

Riscos e Alimentos

A ASAE na defesa do consumidor, da saúde pública e da livre concorrência

Pescado



Contaminação microbiológica em moluscos bivalves

Biotoxinas marinhas em águas europeias

Anisakis em pescado



ÍNDICE

Editorial - pág. **3**

Consumo de pescado em Portugal - pág. **4**

Avaliação de riscos de contaminantes químicos inorgânicos em pescado - pág. **7**

Contaminação microbioana em moluscos bivalves - pág. **12**

Biotoxinas marinhas em águas europeias - pág. **16**

Histamina em pescado no âmbito dos dados provenientes do sistema de alerta rápido - RASFF - pág. **20**

Aquacultura e antimicrobianos - pág. **24**

Alergénios em produtos da pesca e derivados - pág. **27**

Anisakis e anisaquiose - pág. **30**

Fosfatos em bacalhau - pág. **34**

Editorial

Jorge Reis

Subinspector-geral da ASAE

Nos passados dias 5 de Novembro e 13 de Dezembro, a ASAE realizou dois seminários científicos subordinados aos temas “Os riscos alimentares em Portugal e na Europa” e “Riscos associados a novos consumos”, respectivamente.

No Seminário “Os riscos alimentares em Portugal e na Europa” pretendeu-se dar a conhecer, por um lado, a importância que a EFSA – Autoridade Europeia de Segurança Alimentar adquiriu nos seus 10 anos de existência, bem como a articulação existente entre a ASAE, as suas congéneres europeias e, especialmente, demonstrar a importância da vertente de avaliação de risco e dos planos de controlo oficial enquanto pilares fundamentais de uma actividade integrada e sustentada da ASAE, com base nos resultados obtidos no Plano Nacional de Colheita de Amostras desde o ano de 2006.

Para esse efeito, para além da presença de um responsável da EFSA, foram levadas a cabo diversas intervenções por técnicos da Direcção de Avaliação de Risco e do Laboratório de Segurança Alimentar da ASAE, que incidiram sobre a actividade da ASAE neste domínio e deram a conhecer as principais valências e especificidade técnica do Laboratório.

No seminário “Riscos associados a novos consumos”, que contou com a presença de vários oradores convidados, pretendeu-se dar a conhecer as competências da ASAE no que respeita às vertentes de avaliação e comunicação de risco, tendo-se dado especial ênfase aos riscos associados às novas tendências de consumo.

Pessoalmente, considero que a realização de iniciativas desta natureza se reveste de extrema importância, uma vez que permite, por um lado, dar a conhecer os projectos científicos em curso no nosso país e os dados que lhes estão associados e, especialmente, incentiva os diversos stakeholders a aprofundarem o seu relacionamento institucional e a estimularem a cooperação científica. Estas sinergias entre os diversos organismos com competência técnica e científica em muito contribuem para a alocação apropriada dos recursos disponíveis, bem como para uma melhor coordenação entre os diversos programas de trabalho.



Consumo de pescado em Portugal

Paulo Fernandes
ASAE/DACR

Dada a localização geográfica de Portugal junto ao Oceano Atlântico, o consumo de peixe sempre teve um papel importante na alimentação da população. O peixe terá sido consumido ao longo da história fresco ou nas suas diversas formas de conservação: seco, salgado, fumado.

Segundo Flandrin (2001), o consumo dos países europeus é muito divergente, desempenhando a situação geográfica um papel importante na determinação do seu nível. A Suíça ou a Áustria, por exemplo, consumiam em 1938 ainda dez vezes menos peixe do que Portugal ou a Suécia.¹

Segundo Amorim Cruz (1994) a capitação de pescado em Portugal sofreu entre 1985 e 1992 um aumento de 45% passando de 51 para 75 g por dia. Há que referir no entanto, que o consumo de peixe na década de 60 era de 97 g por dia.²

Ao nível mundial o consumo de peixe passou de cerca de 24 g por pessoa por dia nos anos 60 para cerca de 43 g por pessoa por dia em 1997.³

A tarefa de analisar o consumo alimentar em Portugal apresenta diversas limitações e dificuldades que se devem essencialmente à inexistência de um inquérito alimentar nacional actualizado.

A ferramenta de referência para a realização de estudos baseados nos dados do consumo alimentar em Portugal, o Inquérito Alimentar Nacional, elaborado pelo Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, data de 1980. Neste estudo a metodologia utilizada para analisar o consumo alimentar foi o registo alimentar de um dia. Em mais de 25 anos os hábitos alimentares terão certamente mudado quer devido à alteração das condições socioeconómicas quer devido às condições políticas decorrentes da integração do país na União Europeia. Assim estes dados não poderão ser utilizados com segurança para retratar o consumo de pescado em Portugal. É, por isso, necessário recorrer a outras ferramentas que possam constituir uma alter-

nativa a esta fonte de dados passível de ser utilizada.

A Balança Alimentar Portuguesa, elaborada pelo Instituto Nacional de Estatística (INE), é um instrumento analítico de Natureza estatística, fundamental para o conhecimento da situação alimentar e nutricional, assumindo-se como um quadro alimentar global, expresso em consumos brutos médios diários.

Devido à metodologia usada neste estudo, com os dados a não serem obtidos a partir de inquérito ao consumo mas através de cálculos, é possível identificar duas limitações principais:

- O consumo calculado pode não reflectir verdadeiramente o consumo dos indivíduos que compõem a população;
- Um cálculo de consumo pressupõe um consumo médio que não tem em conta diferentes grupos de população nem diferentes padrões de consumo que os vários indivíduos possam apresentar.

Ou seja, os dados obtidos a partir desta fonte não nos permitem verificar a existência de consumos alimentares que se desviem da média e tão-pouco quantificá-los. Serão no entanto um reflexo do consumo alimentar à escala nacional.

Tabela 1 - Consumo de pescado em Portugal

Categoria e pescado	1990	1996	2003
Pescado total	66	66,5	60,2
Peixe (fresco, refrigerado, congelado ou em conserva)	43	40,5	37,5
Bacalhau e outros peixes secos, salgados fumados ou em salmoura	12,9	15,6	11,2
Crustáceos e moluscos (frescos, refrigerados, congelados ou em salmoura)	10,1	10,4	11,5

Fonte: Balança Alimentar Portuguesa⁴

Estão também disponíveis os dados do estudo sobre o Consumo Alimentar no Porto. A informação presente neste relatório foi obtida através de um questionário semi-quantitativo de frequência alimentar uma vez que o objectivo é relacionar o consumo alimentar com doenças crónicas, em que o interesse reside no conhecimento da alimentação no passado, não tendo sido, por isso, especificamente desenvolvido com o objectivo primário de descrever hábitos e consumos alimentares da população. Assim a administração do questionário baseou-se numa entrevista pessoal, realizada por um entrevistador treinado com o objectivo de permitir uma maior assistência ao participante, o esclarecimento de dúvidas no momento e a detecção de algumas contradições nas respostas.

A população-alvo do estudo é constituída por indivíduos de nacionalidade portuguesa, de ambos os sexos, com idade igual ou superior a 18 anos e residentes na cidade do Porto. As avaliações decorreram no Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina do Porto, entre Janeiro de 1999 e Dezembro de 2003.

A grande limitação do estudo acima apresentado é o facto de ter sido realizado numa amostra da população urbana da cidade do Porto, maior de 18 anos. Ou seja, o estudo é regional, abrange apenas os indivíduos maiores de idade e apenas a residente em zonas urbanas. No entanto e segundo os autores não é de esperar que o consumo alimentar seja muito diferente, pelo menos das outras regiões urbanas do país.⁵

O estudo do consumo alimentar no Porto dá-nos os seguintes valores de ingestão de pescado total:

Tabela 2 – Consumo de pescado total (g de parte edível/dia) – 1999 – 2003

Homens (consumo médio)	Mulheres (consumo médio)	Total
78,6	75,6	76,8

Uma outra fonte de dados que embora não forneça dados directos do consumo alimentar na Europa é a DAFNE⁶ (Data Food Networking) uma base de dados para a monitorização dos hábitos alimentares na Europa, financiada pela Comissão Europeia. Esta base de dados de consumo alimentar é

muito limitada porque não apresenta dados directos do consumo alimentar da população – baseia-se nos dados dos Inquéritos aos Orçamentos Familiares. Os dados de consumo alimentar fornecidos por este tipo de inquéritos têm por base as aquisições de um determinado agregado familiar dos vários alimentos. Ou seja, não tem em conta quer o desperdício (alimentos deteriorados que não se consomem, a porção não edível dos alimentos) quer os consumos alimentares realizados na hotelaria e restauração. É no entanto, devido à convergência das metodologias utilizadas na obtenção dos dados, a forma mais adequada para observar a importância relativa do consumo de peixe entre os diversos países.

Tabela 3 – Consumo de pescado total – Inquéritos aos Orçamentos Familiares

País	Consumo de pescado total (g/dia)	Período
Alemanha	16	1998
Áustria	9,3	1999
Bélgica	24	1999
Croácia	23	2000
Chipre	18	2003
Eslováquia	11	2003
Eslovénia	13	2002
Espanha	61	1998 - 1999
Finlândia	30	1998
França	21	1991
Grécia	46	2004
Hungria	4	1991
Irlanda	14	1999
Itália	38	1996
Letónia	38	2004
Luxemburgo	28	1993
Malta	36	2000
Noruega	50	1996 - 1998
Polónia	15	1988
Portugal	83	2000
Sérvia	18	2004
Suécia	30	1996
Reino Unido	20	1999

Fonte: DAFNE

Pode assim concluir-se que os dados estatísticos existentes são insuficientes para caracterizar adequadamente o consumo de pescado em Portugal. As várias fontes de dados disponíveis apresentam discrepâncias consideráveis entre si.

Esta informação encontra-se condensada na tabela 4.

Tabela 4 - Resumo dos dados de consumo de pescado em Portugal

Fonte dos dados de consumo	Capitação (g/dia)
Balança Alimentar Portuguesa (2003)	60,2
Consumo Alimentar no Porto (1999-2003)	76,8
DAFNE - Inquérito aos Orçamentos Familiares (2000)	83

Bibliografia

1. FLANDRIN, J-L. et al; História da Alimentação - 2. Da Idade Média aos tempos actuais; Terramar; 2001; Lisboa; Portugal; ISBN 972-710-281-1
2. Cruz JAA, Evolução da situação alimentar Portuguesa e a adesão à União Europeia, Revista Portuguesa de Nutrição. 1994. vol VI (3):5-19
3. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases – Report of a joint WHO/FAO expert consultation, WHO technical report series n. 916, Geneva, 2003
4. INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA; Balança Alimentar Portuguesa: 1990-2003; Instituto Nacional de Estatística – Lisboa; INE, 2006; quadros da publicação; Available from URL: http://www.ine.pt/portal/page/portal/PORTAL_INE/Publicacoes?PUBLICACOESpub_boui=12365765&PUBLICACOESmodo=2
5. Lopes C, Oliveira A, Santos AC, Ramos E, Gaio AR, Severo M, Barros H. Consumo alimentar no Porto. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto - 2006. Disponível em: www.consumoalimentarporto.med.up.pt
6. DAFNE – Data food networking; A databank for monitoring food habits in Europe; A initiative funded by the European Commission; available from: <http://www.nut.uoa.gr/dafne-softweb/>

Avaliação de riscos de contaminantes químicos inorgânicos em pescado

Lourenço, H.M. Cardoso, C., Afonso, C.

Departamento do Mar e Recursos Marinhos – Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA, I.P.)

Em Portugal, pela posição privilegiada no conjunto dos países europeus, devido ao seu posicionamento geo-estratégico, frontal ao Oceano Atlântico, e pelo conhecimento acumulado ao longo de gerações das práticas e técnicas de capturas de espécies marinhas, da sua conservação e transformação e da sua utilização culinária, a pesca e o pescado sempre tiveram uma grande importância sócio-económica. Daqui resulta que Portugal, do conjunto dos países da União Europeia, é o que apresenta o maior consumo per capita, mais de 55 kg/ano.

Ao consumo de produtos da pesca são atribuídos inúmeros benefícios nutricionais. Assim, estes produtos são ricos em proteínas de elevado valor biológico e lipídios constituídos por ácidos gordos polinsaturados da família ómega-3, em particular os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), os quais se salienta a sua acção benéfica a nível cardiovascular e desenvolvimento fetal. Por isso, várias entidades internacionais, como a Associação Americana do Coração ('American Heart Association', AHA), aconselham um consumo semanal de cerca de duas refeições de peixe gordo. O pescado é igualmente uma excelente fonte de algumas vitaminas, designadamente de A e D, e apresenta também uma enorme variedade de elementos minerais, nomeadamente de iodo (I) e selénio (Se), para além de ser um alimento de digestão fácil e de apresentar um baixo teor de colesterol.

Todavia, se o valor nutricional do peixe é indiscutível o mesmo já não se passa com o risco de exposição do consumidor a substâncias poluentes que se podem acumular na parte edível. Entre estas substâncias destacam-se as dioxinas e os bifenilos policlorados e seus derivados (PCB), poluentes orgânicos persistentes (POP), e o mercúrio, cádmio, chumbo e arsénio, contaminantes químicos inorgânicos. As fontes destes poluentes no meio aquático podem ser de origem antropogénica, nomeadamente esgotos domésticos, industriais e os provenientes de actividades agrícolas, ou de origem natural, como as provenientes dos processos de erosão dos solos e produtos expelidos nas erupções vulcânicas. Os perigos resultantes da presença destes compostos em ambiente aquático implica não só a sua persistência e toxicidade mas também um grau considerável de concentração na cadeia trófica, o que constitui um factor de risco para a saúde humana.

Assim, o mercúrio total (Hg) e metilmercúrio (me-Hg), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e arsénio (As) são considerados elementos tóxicos que podem ser assimilados, armazenados e concentrados pelos organismos vivos, através da cadeia alimentar, originando efeitos fisiológicos por vezes graves. A sua concentração nos organismos aquáticos é influenciada por factores geográficos e ambientais, mas também pela idade, ciclo biológico, estado de maturação sexual, comportamento migratório, alimentação, entre outros. Grande parte das reacções químicas explicativas da toxicidade destes elementos a nível celular dizem respeito a reacções de transferência electrónica, formação de radicais livres oxigenados e influência nas cadeias do DNA, com as possíveis consequências de fenómenos de mutagenicidade, genotoxicidade, e carcinogenicidade.

De um modo geral, os teores de Cd e Pb no músculo do peixe não são mais elevados dos que os encontrados na carne de vaca, porco ou aves domésticas. Aponta-se que a sua absorção nos adultos, a partir da dieta alimentar, ao nível gastrointestinal, se situa entre 3 a 8% no caso do Cd e de 5 a 15% no caso do Pb. Os níveis médios destes elementos em espécies capturadas e/ou comercializadas em Portugal (Tabela 1), como a sardinha, carapau, bacalhau e peixe espada preto, encontram-se, de uma forma geral, abaixo dos 0,01 mg/kg e de 0,06 mg/kg, respectivamente para o Cd e Pb. Noutras partes edíveis do peixe, tal como o fígado, os níveis de Pb são da mesma ordem de grandeza que os

encontrados no músculo mas os de Cd são mais elevados. No que respeita aos crustáceos, como é o caso da sapateira e lagostim, esses teores médios rondam os 0,10 e 0,05 mg/kg, respectivamente para o Cd e Pb. Em relação aos moluscos, cefalópodes e bivalves, o Pb e em particular o Cd apresentam valores superiores destes contaminantes quando comparados com os observados no peixe. As concentrações destes elementos nos moluscos reflectem as existentes no ambiente aquático e, desta forma, são tão mais elevadas quanto a zona for mais poluída.

Tabela 1. Teores de Cd, Pb, Hg (total) e As (mg/kg, peso fresco) e me-Hg (%) em vários produtos da pesca consumidos em Portugal* (média \pm desvio padrão).

