

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

OCORRÊNCIA DE PARASITAS EM PRODUTOS DE PESCA

GABRIEL NEUMANN

PORTO ALEGRE

2017/2

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

OCORRÊNCIA DE PARASITAS EM PRODUTOS DE PESCA

Autor: Gabriel Neumann

Monografia apresentada à
Faculdade de Veterinária como
requisito parcial para obtenção da
Graduação em Medicina
Veterinária.

Orientadora: Liris Kindlein

PORTO ALEGRE

2017/2

RESUMO

As zoonoses parasitárias transmitidas por produtos da pesca vêm chamando atenção de pesquisadores e autoridades pois além de ser um problema grave de saúde pública, gera perdas econômicas. Com o aumento do consumo de pescado e com perspectiva de crescimento, também cresceu o número de importações, principalmente de Salmonídeos. Quando desembarcados nos portos brasileiros, esses produtos podem apresentar parasitas, o que aumenta o risco de zoonoses e diminui a qualidade do pescado. Sendo assim, é necessária uma avaliação e reinspeção do pescado congelado importado para garantir que o produto chegue a mesa do consumidor de forma segura e com qualidade para o consumo. Nesse contexto, os peixes das espécies Espadarte e Peixe sapo são produtos de alto valor comercial no exterior e no ano de 2016 geraram com as exportações US\$ 4.191.482 e US\$ 5.756.229, respectivamente. A inspeção desses produtos é de grande importância para a garantia da qualidade e para alcançar mercados mais exigentes. O presente trabalho foi dividido em dois experimentos. O primeiro experimento aborda a ocorrência de parasitas em amostras de files congelados de Salmão (*Salmo salar*) através da coleta de amostras aleatórias desembarcadas em contêiner oriundo da China na qual foram reinspeccionadas macroscopicamente através de luz ultravioleta, com objetivo de quantificar determinar a ocorrência de parasitas neste produto. No experimento dois foram analisadas amostras de Peixe Sapo (*Lophius gastrophysus*) e Espadarte/Meca (*Xiphias gladius*). Os parasitas foram acondicionados e identificados. Diante dessas análises foi verificada uma ocorrência de infestação parasitária em 94,11% dos filés de Salmão (*Salmo salar*) congelados, o que sustenta a importância do sistema de reinspeção em produtos importados e a eficácia da análise macroscópica através do uso de luz UV. Além disto, a presença do parasita *Anisakis simplex* no Peixe Sapo e na Meca confirma a importância da atuação dos fiscais veterinários na inspeção de produtos da pesca, para assegurar a qualidade do produto e a segurança alimentar do consumidor.

Palavras-chave: *Anisakis simplex*, fiscal veterinário, importação, inspeção, parasitas, pescados

ABSTRACT

The parasitic zoonoses transmitted by fishery products have attracted the attention of researchers and authorities because besides being a serious public health problem, it generates economic losses. With the increase in fish consumption and with a growth prospect, the number of imports, mainly of Salmonidae, also increased. When landed in Brazilian ports, these products may have parasites, which increases the risk of zoonoses and decreases fish quality. Therefore, an assessment and re-inspection of imported fish is necessary to ensure that the product reaches the consumer's table in a safe and quality for consumption. In this context, the fish of the species Espadarte and Peixe sapo are products of high commercial value abroad and in 2016 generated with exports US \$ 4,191,482 and US \$ 5,756,229, respectively. Inspection of these products is of great importance for quality assurance and for reaching more demanding markets. The present work was divided in two experiments. The first experiment deals with the occurrence of parasites in samples of frozen Salmon (*Salmo salar*) files through the collection of random samples landed in a container from China in which they were re - inspected macroscopically through ultraviolet light, in order to quantify the occurrence of parasites this product. In the experiment two samples of Frogfish (*Lophius gastrophysus*) and Swordfish / Mecca (*Xiphias gladius*) were analyzed. The parasites were packaged and identified. In view of these analyzes, an occurrence of parasitic infestation was observed in 94.11% of frozen salmon (*Salmo salar*) fillets, which supports the importance of the reinspection system in imported products and the effectiveness of the macroscopic analysis through the use of UV light. In addition, the presence of the *Anisakis simplex* parasite in Peixe Sapo and Mecca confirms the importance of veterinary inspectors in the inspection of fishery products to ensure the quality of the product and the food safety of the consum

Keywords: *Anisakis simplex, fish, import, inspection, parasites, veterinary prosecutor*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- Filé de Salmão sobre luz ultravioleta apresentando parasitas.....	28
FIGURA 2 - Filé de Salmão apresentando áreas de perfurações, que é sugestivo de infestação por parasitas.....	28
FIGURA 3– Posta de espadarte apresentando parasita.....	29
FIGURA 4 – Amostra de peixe sapo apresentando parasita encistado.....	30

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Produção total de pescado (t) dos cinco maiores produtores em 2010.....	10
TABELA 2 - Produção de pescado (t) no Brasil por modalidade no ano de 2011, discriminada por região e Unidade da Federação.....	11
TABELA 3 - Dados coletados do contêiner.....	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Produção pesqueira	10
2.2 Importação de pescados	11
2.2.1 Salmão	12
2.3 Exportação de pescados	13
2.3.1 Peixe Sapo	13
2.3.2 Meca/Espadarte	13
2.4 Inspeção e Reinspeção de pescados	14
2.4.1 Inspeção visual macroscópica do pescado eviscerado	15
2.5 Parasitas em pescados	16
2.5.1 Nematódeos	16
2.5.1.1 Anisakis simplex	16
2.5.1.2 Pseudoterranova decipiens	18
2.5.1.3 Capillaria philippinensis	18
2.5.1.4 Eustrongylides spp	19
2.5.1.5 Gnathostoma spp	20
2.5.2 Cestóides	21
2.5.2.1 Diphyllbothrium	21
2.5.3 Trematódeos	23
2.5.3.1 Clonorchis sinensis	23
2.5.3.2 Opisthorchis spp	24
2.5.3.3 Família Heterophyidae	25
3. MATERIAS E MÉTODOS	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5. CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS	32

1. INTRODUÇÃO

Segundo o State of the World Fisheries and Aquaculture (2014), o consumo mundial *per capita* de pescado atingiu um novo recorde de 20 kg em 2014, contra 19,2 kg em 2012. Entretanto, O Brasil, apesar do alto potencial de produção, ainda tem um consumo bem inferior à média mundial. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO/ONU, 2014), o consumo brasileiro é inferior a 10kg/hab/ano. De acordo com as estimativas da FAO, o consumo *per capita* de pescados no Brasil chegará a 12,7 quilos em 2025, 32,3% mais do que os 9,6 quilos consumidos anualmente entre 2013 e 2015.

O pescado é um alimento que se destaca nutricionalmente quanto à quantidade e qualidade das proteínas e, principalmente, por ser fonte de ácidos graxos poli-insaturados e ômega-3. Entretanto, apesar das qualidades nutricionais, são alimentos que se deterioram rapidamente e podem transmitir zoonoses parasitárias quando consumidos crus ou insuficientemente cozidos. As infecções são causadas principalmente por cestóides, nematódeos ou trematódeos (CHAI *et al.*, 2005).

Peixes e moluscos são hospedeiros naturais de grande variedade de parasitas. Em geral, estes parasitas podem ser destruídos pela cocção adequada do alimento. O hábito de ingerir peixes, em especial crus, é de introdução recente no cardápio dos estabelecimentos de alimentos, nas grandes cidades brasileiras. (GERMANO; GERMANO; OLIVEIRA, 1998).

A partir dessa realidade a inspeção e reinspeção de produtos oriundos da pesca e aquicultura se tornam de extrema importância para a saúde pública. Além disso, a inspeção tem um papel fundamental no mercado pois o Brasil aumentou as importações de pescados, principalmente de salmonídeos. Esses produtos importados requerem reinspeção, ou seja, assegurar que determinado produto não nacional cumpra as exigências da legislação brasileira e, portanto, possa ser declarado conforme e apto ao consumo. Já na parte de exportações, uma inspeção adequada é necessária para garantir a qualidade do produto e atrair mercados mais exigentes.

Além dos danos diretos proporcionados aos peixes e das perdas econômicas, as zoonoses parasitárias veiculadas por pescado cada vez mais vêm chamando a atenção de pesquisadores e autoridades sanitárias, por serem causas de problemas na população, que pode ser infectada, pelo consumo de pescado cru ou cozido insuficientemente (OKUMURA *et al.*, 1999).

No presente trabalho, o enfoque se destina pesquisar a ocorrência de parasitas em pescados das espécies Meca, Salmão e Peixe Sapo através de avaliações e coletas realizadas em parceria com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção pesqueira

A produção mundial de pescado (Tabela 1) tem crescido a uma taxa média anual de 3,2% nos últimos 50 anos. Atualmente, estima-se que o pescado represente 16,7% de toda a proteína animal consumida por humanos no planeta e 6,5% de toda a proteína, considerando as duas origens, animal e vegetal. (FAO, 2014a; FAO, 2014b). A produção mundial de pescado, proveniente tanto da pesca extrativa quanto da aquicultura, atingiu aproximadamente 168 milhões de toneladas em 2010. Neste cenário, o Brasil contribuiu com apenas 0,75% (1.264.765 t) da produção mundial de pescado em 2010, ocupando o 19º lugar.

