

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Catarina Silva Marques da Costa

Dissertação orientada pelo Professor Doutor Rui Manuel Amaro Pinto, Professor Auxiliar e coorientada pela Doutora Carla Alexandra Fino Alberto da Motta.

Mestrado em Qualidade Alimentar para a Saúde

2023

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



**Precusores de Aminas Biogénicas no
Pescado e a sua Relação com a
Alerginicidade**

Catarina Silva Marques da Costa

**Trabalho Final de Mestrado em Qualidade Alimentar para a Saúde
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Dissertação orientada pelo Professor Doutor Rui Manuel Amaro Pinto,
Professor Auxiliar e coorientada pela Doutora Carla Alexandra Fino
Alberto da Motta, Investigadora Auxiliar

2023

Agradecimentos

Agradeço ao Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, em particular à Doutora Carla Motta por ter abraçado este projeto comigo, tendo sempre demonstrado interesse, disponibilidade e prontidão para me auxiliar, que em muito beneficiou da sua orientação. Ao Doutor Rui Pinto da FFUL por ter aceitado orientar este projeto.

À Doutora Isabel Castanheira (INSA) por me dado a oportunidade de ingressar no INSA através de um estágio curricular da licenciatura que frequentei há 3 anos atrás, que veio despertar em mim o interesse em prosseguir para o mestrado nesta área de estudo. Também não posso deixar de agradecer à Dr.^a Rosália Furtado, assim como à Dra. Cristina Belo (INSA) pelos ensinamentos na área microbiológica, fundamentais para este trabalho.

Aos meus incansáveis pais e irmã que sempre me apoiaram com todo o seu carinho incentivando-me e fomentando este espírito de investigação que é tão característico desta família. Foram sem dúvida a minha inspiração para conseguir ultrapassar alguns momentos menos bons durante esta pandemia e percurso do estudo.

Ao Miguel que está ao meu lado há tantos anos, e aos meus amigos que sempre me deram forças para superar todas as fases da minha vida.

A todos estes, o meu mais sincero obrigada

Página propositadamente em branco

Resumo

As reações adversas a alimentos têm vindo a assumir cada vez mais importância no dia-a-dia de vários indivíduos pelo mundo. O termo alergia alimentar é utilizado para descrever respostas imunológicas que podem ser desencadeadas após o consumo de alimentos específicos ou devido a determinadas condições fisiológicas desencadeadas nos indivíduos após o seu consumo. As reações adversas aos alimentos, sejam elas alérgicas ou não, surgem de uma variedade de mecanismos diferentes. Estas podem envolver o sistema imunológico quando se trata de alergias, ou por outro lado, serem apenas reações fisiológicas ou enzimáticas quando se trata de intolerâncias ou intoxicações por determinadas componentes do alimento, nomeadamente aminas biogénicas.

Esta dissertação está dividida em cinco partes, onde primeiramente é apresentada uma revisão de bibliografia sobre esta temática, depois a discussão metodológica e aplicação prática, a apresentação de resultados, a sua discussão e a conclusão. Foram realizadas três componentes práticas de forma a fundamentar a bibliografia já existente através dos resultados obtidos. Ao longo do trabalho serão explanadas as características das diferentes proteínas que causam as principais reações adversas, assim como a influência da qualidade microbiológica dos alimentos no desenvolvimento de aminas biogénicas, que são um importante veículo para o desencadeamento de reações adversas ligadas ao consumo de alimentos e que podem desencadear quadros alérgicos. Foi realizado um capítulo experimental onde foram analisados microbiologicamente e quimicamente diversos pratos confecionados com peixe e produtos do mar, assim como foi criado um questionário on-line (amostra conseguida por método de bola de neve) direcionado à população com o objetivo de fazer uma breve identificação e caracterização da população que é afetada com este tipo de patologia.

Dada a complexidade de sinais e sintomas que decorrem deste tipo de condição clínica, impõe-se a necessidade de um diagnóstico diferencial que remete a vários fatores de promoção deste tipo de condição. Por esse motivo foi essencial entender a origem de certas debilidades que muitas das vezes surgem no próprio alimento e que após serem consumidos por indivíduos mais sensíveis, podem mesmo desencadear quadros graves de reações adversas.

Foi possível concluir que existe uma relação clara entre a qualidade microbiológica dos alimentos e o desenvolvimento de aminas biogénicas, que desencadeiam quadros toxicológicos semelhantes aos alérgicos.

Foi também concluído que a alergia ao peixe e produtos do mar é bastante significativa na população portuguesa.

Palavras-chave: alergia a produtos do mar; aminas biogénicas; parvalbumina; tropomiosina; toxicidade.

Abstract

Adverse reactions to food have become increasingly important in the daily lives of many individuals around the world. The term food allergy is used to describe immune responses that may be triggered after the consumption of specific foods or due to certain physiological conditions that are triggered in individuals after their consumption. Adverse reactions to food, whether allergic or not, arise from a variety of different mechanisms. These may involve the immune system when it comes to allergies, or on the other hand, they may only be physiological or enzymatic reactions when it comes to intolerances or poisoning by certain food components, namely biogenic amines.

This dissertation is divided into five parts, where first a review of the bibliography on this subject is presented, then the methodological discussion and practical application, the presentation of results, their discussion and the conclusion. Three practical components were performed in order to substantiate the existing bibliography through the results obtained. Throughout the work, the characteristics of the different proteins that cause the main adverse reactions will be explained, as well as the influence of the microbiological quality of food in the development of biogenic amines, which are an important vehicle for triggering adverse reactions linked to food consumption and that can trigger allergic reactions. An experimental chapter was carried out where several dishes made with fish and seafood products were analyzed microbiologically and chemically, as well as an online questionnaire (sample obtained by the snowball method) directed to the population with the objective of making a brief identification and characterization of the population that is affected with this type of pathology.

Given the complexity of signs and symptoms that arise from this type of clinical condition, there is a need for a differential diagnosis that refers to several factors that promote this type of condition. For this reason, it was essential to understand the origin of certain weaknesses that often arise in the food itself and that after being consumed by more sensitive individuals, can even trigger serious adverse reactions.

It was possible to conclude that there is a clear relationship between the microbiological quality of food and the development of biogenic amines, which trigger allergic-like toxicological pictures.

It was also concluded that allergy to fish and seafood products is quite significant in the Portuguese population.

Keywords: seafood allergy; biogenic amines; parvalbumin; tropomyosin; toxicity.

ÍNDICE

Agradecimentos	5
Resumo	7
Abstract	8
ÍNDICE	9
ÍNDICE DE TABELAS	11
ÍNDICE DE FIGURAS	12
INTRODUÇÃO	13
Objetivo e Questões de Investigação	13
Estrutura do trabalho e etapas metodológicas	13
1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO	15
1.1. Caracterização da Matéria-Prima.....	15
1.2. Definição da Alergia e as suas Características Epidemiológicas.....	16
1.3. Predisposição de alergias aos diferentes tipos de pescado.....	18
1.4. Mecanismos Imunológicos de Reação Alérgica de Tipo I.....	22
1.4.1. Sintomas e Severidade da Reação Alérgica	25
1.4.2. Diagnóstico Clínico.....	27
1.5. Principais vias de desenvolvimento para uma reação adversa ao pescado	28
1.5.1. Proteínas.....	28
1.5.1.1. Parvalbumina	28
1.5.1.2. Tropomiosina	29
1.5.2. Aminas Biogénicas.....	30
1.5.2.1. Histamina, Putrescina e Cadaverina.....	33
2. METODOLOGIA	37
2.1. Estudo Populacional.....	37
2.2. Estudo Laboratorial.....	38
2.2.1. Plano de Amostragem	38
2.2.2. Preparação das Amostras	42
2.3. Análise Microbiológica.....	43
2.3.1. Material e Métodos.....	43
2.3.2. Procedimento Analítico.....	44
2.4. Análise Química de Aminas Biogénicas e Aminoácidos.....	46
2.4.1. Material e Reagentes	46
2.4.2. Procedimento Analítico.....	47
2.5. Análise Estatística.....	49
3. RESULTADOS	51

3.1	Questionário Populacional	51
3.2.	Análise Microbiológica de amostras de pescado prontas a comer.....	60
3.3	Análise Microbiológica de amostras de pescado (Cru e conservas).....	67
3.4	Análise química das aminas biogénicas e aminoácidos precursoros de aminas em pescado 69	
4.	CONCLUSÕES	75
	ANEXOS	86
	ANEXO 1 (VALORES GUIA INSA 2019).....	88
	ANEXO 2 – Resultados Microbiológicos tratados relativamente às amostras recolhidas entre 2015-2017	94
	ANEXO 3 – Inquérito Populacional realizado na plataforma <i>Google Forms</i>	117

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Consumo de carne e peixe, crustáceos e moluscos em alguns países do mundo, 2013 (kg/hab.).....	19
Tabela 2 - Amostras de peixe recolhidas em superfícies comerciais na região de Lisboa.....	39
Tabela 3 - Amostras recolhidas para análise de teor de aminoácidos.....	40
Tabela 4 - Lista de equipamentos, material, reagentes e meios de cultura utilizados.....	43
Tabela 5 - Gradiente cromatográfico do método.....	49
Tabela 6 - Distribuição por NUTS II da população inquirida.....	53
Tabela 7 - Relação entre doença respiratória diagnosticada e alergia diagnosticada.....	54
Tabela 8 - Existência de doença respiratória e alergia a peixe, marisco e/ou crustáceos.....	55
Tabela 9 - Alergia diagnosticada por género.....	56
Tabela 10 - Alergias referidas por 179 indivíduos.....	56
Tabela 11 - Alimentos alergénicos identificados por 77 indivíduos.....	58
Tabela 12 - Idade do primeiro contato com o alimento alérgico.....	60
Tabela 13 - Resultado dos testes qui-quadrado relativos à relação entre a apreciação e o transporte das amostras.....	61
Tabela 14 - Tabulação cruzada entre o Grupo de Análise e a Apreciação.....	62
Tabela 15 - Resultado dos testes qui-quadrado relativos à relação entre a apreciação e o grupo de análise das amostras.....	62
Tabela 16 - Tabulação cruzada relativa aos resultados de Microrganismos Patogénicos e a Apreciação.....	63
Tabela 17 - Resultado dos testes qui-quadrado referentes ao cruzamento de dados dos Microrganismos Patogénicos e a Apreciação.....	64
Tabela 18 - Tabulação cruzada relativa aos resultados da Espécie do pescado e a Apreciação..	65
Tabela 19 - Resultado dos testes qui-quadrado referentes ao cruzamento de dados relativos à Espécie de pescado e a Apreciação.....	66
Tabela 20 - Resultado dos testes microbiológicos realizados às amostras definidas.....	67
Tabela 21 - Resultados das aminas biogénicas obtidos por HPLC das amostras recolhidas.....	70
Tabela 22 - Quantificação de aminoácidos através de análise HPLC dos diferentes tipos de peixe.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação das reações de intolerância humana a alimentos	24
Figura 2 - Aminoácidos precursores e aminas biogénicas formadas nos alimentos.	34
Figura 3 - Caracterização da população inquirida por idade.....	51
Figura 4 - Caracterização por nível de escolaridade da população inquirida.....	52
Figura 5 - Conhecimento dos inquiridos acerca da diferença entre alergia, intolerância e sensibilidade.....	54
Figura 6 - Percentagem dos diferentes tipos de doença respiratória entre os inquiridos.	55
Figura 7 - Idade em que houve a primeira manifestação alérgica.....	57
Figura 8 - Tipologia dos sintomas reportados.....	58

INTRODUÇÃO

As alergias alimentares têm vindo a ganhar ênfase ao longo dos anos e a assumir uma grande importância no panorama alimentar dos indivíduos pelo mundo inteiro.

O presente estudo surge no âmbito de um melhor entendimento sobre os principais veículos para o desenvolvimento deste tipo de patologia clínica, mais especificamente relativamente às alergias a peixe e produtos do mar.

Apesar de ser possível identificar os principais alergénios que podem desencadear este tipo de reação adversa, ainda é bastante complexo entender alguns casos uma vez que existem vários outros fatores que podem influenciar o desenvolvimento de quadros de alergia ou quadros semelhantes a estes.

Objetivo e Questões de Investigação

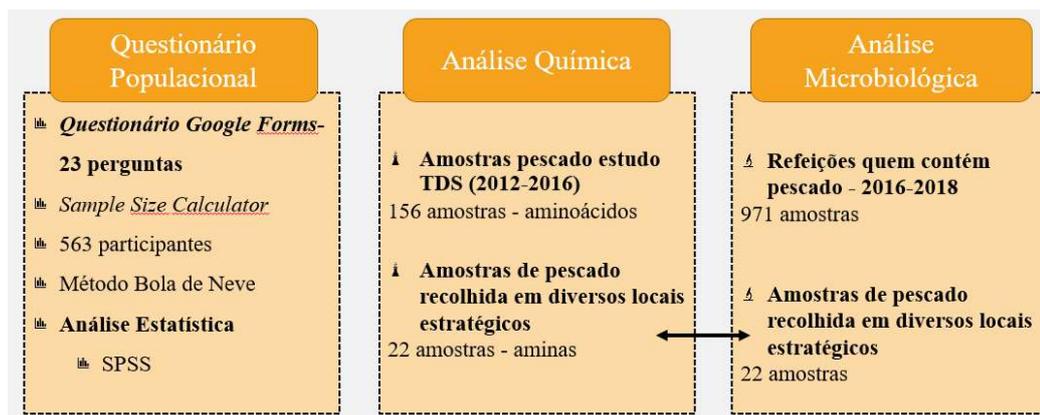
O presente trabalho tem como base dois objetivos principais: identificar quais as características das diferentes proteínas que causam as principais reações alérgicas e/ou adversas, em pacientes com este tipo de patologia ou sensíveis, assim como verificar qual a influência da qualidade microbiológica dos alimentos no desenvolvimento de aminas biogénicas, que são igualmente um importante veículo para o desencadeamento de reações alérgicas.

Estes objetivos principais são secundados por cinco objetivos específicos:

1. Identificar os principais percusores alérgicos nos vários tipos de pescado, através de revisão bibliográfica.
2. Aplicação de um questionário populacional online para a caracterização da amostra às reações adversas/ alérgicas ao consumo de alimentos.
3. Entender em que medida a qualidade microbiológica nos alimentos influencia o desenvolvimento de aminas biogénicas.
4. Relação entre o perfil proteico nos diversos tipos de pescado e o desenvolvimento de aminas biogénicas.
5. Analisar dados obtidos pelo INSA para vigilância da qualidade microbiológica de refeições servidas em cantinas da região de Lisboa, de forma a averiguar qual a qualidade microbiológica das refeições de peixe servidas nas mesmas.

Estrutura do trabalho e etapas metodológicas

Os objetivos são concretizados ao longo dos vários capítulos que compõem o presente trabalho. Este desenvolve-se em 4 partes para além desta Introdução. O primeiro capítulo corresponde ao capítulo de revisão da literatura. Este é seguido pelo capítulo 2 onde se explicita de forma detalhada a metodologia. A metodologia compreende diferentes etapas e métodos: em primeiro lugar foi realizado um questionário on-line à população no sentido de aferir a perceção da população sobre quadros alérgicos; complementarmente foram realizadas as análises químicas e microbiológicas de pescado.



Esquema de Síntese metodológico

No capítulo 3 encontram-se concretizados a maioria dos objetivos específicos (do 2º ao 5º), enquanto as conclusões são apresentadas no Capítulo 4.

A investigação baseada nas análises química e microbiológica foi realizada com o suporte do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), instituição de colaboração na presente dissertação. O INSA está dividido em seis grandes departamentos técnico-científicos: Departamento de Alimentação e Nutrição, Departamento de Doenças Infecciosas, Departamento de Epidemiologia, Departamento de Genética Humana, Departamento de Promoção de Saúde e Prevenção das Doenças Não-Transmissíveis e o Departamento de Saúde Ambiental. O Departamento de Alimentação e Nutrição (DAN) foi o departamento de acolhimento e que deu suporte para este projeto, onde se desenvolvem atividades nas áreas da segurança alimentar, toxicologia e avaliação de risco, composição alimentar e estilos de vida e o seu impacto na saúde. Estas atividades são desenvolvidas através de investigação e desenvolvimento, identificando as necessidades e estabelecendo as respetivas prioridades de acordo com as estratégias nacionais e internacionais, nomeadamente as fixadas pelo Ministério da Saúde, reforçando a participação em programas nacionais e a internacionalização do Instituto” (INSA, 2019 c).

1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

1.1. Caracterização da Matéria-Prima

De uma forma geral, todos os tipos de produtos de pesca que têm na sua composição um elevado nível proteico, são considerados de grande digestibilidade e possuem reduzidos níveis de gorduras saturadas, sendo principalmente constituídos por gorduras insaturadas de extrema importância para o normal funcionamento do organismo, como é o caso dos ácidos gordos polinsaturados, nomeadamente o ómega-3 (Patrocínio, 2009).

Por estes motivos, este é um grupo alimentar com um elevado nível de perecibilidade, bastante suscetível à deterioração microbiana, uma vez que na sua composição possui uma grande concentração de água livre (A_w) e, também, por ter um elevado teor de gorduras, tornando-se mais facilmente oxidável. O seu pH muito próximo da neutralidade (pH 6,6 – 6,8), a rápida ação destrutiva das enzimas naturais presentes nos tecidos e nas vísceras do peixe, a alta taxa de atividade metabólica da microbiota com um elevado carácter coloidal da respetiva proteína muscular (uma vez que agrega grandes quantidade de substâncias extrativas nitrogenadas livres como aminoácidos livres e óxido de trimetilamina) tornam-se características relevantes para a contribuição da definição de perecibilidade (Soares et al., 2017).

Os músculos do pescado são constituídos por vários grupos de proteínas: as que formam a fração sarcoplasmática, desempenhando funções bioquímicas nas células; as proteínas miofibrilares do sistema contrátil; e as proteínas dos tecidos conjuntivos, responsáveis principalmente pela integridade dos músculos.

Desde o momento de captura até ao momento em que o peixe é processado e comercializado, a forma de manipulação dos diferentes tipos de pescado é fundamental para a garantia da qualidade e preservação dos mesmos, sendo um fator preponderante no desenvolvimento de alterações enzimáticas, oxidativas e bacterianas. A rapidez com que se desenvolvem cada uma destas alterações depende de como são aplicados os princípios básicos da conservação e manipulação, assim como o tipo de espécie e os métodos de captura.

É através de métodos físico-químicos, que é possível quantificar a formação de compostos de degradação em qualquer alimento, sendo que várias são as determinações que podem avaliar o seu grau de conservação. As principais são, os valores de pH, a determinação de bases voláteis totais (BVT) e a quantificação dos valores de histamina através de técnicas de espectrofotometria.

Entende-se como bases voláteis totais, o conjunto das bases nitrogenadas como a amônia, trimetilamina, dimetilamina, monometilamina, putrescina, cadaveriana e espermidina. Por norma, estas assumem valores elevados em pescado que já se encontra em processo de deterioração.

O risco microbiológico é sem dúvida um dos itens mais avaliados pela indústria alimentar, nomeadamente no de processamento de peixe e produtos do mar, visando o controlo de qualidade e de segurança alimentar. Entre os principais agentes patogénicos associados aos produtos de pesca citam-se: *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica*, *Norwalk-like virus*, *Rotavirus*, *Cryptosporidium parvum* e *Giardia lamblia*. O risco de intoxicação por aminas biogénicas avaliado através da análise química dos alimentos também é elevado, sendo que a histamina é a mais relatada (Soares et al., 2017).

Agregando a estes, os fatores externos como a fraca manutenção das cadeias de refrigeração e as deficitárias condições de armazenamento e manuseamento desde o momento da sua captura até ao momento do consumo final, conjugam-se condições propícias para que haja um aumento da proliferação de agentes patogénicos. Desta forma, este tipo de produção sofre de diversos tipos de contaminações agrupadas em perigos físicos, químicos e biológicos (Patrocínio, 2009).

A segurança e a qualidade alimentar dos produtos tornaram-se fatores de extrema importância na sociedade atual, uma vez que as complicações de saúde resultantes da falta de controlo destes dois fatores, foram percebidas ao longo dos anos. Esta preocupação foi visivelmente evidenciada pelo crescente número de leis direcionadas ao controlo de qualidade dos alimentos nas várias etapas da cadeia de produção (Soares et al., 2017), nomeadamente através do sistema de Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos, vulgarmente designado por HACCP (sigla associada à designação em inglês de Hazard Analysis and Critical Control Point).

1.2. Definição da Alergia e as suas Características Epidemiológicas

A alergia alimentar é um quadro clínico que dada a sua complexidade e a variedade de fatores que a determinam, exige um diagnóstico integrado que envolve um vasto leque de entidades clínicas ligadas a diferentes áreas científicas.

O termo “reação alérgica” é usado para descrever uma resposta imunológica adversa, que por norma é a uma proteína alimentar. Por esse mesmo motivo é importante fazer uma distinção entre alergia alimentar e outro tipo de respostas não imunológicas que possam existir na sequência do consumo de um alimento específico (Waserman et al., 2011).

Quando a reação de hipersensibilidade é provocada por mecanismos imunológicos, significa que esta é mediada por anticorpos, por células ou até mesmo por células e anticorpos, sendo que na maioria dos casos estas pertencem à classe da imunoglobulina E (IgE) (Vieira, 2015). No entanto, as reações adversas aos alimentos podem surgir provenientes de uma variedade de mecanismos diferentes, envolvendo não só o sistema imunológico, quando se referem a alergias, mas também serem mediadas por reações fisiológicas ou enzimáticas, e neste caso tratar-se de intolerâncias. Existem ainda, outros casos mais específicos e raros, em que o surgimento de sintomas pode surgir através de mecanismos psicológicos (Eggesbo et al., 1999).

A um nível geral considera-se que a alergia alimentar (AA) consiste numa resposta exacerbada do sistema imunológico a determinados antigénios presentes num alimento (Arosa et al., 2012). Embora qualquer alimento tenha a capacidade de desencadear uma reação alérgica no organismo, existem alguns alimentos que assumem uma propensão maior neste desenvolvimento devido às características fisiológicas dos mesmos. Calcula-se que 170 alimentos tenham sido identificados como os principais causadores de reações mediadas por IgE, mas apenas uma minoria destes podem causar grande parte destas reações. Foi neste contexto que foi criada uma lista que enumera os alimentos que contém os principais alergénios, sendo eles: amendoins, frutos de casca rija, ovos, leite, peixe, marisco e crustáceos, trigo e soja (Boyce et al., 2010).

O peixe, o marisco e os crustáceos presentes nesta listagem, são responsáveis por um grande número de reações, incluindo as reações anafiláticas, isto é, denominadas de reações de hipersensibilidade I (Boyce et al., 2010).

Apesar da complexidade na composição da maioria dos alimentos, apenas algumas proteínas possuem uma capacidade de desencadeamento alérgico potencialmente relevante. Isto é, nem todas as proteínas são alergénicas mas as que são, até mesmo em porções muito pequenas como no caso da sequência das cadeias de aminoácidos, podem provocar uma reação alérgica.

Por outro lado, existe também um vasto leque de doenças associadas às alergias alimentares, como é o caso da rinite alérgica, da bronquite asmática, a dermatite atópica e vários distúrbios gastrointestinais. É possível assumir também, que a prevalência alérgica de cada pessoa varia significativamente, como em muitas outras patologias, consoante a disposição genética e, até mesmo, a exposição a fatores ambientais, o que pode tornar uma pessoa alérgica a uma proteína, mas não a outra (Vieira, 2015).

A correta identificação de uma reação alérgica a um alimento é bastante complexa e difícil de realizar. Esta dificuldade está principalmente relacionada com a diversidade e subjetividade da sintomatologia e o facto destes mesmos sintomas serem característicos de várias outras patologias clínicas (Eggesbo et al., 1999).

1.3. Predisposição de alergias aos diferentes tipos de pescado

Os estudos realizados em relação à prevalência de alergias aos diferentes tipos de pescado em todo o mundo, relevam alguma incerteza nos seus resultados científicos, uma vez que grande parte da bibliografia existente acerca do tema, tem como fundamento a realização de inquéritos e a análise de dados desses mesmos inquéritos. Assim, a tarefa de comparação dos estudos feitos nas diferentes populações, torna-se um pouco complexa e inconsistente, uma vez que os processos de base de averiguação (controle da amostra por grupos populacionais e contexto geográfico a que se reportam os resultados) não seguem um procedimento padrão, e estes nem sempre estão explicitados.

Por outro lado, nos estudos com base em inquéritos, não é fácil obter um diagnóstico clínico conciso, uma vez que não é possível obter a história clínica completa e detalhada de cada indivíduo assim como não é possível validar a realização de vários testes específicos. Por este motivo, os estudos baseados em estudos primários de diagnóstico são mais incertos e não detalhados, pelo que em alternativa, surgem estudos baseados em análises estatísticas que procuram padrões. Esta forma de investigação apesar de não ser tão concisa, procura chegar a conclusões que identifiquem os principais fatores e os perfis dos indivíduos mais sensíveis ao processo alérgico (Lozoya-Ibáñez et al., 2016).

Esta pesquisa bibliográfica demonstrou assim que apesar da prevalência deste tipo de problema, este tema ainda se encontra inexplorado, necessitando de aprimoramentos metodológicos de base científica que permitam um aprofundamento do conhecimento sobre o mesmo.

Segundo vários autores, epidemiologicamente, é mais comum a alergia ao peixe manifestar-se nos primeiros anos de vida, por norma até aos dois anos de idade, em média entre os 9 e os 12 meses de idade, idade em que se iniciam os primeiros contactos com os alimentos (Eggesbo et al., 1999) sendo de realçar que o número de pessoas a revelar sintomas graves devido a este tipo de reações tem aumentado exponencialmente com o passar dos anos (Gaudin et al., 2008).

Existem também casos de início de expressão clínica em idade adulta. Esta alergia tende a ser persistente, pelo que 80% dos doentes mantêm-se alérgicos 10 anos após o início dos sintomas. Esta tipo de alergia é normalmente considerada como sendo crónica, isto é, indica que há uma grande probabilidade de persistir para o resto da vida. Da análise bibliográfica, é possível também entender que o tipo de incidência de um determinado alérgico numa população está inteiramente ligado aos hábitos de consumo alimentar de cada região e que, por este motivo, existe uma grande

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade oscilação na prevalência da doença entre os diversos países (Okamoto, Takafuji, Inoue, & Tanaka, 21).

Apesar de um largo número dos estudos encontrados fazerem referência a populações de países orientais, em regiões como a Ásia, onde o consumo de peixe é maior, estima-se que a prevalência deste tipo de alergia alimentar esteja a aumentar em países ocidentais, o que poderá configurar uma relevância acrescida ao tema nos próximos anos (Costa, 2018). Segundo a Organização Mundial de Alergia, as alergias alimentares estão a aumentar nos países industrializados, estimando-se que cerca de 20 a 30% da população mundial é afetada por algum tipo de alergia (Sharp et al., 2013).

Apesar do consumo de carne ter maior destaque na dieta portuguesa (Chen, et al., 2007), o consumo de peixe assume uma grande importância na cultura gastronómica portuguesa, onde prevalece a dieta mediterrânea, sendo superior ao registado em muitos países europeus. Dados da FAO para 2013, reportam para Portugal, um consumo de 88,36 Kg/hab/ano de carne para 53,83kg/hab/ano de peixe, crustáceos e moluscos. A facilidade de acesso a esta matéria-prima, devido aos largos quilómetros de costa litoral, permite que, mesmo em regiões onde a pesca de mar não é uma atividade desenvolvida, esta mantenha uma expressão significativa na alimentação diária.

Tabela 1- Consumo de carne e peixe, crustáceos e moluscos em alguns países do mundo, 2013 (kg/hab/ano.).

	Carne	Peixe, crustáceos e moluscos
Alemanha	85,93	12,55
Austrália	116,22	26,10
Canadá	90,76	22,52
Espanha	92,04	42,38
EUA	115,13	21,52
França	86,77	33,74
Grécia	76,06	17,28
Japão	49,45	43,50
Malásia	56,25	58,96
Polónia	76,08	8,61
Portugal	88,36	53,77
Reino Unido	81,49	20,75

Fonte: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Food Balances, 2013 (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/FBSH>)

Contudo, e segundo o INE (2021), entre 2016 e 2020 o peixe que chega ao prato dos portugueses, tem em grande parte origem externa, pois as capturas nacionais têm continuamente decrescido e apenas atingem os 10,7 kg/hab. anuais (110454 toneladas de peixe capturado em

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade 2020). Este facto, revela uma grande dependência da importação, apesar de haver facilidade de acesso a esta matéria-prima.

