratégias de controlo eficazes (Mattiucci et al., 2014; Baptista-Fernandes, 2017).

## **2.6 Enquadramento Legal**

O Regulamento (CE) nº 853/2004, determina que os produtos da pesca devem ser submetidos a um exame visual para a deteção de parasitas visíveis, realizado pelos operadores das empresas do setor alimentar, antes de serem colocados no mercado. Não é permitida a comercialização de produtos da pesca destinados ao consumo humano que estejam contaminados com parasitas visíveis.

O Regulamento (UE) nº 1276/2011 altera o anexo III do Regulamento (CE) nº 853/2004, no que diz respeito aos tratamentos destinados a eliminar parasitas viáveis nos produtos da pesca. Os operadores das empresas que comercializem produtos da pesca

derivados de peixes ósseos ou moluscos cefalópodes, destinados ao consumo, crus ou submetidos a tratamentos não suficientes para eliminar parasitas viáveis, como a marinagem e a salga, devem submeter o produto a congelação, com o objetivo de eliminar parasitas viáveis. O regulamento também estabelece as condições de congelação e tratamento térmico pelo calor que os produtos da pesca, devem ser submetidos. As condições exigidas são: 1. Congelação: temperatura de – 20 °C durante, no mínimo, 24 horas ou – 35 °C durante, no mínimo, 15 horas, em todas as partes do produto; 2. tratamento térmico: temperatura interna de 60 °C ou mais por, no mínimo, 1 minuto. A congelação não é necessária quando o produto já foi, ou está destinado a ser consumido após um tratamento térmico capaz de eliminar parasitas viáveis, ou quando foi mantido em condições de congelação por um período suficientemente para garantir a eliminação dos parasitas viáveis. Além disso, a dispensa da congelação pode ser autorizada pela autoridade competente se houver dados epidemiológicos que comprovem a ausência de parasitas. Os trematodes e as metacercárias apresentam maior resistência ao calor, tornando-se, assim, necessário que o binómio tempo-temperatura apresente valores mais elevados para um tratamento eficaz (EFSA 2010).

O Regulamento (CE) nº 2074/2005 define o que são parasitas visíveis e inspeção visual. Para ser definido como visível, o parasita deve ter dimensão, cor ou textura que seja possível diferenciar dos tecidos do peixe. A inspeção visual, é definida como o exame que não causa danos ao peixe ou produto da pesca, podendo utilizar ou não recursos óticos, de modo que, as condições de iluminação para uma fácil observação sejam asseguradas. A inspeção visual deve ser realizada por profissionais qualificados, que determinam o número e frequência das inspeções a realizar, de acordo com a origem, utilização e tipo de produto da pesca. Quando a inspeção visual for realizada em peixes eviscerados, deve observar-se a cavidade abdominal, o fígado e as ovas destinados ao consumo humano. No caso de evisceração manual, a inspeção deve ser realizada de forma contínua. Para evisceração mecânica, deve ser realizada uma amostragem num número representativo de exemplares, com um limite mínimo de 10 peixes por lote. A inspeção visual dos filetes ou postas deve ser realizada durante a remoção das aparas, e após o procedimento de corte ou filetagem.

As autoridades competentes para o controlo oficial na cadeia alimentar desempenham um papel fundamental na verificação da realização de inspeções de parasitas em produtos da pesca, realizadas pelas empresas que integram a cadeia produtiva desses produtos (Carvalho 2020).

## 2.7 Medidas de controlo

O controlo das larvas de *Anisakis* em produtos da pesca é essencial para garantir a segurança dos alimentos e prevenir casos de anisakuíase humana. Para isso, é necessário compreender os conceitos de viabilidade larval e larva viável. Segundo a EFSA (2010), viabilidade é definida como a capacidade de uma larva sobreviver individualmente aos tratamentos ou processos de transformação. Consideram-se viáveis as larvas que não apresentam danos físicos visíveis e mantêm motilidade. No entanto, tais características não confirmam, por si só, a capacidade de infeção em humanos.

Atualmente, os métodos mais eficazes para inativação das larvas de *Anisakis* em produtos da pesca são a congelação e o tratamento térmico, desde que realizados sob condições rigorosamente definidas (EFSA 2024a). A eficácia desses métodos depende da temperatura, do tempo de exposição e da espécie parasitária presente no produto.

Tabela 2. Condições recomendadas para inativação de larvas de parasitas.

Referência	Método de Inativação	Condição Requerida
EFSA (2010)	Congelação	-20 °C por no mínimo 24 horas; ou - 35 °C por 15 horas; ou -15 °C por no mínimo 96 horas.
	Aquecimento	60 °C no centro do produto um período de mínimo 1 minuto
FDA (2022)	Congelação	Congelado e armazenado a $\leq -20$ °C por um mínimo de 168 horas (7 dias); ou Congelado a $\leq -35$ °C ou menos até sólido e armazenado a $\leq -35$ °C por um período mínimo de 15 horas; ou Congelado a $\leq -35$ °C ou até sólido e armazenado a $\leq -20$ °C por no mínimo 24 horas.
	Aquecimento	90 °C durante 10 minutos (pasteurização); $\geq 62,8$ °C durante 30 minutos (fumagem)

A FDA (2023) reforça que produtos da pesca destinados ao consumo cru, marinado, parcialmente cozido ou marinados parcialmente cozidos devem ser previamente congelados, salvo exceções específicas, como peixes provenientes de aquicultura sob condições controladas ou ovas com membranas removidas e devidamente lavadas.

Em tratamentos químicos, as condições de sobrevivência das larvas estão associadas ao tamanho do peixe, teor de gordura e ingrediente ativos, sendo assim possível observar diferentes resultados entre espécies. Os métodos como marinagem tradicional e fumagem a frio demonstram eficácia limitada, sendo insuficientes para eliminar larvas de *Anisakis simplex*. Assim, produtos submetidos a esses métodos devem passar por congelação prévia. Por outro lado, a fumagem a quente, quando atinge valores superiores a 60 °C no centro do produto, é considerada eficaz (EFSA 2010).

Métodos experimentais como alta pressão hidrostática, secagem, irradiação, campos elétricos pulsados e o uso de compostos naturais têm sido investigados. No entanto, estudos adicionais são necessários para validar sua eficácia e aplicabilidade em larga escala na indústria alimentar (EFSA, 2010; EFSA, 2024a).

A remoção mecânica é o método mais indicado para impedir a presença desse parasita nos produtos da pesca destinados ao consumo humano (EFSA 2024a). Existem técnicas de processamento recomendadas para redução do número de parasitas nos produtos da pesca destinados ao consumo humano: a evisceração, que previne a migração dos parasitas para a musculatura, e a preparação de filetes, que envolve remoção das abas da barriga (FDA 2022; EFSA 2024a). Além disso, recomenda-se a remoção da membrana que protege os ovos dos peixes, seguida de um enxaguamento para a remoção de larvas presentes em produtos derivados de ovas. Geralmente, as larvas estão presentes dentro da membrana, mas não ocorrem no interior dos ovos (FDA 2022). O controlo da temperatura abaixo de 2°C ao longo da cadeia alimentar foi recomendado como método de prevenção da migração pós-morte (Cipriani et al. 2024).

A educação e sensibilização dos profissionais do setor da pesca é crucial. É essencial que os tripulantes sejam instruídos a não descartar vísceras no mar após a evisceração, evitando a contaminação ambiental e a perpetuação do ciclo parasitário (Mattiuci et al., 2018).

Levsen et al. (2018b) elaboraram um perfil de risco de exposição a *Anisakis spp.* com base nas espécies de peixes consideradas de alto risco para transmissão de anisquiasose na Europa. O perfil utilizou a prevalência de parasitas no músculo para classificar o nível do risco. As cavalas capturadas na área do Atlântico Nordeste apresentaram um risco moderado (21-

50%) quando consumida crua ou submetidas a processos ineficazes na inativação do parasita.

A monitorização e deteção de *Anisakis* nos produtos da pesca é necessária para assegurar a segurança dos alimentos (Wang et al. 2024). O Sistema de Alerta Rápido para Alimentos para Consumo Humano e Animal (RASFF) pode ser utilizado como um importante instrumento para a obtenção de dados sobre as notificações e gestão de risco relacionadas com a ocorrência de *Anisakis* em produtos da pesca na União Europeia. No entanto, os dados podem apresentar limitações, como em casos de subnotificações (Caldeira et al. 2021).

Segundo Bao et al. (2019), ainda são necessários mais estudos para definir com precisão os níveis de exposição a parasitas e seus alergénios em produtos da pesca que possam ser considerados aceitáveis, toleráveis ou inaceitáveis para a saúde humana. Os autores ressaltam a importância de aprimorar a legislação vigente, com foco na criação de procedimentos padronizados de controlo baseados em evidências científicas, incluindo o modelo da relação dose-resposta. Essas medidas, segundo os autores, são essenciais para garantir a segurança dos consumidores e minimizar perdas económicas.

As campanhas educativas sobre parasitas em produtos da pesca são importantes para a consciencialização e sensibilização dos trabalhadores e consumidores, com o objetivo de ensinar o significado de um alimento seguro e livre de contaminações, além de incentivar práticas seguras de consumo que eliminem os riscos (Carvalho 2020; Golden et al. 2022; Attir et al. 2024).