TABELA 1 - Produção total de pescado (t) dos cinco maiores produtores em 2010

POSIÇÃO	PAÍS	PRODUÇÃO
1º	China	63.495.197
2º	Indonésia	11.662.343
3º	Índia	9.348.063
4º	Japão	5.292.392
5º	Filipinas	5.161.720
19º	Brasil	1.264.765

Fonte: ADAPTADO DE BOLETIM ESTATÍSTICO DA PESCA E AQUICULTURA (2011)

A produção de pescado nacional (Tabela 2) para o ano de 2011 foi de 1.431.974,4 toneladas. A pesca extrativa marinha continuou sendo a principal fonte de produção de pescado nacional, sendo responsável por 553.670,0 t (38,7% do total de pescado), seguida pela aquicultura continental (544.490,0 t; 38,0%), pesca extrativa continental (249.600,2 t; 17,4%) e aquicultura marinha (84.214,3 t; ~6%).

TABELA 2 - Produção de pescado (t) no Brasil por modalidade no ano de 2011, discriminada por região e Unidade da Federação.

REGIÃO	PESCA EXTRATIVA (t)	AQUICULTURA (t)	TOTAL(t)
Norte	231.409,8	94.718,5	326.128,3
Nordeste	248.531,9	199.504,0	454.216,9
Sudeste	139.323,3	86.909,9	226.233,2
Sul	163.987,5	172.463,9	336.451,5
Centro-Oeste	13.836,6	75.107,9	88.944,5

Fonte: ADAPTADO DE BOLETIM ESTATÍSTICO DA PESCA E AQUICULTURA 2011.

2.2 Importação de pescados

A importação de produtos de origem animal é fiscalizada e controlada pelo Ministério da Agricultura de forma a salvaguardar a saúde animal, a saúde pública e o desenvolvimento socioeconômico nacional. O desembarque de qualquer produto de origem animal no Brasil depende de prévia autorização do Ministério da Agricultura, por intermédio do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) da Secretaria de Defesa Agropecuária (MAPA, 2017).

Para a importação de produtos de origem animal é necessário o prévio reconhecimento da equivalência dos sistemas de inspeção sanitária do país exportador com o Brasil, a habilitação dos estabelecimentos que estão exportando e a aprovação dos produtos e seus rótulos, no Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura. Os produtos importados são reinspeccionados pelo DIPOA, sob o aspecto sanitário e industrial, antes de serem liberados para o consumo, quando necessário, são colhidas amostras para exames laboratoriais oficiais (MAPA, 2017).

Ao longo das últimas décadas o Brasil vem ampliando sua atuação no mercado internacional como país importador de alguns tipos de produtos de origem animal, especialmente pescados. Segundo as Análises das Informações de Comércio Exterior (ALICE WEB) no ano de 2016 o Brasil importou 335.402.023 kg de pescados com valor de 1.099.359.483 US\$. Deste valor, segundo o Ministério da Indústria, Comércio exterior e Serviços (2016), um total de 66.010,54 toneladas foram de Salmões-do-pacífico movimentando 438,07 Milhões de Dólares. De acordo com o Boletim estatístico da pesca e aquicultura (2011), o principal país exportador para o Brasil em 2011, em termos monetários,

foi o Chile com US\$ 289 milhões, seguido pela China com aproximadamente US\$ 235 milhões e Noruega, que caiu uma posição em relação a 2010, com pouco mais de US\$ 222 milhões. Argentina, Portugal e Marrocos mantiveram as mesmas posições de 2010, com US\$ 158 milhões, US\$ 115 milhões e US\$ 14 milhões.

2.2.1 Salmão

Os salmonídeos são peixes teleósteos pertencentes à Família Salmonidae, da ordem dos Salmoniformes. O salmão do Atlântico (*Salmo salar*) é indígena da costa europeia do Atlântico Norte e dos rios que nele desaguam. As técnicas de produção de juvenis do salmão do Atlântico foram inicialmente desenvolvidas no Reino Unido, no século XIX, para efeitos de repovoamento. No entanto, foi na Noruega, na década de 1960, que pela primeira vez uma unidade de aquicultura comercializou salmão adulto produzido em jaulas flutuantes. Em nível mundial, a aquicultura responde por dois terços da produção total de salmão. A espécie mais cultivada é o salmão do Atlântico, que representa 93 % da produção total da aquicultura. Em 2009, os principais produtores mundiais de salmão do Atlântico eram a Noruega, o Chile, a União Europeia e o Canadá.

O salmão é um peixe muito versátil, o que se reflete no número e na variedade de produtos à base de salmão disponíveis no mercado em toda a União. O salmão é muito vendido em fresco, em filetes ou postas, nos mercados e peixarias, ou pré-embalado, nos supermercados. O salmão fumado é uma iguaria popular que é geralmente apresentada embalada em vácuo e pré-fatiada.

O salmão é um dos produtos que o Brasil mais importa. A principal origem é o Chile e no ano de 2011 foi importado 33.678.278 kg (BOLETIM ESTATÍSTICO DA PESCA E AQUICULTURA 2011).

Nos últimos anos, nas grandes cidades brasileiras, tem-se observado uma mudança no perfil alimentar da população, pois o hábito de consumir pratos orientais, a base de salmão, como *sushi* e *sashimi* tem se tornado cada vez mais frequente. O aumento do consumo destes produtos in natura pela população tem gerado preocupações tanto com relação à qualidade inicial da matériaprima como nas etapas de preparo, necessitando de uma atenção especial das autoridades sanitárias para garantir a qualidade do produto final (GERMANO; GERMANO, 2001).

2.3 Exportação de pescados

Segundo dados do sistema AgroStat (MAPA), no ano de 2016 o Brasil exportou 34.733.909 kg de pescados movimentando 236.216.794 US\$. O Pará é o líder do ranking nacional de Estados exportadores de pescado, com sua oferta de pescado selvagem apreciada na Europa. O Estado nortista vendeu 7 mil toneladas e US\$ 55,8 milhões. O camarão e lagosta cearenses vêm na sequência do ranking, seguidos pela oferta selvagem de Santa Catarina. Mas o Rio Grande do Sul é que foi responsável pelo maior volume (10,8 mil toneladas). Nesse contexto, O Brasil exportou no ano de 2016 1.057.134 de Peixe Sapo movimentando 5.756.229 US\$ e 671.514 kg de Espadarte movimentando 4.191.482 US\$.

2.3.1 Peixe Sapo

O Peixe Sapo (*Lophius gastrophysus*) pertence à família Lophiidae, a qual está distribuída na Costa Oeste do Oceano Atlântico, desde os Estados Unidos até a Argentina, assim como no Golfo do México (ROBINS e RAY, 1986). É considerada uma iguaria na Europa, sobretudo na Espanha e na França. Esta espécie é atualmente uma das pescarias mais valiosas do litoral brasileiro e está designada principalmente para a exportação (CAMPANILLI, 2002). Tipicamente bentônicas essas espécies têm sido componentes frequentes da pesca multiespecífica de arrasto de-fundo, comumente realizada com redes de portas, ou *beam trawls*.

Com elevado valor econômico no mercado internacional e devido a crescentes oportunidades de exportação para países europeus e asiáticos, a espécie desencadeou o rápido desenvolvimento de uma pescaria dirigida, tanto por embarcações nacionais quanto arrendadas, e uma ampla e inédita ocupação das áreas de pesca do talude entre o norte do Rio de Janeiro e o sul do Rio Grande do Sul (PEREZ et al., 2002; RAMELLA et al., 2005).

Segundo o Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, em 2011 foi desembarcado 2.616,2 toneladas de peixe sapo no Brasil.

2.3.2 Meca/Espadarte

O espadarte, *Xiphias gladius*, é uma espécie oceânica cosmopolita, epi- e mesopelágica, distribuindo-se em águas tropicais e temperadas de todos os oceanos (Nakamura, 1985). São animais que atingem grande porte, havendo registro de exemplares

com mais de 500 kg de peso total. Por este motivo, provavelmente, os únicos predadores naturais da espécie sejam a cachalote, a orca e os grandes tubarões (Tibbo et al., 1961). O *X. gladius* é uma espécie com uma dieta multiespecífica e não seletiva quanto ao tamanho da presa, alimentando-se principalmente de pequenos pelágicos (peixes) e invertebrados (cefalópodes) (Palko et al., 1981; Mello, 1992).

Segundo o Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, em 2011 foi desembarcado 3.033,0 toneladas de Espadarte no Brasil.

2.4 Inspeção e Reinspeção de pescados

A inspeção do pescado inicia-se nos cais de desembarque, no momento em que os barcos pesqueiros fazem o descarregamento. O desembarque do pescado e sua destinação devem ser avaliados pelos profissionais da inspeção, a fim de assegurar as boas condições higiênico-sanitárias dos peixes capturados (GERMANO e GERMANO, 2001).

A recepção da matéria-prima é uma das principais etapas de toda a indústria de pescados, pois é nesse momento que é realizada a análise sensorial do produto através da avaliação das características organolépticas. A análise sensorial é efetuada pelo controle de qualidade da empresa, que determina o grau de deterioração do pescado recebido, indicando a qualidade da matéria-prima (FRANZON, 2011).