Em Portugal foram apenas realizados estudos prévios sobre a prevalência de alergias alimentares através do telefone, em pequenas amostras de adultos e de crianças. Estes estudos tiveram como principal foco entender e avaliar as características clínicas e quais os alimentos predominantes nos quadros clínicos desencadeados. No estudo realizado a adultos, a prevalência de provável alergia representou 1% em 1436 inquiridos de forma aleatória, onde os alimentos mais citados foram: frutos do mar (34,6%), frutas frescas (21,1%) e peixe (19,2%) (Lozoya-Ibáñez et al., 2016).

Relativamente a resultados de prevalência em crianças, foi realizado um estudo a 115 crianças da região Centro de Portugal Continental, de idade escolar entre os 3 e os 11 anos. Para além de terem sido realizados questionários alimentares, foram também aprimorados testes cutâneos com diferentes alimentos para que posteriormente fosse realizada a determinação dos níveis de IgE específicos. Os alimentos com mais resultados positivos foram, à semelhança do estudo realizado em adultos, o peixe, as frutas frescas e ovo (Jorge, et al., 2017).

À semelhança de Portugal, o resto da Europa e do Mundo segue o mesmo modelo - estudos realizados através de questionários populacionais, onde a prevalência varia geograficamente de acordo com a faixa etária e com o método de avaliação. Relativamente aos adultos europeus, estimam-se taxas entre 1,5% de pessoas com alergia alimentar ao peixe (na Grécia) a 0,2% na Dinamarca.

Na Austrália, os valores sobem até aos 2,1% (Sharp et al., 2013). Num estudo realizado nos Estados Unidos da América, baseado numa amostra de maior dimensão, foi possível verificar que apesar do baixo consumo de peixe por parte dos norte americanos, a prevalência de alergia ao peixe clinicamente diagnosticada atingiu os 2,3%. Deste percentual, 16% relataram a toma de epinefrina de urgência devido a episódios graves de alergia, sendo que 8,6% destes têm prescrição médica para andar acompanhados por esta medicação. Foi ainda possível aferir que 67% dos indivíduos alérgicos, relataram serem alérgicos a vários tipos de peixe e produtos do mar em simultâneo, sendo que 38% são também alérgicos a crustáceos, 49% a moluscos e 14% a todos os tipos (incluindo assim peixe, crustáceos e moluscos) (Sicherer et al., 2004).

Por contraponto, no Canadá, os números revelam-se bastante inferiores, onde em 9667 inquiridos apenas 0,51% revelam este tipo de distúrbio alimentar (Sharp et al., 2013).

Na Ásia, os valores são mais elevados, como já seria espectável, uma vez que o consumo de peixe assume grande importância na dieta regular desta população. Segundo Sharp et al. (2013),

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade em Singapura a taxa de incidência de alergia ao peixe situava-se nos 4,1%, sendo que a percentagem de indivíduos com alergia a crustáceos é de 33,8%.

Na África do Sul a prevalência também se demonstrou significativa, uma vez que este tipo de população também tem uma dieta alimentar bastante dependente de produtos de pesca revelando reações alérgicas mediadas por IgE em vários peixes: na pescada (24,8%), cauda amarela (21,9%), salmão (15,2%) e cavala (15,2%), que são as espécies mais consumidas por esta população (Costa, 2018).

Relativamente às crianças, num estudo realizado na Noruega baseado numa amostra de 3623 indivíduos, registou-se uma taxa de incidência de 3% da alergia ao peixe, números que revelam que a alergia ao peixe nesta faixa etária é quase tão comum como a alergia ao ovo, neste mesmo local (Sharp et al., 2013). Na Austrália os números são bastante superiores revelando uma percentagem de 5,6% de prevalência em crianças, mas nos EUA, a percentagem é incrivelmente mais baixa que a já citada relativamente aos adultos, sendo apenas de 0,6% (Sicherer et al., 2004).

Segundo Connett et al. (2012), que avaliaram a prevalência populacional de alergia ao peixe em adolescentes entre os 14 e os 16 anos em Singapura, Filipinas e Tailândia, os resultados revelaram que os jovens residentes nas Filipinas apresentam uma prevalência bastante superior. Na coorte de 25842 alunos estudados, as respostas revelam uma prevalência de base populacional de alergia a peixe é de 2,29% nas Filipinas, 0,26% em Singapura e 0,29% na Tailândia.

Como fatores de risco explicativos da maior prevalência de alergia em indivíduos de países como Austrália, Ásia e Europa Mediterrânea e Báltica, sugere-se existência de um maior consumo de peixe, sobretudo nas populações costeiras, e também de uma exposição precoce a este alimento, comparativamente a outras regiões do mundo e, por este motivo, poder existir uma maior incidência neste tipo de regiões. Por outro lado, estudos realizados telefonicamente nos EUA, mostram que a alergia alimentar também assume um risco acrescido em asmáticos, particularmente em jovens do sexo masculino e em adultos do sexo feminino (Sicherer et al., 2004). A obesidade também parece incrementar o risco de ocorrência de alergia alimentar (Visness et al., 2009).

Complementarmente à referência da relação entre a idade e a exposição aos alimentos, é possível acrescentar ainda que o atraso na exposição a alimentos alergénicos na infância e no primeiro ano de vida, poderá também constituir um fator de risco (Du Toit, 2008). Estas ideias, apesar de parecem contraditórias, são no fundo complementares uma vez que quando um indivíduo nos seus primeiros anos de vida tem um atraso no contacto com os alimentos, está a atrasar a primeira apresentação de certas proteínas e possíveis alergénios ao organismo, o que pode futuramente vir a constituir um fator de risco. Por esse motivo existem estudos que indicam a

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade
necessidade de introdução dos alimentos o mais cedo possível, sendo ideal logo após os 6 meses de amamentação recomendados pela OMS.

1.4. Mecanismos Imunológicos de Reação Alérgica de Tipo I

Um dos grandes sistemas que compõem o organismo é o sistema imunológico. Este sistema é constituído por órgãos linfoides primários e secundários, uma grande variedade de células e múltiplos fatores solúveis. É no sistema linfóide secundário que se desencadeiam as respostas imunológicas fundamentais à manutenção e homeostase do organismo (Arosa et al., 2012).

As consequências de uma resposta imunológica podem ser positivas quando o agente agressor é eliminado, e com isto se desenvolve a denominada “memória imunológica”, ou pelo contrário, podem ser negativas quando o agente agressor não é eliminado e desencadeia processos inflamatórios crónicos que podem levar a reações de hipersensibilidade graves e até processos autoimunes (Arosa et al., 2012)

O evento chave no processo de desencadeamento da alergia alimentar é o reconhecimento do alimento nos componentes do sistema linfóide, que após este reconhecimento irá causar libertação de componentes químicos que servirão, posteriormente, como mediadores inflamatórios que atuam nos tecidos corporais, gerando um conjunto específico de sintomas (Mahan et al., 2017).

As respostas imunológicas são mediadas pelos vulgarmente denominados glóbulos brancos ou leucócitos, sendo que estes incluem os leucócitos polimorfo nucleares (granulócitos) e as células mononucleares (linfócitos e monócitos). Os linfócitos têm um papel fundamental no sistema imunológico uma vez que são eles que conferem especificidade às respostas imunológicas. Os linfócitos B possuem na sua membrana plasmática um recetor designado de recetor da célula B ou BRC, que tem um componente proteico que é responsável por apresentar a estrutura de uma imunoglobulina, e que por sua vez, é capaz de se ligar a determinadas moléculas antigénicas – indispensáveis para a ativação de linfócitos B e a sua diferenciação em plasmócitos (células produtoras de anticorpos) (Arosa et al., 2012).

Para entender como este tipo de reação acontece no organismo é fundamental perceber como é constituído o mecanismo de ativação imunológica. Após a exposição inicial do alimento ao organismo, este é capturado pelas células apresentadoras de antígenos (as APC) que irão ser degradadas posteriormente em pequenas frações peptídicas. Estes peptídeos, resultantes desta degradação, serão novamente apresentados pelas moléculas do complexo principal de

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade histocompatibilidade II (MHC-II) que estão localizadas nas células recetoras dos antigénios (células dendríticas).

Depois de formados os complexos MHC-II-fragmentos peptídicos, estes serão mais uma vez apresentados a outras moléculas, as CD4⁺ e serão reconhecidos por estas mesmas. Estas moléculas estão presentes na superfície dos linfócitos T helper 2 (Th2). As células Th2 quando ativadas, libertam citocinas como a interleucina-4 (IL-4) e a interleucina-13 (IL-13). Estas citocinas e alguns fatores estimuladores, provocam mudança de classe nas células B virgens para IgE e células de memória.

É aqui que a IgE adere ao recetor FcεR1 dos mastócitos ou basófilos. Estes mastócitos tendem a predominar entre os tecidos, enquanto os basófilos se movem livremente no sangue. O FcεR1, um recetor de IgE nos seres humanos, possui quatro subunidades: α, β, γ1 e γ2. A subunidade α está envolvida na ligação à IgE, enquanto as β, γ1 e γ2 participam no processo de fosforilação, o qual induz um conjunto de sinais mediados pela quinase-tirosina após a exposição secundária ao mesmo alergénio (Lima da Silva Vieira, 2015).

A exposição secundária ao mesmo alergénio geram um *crosslink* do complexo IgE-FcεR1, ou seja os alergénios num segundo contacto com o organismo vão ligar-se à IgE previamente ligada à superfície dos mastócitos/basófilos, causando a desgranulação das mesmas com libertação da histamina. Este processo vem despoletar reações mediadas pela quinase-tirosina não intrínseca, o que causa a mobilização do ião cálcio, que vai facilitar a desgranulação dos mastócitos e dos basófilos. As prostaglandinas, as citocinas, os leucotrienos, a histamina e outros mediadores de resposta imunológica são segregados por estes mastócitos ou basófilos desgranulados. Os agentes químicos mediadores, após a sua ativação, podem causar vários sintomas tais como; a dilatação do músculo liso, rompimento capilar, inchaço local e outros sintomas alérgicos, podendo até mesmo causar choque anafilático em alguns indivíduos (Vieira, 2015).

Apesar disto, as reações adversas alimentares nem sempre têm origem no sistema imunológico, isto é, existem outros mecanismos não imunológicos capazes de originar reações adversas de sensibilidade aos diversos tipos de alimentos.

O ambiente intestinal, por exemplo, tem uma grande influência na passagem e absorção de moléculas, o que se deve às várias características deste órgão, nomeadamente devido à descontinuidade da mucosa intestinal. Desta forma, pessoas com quadros de inflamação intestinal ou outras doenças intestinais, quando expostas a novas proteínas, têm propensão a desenvolver múltiplas alergias alimentares (Mattos et al., 2013).

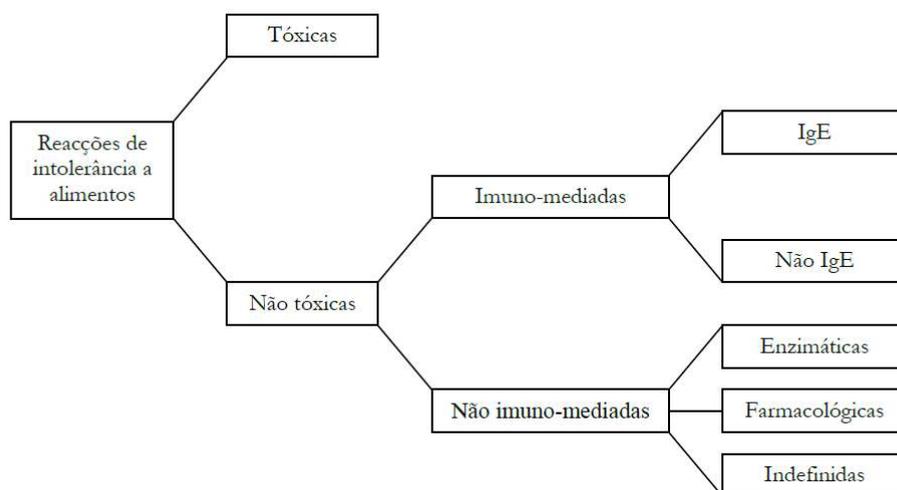


Figura 1 - Classificação das reações de intolerância humana a alimentos

Fonte: Gouveia, 2009

Por este motivo, a boa manutenção da função gastrointestinal e a capacidade para prevenir a passagem inadequada de moléculas pela parede intestinal representam, em muitos casos, a chave para a manutenção da tolerância oral de alguns alimentos e, assim, uma medida de prevenção da resposta alérgica (Mahan et al., 2017).

As reações mediadas por IgE são caracterizadas por serem reações de hipersensibilidade capazes de disputar vários sintomas alérgicos, sendo por este motivo as reações mais fáceis de diagnosticar e, paralelamente a isto, em regra geral, as mais comuns de acontecer.

As reações de hipersensibilidade I são também conhecidas como as reações de hipersensibilidade imediata ou reações anafiláticas (choque anafilático), uma vez que os sintomas aparecem no intervalo compreendido entre um minuto, logo após o contacto com o organismo alérgico, até algumas horas após a ingestão dos alimentos agressores. A anafilaxia é a resposta mais grave e aguda de uma reação alérgica, podendo mesmo, em alguns casos, ser fatal uma vez que envolve vários órgãos e sistemas do nosso organismo (Mahan et al., 2017).

No entanto, existem outras vias de sensibilização aos alimentos que nem sempre envolvem este tipo de hipersensibilidade, como por exemplo a existência de apenas sensibilidade ao alimento. O termo sensibilidade ao alimento é utilizado quando não é evidente se a reação está imunologicamente relacionada a um efeito bioquímico ou fisiológico.

Outro dos termos utilizados é o da intolerância alimentar, sendo que esta é uma reação adversa a um alimento ou aditivo alimentar que não envolve o sistema imunitário e resulta na impossibilidade de digerir, metabolizar ou absorver certa substância pertencente ao alimento por outros fatores de debilidade no organismo, que não os fatores imunitários.

Com isto é possível assumir que, paralelamente aos mecanismos imunológicos já retratados, existem também mecanismos não imunológicos capazes de causar reações no organismo, podendo estes estar relacionados com a exposição a microrganismos, como bactérias, vírus, toxinas, ou aminas biogénicas (Costa, 2018).

1.4.1. Sintomas e Severidade da Reação Alérgica

Apesar da ingestão ser o maior veículo de exposição para o desenvolvimento de quadros alérgicos, existem também alguns casos de pacientes mais sensíveis que reagem à inalação de vapores produzidos durante o período de confeção dos diferentes tipos de peixe e produtos do mar. Existem também outro tipo de reações em outros indivíduos, sendo denominadas reações atópicas, que surgem através do toque no alimento alérgico. Os principais sintomas, quando existe uma reação alérgica, são maioritariamente respiratórios com sintomas de rinite alérgica e asma, ou dermatológicos no caso destas reações serem manifestadas na pele através de dermatites ou eczemas.

Para além dos sintomas dermatológicos e respiratórios, as reações adversas em indivíduos alérgicos a alimentos podem ainda incluir sintomas gastrointestinais e neurológicos, assim como outros sistemas e órgãos (Gajewski et al., 2009).

Em suma, os sintomas mais comumente relatados em reações de alergia alimentar, são essencialmente sintomas cutâneos como urticária, edema ou inflamação localizada; gastrointestinais como náuseas, diarreia e contrações abdominais; sendo que os principais efeitos farmacológicos são a vasodilatação, libertação de adrenalina, estimulação de neurónios sensoriais e motores (Gouveia, 2009).

Estes tipos de reações adversas, podem ser provocadas e identificadas através de níveis muito baixos como 10 ng/m^3 de alergénio em indivíduos mais sensíveis (Ruethers et al., 2018). Relativamente aos sintomas cutâneos, este tipo de sintomas por norma é bastante imediato, aparecendo em apenas alguns minutos após o contacto com o alimento alérgico. Os sintomas gastrointestinais por norma levam um pouco mais de tempo para que ocorra a sensibilização, podendo levar até 2h a que se manifestem sintomas como diarreia, vómitos, náuseas, cólicas abdominais e inchaço lingual, bucal e laríngeo. Os sintomas respiratórios, como rinite e asma, por norma são sintomas que acrescem aos outros sintomas referidos anteriormente, o que significa que muito raramente aparecem de forma isolada.

Casos mais graves como as reações de hipersensibilidade I, podem agregar um conjunto destes sintomas anteriormente referidos sendo que a anafilaxia é, por isso, a forma mais grave de

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade
reação alérgica, uma vez que é uma reação sistémica que ocorre entre minutos e horas após o contacto com o alimento.

A severidade pode variar em função da quantidade ingerida, da co-ingestão de outros alimentos e, até mesmo, com o modo de preparação e confeção do alimento (se este é cozinhado, cru ou processado) havendo assim diferenças no seu potencial alérgico. Esta diferença no potencial alérgico verificado em alguns indivíduos é explicada pelo nível de sensibilização às diferentes proteínas existentes nos alimentos, que podem ser alteradas/destruídas ou desnaturadas com processos de confeção.

A intensidade da reação pode também ser influenciada pela idade do paciente e pela rapidez de absorção de cada tipo de organismo. Esta velocidade de absorção pode advir de vários fatores, sejam eles pela própria capacidade de metabolização do organismo, pelo momento em que este foi ingerido podendo existir diferenças se este estiver em jejum ou, pelo contrário, se tem influência de outros alimentos. Existe também influência da prática de exercício físico no desencadeamento da reação alérgica (Vieira, 2015).

A presença de outras condições de comorbidade e de outro tipo de doenças crónicas já existentes, tais como a asma ou a dermatite atópica, também a podem influenciar. Desta forma, foi possível definir alguns fatores de risco epidemiológicos, como os riscos de incidência genética (*human leukocyte antigen* - HLA e outros genes específicos).

Existem autores que referem inclusive que o consumo reduzido de ácidos gordos polinsaturados ω -3, pode influenciar na propensão do desenvolvimento deste tipo de reação. É também referido pelos mesmos, que o uso frequente de medicamentos antiácidos, podem alterar o processo natural de digestão, permitindo um aumento da exposição imune às proteínas ingeridas (Untersmayr et al., 2008). As digestões retardadas podem colocar os doentes com alergia ao peixe em iminência de desenvolver reações alérgicas de maior gravidade, mesmo até a pequenas quantidades de alimento ingerido, uma vez que de uma forma geral, o pescado é um dos alimentos mais propensos ao desenvolvimento de reações de maior severidade, assim como o facto deste tipo de proteínas alérgicas serem degradadas de forma lenta e por vezes de forma ineficaz, tornando assim o seu tempo de contacto com o organismo superior.

No entanto, os sujeitos podem sofrer sensibilização alérgica aos alérgenos sem manifestarem sintomas clínicos de uma reação deste tipo. Assim, a sensibilização por si só, não é suficiente para definir uma alergia. A alergia mediada por IgE necessita de ambas, quer da presença de uma sensibilização, quer do desenvolvimento dos sinais específicos e sintomas de exposição ao alimento (Boyce, et al., 2010).

Isto é, um individuo que tem uma alergia específica ao pescado, faz uma reação de hipersensibilidade mediada por anticorpos ou células. Já um individuo que sofreu uma intoxicação por histamina, apenas fez uma reação fisiológica a essa ingestão, no entanto estas são muito semelhantes do ponto de vista fisiológico e sintomatológico.

1.4.2. Diagnóstico Clínico

Existem várias formas de diagnóstico de alergia alimentar, no entanto muitas vezes é necessário um conjunto de técnicas médicas para que haja um diagnóstico concreto da doença.

Inicialmente é necessário atender aos relatos individuais de alergia para que posteriormente seja possível encaminhar o meio de diagnóstico. Primeiramente é comum começar por se fazer um relato da história clínica do paciente.

Relativamente à descrição do historial clínico, é importante compreender na investigação todos os alimentos suspeitos e a forma de preparação dos mesmos, nomeadamente a forma de confeção, a adição de especiarias e/ou outros ingredientes, uma vez que podem desenvolver a inibição do fator alérgico ou pelo contrário agirem como potencializadores. O registo do aparecimento de sintomas, a duração e severidade dos mesmos, bem como a sua reprodutibilidade, no caso de haver exposição periódica, deve ser também avaliada. Não obstante é, também, fundamental inquirir o doente acerca de outros fatores que possam potenciar a reação alérgica como a prática de exercício físico, como já foi referido anteriormente, antes e depois do consumo do mesmo, ou a sua interferência com o consumo de álcool (Waserman et al., 2011).

Em termos gerais, este historial é comum de ser realizado no caso de reações mediadas por IgE, uma vez que os sintomas ocorrem logo após a ingestão do alimento e afetam um grande número de órgãos, tornando-se potencialmente fatal (Cianferoni et al., 2009). É por isso fundamental, enquanto passo inicial, para o entendimento da mesma, a identificação do mecanismo de ação para o desenvolvimento da alergia.

Neste contexto, existem vários testes a serem realizados, como os testes cutâneos *in vivo* “Skin Prick Test”, testes imunoenzimáticos *in vitro* como o “ImmunoCAP, RAST/EAST” ou o “ELISA” em que o soro/plasma do paciente é estudado de forma a averiguar se contém IgE específica para os diferentes tipos de alérgeno em teste (Waserman et al., 2011).

Por fim, caso ainda existam dúvidas no diagnóstico, são então realizados testes DBPCFC (*double-blind placebo-controlled food challenge*), o chamado “gold standard”. Estes testes são realizados em contexto hospitalar, sendo o seu principal objetivo, reproduzir os sintomas que são

Precusores de Aminos Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade desencadeados durante a exposição natural ao alimento. Todo o controlo durante a exposição é realizado em ambiente hospitalar, onde são avaliadas todas as reações ocorridas (Osterballe et al., 2005). Assim, a técnica mais confiável para confirmação do diagnóstico de alergia alimentar, é a referida anteriormente mesmo sendo um procedimento demorado e complexo de prova alimentar (Eggesbo et al., 1999).

Os marcadores serológicos, são outra forma de avaliação e diagnóstico, sendo realizados através da quantificação de histamina libertada por basófilos, a determinação dos níveis dos anticorpos séricos específicos IgG e IgG4 e outros resultados bioquímicos específicos (Cianferoni et al., 2009).

1.5. Principais vias de desenvolvimento para uma reação adversa ao pescado

Ao longo deste estudo serão entendidas as características das diferentes proteínas que causam as principais reações adversas, em pacientes com este tipo de patologia, assim como a influência da qualidade microbiológica dos alimentos no desenvolvimento de aminos biogénicas que são igualmente um importante veículo para o desencadeamento de reações adversas, que devido aos valores de histamina que geram no organismo se equiparam nas suas características sintomatológicas a uma reação alérgica.

Dentro das moléculas indutoras de hipersensibilidade, as isoformas de tropomiosina e parvalbumina são consideradas as principais proteínas causadoras de alergia alimentar associadas ao consumo de crustáceos e peixe (Ruethers et al., 2018).

Desta forma, as reações adversas podem ser provocadas por proteínas naturalmente presentes nos diversos tipos de pescado, como também, por substâncias contaminantes como é o caso das aminos biogénicas, de algumas toxinas e de parasitas (Mattos et al., 2013).

1.5.1. Proteínas

1.5.1.1. Parvalbumina

O primeiro alérgeno de peixe purificado a ser caracterizado foi Gad c 1, uma parvalbumina de bacalhau, sendo que o primeiro relato de descoberta da presença desta proteína foi no Báltico (*Gadus Callarias*). Este alérgeno foi pela primeira vez caracterizado como “alérgeno M” e só posteriormente como Gad c 1. Mais de 95% dos pacientes alérgicos a peixe fizeram uma reação

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade
IgE específica a esta proteína, sendo por isso a proteína com maior destaque e com maior quantidade de referências relativas à alergia alimentar a peixe e, conseqüentemente, com maior ênfase, quando se quer pensa em elaborar um diagnóstico. É também frequentemente considerada como um pan-alérgico, querendo com isto dizer que é responsável pela reatividade cruzada entre várias espécies de peixes entre os indivíduos alérgicos (Lee et al., 2012).

A parvalbumina é uma proteína sarcoplasmática de ligação ao cálcio, e por isso uma proteína que desempenha um papel importante no relaxamento nas fibras musculares de contração rápida. Tem baixo peso molecular aproximadamente, 10 a 13 kDa, contendo 108-109 resíduos de aminoácidos. É também solúvel em água, resistente ao tratamento térmico e à digestão enzimática (Houhoula et al., 2015).

Está presente em quantidades relativamente elevadas nos músculos dos vertebrados inferiores, como nos peixes, tendo por isso maior prevalência neste tipo de pescado que em crustáceos. Nos peixes, o músculo branco contém geralmente maior quantidade de parvalbumina que o músculo escuro, tornando estes últimos menos propensos ao desenvolvimento de quadros alérgicos.

A parvalbumina, também, revelou ligação variável com três anticorpos - IgG, anti-parvalbumina e extratos brutos de diferentes espécies de peixes - indicando uma variação no conteúdo da mesma entre os tecidos musculares de diferentes espécies de peixes. No entanto, apesar de nenhum estudo ter avaliado especificamente estas alterações, pode pensar-se que a variação do conteúdo de parvalbumina nos músculos dos peixes também possa ser atribuída à desnaturação da parvalbumina durante o armazenamento a temperaturas negativas muito elevadas (Lee et al., 2012).

1.5.1.2. Tropomiosina

A tropomiosina tem assumido um perfil alérgico com crescente relevância nos estudos realizados, tendo vindo a ser reportada em quadros alérgicos após o consumo de crustáceos, assumindo grande prevalência em indivíduos por todo o mundo, induzindo-os a reações de hipersensibilidade grave, incluindo reações anafiláticas.

Esta proteína é constituída por duas cadeias alfa-helicoidal paralelas polipeptídicas enroladas em forma de hélice, que estão ligadas à actina durante o processo de contração muscular em vertebrados e invertebrados (Silva et al., 2020).

Esta é um grupo de proteínas presente em todas as células eucariotas que contêm diferentes isoformas no músculo (esquelético, cardíaco e liso), no cérebro, fibroblastos, plaquetas e muitas outras células não musculares (Reese et al., 1999).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), esta proteína é frequentemente indicada como reativa alérgicamente em alimentos como caranguejo, camarão, ostra, lagosta e, até mesmo, em salmão do Atlântico tendo sido identificada em pelo menos dez tipos diferentes de crustáceos e em seis tipos de moluscos (Silva, 2015).

Nos invertebrados, as tropomiosinas são proteínas com um peso molecular de 34-41 kDa, que possuem uma acentuada homologia nas suas sequências de aminoácidos, existindo, no entanto, estudos que indicam que as tropomiosinas dos vertebrados não provocam alergias (Silva, 2015).

Resultados de estudos descrevem a tropomiosina, como uma proteína termosensível, sendo reportada uma redução até 60% da reação alérgica, quando o alimento é confeccionado e consequentemente é desencadeada a *Reação de Maillard*. Esta reação química não enzimática entre proteínas e açúcares, provoca uma redução do açúcar, interagindo com o grupo amino do resíduo de lisina na proteína, resultando assim numa perda de resíduos deste aminoácido disponível. Por este motivo, assume-se a sua probabilidade de alteração na estrutura e, consequente, potencial alérgico das proteínas (Fu et al., 2019).

De acrescentar que existe também uma relação da reatividade cruzada entre ácaros, nematoides e crustáceos que tem sido atribuída à molécula de tropomiosina (Reese et al., 1999).

1.5.2. Aminas Biogénicas

Mais do que qualquer outro produto alimentar, os produtos da pesca são frequentemente associados a intoxicações por aminas biogénicas.