### 3. Objetivos

O presente estudo teve como objetivo geral investigar a presença de parasitas do género *Anisakis* em cavalas (*Scomber colias*) transacionadas na lota de Sesimbra. Deste modo, os objetivos do presente estudo são:

1. Avaliar, por amostra, a intensidade do parasitismo, por observação visual e com recurso a luz Ultravioleta (UV).
2. Identificar os parasitas observados até ao género, utilizando análise microscópica e chaves morfológicas de diagnóstico.
3. Analisar a relação entre as características biológicas dos peixes (peso e comprimento) e a carga parasitária.
4. Avaliar os potenciais riscos associados ao consumo de cavala infetada e sugerir medidas preventivas para mitigar os impactos na saúde pública.

Face às preocupações relacionadas com a saúde dos ecossistemas aquáticos e o seu impacto na segurança dos alimentos, a realização de estudos nesta área deve ser encorajada.

Estudos desta natureza permitem fornecer dados para a monitorização da presença e da carga parasitária de anisacídeos em cavala (*Scomber colias*) que irão informar, não só futuras avaliações de risco como também a gestão de risco através da categorização dos operadores do setor alimentar nos planos de controlo e monitorização de perigos alimentares, baseando as atividades de controlo no risco. A identificação precisa das espécies de parasitas não contribui apenas para o conhecimento científico, mas também é vital para a implementação de medidas de controlo e gestão, visando a proteção da saúde pública e a preservação das populações de peixes.

A consciencialização da presença de anisacídeos nos produtos da pesca é influenciada por um conjunto de fatores que incluem o aumento de perceção da sua ocorrência, a expansão dos conhecimentos sobre esses parasitas e a sua relação com a saúde dos consumidores, além do aumento da responsabilidade dos operadores das empresas do setor alimentar no controlo dos produtos da pesca, impedindo a comercialização de produtos visivelmente contaminados (Ramos 2020).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Amostragem**

No mês de outubro de 2024, foi conduzida a primeira fase do estudo, a qual consistiu na colheita de amostra em 10 lotes de cavala na Lota de Sesimbra. Cada amostra foi composta por 5 exemplares da espécie, totalizando 50 indivíduos.

As colheitas foram realizadas em duas semanas distintas, em ambas foram colhidos 25 peixes, provenientes de sete embarcações. Todas as embarcações informaram que o local da captura foi a zona da Comporta, Setúbal, e a arte da pesca utilizada foi o cerco. Todos os exemplares de cavala foram escolhidos aleatoriamente dos lotes capturados no dia da colheita, e estavam destinados a venda para consumo humano.

Os exemplares de cada lote foram acondicionados em sacos plásticos com fecho zip, adequados para contato alimentar. Individualmente, os sacos foram identificados com informações sobre a data da colheita, a lota, o número do lote, e o nome da embarcação responsável pela captura.

Após identificação dos lotes, os sacos foram colocados dentro de uma caixa isotérmica e sob gelo em lascas, para garantir a manutenção da temperatura durante o transporte até a Faculdade de Medicina Veterinária (FMV). Na FMV, as amostras foram congeladas na temperatura de aproximadamente -18°C para posterior processamento.

### **4.2 Análise morfo métrica dos exemplares**

No laboratório de parasitologia da FMV, os lotes foram descongelados a temperatura ambiente e os exemplares identificados individualmente. O sistema de identificação utilizado foi constituído por um número de lote, que varia de 1 a 10, e por uma letra a identificar o exemplar, que varia de A a E por lote. Essa metodologia foi utilizada para garantir a rastreabilidade das amostras.

Após identificação, foi realizada a medição do comprimento total (extremidade cefálica e o bordo distal da barbatana caudal), expresso em centímetros (cm), utilizando uma régua graduada, e a verificação do peso em gramas (g), através de pesagem numa balança. Os dados das amostras foram registados na ficha de identificação do lote correspondente (Anexo 1).

### 4.3 Necropsia e colheita dos nematodes

Para colheita dos nematodes, procedeu-se à abertura da cavidade abdominal e retirada da musculatura.

- 1- Corte do ânus ao mento, ao longo da linha branca;
- 2- Corte reto perpendicular ao referido em 1, da base do opérculo até a barbatana dorsal;
- 3- Corte reto paralelo ao referido 2, do ânus à barbatana dorsal;
- 4- Corte perpendicular ao referido em 2 e 3, permitindo a remoção da musculatura abdominal;
- 5- Cortes longitudinais na musculatura para observação de quisto ou parasitas.

O mesmo procedimento foi realizado na musculatura contralateral para remoção da musculatura hipaxial. As abas musculares removidas foram dispostas em placas de Petri devidamente identificadas para posterior inspeção visual (Figura 5). Os órgãos da cavidade celômica também foram removidos e colocados em placas para realização da inspeção. Os parasitas visíveis a olho nu nas vísceras e na musculatura foram recolhidos e contabilizados. Em seguida, as vísceras e a musculatura foram inspecionadas com auxílio de lanterna portátil UV (365nm), e as larvas visualizadas (Figura 5) foram recolhidas e contabilizadas. Não foram realizados cortes nas vísceras para inspeção interna.

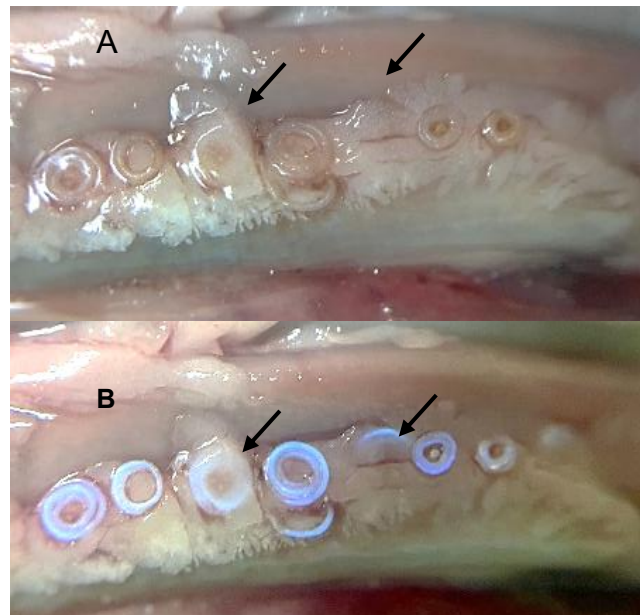


Figura 5. Larvas de *Anisakis* spp. A) Sem equipamento; B) Sob luz UV; seta: localização das larvas visualizadas apenas sob luz UV. (Original).

Todos os parasitas observados foram recolhidos e acondicionados em frascos previamente identificados de 5 ml, contendo álcool 70%.

A eficiência da detecção de nematodes e as habilidades dos técnicos de recolha de amostras está diretamente relacionada com a qualidade dos dados (Levsen et al. 2005; Levsen et al 2018b). Portanto, neste estudo, para minimizar falhas na detecção de parasitas, a inspeção e a recolha das larvas foram realizadas por uma única técnica, seguindo o procedimento mencionado.

#### **4.4 Identificação dos nematodes**

Para a identificação dos parasitas internos, os espécimes foram individualmente montados em lâminas de microscopia, aos quais foi adicionado Lactofenol como agente de clarificação. Em seguida, as preparações foram cobertas com lamelas, permitindo a visualização das estruturas internas dos parasitas. As amostras foram então analisadas por microscopia ótica para a caracterização morfológica e identificação dos géneros. As larvas foram contadas e atribuído o género correspondente usando um microscópio ótico, de acordo com as chaves morfológicas de diagnóstico (Berland 1961).

#### **4.5 Análise de dados**

Foi realizada uma análise descritiva dos dados obtidos, inicialmente, com recurso ao Microsoft Excel®. As descrições quantitativas da população parasitária, nomeadamente prevalência, intensidade e abundância, foram calculadas conforme descrito por Bush et al. (1997). Posteriormente, procedeu-se à análise estatística dos dados, realizada com recurso ao software R versão 4.4.2 para Windows x64. Para verificar o pressuposto de normalidade foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk para as variáveis peso, comprimento e abundância. O cálculo do coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para analisar a relação entre as variáveis, e os gráficos de dispersão com linha de regressão para demonstrar os resultados, conforme representado no código do Anexo 3. Para todos os testes realizados, considerou-se um nível de significância de  $p < 0,05$ .

## 6. RESULTADOS

As cavalas apresentaram variação de peso e de comprimento entre 110g a 412g e 22,5 cm a 33,5cm, respectivamente. O comprimento médio  $\pm$  DP de  $28,02 \pm 3,03$ cm e peso de  $233,02g \pm 76,71g$  (Tabela 2).

Das 50 cavalas analisadas, 48 estavam parasitadas por larva de anisquídeos, o que representa uma prevalência de 96% da amostra analisada (IC 95%, 86,3-98,7%). A abundância média foi de 15 larvas por peixe e intensidade média 16 parasitas por hospedeiro infetado.

Tabela 3. Caracterização dos lotes quanto ao comprimento e peso.