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Peixe Fresco (BRASIL, 1997), na avaliação sensorial o produto deverá apresentar-se com todo o frescor da matéria-prima convenientemente conservada; deverá estar isento de toda e qualquer evidência de decomposição, manchas por hematomas, coloração distinta à normal para a espécie considerada, incisões ou rupturas das superfícies externas, com as escamas translúcidas, com brilho metálico, unidas entre si e fortemente aderidas à pele. A pele deve-se apresentar úmida, tensa e bem aderida. Em relação à mucosidade, em espécies que a possuem, deve ser aquosa e transparente. Os olhos caracterizam-se por ocupar a cavidade orbitária e ser brilhantes e salientes. O opérculo necessita oferecer resistência à sua abertura e rigidez. A face interna deve ser nacarada, os vasos sanguíneos cheios e fixos. As brânquias devem apresentar as seguintes características: cor rosa ao vermelho intenso, úmidas e brilhantes, ausência ou discreta presença de muco. É obrigatório o abdômen ser tenso, sem diferença externa com a linha ventral (BRASIL, 1997).

A reinspeção, procedimento que assegura que determinado produto não nacional cumpre as exigências da legislação brasileira e, portanto, possa ser declarado conforme e apto

ao consumo. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, por meio da Secretaria de Defesa Agropecuária, editou o Memorando-Circular nº 16/2016/CGI/DIPOA/SDA/GM/MAPA, de 7 de março de 2016, trazendo para o ambiente industrial dos estabelecimentos de pescados registrados no S.I.F. a condição única de estabelecimentos aptos a realizarem a reinspeção de pescados fresco, carecendo o Ministério de praticar ato semelhante para o pescado resfriado ou congelado.

A presença de parasitas pode não estar restrita ao risco ou probabilidade de causar enfermidades ao consumidor. Está também associada a outros malefícios decorrentes do aspecto repugnante e a integridade do consumidor que ao tomar conhecimento de estar ingerindo vermes, muitas vezes numa quantidade e tamanho relativamente expressivos que seguramente poderiam ser identificados e removidos num processo de fabricação. O RIISPOA descreve dentre os controles oficiais no seu inciso V o controle de parasitas. Consta também, de acordo com artigo 212, é obrigatória a verificação visual de lesões atribuíveis a doenças, ou infecções, bem como presença de parasitas através de monitoramento executado por pessoa qualificada do estabelecimento.

2.4.1 Inspeção visual macroscópica do pescado eviscerado

A inspeção visual macroscópica de parasitas visa inspecionar parasitas encapsulados e adultos sobre órgãos e musculatura da cavidade celomática. Visualmente, podemos observar lesões inflamatórias com edema e alteração na coloração. Em situações de parasitas localizados em vísceras o aproveitamento deve ser condicional e feito evisceração para eliminação dos parasitas e tratamento pelo frio.

Para inspeção na mesa de luz branca é recomendado a colocação dos files descongelados uma superfície acrílica de aproximadamente 5mm de espessura e 45% de transparência. A instalação da mesa deve permitir incidência de luz branca por baixo da placa de aproximadamente 1500 lux (MAPA, 2016).

Há também a possibilidade de realizar a inspeção através de luz ultravioleta em câmara ou sala escurecida há menos de 20 LUX de intensidade luminosa. Esse método permite boa visualização, principalmente de nematódeos em salmonídeos. No exame é possível observar diversas áreas de perfurações, que é sugestivo de infestação por parasitas. A distribuição das larvas é mais comum na porção antero-inferior e médio inferior dos filés de salmões. A migração das larvas demonstra pouco poder de penetração, sendo raras na porção lombar e não detectadas profundamente na musculatura (MAPA, 2016).

2.5 Parasitas em pescados

Os parasitos podem ser patogênicos para os peixes, pois costumam invadir órgãos como fígado, gônadas, mesentério e musculatura corporal, provocando extensa patologia, principalmente quando um grande número está presente (OKUMURA *et al.*, 1999).

Diversos parasitas infectam os pescados, mas só algumas espécies de helmintos causam zoonoses. Parasitas pertencentes às classes Cestoda, Nematoda e Trematoda são causadores de zoonoses, o que leva à necessidade de se ter maior atenção na realização da inspeção de pescados e, principalmente, na forma como estes alimentos são consumidos pelas pessoas (FERRE, 2001).

2.5.1 Nematódeos

Apesar de ser o maior grupo de parasitos de peixes, os nematóides são considerados, de maneira geral, espécies pouco patogênicas. São fáceis de serem reconhecidos devido ao formato alongado com extremidades afiladas. São dióicos e exibem dimorfismo sexual. Apresentam ciclo indireto, com a participação de copépodes planctônicos como hospedeiros intermediários. Os nematódeos são, provavelmente, os parasitas mais importantes do ponto de vista da inspeção de pescados e são também os que se apresentam com maior frequência.

Possuem ciclos de vida complexos, com possibilidade de vários hospedeiros, e podem ser encontrados em vários órgãos como intestino e fígado. Porém, só têm interesse sanitário, aqueles cujas formas larvares infectantes se encontram nos músculos dos peixes. Estas podem permanecer vivas por muito tempo depois da morte do peixe.

2.5.1.1 *Anisakis simplex*

É um nematóide branco, com 18 a 36 mm de comprimento e 0,3 a 0,7 mm de largura (HUSS, 2013). O ciclo evolutivo destes nematódeos inicia-se com a postura de ovos pelas fêmeas que são eliminados para o ambiente, juntamente com fezes dos hospedeiros definitivos. Anisquídeos adultos normalmente parasitam o estômago e intestino delgado de mamíferos marinhos como golfinhos, baleias, focas, leões marinhos e morsas (ANDERSON, 2000). Uma vez no meio aquático, ocorre no interior dos ovos, o desenvolvimento dos embriões até a formação de larvas de segundo estágio (L2), que eclodem e locomovem na água até serem ingeridas por várias espécies de crustáceos que atuam como hospedeiros

intermediários destes parasitas, uma vez que nestes ocorre o desenvolvimento das L2 em larvas de terceiro estágio (L3), (ACHA, 2003). Quando os crustáceos são ingeridos por uma infinidade de espécies de peixes, principalmente marinhos e moluscos cefalópodes, ocorre a liberação das larvas L3, que penetram e invadem os tecidos destes hospedeiros, encistando-se à espera do hospedeiro definitivo (ANDERSON, 2000). Ao ingerir os hospedeiros intermediários ou paratênicos, ocorre o fechamento do ciclo evolutivo destes helmintos com o desenvolvimento dos estágios adultos e sexualmente maduros no trato gastrointestinal dos hospedeiros definitivos (CHAI,2005). A infecção humana ocorre pela ingestão de peixes, lulas e crustáceos crus ou mal cozidos contendo larvas L3 em seus tecidos (ANDERSON, 2000).

Os peixes mais conhecidos por albergarem a larva L3 são bacalhau, arenque e o salmão. Desta forma o ser humano infecta-se ao comer estes peixes crus, mal cozido, salgados ou defumados. Após a ingestão, as larvas penetram na mucosa gástrica e intestinal, causando os sintomas da anisakiase, essa doença também é conhecida como "*herring worm disease*" ou "*cod wormdisease*" doença do verme do arenque ou doença do verme do bacalhau, também há relatos de que os anisakiídeos possam provocar reações alérgicas mesmo quando ingeridos em peixes bem cozidos (LÓPEZ *et al.*, 2007).

Nos últimos anos, têm-se reconhecido por meio de diversas evidências, que a presença de larvas de anisakiídeos nas vísceras, musculatura e cavidade abdominal de moluscos, crustáceos e peixes economicamente importantes e afeta a industrialização do pescado, além de suas implicações em saúde pública (GAMBLE; MURRELL, 1998; CLAVER *et al.*, 2000; SLIFKO *et al.*, 2000; McCLELLAND, 2002).

Esta helmintose é considerada uma zoonose grave, apesar de ser pouco conhecida pela população, com aumento de sua prevalência nas últimas décadas em diferentes países do mundo como Alemanha, Holanda, Espanha e França (AUDICANA, 2002). Entretanto cerca de 90% dos casos de anisakiase em humanos concentram-se no Japão, onde mais de 2.000 pessoas infectam-se anualmente com esta parasitose (CHAI,2005). Em 2009, na Europa, a incidência de casos de anisakiase foi de 3,8/100.000 (ORPHANET REPORT SERIES, 2009). Na América, casos de anisakiase foram diagnosticados em indivíduos dos EUA, Canadá e Chile, porém no Brasil, ainda não há notificação de casos, mas sim o relato da presença de L3 destes nematódeos em peixes marinhos da costa fluminense (DIAS,2010), além de bacalhau importado comercializado no estado de São Paulo (PRADO,2006).

2.5.1.2 *Pseudoterranova decipiens*

Pseudoterranova decipiens é o nematóide das focas e pode ser encontrado em vários oceanos ao redor do mundo (BRISTOW; BERLAND, 1992), incluindo o antártico (CHAI *et al.*, 1995). Tem cor amarelado, marrom ou avermelhado, com 25 a 60 mm de comprimento e 0,3 a 1,2 mm de largura (HUSS, 2013S).

Seu ciclo de vida incorpora vários hospedeiros e cinco estágios de desenvolvimento. Os ovos são eliminados pelas focas nas fezes e as larvas incubadas são ingeridas pelo primeiro hospedeiro intermediário, que pode ser um copépodo bentônico ou isopodo (MCCLELLAND 1990). Estes infectados são posteriormente consumidos por maiores hospedeiros intermediários, que também são invertebrados bentônicos, como poliquetas, anfípodes ou anfípodes. Esses invertebrados são comidos por um pequeno hospedeiro de transporte de peixe, como a solha. Pequenos peixes infectados podem, por sua vez, ser comidos por grandes peixes predatórios como o bacalhau do Atlântico, o corvo do mar, que acumulam um grande número de larvas (PEPN,2013). Somente quando os vermes atingem um tamanho de cerca de 2 mm é que podem infestar peixes (MCCLELLAND, 1995).