As aminas biogénicas fazem parte do grupo de compostos minoritários não nutritivos existentes nos alimentos, que podem ter uma ação prejudicial relevante para a saúde do consumidor (Gouveia, 2009). Estas são aminas não voláteis formadas através da descarboxilação dos aminoácidos, e da aminação ou transaminação de cetonas e aldeídos com a coação de microrganismos bacterianos (Durak-Dados et al., 2020). Muitas destas aminas são encontradas no pescado, sendo que as que assumem importância especial para a segurança alimentar deste grupo alimentar e consequentemente do estudo em questão são: a histamina, a putrescina e a cadaverina (Al Bulushi et al., 2009).

Normalmente este tipo de aminas são inexistentes ou encontram-se em quantidades muito reduzidas (< 10 ppm) em alimentos frescos no geral; contudo em alimentos como pescado, produtos derivados da pesca, carne, ovos e alimentos fermentados, estas podem representar-se em concentrações significativas (> 50 ppm) uma vez que este tipo de alimentos é altamente perecível. Quando associadas à ingestão de pescado (principalmente tunídeos e sardas), são capazes de induzir uma intoxicação química também conhecida historicamente por envenenamento *scombrídeo* (Flick et al., 2005).

As aminas biogénicas estão divididas em três grupos estruturais: o alifático, como é o caso da espermidina, espermina, cadaverina e putrescina, o aromático, como é o caso da tiramina e o heterocíclico, como é o caso da histamina e a triptamina (Durak-Dados et al., 2020).

As aminas alifáticas são compostos que compõem as células vivas e contribuem para o seu natural funcionamento. Por esse motivo podem ser originadas através de biossíntese endógena dos microrganismos naturalmente presentes no intestino. As aminas aromáticas pertencem à classe de neurotransmissores denominados de catecolaminas, como por exemplo a dopamina. As aminas heterocíclicas são as encontradas em grandes quantidades na mucosa intestinal, no músculo, pele, fígado, pulmão e leucócitos (Durak-Dados et al., 2020).

Embora alguns alimentos sejam naturalmente ricos em aminoácidos livres, o seu teor aumenta após o seu abate, uma vez que nesse momento é libertada uma quantidade de enzimas proteolíticas naturalmente presentes no trato intestinal, que quando combinadas com um rápido processo autolítico, geram este aumento.

Outra relação identificada com as aminas biogénicas, é o desenvolvimento de nitrosaminas (que são altamente carcinogénicas), que se forma aquando da intoxicação por histamina. Esta relação surge da reação entre aminas secundárias como a dimetilamina (DMA) e terciárias como a trimetilamina (TMA) e o nitrito, sob certas condições. Outro dos motivos para a sua formação está associado à salga do peixe - quando o sal é adicionado diretamente ao peixe como forma de conservação quando os nitritos naturalmente presentes no sódio entram em contacto com alguns microrganismos da família das *Enterobacteriaceae* como é o caso da *E. Coli*, *Klebsiella pneumoniae* ou *Proteus vulgaris*, e geram a redução do nitrito em nitrato, formando nitrosaminas (Al Bulushi et al., 2009).

Apesar da putrescina, da cadaverina, da espermina e da espermidina não terem efeitos adversos significativos/comprovados, estas, para além de potenciarem os efeitos da histamina, podem reagir com nitritos para formar nitrosaminas carcinogénicas (Önal, 2007).

A constatação de que as aminas biogénicas desempenham um papel importante em vários processos metabólicos e fisiológicos, tem vindo a fomentar interesse em diversas áreas científicas

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade (Gouveia, 2013), uma vez que quando presentes em quantidades elevadas nos alimentos, para além de desencadarem uma série de reações adversas pelo seu potencial toxicológico, podem também conferir características organoléticas que afetam os alimentos.

Ao nível celular, estas têm um forte impacto na sintetização de proteínas, hormonas e alcaloides, sendo que afetam a replicação de ADN nas membranas. Estão também envolvidas na regulação da temperatura do corpo, pressão sanguínea e atividade cerebral, sendo este o motivo pelo qual, quando existem valores desregulares, a sua intoxicação influenciar negativamente vários órgãos do corpo (Durak-Dados et al., 2020).

A variante microbiológica assume também um papel fundamental para o surgimento deste tipo de aminas, uma vez que a formação destas vai depender de vários fatores microbiológicos que desencadeiam a descarboxilação microbiana dos aminoácidos precusores. A sua produção está ligada à estratégia de sobrevivência dos microrganismos aos ambientes ácidos, ou por outro lado, como um suplemento alternativo de energia metabólica, quando as células estão expostas a condições desfavoráveis de substrato (Gouveia, 2013). Desta forma, o processo de descarboxilação quando dependente da atividade bacteriana pode ser bastante rápido, indicando também a presença de um elevado número de aminas (Durak-Dados et al., 2020). No entanto, este desenvolvimento também poderá ter origem endógena, isto é, resultando de processos metabólicos intracelulares.

Por este motivo, existe também a possibilidade de estas surgirem através da contaminação bacteriana ou viral associada à contaminação de águas onde este tipo de pescado habita. Os principais microrganismos associados a este tipo de contaminação são o *Vibrio*, *Vibrio Cholerae*, *Vibrio Vulnificus*, *Listeria M.* e a *Salmonella*. (Ruethers et al, 2018).

Já vários foram os microrganismos que demonstraram ser precusores de produção de histamina e de outras aminas, podendo destacar como sendo os principais: *Enterobacteriaceae spp.*, *Clostridium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Morganella spp.*, *Proteus morganii*, *Proteus spp.*, *Hafnia alvei* e *Klebsiella spp* (Flick et al., 2005).

Uma das formas de estagnar o desenvolvimento deste tipo de aminas e reduzir os quadros de intoxicação, é utilizar métodos de conservação eficazes, como são: a adição de aditivos, radiação, pasteurização, defumação e manutenção das temperaturas de armazenamento e manuseamento (Doeun et al., 2017).

As aminas biogénicas são muito resistentes ao calor sendo que são capazes de resistir mesmo que os produtos sofram um processo de confeção, estejam sob a forma de conserva, ou sofram qualquer outro tipo de processamento (Nahal et al., 2005).

A temperatura é um importante fator de influência no desenvolvimento de aminas, uma vez que microrganismos como a *Morganella morgani* produzem histamina quando encontrados a temperaturas ideais de 25°C, assim como outros microrganismos mesófilos produzem aminas a temperaturas entre os 20°C e os 37°C (Doeun et al., 2017).

A enzima envolvida na produção de histamina, a histidina descarboxilase, requer temperaturas acima dos 15°C, com uma temperatura ótima de atuação de 30°C para que seja eficaz na sua ação, embora o crescimento bacteriano seja inibido a temperaturas entre 0 e 5°C, a atividade enzimática não cessa, continuando assim a formação de aminas (Brinker et al., 2022).

Com isto, a correta manutenção da cadeia de frios é decisiva para o controlo da produção de aminas, sendo que quanto mais baixas forem estas temperaturas, maior será o controlo da proliferação microbiana (Durak-Dados, 2020).

Com o congelamento, o aumento de aminas biogénicas é mínimo para a maioria dos casos. Em ensaios experimentais realizados, permitiu-se demonstrar que quando o pescado é descongelado, o aumento de aminas biogénicas é menor, quando comparado com o pescado fresco mantido sob condições de temperatura idênticas, durante o mesmo período. Este facto poderá ser explicado pela redução da microflora durante o processo de congelação (Flick et al., 2005).

Outra forma eficaz de evitar a produção de aminas, como a histamina, é através da adição de sal, uma vez que este tem efeito inibitório na descarboxilação da histidina e, conseqüentemente, a quantidade de A_w representa também um fator importante nesta avaliação. No entanto, em casos que em haja microrganismos resistentes a elevados níveis de sal, a produção de histamina pode ser superior à normal, sendo que existem também casos em que conteúdo de histamina também aumentou durante o período em que os peixes foram armazenados de forma adequada. Isto sugere que uma vez produzida, a histamina dificilmente será destruída, existindo sempre um potencial aumento da mesma, o que explica a existência de vários preparados de peixe com valores elevados de histamina (Durak-Dados et al., 2020).

Em suma, e de acordo com os diferentes estudos é possível dizer que diferentes métodos de confeção ou preparação dos alimentos podem prevenir a produção das aminas, mas após o seu desenvolvimento, é muito difícil de destruí-la.

1.5.2.1. Histamina, Putrescina e Cadaverina

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

A histamina é produzida através da descarboxilação da histidina, a cadaverina da lisina e a putrescina da ornitina ou arginina. É possível também afirmar que a putrescina e a cadaverina, potencializam a toxicidade da histamina (Al Bulushi et al., 2009).

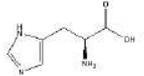
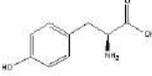
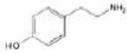
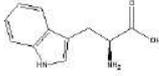
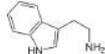
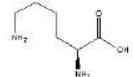
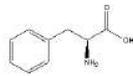
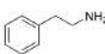
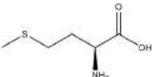
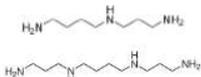
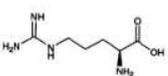
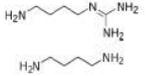
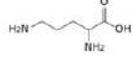
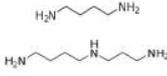
Aminoácidos precursores		Aminas biogénicas	
	Histidina	Histamina	
	Tirosina	Tiramina	
	Triptofano	Triptamina	
	Lisina	Cadaverina	
	Fenilalanina	Feniletamina	
	Metionina	Espermidina/ Espermina	
	Arginina	Agmatina/ Putrescina	
	Ornitina	Putrescina/ Espermidina	

Figura 2 - Aminoácidos precursores e aminas biogénicas formadas nos alimentos.

Fonte: Gouveia, 2009

As espécies que possuem maior teor de histidina livre, têm maior propensão a desenvolver teores tóxicos de histamina e possíveis intoxicações. É conhecida a sensibilidade por parte de todos os indivíduos à histamina, existindo casos de reações mais severas a esta amina que podem desencadear processos alérgicos, respiratórios e, até mesmo, cardíacos graves (Ferreira, 2012). No entanto, é possível afirmar que este contacto pode ser negligenciado caso seja em pequenas doses, uma vez que em pequenas quantidades é inofensivo.

Os produtores mais proeminentes de histamina são a *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Hafnia alvei*, sendo por isso indicadores bastante relevantes no controlo microbiológico dos produtos de pesca (Gouveia, 2009). A temperatura ótima para o desenvolvimento deste tipo de microrganismos é 10°C. A 5°C a sua proliferação é retardada e a temperaturas inferiores a 5°C ficam impedidas de produzir descarboxilase (Huss, 1997).

Constatou-se, também, que os peixes de carne vermelha, como é o caso dos tunídeos, produzem maiores quantidades de histamina, assim como outras aminas (Flick et al., 2005). Este facto é atribuído às elevadas concentrações de histidina presentes nos peixes de carne vermelha, passíveis de serem convertidas em histamina. Nos tunídeos, as *Enterobacteriaceae spp.* são as principais responsáveis pela sua degradação e formação de histamina (Gouveia, 2009), e a histidina pode atingir valores superiores a 15 g de histidina/kg de músculo (Shalaby, 1996)

Estudos realizados evidenciaram também a importância de microrganismos como *Photobacterium phosphoreum* na produção de histamina a baixas temperaturas em tunídeos, sendo igualmente o *Staphylococcus spp.*, o *Vibrio spp.* e a *Pseudomonas spp.* identificadas como bactérias produtoras de histamina em pescado fermentado (Morii et al., 1986).

De forma geral, a quantidade de bactérias presente no pescado armazenado depende da contaminação inicial da matéria-prima, assim como da temperatura e período de armazenamento (Kordiovská et al., 2009).

A histamina quando se apresenta isolada de outras aminas, não apresenta grande risco de intoxicação uma vez que esta é possível de ser metabolizada num sistema digestivo saudável através das enzimas aminas-oxidase como a *monamine oxidase* (MAO), a *diamine oxidase* (DAO) e a *histamine N-methyltransferase* (HNMT) (Doeu net al., 2017). No entanto, em pessoas que apresentem um quadro de alergia alimentar, que possuam algum tipo de inibidor deste tipo de enzimas ou que tenham consumido uma larga quantidade deste tipo de amina, existe um grande risco de intoxicação devido à acumulação desta no organismo (Durak-Dados et al., 2020).

Existe uma relação na propensão da toxicidade, quando existem outras aminas como a cadaverina e a putrescina que inibem a metabolização por parte destas enzimas, sendo por isso que estas duas aminas são consideradas potencializadoras da toxicidade da histamina (Al Bulushi et al., 2009). Vários estudos sobre a variação de aminas biogénicas e microrganismos produtores, ao longo do tempo e com diversas temperaturas de conservação, mostraram a existência de uma relação direta entre a cadaverina e a putrescina, e a quantidade de microrganismos presentes, o que as torna também bons indicadores de qualidade do pescado (Kordiovská et al., 2009).

Ao envenenamento por elevados níveis de histamina, dá-se o nome de *Scombroid poisoning*, visto que este composto é predominantemente produzido em espécies da família *Scombroidae*, como é o caso do atum, a cavala e a sardinha, espécies que apresentam uma natural produção de histidina livre (Al Bulushi et al., 2009). Não só a histamina é comumente detetada neste tipo de peixe, mas também a putrescina e a cadaverina que estão comprovadamente relacionadas ao processo de deterioração do peixe e dos restantes produtos de pesca (Durak-Dados et al., 2020).

A histamina é a única amina biogénica submetida a regulamentação decretada pela União Europeia não existindo qualquer outra referência padrão para os restantes compostos aminados. Atualmente, a legislação em vigor (Regulamento (CE) N.º 2073/2005 (CE 2007) e as suas conseqüentes atualizações), estabelece um limite máximo para a concentração de histamina, apenas para produtos provenientes da pesca. Desta forma, está definido no ponto 1.26 do Anexo 1 deste regulamento, que o valor máximo é de 200 mg/Kg e no ponto 1.27, e que o valor máximo é de 400 mg/Kg para peixes submetidos a um tratamento de Salmoura.

A produção de cadaverina e putrescina durante o processo de deterioração do pescado é intensificada devido a percursos como enzimas bacterianas, que em alguns casos não estão envolvidas no processo de descarboxilação da histidina. Apesar de existir um aumento significativo de ambas, no estudo feito por Lehane et Olley, para a cadaverina foram encontrados teores entre 100 e 600 mg/kg, ao passo que para a putrescina os valores mantinham-se inferiores a 100 mg/kg (Lehane et al., 2000). Este tipo de envenenamento parece-se com um quadro clínico semelhante ao da alergia e ocorre por norma com o consumo de peixe que foi mal refrigerado e mal-acondicionado após a sua captura. Pode também ser facilmente confundido com um quadro de intoxicação alimentar.

As bactérias naturalmente presentes no peixe convertem o aminoácido histidina em histamina que é um dos maiores mediadores das reações alérgicas e por norma as bactérias responsáveis por este tipo de transformação são as *Enterobacteriaceae*. Estes tipos de bactérias podem existir naturalmente nos produtos alimentares ou podem ser propositadamente adicionadas na produção ou armazenamento dos mesmos (Durak-Dados et al., 2020). Por outro lado, existem também referências que indicam que algumas bactérias psicotrópicas como é o caso das *Pseudomonas putida* têm a capacidade de hidrolisar a histamina a temperaturas baixas (Al Bulushi et al., 2009).

O peixe e os seus derivados são descritos como sendo os alimentos que apresentam maiores níveis de aminas biogénicas, isto deve-se também ao facto de serem alimentos que possuem grandes quantidades de histidina livre (Durak-Dados et al., 2020). São comumente encontradas grandes quantidades de histamina em produtos processados de peixe como é o caso do molho de peixe, pasta de peixe, pasta de camarão, anchovas fermentadas, peixe seco e peixe curado (Doeu et al., 2017).

2. METODOLOGIA

Como forma de fundamentar os objetivos propostos e testar as hipóteses experimentais formuladas nas questões iniciais, realizou-se um estudo populacional através de um questionário distribuído online e, paralelamente a este, um estudo laboratorial que foi realizado em duas fases.

2.1. Estudo Populacional

O questionário aplicado nesta investigação está vocacionado para o entendimento da caracterização sociodemográfica dos respondentes, com o objetivo de contextualizar o estado da arte deste tema na população portuguesa. O cálculo da amostra determinado pelo aplicativo *Sample Size Calculator*, permitiu verificar que para a população nacional de 10 milhões de habitantes e para que haja um nível de confiança de 95% e uma margem de erro de 4,12% deveria ser assumida uma amostra de 560 indivíduos a inquirir.

O questionário foi desenvolvido na plataforma *Google Forms*, dividido por 23 perguntas, e divulgado pelas listas de emails de diferentes instituições públicas e privadas, da educação, ciência e saúde, difundido em método de bola de neve (Anexo 3).

Toda a construção do questionário teve como orientação o suporte bibliográfico já existente, havendo algumas técnicas não documentais que advém de observação direta. As questões foram construídas recorrendo a linguagem simples, direta e acessível, para que houvesse um entendimento por parte de todos os inquiridos e, por esse mesmo motivo, foram sempre realizadas perguntas de resposta fechada.

O questionário está dividido em cinco partes que introduzem ao estudo as temáticas mais relevantes para a caracterização deste tipo de patologia na sociedade portuguesa.

As seis primeiras questões realizadas visaram caracterizar socio-demograficamente a amostra inquirida, sendo que nenhum inquirido tem menos de 18 anos. Foi questionado o género, a idade, o peso, a altura, o nível de escolaridade e concelho de residência. As questões foram feitas como forma de cruzar os resultados obtidos relativamente ao género e idade, assim como, quando questionada a área de residência, interligá-la ao nível de acessibilidade aos vários tipos de pescado. A questão referente à escolaridade, teve como objetivo avaliar o grau de entendimento das questões feitas e do fundamento na sua realização.

De seguida foram inseridas duas questões, uma delas como forma de entender se os inquiridos têm algum tipo de doença respiratória e, se sim, qual a patologia clínica associada, uma vez que em diversas referências bibliográficas foi possível entender que existe uma grande relação

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade entre o desenvolvimento de alergia alimentar as e as doenças do foro respiratório Untersmayr et al., 2008).

A pergunta seguinte pretende fazer a introdução ao tema da alergia alimentar, sendo por isso uma pergunta que pretende avaliar o conhecimento do inquirido relativamente à diferenciação entre alergia alimentar, intolerância alimentar e sensibilidade alimentar. Esta é uma questão bastante pertinente e importante, uma vez que irá credibilizar todas as respostas seguintes. Um inquirido que não tem a perceção real desta diferença, pode vir a manipular os resultados seguintes, uma vez que as restantes questões fazem referência especificamente à alergia alimentar. Apesar de não ser possível saber quem respondeu, é possível fazer uma análise de dados mais concreta sabendo, qual o impacto desta questão no restante questionário.

No segmento seguinte do inquérito, foram feitas várias questões relacionadas à alergia, onde após ser questionado quais as alergias diagnosticadas, foi dado um maior enfoque à alergia alimentar aos produtos de mar, base desta investigação. Foi averiguado qual/quais o/os tipo/tipos de peixe e marisco e a respetiva espécie a que o inquirido é alérgico e quais os sintomas/manifestações clínicas desencadeadas.

Relativamente ao diagnóstico, foi inquirido quando haverá sido o primeiro contacto com o alimento alérgico, se é seguido por um profissional de saúde e qual a especialidade clínica do profissional. Questiona-se ainda se o diagnóstico foi feito laboratorialmente ou através de outra técnica de diagnóstico.

2.2. Estudo Laboratorial

2.2.1 Plano de Amostragem

As amostras utilizadas durante todo o processo de investigação tiveram origens de recolha distintas, tal como em baixo descrito.

Para o estudo de avaliação da qualidade microbiológica de pratos compostos de peixe, foram então utilizados bases de dados de amostras recolhidas nos planos de amostragem do INSA para controlo microbiológico, no período experimental de 2016-2018 em diversas instituições públicas e privadas, creches, ensino universitário e básico, hospitais, restaurantes, lares e centros de dia.

Esta base de dados, continha resultados de 971 amostras prontas a consumir. A recolha dos alimentos e sua diferenciação foi realizada segundo os diferentes grupos descritos no guia “Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar - Valores Guia INSA” tendo sido da responsabilidade do laboratório. Das diferentes amostras prontas a comer recolhidas, foram selecionadas e filtradas apenas aquelas que continham peixe e/ou marisco na sua composição (Anexo 1).

Posteriormente a esta filtragem as amostras foram novamente organizadas através dos seguintes grupos: “Grupo 1 – Alimentos que sofreram tratamento térmico; Grupo 2 – Alimentos compostos de alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de componentes crus, ou carne, ou peixe crus, prontos para consumo, existindo dentro de cada grupo, subgrupos mais específicos” (Valores Guia Refª 2019 – Anexo 1).

Foi estabelecido um segundo plano amostral para determinação simultânea do controlo microbiológico e quantificação das aminas biogénicas relativas a pescado não confeccionado (peixe/marisco fresco), peixe em conserva e peixe semi-confeccionado que tiveram diferentes vias de recolha: recolhido em loja, superfícies comerciais, mercados e restaurantes, e ainda, peixe enlatado, adquirido em grandes superfícies comerciais. Todas as amostras foram recolhidas na região da Grande Lisboa.

Neste segundo grupo, foram recolhidas:

- 6 amostras de peixe fresco - F1, F2, F3, Z3, Z5, Z7 – em diversos locais e em semanas diferentes;
- 10 amostras de peixe em conserva - C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, Z8, Z9 – de várias marcas vendidas em território nacional;
- 2 amostras de camarão de aquacultura sendo que a amostra C10 é relativa a camarão cru e a C11 a camarão congelado;
- e, por fim, 3 amostras referentes a peixe cru marinado de diferentes formas em processos de acidez, e pronto a consumir – Z1, Z2 e Z4.

A tabela 2 resume as características principais das amostras referidas.

Tabela 2 - Amostras de peixe recolhidas em superfícies comerciais na região de Lisboa

Espécie de Peixe	Tratamento	Sigla	Origem / Produção	Ingredientes
Atum	Fresco/Cru	F1	Atlântico Centro	
		F2	Atlântico Nordeste	

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

		F3	Atlântico Centro	
Conserva		C1	Produzido em Portugal	Atum (70%), Água (29%) e sal (1%).
		C2	Produzido em Portugal	Atum (70%), água e sal
		C3	Produzido em Portugal, Açores	Atum (70%), água e sal
		C4	Produzido em Espanha	Atum (70%), água e sal
		C5	Produzido em Espanha	Atum (70%), água e sal
		C6	Produzido em Portugal	Atum (70%), água (29%) e sal (1%)
		C7	Produzido em Portugal	Atum (70%), água e sal
		C8	Produzido em Portugal	Atum (70%), água (29%) e sal (1%)
		C9	Produzido em Portugal	Atum (70%), água e sal
	Camarão de aquacultura	Cru	C10	Proveniente do Vietnam
Cozido		C11	Proveniente do Vietnam	
Ceviche de Carapau		Z1	Proveniente da Costa Portuguesa	Carapau, sumo lima, sumo laranja, molho de soja, sal, pimenta, cebola roxa
Ceviche de Garoupa		Z2	Proveniente da Costa Portuguesa	Garoupa, sumo lima, sumo laranja, molho de soja, sal, pimenta, cebola roxa
Cavala	Crua	Z3	Proveniente da Costa Portuguesa	
	Conserva	Z9	Produzido em Portugal	Cavala do Sul (70,8%), óleo de girassol e sal
Sardinha	Crua	Z5	Proveniente da Costa Portuguesa	
	Conserva	Z8	Produzido em Portugal	Sardinha (70%), azeite e sal
Salmão Cru		Z7	Atlântico Centro	
Tártaro de Atum		Z4	Pacífico	Atum, molho de soja, sal, pimenta, azeite, sementes de sésamo

Fonte: Elaboração própria

Para a quantificação do perfil em aminoácidos, as amostras foram recolhidas de acordo com o protocolo estabelecido para o primeiro estudo piloto português “TDS Exposure”, tal como descrito em (Motta et al., 2020). Para todas as espécies de peixe foram recolhidas 12 amostras, exceto para as sardinhas e cavalas onde foram recolhidas um total de 48 amostras, correspondentes às 12 amostras multiplicadas por 4 (referentes às 4 estações do ano), avaliando assim a constituição de aminoácidos nas várias épocas sazonais do ano (Elsa 2021), avaliando assim os impactos da sazonalidade na qualidade e constituição de aminoácidos dos respetivos peixes.

Das amostras recolhidas no estudo anterior, foram selecionadas para análise neste trabalho as 156 amostras das famílias a baixo apresentadas.

Tabela 3 - Amostras recolhidas para análise de teor de aminoácidos.

Amostra	Grupo Alimentar	Nomenclatura em Inglês
---------	-----------------	------------------------

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Bacalhau fresco	Lean fish	Cod, atlantic
Carapau	Lean fish	Horse mackerel
Cavala	Fat fish	Mackerel, shub
Sardinha	Fat fish	European Sardine
Atum fresco	Fat fish	Tuna
Camarão	Crustaceans	Marine shrimps or prawns, cooked
Bacalhau Salgado	Lean fish	Cod, dried
Atum de conserva	Fat fish	Canned fish in oil

Fonte: Motta et all (2020)

2.2.2 Preparação das Amostras

Todas as amostras foram manipuladas em câmara de fluxo laminar com recurso a bisturis estéreis. No caso das amostras de peixe fresco, a pele, as escamas e as estruturas espinhosas foram separadas e removidas do músculo do peixe, e foram posteriormente descartadas para o contentor de eliminação de resíduos.

Relativamente às amostras de conserva, estas foram primeiramente submetidas a um processo de higienização das latas antes da sua abertura, por lavagem em água corrente, com principal insistência na zona de abertura e em redor da anilha, com posterior secagem. Após este processo inicial de limpeza das latas, estas foram flamejadas e passadas com algodão embebido em álcool 70% (v/v). As conservas foram abertas em câmara de fluxo laminar, retirando-se cuidadosamente todo o conteúdo das embalagens metálicas, com o auxílio de uma colher de plástico estéril, para um saco de recolha de amostra igualmente estéril.

As amostras de camarão foram primeiramente descongeladas sob refrigeração a uma temperatura de $3 \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 24h. Após a sua descongelação, removeu-se meticolosamente a cabeça e o restante revestimento de quitina do camarão, restando apenas para análise o músculo. Este processo de manipulação foi também efetuado em câmara de fluxo laminar.

Após este processo, todas as amostras foram sujeitas a homogeneização e posteriormente analisadas.

No momento da recolha das amostras, foram tidas em atenção algumas regras de recolha e manipulação, para que não existisse possibilidade de contaminação e contacto com microrganismos externos. Assim como no momento da recolha, o transporte foi também realizado em ambiente controlado e no menor tempo possível, para evitar a degradação dos alimentos. Após chegada ao laboratório, as amostras foram conservadas entre os $3^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Estas condições de transporte e armazenamento das amostras são as preconizadas pela norma ISO 7218.

No que diz respeito, à preparação de amostras para teste - suspensão inicial e diluições decimais para exames microbiológicos - esta foi executada segundo a norma ISO 6887-3:2017.

As amostras após a sua preparação inicial foram usadas para posterior análise microbiológica e congeladas para posterior pesquisa de aminas biogénicas.

2.3. Análise Microbiológica

A análise microbiológica foi efetuada com a finalidade de encontrar uma possível relação entre os microrganismos presentes e a produção de aminas biogénicas. Foram analisados parâmetros indicadores da qualidade higiénica e também a deteção de microrganismos patogénicos. Utilizaram-se diferentes metodologias:

- Contagens de aeróbios mesófilos, de *Enterobacteriaceae*, de *E. coli*, de Estafilococos coagulase positiva e de *Bacillus cereus* onde foi seguida a metodologia TEMPO®
- Contagem de *Clostridium perfringens* e de *Listeria monocytogenes* segundo as normas ISO 7937 e 11290-2 respetivamente.
- Deteção de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* foi seguida a metodologia VIDAS®

2.3.1. Material e Métodos

Material e Reagentes/Meios de cultura:

Para a realização das análises microbiológicas foram utilizados os equipamentos, materiais, reagentes e meios de cultura listados na tabela apresentada em baixo (Tabela 4).