Lote	Comprimento	Peso
1	30,3 (1,17)	307,8 (28,67)
2	30,6 (0,88)	297,8 (46,48)
3	29,7 (1,81)	290 (83,09)
4	28 (2,74)	204,4 (55,32)
5	28 (1,30)	237,4 (32,23)
6	24,4 (1,59)	152,8 (32,55)
7	24,3 (1,63)	146,6 (23,96)
8	24,6 (1,48)	152 (26,78)
9	29,9 (2,58)	256,2 (84,9)
10	30,4 (1,02)	285,2 (25,12)
<b>Total</b>	<b>28,02 (3,03)</b>	<b>233,02 (76,71)</b>

**Legenda:** Os valores expostos correspondem à média, seguida do desvio padrão entre parêntesis.

A inspeção visual foi responsável por 66,15% dos parasitas detetados, e os restantes 33,84% foram visualizados com auxílio de lanterna UV. Foi realizada análise microscópica em aproximadamente 35% (268) das larvas recolhidas das cavalas, sendo todas atribuídas ao morfotipo larval Tipo I, e a sua relação com o género *Anisakis* foi determinada com base em características morfológicas disponíveis ao nível do género (Berland 1961).

Tabela 4. Caracterização da amostra quanto ao método de detecção das larvas

Lote	N	Observação visual <sup>a</sup>	Observação com incidência de luz UV <sup>b</sup>
		n (%)	n (%)
1	103 (13 a 39)	71 (69%)	32 (31%)
2	95 (1 a 41)	81 (85%)	14 (15%)
3	112 (0 a 82)	106 (95%)	6 (5%)
4	57 (4 a 29)	32 (56%)	25 (43%)
5	110 (16 a 26)	65 (59%)	45 (41%)
6	65 (4 a 27)	40 (62%)	25 (38%)
7	45 (0 a 17)	17 (38%)	28 (62%)
8	44 (3 a 17)	26 (59%)	18 (41%)
9	62 (3 a 37)	34 (55%)	28 (45%)
10	84 (1 a 35)	42 (50%)	42 (50%)

**Legenda:** N – total de parasitas do lote, com indicação do intervalo de número entre o exemplar com menor número e o exemplar com o maior); <sup>a</sup> Total e percentagem de exemplares recolhidos após observação visual; <sup>b</sup> Total e percentagem de exemplares recolhidos após incidência de luz UV;

No total foram encontradas 777 larvas de *Anisakis spp.*, dos quais 98,97% (769/777) eram provenientes das vísceras e serosas, e 1,03% (8/777) eram provenientes da musculatura (musculatura hipaxial). As larvas foram predominantemente detetadas enquistadas na superfície do intestino, assim como na superfície de outros órgãos internos, incluindo as gônadas e fígado. Devido a um certo nível de transparência, apresentavam coloração semelhante à do tecido adjacente. Em alguns espécimes, foi possível observar ponto de pigmentação escura ao redor do quisto (Figura 6).



Figura 6. Larvas de *Anisakis spp.* P- Pigmentação. Fonte: (Originalis).

Na análise morfológica por microscopia ótica, observou-se na extremidade anterior a presença de um dente perfurante de forma triangular e de um poro excretor; posteriormente, identificou-se a junção ventrículo-intestino em disposição oblíqua e a presença de mucron na extremidade caudal (Figura 7).

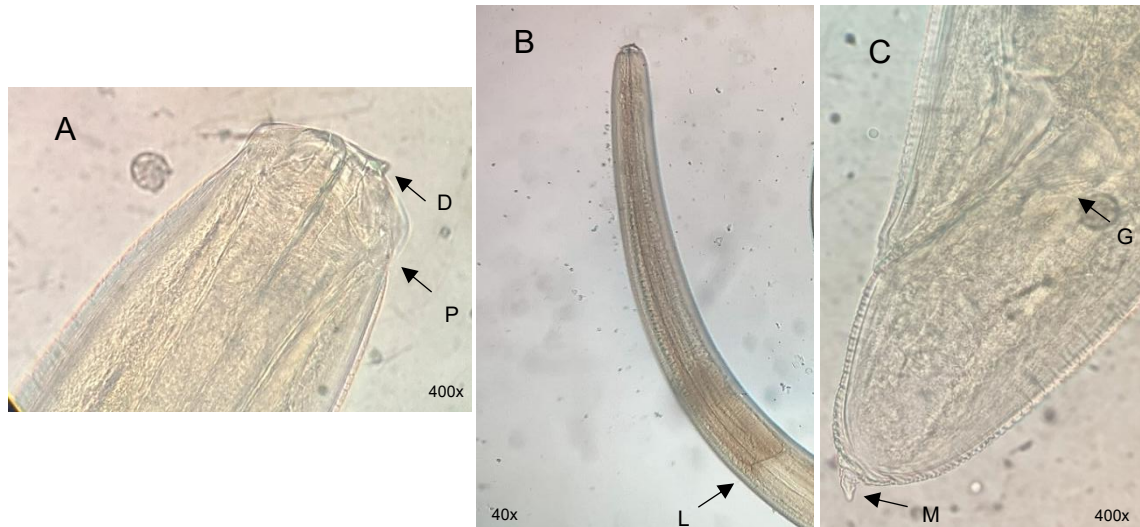


Figura 7. *Anisakis spp.* A) extremidade anterior, D: dente perfurante, P: poro excretor (400x); B) extremidade anterior, L: divisão entre ventrículo e intestino (40x); C) extremidade posterior, G: Glândulas anais, M: mucron (400x) (Originais).

Com base nas análises efetuadas foi encontrada uma correlação positiva, com relação moderada e estatisticamente significativa entre as variáveis peso e abundância,  $r = 0,425$ ,  $p = 0,002$ . Entre as variáveis comprimento e abundância foi encontrada uma correlação positiva, com relação fraca e estatisticamente significativa,  $r = 0,359$ ,  $p = 0,012$  (Tabela 4).

Tabela 5. **Correlação entre as variáveis peso e comprimento**

Relação	Spearman r	P
Peso vs Abundância	0.4259271	0.002043
Comprimento vs Abundância	0.350968	0.01245

Os gráficos de dispersão (Gráfico 1 e Gráfico 2) ilustram visualmente estas relações, evidenciando uma tendência de crescimento da abundância parasitária em função dos parâmetros biométricos analisados. Apesar de não se tratar de uma relação linear estrita, a consistência dos resultados estatísticos reforçam a existência de um padrão de associação. Os resultados obtidos demonstram a possibilidade de o peso apresentar uma correlação maior com o número de parasitas do que o comprimento isoladamente.

Gráfico 1. Relação entre Peso e Abundância

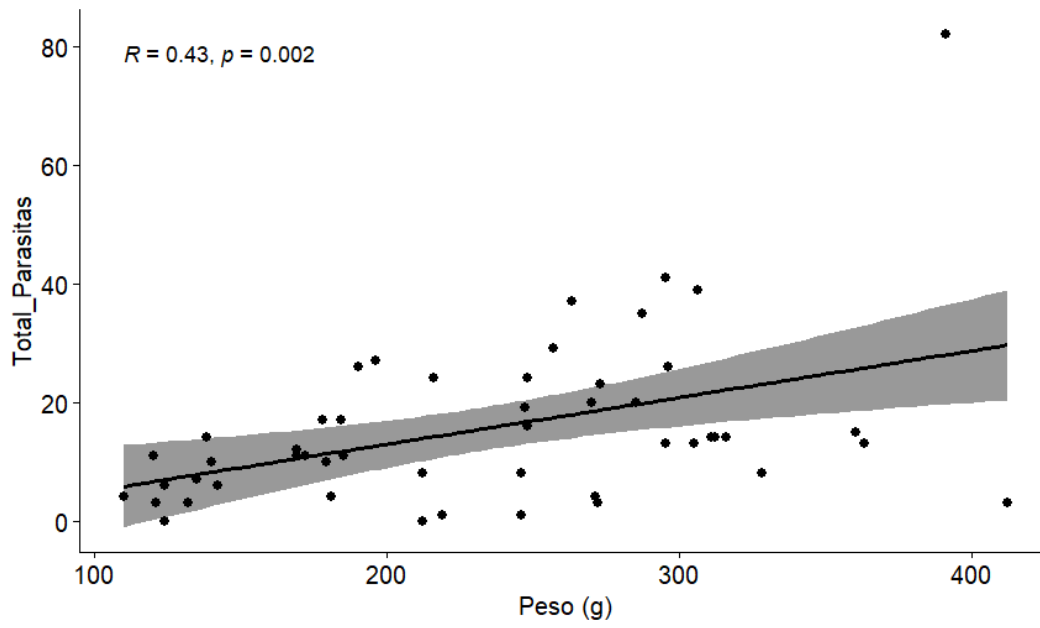
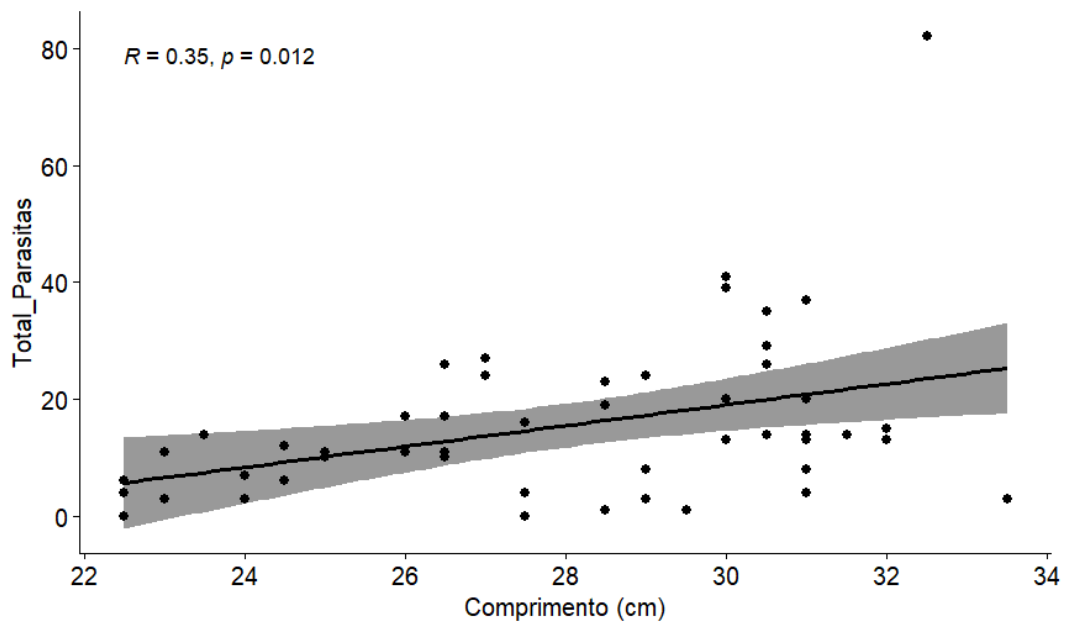