Produto da pesca**	Cd	Pb	Hg		As
			Total	Me-Hg	
<i>Peixes Selvagens</i>					
Sardinha	0,01 \pm 0,00	0,05 \pm 0,02	0,03 \pm 0,01	75 \pm 12	4,9 \pm 0,4
Carapau	< 0,01	0,02 \pm 0,02	0,06 \pm 0,05	-	-
Pescada	0,011 \pm 0,004	0,06 \pm 0,01	0,21 \pm 0,16	88 \pm 8	6,7 \pm 1,4
Bacalhau	< 0,01	<0,02	0,09 \pm 0,07	-	-
Raias	0,006 \pm 0,002	0,03 \pm 0,02	0,24 \pm 0,24	80 \pm 5	31 \pm 11
Peixe-espada preto (PEP)	0,01 \pm 0,01	0,02 \pm 0,03	0,63 \pm 0,27	86 \pm 5	2,9 \pm 1,0
Tamboril	0,002 \pm 0,001	0,020 \pm 0,005	0,43 \pm 0,32	84 \pm 6	10,3 \pm 4,2
Fígado de PEP	3,53 \pm 1,50	0,063 \pm 0,034	1,31 \pm 0,88	35 \pm 7	7,1 \pm 4,2
Fígado de tamboril	0,16 \pm 0,20	0,051 \pm 0,009	0,21 \pm 0,16	75 \pm 8	8,1 \pm 1,2
Conserva de atum	0,04 \pm 0,03	< 0,02	0,28 \pm 0,18	76 \pm 2	-
<i>Peixes de aquicultura</i>					
Dourada	0,01 \pm 0,01	0,03 \pm 0,02	0,11 \pm 0,04	84 \pm 3	4,0 \pm 0,5
Salmão	0,002 \pm 0,001	0,010 \pm 0,005	0,028 \pm 0,003	80 \pm 7	5,6 \pm 0,5
<i>Crustáceos</i>					
Sapateira	0,07 \pm 0,06	0,02 \pm 0,01	0,10 \pm 0,04	-	22 \pm 11
Lagostim	0,10 \pm 0,04	0,05 \pm 0,01	0,40 \pm 0,16	78 \pm 5	32 \pm 8
<i>Cefalópodes</i>					
Polvo	0,38 \pm 0,39	0,02 \pm 0,01	0,13 \pm 0,06	88 \pm 8	26 \pm 8
Choco	0,31 \pm 0,28	0,04 \pm 0,01	0,15 \pm 0,10	91 \pm 4	20 \pm 4
Lula	0,04 \pm 0,03	0,10 \pm 0,03	0,05 \pm 0,02	87 \pm 7	4,0 \pm 0,4
<i>Bivalves</i>					
Amêijoas	0,02 \pm 0,01	0,10 \pm 0,10	0,02 \pm 0,00	-	-
Mexilhões	0,13 \pm 0,07	0,20 \pm 0,10	0,02 \pm 0,00	-	-

* De acordo com o inquérito de consumo realizado no ano de 2012 pelo IPMA (no âmbito projecto GOODFISH).

**Dados obtidos pelo IPMA [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9] e pelo projecto GOODFISH.

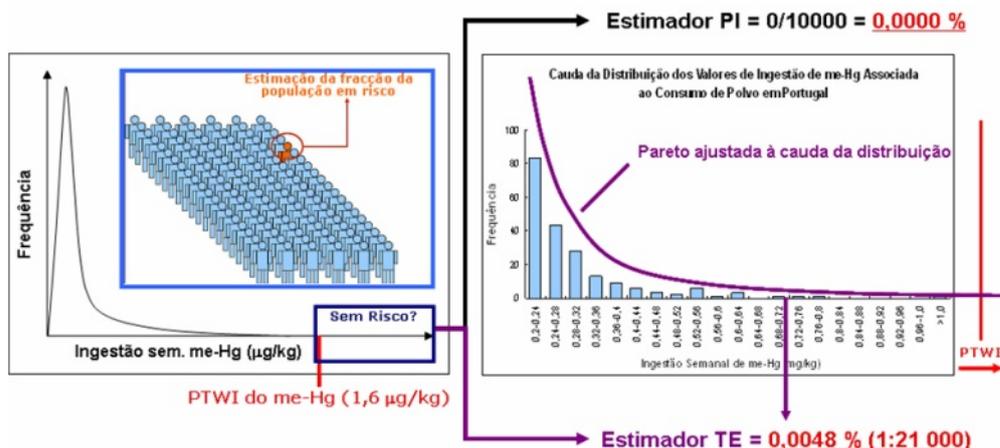
O teor de As nos produtos da pesca é muito variável, podendo estes apresentar concentrações entre 1 e 100 mg/kg. Em regra, as espécies que vivem em relação próxima e permanente com o fundo (denominadas bentónicas), como por exemplo as raias, apresentam níveis médios de arsénio mais altos, cerca de 30 mg/kg, quando comparados com outras espécies de peixes. Assim, a acumulação deste composto é resultado dos diferentes habitats onde vivem as espécies, sendo reconhecido que águas perto dos sedimentos contêm mais As que as de superfície. No entanto, este metalóide encontra-se, no pescado, principalmente sob a forma orgânica, a arsenobetaina, que é uma forma praticamente inofensiva para o ser humano pois é metilada no organismo e rapidamente excretada pela urina.

No que respeita ao Hg, nomeadamente à sua forma orgânica de metilmercúrio (me-Hg) que representa cerca de 90% do total de Hg no músculo do peixe, é aceite que a principal via de exposição a este composto é a alimentar, através do consumo de pescado. O me-Hg é um composto lipofílico facilmente absorvido (90 a 95%) ao nível gastrointestinal. A presença de teores elevados de Hg/me-Hg nos produtos da pesca pode explicar-se pelo fenómeno da biomagnificação. Deste modo, os organismos situados no topo da cadeia trófica apresentam níveis de me-Hg superiores nos seus tecidos em relação aos organismos que lhes servem de alimento. Assim, os níveis de Hg nestes produtos estão relacionados com diversos factores como o habitat, a posição da espécie na cadeia trófica, idade e dieta alimentar. De facto, a concentração de Hg/me-Hg é, em regra, mais elevada em peixes carnívoros quando comparado com os herbívoros. Como exemplo, o peixe espada preto apresenta valores superiores de Hg total (cerca de 0,60 mg/kg), quando comparado com a sardinha (cerca de 0,03 mg/kg). Entre os crustáceos, o lagostim apresenta valores na ordem dos 0,40 mg/kg. É de salientar que o Se, um nutriente que é abundante nos peixes marinhos, parece ter um efeito na biodisponibilidade do mercúrio, sendo por isso associado a uma acção protectora contra os efeitos adversos provocados pelo me-Hg.

Dada esta problemática da presença de contaminantes nos produtos da pesca e a relevância do consumo destes produtos para a saúde, a quantificação de riscos associados a estes contaminantes torna-se essencial para se obter uma ideia mais precisa da importância do risco e poder equacionar e ponderar os riscos e benefícios associados ao seu consumo. Deste exercício podem ser obtidos os níveis recomendáveis de consumo de um dado produto da pesca. Assim sendo, à determinação dos níveis de um dado contaminante no pescado deve seguir-se um processo de avaliação quantitativa do risco implicado. Com este propósito, foi desenvolvido um processo de quantificação de riscos e benefícios baseado no método de amostragem aleatória de Monte Carlo e na teoria do valor extremo. Estas ferramentas estatísticas permitem uma avaliação mais rigorosa das probabilidades e a estimativa da porção de uma população em risco pelo consumo de produtos da pesca.

A avaliação do risco de ingestão de contaminantes (como o me-Hg) pode ser feita através da combinação de dados de consumo de alimentos ou, na ausência desta informação, de estimativas de consumo com os níveis de concentração do contaminante, de acordo com abordagens diferentes: determinística ou probabilística. Na primeira, a estimativa de um único ponto de cada variável independente (consumo e concentração) é usada. Na abordagem probabilística, são empregues distribuições de probabilidades ajustadas aos dados disponíveis [10]. Desta forma, é possível estimar a probabilidade de que a exposição individual a um contaminante específico ultrapasse o limite recomendado, como a ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) para o me-Hg, 1,6 µg/(kg peso corporal.semana) [11]. A principal ferramenta estatística para isso é a teoria do valor extremo (TVE) [12] (Fig. 1).

Figura 1. Comparação entre os estimadores PI e TE na quantificação do risco de me-Hg associado ao consumo de polvo pela população Portuguesa.



Precisamente, com recurso à abordagem probabilística, foi possível quantificar a probabilidade de se exceder o PTWI do me-Hg em resultado do consumo de pescado pela população Portuguesa. Em particular, esta probabilidade foi calculada para os produtos da pesca mais consumidos em Portugal (conserva de atum, bacalhau, carapau, pescada e sardinha) [13] e ainda para o peixe-espada preto [14] e os principais cefalópodes (polvo, lula e choco) [15] (Tabela 2).

Tabela 2. Probabilidade de exceder o PTWI do me-Hg em resultado do consumo de diferentes produtos da pesca pela população Portuguesa.

Produto	P _{ingestão me-Hg >}
	PTWI
Conserva de atum	1:1 447
Bacalhau	0,252777778
Carapau	1:30 879
Choco	1:1 483 171
Lula	1:1 439 330
Peixe-espada preto	01:55
Pescada	0,672222222
Polvo	1:21 000
Sardinha	1:408 210

Os valores são geralmente baixos, especialmente para produtos com consumo relativamente baixo na população Portuguesa, como o choco, ou com teores em me-Hg extremamente reduzidos, como a sardinha. Apenas se encontram motivos de preocupação para três produtos, a pescada, o bacalhau e o peixe-espada preto. No caso dos dois primeiros, os teores em me-Hg não são elevados, mas o elevado consumo destes peixes acaba por aumentar a probabilidade. O caso do peixe-espada preto é mais sério, pois trata-se de uma probabilidade considerável (1:55) resultante de teores em me-Hg elevados. No entanto, deve ter-se em conta que a ultrapassagem do PTWI não significa automaticamente um problema de saúde pública, na medida em que o valor do PTWI incorpora uma margem de segurança e é definido tendo em conta grupos da população mais vulneráveis, como mulheres grávidas e lactantes

no caso do me-Hg. De qualquer forma, um consumo mais moderado de peixe espada preto, não excedendo uma refeição mensal, é aconselhável [14].

Agradecimentos

Os resultados apresentados neste artigo decorrem em parte do trabalho experimental realizado no âmbito do projecto PTDC/SAL-ESA/103825/2008 "Benefícios e riscos associados ao consumo de produtos da pesca: Uma análise de benefício-risco baseada na abundância e bioacessibilidade de n-3 PUFA e Selénio, Mercúrio e Arsénio em produtos crus e cozinhados (GOODFISH)" da Fundação Para a Ciência e Tecnologia (FCT). A autora Cláudia Afonso agradece o financiamento do seu trabalho através da bolsa de Pós-Doutoramento SFRH/BPD/64951/2009 da FCT.

Referências

- [1] Lourenço, HM, Afonso, C, Martins, MF, Lino, AR, Nunes, ML, 2004. Levels of toxic metals in canned seafood. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13(3):117-125. doi:10.1300/J030v13n03_11
- [2] Afonso, C, Lourenço, HM, Abreu Dias, Nunes, ML, Castro, M, 2007. Contaminant metals in black scabbard fish (*Aphanopus carbo*) caught off Madeira and the Azores. *Food Chemistry*, 101:120-125. doi:10.1016/j.foodchem.2006.01.030r
- [3] Afonso, C, Lourenço, HM, Pereira, C, Martins, MF, Carvalho, ML, Castro, M, Nunes, ML, 2008. Total and organic mercury, selenium and α -tocopherol in some deep-water fish species. *J. Sci. Food Agric.*, 88:2543-2550. doi:10.1002/jsfa.3379
- [4] Lourenço, HM, Anacleto, P, Afonso, C, Ferraria, V, Martins, MF, Carvalho, ML, Lino, AR, Nunes, ML, 2009. Elemental composition of cephalopods from Portuguese continental waters. *Food Chemistry*, 113:1146-1153. doi:10.1016/j.foodchem.2008.003
- [5] Anacleto, P, Lourenço, HM, Ferraria, V, Afonso, C, Carvalho, ML, Martins, MF, Nunes, ML, 2009. Total arsenic content in seafood

consumed in Portugal. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 18(1-2):32-45. doi:10.1080/10498850802581088

[6] Lourenço, HM, Anacleto, P, Afonso, C, Martins, MF, Carvalho, M, Lino, AR, Nunes, ML, 2009. Chemical characterisation of *Nephrops norvegicus* from Portuguese coast. *J. Sci. Food Agric.*, 89:2572-2580. doi:10.1002/jsfa.3754

[7] Maulvault, AL, Anacleto, P, Lourenço, HM, Carvalho, ML, Nunes, ML., Marques, A, 2012. Nutritional quality and safety of cooked edible crab (*Cancer pagurus*). *Food Chemistry* 133(2):277-283. doi:10.1016/j.foodchem.2012.01.023

[8] Lourenço, HM, Afonso, C, Anacleto, P, Martins, MF, Nunes, ML, Lino, AR, 2012. Elemental composition of four farmed fish produced in Portugal. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(7):853-859 doi:10.3109/09637486.2012.681632

[9] Afonso, C, Lourenço, HM, Cardoso, C, Bandarra, NM, Carvalho, ML, Castro, M, Nunes, ML 2012. From fish chemical characterisation to the benefit-risk assessment – Part A. *Food Chemistry*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.014>

[10] Sioen I, De Henauf S, Verdonck F, Van Thuyne N, Van Camp J, 2007. Development of a nutrient database and distributions for use in a probabilistic risk-benefit analysis of human seafood consumption. *J. Food Comp. Anal.* 20:662-670. doi:10.1016/j.jfca.2006.11.001

[11] FAO/WHO, 2010. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Seventy-second meeting, Rome, 16–25 February 2010. Summary and Conclusions. Issued 16th March 2010.

[12] Tressou J, Crépet A, Bertail P, Feinberg MH, Leblanc JC, 2004. Probabilistic exposure assessment to food chemicals based on extreme value theory. Application to heavy metals from fish and sea products. *Food Chem. Tox.* 42:1349-1358. doi:10.1016/j.fct.2004.03.016

[13] Cardoso C, Bandarra N, Lourenço HM, Afonso C, Nunes ML, 2010. Methylmercury risks and EPA+DHA benefits associated with seafood consumption in Europe. *Risk Analysis* 30(5):827-840. doi:10.1111/j.1539-6924.2010.01409.x

[14] Cardoso C, Farias I, Costa V, Nunes ML, Gordo L 2010. Estimation of risk assessment of some heavy metals intake through black scabbardfish (*Aphanopus carbo*) consumption in Portugal. *Risk Analysis* 30(6):952-961. doi:10.1111/j.159-6924.2010.01374.x

[15] Cardoso C, Lourenço HM, Afonso C, Nunes ML 2012. Risk assessment of methyl-mercury intake through cephalopods consumption in Portugal. *Food Additives and Contaminants: Part A* 29(1):94-103. doi:10.1080/19440049.2011.623284

Contaminação microbiana em moluscos bivalves

Sónia Pedro. Helena Silva

Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA, I.P.)

A qualidade microbiana dos moluscos bivalves vivos está directamente relacionada com a qualidade das águas onde vivem, ocorrendo a sua contaminação quando se encontram em meios contendo microrganismos expostos a focos de contaminação. A contaminação microbiana das águas conquícolas pode ter diversas origens, nomeadamente urbanas, agro-industriais ou ligadas a actividades de lazer, que influenciam o teor e os níveis de contaminação (Lees, 2000).

A introdução dos microrganismos no meio aquático depende de vários factores naturais, tais como a topologia dos terrenos, a pluviosidade e as características hidrográficas, bem como de factores humanos, que são facilitadores dessa contaminação. Entre os factores naturais, a pluviosidade ocupa um lugar primordial nesta contaminação, podendo originar a descida da qualidade sanitária nas zonas de produção de bivalves.