Tabela 4 - Lista de equipamentos, material, reagentes e meios de cultura utilizados

Reagentes/Meios de Cultura	Equipamentos	Material
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Buffered Peptone Water</i> (BPW) (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • Caldo 1/2 <i>Fraser</i> (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • Caldo <i>Fraser</i> (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • Caldo Sx2 (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • Triptona salina (Biokar, Beauvais, França); • TSC (Biokar, Beauvais, França) • Compass <i>Listeria</i>-ALOA, (Biokar, Beauvais, França) • TEMPO AC, EB, EC, BC e STA (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • VIDAS <i>Salmonella</i> (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • VIDAS LMO2 (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França). 	<ul style="list-style-type: none"> • Diluidor automático com balança, Dilumat Start (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • Homogeneizador de amostras Stomacher® 400 circulator (Seward Limited, Londres, RU); • Agitador orbital VXR Basic (Ika®, Königswinte, Alemanha); • Banho-maria (Memmert, Schwabach, Alemanha); • Vidas® (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • Estufa a 41,5 °C (Panasonic, Gunma Japan); • Estufa a 35 °C (Memmert, Schwabach, Alemanha); • Estufa a 30 °C (Sanyo Electric Biomedical, Japan); • Estufa a 37 °C (Sanyo Electric Biomedical, Japan); • Agitador de tubos vórtex (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA); • Bloco de Aquecimento Heat and Go (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • TEMPO® (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França). 	<ul style="list-style-type: none"> • Sacos para homogeneização com filtro (bioMérieux® SA, Marcy l'Étoile, França); • Colheres estereis; • Bisturis • Pipetas • Espalhadores

Fonte: Elaboração Própria

2.3.2. Procedimento Analítico

Para dar início ao processamento laboratorial das amostras, pesam-se 27g de amostra e efetua-se uma diluição 10^{-1} com água peptonada tamponada para a pesquisa de *Salmonella spp.* e restantes contagens (AC, EB, EC, STA). Para a pesquisa de *Listeria monocytogenes* efetua-se uma diluição 10^{-1} de 25g de amostra para 225 ml de Caldo Fraser 1/2. Recorreu-se ao *Stomacher*, para homogeneizar a diluição durante 60 segundos.

É a partir destas duas diluições iniciais, que são feitas as diluições decimais que serão inoculadas nos meios de cultura dos diferentes métodos utilizados no laboratório.

Metodologia Convencional

Os métodos convencionais foram os primeiros a ser usados nos laboratórios de microbiologia, estes baseiam-se no crescimento dos microrganismos em meios de cultura. Este método convencional é ainda utilizado para fazer contagem específicas como:

- A contagem de *Clostridium perfringens* seguindo a norma ISO 7937, e é realizada em meio TSC (agar triptose sulfito cicloserina), por incorporação em camada dupla de diluições sucessivas em condições de anaerobiose, a 37°C durante 24 h.
- A contagem de *Listeria spp.* e *Listeria Monocytogenes*, e é realizada segundo a norma ISO 11290-2 em meio ALOA (agar listeria segundo Otavianni e Agosti), através da técnica de espalhamento, incubada durante 48h a 37°C, com posterior confirmação bioquímica.

Método TEMPO®

O meio de cultura TEMPO® permite um rápido crescimento bacteriano e contém um indicador fluorescente que com base no número e tamanho dos orifícios positivos (fluorescentes e não fluorescentes), o equipamento utiliza métodos estatísticos para calcular o número de microrganismos presentes na amostra inicial (BioMérieux, 2019).

Neste sistema, começam-se por se hidratar os frascos próprios com diferentes quantidades de H₂O conforme a determinação pretendida. No caso dos frascos referentes à análise de AC, a quantidade a hidratar corresponde a 3,9 ml de H₂O, para todos os outros microrganismos (EB, EC, STA e BC) a quantidade de H₂O utilizada é de 3 ml.

Posteriormente à realização deste processo, são inoculados com os volumes adequados das diluições apropriadas, previamente realizadas. As diluições padrões utilizadas neste estudo foram

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade a 10^{-1} para todos os microrganismos, no entanto os microrganismos AC e EB foram testados em outras duas diluições 10^{-4} e 10^{-3} , respetivamente, como forma de garantir a leitura de possíveis níveis elevados de contaminação. Todos os frascos devem perfazer um total de 4 ml, após inoculação.

Outro dos componentes fundamentais para a realização dos testes neste sistema, são as cartas de teste compostas por microtubos de forma a poder obter o método de “Número mais Provável”, em que se baseia este sistema. Estas cartas são cheias em câmara de vácuo do equipamento e seladas, incubadas a temperaturas e tempos adequados e lidas através do sistema de leitura de fluorescência incorporado no equipamento. O resultado obtido é o do número de microrganismos presentes na amostra.

Método VIDAS®

O sistema VIDAS® é um sistema qualitativo automático e multiparamétrico de imunoensaio que permite a análise de diversos parâmetros em simultâneo. Tem por base o método ELFA2, utiliza cones que, para além de serem utilizados na pipetagem, estão sensibilizados com os anticorpos correspondentes ao microrganismo a pesquisar, assim como barretes contendo os reagentes (BioMérieux, 2019).

Os sacos de Caldo $\frac{1}{2}$ Fraser e BPW preparados na primeira fase laboratorial, foram logo de seguida incubados em estufa. O saco de Caldo Fraser foi submetido a estufa a 30°C durante 24 h, enquanto o BPW foi a 37°C durante 18 h.

Os sacos de Caldo $\frac{1}{2}$ Fraser para pesquisa de *Listeria monocytogenes* e BPW para pesquisa de *Salmonella* spp. preparados na primeira fase laboratorial, foram incubados em estufas adequadas. O saco de Caldo $\frac{1}{2}$ Fraser a 30 °C durante 24 h, enquanto o BPW foi a 37°C durante 18 h.

Após esta incubação, foi retirado ao Caldo $\frac{1}{2}$ Fraser, 0,1 ml para um tubo de Caldo de Fraser, posteriormente colocado em estufa a 30°C durante 24h. Ao BPW foi retirado 0,1 ml para um tubo de Sx2 também colocado em estufa a 41,5°C durante 18h.

Depois de cumpridos os tempos de incubação são retirados 0,5 ml de solução à amostra do tubo Caldo Fraser e colocados diretamente na barrete VIDAS LMO2 que é introduzida logo de imediato no equipamento VIDAS®. Relativamente ao tubo Sx2, é retirado 0,5 ml de solução à amostra, sendo colocado na barrete VIDAS SLM que é aquecida durante 15 minutos na placa de aquecimento para inativar a bactéria, sendo de seguida arrefecida durante 10 minutos antes de ser introduzida no VIDAS®.

2.4. Análise Química de Aminas Biogénicas e Aminoácidos

A análise, relativas à quantificação de aminas, assim como as relativas aos aminoácidos foi realizada por cromatografia líquida de ultra resolução, que é um dos principais métodos de deteção de alergénios.

A cromatografia líquida de alta resolução, é um método físico-químico que consiste na separação diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis: a fase estacionária, aderente a um sólido poroso, através da qual passa à fase móvel, que arrasta os constituintes da amostra.

Este método, inclui para a deteção das aminas e dos aminoácidos, uma desativação pré-coluna para deteção por detetor de fotodiodos (PDA) a 260nm.

Relativamente à análise das aminas biogénicas, esta foi realizada no período experimental de 2018-2019, em amostras recolhidas em superfícies comerciais, mercados e em lota da região da Grande Lisboa, tal como descrito na tabela 2tabela.

Para a análise do perfil de aminoácidos totais, foram não só utilizadas as amostras atrás descritas, assim como foram utilizados resultados obtidos no estudo piloto português de dieta total, (TDS Exposure) de acordo com o plano descrito por Motta et all. (2020), representativos do peixe consumido pela população portuguesa.

As amostras foram preparadas, segundo a norma “ISO 6887-3:2017, parte 3: regras específicas para a preparação de peixe e produtos da pesca”, e submetidas a um período de refrigeração a $3 \pm 2^\circ\text{C}$, compreendido entre 0h a 120h, procedendo-se à identificação e quantificação das aminas biogénicas.

2.4.1. Material e Reagentes

Para extração das aminas foram utilizados os reagentes: Ácido tricloroacético (TCA) com grau de pureza de 99,5% da marca Merck, EMD Millipore Corporation; e os padrões Histamina ($C_8H_{12}NO$) para HPLC, pureza $\geq 99,9\%$; Triptamina ($C_8H_{11}NO$) para HLPC pureza de 98%; Cadaverina ($C_5H_{14}N_2$) para HLPC pureza de $\geq 97\%$; Putrescina ($C_4H_{12}N_2$) para HLPC pureza de

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade $\geq 98,5\%$; 1,7- Diaminoheptano ($NH_2CH_2(CH_2)_5CH_2NH_2$) pureza de 98%, todos fornecidos pela Sigma-Aldrich.

Para extração dos aminoácidos foram utilizados os reagentes: Ácido clorídrico (HCl), 0,1 N, Carlo Erba; Hidróxido de Sódio (NaOH), 6 N e Fenol ambos da marca Merck, EMD Millipore Corporation. A solução padrão usada para determinar cada aminoácido foi preparada a partir de um hidrolisado Amino Acid Standard Hydrolyzate (Waters Corporation Company, Milford, EUA) a 2,5 mM. Esta solução padrão incluiu histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Phe), treonina (Thr), valina (Val), cisteína (Cys), tirosina (Tyr), glicina (Gly), arginina (Arg), prolina (Pro), ácido aspártico (Asp), ácido glutâmico (Glu), alanina (Ala) e serina (Ser) todos diluídos em 0,1 N. HCl.

A água utilizada foi de grau II de pureza, proveniente de um sistema de purificação Mili-Q (Millipore).

A derivatização das aminas e aminoácidos foi efetuada através do conjunto de reagentes Waters[®], *AccQ Tag Ultra Chemistry Kit*, constituído pelo derivatizante AccQ-Tag Ultra Reagent, com 6 aminoanolil-N-hidroxissuccinimidil carbamato.

Para a análise cromatográfica foram usadas as fases móveis A, constituída por 5% AccQ Tag Ultra Eluente A (formato de amónio em água / acetonitrilo / ácido fórmico), e a fase B constituída por AccQ Tag Ultra Eluente B: 2% de ácido fórmico em acetonitrilo.

Para a análise cromatográfica foi usado um Cromatógrafo Líquido de Ultra Resolução Acquity[®] UPLC da Waters[®], equipado com um detetor PAD (photodiode array detection) e uma coluna analítica AccQ-Tag Ultra da marca Waters, de fase reversa, contendo sílica modificada, C18, 100 mm comprimentos e 2,1 mm poro.

2.4.2. Procedimento Analítico

Aminas biogénicas

Para a extração das aminas foi preparada diariamente uma solução de ácido tricloroacético 5% (m/v), onde é pesado 5g de reagente TCA para um balão, de 100 mL, completando-se o volume com água ultrapura MiliQ.

Para a preparação das soluções padrão de Histamina, Tiramina, Triptamina, Cadaverina e Putrescina, pesou-se individualmente 22,5 mg de cada padrão e 5,25 mg do padrão interno de 1,7-Diaminoheptano numa balança analítica, para um balão certificado de 10 mL, perfazendo-se o volume com ácido clorídrico 0,1N.

Após a homogeneização das amostras num moinho mecânico de facas (Grindomix GM 200), foram pesadas alíquotas em balança analítica de cerca de 3g de amostra para um tubo cónico de 50 mL, adicionando-se 9,5 ml da solução de TCA 5% (m/v) e 36 µL da solução padrão de 1,7-Diaminoheptano. Após 30 minutos em agitação vigorosa, foram adicionados 500 µL de NaOH 0,1 N para neutralizar o pH. Os tubos são depois centrifugados durante 15 minutos a 3000 rpm, a 20°C.

O sobrenadante foi removido cuidadosamente e filtrado por filtros de seringa com membrana GHP de 25 mm e poro 0,2 µm.

Os filtrados podem ser ultracongelados a -80°C até ao momento da análise cromatográfica.

Foram preparadas simultaneamente amostras com adição de padrão, para cálculo da recuperação, adicionando-se aquando da extração, 500 µL de cada padrão de Histamina, Putrescina, Cadaverina, Triptamina, e Tiramina a 2250 mg/L.

Aminoácidos

A hidrólise das amostras para determinação dos aminoácidos foi realizada usando um sistema de digestão por micro-ondas em vaso fechado, através de um sistema da Milestone ETHOS 1 Series. Foram pesadas três alíquotas das amostras (30 mg) em vials de digestão de quartzo apropriados. Foi adicionado 1 mL de ácido clorídrico (6 N) contendo 0,5% de fenol e 200 µL de padrão interno (25 mM de D-norvalina) a cada vial. As amostras são então colocadas no sistema de micro-ondas em condições anaeróbicas realizando 3 purgas com azoto gasoso e uma bomba de vácuo até que todo o oxigénio seja removido. O programa de micro-ondas foi otimizado para a hidrólise estando programado da seguinte forma: 15 min para aumentar a temperatura para 160°C, 10 min para 160°C e 90 min para arrefecer).

Após a hidrólise completa, os extratos são neutralizados com 1 mL de hidróxido de sódio (6 N) e transferidos para balões com volume total de 10 mL, com água desionizada. Os hidrolisados foram filtrados através de um papel de filtro N°1 da Watman antes da derivatização.

Análise cromatográfica de aminas e aminoácidos

Antes do ensaio cromatográfico deve proceder-se à preparação e reconstituição do derivatizante para as amostras e padrões, usando o kit AccQ Tag Ultra Chemistry. O agente

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade derivatizante, AccQ-Tag Ultra Reagent Powder é reconstituído através da adição de 1mL do reagente AccQ-Tag Ultra Reagent Diluent, agitado no vortéx, e incubado durante 10 min a 55°C.

A derivatização das amostras, procedeu-se pipetando-se para um vial 80 µL de tampão AccQ- Tag Ulgra Borate Buffer, 10 µL do extrato das respetivas amostras e padrões de calibração e 20 µL de agente derivatizante. Após agitação dos viais em *vortéx*, estes foram também deixados a incubar por 10 minutos a 55°C na estufa.

O cromatógrafo, para a análise das aminas e aminoácidos, foi programado com um método por gradiente, tal como descrito na tabela.

Tabela 5 - Gradiente cromatográfico do método.

Tempo (min)	Eluente A (%)	Eluente B (%)
0	99	0,1
0,54	99	0,1
5,74	85	15
7,77	40	60
8,73	40	60
10	99	0,1

Fonte: Elaboração Própria

Para a análise foi utilizado um fluxo de 0.7 mL/minuto a uma temperatura de coluna de 55°C, sendo injetado um volume de 1 µL de amostra derivatizada, sendo a deteção dos compostos derivatizados realizada a 260 nm.

Para a correta identificação das diferentes aminas e dos aminoácidos os cromatogramas das amostras são comparados com os cromatogramas dos padrões utilizados. A sua quantificação foi efetuada num sistema de tratamento de dados (software *empower*) associado ao UHPLC da *waters*. O software permitiu calcular a concentração das aminas biogénicas através dos picos e das curvas de calibração previamente construídas.

2.5. Análise Estatística

Os resultados obtidos, nos diferentes pontos metodológicos desta dissertação foram feitos com recurso ao software IBM SPSS *Statistics version 27*. Este programa é uma plataforma de análise estatística avançada que permite realizar diferentes análises. No caso, foram determinados os valores através de testes qui-quadrado, tendo para isso sendo utilizada a função *Analyse*, seguindo-se *Descriptive Statistics* recorrendo-se ao *Crosstabs* que dentro deste se obteve a *Statistics chi-square*.

Como foi referido, os resultados foram obtidos através de testes qui-quadrado, uma das medidas mais utilizadas para medir a dependência entre variáveis que se apresentam em tabelas de contingência. O teste não mede o grau de associação entre variáveis, mas permite verificar se existe alguma relação, ou dependência, entre as mesmas. O valor de qui-quadrado revela a diferença entre as duas distribuições, permitindo estimar a probabilidade de as duas distribuições serem iguais.

Isto quer dizer que um valor elevado, mostra a independência das variáveis, enquanto um valor mais próximo de zero, revela que mais aproximadas serão as distribuições, ou seja, que maior será a sua dependência. O valor de qui-quadrado é avaliado pela tabela de valores críticos, onde geralmente para valores significativos é assumida a probabilidade de 95% ($p=0,05$), ou para valores muito significativos, a probabilidade de 99% ($p=0,01$).

3. RESULTADOS

3.1 Questionário Populacional

O questionário online foi realizado entre maio de 2021 e janeiro de 2022 e obteve-se um total de 563 participantes. A caracterização da população respondente é representada por 69,6% pessoas do género masculino e 29,3% de pessoas do género feminino, sendo que 1,1% dos participantes que não respondem a esta questão.

Avaliando o gráfico apresentado de seguida, que faz referência à idade dos respondentes, é possível concluir que 11,2% tem idades entre os 18 e os 20 anos, uma vez que o inquérito foi respondido apenas por indivíduos com mais de 18 anos. Os respondentes entre os 18 e os 45 anos, representam 56,31% das respostas, e os respondentes entre os 45 e os 65 anos representam outros 40%. Apenas 2,5% são respondentes com mais de 65 anos. Não responderam/concluíram o inquérito 1,2%.

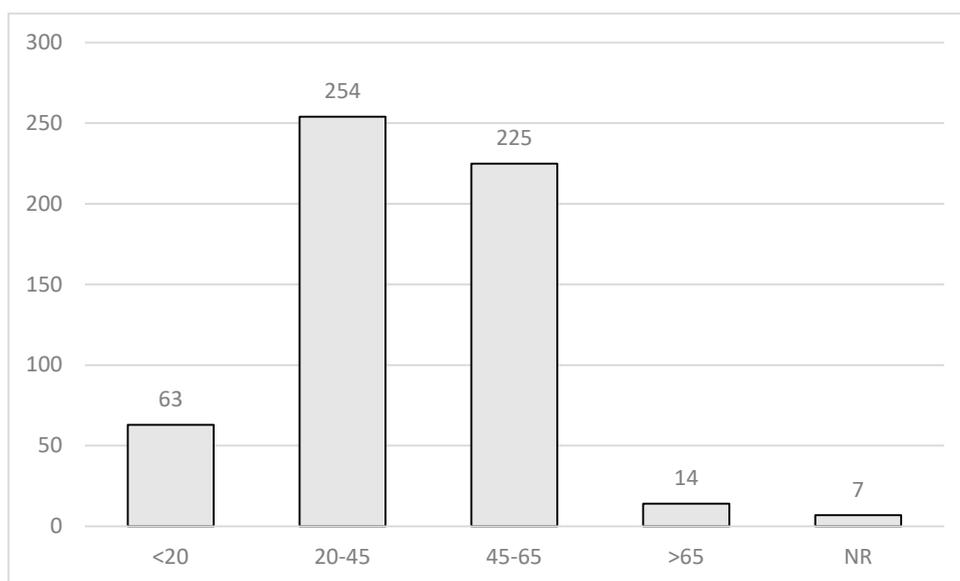


Figura 3 - Caracterização da população inquirida por idade.

Fonte: Inquérito

Concluimos que grande parte dos inquiridos eram adultos até aos 65 anos sendo que há uma percentagem muito equilibrada entre os inquiridos no início da idade adulta e adultos entre os 45-65 anos. Este tipo de informação torna-se relevante, uma vez que é através dela que vai ser possível obter resultados dos vários panoramas e fases do processo clínico da alergia dos inquiridos, mais precisamente dos alérgicos ao peixe. Desta forma será possível tirar conclusões e entender se há uma predominância deste tipo de patologia ao longo da vida e assim ser considerada uma patologia

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade crónica, ou por outro lado, ser apenas sentida numa transição de idades e assim ser considerada passageira.

Outra das questões feitas no questionário foi qual seria a escolaridade de cada respondente. Foram possíveis obter os seguintes resultados, como é possível demonstrar através do gráfico seguinte.

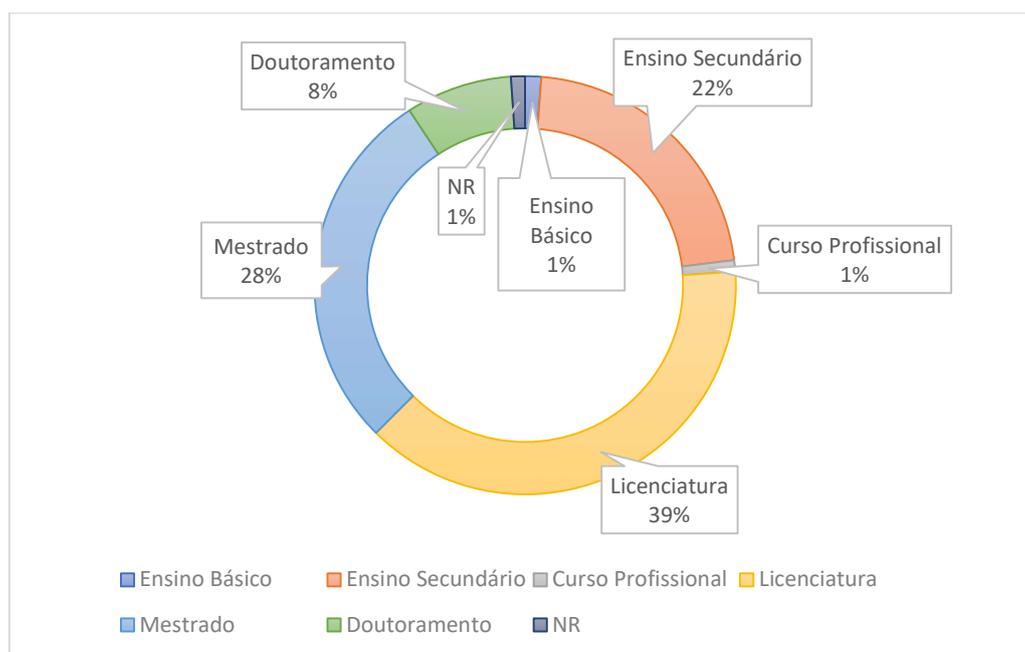


Figura 4 - Caracterização por nível de escolaridade da população inquirida.
Fonte: Inquérito

A maioria da população inquirida (74,5%) revela um grau de escolaridade bastante elevado, acima da escolaridade obrigatória. Estes resultados refletem-se no entendimento das questões feitas e como consequente resultado, demonstram que existe um bom entendimento das questões realizadas, levando a um aumento da credibilidade dos resultados obtidos, uma vez que as respostas foram dadas por inquiridos que entenderam as perguntas feitas.

Para um melhor entendimento e caracterização sociodemográfica da população inquirida, foi também questionada a região do país em que cada respondente habitava. A grande percentagem da população inquirida encontra-se na Área Metropolitana de Lisboa, assumindo 84,2% dos inquiridos. Os restantes, encontram-se distribuídos uniformemente pelo resto do país (incluindo as Ilhas), assim como é possível verificar na tabela que se segue.

Tabela 6 - Distribuição por NUTS II da população inquirida.

NUTS	Nº	%
Norte	26	4,6
Centro	24	4,3
Área Metropolitana Lisboa	474	84,2
Alentejo	15	2,7
Algarve	9	1,6
Região Autónoma Açores	2	0,4
Região Autónoma Madeira	2	0,4
Não Definido	11	2,0
Total	563	100,0

Fonte: Inquérito

Apesar de grande parte da população inquirida residir na Área Metropolitana de Lisboa (84,2%), existem inquiridos distribuídos por todo o território nacional sendo que representativamente 4,6% na zona Norte, 4,3% na zona Centro, 2,7% no Alentejo e 1,6% no Algarve. Esta questão foi realizada como forma de avaliar o nível de acesso aos produtos de pesca. No entanto, como 84,2% dos inquiridos reside na Área Metropolitana de Lisboa, não é possível chegar a uma conclusão concreta sobre esta mesma questão, não sendo possível aferir uma comparação concreta com as outras regiões do país. É importante também salientar que na Área Metropolitana de Lisboa (AML) existe a maior rede de distribuição do país, havendo bastante fluxo de transportes e distribuição de matérias-primas. No entanto é importante entender que apesar da distribuição de matérias-primas ser bastante eficaz a nível nacional, Portugal é um país onde se verifica a concentração da população no litoral, sendo por isso dos países da União Europeia com maior acesso a produtos de pesca.

Outra das questões feitas, que contribuíram para um entendimento real do estudo e validação de respostas, foi a questão realizada relativamente à perceção das diferentes terminologias para a caracterização dos diferentes tipos de patologias associadas. Foi importante entender se os inquiridos sabiam a diferença relativamente ao significado de alergia, intolerância e sensibilidade. Dos respondentes, 74% afirma que sim.

Precursos de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

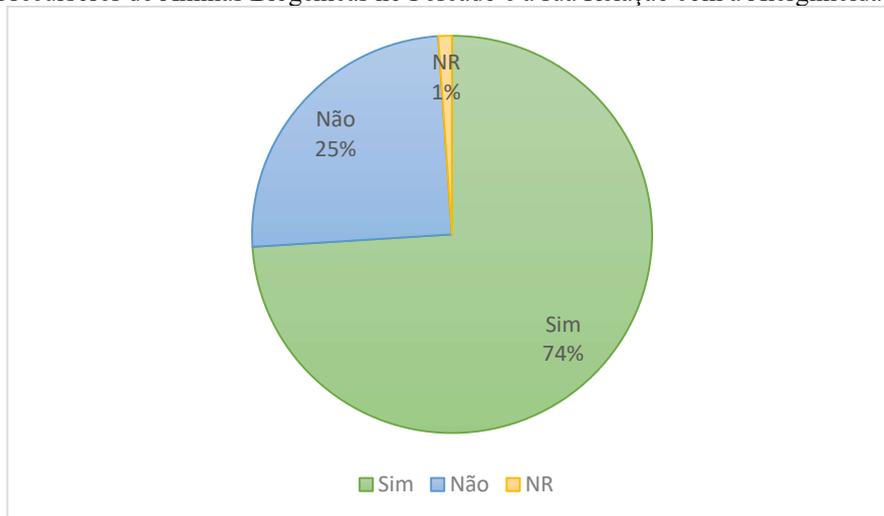


Figura 5 - Conhecimento dos inquiridos acerca da diferença entre alergia, intolerância e sensibilidade.

Fonte: Inquérito

Mais uma vez o objetivo foi avaliar a credibilidade das respostas seguintes, uma vez que o não entendimento da diferença entre os significados pode influenciar os restantes resultados do estudo. A avaliação foi bastante positiva sendo que 74% dos inquiridos revelaram saber a diferença entre estas três terminologias, sendo desta forma possível assumir que as restantes questões realizadas têm um grau de compreensão aceitável.

Os resultados que se seguem, fazem referência à segunda parte do inquérito que introduz as questões relativas às diversas patologias associadas à alergia alimentar.

Para um melhor entendimento das relações existentes entre estas mesmas patologias, procedeu-se a diversos cruzamentos de dados. Primeiramente, realizou-se o cruzamento entre os inquiridos que apresentam alguma alergia já diagnosticada e doenças respiratórias também diagnosticadas.

Tabela 7 - Relação entre doença respiratória diagnosticada e alergia diagnosticada.

		Alergia			Total	Alergia			Total
		Sim	Não	ND		Sim	Não	ND	
		Nº	Nº	Nº	Nº	%	%	%	%
Doença Respiratória	Sim	75	23	0	98	76,5	23,5	0,0	100,0
	Não	109	350	0	459	23,7	76,3	0,0	100,0
	ND	0	0	6	6	0,0	0,0	100,0	100,0
Total		184	373	6	563	32,7	66,3	1,1	100,0

Fonte: Inquérito

Começou-se por avaliar a relação entre a existência de doenças respiratórias e das doenças alérgicas, sendo que em 98 inquiridos com a doença respiratória diagnosticada, 75 afirmam ter uma alergia diagnosticada, seja ela alimentar ou de outro tipo. Este resultado foi bastante esclarecedor

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade no que diz respeito à demonstração efetiva de uma relação entre estas duas patologias, revelando que 77,32% dos doentes respiratórios neste estudo tem uma doença alérgica diagnosticada. Esta mesma relação é descrita em várias citações bibliográficas.