Gráfico 2. Relação entre Comprimento e Abundância



## 7. DISCUSSÃO

Os resultados do estudo demonstram uma alta prevalência de infecção por larvas de *Anisakis*, com 96% dos exemplares de cavala analisados infetados. Esses resultados corroboram com estudos anteriores, como o de Lopes et al. (2020), que observaram uma prevalência de 84,5% de larvas de anisacídeos em carapaus (*Trachurus trachurus*) capturados em águas portuguesas, com uma média de 32,1 parasitas por hospedeiro. Além disso, Rigkou et al. (2024) observaram uma taxa de prevalência de 100% de larvas de *Anisakis* na espécie Verdinho (*Micromesistius poutassou*), capturada em Portugal. Similarmente, Casti et al. (2017) detetaram larvas de *Anisakis* spp. em 40 exemplares de cavalas (*Scomber colias*) comercializadas na Itália. Rigkou et al. (2024) reforçam esses achados ao afirmar que há uma alta prevalência de anisacídeos em peixes de importância comercial no Atlântico Nordeste, sugerindo que a contaminação por *Anisakis* spp. pode estar disseminada no ecossistema marinho.

A ocorrência de variações na prevalência e na intensidade da infecção por larvas de *Anisakis* spp. entre as espécies de peixes capturados nas águas portuguesas também foi observada (Silva e Eiras, 2003). Entre os fatores que influenciam essa variabilidade, destaca-se o local de captura, o qual desempenha um papel relevante na dinâmica epidemiológica da infecção por diferentes espécies de *Anisakis*, podendo explicar a variabilidade nos níveis de infecção em hospedeiros da mesma espécie capturados em zonas de pesca distintas (Mattiuci et al. 2018).

Observou-se que aproximadamente 99% dos parasitas estavam localizados nas vísceras, enquanto apenas 1% foram detetados no músculo. Esses resultados indicam uma predominância visceral da infecção por *Anisakis* spp., corroborando com diversos estudos que apontam a cavidade celômica como o principal local de ocorrência das larvas. Nesse contexto, Casti et al. (2017) relataram a ausência de larvas no músculo em amostras de *Scomber colias* analisadas na Itália, apesar de uma prevalência de 100% nas vísceras. Por outro lado, cavalas (*Scomber colias*) capturadas no Oceano Atlântico (Espanha e Portugal) apresentaram uma prevalência de 23,8% de larvas de anisacídeos no músculo. Em todas as amostras, a detecção das larvas no músculo ocorreu na região anteroventral (abas da barriga) (Levsen et al., 2018b). De modo geral, a maior concentração de larvas na musculatura do peixe foi observada na região onde a musculatura reveste os órgãos da cavidade visceral (Levsen et al., 2018a). Essa distribuição específica reforça a recomendação de remoção das abas ventrais como uma prática eficaz para mitigar a contaminação, podendo reduzir em até 90%

a presença de larvas, conforme sugerido por Levsen et al. (2022) em estudo com espécies gadídeas.

A análise estatística dos dados obtidos no presente estudo revelou uma correlação fraca entre o comprimento dos indivíduos e a abundância parasitária ( $r = 0,350$ ;  $p = 0,012$ ), sugerindo que o aumento do comprimento corporal não está fortemente associado à carga de infecção por *Anisakis* spp. Por outro lado, observou-se uma correlação moderada entre o peso dos indivíduos e a abundância de parasitas ( $r = 0,425$ ;  $p = 0,002$ ), o que sugere que espécimes com maior massa corporal tendem a apresentar níveis mais elevados de infecção. Esta relação pode ser justificada por uma maior ingestão alimentar ao longo do ciclo biológico ou uma acumulação progressiva de parasitas. Estes resultados estão em concordância com diversos estudos que apontam o peso como um preditor relevante da presença e abundância de anisaquídeos (Lopes 2020; Santos et al. 2022), sugerindo que peixes de maior massa corporal apresentam maior exposição ao parasita. A mudança de hábitos alimentares durante o crescimento dos peixes, com a transição para presas maiores e o aumento do consumo de outros peixes, pode contribuir para a exposição acumulada ao parasita (Silva e Eiras 2003; Levsen et al. 2018b). Neste contexto, Mattiuci et al. (2018) argumentam que os hábitos alimentares desempenham um papel determinante na acumulação de parasitas ao longo do ciclo de vida, o que pode explicar a correlação observada com variáveis morfométricas. Embora a correlação com o comprimento tenha sido menos expressiva neste estudo, diversos autores relataram uma associação positiva entre o comprimento e a abundância de *Anisakis* spp. em diferentes espécies. Por exemplo, Costa et al. (2011) identificaram uma correlação significativa entre o comprimento e a presença de larvas em *Trachurus picturatus*, sendo que nenhum exemplar com comprimento inferior a 20 cm apresentou infecção. Da mesma forma, Santos et al. (2022) verificaram que peixes de maior comprimento apresentaram uma carga parasitária mais elevada, tanto nas vísceras como na musculatura. Contudo, resultados divergentes também têm sido reportados. Silva e Eiras (2003) não identificaram uma correlação estatisticamente significativa entre o tamanho dos peixes e a intensidade da infecção, embora tenham observado uma tendência para resultados mais elevados em indivíduos maiores. Esta heterogeneidade pode resultar de fatores ecológicos e biológicos que variam entre espécies e áreas de pesca. Levsen et al. (2018b), por exemplo, observaram que em *Scomber scombrus*, espécimes de maior comprimento poderiam demonstrar maior capacidade de resistência ou controle da infecção, contrariando a tendência observada noutras espécies. Portanto, devemos considerar que, além das variáveis morfométricas, fatores como a idade, o estado fisiológico, a dieta e as condições ambientais locais influenciam significativamente os padrões de infecção por anisaquídeos (Levsen et al. 2018b).

No que se refere aos métodos de detecção, a utilização de técnicas como o UV-Press tem demonstrado maior sensibilidade na identificação de larvas em tecido muscular, em comparação com a observação inspeção visual, conforme demonstrado por Santos et al. (2022). Esse estudo reforça as limitações dos métodos tradicionais de inspeção visual e necropsia, que, segundo Lopes (2020), permitiram identificar apenas 30% das larvas presentes nas amostras analisadas. Uma revisão conduzida por Bao et al. (2019) relatam baixos resultados da inspeção visual e da transiluminação na detecção de larvas de *Anisakis* em produtos da pesca, o que pode resultar na visualização ou no consumo do parasita pelos consumidores. Além disso, os autores realçam que esses métodos, apesar de pouco eficientes, continuam a ser estabelecidos pela legislação da União Europeia para o controlo sanitário na cadeia de produtos da pesca.

Os resultados obtidos neste estudo, com aplicação sequencial dos métodos de detecção de larvas de anisacídeos, através da inspeção visual a olho nu e, posteriormente, com o auxílio de luz UV, revelaram que a luz UV foi responsável por detetar mais 33,84% de parasitas, adicionalmente aos identificados a olho nu. O método adotado difere do UV-Press tradicional, pois não incluiu a prensagem das amostras, necessitando apenas de uma lanterna UV e um ambiente escuro para sua realização. Além disso, os produtos devem ser previamente congelados para garantir a libertação da lipofuscina antes da inspeção com a lanterna UV. Essa abordagem representa uma alternativa de baixo custo e fácil execução. Tal achado reforça as recomendações de Bao et al. (2019), que destacam a importância de métodos eficazes e adaptáveis, baseados em evidência científica, para aprimorar o controlo de parasitas nos produtos da pesca. O método proposto neste trabalho é de fácil execução, baixo custo e aplicabilidade no pequeno comércio, e pode ser considerado uma ferramenta alternativa, especialmente em contextos onde os recursos técnicos e financeiros são limitados. Assim, os resultados obtidos consubstanciam uma proposta de modernização e padronização dos procedimentos de controlo defendida pela autora, ao mesmo tempo em que sugerem uma alternativa viável para sua aplicação prática. Apesar do potencial prático, salienta-se a necessidade de estudos adicionais para validação e padronização desse método alternativo.