As populações bacterianas das massas de água possuem morfologia, fisiologia e taxas de desenvolvimento específicas, que estão estreitamente condicionados por vários factores. Pela sua relevância, destacam-se os seguintes factores, que influenciam a sobrevivência dos microrganismos no meio aquático: (i) exposição à luz solar (cujos raios ultra-violeta possuem efeito bactericida); (ii) temperatura, salinidade e pH (que influenciam o metabolismo microbiano); (iii) matéria em suspensão (que aumenta a turbidez da água e diminui a penetração da luz solar); (iv) associação a partículas (que, consoante o seu peso, levam à sedimentação e concentração ou diluição dos microrganismos); (v) presença de nutrientes orgânicos e inorgânicos; e (vi) ocorrência de predadores/competidores (IPIMAR, 2008).

Os microrganismos de origem entérica, como a *Escherichia coli* e a *Salmonella spp.*, perdem geralmente a viabilidade no meio aquático, mas

podem sobreviver durante semanas se houver elevada carga orgânica, temperaturas amenas e poucos microrganismos competidores. Apesar de serem pouco comuns períodos de sobrevivência superiores a 50 dias, é possível o desenvolvimento de coliformes em águas poluídas por matéria orgânica. No entanto, estudos com várias bactérias, incluindo *Enterobacteriaceae* e *Vibrionaceae*, demonstraram que estas se podem adaptar ao meio ambiente, permanecendo viáveis por longos períodos, mas podendo não ser cultiváveis (IPIMAR, 2008).

A retenção das bactérias pelos bivalves depende da morfologia bacteriana e da fisiologia do bivalve. Por exemplo, a forma e dimensão do microrganismo influenciam a respectiva adsorção e captura. As bactérias ingeridas podem ser degradadas pela lisozima gástrica, servindo como fonte de alimento para o bivalve, ou resistir à sua acção e permanecerem inalteradas. Estes microrganismos podem ser eliminados através das fezes ou pseudofezes, contribuindo para a ocorrência de recontaminações. A actividade fisiológica de filtração do bivalve também influencia a acumulação dos microrganismos, sendo condicionada por diversos intrínsecos e extrínsecos. Como parâmetros extrínsecos, destacam-se a temperatura, a salinidade, o oxigénio dissolvido e a turbidez, que podem limitar a actividade filtrante. Esta taxa de acumulação depende igualmente da dimensão, condição corporal e espécie do bivalve. Por exemplo, os bivalves são capazes de acumular, em 24 horas, teores de *E. coli* seis a 40 vezes superiores aos da água (Quadro 1). Por esta razão, o controlo hígio-sanitário dos moluscos bivalves vivos tem estado historicamente relacionado com a qualidade microbiana das áreas de produção (IPIMAR, 2008).

Quadro 1 – Exemplos de factores de acumulação de *E. coli* para duas espécies de bivalves, relativamente à água (adaptado de IPIMAR, 2008).

Bivalves	Factor de acumulação	Período de exposição
Amêijoas	6 - 9	24 horas
	216	7 dias
Ostras	Out-30	4 horas
	> 40	24 horas

Para minimizar os riscos para a saúde pública, as zonas de produção em que a colheita de moluscos bivalves vivos está autorizada devem ser controladas quanto à sua qualidade microbiana e classificadas em diferentes estatutos sanitários pela autoridade competente. De acordo com o nível de contaminação fecal observado ao longo do tempo, as zonas são classificadas em três categorias (A, B e C), por ordem crescente de contaminação, que determinam o destino e tratamento posterior dos bivalves (Quadro 2).

Quadro 2 - Sistema de classificação e respectivo significado

Classe	Teor de <i>Escherichia coli</i> / 100g	Observações
A	Inferior ou igual a de 230	—
B	De 230 a inferior ou igual a 4600	Em pelo menos 90% das amostras; nenhuma amostra pode exceder 46000
C	De 4600 a inferior ou igual a 46000	—
Proibida	Superior a 46000	—

Significado: Classe A - Os bivalves podem ser apanhados e comercializados para consumo humano directo; Classe B - Os bivalves podem ser apanhados e destinados a depuração, transposição ou transformação em unidade industrial; Classe C - Os bivalves podem ser apanhados e destinados a transposição prolongada ou transformação em unidade industrial.; Proibida - interdita a captura de bivalves. Adaptado de: Regulamento (CE) n.º 854/2004, de 29 de Abril; Regulamento (CE) n.º 2073/2005, de 15 de Novembro, Regulamento (CE) n.º 1441/2007 de 5 de Dezembro, e Regulamento (CE) n.º 1021/2008 de 17 de Outubro.

Do ponto de vista microbiano, os regulamentos baseiam a classificação das zonas de produção dos bivalves no teor de *E. coli* por 100 g de carne e líquido intervalvar, determinado por um teste de

número mais provável (NMP) de 5 tubos e 3 diluições. A legislação impõe um teor de *E. coli* inferior ou igual a 230, bem como a ausência de *Salmonella*, nos bivalves que se destinam ao consumo humano directo. É geralmente aceite que os coliformes fecais ou *E. coli* indicam um risco de contaminação por patogénicos entéricos, como é o caso da *Salmonella*. No entanto, o teor em indicadores de contaminação fecal não está relacionado com a presença de várias bactérias patogénicas para o Homem, tais como as pertencentes aos géneros *Listeria* ou *Vibrio*. Por outro lado, a utilização dessas bactérias como indicadores de contaminação microbiana tem-se revelado inadequada para a prevenção das doenças virais, uma vez que não existe correlação entre o teor de bactérias fecais e a presença de vírus entéricos humanos em bivalves. Os moluscos bivalves vivos insalubres (provenientes das zonas B e C) devem ser submetidos a um tratamento que assegure a sua purificação, antes de serem comercializados para consumo humano directo. Uma das operações de descontaminação, denominada depuração, envolve a manutenção dos bivalves, por um período de tempo variável, em água não contaminada e com salinidade e temperatura adequadas, ou em água do mar tratada pelo cloro, ozono ou por radiações ultra-violeta. Esta descontaminação pode também ser realizada no meio ambiente, devendo os bivalves ser transferidos para zonas de cultivo de classe A, designando-se este processo por afinação ou transposição. No entanto, algumas destas operações não são eficazes para a eliminação de algumas bactérias indígenas do meio marinho, tais como as pertencentes ao género *Vibrio*, e apresentam limitações quanto à remoção viral.

Em Portugal, a monitorização e classificação das zonas de produção dos moluscos bivalves são da competência do IPMA, I.P, que desenvolve há vários anos um programa de amostragem. Periodicamente, o IPMA procede à classificação das várias zonas de produção (estuarinas, lagunares e costeiras), a qual é publicada em Diário da República, por Despacho da Presidência do Instituto.

Adicionalmente, o IPMA, I.P. é o laboratório nacional de referência para o controlo das contaminações bacterianas e virais dos moluscos bivalves. Entre as várias responsabilidades que lhe estão atribuídas, destacam-se: colaborar com o respectivo laboratório de referência da União Europeia (EULR), CEFAS (Weymouth, Reino Unido); coordenar as actividades dos laboratórios nacionais oficiais (LNO) responsáveis pela análise de amostras de bivalves provenientes de zonas de produção; organizar testes comparativos entre os LNO, garantindo um acompanhamento adequado destes; assegurar a transmissão das informações fornecidas pelo EULR às autoridades competentes e aos LNO; e prestar assistência científica e técnica à autoridade competente na aplicação dos planos de controlo coordenados. De acordo com a Portaria nº. 1421/2006, no que se refere aos controlos pelos operadores, as análises relativas aos critérios microbiológicos aplicáveis aos moluscos bivalves vivos nos termos do Regulamento (CE) n.º 2073/2005, da Comissão, de 15 de Novembro, devem ser realizadas em laboratórios reconhecidos pelo IPMA, I.P.

Apesar da vigilância hígio-sanitária aplicada a este género alimentício, têm sido relatados vários surtos de toxinfecções alimentares associados ao consumo de bivalves. Os dados epidemiológicos, obtidos internacionalmente nos últimos anos, sugerem que os vírus entéricos humanos constituem um dos agente etiológicos mais frequentemente transmitido pelos moluscos bivalves (Lees, 2000; Potasman et al., 2002).

No que se refere às bactérias, os microrganismos pertencentes ao género *Vibrio* são o principal agente etiológico (em particular o *V. parahaemolyticus*), tendo sido implicados em vários surtos de toxinfecções alimentares por consumo de bivalves (Potasman et al., 2002; McLaughlin et al., 2005). A ocorrência de casos de doença por *V. parahaemolyticus* tem sido relatada na Europa, incluindo a Península Ibérica (Lozano-Leon et al., 2003), no continente americano, onde é o principal agente bacteriano causador de gastroenterites associadas ao consumo de pescado nos Estados Unidos da América, e em certos países asiáticos, como a Tailândia e o Japão, em que representa a principal causa de toxinfecção alimentar. A maior parte dos

surtos tem sido relacionada com o consumo de ostras, seguindo-se a amêijoia e o mexilhão (Potasman et al., 2002). No que se refere a outros agentes bacterianos, têm sido descritos casos de campilobacteriose relacionada com o consumo de bivalves, tais como amêijoia e ostras. Nos bivalves vivos têm sido isoladas outras bactérias patogénicas humanas, tais como *Salmonella* e *Listeria* (Pinto et al., 2006), as quais podem também representar um risco para os consumidores.

Dada a relevância da presença dos vírus entéricos humanos para a saúde pública, tem vindo a ser reconhecida a necessidade de avaliar a sua distribuição em diferentes tipos de alimentos, incluindo os moluscos bivalves (WHO, 2010).

Estes agentes, ao contrário das bactérias, são parasitas intracelulares obrigatórios que não têm capacidade para se replicar nos bivalves ou na água, dependendo a sua persistência nessas matrizes de factores ambientais como a radiação e a matéria orgânica e os sedimentos existentes.

Vários tipos de vírus entéricos podem estar presentes nas águas conquícolas e nos moluscos bivalves vivos considerados próprios para consumo humano directo (Mesquita et al., 2006). Entre os agentes virais mais frequentemente associados a doenças no Homem destacam-se: (i) calicivírus entéricos (vírus tipo Norwalk (NoV) e tipo Sapporo (SLV) e os adenovírus entéricos); e (ii) vírus da hepatite A.

Todos eles são relativamente resistentes ao calor, aos desinfectantes e às alterações de pH. Nos moluscos bivalves concentram-se principalmente no hepatopâncreas, mas podem ser também encontrados nos restantes tecidos.

Os norovírus e demais calicivírus são relativamente frequentes, em particular nos meses de Inverno, pelo que a doença provocada por estes agentes é por vezes designada como "gripe de Inverno". A sua resolução natural é rápida e sem sequelas nos indivíduos afectados, mas a sua origem é quase sempre indeterminada (Cowden, 2002).

Os vírus da hepatite A, responsáveis pela doença com o mesmo nome, são normalmente transmitidos pela via fecal-oral, ou seja, são transmitidos após a ingestão de alimentos

contaminados com esgotos de diversas naturezas e origens. Actualmente, este vírus pode ser controlado por vacinação que garante a imunidade. Estes agentes estão largamente disseminados em todo o mundo, mas na Europa a vacinação e as medidas de vigilância a vários níveis tem contribuído para a minimização da doença.

Uma vez que não é possível assegurar, pelos processos anteriormente referidos, a eliminação de todos os microrganismos patogénicos presentes nos bivalves, torna-se indispensável implementar medidas preventivas e de minimização dos riscos aos vários níveis da cadeia produtiva, reduzindo as pressões antropogénicas sobre as zonas de produção, assegurando uma depuração eficaz, controlando a qualidade do produto final, mantendo os bivalves em condições adequadas de acondicionamento/embalagem e seguindo regras de higiene apropriadas.

Referências

- Cowden, J.M., 2002. Winter vomiting. Infections due to Norwalk-like viruses are underestimated. *BMJ*. 324: 249-50. <http://bmj.bmjournals.com/cgi/reprint/324/7332/249>.
- IPIMAR, 2008. Produção, salubridade e comercialização dos moluscos bivalves em Portugal. Ed. Silva, H.A; Batista, I. Publicações Avulsas do IPIMAR, 20, 171 p.
- Lees, D. 2000. Viruses and bivalve shellfish. *Int J Food Microbiol*, 59: 81-116.
- Lozano-Leon, A.; Torres, J.; Osorio, C. R.; Martinez-Urtaza, J., 2003. Identification of tdh-positive *Vibrio parahaemolyticus* from an outbreak associated with raw oyster consumption in Spain. *FEMS Microbiol. Lett.*, 226: 281-284.
- McLaughlin, J.C.; DePaola, A.; Bopp, C.A.; Martinek, K.A.; Napolilli, N.P.; Allison, C.G.; Murray, S.L.; Thompson, E.C.; Dird, M.M.; Middaugh, J.P., 2005. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis associated with Alaskan oysters. *New Eng. J. Med.*, 353: 1463-70.
- Mesquita, J.R.; Vaz, L.; Cerqueira, S.; Castilho, F.; Santos, R.; Monteiro, S.; Manso, C.F.; Romalde, J.L.; Nascimento, M.S.J., 2011. Norovirus, hepatitis A virus and enterovirus presence in shellfish from high quality harvesting areas in Portugal. *Food Microbiology*, 28: 936-941.
- Pinto, A.L.; Teixeira, P.; Castilho, F.; Felício, M.T.; Pombal, F.; Gibbs, P.A., 2006 Prevalence and serotyping of *Listeria monocytogenes* in Portuguese live bivalve molluscs sampled in various steps along the sanitary control process. *Aquaculture Research*, 37(11): 1112 - 1116.
- Potasman, I.; Paz, A.; Odeh, M., 2002. Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption: a worldwide perspective. *Clin. Infect. Dis.*, 35: 921-928.

Biotoxinas marinhas em águas europeias

Paulo Vale

Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA, I.P.)

Origem das biotoxinas

As biotoxinas marinhas são produzidas por algumas das numerosas microalgas que fazem parte da cadeia trófica marinha¹. Incluem numerosos compostos de estrutura poliéter (também conhecidas como toxinas lipofílicas), alcalóides (como a saxitoxina – toxina PSP) e alguns amino-ácidos (como o ácido domóico – toxina ASP). São acumuladas principalmente em organismos filtradores como os moluscos bivalves, que são os principais vectores para o Homem nas regiões temperadas do planeta. Estes compostos originam no Homem diversas sintomatologias do foro neurológico, gastrointestinal, ou uma combinação de ambas. Não são destruídas pela cozedura ou eliminadas por uma depuração de 24 horas, nem alteram a cor, odor ou sabor dos alimentos. São pois requeridos testes adequados à sua despistagem nos alimentos.

Legislação Europeia

A Directiva 91/492/CEE do Conselho preconizou pela primeira vez métodos biológicos para análise de toxinas paralisantes (Paralytic Shellfish Poisoning - PSP) e diarreicas (Diarrhetic Shellfish Poisoning - DSP). A Directiva 97/61/CE do Conselho introduziu a obrigatoriedade de análise de toxinas amnésicas (Amnesic Shellfish Poisoning - ASP) por metodologia cromatográfica (HPLC). Com a Decisão da Comissão 2002/225/CE foram distinguidas pela primeira vez as diversas famílias de toxinas lipofílicas que até então vinham a ser globalmente designadas como 'DSP': ácido ocadáico e dinofisistoxinas, pectenotoxinas (PTXs), iessotoxinas (YTX) e azaspirácidos (AZAs).

A reformulação das regras referentes à higiene dos géneros alimentícios (Regulamentos CE Nos

852/2004, 853/2004, 854/2004 e 882/2004) aportou detalhes relativos à realização da monitorização destes contaminantes (planos de amostragem, periodicidade, espécies-indicadoras, recolha de plâncton), às decisões a tomar na sequência da monitorização, e à posterior vigilância das zonas de produção em que se encontra proibida a colheita de bivalves. Os limites máximos admissíveis dos teores de biotoxinas mantiveram-se inalterados em relação aos que já se encontravam em vigor.