De seguida realizou-se o cruzamento entre os inquiridos que apresentam alergia alimentar específica a peixe, marisco e/ou crustáceos e que também apresentem doenças respiratórias diagnosticadas. Estes resultados demonstraram que entre 21 respondentes com alergia a peixe, marisco e/ou crustáceos, 11 apresentam doença respiratória. Este resultado corresponde a 52%.

Tabela 8 - Existência de doença respiratória e alergia a peixe, marisco e/ou crustáceos.

		Alergia a peixe marisco e/ou crustáceos			Total
		Sim	Não	ND	
Doença Respiratória	Sim	11	18	69	98
	Não	10	37	412	459
	ND	0	0	6	6
Total		21	55	487	563

Fonte: Inquérito

Foram avaliadas também as doenças respiratórias com maior incidência entre os inquiridos. A Asma foi indicada como sendo a doença respiratória predominante entre estes, assumindo 41,2% das respostas.

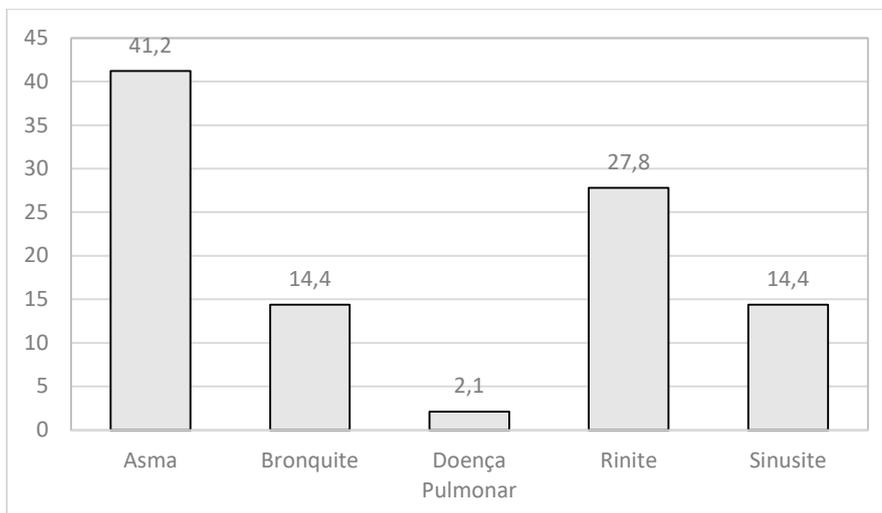


Figura 6 - Percentagem dos diferentes tipo de doença respiratória entre os inquiridos.

Fonte: Inquérito

Realizando a questão de forma mais específica, avaliando o tipo específico de alergia, foi questionado diretamente se o inquirido tem alergia alimentar ao pescado. Dos 98 inquiridos com doença respiratória, 11 deles revelaram ter alergia alimentar ao pescado havendo assim uma representação de 11,73% neste estudo. Foi importante também entender quais as doenças

Precusores de Amins Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade respiratórias mais comuns entre os inquiridos, uma vez que existem, segundo a bibliografia estudada, algumas diferenças na relação com os diferentes tipos de doença respiratória. A asma é indicada como a doença respiratória mais comum entre a população inquirida, sendo que em segundo e terceiro lugar, surgem a rinite e a bronquite. A asma é fortemente apontada na bibliografia como sendo comumente relatada por doentes que também têm alergia alimentar (Lima da Silva Vieira, 2015). Inclusive num estudo específico realizado em crianças na China foi perceptível uma clara evidencia na relação entre crianças que sofrem de reações anafiláticas desde os primeiros anos de vida, e histórico de asma e rinite, assim com dermatite atópica (Jiang, et al., 2021).

Em seguida foi realizada uma questão em que se pretendia averiguar qual a incidência de quadros alérgicos segundo o género. As percentagens resultantes são muito semelhantes em ambos os géneros, sendo que o género feminino apresenta uma incidência de precisamente 32,9% e o género masculino 33,3%. Em 392 mulheres, existem 129 com alergia diagnosticada, e em 165 homens existem 55 com o mesmo diagnóstico.

Tabela 9 - Alergia diagnosticada por género.

	Alergia diagnosticada			
	Sim	Não	NR	Total
Feminino	129	263		392
Masculino	55	110		165
Não Responde			6	6
Total	184	373	6	563

Fonte: Inquérito

A questão realizada de seguida, surgiu para que fossem detetadas quais as alergias mais propensas entre os inquiridos. Os resultados obtidos estão demonstrados na tabela seguinte.

Tabela 10 - Alergias referidas

Alergia	Nº	%
Pólen	104	58,1
Ácaros	102	57,0
Animais	40	22,3
Alimentos	55	30,7
Ácaros e Alimentos	22	12,3
Medicamentos	18	10,1
Gramíneas	2	1,1
Total	179	-

Fonte: Inquérito

Na amostra, a maioria das alergias, sejam as específicas ao pescado ou alergias de uma forma geral, não foram diagnosticadas laboratorialmente, sendo que apenas 35,8% o foram. Este é um dado bastante revelador e preocupante, uma vez que o doente sabe que tem uma alergia, mas não a valoriza e não toma medicação sob prescrição médica para combater os sintomas da mesma. Estes resultados podem estar relacionados com o facto de as alergias mais relatadas serem alergias aos pólenes e ácaros, que são tipos de alergia bastante usuais e com fácil acesso a medicação sem prescrição médica, sendo por isso possível adquiri-la nas farmácias. Esta facilidade de acesso a anti-histamínicos para resolução de casos simples de alergia pode resultar numa despreocupação por parte dos doentes em procurar ajuda médica especializada, uma vez que este tipo de medicação consegue que a grande maioria das pessoas não procure ajuda médica especializada. Foi possível entender nesta questão que existe uma percentagem considerável de inquiridos com alergia alimentar. No entanto esta é uma alergia que requer acompanhamento na maioria dos casos, uma vez que por norma não é controlada com anti-histamínicos simples.

O gráfico seguinte apresenta os resultados relativos à idade da primeira manifestação alérgica. Foi possível entender que o maior número de respostas se encontra na faixa etária até aos 14 anos, e na faixa etária após os 21.

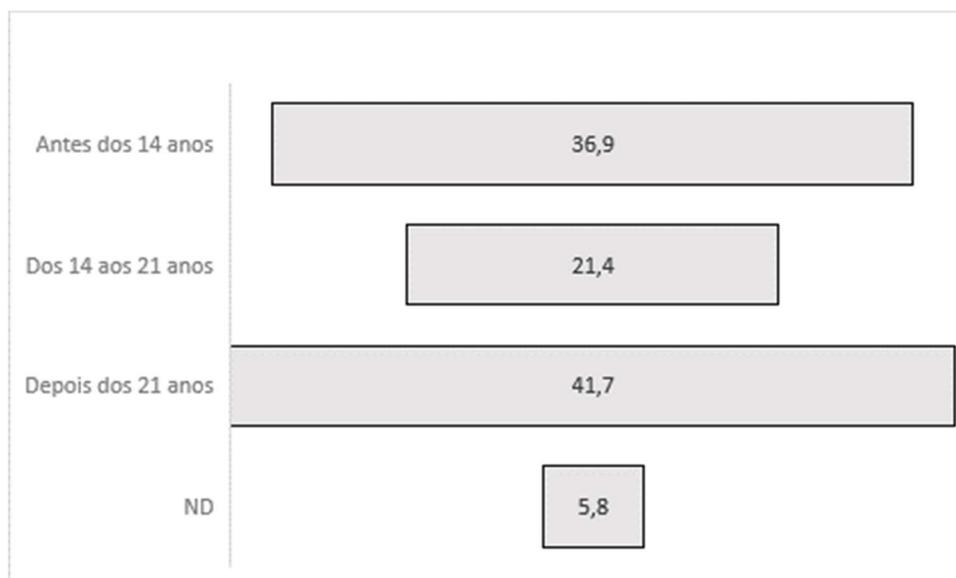


Figura 7 - Idade em que houve a primeira manifestação alérgica.
Fonte: Inquérito

Relativamente aos resultados obtidos das respostas referentes à idade onde se manifestou a primeira reação alérgica, era espectável que a faixa etária até aos 14 anos de idade assumisse uma representatividade elevada (36,9%), uma vez que é nos primeiros anos de vida que se desenvolvem muitas das primeiras alergias alimentares, por ser nesta fase que são apresentados os principais alimentos. No entanto, houve um resultado surpreendente, que representou um maior número de inquiridos – a faixa após os 21 anos. Com 41,7% dos inquiridos a revelarem que a primeira

Precusores de Aminoácidos Biogénicos no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade
manifestação surgiu após os 21 anos de idade, é possível relacionar este resultado com o fim da puberdade, onde existe uma grande mudança no organismo após a adolescência (Tabela 12). Este resultado também pode estar relacionado com o facto de na amostra inquirida, o primeiro contato com o alimento alérgico em 37,7% dos inquiridos ter sido após os 14 anos, este é um valor bastante revelador uma vez que demonstra que muitos destes inquiridos tiveram o primeiro contato com certos alimentos muito tardiamente. Em segundo lugar, o primeiro contato com alimento antes dos 2 anos com 29,9% dos inquiridos.

Em seguida foi feita a questão que pertence avaliar quais os tipos de sintomas mais preponderantes neste tipo de quadros alérgicos. Dos 94 respondentes a esta questão, 21 assumem ter sintomas dermatológicos, 51 manifestam sintomas gastroenterológicos, 21 sintomas respiratórios e apenas 1 assume sentir sintomas neurológicos. Os resultados percentuais obtidos estão apresentados no gráfico seguinte.

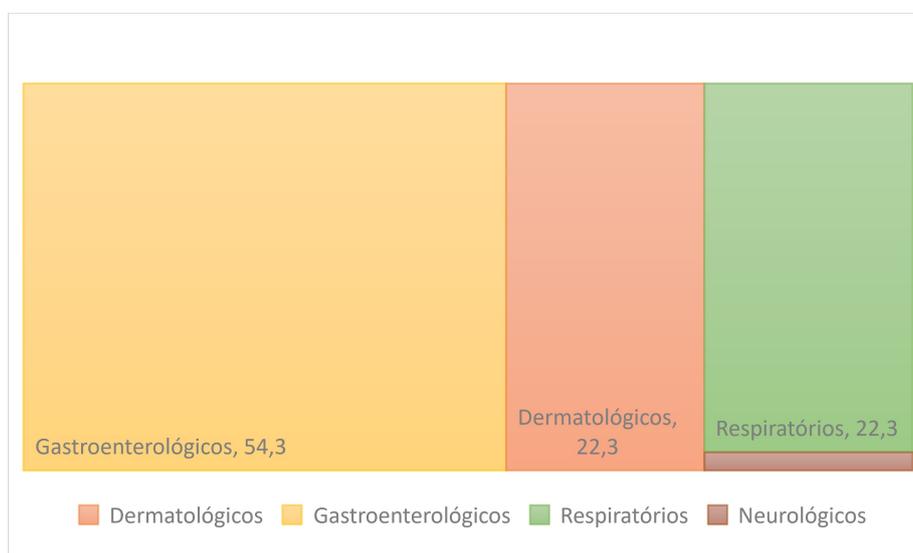


Figura 8 - Tipologia dos sintomas reportados.
Fonte: Inquérito

Outra das questões de grande importância para o estudo foi a questão relativa ao tipo de sintomas relatados. Os sintomas gastroenterológicos são os mais relatados assumindo 54,3% dos resultados. Os sintomas dermatológicos e respiratórios apresentam-se em segundo lugar, representando 22,3% cada.

Abordando especificamente o tema da alergia alimentar, foi elaborada a pergunta seguinte, que vem questionar quais os alimentos a que os inquiridos são alérgicos. Dos 77 respondentes, 28 dizem ser alérgicos à proteína do soro do leite, de seguida 21 afirmam ser alérgicos a marisco e crustáceos e 19 apenas a peixe. Os resultados obtidos estão apresentados na seguinte tabela.

Tabela 11 - Alimentos alérgicos identificados por 77 indivíduos.

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Alimento	Nº	%
Soro de leite	28	36,4
Mariscos e crustáceos	21	27,3
Peixe	19	24,7
Peixe, mariscos e crustáceos	17	22,1
Fruta	13	16,9
Glúten (trigo)	12	15,6
Frutos secos	5	6,5
Ovos	5	6,5
Moluscos	3	3,9
Especiarias	3	3,9
Leguminosas	2	2,6
Legumes	2	2,6
Total de respostas	77	-

Fonte: Inquérito

Ao contrário do estudo realizado pelos autores Lozoya-Ibáñez et al. (2016), os números revelam que nesta amostra o soro de leite se apresenta como o alimento com maior incidência alérgica revelando valores de 36,4% nos inquiridos. o marisco e os crustáceos apresentam-se em segundo lugar com valores de 27,3% e o peixe em terceiro lugar com valores de 24,7%. A fruta fresca apresentada na bibliografia como sendo o segundo alimento mais alérgico relatado em Portugal surge em quarto lugar com 16,9% (Lozoya-Ibáñez et al., 2016).

Por fim, foi questionado com que idade haviam tido a primeira exposição ao alimento a que são alérgicos. Entre os 77 respondentes, 23 afirmaram ser antes dos 2 anos de idade, 22 assumem ter sido entre os 3 e os 14 anos, e 29 dizem ter sido numa idade superior aos 14 anos de idade.

Os escalões etários que se seguem, foram seleccionados em função das idades em que normalmente são introduzidos os primeiros contactos com os alimentos, sendo esta uma percepção empírica uma vez que não foi encontrada nenhuma referência bibliografia que refira estes escalões. Posto isto, assumiu-se que o primeiro escalão é definido até aos 2 anos que é quando existe o primeiro contacto com os alimentos, o segundo escalão dos 3 aos 14 que é quando existe a primeira maior modificação no organismo assim como as capacidades organoléticas e alimentares, e por fim o terceiro escalão, depois dos 14 que é quando o ser humano começa a entrar na fase adulta e se dá a segunda maior fase de alteração no organismo do mesmo. Na tabela seguinte é possível observar os diferentes percentuais relativos ao primeiro contacto com os alimentos alérgicos.

Idade	Nº	%
Antes dos 2 anos	23	29,9
Dos 3 aos 14 anos	22	28,6
Depois dos 14 anos	29	37,7
Não Responde	3	3,9
Total	77	100,0

Fonte: Inquérito

3.2. Análise Microbiológica de amostras de pescado prontas a comer

Em seguida serão apresentados os resultados relativos às 971 amostras submetidas a análise microbiológica (Anexo 2).

Todos estes resultados foram analisados com base no guia “Valores Guia – Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar”, que foi atualizado em 2019. A caracterização dos diferentes grupos de análise, encontra-se no Anexo 1.

Após a recolha das amostras no local definido e, a sua posterior análise em ambiente laboratorial, é fundamental apresentar os resultados obtidos para que possa ser feita uma abordagem dos mesmos, entendendo-os, e relacionando assim o tipo de alimento analisado e as características microbiológicas intrínsecas do mesmo, assim como as influências externas a que este está sujeito.

Primeiramente iniciou-se a avaliação entre o cruzamento de dados referentes à apreciação final das amostras e à sua relação com o transporte. Esta relação é bastante importante uma vez que muitas das vezes, o principal mecanismo de desenvolvimento de microrganismos advém do transporte dos mesmos após a sua confeção.

Neste cruzamento foi possível concluir que em 239 amostras com uma apreciação não satisfatória, apenas 34 foram sujeitas a transporte após a sua confeção até ao local onde posteriormente foram servidas. Em 730 amostras com avaliação satisfatória, 100 foram também submetidas a transporte após confeção.

Uma das principais causas de desenvolvimento microbiano é a quebra da rede de frio durante o transporte das matérias-primas, por esse motivo foi primordial relacionar a qualidade microbiológica da amostra após o transporte, em situações em que as amostras foram confeccionadas fora do local onde foram efetivamente consumidas.

Nos alimentos previamente confeccionados e que após a sua confeção tiveram que ser submetidos a algum processo de transporte, ou que apesar de não serem transportados permanecem em linhas de exposição, em equipamentos próprios para a manutenção da sua temperatura ótima, após a confeção podem apresentar, se a temperatura não for controlada pode propiciar o desenvolvimento microbiano tal como referido no Regulamento Europeu CE 852/2004 (Comissão Europeia, 2004).

Foram realizados testes de qui-quadrado deste cruzamento, para comprovação da sua relevância. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela em baixo.

Tabela 13 - Resultado dos testes qui-quadrado relativos à relação entre a apreciação e o transporte das amostras.

	Valor	Graus de Liberdade	Significância Assintótica (Bilateral)
Qui-quadrado de Pearson	,042 ^a	1	,838
Correção de continuidade ^b	,009	1	,923
Razão de verossimilhança	,042	1	,838
Nº de Casos Válidos	969		

Fonte: Elaboração Própria

Apesar de esta ser uma das condições com maior influência no desenvolvimento microbiano, no total de amostras recolhidas, não foi possível verificar qualquer tipo de relação relativamente aos resultados aferidos sobre o transporte e a sua apreciação. Este resultado vem revelar que em toda esta amostragem, apesar da existência de vários pratos confeccionados a serem posteriormente transportados, houve sempre uma boa manutenção de temperaturas nas diferentes cadeias de transporte, demonstrando que apesar das refeições serem confeccionadas noutra local, e apenas serem consumidas após o seu transporte, neste intervalo de tempo todas as refeições mantiveram uma temperatura ótima ideal, o que proporcionou a estabilidade necessária nos alimentos para que não ocorresse desenvolvimento de microrganismos patogénicos.

Este cruzamento de dados demonstrou-se fundamental para comprovar que nesta amostra representativa, foi possível eliminar como causa uma das principais vias de desenvolvimento microbiano.

O cruzamento realizado de seguida faz referência ao grupo ou subgrupo de alimentos prontos para consumo em análise e a sua apreciação. Este cruzamento surge para relacionar a forma de confeção e o tipo de produtos utilizados e a sua apreciação microbiológica.

Foram encontrados vários grupos alimentares nas amostras analisadas. Os subgrupos encontrados foram o 1A, 1B, 2A, 2C e 2D. O grupo 1A faz referência a alimentos totalmente cozinhados, não manuseados após tratamento térmico. O grupo 1B faz referência a alimentos totalmente cozinhados, manuseados após tratamento térmico. O grupo 2A é relativo a alimentos totalmente cozinhados, onde são adicionados apontamentos de frutos/ produtos hortícolas crus. O grupo 2C é relativo a alimentos totalmente cozinhados adicionados a produtos hortícolas crus podendo incluir frutos crus. O grupo 2D é referente a alimentos compostos e/ou com queijo (fabricado com queijo cru, carne, peixe/marisco cru (Anexo1) (INSA, 2019).

Das 590 amostras analisadas do grupo 1A, apenas 55 foram avaliadas como não satisfatórias (NS). Das 138 amostras analisadas do grupo 1B, 53 foram classificadas como não satisfatórias e 85 como satisfatórias. Nas 39 amostras do grupo 2A, 28 apresentaram resultados não satisfatórios e 11 resultados satisfatórios. Em 194 amostras analisadas do grupo 2C, 79 apresentaram valores não satisfatórios. Em apenas 7 amostras analisados do grupo 2D, 2 foram classificadas como não satisfatórias para 5 satisfatórias. Estes valores estão esquematizados na tabela apresentada a seguir.

Tabela 14 - Tabulação cruzada entre o Grupo de Análise e a Apreciação.

		APRECIÇÃO		Total
		Não Satisfatório	Satisfatório	
GRUPO ANÁLISE	1A- alimentos totalmente cozinhados, não manuseados após tratamento térmico	55	535	590
	1B - alimentos totalmente cozinhados, manuseados após tratamento térmico	53	85	138
	2A- alimentos totalmente cozinhados, onde são adicionados apontamentos de frutos/ produtos hortícolas crus	11	28	39
	2C - alimentos totalmente cozinhados adicionados a produtos hortícolas crus podendo incluir frutos crus	115	79	194
	2D - alimentos compostos e/ou com queijo	5	2	7
Total		239	730	969

Fonte: Elaboração Própria

Para averiguar a significância destes resultados, foram efetuados novamente testes qui-quadrado que resultaram nos seguintes dados abaixo indicados.

Tabela 15 - Resultado dos testes qui-quadrado relativos à relação entre a apreciação e o grupo de análise das amostras.

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

	Valor	Graus de Liberdade	Significância Assintótica (Bilateral)
Qui-quadrado de Pearson	222,687 ^a	5	,000
Razão de verossimilhança	216,075	5	,000
Nº de Casos Válidos	969		

Fonte: Elaboração Própria

Outra das tabulações realizadas, foi a tabulação do cruzamento de resultados entre os microrganismos patogénicos identificados nas diversas amostras, e a apreciação das mesmas. Os resultados obtidos podem ser identificados na tabela 16.

Quando feita a análise do cruzamento de resultados entre o grupo de análise em que estas refeições se encontram, e a sua avaliação microbiológica, existe, como já seria expectável, uma grande relação entre estes. É então possível destacar os resultados obtidos relativos aos grupos 2C e 1B como sendo os que apresentam maior número de resultados de apreciação negativa, apresentando assim maior número de microrganismos patogénicos.

Para um melhor entendimento do tipo de refeições que estes grupos englobam, recorreu-se ao guia de “Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos – INSA”, que indica que no grupo 2C “estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados/ pasteurizados, adicionados de produtos hortícolas crus podendo incluir frutos crus”. No grupo 1B “estão incluídos os alimentos adicionados de componentes processados, com baixo pH ou baixo aW como açúcar em pó, coco ralado, especiarias, maionese, ketchup, mel (...)” (INSA, 2019 – Anexo 1).

Com isto é possível concluir que os resultados negativos obtidos, surgem como possível resultado de contaminação cruzada entre os alimentos já confeccionados e alimentos por confeccionar. Isto quer dizer que estes alimentos/ ingredientes que compõe cada um dos pratos finais, não sofreram o mesmo método de confeção e que por esse motivo não tinham as mesmas temperaturas quando foram adicionados. Este fator de contaminação é apontado como sendo um dos mais relatados e que exige maior atenção por parte das autoridades de controlo de qualidade alimentar uma vez que é um fator que facilmente ocorre na preparação e confeção alimentar, e que, não havendo um correto controlo na manipulação e lavagem dos alimentos que não sofrem nenhum tipo de tratamento térmico, podem surgir contaminações cruzadas graves que podem inclusive levar a quadros de intoxicação alimentar.

Tabela 16 - Tabulação cruzada relativa aos resultados da análise microbiológica e respetiva apreciação.

	APRECIÇÃO	Total
--	-----------	-------

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

		Não Satisfatório	Satisfatório	
MICROORGANISMOS	Não Definido	79	718	797
	B.cereus	4	1	5
	CAM	29	6	35
	CAM/B.cereus	2	0	2
	CAM/EB	69	1	70
	CAM/EB/B.cereus	1	0	1
	CAM/EB/EC	13	0	13
	CAM/EB/EC/B.cereus	1	0	1
	CAM/EB/STA	1	0	1
	CAM/EC	1	0	1
	EB	22	4	26
	EB/EC	6	0	6
	EB/EC/STA	1	0	1
	EC	8	0	8
	Estafilococoos +	1	0	1
Total		238	730	968

Fonte: Elaboração Própria

Legenda da tabela:

CAM- Microrganismos a 30 °C /Contagem de aeróbios mesófilos; **EB**- Enterobacteriaceae a 37 °C

EC- Escherichia coli; **STA**- Estafilococos coagulase positiva; **B.cereus**- Bacillus Cereus

Assim foram realizados os testes qui-quadrado relativos ao cruzamento de dados anterior.

Tabela 17 - Resultado dos testes qui-quadrado referentes ao cruzamento de dados dos Microrganismos Patogénicos e a Apreciação.

	Valor	Graus de Liberdade	Significância Assintótica (Bilateral)
Qui-quadrado de Pearson	531,403 ^a	19	,000
Razão de verossimilhança	497,684	19	,000
Nº de Casos Válidos	969		

Fonte: Elaboração Própria

Com os resultados é possível entender que os microrganismos mais preponderantes nos resultados apresentados, são os aeróbios mesófilos (CAM), as *Enterobactireaceae* e as *Escherichia coli*. Estes são microrganismos que revelam maioritariamente indicadores de higiene e de contaminação fecal, logo, indicam que surgem da forma incorreta na manipulação e na confeção das amostras. As amostras que contém *Enterobactireaceae* representam 15% das amostras analisadas, ainda que em algumas delas as suas quantidades não tornaram a amostra não satisfatória. As amostras que apresentam CAM representam 17%, sendo assim possível constatar

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade que o resultado obtido advém de erros relacionados à incorreta manipulação dos alimentos na sua confeção.

De seguida, procedeu-se à criação de uma tabela onde é realizado um cruzamento de dados entre as diferentes espécies de produtos de pesca encontrados nas diversas amostras analisadas e a apreciação das mesmas, como forma de concluir se a espécie de pescado tem influência no desenvolvimento microbiano. Os resultados estão apresentados nas tabelas seguintes.

Tabela 18 - Tabulação cruzada relativa aos resultados da Espécie do pescado e a Apreciação.

DESIGNAÇÃO DO PEIXE	APRECIACÃO		Total
	Não Satisfatório	Satisfatório	
Abrótea	4	20	24
Alabote	0	8	8
Arenca	0	1	1
Arinca	0	6	6
Atum	63	72	135
Bacalhau	26	104	130
Cação	0	4	4
Calamares (industriais)	0	2	2
Caldeirada	0	8	8
Camarão	2	14	16
Carapau	0	15	15
Cavala	8	29	37
Chaputa	0	1	1
Choco	1	13	14
Corvina	3	6	9
Delícias do Mar	2	0	2
Dourada	0	1	1
Douradinhos (industrial)	7	15	22
Escamudo	0	1	1
Linguado	0	1	1
Lula	0	10	10
Marisco (não designado)	0	2	2
Maruca	2	11	13
Paloco	0	2	2
Panga	0	4	4
Peixe (não designado)	37	112	149
Peixe-espada	1	6	7
Perca	1	6	7
Pescada	52	130	182
Polvo	0	5	5
Pota	4	26	30

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

DESIGNAÇÃO DO PEIXE	APRECIACÃO		Total
	Não Satisfatório	Satisfatório	
Raia	0	1	1
Rancho (mistura de pescado)	0	10	10
Red fish	1	4	5
Salmão	18	43	61
Sardinha	2	0	2
Solha	0	15	15
<i>Sushi</i>	1	0	1
Tamboril	1	4	5
Tintureira	1	6	7
Truta	0	1	1
Valenciana (Mistura de marisco)	2	10	12
Total	239	730	969

Fonte: Elaboração Própria

Foram realizados de novo testes qui-quadrado como forma de avaliar a significância destes resultados, como se pode acompanhar pela tabela seguinte.

Tabela 19 - - Resultado dos testes qui-quadrado referentes ao cruzamento de dados relativos à Espécie de pescado e a Apreciação

	Valor	Graus de Liberdade	Significância Assintótica (Bilateral)
Qui-quadrado de Pearson	99,404 ^a	46	,000
Razão de verossimilhança	120,595	46	,000
Nº de Casos Válidos	969		

Fonte: Elaboração Própria

Foi possível entender nos resultados obtidos, que existe uma relação clara entre a apreciação e o tipo de pescado a que esta se refere. Os resultados do teste qui-quadrado apresenta um valor inferior a 0,01, uma vez um valor está bastante próximo de zero o que efetivamente revela que as distribuições são aproximadas, revelando maior dependência. Desta forma, o atum revelou ser o peixe com maior quantidade de resultados insatisfatórios com uma percentagem de 46,7%, sendo que em seguida é apontado o salmão que apresenta 30% dos resultados insatisfatórios. Estes são peixes, que na sua constituição agregam grandes quantidades de gordura, o que inevitavelmente leva a processos mais rápidos de oxidação e consequente rancificação, que vem proporcionar um rápido desenvolvimento microbiano.

Os outros tipos de peixe que apresentam valores insatisfatórios relevantes, são a pescada, a cavala e o bacalhau, surgindo com valores de 28%, 21% e 20% respetivamente. A cavala é também um peixe que apresenta elevados níveis de gordura em peixes de considerável pequena dimensão, o que contribui mais uma vez para uma rápida deterioração.