As larvas identificadas morfológicamente no presente estudo foram classificadas como Tipo I, conforme a tipologia proposta por Berland (1961). Este achado é consistente com os resultados de Casti et al. (2017), que relataram uma prevalência de 100% de larvas Tipo I em amostras de *Scomber colias*. A identificação do tipo larvar com base em características morfológicas e morfométricas é uma etapa essencial na triagem inicial de parasitas do género *Anisakis*. Arizono et al. (2012) identificaram *A. simplex* e *A. pegreffii* em *Scomber japonicus*,

enquanto Rigkou et al. (2024) relataram uma distribuição de 68,1% de *A. simplex*, 18,1% de *A. pegreffii* e 13,8% de *Hysterothylacium aduncum* em exemplares de peixes capturados em águas portuguesas, com 42,9% dos peixes apresentando coinfeção por mais de uma espécie de parasita.

A elevada prevalência observada neste estudo acompanha os dados reportados por Levsen et al. (2018a), que demonstraram que cavalas capturadas no Oceano Atlântico apresentam taxas de infecção superiores às de espécimes provenientes do Mar Mediterrâneo. A costa oeste da Península Ibérica, é considerada uma área com alta prevalência e abundância larvar, com valores próximos a 90% nas amostras analisadas. Nessa área, *A. simplex* (s.s.) foi a espécie dominante, representando 86% dos parasitas identificados, seguida por *A. pegreffii* (11%) e híbridos entre ambas as espécies (3%).

Com base nos resultados de elevada prevalência, recomenda-se a congelação prévia de todos os peixes pelágicos capturados no Atlântico Nordeste destinados a consumo sem tratamento térmico, como medida preventiva essencial para redução do risco de anisakiase (Levsen et al. 2005).

Do ponto de vista da segurança dos alimentos, destaca-se a relevância do tratamento térmico adequado dos produtos da pesca. Santos (2022) alerta que o método tradicional português de grelhar peixe pode não atingir temperaturas internas suficientes para inativar larvas de *Anisakis*, especialmente em casos de elevada carga parasitária, representando um risco potencial de infecção.

Para mitigar a exposição humana ao parasita e aos seus alergénios, são necessárias intervenções em todas as etapas da cadeia alimentar. Bao et al. (2019) propõem estratégias como: redução da incidência de *Anisakis* spp. em peixes selvagens; fortalecimento dos procedimentos de rastreio para impedir a entrada de peixes infetados na cadeia de produção; aconselhamento técnico ao consumidor quanto à preparação segura do alimento; monitorização contínua de *Anisakis* spp. e seus alergénios ao longo da cadeia alimentar; e vigilância da incidência de anisakiase e reações alérgicas em humanos.

A efetividade dessas estratégias é corroborada pelo estudo de Blanco-Costales et al. (2024), que demonstrou uma redução da prevalência de anisakiase em Madrid de 11,65% para 2,2% após a implementação da legislação sanitária. Este dado evidencia o impacto positivo de políticas públicas bem estruturadas, reforçando a importância da regulamentação, da fiscalização e da educação como pilares na prevenção da doença.

A análise do impacto da sazonalidade nos níveis de infecção por *Anisakis* spp. não foi contemplada no presente estudo, uma vez que, o período de colheita das cavalas foi reduzido. Assim como, não foi avaliada a correlação do sexo com a abundância, contudo, é relevante mencionar que diversas publicações indicam a inexistência de correlação estatisticamente significativa entre o sexo dos hospedeiros e a intensidade da infecção (Silva e Eiras 2003; Lopes 2020; Borges 2008).

## 8. CONCLUSÃO

O presente estudo contribui para o conhecimento sobre a ocorrência de larvas de *Anisakis* spp. em *Scomber colias* (cavala) capturadas na costa portuguesa, demonstrando uma prevalência elevada (96%) e um padrão de infecção nas vísceras predominante. O nível de infecção observado corrobora estudos anteriores conduzidos na região do Atlântico Nordeste, os quais indicam que espécies comercialmente importantes apresentam risco elevado de contaminação por anisacídeos (Lopes et al., 2020; Levsen et al., 2018a; Rigkou et al., 2024).

A identificação morfológica das larvas como *Anisakis* Tipo I, associada a possíveis espécies zoonóticas, representa um potencial risco à saúde dos consumidores, especialmente diante da popularização de práticas culinárias que envolvem o consumo de pescado cru ou minimamente processado (EFSA, 2010; Mattiucci et al., 2018). Embora a morfologia larval não permita a identificação definitiva da espécie, constitui uma ferramenta útil para a triagem de espécies do género *Anisakis*, sendo particularmente importantes em estudos com recursos limitados.

A análise das variáveis morfométricas revelou uma correlação estatisticamente significativa entre o peso dos peixes e a carga parasitária, sugerindo que indivíduos com maior massa corporal acumulam mais parasitas ao longo do tempo, possivelmente em função da maior ingestão alimentar ou acumulação das larvas. A correlação com o comprimento, embora presente, mostrou-se mais fraca, revelando a complexidade dos fatores que influenciam a dinâmica da infecção parasitária em peixes selvagens. A diversidade entre espécies, os métodos de deteção utilizados e as características ambientais locais, também devem ser consideradas na análise epidemiológica das infecções de *Anisakis* spp. em peixes.

Os dados aqui apresentados corroboram a literatura ao evidenciar que métodos alternativos à inspeção visual podem aumentar significativamente a taxa de deteção de *Anisakis* spp., contribuindo para a melhoria do controlo parasitário e proteção do consumidor. A aplicação de luz UV, mesmo na sua forma adaptada e de baixo custo, demonstrou sensibilidade significativamente maior, esse resultado evidencia a viabilidade de sua implementação como ferramenta complementar na inspeção, sobretudo em locais com poucos recursos.

Do ponto de vista da segurança dos alimentos, os achados deste estudo reforçam a necessidade da realização de medidas preventivas, já previstas na regulamentação europeia, como a congelação prévia de peixes pelágicos capturados na região do Atlântico Nordeste (Levsen et al. 2005), a remoção do músculo hipaxial (FDA 2022; EFSA 2024a), e o não

descarte das vísceras ao mar (Mattiuci et al. 2018). Além disso, destaca-se a possível insuficiência dos métodos tradicionais de preparação, como o método de grelhar, muito comum em Portugal, na eliminação total das larvas vivas (Santos, 2022). As evidências aqui apresentadas convergem com proposições de autores como Bao et al. (2019), que defendem a adoção de estratégias integradas para mitigar a exposição humana ao parasita e aos seus alérgenos.

A presença de *Anisakis spp.* em peixes capturados em Portugal representa um desafio para a segurança dos alimentos e conseqüentemente, para a saúde pública. A implementação de métodos de detecção mais eficazes, juntamente com a implementação de medidas preventivas e práticas adequadas de processamento e preparação de produtos da pesca, são essenciais para mitigar os riscos associados ao *Anisakis spp.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACFMNP. 2021. Produção Nacional Do Mar | Aliança Contra a Fome e a Má-Nutrição Portugal. [www.acfmnportugal.pt](http://www.acfmnportugal.pt). [acedido em 2024 Fev 27]. <https://www.acfmnportugal.pt/producao-nacional/da-agua/do-mar>.
- Aibinu I, Smooker P, Lopata A. 2019. *Anisakis* Nematodes in Fish and Shellfish- from infection to allergies. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 9:384–393. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.04.007>.
- Arizono N, Yamada M, Tegoshi T, Yoshikawa M. 2012. *Anisakis simplex* sensu stricto and *Anisakis pegreffii*: Biological Characteristics and Pathogenetic Potential in Human Anisakiasis. *Foodborne Pathogens and Disease*. 9(6):517–521. doi:<https://doi.org/10.1089/fpd.2011.1076>.
- Attir B, Mammeri A, Kechroud N, Mazouz K, Chabira D, Chenchouni H. 2024. A survey of nematodes in the European hake (*Merluccius merluccius*) intended for human consumption. *Journal of Parasitic Diseases*. 48(2):347–357. doi:<https://doi.org/10.1007/s12639-024-01674-2>.
- Audicana M, Ansotegui I, Corres L, Kennedy M. 2002. *Anisakis simplex*: dangerous —dead and alive? *TRENDS in Parasitology*. 18(1):20–25.
- Audicana M, Fernandez De Corres L, Munoz D, Fernandez E, Navarro J, Delgado M. 1995. Recurrent anaphylaxis caused by parasitizing fish. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 96(4):558–560. doi:[https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(95\)70301-2](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(95)70301-2).
- Audicana MT, Kennedy MW. 2008. *Anisakis simplex*: from Obscure Infectious Worm to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clinical Microbiology Reviews*. 21(2):360–379. doi:<https://doi.org/10.1128/cmr.00012-07>.
- Bao M, Pierce GJ, Strachan NJC, Pascual S, González-Muñoz M, Levsen A. 2019. Human health, legislative and socioeconomic issues caused by the fish-borne zoonotic parasite *Anisakis*: Challenges in risk assessment. *Trends in Food Science & Technology*. 86:298–310. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.013>.
- Baptista-Fernandes T, Rodrigues M, Castro I, Paixão P, Pinto-Marques P, Roque L, Belo S, Ferreira PM, Mansinho K, Toscano C. 2017. Human gastric hyperinfection by *Anisakis simplex*: A severe and unusual presentation and a brief review. *International Journal of Infectious Diseases*. 64:38–41. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.08.012>.
- Berland B. 1961. Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia*. 2(1):1–50. doi:<https://doi.org/10.1080/00364827.1961.10410245>.
- Bernardo S, Castro-Poças F. 2018. Gastric anisakiasis. *Gastrointestinal Endoscopy*. 88(4):766–767. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gie.2018.06.009>.
- Blanco-Costales E, González-Quevedo AL, Lorenzo-Bernardo L, Hoz-Martín MP de la, Rodero M, Puente P, Moreno-Torres I, Cuéllar C, González-Fernández J. 2024. Prevalence of Anisakiasis in Madrid (Spain) after 20 Years of Preventive Legislation. *Pathogens*. 13(782). doi:<https://doi.org/10.3390/pathogens13090782>.
- Borges S. 2008. Nemátodes da família anisakidae em peixes de elevado consumo em Portugal e provenientes das lotas de peniche e de setúbal: intensidade do parasitismo,

prevalência e potencial zoonótico.[dissertação de mestrado].Lisboa: FMV-Universidade Técnica de Lisboa.