O Regulamento UE/15/2011 endossou a opinião do Painel Científico dos Contaminantes na Cadeia Alimentar da EFSA que referiu que «o bioensaio para toxinas lipofílicas apresenta lacunas e não é considerado um instrumento adequado para efeitos de controlo, devido à elevada variabilidade dos resultados, à insuficiente capacidade de detecção e à especificidade limitada»². Preconiza que a técnica de cromatografia líquida (LC) e espectrometria de massa (MS) deve ser aplicada como método de referência na detecção de toxinas lipofílicas e utilizada, por rotina, tanto para efeitos de controlos oficiais em qualquer fase da cadeia alimentar, como pelos operadores das empresas do sector alimentar nos seus auto-controlos. O período de transição dos métodos biológicos termina em Dezembro de 2014.

Para certas espécies de bivalves que habitualmente apresentam contaminação persistente, foram encontradas algumas regras de excepção específicas. Assim, o berbigão-de-bicos *Acanthocardia tuberculatum* pode ser colhido com níveis de PSP até 3000 µg/Kg (Decisão da Comissão 96/77/CE). Para tal, deve ser submetido a diversos tratamentos térmicos de lavagem e separação da polpa e da concha, e separação mecânica com água sob pressão das partes comestíveis (pé) e das partes não comestíveis (brânquias, vísceras e manto).

Quanto às vieiras das espécies *Pecten maximus* e *P. jacobus* podem ser colhidas com uma concentração de ASP em todo o corpo até 250 mg/Kg (Decisão da Comissão 2002/226/CE). Isto desde que «após a remoção do hepato-pâncreas, (...) o músculo adutor e/ou as gónadas destinados ao consumo humano não deverão conter um nível de toxina (...) que exceda 20 mg/Kg».

Existem outros moluscos com contaminação persistente para os quais não existem regras de excepção. Em algumas zonas estuarinas portuguesas a lambujinha (*Scrobicularia plana*) apresenta contaminação prolongada devido à lenta eliminação da toxina PSP³. Na Galiza a colheita da lapa *Haliotis tuberculata* tem sido restringida devido a contaminação natural persistente (por endosimbiose com microorganismos produtores) com PSP⁴.

Biotoxinas na costa continental portuguesa

Ao longo de mais de duas décadas de monitorização, os principais episódios de contaminação (quer em duração temporal quer em severidade da contaminação) têm sido sempre devidos a toxinas DSP (ácido ocadáico + dinofisistoxina-2) e/ou PSP em bivalves⁵. A microalga *Dinophysis acuminata* pode originar contaminação com DSP entre a Primavera e o Outono, enquanto *D. acuta* pode originar contaminação entre o Verão e o Outono. *Gymnodinium catenatum* pode originar contaminação com PSP entre o Verão e o Outono. A contaminação com toxinas amnésicas é pouco frequente, originando episódios de contaminação de curta duração. A contaminação com azaspirácidos é vestigial e muito mais rara, sendo habitualmente um fenómeno restrito a zonas costeiras da Europa do Norte, como a Irlanda.

A contaminação com toxinas DSP tem uma distribuição geográfica assimétrica, ocorrendo nos estuários, lagoas e zonas de produção litorais da costa centro e norte frequentemente em concentrações muito elevadas (e susceptíveis de causar gastroenterites severas^{5,6}) e por longos períodos de tempo. Na costa sul as concentrações observadas são menos elevadas originando proibições de colheita de duração também menor. São excepção duas espécies que eliminam as

toxinas DSP mais lentamente: o mexilhão (*Mytilus spp.*) e a conchilha (*Donax spp.*)⁵. Estas apresentam proibições da colheita mais prolongadas que os restantes bivalves comerciais. Enquanto a contaminação com toxinas DSP é um fenómeno costeiro anualmente muito recorrente, a contaminação com toxina PSP é intermitente, existindo anos em que a sua ocorrência não foi registada ou foi muito ligeira (em duração temporal e severidade da contaminação), contrastando com outros em que a ocorrência foi bastante intensa. A costa noroeste apresenta habitualmente maior frequência de contaminação e também níveis mais elevados que as costas sudeste e sul⁵.

Outros vectores de intoxicações

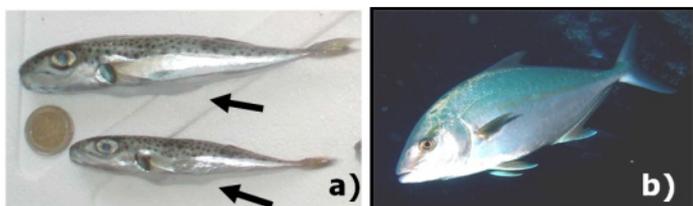
Embora a Directiva 91/492/CEE especificasse que os teores de toxinas não podiam ser excedidos nos «crustáceos e moluscos», nas Regras de Higiene (preparadas anteriormente a 2004) os crustáceos não foram contemplados, estando apenas incluídos «moluscos bivalves, equinodermes, tunicados e gastrópodes marinhos vivos». Foi somente em 2002 que foi descrito na Noruega um caso de intoxicação colectiva por caranguejos (*Cancer pagurus*) contaminados com toxina DSP⁷. Em caranguejo verde (*Carcinus maenas*) da Ria de Aveiro esta toxina também foi detectada na sequência de uma suspeita de intoxicação humana, mas habitualmente não são reportadas intoxicações por estes vectores⁸.

A presença de tetrodotoxinas (TTXs) em buzinas (*Charonia lampas*) foi detectada no seguimento de uma intoxicação isolada que teve lugar no sul de Espanha. Embora tendo sido implicada uma proveniência destas buzinas da costa sul portuguesa, as TTXs não foram detectadas em buzinas ou búzios (*Hexaplex trunculus*) colhidos em 2007 na costa Algarvia e na Ria Formosa pelo IPIMAR⁹. Recentemente tem-se vulgarizado a presença de peixes-balão contaminados com TTXs devido à migração lessepsiana e à posterior 'tropicalização' do Mediterrâneo Oriental, podendo colocar alguma dificuldade na identificação destes juvenis quando misturados com outros peixes comerciais de pequenas dimensões (Fig. 1a). Felizmente os juvenis

apresentam reduzida contaminação com TTXs¹⁰. Outra espécie marinha que está a aumentar a sua distribuição no Mediterrâneo é a microalga *Ostreopsis ovata*. Embora não tendo sido implicada em intoxicações alimentares via bivalves, já afectou veraneantes e residentes de algumas costas italianas e espanholas, através do aerossol marinho contendo análogos da palitoxina, e causador de afecções respiratórias agudas¹¹.

Desde 2004 que se conhecem diversos episódios de intoxicação tipo ciguatera, pelo consumo de peixes, nas Ilhas Canárias, e desde 2008 nas Ilhas Selvagens/Ilha da Madeira¹². A principal espécie implicada nestes episódios de ciguatera tem sido o charuteiro (*Seriola spp*; Fig. 1b), tendo em 2008 sido banida a sua pesca nas Ilhas Selvagens até à batimétrica dos 200 m (o equivalente ao limite da jurisdição do Parque Natural das Ilhas Selvagens). Não se tendo esta medida revelado completamente eficaz na prevenção de novas intoxicações, em 2010 foi preconizada na Madeira a retirada em lota de charuteiros acima dos 10 kg. Prática semelhante está também em vigor nas Canárias, estendendo-se a um número maior de espécies piscícolas¹².

Figura 1. a) Exemplares juvenis de peixes-balão. O abdómen (seta) é diferente de outros peixes comerciais devido à capacidade de insuflarem (foto: P. Katikou); b) Exemplar de charuteiro fotografado na Madeira (foto: F. Brandão).



Desafios futuros

A presença destas biotoxinas 'emergentes' nas águas europeias é um grande desafio em termos de saúde pública e controlo oficial nos países do sul da Europa no século XXI. Em particular, a ciguatera carece de testes de campo rápidos e de despistagem eficaz. Na ausência destes, um número elevado de exemplares de peixes tem de

ser rejeitado para se poder de alguma forma minimizar a exposição dos consumidores. Ao contrário dos bivalves de hábitos sésseis, em que a sua dieta pode ser bem conhecida através de análises regulares do plâncton ou de uma pequena amostra de bivalves (tendo representatividade geográfica significativa), a dieta individual dos grandes peixes carnívoros é uma incógnita, impossibilitando na maior parte dos casos uma abordagem de monitorização semelhante à praticada com os bivalves devido à maior complexidade da cadeia trófica piscícola.

Outro desafio é o crescente número de compostos bioactivos marinhos actualmente designados como 'toxinas'. Isto deve-se em parte à sua descoberta recorrendo à administração via intraperitoneal (i.p.) em ratinhos. Esta é uma via de administração rápida e fácil (pois requer uma pequena quantidade do composto purificado), mas completamente artificial. A disponibilidade destes compostos purificados em quantidade suficiente para estudos de administração por via oral tem restringido e atrasado o aprofundamento do conhecimento dos seus efeitos reais em mamíferos pela via alimentar. Existem grupos de toxinas, como as PTXs¹³ e as YTXs¹⁴, que têm reduzidíssima toxicidade oral, contrastando com a sua potente acção i.p. Outros compostos – conhecidos como toxinas de acção rápida (espirólídeos, pinatoxinas, etc), têm toxicidade elevada por via i.p., mas na generalidade toxicidade reduzida por via oral¹⁵. A presença destes compostos explica alguns dos resultados questionáveis observados anteriormente com os bioensaios em ratinhos usados de rotina para monitorização de toxinas lipofílicas. Enquanto as PTXs e YTXs actualmente ainda estão legisladas nas 'Regras de Higiene', os outros grupos não estão. Já na 'Norma para moluscos bivalves vivos' do *Codex Alimentarius* (CODEX STAN 292-2008¹⁶) estes dois grupos não foram incluídos desde o início do seu rascunho.

O Painel Científico dos Contaminantes na Cadeia Alimentar da EFSA reconhece outras lacunas a melhorar². Destacam-se entre elas: - melhorar o registo das intoxicações humanas, para se aperfeiçoar o conhecimento da exposição; - expandir os dados sobre o consumo de bivalves, discriminando a dose e a frequência de ingestão; -

informação adicional sobre a toxicidade oral, genotoxicidade e mecanismos de toxicidade; - informação sobre os efeitos combinados de diferentes grupos que frequentemente co-ocorrem; etc.

Os dados de alguns países apontam para consumos elevados de bivalves pelos seus habitantes (que podem atingir 400 g de parte edível por dia). A protecção eficaz destes consumidores extremos poderá levar futuramente ao abaixamento dos actuais limites regulamentares para biotoxinas (actualmente baseados em consumos médios, que rondam as 100 g). Mas esta medida penalizaria bastante os aquacultores, levando ao aumento dos tempos de interdição de colheita, tendo por isso já sido objecto de um Painel específico da EFSA que manteve a conclusão de que o controverso valor de 400 g é adequado para proteger os consumidores extremos¹⁷. Em Portugal não se dispõe de dados adequados à discussão desta temática¹⁷. O estudo recente dos efeitos combinados por via oral das duas toxinas lipofílicas mais importantes na Europa – o grupo do ácido ocadáico e o dos azaspirácidos – não evidenciou que a prática de regulamentar estes grupos separadamente apresentasse risco acrescido para os consumidores¹⁸.

Referências

1. FAO, 2004. Marine Biotoxins, FAO Food and Nutrition Paper, 80. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 278 pp.
2. The EFSA Journal (2009) 1306, 1-23 [23 pp].
3. Artigas, M.L., Amorim, A., Vale, P., Gomes, S.S., Botelho, M.J., Rodrigues, S.M., 2006. Prolonged toxicity of *Scrobicularia plana* after PSP events and its relation to *Gymnodinium catenatum* cyst consumption and toxin depuration. In: Moestrup, Ø. et al. (Eds.), Proceedings of 12th International Conference on Harmful Algae, ISSHA and IOC of UNESCO, Copenhagen, Netherlands, pp. 273-275.
4. Bravo, I., Reyero, M.I., Cacho, E., Franco, J.M., 1999. Paralytic shellfish poisoning in *Haliotis tuberculata* from the Galician coast: geographical distribution, toxicity by lengths and parts of the mollusc. *Aquatic Toxicology*, 46, 79-85.
5. Vale, P., Botelho, M.J., Rodrigues, S.M., Gomes, S.S., Sampayo, M.A.M., 2008. Two decades of marine biotoxin monitoring in bivalves from Portugal (1986-2006): a review of exposure assessment. *Harmful Algae*, 7 (1), 11-25.
6. Burri, S., Vale, P., 2006. Contaminação de bivalves por DSP – risco de episódios de gastroenterites numa região de toxicidade endémica. *Rev. Port. de Saúde Pública*, 24 (1), 115-124.
7. Castberg, T., Torgersen, T., Aasen, J., Aune, T., Naustvoll, L-J. 2004. Diarrhoeic shellfish poisoning toxins in *Cancer pagurus* Linnaeus, 1758 (*Brachyura*, Cancridae) in Norwegian waters. *Sarsia*, 89 (5), 311-317.
8. Vale, P., Sampayo, M.A.M., 2002. First confirmation of human diarrhoeic poisonings by okadaic acid esters after ingestion of razor clams (*Solen marginatus*) and green crabs (*Carcinus maenas*) in Aveiro Lagoon, Portugal and detection of okadaic acid esters in phytoplankton. *Toxicon*, 40 (7), 989-996.
9. Rodríguez, P., Alfonso, A., Vale, C., Alfonso, C., Vale, P., Téllez, A., Botana L.M., 2008. First toxicity report of tetrodotoxin and 5,6,11-trideoxyTTX in the trumpet shell *Charonia lampas lampas*. *Analytical Chemistry*, 80, 5622-5629.
10. Katikou, P., Georgantelis, D., Sinouris, N., Petsi, A., Fotaras, T., 2009. First report on toxicity assessment of the Lessepsian migrant pufferfish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) from European waters (Aegean Sea, Greece). *Toxicon*, 54 (1), 50-55.
11. Brescianini, C., Grillo, C., Melchiorre, N., Bertolotto, R., Ferrari, A., Vivaldi, B., Icardi, G., Gramaccioni, L., Funari, E., Scardala, S., 2006. *Ostreopsis ovata* algal blooms affecting human health in Genova, Italy, 2005 and 2006. *Eurosurveillance weekly*, 11 (9), E060907.3.
12. Vale, P., 2011. Biotoxinas emergentes em águas europeias e novos riscos para a saúde pública. *Rev. Port. de Saúde Pública*, 29 (01), 77-87.
13. Tubaro, A., Sosa, S., Carbonatto, M., Altinier, G., Vita, F., Melato, M., Satake M., Yasumoto T., 2003. Oral and intraperitoneal acute toxicity studies of yessotoxin and homoyessotoxins in mice. *Toxicon*, 41 (7), 783-792.
14. Espiña, B., Rubiolo, J.A., 2008. Marine toxins and the cytoskeleton: pectenotoxins, unusual macrolides that disrupt actin. *FEBS Journal*, 275 (24), 6082-6088.
15. EFSA Journal 2010; 8(6):1628. [39 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1628.
16. <http://www.codexalimentarius.org/committees-task-forces/en/>
17. EFSA Journal 2010; 8(8):1706 [20 pp] (doi:10.2903/j.efsa.2010.1706).
18. Aune T., Espenes, A., Aasen, J.A.B., Quilliam, M.A., Hess, P., Larsen, S., 2012. Study of possible combined toxic effects of azaspiracid-1 and okadaic acid in mice via the oral route. *Toxicon*, 60, 895-906.

Histamina em pescado no âmbito dos dados provenientes do sistema de alerta rápido - RASFF

Sónia Ferreira
ASAE/DACR

Histamina

A histamina pertence à família das aminas biogénicas – substâncias biologicamente ativas no sistema nervoso central e no sistema vascular. No campo alimentar as aminas biogénicas são geralmente consideradas como correspondentes a aminas não voláteis (ANSES, 2006).