Relativamente aos resultados obtidos acerca de peixe ultraprocessado ultracongelado, os vulgarmente chamados “Douradinhos”, estes representam 31% das amostras não satisfatórias. Este resultado é bastante interessante uma vez que este tipo de peixe é industrializado, tendo por esse motivo menor número de características que o tornam perecível, quando comparado com produtos frescos ou que não apresentam nenhum tipo de alteração feita industrialmente. Este valor pode ser resultado do método de confeção utilizado na produção dos mesmos e/ou de possíveis cadeias de contaminação cruzada no seu manuseamento após confeção.

No capítulo seguinte serão analisadas microbiologicamente várias amostras de diversos tipos de peixe e marisco cru ou em processos de conservação, como forma de fundamentar a investigação e complementar os resultados obtidos anteriormente, encontrando também as principais diferenças entre os fatores microbiológicos em alimentos prontos a comer e alimentos crus e em conserva.

3.3 Análise Microbiológica de amostras de pescado (Cru e conservas)

Os resultados dos alimentos prontos a comer foram comparados e analisados através do guia “Valores Guia 2019 - Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar”.

É importante por isso salientar que as amostras de peixe fresco, ceviches e tartáros são pertencentes ao grupo 2D da tabela de valores guia acima referidos. Sendo que os valores máximos para que as amostras sejam consideradas satisfatórias são respetivamente: Microrganismos a 30° contagem de aeróbios mesófilos (CAM) - $< 10^6$; Enterobacteriaceae a 37 °C - $< 10^4$; Escherichia coli - < 10 ; Estafilococos coagulase positiva - < 10 (Anexo 1).

Nos indicadores referentes à higiene, na análise feita às *Enterobacteriaceae* e *E. Coli*. os resultados mais significativos correspondem a um alimento cozinhado (C11), aos alimentos crus e aos alimentos marinados.

Tabela 20 - Resultado dos testes microbiológicos realizados às amostras definidas (Log).

Amostra	ID	CAM	EB	EC	STA
	F1	6,8	4,7	<1	<1

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Atum fresco	F2	6,5	4,6	<1	<1
	F3	7,9	5,2	<1	<1
Atum Lata	C1	<2	<1	<1	<1
	C2	<2	<1	<1	<1
	C3	<2	<1	<1	<1
	C4	<2	<1	<1	<1
	C5	<2	<1	<1	<1
	C6	<2	<1	<1	<1
	C7	<2	<1	<1	<1
	C8	<2	<1	<1	<1
Camarão Aquacultura a granel - Congelado Cru	C10	4,5	3,2	<1	<1
		3,6	4,2	1,8	<1
Camarão Aquacultura a granel - Cozido	C11				
Ceviche Carapau	Z1	5,7	3,5	<1	<1
Ceviche Garoupa	Z2	6,0	4,4	<1	<1
Cavala crua	Z3	5,8	2,4	<1	<1
Cavala conserva	Z9	<2	<1	<1	<1
Sardinha crua	Z5	3,7	2,9	<1	1,3
Sardinha conserva	Z8	<2	<1	<1	<1
Salmão cru	Z7	2,0	0,0	<1	<1
Tártaro de atum	Z4	5,9	5,0	<1	<1

Fonte: Elaboração Própria

Unidade: Log

Legenda da tabela:

ID – Identificação da amostra; **CAM**- Microrganismos a 30 °C /Contagem de aeróbios mesófilos; **EB**- Enterobacteriaceae a 37 °C; **EC**- Escherichia coli; **STA**- Estafilococos coagulase positiva

Os alimentos marinados pertencem ao Grupo 2D, pois são alimentos crus que apenas são cozinhados na acidez adicionada ao alimento. Esta acidez tem potenciais propriedades bacteriostáticas, no entanto não têm capacidade de as eliminar. Este tipo de produtos é mais perecível uma vez que, tal como os alimentos totalmente crus, não são submetidos a nenhum tipo de tratamento térmico.

O C11 (camarão cozido) apresenta o pior valor relativo aos indicadores de higiene (resultado colocado em negrito), pois sendo um alimento já confeccionado e sujeito a um tratamento térmico, apresenta quantidades de enterobactérias alarmantes uma vez que este tipo de microrganismo é destruído com tratamento térmico. O resultado pode sugerir a falta de higiene aplicada após a confeção do mesmo, uma vez que este camarão é previamente cozido antes de ser encontrado nas superfícies comerciais.

Esta mesma amostra contém ainda *E.Coli*. que é utilizada como indicador de contaminação fecal em água e alimentos, sendo que a maioria das estirpes não se revela um perigo para um hospedeiro saudável, no entanto existem outras estirpes capazes de causar doença devido a possuírem fatores de virulência.

Foi possível constatar neste pequeno número de amostras, que as que continham maior quantidade de *E.Coli* são as com maior quantidade de EB, resultado expectável uma vez pertencerem à mesma família de bactérias.

Como seria de esperar, todas as amostras apresentam valores de Microrganismos Aeróbios Mesófilos, sendo que as que apresentaram valores superiores são as das amostras com alimentos não cozinhados.

As amostras Z8 e Z9, foram submetidas a um processo diferente. Por se tratar de amostras que estão em conserva, submeteram-se a uma pesquisa de microrganismos aeróbios e anaérobios, que não demonstraram haver nenhum crescimento microbiano relevante.

Em todas as amostras a pesquisa de *Salmonella spp.* e *Listeria Mono.* mostraram resultados negativos. Estes resultados são indicadores de segurança uma vez que este tipo de bactérias é bastante prejudicial à saúde de indivíduos em especial imunodeprimidos.

Outro dos grandes indicadores de segurança é a análise à bactéria *Clostridium Perfringers*, onde mais uma vez não houve resultados positivos.

Relativamente aos resultados relativos ao Estafilococos Coagulase + , estes foram encontrados em dois alimentos crus (Z3 e Z7), onde apesar de ambas as amostras serem possíveis de consumir sem nenhum tipo de confeção, e por esse motivo apresentarem valores que revelam perigo de contaminação, as mesmas amostras foram analisadas após serem confeccionadas e entendeu-se que após este processo as mesmas vieram a apresentar valores normais, o que indica que o tratamento térmico surtiu efeito em ambas as amostras.

3.4 Análise química das aminas biogénicas e aminoácidos precursores de aminas em pescado

Na seguinte tabela serão apresentados os resultados obtidos após análise cromatográfica das amostras recolhidas para âmbito de análise química. Neste estudo foram avaliadas as aminas cadaverina, putrescina e histamina presentes em diferentes tipos de produtos do mar, tal como descrito na tabela 20. Esta tabela apresenta igualmente a avaliação da conformidade das amostras de acordo com o disposto no regulamento 2073/2005 para avaliação do teor de histamina em peixes e produtos da pesca.

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade
 Na tabela 21 estão representadas as concentrações de aminoácidos dos diversos tipos de peixe, referentes ao primeiro estudo piloto português “TDS Exposure” (Motta, 2020).

Tabela 21 - Resultados das aminas biogénicas obtidos por HPLC das amostras recolhidas (mg/Kg)

Amostra	ID	Limites máximos (mg/Kg)			
		NS > 100-200			
		Resultados			
		Avaliação Histamina*	Histamina	Putrescina	Cadaverina
Atum fresco	F1	S	<LQ	28,0 ± 8,7	<LQ
	F2	NS	199,0 ± 16,2	184,0 ± 27,6	<LQ
	F3	S	<LQ	27,0 ± 2,7	18,0 ± 4,6
Atum Lata	C1	S	43,2 ± 1,46	<LQ	<LQ
	C2	S	43,5 ± 0,10	<LQ	<LQ
	C3	S	24,3 ± 1,75	<LQ	<LQ
	C4	S	46,0 ± 6,1	22,0 ± 9,0	<LQ
	C5	S	52,0 ± 4,1	33,3 ± 8,1	<LQ
	C6	S	38,0 ± 5,7	25,0 ± 9,6	24,5 ± 12,0
	C7	S	46,0 ± 2,2	44,8 ± 3,2	52,8 ± 3,5
	C8	S	32,6 ± 8,4	64,0 ± 5,8	<LQ
	C9	S	28,0 ± 2,1	13,9 ± 1,9	<LQ
Camarão Aquacultura a granel - Congelado Cru	C10	NS	243 ± 22,0	80,1 ± 11,5	97,0 ± 8,6
Camarão Aquacultura a granel - Cozido	C11	NS	160,8 ± 8,4	61,4 ± 10,2	34,1 ± 11,1
Ceviche Carapau	Z1	S	11,4 ± 5,4	13,6 ± 5,6	<LQ
Ceviche Garoupa	Z2	S	17,4 ± 3,1	25,6 ± 10,0	<LQ
Cavala crua	Z3	S	10,0 ± 1,4	41,5 ± 2,2	<LQ
Cavala conserva	Z9	S	<LQ	<LQ	<LQ
Sardinha crua	Z5	S	<LQ	<LQ	<LQ
Sardinha conserva	Z8	S	<LQ	<LQ	<LQ
Salmão cru	Z7	S	10,1 ± 1,8	<LQ	<LQ
Tártaro de atum	Z4	S	13,5 ± 2,6	<LQ	<LQ

< LoQ – inferior ao limite de quantificação (< 9 mg/Kg)

*S – Satisfatório; NS – Não satisfatório > 100-200 mg/kg de acordo com Regulamento 2073/2005

Fonte: Elaboração Própria

Apesar dos resultados apresentados não serem referentes às mesmas amostras, as amostras da tabela 21, representam as concentrações de aminas em diversos tipos de pescado analisados para o estudo a que faz referência.

Relativamente às 22 amostras analisadas através do método cromatográfico, foi possível obter resultados sobre várias aminas biogénicas, no entanto foram selecionadas para apresentação as aminas que se revelam mais importantes para o estudo em questão, apontando assim primordialmente para os teores de histamina, putrescina e cadaverina.

Os resultados obtidos relativamente ao teor de histamina deste espaço amostral, foram bastante positivos uma vez que apenas uma amostra ultrapassou o limite legal de 200 mg/kg. A amostra anteriormente referida foi a amostra de camarão cru de aquacultura, escolhido a granel numa superfície comercial.

Esta foi a amostra que revelou maiores valores de putrescina e cadaverina, sendo este resultado coincidente com a bibliografia encontrada, no que diz respeito à correlação existente entre estas três aminas, que refere que estas duas são precursoras de histamina quando encontradas em maior quantidade e associadas a processos de descarboxilação dos seus aminoácidos percusores. Uma vez que a presença destas duas aminas, inibem a metabolização por parte de enzimas e por isso serem potencializadoras de toxicidade de histamina.

Uma outra amostra de camarão, neste caso cozido, foi também submetida à análise cromatográfica e apresentou valores de histamina e putrescina relativamente elevados. Apesar de não ultrapassarem os limites legais, apresentou um valor de teor de histamina de 160 mg/kg o que significa que está muito perto do limite imposto pela União Europeia. Mais uma vez o camarão vem apresentar valores pouco satisfatórios revelando que, possivelmente estes resultados surgem como resultado de microrganismos oriundos de inadequados processos de manipulação e de uma fraca manutenção das cadeias de conservação durante todo o processo de transporte e comercialização desta matéria-prima.

A Amostra F2, uma das amostras de atum fresco, apresentou o valor de histamina precisamente no limite legal, sendo o seu resultado de 199 mg/kg. Apesar de não existir um limite de quantificação para a putrescina e cadaverina, entendeu-se que o valor de putrescina correspondente a esta amostra, demonstrou ser bastante elevado sendo de 184 mg/kg, apesar do valor de cadaverina foi inferior ao limite de quantificação.

As restantes amostras analisadas apresentam valores bastante positivos, demonstrando um grande nível de segurança alimentar das mesmas, revelando reduzidos níveis de toxicidade por parte de aminas biogénicas.

Todas as amostras analisadas, com exceção das amostras de camarão, são amostras pertencentes à família de peixe gordos. Este tipo de peixe, é considerado bastante propício ao desenvolvimento de aminas biogénicas. Dado isto, curiosamente nenhuma das amostras de túnídeos se revelou produtora de grandes quantidades de histamina exceto a Amostra F2

Paralelamente a esta análise cromatográfica de aminas biogénicas, foram realizadas também no INSA análises ao teor de aminoácidos de diversos tipos de peixe, em diversas estações do ano. Apesar das amostras analisadas cromatograficamente, não serem as mesmas, estas análises permitiram entender a relação entre a quantidade de aminoácidos existentes e a sua relação com a

Precusores de Aminoácidos Biogénicos no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade
 produção de aminos, sendo possível realizar uma comparação e comprovar os resultados obtidos
 na bibliografia existente.

Na tabela 22 estão reunidos os resultados presentes num estudo de Dieta Total, realizado
 com amostragem representativa do consumo de pescado a nível nacional, que indica a quantidade
 de aminoácidos presentes em cada espécie de peixe, sendo que para o presente estudo foram apenas
 seleccionadas as espécies mais relevantes para a amostragem realizada, assim como os resultados
 relativos às concentrações dos aminoácidos precursoras das aminos que são tidas em ênfase durante
 este trabalho – a histidina, lisina e arginina. Encontram-se em negrito os valores das amostras que
 no estudo apresentam valores de histidina mais elevados.

Tabela 22 - Quantificação de aminoácidos através de análise HPLC dos diferentes tipos de peixe.

Amostra	His	Lys	Arg
Bacalhau fresco	315,5	1221,9	924,2
Bacalhau fresco	359,9	855,8	1016,0
Carapau	587,8	1402,1	1105,3
Carapau	635,1	1184,6	1152,9
Cavala	1398,3	1422,5	1521,2
Cavala	1266,1	1750,0	1420,7
Cavala	1283,5	1869,0	1501,3
Cavala	1354,3	1732,4	1573,2
Cavala	972,3	1391,1	1678,2
Cavala	862,0	1676,8	1423,6
Sardinha	783,8	1358,3	1150,8
Sardinha	854,1	1257,3	1212,0
Sardinha	791,2	1213,5	993,9
Sardinha	908,0	1124,0	1140,0
Sardinha	924,8	1171,8	1251,5
Sardinha	908,4	1196,6	1235,7
Sardinha	706,4	1208,5	1132,0
Sardinha	665,3	1275,5	1082,1
Atum fresco	1913,9	1739,4	1664,7
Atum fresco	1880,3	2039,9	1739,4
Camarão	440,0	1099,9	1907,5
Camarão	387,1	1205,2	1729,8
Bacalhau	490,9	1287,6	1462,4
Bacalhau	449,1	1486,6	1382,0
Atum de conserva	2040,6	1012,4	1312,4
Atum de conserva	2160,1	863,0	1373,7

Fonte: Motta, C., Matos, A., Soares, A., Gonzalez, G., Castanheira, I., Cabral, I., Tavares, N., Nicolai, M. (2020).

O camarão apesar de não ter níveis elevados de histidina e lisina, apresentou níveis bastante elevados de arginina em ambas as amostras analisadas. Demonstrando ser um alimento com mais aptidão para o desenvolvimento de cadaverina, estes valores elevados de cadaverina foram encontrados nas análises feitas ao camarão a granel e sendo que a cadaverina é um precursor de histamina, estes valores encontrados na seguinte avaliação podem ser explicados por essa percussão.

As amostras analisadas de atum fresco revelaram valores elevados histidina, arginina e lisina, no entanto as amostras de atum em conserva apenas revelaram resultados elevados de histidina.

Outra amostra que revelou elevados níveis destes 3 aminoácidos foram as amostras de cavala, no entanto as amostras de cavala analisadas relativamente à quantidade de aminas biogénicas não revelaram toxicidade.

Relativamente aos resultados obtidos na análise cromatográfica do conteúdo de aminoácidos, os resultados foram bastante reveladores indicando que os peixes com maior conteúdo em aminoácidos foram o atum e a cavala. As amostras com maior teor de histidina foram as amostras de atum, sendo que as espécies que possuem maior teor de histidina livre, têm maior propensão a desenvolver teores tóxicos de histamina.

Estes valores vão de acordo com a bibliografia encontrada que refere que o atum, a cavala e a sardinha são as espécies que apresentam uma maior produção de histidina livre (Al Bulushi et al, 2009).

4. CONCLUSÕES

A alergia alimentar é um quadro clínico complexo de grande variedade e que exige um diagnóstico integrado e profundo envolvendo diversas entidades clínicas ligadas a diferentes áreas científicas.

Os estudos realizados em relação à prevalência de alergias em diversos produtos oriundos da pesca, revelam alguma incerteza de resultados uma vez que grande parte da bibliografia encontrada tem como fundamento a realização de inquéritos populacionais e a análise desses mesmos inquéritos, havendo assim poucos estudos publicados que interpretem casos específicos desta patologia específica em parâmetros clínicos.

É notória a análise incerta em alguma bibliografia encontrada uma vez que esta é suportada em resultados complexos, obtidos através de um demorado e detalhado processo de diagnóstico individual que envolve uma história clínica completa e concisa de cada doente.

É possível assumir que as alergias aos produtos de pesca estão a aumentar nos países ocidentais, embora as maiores referências deste tipo de patologia serem reportadas em países orientais, onde o consumo de peixe e marisco é bastante superior e é uma das bases da alimentação deste povo desde idades muito iniciais.

Segundo a Organização Mundial de Alergia, as alergias alimentares em geral estão a aumentar em países industrializados, assumindo que cerca de 20-30% da população tem algum tipo de alergia alimentar (Schafer et al., 2001)

Apesar de nos dias de hoje o consumo de carne ser superior ao consumo de peixe na cultura gastronómica portuguesa, o peixe e o marisco assumem uma grande importância na dieta mediterrânea e por esse motivo este tipo de alimento também ter alguma representatividade quando se aborda o assunto das alergias alimentares em Portugal. A alergia ao peixe e marisco assume um papel sério no número de casos que acabam por desencadear reações de hipersensibilidade grave, levando a quadros de anafilaxia e em alguns casos podendo até levar à morte do indivíduo.

Ao longo deste estudo foram entendidas as principais características dos diferentes mecanismos que são precursores de quadros de alergia alimentar, ou de mecanismos não imunológicos que levam a quadros semelhantes aos da alergia, e que por esse motivo são alvo de confusão. Foi neste ponto que a primeira questão do objetivo do estudo foi respondida.

Quando este tipo de alergia é desencadeado através de mecanismos de resposta imunológica, e estes por norma são reflexo de reações mediadas por IgE a proteínas específicas existentes nos diferentes tipos de alimentos. No caso do peixe, a parvalbumina revela-se como a principal

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade referêcia e, conseqüentemente, a que tem maior ênfase quando se trata de elaborar um diagnóstico clínico desta patologia. Esta proteína está presente em quantidades relativamente elevadas nos músculos dos vertebrados inferiores, como é o caso dos peixes e por esse motivo é encontrada em grandes quantidades neste tipo de pescado.

A outra proteína que assume um papel fulminante para diagnóstico de alergias alimentares, mas neste caso em marisco e crustáceos, é a tropomiosina. Esta é frequentemente indicada segundo a OMS como sendo reativa alérgicamente em alimentos como caranguejo, camarão, ostra e lagosta, tendo sido identificada em pelo menos 10 tipos diferentes de crustáceos e em 6 tipos de moluscos. No entanto, não é só no pescado que esta proteína existe, verificando-se também uma relação de reatividade cruzada entre ácaros, nematóides e outros crustáceos sendo por isso possível associar que algumas pessoas que desenvolvam alergia alimentar a este tipo de alimentos possam também apresentar alergias a ácaros e possíveis doenças do foro respiratório associadas.

Foi possível distinguir quais as principais vias de precursão e de influência para o desenvolvimento de reações adversas devido ao pescado. Elas podem então ser químicas, microbiológicas, de mecanismo imunológico ou não imunológico.

No entanto, mais do que qualquer outro produto alimentar, os produtos de pesca são frequentemente associados a intoxicações por aminas biogénicas, sendo estas outro dos principais mecanismos para o desenvolvimento de intoxicações por histamina que é um mediador alérgico naturalmente presente no nosso organismo. Sendo que a abordagem a esta matéria vem responder à segunda questão em objetivo neste estudo.

As aminas biogénicas são compostos minoritários não nutritivos existentes nos alimentos. Estas são resultado da descarboxilação dos aminoácidos e da aminação e transaminação de cetonas e aldeídos com coação de microrganismos bacterianos. Podendo assim surgir como consequência do desenvolvimento de microrganismos que inevitavelmente estão ligados não só às propriedades do próprio alimento, como também aos processos de manutenção/transporte/manuseamento após o abate e confeção dos mesmos.

Os fatores microbiológicos estão intrinsecamente relacionados ao processo de descarboxilação dos aminoácidos percusores, uma vez que a sua produção está intimamente ligada à estratégia de sobrevivência dos microrganismos em ambientes ácidos, sendo também por vezes um suplemento alternativo de energia metabólica quando as células se encontram expostas a condições desfavoráveis de substrato. As aminas podem também ter origem por contaminação bacteriana ou viral por norma associadas a contaminações pelas águas, de manipulação ou contaminação cruzada. Estas têm a particularidade de não serem totalmente destruídas através do tratamento térmico, tratamentos por salmoura ou outros métodos de conservação.

No entanto, é possível admitir, segundo ensaios experimentais uma diferença significativa no desenvolvimento de aminas biogénicas em peixe congelado, que aquando da descongelação, evidenciam menor quantidade de aminas biogénicas quando comparados a peixe fresco. Este facto é explicado pela diminuição da microflora durante o processo de congelação uma vez que resulta dos danos ocorridos no ADN do alimento.

Em suma, apesar de existirem alguns métodos preventivos na sua produção, é possível constatar que muito dificilmente as aminas podem, após o seu desenvolvimento, serem efetivamente destruídas por qualquer um destes métodos.

É possível concluir que os peixes de carne vermelha como é o caso dos tunídeos produzem maiores quantidades de histamina, uma vez que são peixes que naturalmente apresentam maiores teores de histidina livre, e por este motivo esta espécie de peixe ter sido bastante analisada ao longo do estudo.

A histamina quando se encontra de forma isolada, é relativamente mais fácil de ser metabolizada pelo organismo, neste caso através do sistema digestivo, por enzimas como as amina-oxidase MAO, DAO e HNMT. No entanto, pessoas que tenham quadros de alergia alimentar podem por vezes não produzir este tipo de enzimas levando a quadros abruptos de intoxicação.

Podemos assim concluir que os principais mecanismos de percussão alérgica são desencadeados por diversas fontes intrinsecamente ligadas ao alimento.

Numa tentativa de comprovar e acompanhar as conclusões obtidas na bibliografia encontrada procedeu-se a três fases de atividade prática. Em primeiro lugar, procedeu-se à análise microbiológica de diferentes pratos com diferentes tipos de pescado. Em segundo lugar, procedeu-se à análise química, avaliando o teor de aminoácidos e de teores de aminas biogénicas. Em terceiro lugar, procedeu-se à uma análise populacional, onde foi avaliada a predisposição deste tipo de patologia clínica numa determinada população.

Com os resultados obtidos na atividade experimental microbiológica, procedeu-se ao cruzamento de vários resultados através do método qui-quadrado para obter conclusões mais concisas. Foi também utilizado o “Guia de interpretação de resultados de ensaios microbiológicos – INSA” para análise de resultados obtidos das experiências laboratoriais, assim como para contextualização e interligação dos resultados laboratoriais e estatísticos.

Relativamente aos resultados obtidos nas experiências, foi possível reunir alguns resultados chave onde podemos destacar que não existe relação entre o resultado da apreciação das amostras e o facto destas terem sido submetidas a transporte, uma vez que assim como as amostras com apreciação não satisfatória, as amostras com apreciação satisfatória submetidas a transporte,

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade tiveram resultados de 14%, não demonstrando relevância científica na sua comparação, uma vez que ambas apresentaram o mesmo resultado.

Quando relacionado, o grupo e o subgrupo de alimentos a que as amostras se referem e o seu resultado relativamente à sua apreciação, foi possível concluir que existe uma tripla relação entre a forma de confeção, o alimento em questão e a sua apreciação microbiológica. Através destes resultados foi clara a relação entre a apreciação e o tipo de pescado a que esta se refere. O atum revelou ser a amostra com maior número de resultados insatisfatórios.

Outra conclusão chave possível de retirar destas relações feitas, foi relativamente aos resultados obtidos nas apreciações microbiológicas relativas aos grupos 2C (alimentos totalmente cozinhados que posteriormente são adicionados a produtos hortícolas/ frutos crus) e 1B (alimentos totalmente cozinhados que são posteriormente manipulados após confeção), onde estes apresentaram o maior número de resultados de apreciação negativa. Em suma, foi possível concluir através desta análise que os resultados negativos obtidos surgem como possíveis resultados de contaminações cruzadas entre alimentos já confeccionados e alimentos por confeccionar, uma vez que são alimentos que não sofreram o mesmo tipo de tratamento térmico.

Os microrganismos preponderantes nesta análise, foram CAM (17%), as *Enterobactireaceae* (15%) e as *Escherichia coli*. Estes são microrganismos que revelam maioritariamente indicadores de higiene e de contaminação fecal, logo, indicam que advêm da forma incorreta de manipulação e confeção das amostras. Com os resultados das atividades experimentais, foi possível obter resultados relativamente à amostra de camarão cozido de aquacultura, que apresentou o pior resultado relativamente a estes parâmetros microbiológicos anteriormente falados, estes resultados foram também possíveis de relacionar com o resultado obtido na análise química que revelou elevado teores de histamina uma vez que as *Enterobactireaceae* são microrganismos precusores de aminas como a histamina.

Este resultado deve-se a problemas de contaminações cruzadas e de falta de manutenção das cadeias de frio.

Foi possível também observar que apesar dos valores não serem suficientemente altos para serem considerados não satisfatórios, uma das amostras de atum revelou também ser uma das amostras com maior quantidade de *Enterobactereaceas*, que uma vez mais, são precursoras de histamina.

Relativamente à atividade experimental realizada através do método cromatográfico esta foi dividida em duas partes. Numa foi possível obter resultados relativamente aos diferentes teores de aminas biogénicas, e na outra fase foi possível avaliar os teores de aminoácidos existentes nos diferentes tipos de peixe nas diferentes alturas do ano.

As aminas biogénicas mais importantes para o estudo em questão são a histamina, a putrescina e a cadaverina. Os resultados desta análise, foram bastante positivos uma vez que no espaço amostral analisado apenas uma amostra revelou teores de histamina superiores ao legalmente impostos. Coincidentemente, o mesmo tipo de peixe também revelou os maiores teores de putrescina e cadaverina, indo de acordo com a bibliografia encontrada que assume uma relação direta entre estas três aminas, assumindo que as duas últimas são precursoras de histamina.

Apesar dos valores microbiológicos apontarem para o atum como sendo o tipo de peixe com maiores teores de microrganismos patogénicos, nas amostras analisadas a nível químico o atum apresentou resultados bastante positivos relativamente aos teores de histamina. Apenas uma amostra assumiu valores de histamina mais elevados e não ultrapassou o limite máximo exigido pela UE.

A segunda fase da análise química através de HPLC, foi a análise dos teores de aminoácidos, sendo fundamental para responder à terceira questão objetivo do estudo em questão. Foi então possível concluir que o camarão apesar de não apresentar níveis de histidina e lisina livre relevantes, apresenta níveis de argina consideráveis o que resulta após a sua descarboxilação em teores elevados de cadaverina que posteriormente potencialização o desenvolvimento de histamina, sendo assim possível relacionar estes resultados com os anteriormente discutidos nas outras análises.

A cavala foi o peixe que revelou maior concentração dos três aminoácidos precusores de aminas, no entanto quando analisados paralelamente os teores de aminas presentes neste tipo de peixe não houve relevância nos resultados. O atum fresco também revelou níveis elevados dos três aminoácidos, no entanto o atum em conserva apenas revelou resultados significativos relativamente à histidina livre.

Podemos então concluir que estes resultados vão ao encontro do que é referido na bibliografia consultada, que indica que os peixes com maiores teores de histidina livre são o atum, a cavala e a sardinha.

Relativamente à terceira parte da atividade experimental, o questionário à população, foi possível entender que existe uma quantidade significativa de indivíduos com alergias alimentares. A alergia alimentar a produtos do mar, assume uma importância considerável na amostra estudada (11,73%) e vai ao encontro da bibliografia consultada que refere que esta é uma das principais alergias alimentares encontradas entre indivíduos.