Pseudoterranova decipiens é relatado em uma grande variedade de peixes marinhos, principalmente no hemisfério norte. As principais espécies parasitadas são o bacalhau do atlântico, o tamboril, corvo do mar e solha. A prevalência é maior em grandes peixes bentônicos, como bacalhau, que pode ser infectado por dezenas de larvas (PEPN,2013).

Dentro da população sensível está os humanos e outros hospedeiros não definitivos que são acidentalmente infectados pela ingestão de peixes parasitados. Na carne de peixe, ela pode sobreviver com fumaça até 40 ° C, marinação ou salga e temperaturas de congelamento insuficientes até -20 ° C por 4 a 5 dias. Ao contrário de *Anisakis* a larva *Pseudoterranova*, muitas vezes é vista pelo consumidor, dependendo da espessura dos filetes de peixe (PEPN,2013).

2.5.1.3 *Capillaria philippinensis*

Capillaria philippinensis é uma espécie de nematódeo da família Trichinellidae (CHITWOOD, 1968). Os estágios adultos destes parasitas vivem intimamente aderidos à mucosa intestinal do jejuno (ACHA, 2003). Os ovos são eliminados para o exterior, juntamente com as fezes do indivíduo acometido, contaminando rios e lagos. No ambiente aquático, estes ovos são ingeridos por peixes de água doce, liberando larvas que permanecem

encistadas em seus tecidos, até que sejam ingeridos crus ou mal cozidos por seres humanos, onde concluirão sua biologia, tornando-se nematódeos adultos no intestino delgado (ANDERSON, 2000).

Capilariose é ocasionada pelo nematódeo *Capillaria philippinensis*, transmitida aos seres humanos pela ingestão de peixes dulcícolas (ACHA, 2003). Mais de 2000 casos de infecções em pessoas por estes parasitas ocorreram nas Filipinas e Tailândia, países endêmicos. Ocorrências esporádicas também foram observadas até o momento no Japão, Coréia, Taiwan, China, Indonésia, Índia, Irã, Emirados Árabes, Egito, Itália, Espanha e Reino Unido (LU, 2006).

2.5.1.4 *Eustrongylides spp*

O gênero *Eustrongylides spp*. pertence à família Dioctophymatidae. Três espécies, *E. tubifex*, *E. ignotus*, e *E. excisus*, têm sido citadas em aves piscívoras de diversas partes do mundo (MEASURES, 1988).

Larvas de *Eustrongylides spp* são parasitas de peixes carnívoros, como a traíra (*Hoplias malabaricus*), o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), o cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) e o tucunaré (*Cichla ocellaris*), tendo sido encontradas na musculatura esquelética, no mesentério, nas serosas que revestem as vísceras e na cavidade geral desses peixes (EIRAS; REGO, 1989; SANTOS; CECCARELLI; REGO, 2003; BARROS, MORAES FILHO; OLIVEIRA, 2007). O parasita adulto é encontrado no esôfago, no pró-ventrículo e no intestino de aves aquáticas piscívoras, e o homem pode ser infectado acidentalmente ao se alimentar de peixe cru ou mal passado (CAETANO, 2011).

O primeiro estágio larval desenvolve-se dentro dos ovos que são eliminados nas fezes das aves ictiófagas. Os oligoquetos (anelídeos) de água doce, hospedeiros intermediários, ingerem esses ovos, que eclodem dentro dos oligoquetos, originando larvas de segundo e terceiro estágios. Os peixes pequenos, segundos hospedeiros intermediários, alimentam-se de oligoquetos infectados. As larvas do terceiro estágio encistam nas superfícies internas dos peixes. Desenvolvem-se em larvas do quarto estágio, que é a fase infectante e aguardam serem ingeridos pelas aves. Peixes maiores, anfíbios e répteis que consomem peixes infectados, podem servir como hospedeiros paratênicos ou hospedeiros de transporte quando são ingeridos pelas aves. As larvas infectantes podem penetrar no ventrículo das aves dentro de 3 a 5 horas depois da ingestão do pescado infectado. A larva rapidamente se transforma em verme sexualmente maduro, iniciando a postura de ovos 10 a 17 dias após a infecção (COLE,

1999; BRUGNI ;VIOZZI, 2003). As larvas são grandes, possuem coloração vermelha brilhante, e medem 25 a 150 mm de comprimento e 2 mm de diâmetro. São encontradas em peixes de água doce, de água salobra e de água salgada (FDA, 2009c).

Em humanos causa uma doença chamada Eustrongilidíase, que é adquirida pelo consumo de peixe cru ou mal cozido infectado, as larvas penetram pela parede do trato digestório, causando dor severa (FDA, 2009c).

2.5.1.5 *Gnathostoma spp*

Os hospedeiros definitivos para espécies de *Gnathostoma* incluem cães, gatos, porcos, lontras entre outros. Os nemátodos adultos são encontrados em uma massa nodular com um pequeno orifício na cavidade gástrica ou esôfagos dos hospedeiros definitivos, são acastanhados em mamíferos devido ao acúmulo de oxihemoglobina em fluidos corporais, sua forma é cilíndrica e eles medem entre 1,2 - 3,5 cm de comprimento. As Larvas L3, formas infecciosas para hospedeiros intermediários e humanos, têm cerca de 3,0 a 4,5 mm de comprimento (UNAM, 2011).

As fêmeas adultas liberam ovos que são evacuados nas fezes do hospedeiro definitivo e posteriormente manchas como larvas em um ambiente de água doce (cerca de 7 dias depois). As larvas de água doce são consumidas por pequenos crustáceos também conhecidos como copépodos, crustáceos minúsculos do gênero *Cyclops*, que por sua vez são consumidos por outros animais, como peixe de água doce, aves e répteis. As larvas penetram na parede gástrica dos copépodos, migram através da cavidade do corpo e amadurecem no segundo estágio e nas formas larvárias do terceiro estágio inicial. Os copépodos são então ingeridos por hospedeiros intermediários (peixe, sapos, cobras), nas quais as larvas novamente penetram na parede gástrica, migram para o tecido muscular e amadurecem em larvas de terceiro estágio, os hospedeiros definitivos que comem um animal infectado podem se infectar e as larvas podem amadurecer na forma adulta e completar o ciclo de vida do nematóide (QUIJADA *et al*, 2005).

A gnatostomíase é doença parasitária causada pelo nematelminto *Gnathostoma sp*, caracterizada por erupção serpiginosa e/ou eritema migratório associado a edema cutâneo local, contraída pelo consumo de alimentos crus ou mal cozidos contaminados (DIAZ,1998). É endêmica em países asiáticos como a Tailândia e o Japão, onde é comum o consumo de carne crua de peixes de água doce. Países da América Central já apresentam considerável número de registros da doença devido ao hábito de comer um prato típico chamado ceviche,

que consiste em pescado cru marinado (HERNANDÉZ, 2005). A larva do *Gnathostoma sp* pode causar doença exclusivamente cutânea ou disseminada para outros órgãos e sistemas, como olhos, pulmões e sistema.

Existem aproximadamente 12 espécies de gnathostomas identificadas até o momento (HALE,2003). O *G. spinigerum* foi considerado por muito tempo o principal agente da doença em humanos, porém novas espécies, como *G. hispidum*, *G. doloresi*, *G nipponicum* e *G binucleatum*, vêm sendo detectadas frequentemente (DIAZ,1998; OGATA, 1998).

Dani *et al*, 2009, relataram um caso de gnatostomíase no Brasil, onde o paciente ingeriu ceviche em uma viagem para o Peru, três semanas antes do surgimento dos sintomas. É o primeiro caso notificado e publicado no Brasil e alerta para o surgimento dessa doença em áreas anteriormente não endêmicas.

2.5.2 Cestóides

São animais endoparasitos, heteroxenos obrigatórios, com raras exceções. São hermafroditas e tem o corpo em forma de fita, dividido em segmentos, em geral, achatado dorsoventralmente; sem cavidade geral e tubo digestório (UFRRJ,2016). Estes parasitas possuem cutícula lisa (desprovida de cílios) e órgãos de adesão conhecidos como ventosas e órgãos de fixação chamados de acúleos (FORTES, 2004).

2.5.2.1 *Diphyllobothrium*

Dos cestódeos que infectam peixes e humanos, o gênero *Diphyllobothrium* apresenta a maior importância. Este parasita desenvolve sua maturidade sexual no trato intestinal de mamíferos. O *D. latum* é encontrado na carne de peixes frescos de água doce ou de água salgada que migram para água doce para a reprodução. Os ursos e os humanos são os hospedeiros definitivos deste parasita (BONSDORFF,1977). Nesta família de cestódeos incluem-se as seguintes espécies: *Diphyllobothrium latum*, *D. pacificum*, *D. cordatum*, *D. houghtoni*, *D. ursi*, *D. dendriticum*, *D. lanceolatum*, *D. dallia*, e *D. yonagoensi*, sendo as duas primeiras as principais causadoras da difilobotríase humana.

Há presença de dois hospedeiros intermediários em seu ciclo, o primeiro é um crustáceo copépode e o segundo é um peixe de água doce ou salgada. O ovo liberado pelo hospedeiro definitivo eclode na água e libera um coracídio, o qual é ingerido pelo crustáceo.