Histamina em pescado

A histamina no peixe é produzida por descarboxilação do aminoácido histidina, sendo que as espécies que possuem elevados teores de histidina livre nos seus tecidos desenvolverão, com maior probabilidade, teores tóxicos de histamina. O aminoácido histidina sofre descarboxilação através da enzima histidina descarboxilase, que é encontrada num determinado número de bactérias associadas ao peixe. Algumas bactérias (*Vibrio spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Photobacterium spp.*) associadas à formação de histamina estão comumente presentes no ambiente aquático e ocorrem naturalmente nas brânquias, na pele, nas vísceras e na cavidade abdominal do peixe vivo de água salgada sem lhe causar dano. Outras bactérias, especialmente as *Enterobacteriaceae*, são introduzidas no peixe após a captura. Espécies como *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Hafnia alvei* são capazes de produzir altos níveis de histamina muito rapidamente a temperaturas de 20-30°C (Lawley et al., 2008).

O fator mais relevante na formação de histamina no peixe é o seu incorreto armazenamento pós-captura, ou seja, a sua manutenção a temperaturas inadequadas de refrigeração que permitem a proliferação bacteriana. (Riemann P.H. e Cliver O.D., 2006). Para além deste fator, deve ter-se em conta que os processos de

evisceração e remoção das brânquias devem ser efetuados de acordo com as boas práticas de higiene de forma a reduzir o número de bactérias formadoras de histamina. Se as boas práticas de higiene não forem cumpridas durante aquelas etapas pode ocorrer uma aceleração do processo de produção da histamina nas porções comestíveis dos peixes, uma vez que com a evisceração ou a filetagem, a carne dos peixes pode ser diretamente exposta às bactérias produtoras da histidina descarboxilase.

A histamina é extremamente estável: uma vez formada não é afetada pela confeção ou outro tratamento térmico, podendo sobreviver igualmente a processos de conserva. Também não é reduzida durante o armazenamento a temperaturas de refrigeração ou congelação. Salienta-se que teores elevados de histamina podem não ser acompanhados por outros sinais visíveis, como a deterioração do peixe, sendo indetetáveis por outros meios que não a análise química laboratorial.

Note-se que a enzima histidina descarboxilase é inativada pela confeção não surgindo histamina a menos que ocorra uma recontaminação do género alimentício (Lawley et al., 2008); A presença de histamina é detetada não só em produtos processados, tais como conservas, mas também na matéria-prima. Os alimentos mais frequentemente envolvidos são aqueles que apresentam elevados teores de histidina livre, dos quais se destacam os peixes das famílias *Scombridae* e *Scomberosocidae* que compreendem, entre outros, o atum, o bonito, a cavala e a sarda. Para além destes, a presença de histamina também ocorre frequentemente em outras espécies, nomeadamente em peixes de outras famílias, tal como da *Clupeidae* à qual pertence a sardinha.

Histamina e efeitos Adversos

A intoxicação por histamina ocorre em todo o mundo e é possivelmente a forma de toxicidade mais comum causada pela ingestão do peixe. É universalmente reconhecido que todas as pessoas são sensíveis à histamina, no entanto, os sintomas mais severos podem ocorrer em idosos, em pessoas com historial médico de doenças alérgicas, respiratórias, cardíacas ou em pessoas que estejam a ser tratadas com determinados medicamentos. (FDA, 1999; Riemann P.H. e Cliver O. D., 2006)

Os sintomas típicos desenvolvem-se rapidamente - entre 10 minutos a 2 horas - após a ingestão do alimento que contenha níveis tóxicos de histamina. Os sintomas que poderão ocorrer são diversos, podendo incluir problemas cutâneos (principalmente face e pescoço), gastrointestinais e neurológicos, tais como: ruborização facial, urticária, edema, náuseas, vômitos, dores abdominais, diarreia, dores de cabeça, formigueiro e sensação de queimadura na boca. Nos casos mais graves pode ocorrer insuficiência respiratória, hipotensão e choque anafilático. Normalmente os sintomas desaparecem por si só num período de 24 horas, com exceção de alguns casos mais severos em idosos ou em indivíduos doentes cujos sintomas podem prolongar-se por alguns dias, implicando em alguns destes casos o recurso a tratamento médico.

Histamina em Pescado – dados provenientes do RASFF

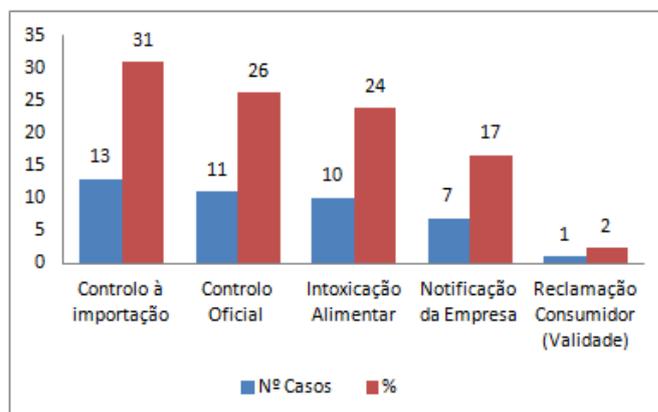
Durante o ano de 2012 (até ao dia 12 de Dezembro) foram divulgadas através da rede de alerta rápido (RASFF) 42 notificações.

Estas notificações podem classificar-se nos seguintes grupos, quanto ao âmbito de detecção da causa de notificação:

- Controlo à importação;
- Controlo oficial de géneros alimentícios;
- Intoxicações alimentares;
- Notificação de empresa;
- Reclamação do consumidor.

A distribuição de ocorrências é apresentada na Figura 1.

Figura 1 – Nº de casos no âmbito da detecção da histamina em pescado



Do levantamento dos dados referentes às notificações da rede de alerta é possível verificar que, das 42 notificações, 12 referem-se à presença de histamina em produtos de pesca provenientes de Estados-membros e 30 de países terceiros. Das 12 notificações relativas a produtos originários em países da UE, 10 registaram-se em produtos originários de Espanha, 1 de Itália e 1 da Holanda.

Das notificações sobre produtos com origem em países terceiros, 13 tiveram origem em Marrocos, 5 no Vietname e 3 notificações cada da Tailândia, Sri Lanka e Índia, 2 da Indonésia e 1 do Equador.

De acordo com a análise da Fig. 1, verifica-se que o maior número de deteções de histamina em pescado ocorreu no âmbito do controlo efetuado nos postos fronteiriços, seguidas do controlo oficial, posteriormente por intoxicações alimentares, notificação por parte das empresas e por último reclamação por parte do consumidor. Neste caso concreto, por o produto se apresentar fora do seu prazo de validade.

O principal objetivo deste artigo é a compilação das intoxicações alimentares ocorridas pela presença de histamina em pescado e que tenham sido difundidas pela rede de alerta. É possível que o número de notificações, 42 como já mencionado, não seja coincidente com as ocorrências reais, já que em algumas das situações pode não ser feita a associação entre

os sintomas e o alimento que lhes está na origem.

Assim, conforme a Fig. 1, verifica-se que das 42 notificações emitidas, 10 ocorreram por intoxicações alimentares, correspondendo a 24% face às 42.

Conforme o gráfico representado na Fig. 2, pode verificar-se o número de surtos identificados cuja origem foi o consumo de pescado com histamina, ocorridos por país de origem. No gráfico da Fig. 3 pode identificar-se o número de surtos detetados por país notificador.

Figura 2 – Nº de surtos por intoxicação por país de origem

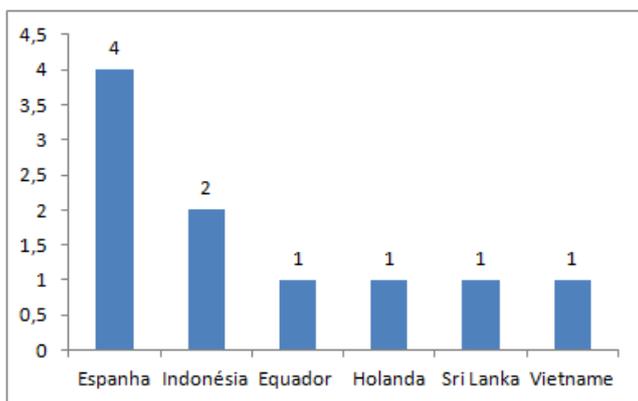
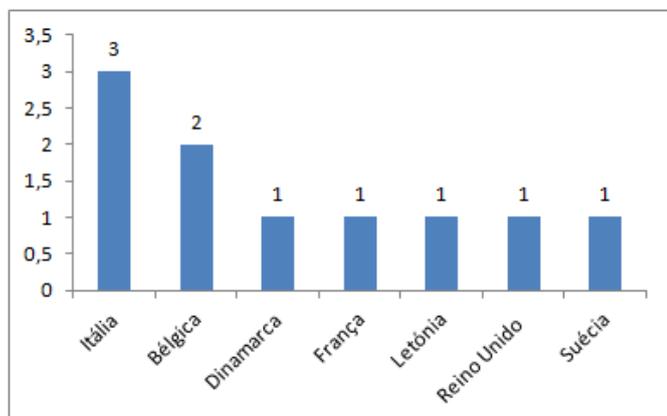


Figura 3 - Nº de surtos por intoxicação por país notificador



No total, foram afetadas 149 pessoas por efeitos adversos decorrentes do consumo de pescado contaminado por histamina. Os sintomas apresentados variaram de caso para caso mas

todos eles correspondem aos sintomas comumente associados à ingestão de histamina.

Estas ocorrências foram notificadas ao abrigo do estipulado na legislação comunitária, em termos de parâmetros microbiológicos, o Regulamento n.º 2073/2005 alterado pelo Regulamento n.º 1441/2007 que define os limites legais aplicáveis aos produtos de pesca. Poderá ainda ser, nestes casos, invocado o Artigo 14º, ponto 1, do Regulamento n.º 178/2002 do parlamento Europeu e do Conselho de 28 de janeiro, que determina que não serão colocados no mercado quaisquer géneros alimentícios que não sejam seguros.

Conclusão

Dadas as informações compiladas e apresentadas neste artigo e tendo em conta a severidade dos sintomas apresentados pelos consumidores expostos a histamina através da ingestão alimentar, é relevante que os planos de controlo dos géneros alimentícios contemplem a pesquisa deste perigo alimentar no pescado, ou que se equacione o aumento do número de amostras colhidas pelas autoridades competentes para determinação da histamina em pescado no espaço europeu.

Apesar dos casos de intoxicação alimentar estarem todos relacionados com a ingestão de atum, deve fazer-se a pesquisa da histamina em outras espécies da família *Scombridae*, bem como da família das *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae*, *Pomatomidae* e *Scombrosidae*.

Tendo em conta que os dados acima apresentados indicam que a maior fatia do pescado contaminado com histamina provém da importação, considera-se também apropriado manter o controlo à importação.

Sabe-se, tal como referido anteriormente que a maior causa da presença de histamina no peixe, se encontra associada às más práticas de armazenamento, que podem ir desde a sua captura até ao consumidor final. Grande parte das notificações de alerta corresponde a produtos de conserva. Seria importante manter a vigilância

não só nos produtos acabados como também intensificar o controlo nas indústrias de transformação de produtos à base de peixe e perceber as suas práticas. O importante será garantir que as boas práticas de higiene e fabrico são aplicadas antes do produto ser transformado. A deteção de histamina com níveis superiores ao estipulado legalmente, por parte das autoridades competentes, leva à retirada do produto do mercado, mas não invalida a possibilidade de algum já ter sido consumido, de acordo com o Regulamento nº 178/2002 de 28 de janeiro.

Salienta-se porém que das 42 notificações nenhuma esteve associada a Portugal. Através da análise dos dados do Plano de Controlo Oficial dos géneros alimentícios¹, pode verificar-se que a generalidade das amostras de pescado, nas quais foi pesquisada histamina, encontravam-se conformes.

Bibliografia

- ANSES (2006). Histamine (Descriptive datasheet for microbiological hazards transmissible by foodstuffs) em <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Fi-HistamineEN.pdf>
- FAO (2004). Application of risk assessment in the fish industry. FAO Fisheries Technical Paper 442, Rome, p.55 – 66
- FDA (1999). Bad bug book (foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins). Washington, DC.
- FDA. 2001a. Scombrototoxin (histamine) formation. Ch. 7. In Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. 3rd ed., p. 83-102. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC.
- FDA. 2001b. Other Decomposition-Related Hazards. Ch. 8. In Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. 3rd ed., p.103-104. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC.
- FDA (2001). Fish and Fisheries Products Hazards & Controls Guidance: 3rd ed., Appendix 5 - FDA & EPA Safety Levels in Regulations and Guidance em <http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Seafood>
- Lawley Richard, Curtis Laurie & Davis Judy (2008). The Food Safety Hazard Guidebook. Food Safety Info, London, UK 432:38-41
- Riemann P.H. e Cliver O.D. (2006). Foodborne Infections and Intoxications. 3rd ed. P.687-688, USA.

¹Plano Nacional de Colheita de Amostras (PNCA)

Aquacultura e antimicrobianos

Patrícia Antunes^{1,2}; Carla Novais¹

¹ *REQUIMTE. Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto. Portugal*

² *Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto, Portugal*

O consumo de pescado faz parte dos hábitos alimentares da população europeia e mundial, nomeadamente por serem alimentos considerados saudáveis e fontes importantes de proteínas. Grande parte do pescado (peixe e marisco) é ainda obtida por captura, embora se tenha registado um investimento no desenvolvimento sustentável da aquacultura, cuja produção aumentou 12 vezes nas últimas décadas (1980-2010) (FAO, 2012). Esta foi impulsionada por um incremento na procura de peixe e marisco frescos e por uma diminuição dos recursos naturais da pesca, representando, atualmente, cerca de 50% do pescado produzido globalmente para alimentação humana (FAO, 2012). Paralelamente, permitiu também o acesso do consumidor a uma maior variedade de pescado a um preço mais estável e económico e tem sido uma solução para as unidades de alimentação coletiva ao disponibilizar produtos de características constantes (ex. porções) e qualidade mais controlada (FAO, 2012; Vilaine et al, 2002).

Dados de 2005 mostram que a produção aquícola na União Europeia correspondeu a cerca de 18,4% (1,2 milhões de toneladas) do volume total da produção interna da pesca, sendo as espécies mais produzidas o mexilhão, a truta arco-íris e o salmão do Atlântico (EU, 2008). Atualmente, a EU é o terceiro produtor de pescado a nível mundial, correspondendo 8 mil toneladas de produção a Portugal (referentes ao ano 2010) (INE, 2012). No nosso país, as espécies aquícolas mais produzidas são a truta em água doce e a dourada, pregado e amêijoia em águas salgadas e salobras (INE, 2012). Portugal é também o maior consumidor de pescado da Europa (consumo médio de 56,9 Kg/habitante/ano em 2003) e um dos maiores a nível mundial (EU, 2008).

A par das vantagens, o rápido crescimento das

produções aquícolas a nível global traz consigo preocupações na área da qualidade e segurança alimentar. São diversos os fatores que vão influenciar a qualidade do pescado, desde a localização das aquaculturas, espécies produzidas, práticas de produção (ex. higiene) e condições ambientais circundantes (ex. qualidade da água à entrada da unidade) (EFSA, 2008; Heuer et al, 2009). À semelhança de outros setores envolvidos na produção animal para consumo humano, o setor aquícola também aplica medidas para que a produção seja intensificada (regimes de exploração intensivos e semi-intensivos). Entre elas podem estar incluídos um número elevado de peixes por tanque, o uso intensivo de alimentos suplementados com antibióticos, antifúngicos e outros produtos farmacêuticos ou um uso intensivo de pesticidas e desinfetantes (EFSA, 2008; Sapkota et al, 2008). A possibilidade de usar estes compostos varia com as regiões geográficas onde estão localizadas as produções aquícolas, uma vez que não existe legislação nem práticas de produção homogéneas a nível mundial (FAO/OIE/WHO, 2006; Heuer et al, 2009). Na União Europeia, são habitualmente aplicadas medidas de controlo e segurança, sendo o uso de antibióticos integrado no programa de saúde animal e apenas permitido para tratar as doenças infecciosas no peixe (controlar e/ou eliminar microrganismos patogénicos) (EFSA, 2008). Adicionalmente, o seu uso tem tido uma redução crescente em alguns países (ex. Noruega) devido a políticas de vacinação eficazes que previnem o desenvolvimento de infeções nos animais (FAO/OIE/WHO, 2006; EFSA, 2008; Heuer et al, 2009). Em contraste, noutras regiões menos desenvolvidas como os países asiáticos (onde se situam os maiores produtores mundiais de pescado), o uso de antibióticos é menos

regulamentado e mais intensificado, incluindo em profilaxia e em terapia empírica, podendo os antibióticos manter-se no ambiente aquático e em doses subinibitórias (FAO/OIE/WHO, 2006; Cabelo, 2006).