Esta relevância de resultados, surge como consequência deste tipo de alimentos ser bastante propenso na dieta mediterrânea e ter uma grande importância na alimentação dos portugueses desde há muitos séculos. As propensões alérgicas estão intimamente ligadas à disponibilidade dos

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade
alimentos na alimentação de cada tipo de população, por esse motivo podemos concluir que culturas gastronómicas com maior ênfase em alimentos ligados ao mar em indivíduos que têm uma maior pré-disponibilidade em desenvolver em alergias a estes mesmo, como acontece, segundo a bibliografia, nos países asiáticos que têm hábitos alimentares muito baseados em produtos do mar.

Outra conclusão retirada deste questionário, foi que existe uma relação entre os indivíduos com doenças respiratórias e simultaneamente com alergia alimentar diagnosticada (77,3%).

Quando perguntado aos inquiridos se estes tinham um diagnóstico clínico dos diferentes tipos de alergia relatados, apenas 30,5% diz ter um diagnóstico clínico conciso. A maior parte destes dizem ter acompanhamento clínico (70,3%). Este é um dado que alertou para a necessidade de uma estrutura mais efetiva quando se trata de diagnóstico clínico deste tipo de patologia, uma vez que reações de hipersensibilidade graves podem levar indivíduos à morte.

Foi possível também concluir que as idades em que se manifestaram as primeiras reações alérgicas são as chamadas idades de mudança no organismo e de muitas vezes, hábitos alimentares, tendo sido possível destacar idades até aos 14 anos de idade (36,9%) e em idades após os 21 anos de idade (41,7%). Apesar disso estes resultados estão também intimamente ligados com outra questão realizada neste mesmo questionário que indica que o primeiro contacto com o alimento alérgico se dá após os 14 anos de idade (37,7%).

Este tipo de alimentos em que o primeiro contacto é após os 14 anos, engloba alimentos como alguns tipos de peixe e marisco uma vez que o marisco não é um alimento inserido na alimentação nos primeiros anos de vida. Já que os alimentos que uma criança até aos dois anos de idade mantem contacto são alimentos da cadeia base da alimentação como é o caso do leite, peixes magros, carne e alguns legumes e frutas.

O segundo resultado com maior significância relativo ao primeiro contacto com o alimento alérgico é na faixa etária até os 2 anos de idade, o que releva como anteriormente dito, um cruzamento de dados entre estas duas questões realizadas no questionário. Por este mesmo motivo a proteína do soro do leite foi relatada com sendo a que tem maior incidência alérgica.

Para concluir, foi possível assumir que os sintomas gastroenterológicos são os com maior incidência entre os inquiridos o que também vai ao encontro da bibliografia encontrada, sendo relatados por 54,3% neste inquérito realizado.

Apesar das amostras analisadas na microbiologia e na química não serem as mesmas, é possível fazer uma comparação entre os resultados obtidos nas duas análises, uma vez que ambas os estudos foram realizados em espaços amostrais significativos que permitem uma comparação relevante das mesmas.

BIBLIOGRAFIA

- Al Bulushi, I., Poole, S., Deeth, H., & Dykes, G. (2009). Biogenic Amines in Fish: Roles in Intoxication Spoilage, and Nitrosamine Formation - A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49, 369-377.
- Arosa, F., Cardoso, E., Pacheco, F. (2012). *Fundamentos de Imunologia*. Lisboa, LIDEL.
- Bernardo, I. (2017). *Avaliação de riscos e benefícios da população portuguesa, crianças em idade pré-escolar e adultos, associados ao consumo de espécies de peixe alvo*. (Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar) Universidade de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Branca, F. (2020). Everyone's business, every day in WHO, *World Food Safety Day 2020. Overview of an inspiring virtual celebration*. FAO/WHO, Roma.
- Boyce, J., Assa'ad, A., Burks, A., Jones, S., Sampson, H., Wood, R. (2010). Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126, 1-58.
- Brinker, C., Kerr, M., Rayner, C. (2002). *Investigation of biogenic amines in fish and fish products*. Victorian Government Department of Human Services: Public Health Division, Austrália.
- Chen, Q., Marques-Vidal, P. (2007). Trends in food availability in Portugal in 1966-2003: Comparison with other Mediterranean countries. *European Journal of Nutrition*, 46, 418-427.
- Cianferoni, A., Spergel, J. (2009). Food allergy: review, classification and diagnosis. *Allergy International*, 58, 457-466.
- Connett, G., Gerez, I., Cabrera-Morales, E., Yuenyongviwait, A., Ngamphaiboon, J., Chatchatee, P., Lee, B. (2012). A Population-Based Study of Fish Allergy in the Philippines, Singapore and Thailand. *International Archives of Allergy and Immunology*, 159, 384-390.
- Costa, C. (2018). *Alergia a Peixe*. (Trabalho final do Mestrado Integrado em Medicina, Área Científica de Imunologia Clínica), Universidade de Coimbra, Faculdade de Medicina.
- Direção-Geral da Saúde (2020). *Regulamento Sanitário Internacional*, Obtido de Serviço Nacional Saúde: www.dgs.pt/autoridade-de-saude-nacional/regulamento-sanitario-internacional.aspx.
- Doeun, D., Davaatseren, M., Chung, M.-S. (2017). Biogenic Amines in Foods. *Food Science and Biotechnology*, 26, 1463-1474.
- Du Toit, G. K. (2008). Early consumption of peanuts in infancy is associated with a low prevalence of peanut allergy. *Journal of Allergy Clinical Immunology*, 122, 984-991.
- Durak-Dados, A., Michalski, M., Osek, J. (2020). Histamine and other biogenic amines in food. *Journal of Veterinary Research*, 64, 281-288.
- Eggesbo, M., Halvorsen, R., Tambs, K., & Botten, G. (1999). Prevalence of parentally perceived adverse reactions to food in young children. *Pediatric Allergy and Immunology*, 10(2), 122-132.
- Ferreira, S. (2012). Histamina em pescado no âmbito dos dados provenientes do sistema de alerta rápido – RASFF. *Riscos e Alimentos*, 4, 20-23

- Flick, G., Granata, L. (2005). Biogenic Amines in Foods. In Dabrowski, W. M., Sikorski, Z. E. (Ed.) *Chemical and Functional Properties of Food Components*. CRC Press, Boca Raton, 121-154.
- Fu, L., Wang, C., Wang, J., Ni, S., & Wang, Y. (2019). Maillard reaction with ribose, galactooligosaccharide or chitosan-oligosaccharide reduced the allergenicity of shrimp tropomyosin by inducing conformational changes. *Food Chemistry*, 274, 789-795.
- Gajewski, K. G., Hsieh, Y. P. (2009). Monoclonal Antibody Specific to a Major Fish Allergen: Parvalbumin. *Journal of Food Protection*, 72(4), 818-825.
- Gaudin, J. C., Rabesona, H., Yeretssian, G., Chobert, J.M., Sakanyan, V., Drouet, M., Haertlé, T. (2008). Assessment of the immunoglobulin E-mediated immune response to milk-specific proteins in allergic patients using microarrays. *Clinical and Experimental Allergy*, 38(4), 686-693.
- Gomes, M., Pires, B., Francalanza, S., Marin, V. (2014). O risco das aminos biogénicas nos alimentos. *Ciência & Saúde Coletiva*, 19(4).
- Gouveia, I. (2013). *Avaliação da produção de aminos biogénicas por lactobacillus, staphylococcus e enterococcus isolados de produtos cárneos fermentados/fumados portugueses*. (Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Segurança Alimentar), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- Gouveia, N. (2009). *Desenvolvimento de uma metodologia analítica para determinação de aminos biogénicas em tunídeos*. (Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Bioquímica Aplicada), Universidade da Madeira, Funchal.
- Houhoula, D., Dinitriou, P., Mengjezi, G., Kyra, V., & Lougovois, V. (2015). Quantification of Parvalbumin in Commercially Important Mediterranean Seafood Species using Real Time PCR. *Czech Journal of Food Sciences*, 33 (2), 143-147.
- Huss, H. (1997). *Garantia da qualidade dos produtos de pesca*. FAO: Documento técnico sobre pescas, 176.
- INE (2021). *Balança Alimentar Portuguesa 2016-2020*. Instituto Nacional de Estatística, Lisboa.
- INSA (2019). *Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar. Valores Guia*. Lisboa, INSA.
- INSA (2019 b, fevereiro). *Missões e Atribuições*. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. <https://www.insa.min-saude.pt/category/institucional/missao-e-atribuicoes/>
- INSA (2019 c, fevereiro). *Áreas Científicas*. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. <http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/PSDC/Unidades/Paginas/UnidadeInvestigacao.aspx>
- International Food Safety Authorities (INFOSAN). (2006). Food Allergies.
- Jiang, N., Xu, W., Xiang, L. (2021). Age-related differences in characteristics of anaphylaxis in Chinese children from infancy to adolescence. *World Allergy Organization Journal*, Volume 14, Issue 11.
- Jorge, A., Soares, E., Sarinho, E., Lorente, F., Gama, J., Taborda-Barata, L. (2017). Prevalence and clinical features of adverse food reactions in Portuguese children. *Allergy Asthma & Clinical Immunology*, 13(40).
- Kirsch, S., Fourdrilis, S., Dobson, R., Scippo, M., De Pauw, E. (2009). Quantitative methods for food allergens: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395, 57-67.

- Kordiovská, P., Vorlová, L., Borkovcová, I., Karpišková, R., Butchtová, H., Svobodová, Z., Křížek, M., Vácha, F. (2006). The dynamics of biogenic amine formation in muscle tissue of carp (*Cyprinus carpio*). *Czech Journal of Animal Science*, 6, 262-270.
- Lee, P.-W., A. Nordlee, J., J. Koppelman, S., L. Baumert, J., & L. Taylor, S. (2012). Measuring parvalbumin levels in fish muscle tissue: Relevance of muscle locations and storage conditions. *Food Chemistry*, 135(2), 502-507.
- Lehane, L., Olley, J. (2000). Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology*, 58(1-2), 1-37.
- Lozoya-Ibáñez, C., Morgado-Nunes, S., Rodrigues, A., Lobo, C., Taborda-Barata, L. (2016). Prevalence and clinical features of adverse food reactions in Portuguese adults. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 12(36).
- Mahan, L., Janice, L. (2017). *Krause's food & the nutrition care process*. Elsevier.
- Mattos, D., Verícimo, M., Clemente, S. (2013). O Pescado e os Cestóides Trypanorhyncha - Do aspecto higiênico ao potencial alergênico. *Veterenária Notícias*, 19(2), pp. 127-139.
- Morais de Almeida, M., Prates, S., Pargana, E., Aréde, C., Godinho, N., Tavares, C., Martins, P., Rosa, E., Pires, G., Gaspar, A., Pinto, J. (1999). Alergia alimentar em crianças numa consulta de imunoalergologia. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, 7(3), 167-171.
- Morii, H., Cann, D., Taylor, L., & Murray, C. (1986). Formation of Histamine by Luminous Bacteria Isolated from Scombroid Fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52, 2135-2141.
- Motta, C., Matos, A., Soares, A., Gonzalez, G., Castanheira, I., Cabral, I., Tavares, N., Nicolai, M. (2020). Amino acid profile of foods from the Portuguese Total Diet Pilot Study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 92, 103545.
- Nahal, T., & Farag, H. (2005). Histamine and histamine producing bacteria in some local and important fish and their public health significance. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 329-336.
- Okamoto, M., Takafuji, S., Inoue, S., Tanaka, Y. (2021). Fish allergy tolerance 16 months after diagnosis. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 49(5): 25-27.
- Önal, A. (2007). A review: current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 103 (4), 1475-1486.
- Osterballe, M., Hansen, T., Mortz, C., Host, A., Bindsley-Jensen, C. (2005). The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults. *Pediatric Allergy and Immunology*, 16 (7), 567-573.
- Patrocínio, I. (2009). *A Segurança Alimentar no consumo de pescado cru com valência para a produção de Sushi*. (Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar) Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Lisboa.
- Reese, G., Ayuso, R., Lehrer, S. (1999). Tropomyosin: An Invertebrate Pan-Allergen. *International Archives of Allergy Immunology*. 119 (4), 247-258.
- Comissão Europeia 2004, Reg. (CE) 852/2004, CAC/RCP 39-1993,7.10.4. Jornal Oficial da União Europeia. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:139:0001:0054:pt:PDF>
- Ruethers, T., Taki, A., Johnston, E., Nugraha, R., Le, T., Kalic, T., McLean, T., Kamath, S., Lopata, A. (2018). Seafood Allergy: A comprehensive review of fish and shellfish allergens. *Molecular Immunology*, 100, 28-57.

- Santos, A., Pedro, E., Ferreira, M., Costa, C., Delgado, L., Santos, M. (2014). Curso de Alergénios e Imunoterapia- Abordagem Molecular. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, 22(4), 291-301.
- Santos, M. (1996). Biogenic Amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 29(2-3), 213-231.
- Shäfer, T., Böhler, E., Ruhdorfer, S., Weigi, L., Wessner, D., Filipiak, H., Wichmann, J. (2001). Epidemiology of contact allergy in adults. *Allergy*, Volume 56, Issue 22, 1192-1196.
- Shalaby, A. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29(7), 675-690.
- Sharp, M., Lopata, A. (2013). Fish Allergy: In Review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 46(3), 258-271.
- Sicherer, S., Muñoz-Furlong, A., Sampson, H. (2004). Prevalence of seafood allergy in the United States determined by a random telephone survey. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(1), 159-165.
- Silva, A., Kennedy, L., Hasan, S., Cohen, A., Heeley, D. (2020). Demonstration of beta-tropomyosin (TPM3) and duplication of the alpha-slow tropomyosin gene (TPM3) in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 245.
- Soares, M., Gonçalves, A. (2017). Seafood quality and safety. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 71(1), 1-10.
- União Europeia (2016). *Factos e números sobre a política comum das pescas*. Luxemburgo, Serviço das Publicações da União Europeia.
- Untersmayr, E., & Jensen-Jarolim, E. (2008). The role of protein digestibility and antacids on food allergy outcomes. *Journal of Allergy Clinical Immunology*, 121(6), 1301-1308.
- Vasco, E., Dias, M., Oliveira, L. (2021). The first harmonised total diet study in Portugal: Planning, sample collection and sample preparation. *Food Chemistry*, 363.
- Vieira, R. (2015). *Alergénios Alimentares: um estudo sinóptico*. (Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
- Visness, C., London, S., Daniels, J., Kaufman, J., Yeatts, K., Siega-Riz, A., Liu, A., Calatroni, A., Zeldin, D. (2009). Association of obesity with IgE levels and allergy symptoms in children and adolescents: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123(5), 1163-1169.
- Waserman, S., Watson, W. (2011). Food Allergy. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 7.

ANEXOS

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade
ANEXO 1 (VALORES GUIA INSA 2019)

Tabela 1: "Valores-guia INSA" – Grupos e Subgrupos de alimentos prontos para consumo

Grupo 1 – Alimentos que sofreram tratamento térmico

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
1A	<p>_Alimentos totalmente cozinhados, não manuseados após o tratamento térmico</p> <p>estão incluídos os alimentos fracionados em porções individuais e os que levam cobertura colocada em quente</p> <p>e</p> <p>_Alimentos reconstituídos a partir de um produto desidratado, com exceção das FDL</p>	<p>Pratos/aperitivos, servidos quentes</p> <p>Pratos servidos quentes, sopas.</p> <p>Alimentos de <i>Cook-chill</i> e <i>Cook-freeze</i>, após o reaquecimento/regeneração.</p> <p>Pratos/aperitivos, servidos frios</p> <p>Bolinhos/pastéis de bacalhau, bolas de bacalhau/carne, croquetes, empadas, filetes de peixe, folares, panados, pastéis de carne/marisco/peixe, pizzas, quiches/tartes salgadas, rissóis.</p> <p>Pastelaria e sobremesas</p> <p>Aletria, arroz doce, leite-creme e tapioca sem canela, biscoitos e bolachas, bolo de chocolate com e sem cobertura, compotas, <i>croissants</i>, frutas assadas ou cozidas, gelatinas, mousses instantâneas, pastéis de nata, pudins, queques, tartes de maçã.</p>
1B	<p>_Alimentos totalmente cozinhados, manuseados após o tratamento térmico</p> <p>estão incluídos os alimentos adicionados de componentes processados, com baixo pH ou baixo a_w, como açúcar em pó, coco ralado, especiarias, frutos secos, maionese, mel, <i>ketchup</i>, xaropes de caramelo, de chocolate, de fruta, etc. ou congelados</p>	<p>Pratos/aperitivos, servidos frios</p> <p>Crepes com recheio, salada russa com maionese, saladas frias de arroz/batata/massa, produtos hortícolas cozinhados com delicias do mar/atum/bacalhau/frango/pato/peixe desfiados e/ou frutos secos, amêndoas, nozes e pinhões.</p> <p>Alimentos de <i>Cook-chill</i> e <i>Cook-freeze</i>, antes do reaquecimento/regeneração.</p> <p>Crustáceos e moluscos bivalves cozidos.</p> <p>Pastelaria e sobremesas</p> <p>Aletria, arroz doce, leite-creme e tapioca com canela, bolas de Berlim, <i>éclair</i>s, <i>bavaroises</i>, <i>cheesecake</i> e gelados com natas ultrapasteurizadas (UHT).</p> <p>Crepes com recheio e/ou cobertura, mousse de bolachas/biscoitos, rolo/torta de laranja, saladas de fruta em calda, salame de chocolate.</p> <p>Sandes</p> <p>Cachorro, hambúrguer no pão, prego no pão, sandes de atum/carne assada /panado.</p> <p>Bebidas</p> <p>Tisanas/chás com aromas.</p>
1C	<p>_Alimentos com componentes totalmente cozinhados adicionados de componentes pasteurizados conservados em refrigeração</p> <p>não incluídos no Grupo 1B</p>	<p>Pratos/aperitivos, servidos frios</p> <p>Fiambres/mortadelas fatiados, saladas frias de arroz/massa com fiambre.</p> <p>Pastelaria e sobremesas</p> <p>Gelados preparados com natas frescas, tartes com natas frescas, pastéis recheados com natas frescas.</p> <p>Sandes</p> <p>Sandes de fiambre/mortadela/queijo flamengo.</p>
1D	<p>_Fórmulas desidratadas para lactentes (FDL) reconstituídas</p>	<p>FDL reconstituídas, em biberão ou em copo.</p>

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Grupo 2 – Alimentos compostos de alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de componentes crus ou carne ou peixe crus, prontos para consumo

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
2A	_Alimentos compostos estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados adicionados de frutos/produzidos hortícolas crus, em que os crus constituem apenas um apontamento, ou estavam congelados	Pratos/aperitivos Pratos cozinhados decorados com leves apontamentos de produtos hortícolas frescos (ex. coentros, hortelã, manjeriço, salsa) ou frutos (ex. morango ou rodela de laranja/limão/tomate). Sobremesas Gelados de fruta. Bebidas Batidos de fruta congelada.
2B	_Alimentos compostos estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de frutos crus com ou sem molhos	Pastelaria e sobremesas Bolos/pastéis/tartes contendo fruta fresca, bolos/pastéis/tartes de natas frescas com frutas frescas, saladas de frutas com mistura de fruta fresca e fruta em calda. Bebidas Batidos de fruta.
2C	_Alimentos compostos estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de produtos hortícolas crus podendo incluir frutos crus	Pratos/aperitivos Prato de carne/peixe/ovos contendo mistura de vegetais ou frutos crus. Paté de atum/camarão/delicias do mar com cebola, húmus, salada de feijão-frade com salsa, cebola e ovo cozido, saladas mistas compostas de alimentos cozinhados e vegetais crus. Sandes Sandes contendo produtos hortícolas (ex. alface, cebola, cenoura, tomate, rúcula) frescos.
2D	_Alimentos compostos e/ou com queijo (fabricado com leite cru), carne/peixe crus estão incluídos queijos (fabricados com leite cru), carne/peixe/marisco crus/marinados/fumados/salgados acompanhados ou não de alimentos totalmente cozinhados/frutos/produzidos hortícolas/algas crus	Pratos/aperitivos Sushi, Sashimi, Nigiri, Maki, Ceviche, Tártaro e Carpaccio de peixe/carne. Sandes Sandes de chouriço/presunto/salmão fumado com ou sem alface, cebola, tomate.

Grupo 3 – Frutos e produtos hortícolas crus

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
3A	_Frutos e produtos hortícolas crus cortados, ou preparados para consumo no próprio dia, com ou sem molhos, podendo incluir um pequeno apontamento de alimentos totalmente cozinhados _Sumos de frutos e/ou de produtos hortícolas frescos, para consumo no próprio dia	Fruta ao natural descascada, morangos e outros frutos vermelhos, saladas de frutas, saladas de produtos hortícolas crus (ex. alface, agrião, cebola, cenoura, rúcula, tomate), com ou sem molhos (ex. maionese, vinagrete) e com ou sem beterraba/milho cozidos. Bebidas Sumos de ananás/beterraba/cenoura/espinafres/frutos vermelhos/laranja/limão/tomate.
3B	_Frutos e produtos hortícolas crus minimamente processados (IV gama), incluindo Baby Leaf e rebentos	Fruta ao natural descascada, morangos e outros frutos vermelhos, saladas de frutas, saladas de produtos hortícolas crus (ex. alface, agrião, cebola, cenoura, rúcula, tomate), com ou sem molhos (ex. vinagrete, maionese).

Grupo 4 – Alimentos ou seus componentes contendo flora específica própria

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
NA	_Alimentos ou seus componentes contendo flora específica própria, classificar como Grupo 4 quando a flora específica interfere no ensaio ou de acordo com o Grupo (1, 2, 3) e Subgrupo respetivo	FDL contendo probióticos (4+1D), salada de alface com molho de iogurte (4+3A).

NA - Não Aplicável

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Tabela 4: "Valores-guia INSA" - interpretação da qualidade microbiológica/estado higiénico

Nível da qualidade microbiológica		Nível do estado higiénico	
Alimentos prontos para consumo	Satisfatório Todos os resultados de todos os parâmetros são satisfatórios	Superfícies do ambiente de preparação/distribuição alimentar	Satisfatório Todos os resultados de todos os parâmetros são satisfatórios
	Questionável Um ou mais do que um parâmetro com resultado questionável		
	Não satisfatório Um ou mais do que um parâmetro com resultado não satisfatório	Não satisfatório	
	Não satisfatório/potencialmente perigoso Um ou mais do que um parâmetro com resultado não satisfatório/potencialmente perigoso	Um ou mais do que um parâmetro com resultado não satisfatório	

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Tabela 5: "Valores-guia INSA" - microrganismos patogénicos e toxinas em alimentos prontos para consumo

Microrganismos patogénicos e toxinas	Resultado Contagem (ufc/g ou ufc/ml) ou Pesquisa (em 25 g) Nota 1			
	Satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório/ potencialmente perigoso	Testes de referência
<i>Bacillus cereus</i> Nota 2	<10 ³	10 ³ – ≤10 ⁵	>10 ⁵	Confirmar a capacidade de produzir toxina, tipificação molecular
Outros <i>Bacillus</i> spp. patogénicos	<10 ⁴	10 ⁴ – ≤10 ⁶	>10 ⁶	Tipificação molecular
<i>Clostridium perfringens</i>	<10 ²	10 ² – ≤10 ⁴	>10 ⁴	Tipificação molecular, deteção do gene codificador da toxina na estirpe isolada
Estafilococos coagulase positiva	<10	10 ² – ≤10 ⁴	>10 ⁴	Tipificação molecular, deteção da patogenicidade (deteção do gene codificador da toxina na estirpe isolada ou verificar se a estirpe é produtora de toxina), resistência aos antimicrobianos
<i>Listeria monocytogenes</i>	Não detetado	Detetado	>10 ²	Tipificação molecular e serotipagem das estirpes isoladas
<i>Campylobacter</i> spp.	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular, resistência aos antimicrobianos
<i>Cronobacter</i> spp.	Não detetado	NA	Detetado	
Enterotoxina estafilocócica	Não detetado	NA	Detetado	Identificação do grupo da toxina
<i>Escherichia coli</i> verotoxigénico (VTEC)	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular, resistência aos antimicrobianos
<i>Escherichia coli</i> patogénicos (EPEC, ETEC, EIEC, EAEC, DAEC)	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular, resistência aos antimicrobianos
Norovírus	Não detetado	NA	Detetado	
<i>Salmonella</i> spp.	Não detetado	NA	Detetado	Serotipagem, tipificação molecular, resistência aos antimicrobianos
<i>Shigella</i> spp.	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular
<i>Vibrio cholerae</i>	Não detetado	NA	Detetado	Serotipagem, tipificação molecular
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Não detetado	NA	Detetado	Serotipagem, tipificação molecular

NA – Não Aplicável

ufc/g – unidades formadoras de colónias por grama

ufc/ml – unidades formadoras de colónias por mililitro

Nota 1 – Usualmente, o ensaio é realizado em 25 g ou em 25 ml de alimento por teste analítico; uma porção diferente pode ser requerida para algumas situações (ex. amostra insuficiente, preconizado em normas, investigação de surtos de toxinfecção alimentar).

Nota 2 – FDL reconstituídas (Subgrupo 1D) – os limites a considerar são: Satisfatório <5x10⁴; Não satisfatório 5x10⁴-10⁵; Não satisfatório/potencialmente perigoso >10⁵.

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Tabela 6: "Valores-guia INSA" - microrganismos indicadores de higiene e de alteração em alimentos prontos para consumo

Microrganismos indicadores de higiene e de alteração	Grupo e Subgrupos	Resultado Contagens (ufc/g ou ufc/ml)		
		Satisfatório	Questionável	Não satisfatório
Microrganismos a 30 °C/Contagem de aeróbios mesófilos	1A, 1D ^{Nota 1}	<10 ³	10 ³ - ≤10 ⁴	>10 ⁴
	1B 2A	<10 ⁴	10 ⁴ - ≤10 ⁵	>10 ⁵
	1C 2B	<10 ⁵ razão CAM/BAL ≤100 ^{Nota 2}	10 ⁵ - ≤10 ⁶	>10 ⁶
	2D	<10 ⁶ razão CAM/BAL ≤100 ^{Nota 2}	10 ⁶ - ≤10 ⁷	>10 ⁷
	2C 3A, 3B	<10 ⁶ razão CAM/BAL ≤100 ^{Nota 2}	10 ⁶ - ≤10 ⁸	>10 ⁸
	4 ^{Nota 1}	<10 ⁶ razão CAM/BAL ≤100 ^{Nota 2}	10 ⁶ - ≤10 ⁸	>10 ⁸ razão CAM/BAL >100
Leveduras	1A, 1B, 1D 2A	<10 ³	10 ³ - ≤10 ⁴	>10 ⁴
	1C 2B, 2D	<10 ⁴	10 ⁴ - ≤10 ⁵	>10 ⁵
	2C, 3 4 ^{Nota 1}	<10 ⁵ NA	10 ⁵ - ≤10 ⁶ NA	>10 ⁶ NA
Bolores	1, 2, 3	<5x10 ²	5x10 ² - ≤10 ³	>10 ³
	4 ^{Nota 1}	NA	NA	NA
Enterobacteriaceae a 37 °C	1A, 1B	<10 ²	10 ² - ≤10 ³	>10 ³
	1D	Não detetado em 10 ml ou em 10 g ^{Nota 3}	Detetado em 10 ml ou em 10 g e ≤10 ²	>10 ²
	2A	<10 ³	10 ³ - ≤10 ⁴	>10 ⁴
	1C 2B, 2C, 2D 3A	<10 ⁴	10 ⁴ - ≤10 ⁵	>10 ⁵
	3B	<10 ⁵	10 ⁵ - ≤10 ⁶	>10 ⁶
Escherichia coli	1	<10 (Não detetado)	NA	≥10
	2	<10 (Não detetado)	10 - ≤10 ²	>10 ²
	3	<10 (Não detetado)	10 - ≤10 ²	>10 ²
Listeria spp.	Todos os grupos	<10	10 - ≤10 ²	>10 ²

NA - Não Aplicável

ufc/g - unidades formadoras de colónias por grama

ufc/ml - unidades formadoras de colónias por mililitro

CAM - Microrganismos aeróbios mesófilos

BAL - Bactérias ácido-láticas

Nota 1 - Aplicável quando a flora específica interfere neste ensaio.