Bucci C, Gallotta S, Morra I, Fortunato A, Ciacci C, Iovino P. 2013. *Anisakis*, just think about it in an emergency! International Journal of Infectious Diseases. 17(11):e1071–e1072. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2013.05.008>.

Buchmann K. 2016 Jul 25. Effects of anisakid nematodes *Anisakis simplex* (s.l.), *Pseudoterranova decipiens* (s.l.) and *Contracaecum osculatum* (s.l.) on fish and consumer health.

Bush A, Lafferty K, Lotz J, Shostak A. 1997. Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al Revisited. The Journal of Parasitology. 83(4):575–583. doi:<https://doi.org/10.2307/3284227>.

Caballero-Huertas M, Palomba M, Frigola-Tepe X, Muñoz M, Mattiucci S, Viñas J. 2023. Ascaridoid parasites in European sardine throughout the annual cycle: Variability in parasitic load according to host stock features. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife. 20:1–11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2022.12.001>.

Caldeira A, Alves C, Santos M. 2021. *Anisakis* notification in fish: An assessment of the cases reported in the European Union rapid alert system for food and feed (RASFF) database. Food Control. 124. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107913>.

Carmo J, Marques S, Bispo M, Serra D. 2017 May 11. Anisakiasis: a growing cause of abdominal pain! BMJ Case Reports.:bcr2016218857. doi:<https://doi.org/10.1136/bcr-2016-218857>. [acedido em 2025 Abr 2]. <https://casereports.bmj.com/content/2017/bcr-2016-218857>.

Carvalho G, Azevedo P, Cavalline R, Amorim De Souza M. 2020. Parasitismo em peixes: helmintos parasitos e os riscos potenciais.

Carvalho-Varela M. 2005. Parasitas e Parasitoses em Piscicultura. Portugal: O.M.V.

Casti D, Scarano C, Piras MC, Merella P, Muglia S, Piras F, Garippa G, Spanu C, De Santis EPL. 2017. Occurrence of nematodes of the genus *Anisakis* in Mediterranean and Atlantic fish marketed in Sardinia. Italian Journal of Food Safety. 6(1). doi:<https://doi.org/10.4081/ijfs.2017.6185>.

CE. 2015. *Scomber colias*. Europaeu. [acedido em 2025 Mar 24]. [https://fish-commercial-names.ec.europa.eu/fish-names/species/scomber-colias\\_pt](https://fish-commercial-names.ec.europa.eu/fish-names/species/scomber-colias_pt).

Chong RSM. 2015. Pathology of cultured fish in Hong Kong. 1st ed. Hong Kong: Agriculture, Fisheries and Conservation Department.

Cipriani P, Giuliatti L, Bao M, Palomba M, Mattiucci S, Levsen A. 2024. Post-mortem tissue migration of *Anisakis simplex* (s.s.) larvae (Nematoda: Anisakidae) in three commercially harvested fish species from the Northeast Atlantic: The role of storage time and temperature. Food Control. 157:110162. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110162>.

Cipriani P, Palomba M, Giuliatti L, Marcer F, Mazzariol S, Santoro M, Alburquerque R, Covelo P, López A, Santos M, et al. 2022. Distribution and genetic diversity of *Anisakis* spp. in cetaceans from the Northeast Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea. Nature. 12. doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-022-17710-1>.

- Costa G, Melo-Moreira E, Pinheiro de Carvalho MAA. 2011. Helminth parasites of the oceanic horse mackerel *Trachurus picturatus* Bowdich 1825 (Pisces: Carangidae) from Madeira Island, Atlantic Ocean, Portugal. *Journal of Helminthology*. 86(3):368–372. doi:<https://doi.org/10.1017/s0022149x11000502>.
- DGAV. 2014. Segurança Alimentar Parasitas nos produtos da pesca Divisão de Comunicação e Informação. [acedido em: 2025 Feb 12]. [https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/05/Esclarecimento-Parasitas-Pesca\\_1\\_2014.pdf](https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/05/Esclarecimento-Parasitas-Pesca_1_2014.pdf).
- DGRM - Direção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos. 2018. Estado Costeiro - DGRM. [www.dgrmpt.pt](http://www.dgrmpt.pt). [accessed 2024 Feb 24]. <https://www.dgrm.pt/web/guest/estado-costeiro>.
- EFSA. 2010. Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*. 8(4). doi:<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1543>.
- EFSA. 2024. Re-evaluation of certain aspects of the EFSA Scientific Opinion of April 2010 on risk assessment of parasites in fishery products, based on new scientific data. Part 1: ToRs1–3. *EFSA Journal*. 22(4). doi:<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8719>.
- EFSA. 2024b. Re-evaluation of certain aspects of the EFSA Scientific Opinion of April 2010 on risk assessment of parasites in fishery products, based on new scientific data. Part 2. *EFSA Journal*. 22(11). doi:<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9090>.
- EUMOFA. 2023 Oct 26. PERFIL DO PAÍS PORTUGAL. [https://eumofa.eu/documents/20124/35683/Portugal\\_pt.pdf/80126157-0ec3-4cfe-9b22-cab2a35045fd?t=1700837785614](https://eumofa.eu/documents/20124/35683/Portugal_pt.pdf/80126157-0ec3-4cfe-9b22-cab2a35045fd?t=1700837785614).
- Eurostat. 2024 Nov 21. 3.3 million tonnes of fish caught by EU fleet in 2023. @EU\_Eurostat. [acedido em: 2025 Feb 7]. <https://ec.europa.eu/eurostat/en/web/products-eurostat-news/w/ddn-20241121-1>.
- Euzéby J. 2008. Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire. França: Tec & Doc Lavoisier.
- Falcão H, Lunet N, Neves E, Barros H. 2002. Do only life larvae cause *Anisakis simplex* sensitization? *ALLERGY*. 57(1):44.
- FAO. 2017. FAO Major Fishing Areas. Atlantic, Northeast (Major Fishing Area 27). CWP Data Collection. In: Fisheries and Aquaculture. *Faorg*. [acedido em: 2025 Mar 28]. <https://www.fao.org/fishery/en/area/fao:27/en>.
- FAO. 2024. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024. Blue Transformation in action. Roma. <https://doi.org/10.4060/cd0683en>
- FDA. 2012. Bad Bug Book, Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. 2ª edição.
- FDA. 2022. CHAPTER 5: Parasites. In: Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. p. 91–98.
- FDA. 2023. Food Code 2022. [acedido em: 2025 Mar 28] <https://www.fda.gov/media/164194/download?attachment>.

Furuya K, Nakajima H, Sasaki Y, Urita Y. 2018. Anisakiasis: The risks of seafood consumption. *Nigerian Journal of Clinical Practice*. 21(11):1492. doi:[https://doi.org/10.4103/njcp.njcp\\_256\\_17](https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_256_17).

Gmelin JF. 1789. Caroli a Linné. *Systema Naturae Tom.I. Pars III*. In: Caroli a Linné. *Systema naturae per regna tria naturae: classes secundum, ordines, gêneros, espécies, cum characteribus, differentiis, sinônimos, locis*. Vol. 1. p. 1329. [acedido em: 2025 Mar 24]. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/83106#page/303/mode/1up>.

Golden O, Caldeira AJR, Santos MJ. 2022. Raw fish consumption in Portugal: A survey on trends in consumption and consumer characteristics. *Food Control*. 135. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108810>.

Gomes T, Quiazon K, Itoh N, Fujise Y, Yoshinaga T. 2023. Effects of temperature on eggs and larvae of *Anisakis simplex sensu stricto* and *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) and its possible role on their geographic distributions.

Integrated Taxonomic Information System (ITIS) - Report: *Scomber colias*. 2025. [acedido em 2025 Jan 17]. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=172413#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=172413#null).

Karl H, Leinemann M. 1993. A fast and quantitative detection method for nematodes in fish fillets and fishery products.