No crustáceo, há a formação do procercóide, a primeira forma da larva. Quando o peixe ingere o crustáceo infectado há a formação da segunda forma da larva, designada de plerocercóide, a qual se localiza no tecido muscular, fígado e gônadas dos peixes. O homem, ao ingerir o peixe infectado cru, permite que a larva plerocercóide se torne adulta em seu intestino delgado. (URQUHART *et al*, 1996; EDUARDO *et al*, 2005).

O *Diphyllobothrium* spp é conhecido como a “tênia” do peixe e é um dos maiores parasitas intestinais do homem, podendo atingir em média 10 metros de comprimento, com mais de 3000 proglotes, alcançando até 25 metros, em alguns casos descritos. O verme adulto pode permanecer no intestino delgado humano, onde desenvolve sua maturidade sexual, por mais de 10 anos, chegando até 25 anos (EDUARDO *et al*, 2005).

A difilobotriose é caracterizada por distensão abdominal, flatulência, dor epigástrica, anorexia, náuseas, vômitos, astenia, perda de peso, eosinofilia e diarreia após 10 dias do consumo de peixe cru ou mal cozido. A maioria das infecções são assintomáticas.

A difilobotríase ocorre no hemisfério norte em regiões como Europa, novos Estados independentes da União Soviética, América do Norte e Ásia, além de ocorrer também na Uganda e no Chile (CDC, 2010). A maior incidência destas infecções ocorre no Leste e Sudeste Asiático, locais que tem se tornado cada vez mais frequentados em viagens para destinos exóticos, além da incorporação da comida oriental nos menus tradicionais (MORALES, 2008). Peixes de água doce infectados com larvas de *Diphyllobothrium* spp. podem ser transportados e consumidos em áreas geográficas onde a transmissão ativa não ocorre. Exemplificando, no Brasil há relatos de casos de infecção por *Diphyllobothrium* spp. associado ao consumo de peixes importados (CDC, 2010). No Brasil, o primeiro caso humano de difilobotríase foi reportado por Santos e Faro (2005), em setembro de 2004 na cidade de Salvador, BA. Emeel *et al* (2016) diagnosticaram na cidade de Porto Alegre/RS a presença de *Diphyllobothrium latum* em um paciente de 65 anos que havia viajado para os Estados Unidos e relatou o consumo de peixes e camarões crus. Na cidade de São Paulo, entre março de 2004 e maio de 2005, foram registrados os primeiros casos autóctones da doença, atingindo 34 casos, todos associados ao consumo de salmão cru. O estudo por microscopia eletrônica de vermes adultos eliminados por alguns pacientes levou à conclusão de que o *D. latum* foi a espécie responsável pela infecção humana na cidade de São Paulo (EDUARDO *et al*, 2005).

2.5.3 Trematódeos

Trematódeos são animais geralmente de corpo chato, de cutícula lisa ou provida de espinhos geralmente pouco desenvolvidos. Ventosa anterior raramente rudimentar e uma segunda ventosa ventral ou acetábulo situada no meio da face ventral, ou então terminal, que pode ser rudimentar ou deixar de existir. A cavidade do corpo é obliterada, de musculatura sincicial, o tubo digestivo raramente com abertura posterior e via de regra hermafroditas. Do ovo sai um embrião ciliado desprovido de ganchos quitinosos. São parasitas em todas as fases do ciclo, evoluindo sempre em dois hospedeiros.

2.5.3.1 *Clonorchis sinensis*

O *Clonorchis sinensis* é um trematódeo da família Opisthorchiidae, que ocorre de forma endêmica no continente asiático, limitado à área banhada pelo mar da China, que abarca o Japão, Coreia e quase toda a China Continental, além de Taiwan. *Clonorchis sinensis* é o agente etiológico da clonorquíase que pertence a família Opisthorchiidae. Este trematódeo mede 10 a 25 mm de comprimento por 3 a 5 mm de largura, e vive nos ductos biliares do homem, cachorro, gato, veado, ratos e várias espécies de mamíferos silvestres (ACHA; SZYFRES, 1986).

As condições necessárias para o fechamento do ciclo biológico do *C. sinensis* incluem, além de hospedeiro definitivo que pode ser o homem ou diversas espécies de mamíferos carnívoros e até mesmo algumas aves, dois tipos de hospedeiros intermediários. O primeiro hospedeiro intermediário é obrigatoriamente molusco operculado pertencente principalmente aos gêneros *Parafossarulus*, *Bulimus*, *Semisulcospira*, *Alocinma* ou *Melanoides* (BEAVER, 1984). O segundo é representado por inúmeras espécies de peixes de água doce existentes na Ásia, nos quais as cercárias, formadas nos moluscos e libertadas em meio hídrico, se encistam, transformando-se em metacercárias. A transmissão ao homem se dá por ingestão da carne desses peixes, crua ou mal cozida. As metacercárias se desencistam no duodeno e, através da Ampola de Vater, atingem as vias biliares, onde amadurecem após cerca de 30 dias.

O acometimento humano pelo *C. sinensis* produz alterações de intensidade e gravidade variáveis de acordo com o número de vermes presentes. A sintomatologia pode ser classificada em leve, progressiva ou grave. No primeiro tipo encontram-se os casos assintomáticos. Já nos casos severos ocorrem danos ao fígado e aos ductos biliares, resultando

em cirrose, edema e icterícia (LEITE *et al.*, 1989; SANTOS, 1995; JAY, 2000) Quando está localizado nos canais biliares, o estágio adulto do *C. sinensis* provoca hiperplasia do epitélio biliar, com subsequente fibrose pericanalicular densa. A quantidade de parasitas pode atingir vários milhares e, praticamente todos os canais biliares terminais apresentam-se com espessamento fibroso das paredes, e necrose por compressão do parênquima hepático adjacente (FAUST *et al.*, 1987).

Adicionalmente podem ocorrer problemas gastrintestinais, fadiga e colangiocarcinoma (SANTOS, 1995). De acordo com Jay (2000), ocasionalmente verifica-se câncer hepático.

2.5.3.2 *Opisthorchis spp*

Estes parasitas estão distribuídos ampla e mundialmente, infectando milhões de pessoas. *O. viverrini* é encontrado exclusivamente no Sudeste Asiático, principalmente ao norte da Tailândia; *O. felinus* é natural da Europa Central e Oriental. Estes parasitas são todos semelhantes em termos do ciclo de vida, sintomatologia clínica, diagnose, tratamento e prevenção.

Segundo George (1988), os parasitas da família Opisthorchiidae possuem útero e ovário situados anteriormente aos testículos, não havendo bolsa do cirro, e o poro genital situa-se em posição imediatamente anterior à ventosa ventral.

A metacercária é muito resistente, sobrevivendo por mais de 2 meses em temperatura de refrigeração, salga, ou conservas de peixe. Uma vez ingerida, sofre excitação no duodeno, tornando-se adulta nos ductos biliares. O tempo decorrido entre a ingestão até a infecção tornar-se sintomática é de quatro semanas. A maioria das pessoas portadoras dessas infecções são assintomáticas (SMART, 1995), embora uma enfermidade aguda que consiste em febre, dor epigástrica e eosinofilia possa desenvolver-se em uma semana após a ingestão do peixe infectado. Em infecções crônicas atinge graus de colelitíases (FUNG, 1961). Infecção com *C. sinensis* e *O. viverrini* também está associada com o aumento da incidência de colangiocarcinoma nas áreas endêmicas.

A opistorquíase é causada por *Opisthorchis felinus*, originariamente isolado do gato na Itália, e alguns anos mais tarde, do homem, na Sibéria (FAUST *et al.*, 1987). Outro agente da opistorquíase é *O. viverrini*, que é estritamente relacionado com *O. felinus*. É endêmico no norte da Tailândia, onde cerca de 25% da população está infectada (FAUST *et al.*, 1987). Segundo Beneson (1987), Faust *et al.* (1987) e Eiras (1994b), a infecção é contraída por ingestão de peixe de água doce cru, salgado, curtido, defumado ou desidratado contaminado

por metacercárias. A intensidade de infecção das metacercárias de *C. sinensis* no organismo do peixe é diferente, resultante do comportamento da larva nesse hospedeiro (RIM *et al.*, 1996). As metacercárias de *C. sinensis* podem ser encontradas em mais de 80 espécies de peixes (bem como em trêz de camarão de água doce), nas quais encistam no tecido conjuntivo subcutâneo e músculo (EIRAS, 1994b).

O homem é o hospedeiro definitivo mais adequado para *C. sinensis* (EIRAS, 1994b). Como reservatórios da doença estão o homem, o gato, o cão, o suíno e outros animais. Seu período de incubação é indeterminado, variando com o número de parasitas presentes. Os indivíduos parasitados podem expulsar ovos viáveis durante 30 anos, embora não haja transmissão entre uma pessoa e outra (BENESON, 1987).

2.5.3.3 Família *Heterophyidae*

Heterofíase é termo utilizado para agrupar todas as trematodioses causadas por várias espécies de helmintos da família *Heterophyidae*, parasitas intestinais de mamíferos e aves, com cerca de 35 espécies zoonóticas, dentre as quais destacam-se *Heterophyes heterophyes* e *Metagonimus yokogawai* (CHAI, 2005).

O ciclo biológico destes trematódeos envolve a presença de um hospedeiro intermediário, representado por espécies de caramujos aquáticos, o qual pode ingerir ovos, que liberam miracídios para seus tecidos, que posteriormente desenvolve-se em cercárias. As cercárias abandonam os caramujos, penetram nos tecidos de seu segundo hospedeiro intermediário, representado por peixes de água doce, onde encistam-se como metacercárias. A infecção humana ocorre pela ingestão de metacercárias presentes na musculatura destes peixes, quando consumidos cru ou mal cozidos (ACHA, 2003).