Como consequência da exposição bacteriana aos antibióticos pode ocorrer a seleção e consequente disseminação de bactérias resistentes (patogênicas para peixes/humanos e/ou comensais) nos animais de produção, na água/sedimento dos tanques e no ambiente aquático recetor das águas das aquaculturas (FAO/OIE/WHO, 2006; Cabello, 2006; Heuer et al, 2009). Adicionalmente, estas bactérias aquáticas podem constituir um reservatório de genes de resistência que podem ser transferidos para patogênicos humanos, quer na aquacultura, quer no ambiente aquático (FAO/OIE/WHO, 2006; Heuer et al, 2009). O contacto do Homem com estas bactérias e genes pode dar-se através do consumo e manipulação do pescado ou de atividades recreativas em sistemas aquáticos contaminados, podendo limitar, posteriormente, o sucesso da antibioterapia em situações de infeção (Cabello, 2006; FAO/OIE/WHO, 2006; Heuer et al, 2009). Entre as evidências do contacto do consumidor com pescado de aquacultura portador de bactérias resistentes destaca-se um estudo com camarões prontos a comer de 13 marcas vendidas nos USA, oriundos de quatro países, em que 42% dos isolados apresentavam resistência aos antibióticos e incluíam bactérias que podem ser patogênicas para o Homem, como *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Salmonella*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus sp* e *Vibrio sp*. (Duran et al, 2005). De facto, com a globalização do comércio alimentar, a possibilidade de disseminação de bactérias resistentes aos antibióticos e de resíduos de agentes antimicrobianos em alimentos aquícolas é comum a todas as regiões (Heuer et al, 2009). Na União Europeia (o maior importador de pescado, incluindo de aquacultura) encontram-se definidas condições para a importação de pescado, incluindo critérios de segurança, nomeadamente relacionados com a presença de resíduos de fármacos veterinários (EC, 2012).

Apesar de algumas evidências, os estudos sobre a utilização de agentes antimicrobianos na

aquicultura e as suas repercussões para a saúde humana são ainda escassos para elaborar conclusões definitivas, embora se considere que as consequências sejam semelhantes àquelas decorrentes da sua utilização noutros tipos de produção alimentar (FAO/OIE/WHO, 2006; EFSA, 2008). Assim, as restrições sugeridas por diferentes entidades (ex. Organização Mundial de Saúde) ao uso de antibióticos clinicamente relevantes para a saúde humana (ex. fluoroquinolonas, cefalosporinas de 3ª e 4ª geração e macrólidos) e que colocam em risco a sua eficácia quando usados intensivamente na produção animal devem ser tidas em consideração na produção aquícola mundial (WHO, 2012). Adicionalmente, a implementação de programas/estratégias que promovam o sinergismo entre o bem-estar animal e a segurança alimentar devem ser encorajados para limitar a disseminação de bactérias/genes de resistência a antibióticos do ambiente aquático para o Homem (FAO/OIE/WHO, 2006; EFSA, 2008) sem prejuízo do desenvolvimento económico das populações de várias regiões mundiais que dependem da produção aquícola.

Referências:

- Cabello, F.C. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology* 8:1137-1144.
- Duran GM, Marshall DL. 2005. Ready-to-eat shrimp as an international vehicle of antibiotic-resistant bacteria. *Journal of Food Protection* 68:2395-401.
- EFSA. 2008. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Food Safety Authority on food safety considerations of animal welfare aspects of husbandry systems for farmed fish. *The EFSA Journal* 867:1-24.
- EC (European Commission). 2012. Imports of animals and food of animal origin from non-EU countries: Provisions of guarantees equivalent to EU requirements on residues of veterinary medicines, pesticides and contaminants. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/docs/requirements_non_eu.pdf
- FAO/OIE/WHO. 2006. Report of a Joint FAO/OIE/WHO Expert Consultation on Antimicrobial Use in Aquaculture and Antimicrobial Resistance. 2006. Seoul, Republic of Korea, 13-16 June 2006. Disponível em: http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/aquaculture_re_p_13_16june2006%20.pdf

FAO. 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). Disponível em:
<http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>.

Heuer OE, Kruse H, Grave K, Collignon P, Karunasagar I, Angulo FJ. 2009. Human Health Consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. *Clinical Infectious Diseases* 49:1248-53.

INE. 2012. Estatísticas da Pesca 2011. Instituto Nacional de Estatística (INE) ed. Direção-Geral de Recursos Naturais SeSMD.

Disponível em:
http://www.ine.pt/ine_novidades/pescas2011/index.html

Sapkota A, Sapkota AR, Kucharski M, Burke J, McKenzie S, Walker P, Lawrence R. 2008. Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. *Environment International* 34:1215-26.

UE. 2008. Factos e Números sobre a Política Comum da Pesca. Disponível em:
<https://infoeuropa.euroid.pt/registo/000045981/documento/0001/>.

Vilaine R. 2002. The foodservice market's interest in aquaculture products: the example of France. *Cahiers Options Méditerranéennes*. 59:83-86.

WHO. 2012. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine. 3rd Edition. Department of Food Safety and Zoonoses.

Disponível em:
http://www.who.int/foodborne_disease/resistance/CIA_3.pdf.

Alergénios em produtos da pesca e derivados

Telmo J.R. Fernandes, Joana Costa, Isabel Mafra, M. Beatriz P.P. Oliveira

REQUIMTE, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto

Introdução

Nos últimos anos, tem-se assistido a um crescimento acentuado no consumo de peixe e marisco, devido sobretudo a alterações na atitude do consumidor face à importância destes alimentos na saúde e nutrição humanas. A Islândia é o país da Europa onde o consumo de peixe é maior, seguida de Portugal, Noruega, Espanha, França, Reino Unido e Alemanha [1,2]. Existem benefícios inequívocos que advêm do consumo dos produtos da pesca e seus derivados, como por exemplo o alto teor proteico e em ácidos gordos polinsaturados ómega-3, sendo estes últimos considerados compostos importantes na prevenção de doenças cardiovasculares. Não obstante, o aumento do consumo de peixe e marisco tem levado a um crescimento do número de casos de alergia entre os consumidores.

A presença de alergénios não declarados em géneros alimentícios, e a globalização alimentar, têm contribuído para um aumento da incidência de alergias alimentares, estimando-se que cerca de 2 a 8% da população dos países ocidentais sofra de algum tipo de alergia alimentar, o que afeta 3 a 4% da população adulta e 6 a 8% de crianças e adolescentes. As alergias alimentares mediadas pela imunoglobulina E (IgE) são responsáveis por um conjunto de sintomas que afetam sobretudo o trato gastrointestinal, o trato respiratório e a pele [3]. Podem ser induzidas por uma grande variedade de alimentos, no entanto, cerca de 90% das reações alérgicas são atribuídas a oito grupos de acordo com a comissão do Codex Alimentarius (FAO/WHO), vulgarmente conhecidos como big-8 (Figura 1): ovos, leite, soja, trigo (glúten), crustáceos (marisco), peixe, amendoim e frutos de casca rija (amêndoa, noz, avelã, noz-pecã, noz de macadâmia, pistácios, caju e noz do Brasil). O

peixe e o marisco (crustáceos e moluscos) fazem parte dos 14 grupos de alimentos cuja rotulagem é obrigatória em géneros alimentícios (Diretiva 2007/68/CE), visto poderem desencadear reações adversas em indivíduos sensibilizados.

Alergénios em Peixes

O aumento no consumo global de produtos da pesca tem conduzido a um número cada vez maior de casos de indivíduos alérgicos a este grupo de alimentos. Os peixes têm a capacidade de induzir reações de hipersensibilização imediata através da ingestão, contacto direto, inalação do odor a peixe ou de vapores gerados durante a preparação do mesmo. Os sintomas ocorrem, geralmente, 30 minutos após o contacto e podem levar a reações adversas na pele, sistema respiratório e trato gastrointestinal, incluindo, menos frequentemente, reações fatais como a anafilaxia [4]. Contudo, é importante salientar que as reações de intolerância a peixe poderão ser consequência da libertação inespecífica de histamina ou outras substâncias vasoativas [5].

As parvalbuminas são os alergénios mais importantes em peixes. De facto, mais de 95% dos indivíduos alérgicos a peixe apresentam anticorpos IgE anti-parvalbumina [2]. Estas são proteínas solúveis com 10-13 kDa, resistentes a elevadas temperaturas e à digestão enzimática. Controlam o fluxo de cálcio no sarcoplasma muscular [5] e, por isso, estão maioritariamente presentes nos tecidos de músculo branco das diversas espécies de peixe [6]. A maioria dos indivíduos alérgicos a peixe não tolera o bacalhau, pelo que o alergénio Gad c 1 (Tabela 1) é, geralmente, estabelecido como referência para alergénios de outras espécies de peixes. O elevado grau de homologia na estrutura e na sequência de aminoácidos das várias parvalbuminas já caracterizadas e a consequente

reatividade cruzada que se verifica entre diferentes espécies, constituem argumentos fortes para que os indivíduos alérgicos evitem o consumo de qualquer espécie de peixe. Aproximadamente 50% dos indivíduos alérgicos a uma determinada espécie de peixe apresentam risco de reação a uma segunda espécie [5]. Contudo, é de referir que a tolerância entre indivíduos alérgicos a determinadas espécies de peixe pode variar substancialmente, sendo importante a realização de testes cutâneos, tais como os skin prick tests (SPT).

Tabela 1. Resumo dos alergénios de peixes e mariscos mais comuns.

Nome comum	Espécie	Exemplo de alergénio	Classes de proteínas
Peixes			
Bacalhau do Báltico	<i>Gadus callarias</i>	Gad c 1	Parvalbumina
Bacalhau do Atlântico	<i>Gadus morhua</i>	Gad m 1	Parvalbumina
Salmão do atlântico	<i>Salmo salar</i>	Sal s 1	Parvalbumina
Carapau	<i>Trachurus japonicus</i>	Tra j 1	Parvalbumina
Cavala	<i>Scomber scombrus</i>	Sco s 1	Parvalbumina
Atum patudo	<i>Thunnus obesus</i>	Thu o 1	Parvalbumina
Juliana	<i>Theragra chalcogramma</i>	The c 1	Parvalbumina
Carpa	<i>Cyprinus carpio</i>	Cyp c 1	Parvalbumina
Crustáceos			
Camarão grande	<i>Metapenaeus ensis</i>	Met e 1	Tropomiosina
Camarão castanho	<i>Penaeus aztecus</i>	Pen a 1	Tropomiosina
Camarão Índico	<i>Penaeus indicus</i>	Pen i 1	Tropomiosina
Camarão tigre	<i>Penaeus monodon</i>	Pen m 2	Cinase da arginina
Lagosta americana	<i>Homarus americanus</i>	Hom a 1	Tropomiosina
Lagosta comum	<i>Panulirus stimpsoni</i>	Pan s 1	Tropomiosina
Caranguejo	<i>Charybdis feratius</i>	Cha f 1	Tropomiosina
Moluscos			
Haliote	<i>Haliotis midae</i>	Hal m 1	Tropomiosina
Caracol	<i>Helix aspersa</i>	Hel as 1	Tropomiosina
Mexilhão	<i>Perna viridis</i>	Per v 1	Tropomiosina
Vieira	<i>Chlamys nobilis</i>	Chl n 1	Tropomiosina
Ostra gigante	<i>Crassostrea gigas</i>	Cra g 1 / Cra g 2	Tropomiosina
Lula	<i>Todarodes pacificus</i>	Tod p 1	Tropomiosina

Alergénios em Crustáceos e Moluscos

Os mariscos são um grupo não taxonómico constituído pelos moluscos e artrópodes da classe dos crustáceos. São alimentos com um valor nutricional elevado e bastante apreciados e consumidos em países com orla marítima [1]. A alergia relacionada com o consumo de moluscos não tem sido alvo de tantos estudos, comparativamente às alergias a peixes e crustáceos. Embora estejam enquadrados na legislação europeia como géneros alimentícios suscetíveis de provocar reações adversas em

indivíduos sensibilizados, os moluscos não são atualmente vistos como uma fonte potencialmente alergénica [4]. As manifestações clínicas de alergia a marisco são semelhantes às alergias a peixe, podendo incluir a síndrome de alergia oral (OAS), urticária, sintomas gastrointestinais e reações anafiláticas [5].

As tropomiosinas são proteínas miofibrilares (32-49 kDa) responsáveis pela maior parte das alergias reportadas em crustáceos e moluscos (Tabela 1). Estão presentes em todo o tecido muscular do animal e são bastante resistentes ao processamento alimentar. A homologia entre tropomiosinas é tão elevada, que o risco de reação a uma segunda espécie por parte de indivíduos alérgicos a marisco atinge os 75% [5,7]. Para além da tropomiosina, a cinase da arginina, uma enzima com 40 kDa, foi também identificada como alergénio no camarão tigre (Tabela 1) [8].

Deteção e quantificação de alergénios em peixes e mariscos

A presença de alergénios não declarados em produtos da pesca e seus derivados pode representar um risco significativo para indivíduos sensibilizados/alérgicos, pelo que é indispensável a existência de ferramentas de elevada fiabilidade para a sua deteção e quantificação em matrizes complexas, como os alimentos. O desenvolvimento de metodologias analíticas que possam verificar a veracidade da rotulagem e, mais importante ajudar a indústria alimentar a controlar a presença de ingredientes potencialmente alergénicos, como forma de prevenir a ocorrência de contaminações cruzadas, é de extrema importância [9]. Presentemente, apesar de existirem vários métodos analíticos disponíveis na literatura visando a deteção e quantificação de alergénios alimentares, nenhum deles é ainda oficial. São requisitos dos métodos analíticos elevada sensibilidade e especificidade para rastrear quantidades vestigiais de alergénios e/ou respetivos marcadores em matrizes complexas e processadas.

As metodologias mais utilizadas baseiam-se em protocolos imunológicos ou imunquímicos como os ensaios ELISA (Enzyme-Linked

Immunosorbent Assay) e as tiras de fluxo lateral, cujo mecanismo se fundamenta na detecção direta de proteínas alergénicas/marcadoras de espécie durante uma reação imunológica anticorpo-proteína. Nos últimos anos, os métodos com alvo na análise do ADN têm-se revelado ferramentas adequadas para a detecção indireta de alergénios de várias espécies. Consistem sobretudo na amplificação de uma região alvo que codifica a proteína alergénica ou de um gene marcador de espécie com recurso à reação em cadeia da polimerase (PCR), tendo sido aplicada na detecção e quantificação de parvalbuminas (peixe) e tropomiosinas (crustáceos e moluscos) [5].

Considerações finais

Sumariamente, os últimos dados parecem estimar que existe uma tendência clara para um aumento do número de indivíduos sensibilizados às proteínas alergénicas dos peixes e mariscos. Para uma real avaliação do impacte destes alergénios, deverão ser conduzidos mais estudos visando uma melhor identificação, com aplicação no desenvolvimento de terapêuticas adequadas para o seu tratamento. A elaboração e desenvolvimento de novas metodologias para a detecção e quantificação de alergénios de peixes e mariscos são também de importância crucial para uma melhor avaliação e gestão da presença destas proteínas em alimentos processados.