Kochanowski M, Różycki M, Dąbrowska J, Karamon J, Sroka J, Antolak E, Bełcik A, Cencek T. 2020. Development and Application of Novel Chemiluminescence Immunoassays for Highly Sensitive Detection of *Anisakis simplex* Proteins in Thermally Processed Seafood. *Pathogens*. 9(777):1–18. doi:<https://doi.org/10.3390/pathogens9100777>.

Levsen A, Cipriani P, Mattiucci S, Gay M, Hastie LC, MacKenzie K, Pierce GJ, Svanevik CS, Højgaard DP, Nascetti G, et al. 2018a. *Anisakis* species composition and infection characteristics in Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, from major European fishing grounds — reflecting changing fish host distribution and migration pattern. *Fisheries Research*. 202:112–121. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.07.030>.

Levsen A, Cipriani P, Palomba M, Giulietti L, Storesund J, Bao M. 2022. *Anisakis* parasites (Nematoda: Anisakidae) in 3 commercially important gadid fish species from the southern Barents Sea, with emphasis on key infection drivers and spatial distribution within the hosts. *Parasitology*. 149:1942–1957. doi:<https://doi.org/10.1017/S0031182022001305>.

Levsen A, Lunestad B, 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.

Levsen A, Svanevik CS, Cipriani P, Mattiucci S, Gay M, Hastie LC, Bušelić I, Mladineo I, Karl H, Ostermeyer U, et al. 2018b. A survey of zoonotic nematodes of commercial key fish species from major European fishing grounds—Introducing the FP7 PARASITE exposure assessment study. *Fisheries Research*. 202:4–21. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.09.009>.

Lopes P, Vilares A, Caçador T, Martins S, Ferreira I, Carvalho LM, Gargaté MJ. 2020. Occurrence of larval anisakids in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) caught in portuguese waters. *Parasitology Research*. 119(9):2799–2811. doi:<https://doi.org/10.1007/s00436-020-06816-y>.

López-Verdejo A, Born-Torrijos A, Montero-Cortijo E, Raga JA, Valmaseda-Angulo M, Montero FE. 2022. Infection process, viability and establishment of *Anisakis simplex* s.l. L3 in farmed fish; a histopathological study in gilthead seabream. *Vet Parasitol.* 311:109805. doi:10.1016/j.vetpar.2022.109805.

MarBIS – Sistema de Informação para a Biodiversidade Marinha. 2021. IPMA. [acedido em 2024 Feb 24]. <https://marbis.ipma.pt/>.

Martins R, Carneiro M. 2018. Manual de Identificação de Peixes Ósseos da Costa Continental Portuguesa - Principais características Diagnosticantes. Lisboa: IPMA, I.P.

Mattiucci S, Cipriani P, Levsen A, Paoletti M, Nascetti G. 2018. Molecular Epidemiology of *Anisakis* and Anisakiasis: An Ecological and Evolutionary Road Map. *Advances in Parasitology.*:93–263. doi:<https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.12.001>.

Mattiucci S, Cipriani P, Webb SC, Paoletti M, Marcer F, Bellisario B, Gibson DI, Nascetti G. 2014. Genetic and Morphological Approaches Distinguish the Three Sibling Species of the *Anisakis simplex* Species Complex, with a Species Designation as *Anisakis berlandi* n. sp. for *A. simplex* sp. C (Nematoda: Anisakidae). *Journal of Parasitology.* 100(2):199–214. doi:<https://doi.org/10.1645/12-120.1>.

MORSY K, BADR AM, ABDEL-GHAFFAR F, EL DEEB S, EBEAD S. 2017. Pathogenic Potential of Fresh, Frozen, and Thermally Treated *Anisakis* spp. Type II (L3) (Nematoda: Anisakidae) after Oral Inoculation into Wistar Rats: A Histopathological Study. *Journal of Nematology.* 49(4):427–436. doi:<https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-092>.

MVBIO. 2025 Feb 5. *Scomber colias* - Museu Virtual Biodiversidade. Museu Virtual Biodiversidade. [acedido em: 2025 Mar 24]. <https://www.museubiodiversidade.uevora.pt/elenco-de-especies/biodiversidade-actual/scomber-colias/>.

Otranto D, Wall R. 2024. *Veterinary Parasitology*. John Wiley & Sons.

Rama TA, Silva D. 2022. *Anisakis* Allergy: Raising Awareness. *Acta Médica Portuguesa.* 35(7-8):578–583. doi:<https://doi.org/10.20344/amp.15908>.

Ramos P. 2020. Parasites in fishery products - Laboratorial and educational strategies to control. *Experimental Parasitology.* 211:107865. doi:<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107865>.

Rigkou A, Hemnani M, Martins AL, Mesquita JR. 2024. Detection and Characterization of Visceral *Anisakis* Nematodes in Blue Whiting from Portuguese Waters. *Foods.* 13(3802). doi:<https://doi.org/10.3390/foods13233802>.

Santos MJ, Matos M, Guardone L, Golden O, Armani A, Caldeira AJR, Vieira-Pinto M. 2022. Preliminary Data on the Occurrence of *Anisakis* spp. in European Hake (*Merluccius merluccius*) Caught Off the Portuguese Coast and on Reports of Human Anisakiasis in Portugal. *Microorganisms.* 10(331):1–14. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms10020331>.

Sea for Society. 2014. *As espécies mais populares do mar de Portugal*. Publicação produzida no âmbito do projeto Europeu Sea for Society, financiado pelo Sétimo Programa-Quadro (FP7/2007-2013), contrato nº 289066. Lisboa Ciência Viva · Agência Nacional para a Cultura Científica e Tecnológica.

Shiraki T. 1974. Larval nematodes of family Anisakidae (Nematoda) in the northern Sea of Japan - as a causative agent of eosinophilic phlegmone or granuloma in the human gastrointestinal tract. *Acta Medica et Biologica*. 22(2):57–98.

Silva M, Eiras J. 2003. Occurrence of *Anisakis* sp. in fishes off the Portuguese West coast and evaluation of its zoonotic potential. *Bull Eur Ass Fish Pathol*. 23(1):13.

Valladão G. 2022. DOENÇAS PARASITÁRIAS EM PEIXES DE PRODUÇÃO. <https://vet.ufmg.br/wp-content/uploads/2023/03/cteletronico-101.pdf>.

Wang X, Xu T, Ding S, Xu Y, Jin X, Guan F. 2024. Recombinase polymerase amplification combined with lateral flow dipstick assay for rapid visual detection of *A. simplex* (s. s.) and *A. pegreffii* in sea foods. *Heliyon*. 10(7):e28943. doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28943>.

Werner M, Faeste CK, Levsen A, Egaas E. 2010. A quantitative sandwich ELISA for the detection of *Anisakis simplex* protein in seafood. *Eur Food Res Technol*. 232. doi:<https://doi.org/10.1007/s00217-010-1373-9>.

## ANEXOS 1

### FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DO LOTE - SESIMBRA

DATA DE COLHEITA: \_\_/\_\_/\_\_



LOTE: \_\_\_\_\_ PESO TOTAL LOTE: \_\_\_\_\_

EMBARCAÇÃO: \_\_\_\_\_ ARTE DE CAPTURA: \_\_\_\_\_

ZONA DE CAPTURA: \_\_\_\_\_

ESTADO DE CONSERVAÇÃO:  FRESCO  CONGELADO

#### 1º Etapa

DATA: \_\_/\_\_/\_\_

AMOSTRA	PESO (Kg)	COMPRIMENTO (cm)	Nº DE PARASITAS	VISCERA	MÚSCULO
A					
B					
C					
D					
E					

#### 2º Etapa

DATA: \_\_/\_\_/\_\_

AMOSTRA	TIPO I	TIPO II	OUTRAS	TOTAL
A				
B				
C				
D				
E				
TOTAL				

## ANEXO 2

Tabela : Número de larvas detetadas por amostra

Lote	Amostra	SE (N)	UV (N)
1	A	10	3
	B	5	8
	C	17	6
	D	7	8
	E	32	7
2	A	1	0
	B	34	7
	C	26	0
	D	8	6
	E	12	1
3	A	0	0
	B	19	0
	C	3	0
	D	6	2
	E	78	4
4	A	3	3
	B	5	5
	C	3	5
	D	20	9
	E	1	3
5	A	12	14
	B	11	13
	C	12	4
	D	14	10
	E	16	4
6	A	6	5
	B	2	2
	C	9	3
	D	8	3
	E	15	12
7	A	0	0
	B	2	1
	C	5	9
	D	3	8
	E	7	10
8	A	5	1
	B	1	2
	C	5	2
	D	11	6
	E	4	7
9	A	5	5
	B	2	2
	C	20	17
	D	5	3
	E	2	1
10	A	1	0
	B	1	13
	C	12	8
	D	19	16
	E	9	5

Legenda: N- Número de larvas; SE- Sem Equipamento; e UV- Ultravioleta

## ANEXO 3

### Descrição estatística por Lote

Lote: 1

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3	1.0	5	4.0	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	1.0	0.00	1	1.0	1	0.0	0	0	0.00
Peso	3	5	307.8	32.06	305	273.0	360	87.0	0.59	-1.31	14.34
Comprimento	4	5	30.3	1.30	30	28.5	32	3.5	-0.06	-1.68	0.58
Parasitas_visíveis	5	5	14.2	10.94	10	5.0	32	27.0	0.68	-1.46	4.89
Parasitas_UV	6	5	6.4	2.07	7	3.0	8	5.0	-0.69	-1.41	0.93
Total_parasitas	7	5	20.6	11.08	15	13.0	39	26.0	0.76	-1.38	4.96
Localização	8	5	1.4	0.55	1	1.0	2	1.0	0.29	-2.25	0.24