Os peixes envolvidos pertencem à família *Mugilidae* (tainhas, paratis e paratis-pema) que atua como hospedeiros intermediários, podendo a infecção ser transmitida ao homem (GERMANO; GERMANO, 2008).

No Brasil até o momento, só foram registradas ocorrências de heterofíase humana causada pela espécie *Ascocotyle (Phagicola) longa* nos municípios paulistas de Registro e Cananéia, onde foram confirmados 10 casos positivos entre 102 pacientes suspeitos que haviam ingerido tainha crua (CHIEFFI, 1992). Os peixes envolvidos pertencem à família *Mugilidae* (tainhas, paratis e paratis-pema) que atua como hospedeiros intermediários.

3. MATERIAS E MÉTODOS

O presente projeto foi desenvolvido em duas etapas e divididos em experimento 1 e experimento 2.

O experimento 1 foi realizado a nível exploratório para coletar dados e determinar a ocorrência de parasitas em Salmão e realizado no município de Itajaí, Santa Catarina, em parceria com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Foi analisado um contêiner vindo da China contendo filé de salmão congelado e coletado aleatoriamente 17 amostras. (Tabela 3/ Figura 1/Figura 2). Os resultados encontrados foram tabulados em planilha excell para determinar as porcentagens de ocorrência de infecções parasitárias. Os filés foram pesados e os parasitas foram contados utilizando luz ultravioleta.

No experimento 2, foi realizado um estudo de caso para investigar a presença de parasitas em amostras de Peixe Sapo (Figura 3) e Espadarte (Figura 4) oriundos de pesca extrativa no estado de Santa Catarina, Brasil.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento 1, das 17 amostras analisadas, apenas em uma (5,8%) não foi encontrado parasitas. O número de parasitas nos filés de Salmão (*Salmo salar*) congelado variou entre 5 e 29 exemplares, apresentando média de 16,4 parasitas e uma ocorrência de 94,11%.

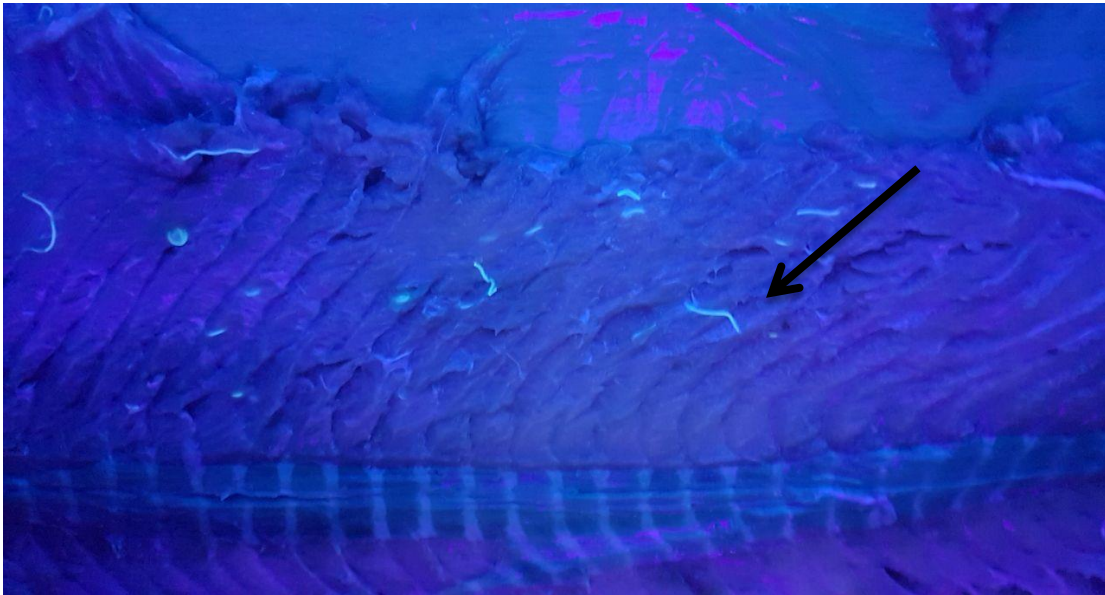
TABELA 3 - Dados coletados do contêiner contendo filés de salmão congelado.

AMOSTRAS	PESO LÍQUIDO (g)	PESO BRUTO (g)	NÚMERO DE PARASITAS n - %
1	1220	1254	0 - 0
2	1172	1205	9 - 3,18
3	1188	1227	12 - 4,24
4	1232	1268	26 - 9,18
5	1592	1628	29 - 9,18
6	1216	1255	11 - 3,188
7	1704	1741	67 - 23,67
8	972	1008	19 - 6,71
9	1332	1387	16 - 5,65
10	1348	1357	4 - 1,41
11	1318	1355	13 - 4,59
12	914	946	13 - 4,59
13	1202	1238	5 - 1,76
14	920	956	18 - 6,36
15	858	900	22 - 7,77
16	1128	1164	9 - 3,18
17	1084	1121	10 - 3,53
MÉDIA:	1200	1235	16,4

FONTE: Ministério da Agricultura, Abastecimento e Pecuária.

A Figura 1 ilustra um filé de Salmão (*Salmo salar*) analisado macroscopicamente através de uma luz ultravioleta visando a detecção de parasitas intramusculares. A Figura 2 ilustra um filé de Salmão (*Salmo salar*) apresentando áreas de perfurações, que é sugestivo de infestação por parasitas.

FIGURA 1 – Filé de Salmão sobre luz ultravioleta apresentando parasitas (seta).



FONTE: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

FIGURA 2 - Filé de Salmão apresentando áreas de perfurações, que é sugestivo de infestação por parasitas.



FONTE: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Xianlin Yang *et al* (2013) concluíram que, em comparação com as técnicas tradicionais, a técnica de imagem utilizando luz ultravioleta tem vantagens significativas para monitoramento na inspeção de rotina. Embora tão rápido quanto as operações manuais tradicionais, a imagem de fluorescência possui uma precisão de detecção muito maior, menos trabalho e tem potencial para computador.

Levsen *et al.* (2010) compararam os métodos de inspeção de produtos de pesca e concluíram não são suficientes para detectar a maioria das larvas de nematódeos nos filés e enfatizam a importância de um congelamento adequado e concluem que é necessário uma investigação sobre a carga parasitária na carne do pescado.

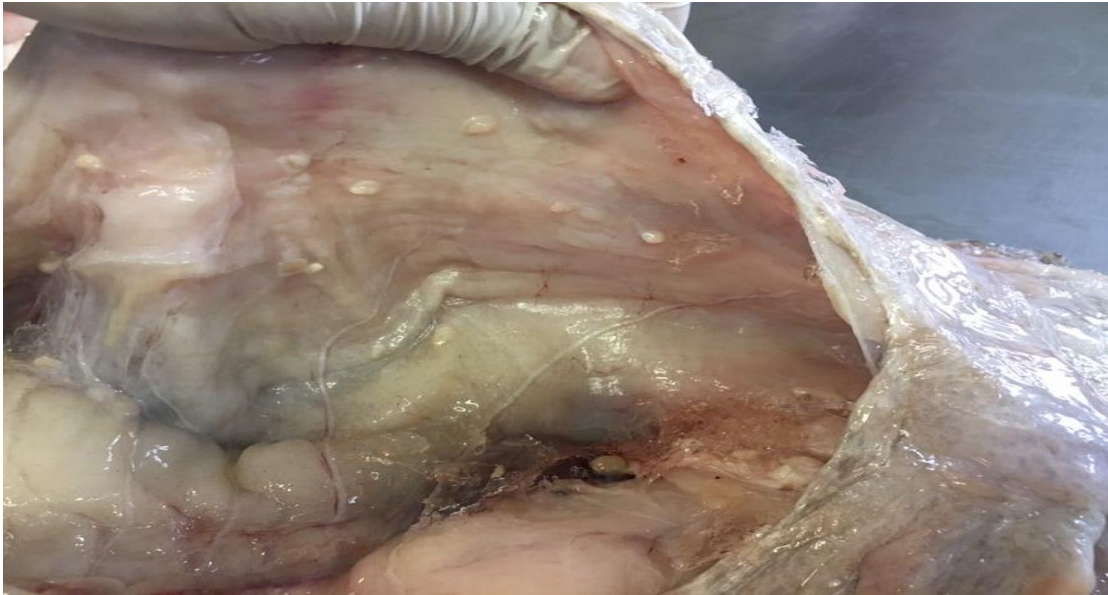
No experimento 2, foi identificada a espécie *Anisakis simplex* nas amostras de Espadarte (*Xiphias gladius*) e de Peixe Sapo (*Lophius gastrophysus*). A figura 3 mostra uma posta de Espadarte apresentando parasita na musculatura enquanto a figura 4 mostra parasitas encistados na musculatura do Peixe sapo.

FIGURA 3 – Posta de espadarte apresentando parasitas.



FONTE: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

FIGURA 4– Amostra de peixe sapo apresentando parasita encistado .