Referências

1. Lopata, A., & Lehrer, S. (2009). Seafood Allergen Overview: Focus on Crustacea. In: Jedrychowski L & Wichers HJ (eds) *Chemical and Biological Properties of Food Allergens*, pp 223-250, CRC Press, Florida, USA.
2. Perez-Gordo, M., Cuesta-Herranz, J., Maroto, A. S., Cases, B., Ibáñez, M. D., Vivanco, F., et al. (2011). Identification of sole parvalbumin as a major allergen: study of cross-reactivity between parvalbumins in a Spanish fish-allergic population. *Clinical & Experimental Allergy*, 41: 750-758.
3. Sicherer, S. H., & Sampson, H. A. (2010). Food allergy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S116-S125.
4. Lee, P.-W., & Taylor, S.L. (2010). Fish, Crustaceans, and Mollusks. In: Van Hengel AJ (ed) *Food Allergens, Analysis Instrumentation and Methods*, pp 177-205, CRC Press, Florida, USA.
5. Carrapatoso, I. (2004). Grupos de alimentos com maior reatividade cruzada: artigo de revisão. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, 12, 103-113.
6. Van Do, T., Elsayed, S., Florvaag, E., Hordvik, I., & Endresen, C. (2005). Allergy to fish parvalbumins: Studies on the cross-reactivity of allergens from 9 commonly consumed fish. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116(6), 1314-1320.
7. Emoto, A., Ishizaki, S., & Shiomi, K. (2009). Tropomyosin in gastropods and bivalves: Identification as major allergens and amino acid sequence features. *Food Chemistry*, 114: 634-641.
8. Sahabudin, S., Misnan, R., Yadzir, Z.H.M., Mohamad, J., Abdullah, N., Bakhtiar, F., & Murad, S. (2011). Identification of Major and Minor Allergens of Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon*) and King Prawn (*Penaeus latisulcatus*), *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 18: 27-32
9. Costa, J., Mafra, I., Carrapatoso, I., & Oliveira, M.B.P.P. (2012). Almond allergens: molecular characterization, detection and clinical relevance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 1337-1349.
10. Hildebrandt, S. (2010). Multiplexed identification of different fish species by detection of parvalbumin, a common fish allergen gene: a DNA application of multi-analyte profiling (xMAP™) technology. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397: 1787-1796.

Anisakis e anisaquiose

Paula Ramos

Instituto de Investigação do Mar e da Atmosfera (IPMA, I.P.)

Os anisaquídeos são nemátodes pertencentes à família *Anisakidae* que parasitam os peixes e cefalópodes durante a sua fase larvar. Estes parasitas causam infecção ao homem (anisaquiose), quando o peixe parasitado é consumido cru ou pouco confeccionado. *Anisakis simplex* e *Pseudoterranova decipiens* são as espécies mais frequentemente associados a anisaquiose (Audicana e Kennedy, 2008).

Actualmente foram identificadas nove espécies de *Anisakis* (Murata et al., 2011) embora *Anisakis simplex* s.s., no Japão e *Anisakis pegreffii*, no Mediterrâneo sejam as espécies principalmente associadas a infecções parasitárias no homem (anisaquiose) (Quiazon et al., 2011). Estes nemátodes são parasitas marinhos cosmopolitas, infectando uma grande variedade de espécies de peixes pelágicos com interesse comercial, cuja prevalência e taxa de infecção dependem da zona de captura (Vidaček et al., 2010). Os peixes (hospedeiros paraténicos ou de transporte, HP) são parasitados quando se alimentam de crustáceos infectados (hospedeiros intermediários, HI) ou outros peixes com as larvas de *Anisakis* no terceiro estágio larvar, L3. As larvas desenvolvem-se até ao estado adulto nos mamíferos marinhos, tais como baleias e golfinhos (hospedeiros definitivos, HD), quando estes se alimentam de peixe infectado. Os ovos do parasita são expelidos juntamente com as fezes dos HD, para o ambiente aquático. As larvas L3, de natação livre (Køie et al. 1995), após serem ingeridas pelo peixe, perfuram a parede gastrointestinal e entram na cavidade abdominal, onde podem ser observadas macroscopicamente livres ou enquistadas em espiral plana, na superfície das vísceras, tais como fígado (Fig. 1) e gónadas. Quando migram para o tecido muscular, as larvas podem ser observadas a perfurar a serosa peritoneal ou enquistadas sob a musculatura abdominal. Por

vezes, as larvas migram mais profundamente para os músculos dorsais (filetes). A capacidade das larvas migrarem para o tecido muscular e aí encapsularem, dificultando a sua observação, aumenta o risco para o consumidor, justificando o envolvimento das autoridades de segurança alimentar e da indústria de processamento dos produtos da pesca. A repercussão desta parasitose em termos de qualidade e segurança alimentar levou a considerá-la uma zoonose emergente.

A ingestão acidental das larvas (L3) viáveis pode causar anisaquiose nos consumidores e asma, conjuntivite e dermatite nos profissionais que manipulam o peixe (Añíbarro e Seoane, 1998; Armentia et al., 1998; Scala et al., 2001; Nieuwenhuizen et al., 2006). Os sintomas de anisaquiose gástrica ou intestinal surgem quando o nemátode perfura as mucosas gástrica ou intestinal e caracterizam-se por dor abdominal acompanhada de diarreia, náuseas e vômitos (Audicana e Kennedy, 2008). As náuseas e vômitos podem manter-se durante semanas ou anos (infecção crónica). Ocasionalmente ocorre infecção de outros órgãos (forma clínica ectópica). Alguns doentes apresentam sintomatologia abdominal acompanhada de reacção alérgica de hipersensibilidade, mediada por IgE (anisaquíase gastroalérgica). Os sintomas alérgicos podem incluir urticária, angioedema e anafilaxia (Audicana e Kennedy, 2008). Foram identificadas doze proteínas como sendo alergénios de *Anisakis simplex*, produtos de excreção/secreção parasitária designados de Anis 1 a Anis 12 (Audicana e Kennedy, 2008; Caballero et al., 2011; Kobayashi et al., 2012). Proteínas somáticas, localizadas na cutícula e hipoderme das larvas, susceptíveis de causar reacções de hipersensibilidade, foram igualmente identificadas como alergénios de *Anisakis simplex* (Park et al., 2012). Alguns dos alergénios

identificados, como o *Anisakis* 4, são termoresistentes, conservando as suas propriedades antigénicas e alergénicas após o tratamento térmico do peixe e por isso, capazes de induzir reacção alérgica (Vidaček et al., 2009, 2010).

A legislação comunitária (Regulamentos (EU) N.º 853/2004 e 2074/2005) refere o método de inspecção visual da cavidade abdominal e das vísceras, tais como fígado e gónadas para controlar os parasitas observáveis livres ou enquistados e desta forma prevenir que o peixe parasitado chegue aos consumidores. O rigor com que o método de inspecção visual é aplicado na indústria de transformação dos produtos da pesca depende do treino e destreza dos operadores (Levsen et al., 2005; Llarena-Reina et al., 2012), sendo a base do controlo da qualidade e segurança dos produtos da pesca, como medida de prevenção do risco de infecção por *Anisakis* spp. Os parasitas enquistados nos filetes são controlados pelo método de transiluminação (Regulamento (EU) N.º 2074/2005), que consiste na observação dos filetes sem pele contra uma fonte de iluminação para desta forma, identificar por contraste, eventuais parasitas presentes.

A remoção dos parasitas é essencial na prevenção da zoonose quando se trata de produtos da pesca sem tratamento tecnológico que possibilitem inviabilizar a larva, embora não haja métodos de inactivação dos alergénios de *Anisakis* spp. (Audicana et al., 2002). Assim, a prevenção da sensibilização a *A. simplex* deve focar-se na prevenção da infecção (EFSA, 2010).

Em Portugal, até ao presente não são conhecidos casos clínicos de infecção humana ou alergia associados às larvas de *Anisakis* spp. Porém, dois estudos de alergenicidade efectuados em grupos distintos (Nunes et al., 2003; Falcão et al., 2008) detectaram a presença de anticorpos anti-*Anisakis*, o que pressupõe o contacto prévio da população com os parasitas. O hábito alimentar da população portuguesa em consumir o peixe bem cozinhado, pode ter tido um papel importante na prevenção desta zoonose parasitária. No entanto, as falhas de diagnóstico, as infecções assintomáticas e/ou cura espontânea são aspectos a considerar na análise destes dados (Chaligiannis et al., 2012).

As formas larvares de *Anisakis simplex* têm aparentemente uma especificidade de hospedeiro muito baixo, tendo sido identificadas em aproximadamente 200 espécies de peixes, 25 espécies de cefalópodes e 53 espécies de mamíferos em todo o mundo (Klimpel et al., 2004). No Laboratório de Patologia tem vindo a ser desenvolvido trabalho de investigação e de apoio ao sector das pescas, envolvendo a pesquisa de anisacuídeos em peixes com valor comercial capturado na costa portuguesa e ilhas. No âmbito destes estudos foram identificadas larvas de *Anisakis simplex* s.l. em peixe inteiro refrigerado ou congelado de sardinha, carapau, carapau-negrão, robalo, dourada, pescada, abrótea, cavala, sarda, peixe-galo, linguado, xaputa, solha, verdinho, safio e truta; em produtos da pesca transformados, tais como postas de peixe refrigeradas ou congeladas de redfish, dourada, peixe-espada-branco, pescada, maruca, garoupa, espadarte, corvina, liro-antártico e cavala. O bacalhau, em distintas formas de apresentação, bacalhau salgado seco inteiro, em postas ou desfiado e ultracongelado, tem sido matéria de estudo na pesquisa de anisacuídeos, bem como as ovas de pescada, as conservas de diferentes espécies de peixe, o salmão fumado e o peixe usado na confecção de refeições tradicionais chinesas, tais como sushi e sashimi (Ramos, 2011). Com base nos dados obtidos foram identificados potenciais factores de risco de infecção parasitária e de sensibilização associados ao consumo de peixe cru e apresentadas medidas de prevenção (Ramos, 1998; 2011).

Figura 1. Faneca. Intensa infecção parasitária por *Anisakis* spp.



Figura 2. Ampliação da imagem anterior. Larvas de *Anisakis* spp. enroladas em espiral plana, enquistadas na superfície do fígado.



A presença de larvas L3 de *Anisakis simplex* s.l. nos produtos da pesca pode representar um risco de infecção parasitária/alergia, mas para além das implicações sanitárias da presença dos anisacuídeos no peixe, para a indústria do sector das pescas, traduz-se num problema do ponto de vista económico pois o produto da pesca com parasitas visíveis torna-o repugnante para o consumidor e deprecia o seu valor comercial. De acordo com a legislação em vigor (Regulamento (EU) N.º 853/2004 e 2074/2005), os operadores das empresas do sector alimentar deverão proceder à detecção das larvas através da inspecção visual e transiluminação e à sua remoção. Quando forem colocados no mercado produtos da pesca derivados de peixes ósseos ou moluscos cefalópodes que se destinem a ser consumidos crus ou que tenham sido sujeitos a um tratamento tecnológico insuficiente para inviabilizar as larvas presentes, deverão ter um tratamento de congelação. A congelação deverá reduzir a temperatura em todas as partes do produto no mínimo até - 20 °C durante um período mínimo de 24 horas ou - 35 °C, durante um período mínimo de 15 horas (Regulamento (EU) N.º 1276/2011). As excepções previstas ao tratamento de congelação incluem o aquecimento dos produtos da pesca a uma temperatura interna de 60 °C ou mais durante um período mínimo de um minuto ou quando mantidos congelados

durante um período suficientemente longo para eliminar os parasitas viáveis (Regulamento (EU) N.º 1276/2011).

A comercialização dos produtos da pesca sem congelação prévia está prevista no caso de serem provenientes de: - Pesqueiros cujos dados epidemiológicos indiquem que não representam um risco sanitário no que diz respeito à presença de parasitas, ou - Aquacultura, se cultivados desde embrião e alimentados com alimento que não possa conter parasitas viáveis que apresentem um risco sanitário e que, ou porque foram criados exclusivamente em ambiente indemne de parasitas viáveis ou porque foram analisados e se verificou que não representam um risco sanitário no que respeita à presença de parasitas viáveis (Regulamento (EU) N.º 1276/2011).

Os requisitos relativos aos parasitas constantes nos regulamentos europeus tendo em conta aspectos como:

1. O desenvolvimento do comércio internacional que possibilitou o acesso a espécies de peixe provenientes de outras zonas de captura distintas da costa portuguesa e com diferentes taxas de prevalência do parasita; e a comercialização de produtos da pesca com variadas formas de apresentação associados a distintos riscos para o consumidor;
2. O aparecimento de novas tendências alimentares de consumo de peixe cru, tais como sushi e sashimi, em consequência da globalização; apresentam-se como as principais medidas de prevenção desta zoonose parasitária.

Bibliografia

- Añíbarro B e Seoane FJ (1998). Occupational conjunctivitis caused by sensitization to *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*, 102: 331-332.
- Armentia A, Lombardero M, Callejo A, Martín Santos JM, Martín Gil FJ, Vega J, Arranz ML e Martínez C (1998). Occupational asthma by *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*, 102(5): 831-834.
- Audicana MT, Ansotegui IJ, de Corres LF e Kennedy MW (2002). *Anisakis simplex*: dangerous - dead and alive? *Trends Parasitol*, 18: 20-25.
- Audicana MT e Kennedy MW (2008). *Anisakis simplex*: from Obscure Infectious Worm to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clin Microbiol Rev*, 2: 360-379.

- Caballero ML, Umpierrez A, Moneo I e Rodríguez-Perez R (2011). Ani s 10, a new *Anisakis simplex* allergen: Cloning and heterologous expresión. *Parasitology Internacional*, 60: 209-212.
- Chaligiannis I, Lalle M, Pozio E e Sotiraki S (2012). *Anisakidae* infection in fish of the Aegean Sea. *Veterinary Parasitology*, 184: 362-366.
- EFSA (2010). Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*, 8: 1543. (91pp).
- Falcão H, Lunet N, Neves E, Iglésias I e Barros H (2008). *Anisakis simplex* as a risk factor for relapsing acute urticaria: a case control study. *J Epidemiol. Community Health*, 62: 634-637.
- Klimpel S, Palm HW e Rückert e Piatkowski U (2004). The life cycle of *Anisakis simplex* in the Norwegian Deep (northern North Sea). *Parasitol Res*, 94: 1-9.
- Kobayashi Y, Ohsaki K, Ikeda K, Kakemoto S, Ishizaki S, Shimakura, K, Nagashima Y e Shiomi K (2012). Identification of novel three allergens from *Anisakis simplex* by chemiluminescent immunoscreening of an expression cDNA library. *Parasitology International*, 60: 144-150.
- Køie M, Berland B e Burt MDB (1995). Development to third-stage larvae occurs in the eggs of *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52(Suppl. 1): 134-139.
- Llarena-Reino M, González AF, Vello C, Outeriño L e Pascual S (2012). The accuracy of visual inspection for preventing risk of *Anisakis spp.* infection in unprocessed fish. *Food Control*, 23: 54-58.
- Levsen A, Lunestad BT e Berland B (2005). Low Detection Efficiency of Candling as a Commonly Recommended Inspection Method for Nematode Larvae in the Flesh of Pelagic Fish. *J Food Prot.*, 68: 828-832.
- Murata R, Suzuki J, Sadamasu K e Kai A (2011). Morphological and molecular characterization of *Anisakis* larvae (Nematoda: Anisakidae) in *Beryx splendens* from Japanese waters. *Parasitology International*, 60: 193-198.
- Nieuwenhuizen N, Lopata AL, Jeebhay F, Herbert BR, Robins TG e Brombacher F (2006). Exposure to the fish parasite *Anisakis* causes allergic airway hyperreactivity and dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 117(5):1098-1105.
- Nunes C, Ladeira S e Mergulhão A (2003). Alergia ao *Anisakis simplex* na população portuguesa. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, XI: 30-40.
- Park JS, Cho MK, Yu HS e Ahn SC (2012). Identification of a 24 KDa excretory secretory protein in *Anisakis simplex*. *Experimental Parasitology*, 130: 69-72.
- Quiazon, KMA, Yoshinaga T e Ogawa K (2011). Experimental challenge of *Anisakis simplex* sensu stricto and *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) in rainbow trout and olive flounder. *Parasitology International*, 60: 126-131.
- Ramos P (1998). *Anisakis sp.*: Um risco para a Saúde Pública? *Veterinária Técnica*, 3: 30-41.
- Ramos P (2011). *Anisakis spp.* em bacalhau, sushi e sashimi: risco de infecção parasitária e alergia. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 110(577-580): 87-97.
- Regulamento (EU) N.º 853/2004, de 29 de Abril de 2004.
- Regulamento (EU) N.º 2074/2005, de 5 de Dezembro de 2005.
- Regulamento (EU) N.º 1276/2011, de 8 de Dezembro de 2011.
- Scala E, Giani M, Pirrotta L, Guerra EC, Cadoni S, Girardelli CR, De Pita O e Puddu P (2001). Occupational generalised urticaria and allergic airborne asthma due to *Anisakis simplex*. *Eur J Dermatol*, 11:249-50.
- Vidaček S, Heras C, Solas MT, Mendizábal A, Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M e Tejada M (2009). *Anisakis simplex* allergens remain active after conventional or microwave heating and pepsin treatments of chilled and frozen L3 larvae. *J Sci Food Agric*, 89: 1997-2002.
- Vidaček S, Heras C, Solas MT, Solas MT, Mendizábal A, Rodríguez-Mahillo AI e Tejada M (2010). Antigenicity and viability of *Anisakis* larvae infesting hake heated at different time-temperature conditions. *J Food Prot*, 73: 62-68.