Lote: 2

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3.0	1.0	5	4.0	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	2.0	0.00	2.0	2.0	2	0.0	0	0	0.00
Peso	3	5	297.8	51.97	296.0	219.0	363	144.0	-0.29	-1.44	23.24
Comprimento	4	5	30.6	0.96	30.5	29.5	32	2.5	0.28	-1.72	0.43
Parasitas_visíveis	5	5	16.2	13.50	12.0	1.0	34	33.0	0.20	-1.99	6.04
Parasitas_UV	6	5	2.8	3.42	1.0	0.0	7	7.0	0.29	-2.20	1.53
Total_parasitas	7	5	19.0	15.15	14.0	1.0	41	40.0	0.28	-1.70	6.77
Localização	8	5	1.2	0.45	1.0	1.0	2	1.0	1.07	-0.92	0.20

Lote: 3

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3	1.0	5.0	4	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	3.0	0.00	3	3.0	3.0	0	0	0	0.00
Peso	3	5	290.0	70.54	272	212.0	391.0	179	0.30	-1.81	31.55
Comprimento	4	5	29.7	2.02	29	27.5	32.5	5	0.28	-1.92	0.90
Parasitas_visíveis	5	5	21.2	32.57	6	0.0	78.0	78	0.95	-1.08	14.57
Parasitas_UV	6	5	1.2	1.79	0	0.0	4.0	4	0.60	-1.67	0.80
Total_parasitas	7	5	22.4	34.09	8	0.0	82.0	82	0.96	-1.07	15.25
Localização	8	5	1.2	0.45	1	1.0	2.0	1	1.07	-0.92	0.20

Lote: 4

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3	1.0	5	4.0	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	4.0	0.00	4	4.0	4	0.0	0	0	0.00
Peso	3	5	204.4	61.85	212	140.0	271	131.0	-0.06	-2.18	27.66
Comprimento	4	5	28.0	3.06	29	24.5	31	6.5	-0.18	-2.20	1.37
Parasitas_visíveis	5	5	6.4	7.73	3	1.0	20	19.0	0.98	-1.02	3.46
Parasitas_UV	6	5	5.0	2.45	5	3.0	9	6.0	0.65	-1.40	1.10
Total_parasitas	7	5	11.4	10.09	8	4.0	29	25.0	0.94	-1.07	4.51
Localização	8	5	1.0	0.00	1	1.0	1	0.0	0	0	0.00

Lote: 5

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3.0	1.0	5	4.0	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	5.0	0.00	5.0	5.0	5	0.0	0	0	0.00
Peso	3	5	237.4	36.04	248.0	190.0	285	95.0	-0.03	-1.76	16.12
Comprimento	4	5	28.0	1.46	27.5	26.5	30	3.5	0.29	-1.98	0.65
Parasitas_visíveis	5	5	13.0	2.00	12.0	11.0	16	5.0	0.45	-1.75	0.89
Parasitas_UV	6	5	9.0	4.80	10.0	4.0	14	10.0	-0.11	-2.19	2.14
Total_parasitas	7	5	22.0	4.00	24.0	16.0	26	10.0	-0.45	-1.75	1.79
Localização	8	5	1.0	0.00	1.0	1.0	1	0.0	0	0	0.00

Lote: 6

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3.0	1.0	5	4.0	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	6.0	0.00	6.0	6.0	6	0.0	0	0	0.00
Peso	3	5	152.8	36.40	169.0	110.0	196	86.0	-0.10	-2.07	16.28
Comprimento	4	5	24.4	1.78	24.5	22.5	27	4.5	0.29	-1.76	0.80
Parasitas_visíveis	5	5	8.0	4.74	8.0	2.0	15	13.0	0.22	-1.53	2.12
Parasitas_UV	6	5	5.0	4.06	3.0	2.0	12	10.0	0.90	-1.15	1.82
Total_parasitas	7	5	13.0	8.46	11.0	4.0	27	23.0	0.66	-1.24	3.78
Localização	8	5	1.0	0.00	1.0	1.0	1	0.0	0	0	0.00

Lote: 7

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3.0	1.0	5.0	4	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	7.0	0.00	7.0	7.0	7.0	0	0	0	0.00
Peso	3	5	146.6	26.79	138.0	121.0	178.0	57	0.19	-2.19	11.98
Comprimento	4	5	24.3	1.82	23.5	22.5	26.5	4	0.23	-2.18	0.82
Parasitas_visíveis	5	5	3.4	2.70	3.0	0.0	7.0	7	0.09	-1.83	1.21
Parasitas_UV	6	5	5.6	4.72	8.0	0.0	10.0	10	-0.26	-2.21	2.11
Total_parasitas	7	5	9.0	7.25	11.0	0.0	17.0	17	-0.16	-2.09	3.24
Localização	8	5	1.0	0.00	1.0	1.0	1.0	0	0	0	0.00

Lote: 8

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3	1.0	5.0	4	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	8.0	0.00	8	8.0	8.0	0	0	0	0.00
Peso	3	5	152.0	29.94	135	124.0	185.0	61	0.25	-2.23	13.39
Comprimento	4	5	24.6	1.64	24	22.5	26.5	4	0.00	-1.98	0.73
Parasitas_visíveis	5	5	5.2	3.63	5	1.0	11.0	10	0.50	-1.34	1.62
Parasitas_UV	6	5	3.6	2.70	2	1.0	7.0	6	0.28	-2.15	1.21
Total_parasitas	7	5	8.8	5.40	7	3.0	17.0	14	0.43	-1.65	2.42
Localização	8	5	1.0	0.00	1	1.0	1.0	0	0	0	0.00

Lote: 9

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3	1.0	5.0	4	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	9.0	0.00	9	9.0	9.0	0	0	0	0.00
Peso	3	5	256.2	94.92	246	179.0	412.0	233	0.68	-1.38	42.45
Comprimento	4	5	29.9	2.86	31	26.5	33.5	7	-0.03	-1.99	1.28
Parasitas_visíveis	5	5	6.8	7.53	5	2.0	20.0	18	0.97	-1.04	3.37
Parasitas_UV	6	5	5.6	6.54	3	1.0	17.0	16	0.94	-1.08	2.93
Total_parasitas	7	5	12.4	14.05	8	3.0	37.0	34	0.96	-1.05	6.28
Localização	8	5	1.2	0.45	1	1.0	2.0	1	1.07	-0.92	0.20

Lote: 10

	vars	n	mean	sd	median	min	max	range	skew	kurtosis	se
Amostra	1	5	3.0	1.58	3.0	1.0	5.0	4	0.00	-1.91	0.71
Lote	2	5	10.0	0.00	10.0	10.0	10.0	0	0	0	0.00
Peso	3	5	285.2	28.08	287.0	246.0	312.0	66	-0.25	-1.92	12.56
Comprimento	4	5	30.4	1.14	30.5	28.5	31.5	3	-0.72	-1.27	0.51
Parasitas_visíveis	5	5	8.4	7.67	9.0	1.0	19.0	18	0.19	-1.91	3.43
Parasitas_UV	6	5	8.4	6.35	8.0	0.0	16.0	16	-0.07	-1.90	2.84
Total_parasitas	7	5	16.8	12.32	14.0	1.0	35.0	34	0.22	-1.50	5.51
Localização	8	5	1.2	0.45	1.0	1.0	2.0	1	1.07	-0.92	0.20

## ANEXO 4

### Código R

```
library(readxl)

Dados <- read_excel("Dados.xlsx")

#####

# Testar Pressupostos de Normalidade

#####

# Shapiro-Wilk normality test - Peso

shapiro.test(Dados$Peso)

# Resultado: p-value 0.1245

# Shapiro-Wilk normality test - Comprimento

shapiro.test(Dados$Comprimento)

# Resultado: p-value 0.01689

# Shapiro-Wilk normality test - Total de Parasitas

shapiro.test(Dados$`Total de parasitas` )

# Resultado: p-value 9.28e-07
```

```
#####
# Analise de Correlacao entre as Variaveis
#####

# Correlacao Spearman Peso vs Total de Parasitas
cor_peso <-cor.test(Dados$Peso, Dados$` Total de parasitas`, method = "spearman")
cor_peso
# Resultado: 0.4259271; p-value 0.002043

# Correlacao Spearman Comprimento vs Total de Parasitas
cor_comprimento <-cor.test(Dados$Comprimento, Dados$` Total de parasitas`, method = "spearman")
cor_comprimento
# Resultado: 0.350968 ; p-value 0.01245

#####
# Graficos de dispersao com linha de regressao
#####

library("ggpubr")
ggscatter(Dados, x = "Peso", y = "Total de parasitas",
          add = "reg.line", conf.int = TRUE,
          cor.coef = TRUE, cor.method = "spearman",
          xlab = "Peso (g)", ylab = "Total de Parasitas")

ggscatter(Dados, x = "Comprimento", y = "Total de parasitas",
          add = "reg.line", conf.int = TRUE,
          cor.coef = TRUE, cor.method = "spearman",
          xlab = "Comprimento (cm)", ylab = "Total de Parasitas")
```