FONTE: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Clemente *et al.* (2007) analisaram 87 espécimes de Peixe Sapo e destes 41 (47%) encontravam-se parasitados por no mínimo uma espécie de metacestóide da ordem Trypanorhyncha. As espécies encontradas foram *Tentacularia coryphaenae*, *Nybelinia sp.*, *Mixonybelinia sp.* e *Progrillotia dollfusi*. Já Rodrigues *et al.* (2011) avaliaram 400 amostras de Peixe Sapo e encontraram espécies de anisacídeos pertencentes ao gênero *Contracaecum* no mesentério de filés de apenas três exemplares (0.75%). Os autores concluíram que há grande necessidade de maiores pesquisas sobre os métodos de detecção de parasitas visando fornecer subsídios para os órgãos fiscalizadores.

Muscolino *et al* (2012) analisaram histologicamente amostras de espadarte e encontraram parasitas da ordem de Trypanorincha. Segundo Mejuto (2012), várias espécies de parasitas já foram descritas em espadarte, como trematodos (*Tristoma spp.*, *Hirudinella spp.*, *Ophistodena spp.*), cestodos (*Fistulicola spp.*, *Pelichnibothrium spp.*, *Ceratobothrium spp.*, *Phyllobothrium spp.*, *Scolex spp.*, *Hepatoxylon spp.*, *Tentacularia spp.*, *Sphyriocephalus spp.*, *Dasyrhynchus spp.*, *Nybelinia spp.*, *Rhadinorhynchus spp.*); nematodos (*Maricostula spp.*, *Hysterothylacium spp.*, *Anisakis spp.*), copépodos (*Pennella spp.*, *Caligus spp.*)

5. CONCLUSÃO

A contaminação de pescados por parasitas é de grande importância para a indústria, saúde pública e para o mercado de importações e exportações, pois além das alterações organolépticas no próprio pescado, pode gerar danos graves a saúde dos consumidores e prejuízos para o sistema de saúde e mercado comercial.

Nos últimos anos o Brasil se mostrou um excelente cliente para os países exportadores de pescados, principalmente países produtores de salmões. Entretanto, os resultados do presente mostraram que tem desembarcado pescados contaminados por parasitas nos portos do Brasil. Portanto, os órgãos competentes de fiscalização devem fiscalizar com rigor os produtos desembarcados e para facilitar esse processo o método de inspeção com luz ultravioleta é uma boa opção, pois além de ser rápido e prático permite a visualização dos parasitas adultos e áreas de perfurações, que é sugestivo de infestação por parasitas.

Diante dessas análises foi verificada uma ocorrência de infestação parasitária em 94,11% dos filés de Salmão (*Salmo salar*) congelados, o que sustenta a importância do sistema de reinspeção em produtos importados e a eficácia da análise macroscópica através do uso de luz UV. Além disto, a presença do parasita *Anisakis simplex* no Peixe Sapo e na Meca confirma a importância da atuação dos fiscais veterinários na inspeção de produtos da pesca, para assegurar a qualidade do produto e a segurança alimentar do consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA P, SZYFRES B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. **Washington DC: Organización Panamericana de la Salud**; 2003.
- ANDERSON RC. Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. 2aed. **Wallingford: CAB International**; 2000.
- AUDICANA MT, ANSOTEGUI IJ, CORRES LF, KENNEDY MW. Anisakis simplex: dangerous-dead and alive? **Parasitol Today**. 2002;18:20-5.
- BARROS, L. A.; MORAES FILHO, J.; OLIVEIRA, R. L. Larvas de nematóides de importância zoonótica encontradas em traíras (*Hoplias malabaricus* Bloch, 1794) no município de Santo Antonio do Leverger, MT. **Arq. Bras. Med. Vet Zootec.**, v. 59, n. 2, p. 533-535, 2007.
- BEAVER , P . C ; JUNG , R . C . & CUPP , E . W. — **Clinica i parasitology** . 9 , h ed . Philadelphia , Le a & Febiger , 1984.
- BENESON, A.S. El. Control de las enfermedades transmisibles en el hombre. Washington D.e.: **Organizacion Panamericana de la Salud**, 1987. 536p. (Publicación Científica n. 507).
- BRASIL. Secretaria de Monitoramento e Controle do Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico Da Pesca E Aquicultura 2011**. Disponível em: <www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/.../estatistica/est_2011_bol__bra.pdf>. Acesso em: Dez.2017
- BRISTOW GA, BERLAND B. On the ecology and distribution of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda: Anisakidae) in an intermediate host, *Hippoglassoides platessoides*, in Northern norwegian waters. **Intern J Parasitol**. 1992;22:203–20
- BRUGNI, N.; VIOZZI, G. Presencia de *Eustrongylides tubifex* (Nematoda: Dioctophymatoidea) em la Patagonia, Argentina. **Parasitol Latinoam.**, Santiago, v. 58, n. 1-2 p. 83-85, 2003
- CAETANO MS, SENRA LB, STARLING AG, SANTOS GM, GONÇALVES JÚNIOR LP, AMARAL AA. Ocorrência de *Eustrongylides* sp. em traíras (*Hoplias malabaricus*) do córrego do capim, afluente do rio Norte Alegre - ES. **XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação** - Universidade do Vale do Paraíba; 2011
- CAMPANILLI, M. Peixe-sapo terá cota máxima para pesca. Estado de São Paulo, São Paulo, 15 jul. 2002. **Ciência e Meio Ambiente**. Disponível em: <<http://www.estadao.com.br/ciencia/noticias/2002/jul/15/136.htm>>. Acesso em: out.2017
- CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Parasites - **Diphyllobothrium Infection**. 2010. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/diphyllobothrium/>> acesso em: out.2017

CHAI JY, DARWIN MURRELL MK, LYMBERY AJ. Fish borne parasitic zoonoses: status and issues. **Int J Parasitol.** 2005;35:1233-54

CHAI JY, GUK SM, SUNG JJ, *et al.* Recovery of *Pseudoterranova decipiens* (Anisakidae) larvae from codfish of the Antarctic Ocean. **Korean J Parasitol.** 1995;33:231-234.

CHIEFFI PP, GORLA MC, TORRES DM, DIAS RM, MANGINI AC, MONTEIRO AV, *et al.* Human infection by *Phagicola* sp. (Trematoda, Heterophyidae) in the municipality of Registro, São Paulo State, Brazil. **J Trop Med Hyg.** 1992;95:346-8.

CHRISTIANE MARIA DE CASTRO DANI ; KARINA FRIAS MOTA ; PAOLA VIZCAICHIPI SANCHOTENE ; JUAN PIÑEIRO MACEIRA; CLÁUDIA PIRES AMARAL MAIA. **Gnatostomíase no Brasil** – relato de caso. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962009000400012>. Acesso em Nov.2017

CHITWOOD, C.; VALESQUEZ, C.; SALAZAR, N.G.. *Capillaria philippinensis* sp. nov. (Nematoda: Trichinellida), from the intestine of man in the Philippines. **The Journal of Parasitology.** 54, 1968.

CLAVER, S.F.; BLAY, E.V.; MITRE, R.M.; SUÁREZ-VARELA, M.M.M.; GONZÁLEZ, A.L. Enfermedades parasitarias de origen alimentario más frecuentes em España: incidencia y comparación con las de origen vírico y bacteriano. **Ars Pharmaceutica**, v. 41, n. 3; p. 293-305, 2000

CLEMENTE, SÉRGIO; KNOFF, MARCELO; LIMA, C. FRANCISCO; ANDRADA, CAROLINE; FELIZARDO, NILZA; PADOVANI, RODRIGO; GOMES, DELIR. Cestóides Trypanorhyncha Parasitos De Peixe Sapo-Pescador, *Lophius Gastrophysus*, Miranda-Ribeiro, 1915, Comercializados no estado do Rio De Janeiro, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, 16, 1, 37-42 (2007)

COLE, R.A. In: FRIEND, M. & FRANSON, J.C. (eds). Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds. Washington, D.C.:US Geological Survey. **Biological Resources Division Information and Technology Report**, 1999-2001. comercializado em Ribeirão Preto, SP. **Rev Soc Bras Med Trop.** 2006;39:580-1.

DE GÓRGOLAS HERNÁNDEZ-MORA M, FERNÁNDEZ GUERRERO ML. Gnathostomiasis: an increasing disease among travellers. **Med Clin (Barc).** 2005;125:190-2

DIAS FJE, SÃO CLEMENTE SC, KNOFF M. NEMATOIDES ANISAQUÍDEOS E CESTOIDES DIAZ CAMACHO SP, ZAZUETA RAMOS M, PONCE TORRECILLAS E, OSUNA RAMIREZ I, CASTRO VELAZQUEZ R, FLORES GAXIOLA A, *et al.* Clinical Manifestations and immunodiagnosis of gnathostomiasis in Culiacan, México. **Am J Trop Med Hyg.** 1998;59:908-15

EDUARDO, M.B.P. *et al.* *Diphyllobothrium* spp.: um parasita emergente em São Paulo, associado ao consumo de peixe cru – sushis e sashimis, São Paulo, março de 2005. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 2, n. 15, p. 1-5, mar. 2005.

EDUARDO, M.B.P. *et al.* Investigação epidemiológica do surto de difilobotríase, São Paulo, maio de 2005. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 2, n. 17, p. 1-13, maio 2005.

EIRAS, J. C.; REGO A. A. Histopatologia em peixes resultantes de infecções parasitárias. Publ. **Inst. Zool. Dr. Augusto Nobre**, n. 208, p.1-2. 1989.