Fosfatos em bacalhau

Ivonne Delgadillo

Departamento de Química/Universidade de Aveiro

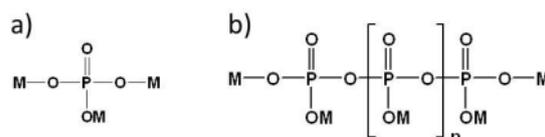
Os fosfatos são componentes naturais de todo o tipo de células. Em alimentos ricos em proteína, como o pescado, encontramos muitos compostos que contêm fosfato, tais como nucleótidos, fosfolípidos e outros fosfatos orgânicos e inorgânicos. No caso do bacalhau, os valores naturais de fósforo referenciados na literatura variam entre 9 a 240 mg/100g (Sidwell, 1977). Num trabalho desenvolvido com o fim de estudar o papel e o destino dos fosfatos adicionados ao bacalhau, Thorarinsdottir et al. (2010) referem um valor de fósforo natural de aproximadamente 190 mg/100g.

Nos produtos da pesca, os fosfatos têm sido usados como aditivos com o intuito de estabilizar a perda de água, aumentar a suculência e melhorar a cor (Aitken, 2001). A melhoria destas características funcionais é devida: i) à capacidade tamponizante das soluções de fosfatos, ajustando o pH e impedindo a saída de água por diminuição do pH durante o rigor mortis; ii) a favorecer a ligação da água às proteínas musculares e iii) à sua capacidade de inibir a oxidação de lípidos por formação de quelatos com iões metálicos presentes no sal da salga. (Thorarinsdottir 2010a). Um aumento moderado do pH por uso de fosfatos é um fator importante na retenção de água. As proteínas do peixe apresentam uma capacidade de retenção de água mínima quando o pH do músculo está no ponto isoelétrico das proteínas, cerca de 5,4 (Gonçalves e Ribeiro, 2008).

A ação de favorecer a retenção de água tem consequências positivas a nível de rendimento de produto, evitando baixas de peso por perdas de líquido durante o processamento. Existe, contudo, uma linha ténue de separação entre o controlo da perda de água por exsudação e um aumento excessivo de peso por retenção de água devido

aos polifosfatos adicionados. De facto, a presença de tripolifosfato de sódio (STPP) é mencionada como possível tipo de fraude em relação à retenção indevida de água (Balthrop, 2009, Regenstein et al.,1993). A possibilidade desta fraude é um dos motivos pelo qual os fosfatos não têm sido permitidos em alguns produtos da pesca.

Figura 1. Fórmula de a) ortofosfatos e b) fosfatos condensados, em que M pode ser H⁺ ou um catião metálico



A figura 1 apresenta as fórmulas químicas genéricas dos ortofosfatos e fosfatos condensados (di- tri- e polifosfatos) utilizados como aditivos. Geralmente os fosfatos são aplicados por imersão ou injeção. No entanto, uma imersão pode resultar inicialmente mais num processo de extração de proteínas do que de absorção de fosfatos (Lampila, 1993). Os fosfatos têm primeiro que difundir para o músculo e esta difusão depende de muitos fatores, tais como a concentração e composição da salmoura/sal, a espessura/altura do produto, a temperatura e a relação produto sal/salmoura. A vantagem da injeção é que há uma distribuição mais uniforme no músculo, em pouco tempo. Todavia, a injeção aumenta o risco de contaminação microbiana, sendo os microrganismos rapidamente distribuídos pelo efeito da injeção e por outro lado as agulhas podem danificar o tecido (Thorarinsdottir et al., 2010).

A penetração de fosfato no pescado, e consequentemente o conteúdo de fósforo, varia

de acordo com a concentração de solução usada, variações de densidades de músculo e processamento subsequente (Lampila, 1993).

No caso do bacalhau processado a "bacalhau salgado seco", a adição de fosfatos traduz-se numa maior retenção de água que pode dificultar de forma grave o processo de secagem. A retenção de água por parte dos fosfatos adicionados acarreta ineficiências no processo de secagem e, portanto, perdas energéticas que se traduzem em aumentos dos custos de processamento. Em consequência, temos um "bacalhau salgado seco" com maior peso com base no aumento na quantidade de água retida. Por outro lado, a aplicação deste tipo de aditivos dificultará o cumprimento legal do DL 25/2005, no que respeita ao teor de humidade do bacalhau salgado seco. De acordo com o Anexo III deste decreto a humidade do bacalhau salgado seco de cura amarela não pode ultrapassar os 45 %.

Tabela 1. Fosfatos permitidos na legislação Europeia em peixe e produtos da pesca

Peixe e produtos da pesca	Número E	Aditivo	Teor máximo	Restrições
Peixe não processado	E 338-452	Ácido fosfórico. Di- e trifosfatos Polifosfatos	5 000	Só filetes congelados
Moluscos e crustáceos não processados	E 338-452	Ácido fosfórico. Di- e trifosfatos Polifosfatos	5 000	Só filetes congelados
Peixe processado e produtos da pesca incluindo moluscos e crustáceos	E 338-452	Ácido fosfórico. Di- e trifosfatos Polifosfatos	1000	Só crustáceos enlatados Surimi e produtos similares
	E 338-452	Ácido fosfórico. Di- e trifosfatos Polifosfatos	5000	Só pasta de peixe e de crustáceos e moluscos processados, congelados e ultracongelados

A Tabela 1 apresenta os fosfatos que são permitidos em produtos da pesca de acordo com o Regulamento (CE) nº1333/2008/EU, relativo aos aditivos alimentares.

De acordo com esta tabela, não é permitido o uso de fosfatos em bacalhau salgado. Contudo, alguns países europeus produtores de bacalhau têm estado a usar fosfatos em bacalhau salgado com o argumento de que os fosfatos são auxiliares tecnológicos e não aditivos, sendo extraídos durante a demolha do bacalhau e não estando presentes no produto final. (Bjørkevoll et al. 2012).

Na Islândia e nas Ilhas Faroé, o bacalhau é

salgado por injeção com adição de fosfatos. Isto resulta num produto mais branco, mais alto e mais suculento, mas com um aroma e sabor menos intensos do que os dos produtos salgados por outros métodos e sem adição de fosfatos, como é o caso da Noruega ou de Portugal. Este bacalhau "branco" é considerado de melhor qualidade e é comercializado para diversos países, sendo de mencionar Espanha, Itália, Grécia e Brasil, onde é apreciado e consumido sem ter sido submetido à secagem prévia, tradicional em Portugal (Thorarinsdottir et al., 2010).

No caso do bacalhau da Noruega, em que os polifosfatos não são usados na congelação, 50% da sua produção é vendida a Portugal (Thorarinsdottir et al., 2010), onde a adição de fosfatos viria a interferir não só com a secagem, mas também com as modificações bioquímicas que conferem o sabor e a cor típicos do bacalhau de cura tradicional portuguesa.

A utilização dos fosfatos como agentes para "evitar ou minimizar reações de oxidação...", mantendo a cor e o sabor" é contrária ao objetivo do processo tradicional de salga e secagem do bacalhau em Portugal, na qual se suporta a Indústria Bacalhadeira Portuguesa. Neste processo, o bacalhau é salgado e seco e são desejáveis as transformações que dão a cor e o sabor inconfundíveis ao produto.

Perante a dúvida em considerar os polifosfatos como aditivos ou adjuvantes tecnológicos, o Comité Permanente da Cadeia Alimentar e da Saúde Animal (SCFAH) (SANCO – D1 (2011)D/310301) discutiu a situação em março de 2011. A avaliação final dos peritos foi "o uso de polifosfatos durante o processamento e preservação do peixe salgado é de aditivo e não de auxiliar tecnológico". Os peritos do Comité não ficaram convencidos de que os polifosfatos fossem completamente removidos depois da demolha e reidratação e de que não teriam influência no produto final. Para todos os efeitos o bacalhau salgado com fosfatos é um produto comercializado contendo fosfatos, visto que a demolha é feita pelo consumidor final (Bjørkevoll

et al. 2012). O uso de polifosfatos e outros fosfatos na produção de pescado salgado teria de ser aprovado no âmbito do Regulamento (EC) No 1333/2008 sobre aditivos alimentares.

Em consequência deste parecer, a adição de fosfatos devia ter sido abandonada desde novembro de 2011. De facto a Noruega não os utiliza de tudo desde início de 2011. A Islândia continua a usá-los provavelmente à espera de uma decisão favorável sobre a utilização de fosfatos em bacalhau, que devia ter sido tomada em fevereiro de 2012 (Bjørkevoll et al. 2012), altura em que o Governo Português acordou para o problema (Expresso). Prevê-se que esta reunião aconteça antes do fim de 2012.

Um último aspeto em relação à presença de polifosfatos no bacalhau é a sua quantificação. A quantificação do fosfato total é normalmente feita por análise espectrofotométrica, após hidrólise dos polifosfatos a ortofosfatos. Os ortofosfatos reagem com molibdato de amónio e vanadato de amónio em ácido nítrico, com formação de uma cor amarela intensa (AOAC, 2002).

Contudo, a determinação do fosfato total não permite a quantificação ou deteção dos fosfatos adicionados. A deteção da adição de fosfatos não é fácil. A deteção não pode ser feita caso os fosfatos adicionados sejam ortofosfatos (monofosfatos), pois se confundem com os naturais. Se os fosfatos adicionados são di-, tri- ou poli-fosfatos, estes podem sofrer hidrólise química ou enzimática por fosfatases musculares, especialmente os difosfatos e os trifosfatos (Belton et al, 1987, Thorarinsdottir et al., 2010).

A presença de polifosfatos pode ser detetada por cromatografia de camada fina, na qual há uma separação dos diferentes compostos em função do peso molecular, sendo que os monofosfatos migram mais rapidamente que os di-tri ou polifosfatos. Pode haver, contudo, problemas de hidrólise dos polifosfatos durante a preparação da amostra (Krzynowek e Panunzio, 1995).

A Fotometria Termodiferencial tem sido usada para a deteção da adição de polifosfatos. A técnica é baseada na diferença de tempo que

demoram os diferentes tipos de fosfatos a formar o complexo amarelo, aquando da derivatização, com o reagente de Molibdato-Vanadato. Enquanto os ortofosfatos reagem muito rapidamente, os fosfatos condensados são derivatizados muito mais lentamente. As diferenças nos valores de absorção fotométrica a 430 nm, medidos aos 15 e aos 90 minutos, são proporcionais à concentração de polifosfatos na amostra (Kruse e Bartelt, 2009).

Referências

- Aitken, A. 2001. Polyphosphates in fish processing. Torry Advisory Note , 31: 1-4.
<http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5909E/x5909e01.htm>
- AOAC Official methods 2002 Total Phosphorus in Foods.17th Edition, vol II, capítulo 45, p: 42-45.
- Balthrop, P., 2009. "Economic fraud: A Seafood marketing perspective" Seafood Science and Technology, Proceedings of the 33rd Annual Conference, October 26-28, 2009, New Orleans, LA ,
http://fshn.ifas.ufl.edu/seafood/sst/33rdann/ppt/day1/08_balthrop_paul.pdf.
- Belton, P.S., Packer, K.J., Southon, T.E. 1987. 31P NMR studies of the hydrolysis of added phosphates in chicken meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 40(3): 283-291.
- Bjørkevoll, I., Barnung, T., Kvangarsnes, K., Tobiassen, T., Akse, L., Gonzalez Reboredo, R., 2012. Phosphate treatment of light and heavy salted cod products. REPORT MA 12-15.
<http://www.moreforsk.no/default.aspx?menu=794&id=1055>.
- Decreto-Lei nº 25/2005, de 28 de janeiro. Diário da República I, Série A, Nº 20, 696.
- Expresso, 2012. Bacalhau com fosfatos a partir de 2013.
<http://expresso.sapo.pt/bacalhau-com-fosfatos-a-partir-de2013=f752890#ixzz26SRo7Ztt>
- Gonçalves, A.A., Ribeiro, J.L.D., 2008 "Do phosphates improve the seafood quality? Reality and legislation. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(3): 237-247.
- Kruse, R., Bartelt, E. 2009. Phosphate in fishwarens: Quantitative Bestimmung von Polyphosphaten in Fischereierzeugnissen durch Thermo-Differenzial-Fotometrie = Phosphates in Fishery Products: Quantified analysis of polyphosphates in fishery products by thermodifferentialfotometry. *Allemand* 89(2): 144-148.
- Krzynowek, J., Panunzio, L., (1995) "Practical Application of Thin-Layer Chromatography for Detection of Polyphosphates in Seafood", *Journal of AOAC International*, 78(5).
- Lampila, L.E.; Polyphosphates: Rationale for use and functionality in Seafood and Seafood Products; Proceeding 18th Annual Tropical and Sub. Fisheries; 1993; 21-42.
<http://sst.ifas.ufl.edu/>
- Sidwell, V.D., Buzzell, D.H., Foncannon, P.R., Smith, A.L. 1977. Composition of the edible portion of raw (fresh or frozen) crustaceans, finfish, and mollusks. II. Macroelements:

sodium, potassium, chlorine, calcium, phosphorus, and magnesium. *Marine Fisheries Review*, 39: 1-11

Regulamento Comunitário (EU) No 1129/2011 de 11 de novembro de 2011 que altera o Anexo II do Regulamento (EC) No 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho mediante o estabelecimento de uma lista da União de aditivos alimentares.

Thorarinsdottir K.A., Arason S., Thorkelsson, G. 2010 The role and fate of added phosphates in salted cod products. <http://www.nora.fo/files/13/20110505113250374.pdf>

Thorarinsdottir K.A., Bjørkevoll I., Arason S. 2010a "Production of salted fish in the Nordic countries. Variation in quality and characteristics of the salted products". Project Report, 2010, "Standard for saltfisk" NORA (Journal nr. 510-036)- 51 p In <http://www.nora.fo/files/13/20110505113250374.pdf>

Regenstein, J., Lu, X., Weilmeier, D., 1993, Functionality of Polyphosphates; *Proceeding 18th Annual Tropical and Sub. Fisheries*; 21-42. <http://sst.ifas.ufl.edu/>

Ficha técnica:

Riscos e Alimentos, nº 4
dezembro de 2012

Propriedade: Autoridade de
Segurança Alimentar e Económica
(ASAE)

Coordenação editorial, edição e
revisão: Direção de Avaliação e
Comunicação dos Riscos na Cadeia
Alimentar da ASAE (DACR)

Distribuição: DACR/DSPCO

Periodicidade: Semestral