EIRAS, J.C. Elementos de ictioparasitologia. Porto: **Fundação Eng. Antônio de Almeida**, 1994b.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014a). The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges. Roma: FAO. **FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations**. (2014b). Fishery and aquaculture statistics 2012. Roma: FAO yearbook

FAUST, E.C.; BEAVER, P.C.; JUNG, R.C. Agentes e vectores animais de doenças humanas. Porto: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 1987.

FDA-FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook *Eustrongylides* spp. 2009c. Disponível em: <http://www.fda.gov/food/foodsafety/foodborneillness/foodborneillnessfoodbornepathogensnaturaltoxins/badbugbook/ucm070800.htm>. Acesso em Out.2017

FERRE, I. Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consumo de pescado. **Revista AquaTIC, Valência (Espanha)**, n. 14, p. 1-15, jul. 2001. Disponível em : <<http://www.revistaaquatic.com>>. acesso em out.2017

FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. 4.ed. São Paulo: Ícone, 2004. 607p

FRANZON, G. Inspeção de Pescado. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - **Universidade Luterana do Brasil**. 2011.

FUNG, J. Liver fluke infestation and cholangio-hepatitis. **Br. J. Surg.** v. 48, p. 404-415, 1961.

GAMBLE, H.R.; MURRELL, K.D. Detection of parasites in food. **Parasitology**, v. 117, supl. 1, p. S97-S111, 1998.

GEORGI, J.R. **Parasitologia veterinária**. São Paulo: Manole, 1988

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2004. 629p.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S.; OLIVEIRA, C.A.F. Aspectos da qualidade do pescado de relevância em saúde pública. **Higiene Alimentar**, v.12, n.53, p.30-37, 1998.

HALE DC, BLUMBERG L, FREAN J. Case report: Gnathostomiasis in two travelers to Zambia. **Am J Trop Med Hyg.** 2003;68:707-9

HUSS, H.H; ABABOUCHE, L; GRAM, L. Assessment and management of seafood safety and quality: FAO Fisheries Technical Paper. No. 444. Rome,

FAO. 2003. 230p. Disponível em:

<http://www.fao.org/docrep/006/y4743e/y4743e00.htm#Contents>. Acesso em Dez.2017

JAY, J.M. **Modern Food Microbiology**. 6th ed. Aspen food science text series. 2000.
LEITE, O.H.M.; HIGAKI, Y.; SERPENTINI, S.L.P. *et al.* Infecção por *Clonorchis sinensis* em imigrantes asiáticos no Brasil: tratamento com praziquantel. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 31, n. 6, p. 416-422, 1989

LEVSEN, A; LUNESTAD, B. Anisakis simplex third stage larvae in Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.), with emphasis on larval distribution in the flesh. **Veterinary Parasitology**,2010; 247-253

LÓPEZ, M. L. G.; Esteban, M. M.; Artalejo, F. R.; Ferri, E. R., La Alergia por Anisakis y Medidas de Prevención. (**AESA**). Espanha,2007.

LU L, LIN M, CHOI W, HWANG K, HSU Y, BAIR M, *et al.* Human intestinal capillariosis (*Capillaria philippinensis*) in Taiwan. **Am J Trop Med Hyg**. 2006;74:810-3.

MCCLELLAND, G. 1990. Larval sealworm (*Phocanema decipiens*) infections in benthic macrofauna. In Population biology of sealworm (*Phocanema decipiens*) in relation to its intermediate and seal hosts. Bowen, W. D., (ed.). **Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences**. 222. 47-65.

MEASURES, L.N. Revision of the genus *Eustrongylides* Jagerskiold, 1909 (Nematoda: Dioctophymatoidea) of piscivorous birds. **Can. J. Zool.**, Ottawa, v. 66, p. 885-895, 1988.

MEJUTO, J; GARCIA-CORTÉS, B; CARTELLE, AM. Sinopsis sobre la biología y el comportamiento del pez espada *Xiphias gladius* Linnaeus. Disponível em:
<http://www.co.ieo.es/tunidos/esp/FLOTAesp/SWO.pdf>. Acesso em: Jan,2018

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria N°185. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco. Brasília. 1997.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Importação. Disponível em:
<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/importacao>
Acesso em Dez.2017

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Manual de reinspeção de pescados e derivados, 2016.

Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços. Principais produtos importados. Disponível em: <<http://www.mdic.gov.br/comercio-exterior/estatisticas-de-comercio-exterior/comex-vis/frame-ppi?ppi=1380>> Acesso em Dez.2017

MOORE DA, MCCRODDAN J, DEKUMYOY P, CHIODINI PL. Gnathostomiasis: An emerging imported disease. **Emerg Infect Dis**. 2003;6:647-50

MORALES, L.J. *et al.* Pseudoterranovosis y sushi. **Rev Chil Infect.**, v. 25, n. 3, p. 200-206, 2008. Disponível em: www.sochinf.cl

MUSCOLINO, D; GIARRATANA, F; GIUFFRIDA, A; PANEBIANCO, A. Inspective Investigation on Swordfish (*Xiphias gladius*) frozen Slices of Commerce: Anatomical-Histopatological Findings. **Czech J. Food Sc.**, 2012, No. 3: 206–210

OGATA K, NAWA Y, AKAHANE H, DIAZ-CAMACHO SP, LAMOTHE-ARGUMEDO R, CRUZ-REYES A. Short report: gnathostomiasis in Mexico. **Am J Trop Med Hyg.** 1998;58:316-8

OKUMURA, M.P.M.; PÉREZ, A.C.A.; ESPÍNDOLA FILHO, A. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado: revisão. **Rev. Educ. Cont.CRMV-SP.**, v.2, p.66-80, 1999.

Orphanet Report Series. **Rare Diseases collection.** Prevalence of rare diseases. 2009

Disponível em:

<http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence_of_rare_diseases_by_alphabetical_list.pdf>.

PEPN (Food and Environmental Parasitology Network),2013 disponível em <

<http://www.fepn.net/styled-11/styled-14/index.html>> acesso em out.2017

Prado SPT, Capuano DM. Relato de nematóides da família Anisakidae em bacalhau

QUIJADA, JÉSSICA; LIMA DOS SANTOS, C. A.; AVDALOV, NELSON. Enfermedades parasitarias por consumo de pescado. Incidencia en América Latina. **Infopesca internacional**, v. 24, p. 16-23, 2005.

REGO, A.A.; VICENTE, J.J.; SANTOS, C.P.; WEKID, R.M. Parasitas de anchovas, *Pomatomus saltatrix* (L.) do Rio de Janeiro. **Ciência e Cultura**, v. 35, n. 9, p. 1329-1336, 1983.

RIM, H.1.; KIM, K.H.; 100, K.H.; KIM, S.J.; EOM, K.S.; CHUNG, M.S. The infestation states and changing patterns of human infecting metacercariae in freshwater fish in Kyongsang-do and Kyonggi-do, Korea. **Korean Journal Parasitology**, v.34, n.2, p.95-105, 1996.

RODRIGUES, M.V; OKUMURA, M.P.M; PÉREZ, A.C.A; BIONDI, G.F. Anisaquídeo em Peixe Sapo (*Lophius Gastrophysus*): Relato De Caso. **Congresso brasileiro de Medicina Veterinária**. Florianópolis, 2011

SANTOS, C.A.L. Prevention and control of food borne trematodes in cultured fish.

INFOFISH International, n.2,p.57-62, 1995.

SANTOS, F.L.N.; FARO, L.B. The first confirmed case of *Diphyllobothrium latum* in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 6, p. 685-686, 2005

SANTOS, S. M. C.; CECCARELLI, P. S.; REGO, R. F. Helminths in peixes do Pantanal sulmatogrossense: primeira expedição do Programa Pantanal. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 16, p. 15-26, 2003.

SCHWARTZ, D.A. Helminths in the induction of cancer: *Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis*, and cholangiocarcinoma. **Trop. Geogr. Med.**, v. 32, p. 95-100, 198

Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior. **ALICEWEB**. Disponível em <<http://aliceweb.mdic.gov.br/>>. Acesso em Dez.2017

SLIFKO, T.R.; SMITH, H.V.; ROSE, J.B. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1379-1393, 2000.

SMART, D. Clinical toxicology of shellfish poisoning. **Clinical toxicology of animal venoms and poison**. Switzerland : University of Basel, 1995. 768 p.

The State of World's Fisheries and Aquaculture. Disponível em:
<http://www.fao.org/publications/sofia/2016/en/>. Acesso em Dez.2017

UNAM - UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. **Departamento de microbiología y parasitología. Gnathostomosis o gnathostomiasis**. 2011. Disponível em:
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/gnathostomosis.html> acesso em Nov.2017

URQUHART, G.M. *et al.* **Parasitologia Veterinária. 2 ed.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1996. 273 p.. ISBN 85-277-0456-0.

VANESSA ERICHSEN EMMEL ; EVERTON INAMINE ; CARINA SECCHI; TEREZA C.Z. BRODT; MARIA CRISTINA O. AMARO ; VLADimir VICENTE CANTARELLI; SÍLVIA SPALDING. *Diphyllobothrium latum*: relato de caso no Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.39 no.1 Uberaba Jan./Feb. 2006.

VON BONSDORFF B. *Diphyllobothriasis in man*. **Academic Press**, London, 1977.

YANG, X; NIAN,R; LIN, H; DUAN, C; SUI, J; CAO, L. Detection of Anisakid Larvae in Cod Fillets by UV Fluorescent Imaging Based on Principal Component Analysis and Gray Value Analysis. **Journal of Food Protection**, Vol. 76, No. 7, 2013, Pages 1288–1292