Nota 2 - Sempre que o resultado dos "Microrganismos a 30 °C" for superior ao VMR e inferior ou igual ao VMA, deverá ser tida em conta a razão CAM/BAL na interpretação do resultado em amostras que contenham componentes pasteurizados e/ou incluam componentes com flora específica própria.

Nota 3 - Sempre que se detetem Enterobacteriaceae a amostra deve ser submetida a testes para deteção de Cronobacter spp..

ANEXO 2 – Resultados Microbiológicos tratados relativamente às amostras recolhidas entre 2015-2017

Nº LINHA	TIPO PESCADA	GRUPO ANÁLISE	APRECIACÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2015							
8	PESCADA	1A	S	NÃO			
12	PESCADA	1A	S	NÃO			
13	PESCADA	1A	S	NÃO			
19	PESCADA	1A	S	SIM			
18	PESCADA	2C	NS	NÃO			
22	PESCADA	2C	NS	NÃO			
23	PESCADA	2C	NS	SIM			
49	PESCADA	2C	S	NÃO			
53	PESCADA	2C	NS	NÃO			
54	PESCADA	2C	Q	SIM			
55	PESCADA	2C	NS	SIM			
57	PESCADA	1A	S	SIM			
82	PESCADA	1A	Q	NÃO			
91	PESCADA	1A	Q	NÃO			
94	PESCADA	2C	NS	NÃO			
96	PESCADA	1A	S	NÃO			
106	PESCADA	1A	S	NÃO			
123	PESCADA	1A	S	NÃO			
124	PESCADA	1B	S	SIM			
126	PESCADA	2A	S	NÃO			
134	PESCADA	1A	S	NÃO			
140	PESCADA	1A	S	NÃO			
144	PESCADA	2C	NS	NÃO			
152	PESCADA	1B	Q	SIM			
161	PESCADA	1B	NS	NÃO			
164	PESCADA	1A	S	NÃO			
169	PESCADA	1A	S	NÃO			
172	PESCADA	2C	NS	SIM		Estafilococoos +	
180	PESCADA	1A	S	NÃO			
181	PESCADA	1B	NS	NÃO			
182	PESCADA	1A	NS	NÃO			
189	PESCADA	2C	NS	NÃO			
191	PESCADA	1A	S	SIM			
201	PESCADA	1A	S	NÃO			
202	PESCADA	1A	S	NÃO			
218	PESCADA	1A	S	NÃO			
223	PESCADA	1A	S	SIM			
232	PESCADA	1A	S	NÃO			
238	PESCADA	2C	S	SIM			
239	PESCADA	2C	Q	NÃO			
260	PESCADA	2C	Q	NÃO			
261	PESCADA	1A	Q	NÃO			
262	PESCADA	1A	NS	SIM			

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2015							
267	PESCADA	2C	NS	NÃO			
268	PESCADA	2C	NS	NÃO			
294	PESCADA	1A	S	NÃO			
296	PESCADA	1A	S	NÃO			
297	PESCADA	1A	S	NÃO			
5	ABROTEA	1A	NS	SIM			
132	ABROTEA	1A	Q	SIM			
133	ABROTEA	1A	Q	NÃO			
156	ABROTEA	1A	Q	NÃO			
175	ABROTEA	2A	S	NÃO			
176	ABROTEA	2A	S	NÃO			
193	ABROTEA	2A	S	NÃO			
206	ABROTEA	1A	S	NÃO			
216	ABROTEA	1A	S	NÃO			
237	ABROTEA	1A	S	NÃO			
6	ATUM	1A	Q	NÃO			
14	ATUM	2C	NS	NÃO			
15	ATUM	1B	Q	NÃO			
48	ATUM	1B	NS	NÃO			
51	ATUM	2C	Q	SIM			
52	ATUM	2C	Q	NÃO			
61	ATUM	2C	NS	NÃO			
65	ATUM	2C	NS	NÃO			
66	ATUM	2C	NS	NÃO			
89	ATUM	1B	NS	NÃO			
98	ATUM	1A	S	NÃO			
99	ATUM	1A	Q	NÃO			
100	ATUM	1B	S	NÃO			
101	ATUM	1B	Q	SIM			
104	ATUM	1A	S	NÃO			
115	ATUM	2C	NS	NÃO			
116	ATUM	1B	NS	NÃO			
117	ATUM	1B	NS	SIM			
127	ATUM	2C	S	NÃO			
128	ATUM	1B	NS	SIM			
135	ATUM	1A	S	NÃO			
136	ATUM	2C	NS	NÃO			
155	ATUM	1B	NS	NÃO			
157	ATUM	1B	NS	NÃO			
158	ATUM	1B	NS	NÃO			
166	ATUM	1B	S	NÃO			
171	ATUM	1B	NS	NÃO			
179	ATUM	1A	S	NÃO			
197	ATUM	1B	Q	NÃO			
200	ATUM	1B	Q	NÃO			
205	ATUM	1A	S	NÃO			

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIAÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2015							
207	ATUM	1B	S	NÃO			
208	ATUM	1A	S	NÃO			
215	ATUM	2C	NS	NÃO			
220	ATUM	2C	Q	NÃO			
226	ATUM	1A	Q	NÃO			
229	ATUM	1A	S	NÃO			
230	ATUM	1A	S	NÃO			
236	ATUM	2C	NS	NÃO			
248	ATUM	2C	NS	NÃO			
247	ATUM	2C	NS	NÃO			
255	ATUM	2C	NS	NÃO			
266	ATUM	1A	S	NÃO			
275	ATUM	2C	NS	NÃO			
276	ATUM	1A	NS	NÃO			
277	ATUM	1A	S	NÃO			
279	ATUM	1B	Q	NÃO			
7	BACALHAU	1A	S	NÃO			
25	BACALHAU	2C	Q	NÃO			
26	BACALHAU	2C	S	SIM			
31	BACALHAU	2C	NS	NÃO			
34	BACALHAU	2C	NS	SIM			
39	BACALHAU	1A	S	NÃO			
63	BACALHAU	1A	S	NÃO			
64	BACALHAU	2C	S	NÃO			
107	BACALHAU	2C	Q	NÃO			
108	BACALHAU	1A	S	NÃO			
111	BACALHAU	1A	S	NÃO			
114	BACALHAU	2A	Q	NÃO			
118	BACALHAU	1A	S	NÃO			
119	BACALHAU	1B	NS	NÃO			
129	BACALHAU	1B	S	NÃO			
131	BACALHAU	2C	S	NÃO			
139	BACALHAU	2C	NS	NÃO			
141	BACALHAU	2C	S	NÃO			
148	BACALHAU	1A	S	NÃO			
153	BACALHAU	2C	Q	NÃO			
170	BACALHAU	1A	S	NÃO			
173	BACALHAU	1A	S	SIM			
184	BACALHAU	2A	NS	NÃO			
185	BACALHAU	1A	Q	NÃO		B.cereus	
186	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
188	BACALHAU	2C	NS	NÃO			
192	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
194	BACALHAU	1A	S	NÃO			
198	BACALHAU	1A	S	NÃO			
203	BACALHAU	2C	NS	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2015							
209	BACALHAU	1B	NS	NÃO		B.cereus	
211	BACALHAU	2A	NS	NÃO			
213	BACALHAU	1A	S	NÃO			
219	BACALHAU	2A	Q	SIM			
227	BACALHAU	1A	S	NÃO			
233	BACALHAU	1A	S	NÃO			
264	BACALHAU	1A	S	NÃO			
271	BACALHAU	2A	Q	NÃO			
272	BACALHAU	1A	S	NÃO			
273	BACALHAU	1A	S	NÃO			
274	BACALHAU	1A	S	NÃO			
280	BACALHAU	2C	NS	NÃO			
281	BACALHAU	1A	S	SIM			
282	BACALHAU	2A	Q	NÃO			
284	BACALHAU	2A	NS	NÃO			
306	BACALHAU	1A	S	NÃO			
307	BACALHAU	1A	S	NÃO			
310	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
312	BACALHAU	1A	S	NÃO			
9	CAVALA	2C	NS	NÃO			
27	CAVALA	2C	NS	NÃO			
28	CAVALA	2C	NS	NÃO			
29	CAVALA	2C	NS	NÃO			
67	CAVALA	2C	Q	NÃO			
68	CAVALA	2C	NS	NÃO			
69	CAVALA	2C	S	NÃO			
10	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	2C	S	NÃO			
36	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	2C	NS	NÃO			
37	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1A	NS	NÃO			
109	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1A	S	SIM			
78	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	2C	Q	NÃO			
79	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	2C	Q	NÃO			
110	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	2C	NS	NÃO			
16	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
17	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO			
24	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			
30	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
33	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
38	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
43	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
44	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	SIM			
45	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
47	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	SIM			

Precursores de Aminas Biogênicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2015							
49	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	S	NÃO			
58	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
59	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			
72	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	SIM			
73	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
76	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO			
77	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
83	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			
93	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
97	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	SIM			
105	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
120	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			
121	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			
125	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
130	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	SIM			
138	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			
147	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	SIM			PRESENTE
149	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO			
159	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			
160	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			
161	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	NS	NÃO			
163	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	NÃO		B.cereus	
165	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
167	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO			
196	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
197	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
210	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
228	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO			
235	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2A	S	NÃO			
241	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
242	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
243	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	NS	SIM			
245	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
253	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO			
254	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			
263	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2A	Q	NÃO			
269	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
270	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2A	NS	NÃO			
285	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
286	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
287	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
288	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
293	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
295	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	SIM			
311	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
312	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIAÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2015							
20	CAMARÃO	1A	S	NÃO			
21	CAMARÃO	1A	Q	NÃO			
40	CAMARÃO	1A	S	NÃO			
177	CAMARÃO	1A	Q	SIM			
181	CAMARÃO	1B	NS	NÃO			
217	CAMARÃO	1A	S	NÃO			
304	ARENCA	1A	Q	NÃO			
146	CHOCO	1A	S	NÃO			
290	CHOCO	1A	S	NÃO			
291	CHOCO	1A	S	NÃO			
62	TITUREIRA	1A	Q	SIM			
162	TITUREIRA	1B	NS	NÃO			
289	TRUTA	1A	S	SIM			
240	RAIA	2C	Q	NÃO			
187	RED FISH	1A	Q	NÃO			
92	MARUCA	1A	S	NÃO			
145	PEIXE ESPADA	1A	S	SIM			
11	RANCHO	1A	S	NÃO			
80	RANCHO	1A	S	NÃO			
84	RANCHO	1A	S	NÃO			
95	RANCHO	1A	S	NÃO			
122	RANCHO	1A	S	NÃO			
244	RANCHO	1A	S	NÃO			
249	RANCHO	1A	S	NÃO			
250	RANCHO	1A	S	NÃO			
292	RANCHO	1A	S	NÃO			
303	RANCHO	1A	S	NÃO			
35	CARAPAU	2C	Q	NÃO			
137	CARAPAU	2C	Q	NÃO			
212	CARAPAU	1A	Q	NÃO			
308	CARAPAU	1A	Q	NÃO			
41	VALENCIANA	2C	Q	NÃO			
42	VALENCIANA	2C	NS	NÃO			
90	VALENCIANA	1A	S	NÃO			
225	VALENCIANA	1A	S	NÃO			
50	LULA	1A	S	SIM			
150	LULA	1A	Q	NÃO			
151	LULA	1A	Q	SIM			
252	LULA	2A	S	NÃO			
56	POTA	1A	S	NÃO			
74	POTA	2A	S	NÃO			
178	POTA	2A	S	NÃO			
199	POTA	1A	S	NÃO			
300	POTA	1A	S	NÃO			
112	PERCA	2C	Q	NÃO			
183	PERCA	1A	S	NÃO			

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIACÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2015							
301	PERCA	1A	NS	SIM			
251	TAMBORIL	2A	NS	NÃO			PRESENTE
309	TAMBORIL	1A	S	NÃO			
231	ALABOTE	1A	S	NÃO			
298	ALABOTE	1A	S	NÃO			
195	LINGUADO	1A	S	SIM			
46	SALMÃO	1A	NS	NÃO			
142	SALMÃO	1A	S	SIM			
143	SALMÃO	1A	Q	SIM			
214	SALMÃO	1A	NS	SIM		B.cereus	
222	SALMÃO	2A	S	NÃO			
224	SALMÃO	1A	S	NÃO			
287	SALMÃO	1A	S	NÃO			
60	CORVINA	1A	S	NÃO			
299	SUSHI	2D	NS	NÃO			
81	SOLHA	1A	Q	NÃO			
113	SOLHA	1A	S	SIM			
168	SOLHA	1A	Q	SIM			
174	SOLHA	1A	S	NÃO			
183	SOLHA	1A	S	NÃO			
302	SOLHA	1A	Q	NÃO			
85	PANGA	1B	Q	NÃO			

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIACÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2016							
2	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	NÃO		CAM/EB	PRESENTE
4	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
10	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	NÃO			
13	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
22	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	SIM		CAM/EB	
24	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	S	NÃO			
33	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
39	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
40	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	NÃO		CAM	
41	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
46	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	SIM			
47	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
59	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
63	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	S	NÃO			
64	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	NÃO			
94	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
105	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
121	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	SIM			
143	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	SIM			
147	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIACÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2016							
149	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO	X	CAM	
153	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	NÃO			
155	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
158	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
164	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
197	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	SIM			
202	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
206	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
231	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
241	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO		EC	
245	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO		EC	
256	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	NÃO			
258	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO		EC	
290	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	SIM			
304	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	SIM		CAM/EB	
308	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
315	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	SIM	X	CAM/EB/EC	
325	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	SIM			
355	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	NÃO		EB/EC	
3	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
6	BACALHAU	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
7	BACALHAU	1A	S	NÃO			
17	BACALHAU	1A	S	NÃO			
18	BACALHAU	2C	Q	NÃO			
28	BACALHAU	1A	Q	SIM			
35	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
51	BACALHAU	1B	S	NÃO			
52	BACALHAU	1B	Q	NÃO			
53	BACALHAU	1B	Q	NÃO			
69	BACALHAU	2C	NS	SIM		CAM	
84	BACALHAU	1A	S	NÃO			
89	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
91	BACALHAU	2A	NS	NÃO		CAM/EB	
103	BACALHAU	1A	S	SIM			
111	BACALHAU	1A	Q	SIM			
112	BACALHAU	1A	S	NÃO			
22	BACALHAU	2C	Q	SIM			
123	BACALHAU	1A	S	NÃO			
154	BACALHAU	1A	S	NÃO			
162	BACALHAU	1A	NS	NÃO		EB/EC/STA	
173	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
176	BACALHAU	1A	S	NÃO			
184	BACALHAU	1A	NS	NÃO		EB	
209	BACALHAU	1A	S	NÃO			
233	BACALHAU	2A	Q	NÃO			
244	BACALHAU	1A	S	SIM			
261	BACALHAU	1A	Q	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIACÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2016							
267	BACALHAU	2A	Q	NÃO			
275	BACALHAU	1A	NS	SIM		CAM/EB/EC	
291	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
292	BACALHAU	1A	NS	NÃO		CAM/EB/EC/B.cereus	
299	BACALHAU	1A	S	NÃO			
302	BACALHAU	1A	S	NÃO			
333	BACALHAU	1A	S	NÃO			
338	BACALHAU	1A	S	SIM			
348	BACALHAU	2A	S	NÃO			
349	BACALHAU	1A	S	NÃO			
156	BACALHAU	1A	NS	NÃO		CAM	
203	BACALHAU	1A	S	NÃO			
5	ATUM	2C	Q	NÃO			
9	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB	
11	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB	
12	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB	
30	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB	
55	ATUM	2C	Q	NÃO			
56	ATUM	2C	Q	NÃO			
57	ATUM	2C	NS	NÃO		B.cereus	
71	ATUM	2A	NS	NÃO		CAM/EB	
87	ATUM	2A	NS	NÃO		CAM/EB	
90	ATUM	1A	S	NÃO			
92	ATUM	1B	Q	NÃO			
96	ATUM	2C	Q	NÃO			
140	ATUM	1A	S	NÃO			
150	ATUM	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
160	ATUM	1A	S	NÃO			
166	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB	
167	ATUM	1B	NS	NÃO		EC/EB	
175	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB/EC	
177	ATUM	1A	Q	NÃO			
180	ATUM	1B	Q	NÃO			
186	ATUM	1B	Q	NÃO			
187	ATUM	1B	NS	NÃO	X	CAM/EB	
188	ATUM	1B	S	NÃO			
210	ATUM	1B	NS	NÃO		EB	
213	ATUM	1B	S	NÃO			
219	ATUM	1B	NS	SIM		CAM	
247	ATUM	1B	Q	NÃO			
257	ATUM	1A	S	NÃO			
277	ATUM	1B	NS	NÃO	X	CAM/EB	
278	ATUM	1B	NS	NÃO	X	CAM/EB/EC	
293	ATUM	1B	S	SIM			
326	ATUM	1A	Q	SIM			
327	ATUM	1A	S	NÃO			
332	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB/EC	

Precursores de Aminas Biogênicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2016							
334	ATUM	1B	S	NÃO			
336	ATUM	1B	NS	NÃO		EB/EC	
344	ATUM	1B	Q	NÃO			
8	PESCADA	1A	Q	NÃO			
14	PESCADA	2C	NS	NÃO	X	CAM/EB	
15	PESCADA	2C	NS	NÃO	X	EB	
16	PESCADA	1A	Q	NÃO			
27	PESCADA	1A	S	NÃO			
36	PESCADA	1A	Q	NÃO			
42	PESCADA	1A	S	NÃO			
43	PESCADA	2C	Q	NÃO			
44	PESCADA	2C	Q	NÃO			
61	PESCADA	1A	S	NÃO			
62	PESCADA	1A	Q	NÃO			
63	PESCADA	1B	S	NÃO			
75	PESCADA	1A	S	NÃO			
95	PESCADA	1A	S	NÃO			
107	PESCADA	1A	S	NÃO			
108	PESCADA	1A	S	NÃO			
110	PESCADA	2A	Q	NÃO			
115	PESCADA	1A	S	SIM			
116	PESCADA	1A	NS	NÃO		CAM	
130	PESCADA	2C	NS	NÃO	X	CAM/EB	
131	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
132	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
133	PESCADA	1A	S	NÃO			
134	PESCADA	2C	S	SIM			
144	PESCADA	1A	Q	NÃO			
146	PESCADA	1A	S	NÃO			
148	PESCADA	2C	NS	NÃO	X	CAM	
153	PESCADA	1B	Q	NÃO			
155	PESCADA	1A	S	NÃO			
158	PESCADA	1A	S	NÃO			
182	PESCADA	1B	NS	NÃO		CAM/EB/EC	
201	PESCADA	1A	NS	NÃO		CAM	
204	PESCADA	1A	Q	NÃO			
212	PESCADA	1B	Q	NÃO			
214	PESCADA	1A	Q	NÃO			
225	PESCADA	1B	NS	NÃO		CAM/EB	
229	PESCADA	1A	S	NÃO			
232	PESCADA	1A	Q	NÃO			
236	PESCADA	1A	S	NÃO			
242	PESCADA	1A	S	NÃO			
246	PESCADA	2A	S	NÃO			
251	PESCADA	1A	S	NÃO			
252	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB/B.cereus	
253	PESCADA	2C	Q	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2016							
254	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
255	PESCADA	2C	NS	NÃO	X	CAM/EB	
256	PESCADA	1B	Q	NÃO			
259	PESCADA	1A	NS	SIM		EB/EC	
269	PESCADA	1A	Q	NÃO		EB	
270	PESCADA	1A	S	NÃO			
273	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
284	PESCADA	1A	S	NÃO			
296	PESCADA	1A	Q	NÃO			
305	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
306	PESCADA	1A	S	SIM			
307	PESCADA	1B	NS	NÃO		EC	
321	PESCADA	1A	S	NÃO			
322	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
323	PESCADA	2C	NS	NÃO		EB	
324	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB/EC	
329	PESCADA	1B	NS	NÃO		CAM	
339	PESCADA	1A	Q	NÃO			
37	PESCADA	2A	Q	NÃO			
185	PESCADA	1A	Q	NÃO			
216	PESCADA	1A	S	NÃO			
248	PESCADA	1A	S	NÃO			
301	PESCADA	1A	Q	SIM			
207	PESCADA	2C	S	NÃO			
208	PESCADA	2C	NS	SIM	X	CAM/EB	
19	CALDEIRADA	1A	S	NÃO			
76	CALDEIRADA	1A	S	NÃO			
104	CALDEIRADA	1A	S	NÃO			
128	CALDEIRADA	2A	Q	NÃO			
224	CALDEIRADA	1A	S	NÃO			
279	CALDEIRADA	1A	S	SIM			
340	CALDEIRADA	1A	S	NÃO			
345	CALDEIRADA	1A	S	NÃO			
20	PERCA	1A	S	SIM			
21	PERCA	1A	Q	NÃO			
237	PERCA	1A	Q	NÃO			
23	CHOCO	1A	S	NÃO			
31	CHOCO	1A	S	NÃO			
38	CHOCO	1A	S	NÃO			
161	CHOCO	1A	S	SIM			
178	CHOCO	2C	S	NÃO			
179	CHOCO	1A	S	NÃO			
190	CHOCO	1A	S	NÃO			
240	CHOCO	1A	S	NÃO			
25	SOLHA	1A	Q	SIM			
26	SOLHA	2C	Q	NÃO			
58	SOLHA	1A	S	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIACÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2016							
189	SOLHA	1A	S	NÃO			
192	SOLHA	1A	S	NÃO			
39	DELICIAS DO MAR	2C	NS	NÃO	X	CAM/EB	
34	ABROTEA	1A	Q	NÃO			
171	ABROTEA	1A	NS	NÃO		CAM/EB	
221	ABROTEA	1A	S	NÃO			
169	ABROTEA	1B	S	NÃO			
194	ABROTEA	1A	S	NÃO			
283	ABROTEA	1A	Q	NÃO			
288	ABROTEA	1A	S	SIM			
289	ABROTEA	1A	NS	SIM		CAM/EB	
45	PANGA	1A	S	SIM			
88	PANGA	1A	S	NÃO			
181	PANGA	1A	S	NÃO			
54	PALOCO	1A	Q	SIM			
65	CAVALA	1A	S	NÃO			
66	CAVALA	2C	Q	NÃO			
67	CAVALA	2C	Q	SIM			
151	CAVALA	2C	Q	NÃO			
152	CAVALA	2C	NS	NÃO		EB/CAM	
294	CAVALA	1B	S	NÃO			
295	CAVALA	1B	S	NÃO			
309	CAVALA	1A	S	NÃO			
310	CAVALA	1A	S	NÃO			
311	CAVALA	1A	S	SIM			
328	CAVALA	1A	S	NÃO			
68	MARUCA	1A	S	NÃO			
118	MARUCA	1A	S	NÃO			
138	MARUCA	1A	Q	SIM			
139	MARUCA	1B	Q	SIM			
285	MARUCA	1A	NS	NÃO		CAM/EB	
72	CALAMARES (INDUSTRIAIS)	1A	S	NÃO			
174	CALAMARES (INDUSTRIAIS)	1A	Q	NÃO			
73	CARAPAU	1A	Q	NÃO			
77	CARAPAU	1A	S	NÃO			
341	CARAPAU	1A	S	NÃO			
352	CARAPAU	1A	S	NÃO			
250	CAMARÃO	1A	S	NÃO			
330	CAMARÃO	1A	S	NÃO			
350	CAMARÃO	2C	Q	NÃO		EB	
93	CORVINA	1A	NS	NÃO		EB	
97	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1B	Q	SIM			
98	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1B	Q	NÃO			
99	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1B	S	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIACÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2016							
100	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1B	Q	NÃO			
101	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1B	S	NÃO			
157	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1A	Q	SIM			
193	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	2C	NS	NÃO		EB	
198	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1A	S	NÃO			
227	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1A	S	SIM			
266	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1A	S	NÃO			
297	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1B	NS	NÃO		EB	
298	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	1B	Q	NÃO			
102	VALENCIANA	1A	S	NÃO			
114	VALENCIANA	1A	S	NÃO			
129	VALENCIANA	1A	S	NÃO			
70	SALMÃO	1B	NS	NÃO		CAM/EB/EC	
106	SALMÃO	1A	S	NÃO			
113	SALMÃO	1A	S	NÃO			
125	SALMÃO		Q	NÃO			
135	SALMÃO	1A	S	SIM			
136	SALMÃO	1A	S	SIM			
137	SALMÃO	1A	S	SIM			
165	SALMÃO	1A	Q	NÃO			
170	SALMÃO	1B	NS	NÃO		CAM/EB	
183	SALMÃO	1A	S	NÃO			
199	SALMÃO	2C	NS	NÃO		EB	
217	SALMÃO	1A	S	SIM			
218	SALMÃO	1A	S	NÃO			
220	SALMÃO	1A	S	NÃO			
228	SALMÃO	1A	Q	NÃO			
235	SALMÃO	1A	NS	NÃO		EB	
238	SALMÃO	1A	S	NÃO			
280	SALMÃO	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
281	SALMÃO	1A	S	NÃO			
282	SALMÃO	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
303	SALMÃO	1A	NS	NÃO		CAM/EB	
312	SALMÃO	1B	NS	NÃO	X	CAM/EB	
351	SALMÃO	1A	Q	NÃO			
117	ALABOTE	1B	S	NÃO			
211	ALABOTE	1A	Q	NÃO			
342	ALABOTE	1A	S	NÃO			
346	ALABOTE	1A	S	NÃO			
119	LULA	1A	S	NÃO			
120	LULA	1A	S	NÃO			
168	LULA	1A	S	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIACÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2016							
195	LULA	1A	S	NÃO			
300	LULA	1A	S	NÃO			
126	PEIXE ESPADA	1A	S	NÃO			
222	PEIXE ESPADA	1A	S	NÃO			
127	TINTUREIRA	1A	S	NÃO			
234	TINTUREIRA	1A	S	NÃO			
141	POTA	1A	Q	NÃO			
142	POTA	1A	Q	NÃO			
191	POTA	1A	Q	NÃO			
196	POTA	1A	S	NÃO			
200	POTA	1A	NS	NÃO		CAM/EB	
262	POTA	1A	S	SIM			
263	POTA	1A	NS	NÃO		CAM	
265	POTA	1A	Q	NÃO			
316	POTA	1A	NS	NÃO		CAM/EB	PRESENTE
317	POTA	1A	Q	NÃO			
318	POTA	1A	Q	NÃO			
319	POTA	1A	Q	NÃO			
145	CAÇÃO	1A	S	NÃO			
226	CAÇÃO	1A	S	NÃO			
314	CAÇÃO	1A	S	NÃO			
159	SARDINHA	1A	NS	NÃO		CAM/EB	
172	SARDINHA	2C	NS	NÃO	X	CAM/EB	
205	DOURADA	1A	S	NÃO			
215	POLVO	1A	S	NÃO			
243	POLVO	1A	S	NÃO			
249	POLVO	1A	S	NÃO			
223	ARINCA	1A	Q	NÃO			
274	ARINCA	1A	S	NÃO			
276	ARINCA	1A	Q	NÃO			
343	ARINCA	1A	S	NÃO			
347	ARINCA	1A	Q	NÃO			
230	CHAPUTA	2A	S	NÃO			
127	TINTUREIRA	1A	S	NÃO			
234	TINTUREIRA	1A	S	NÃO			
268	MARISCO (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
286	TAMBORIL	1A	S	NÃO			
331	TAMBORIL	2A	Q	NÃO			
337	RED FISH	2A	S	NÃO			
73	CARAPAU	1A	Q	NÃO			
77	CARAPAU	1A	S	NÃO			
341	CARAPAU	1A	S	NÃO			

Precursores de Aminas Biogênicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICRORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2017							
1	PESCADA	1A	S	NÃO			
4	PESCADA	1A	Q	NÃO			
7	PESCADA	1A	S	NÃO			
16	PESCADA	1A	S	NÃO			
40	PESCADA	1A	S	NÃO			
41	PESCADA	1A	S	NÃO			
43	PESCADA	1A	NS	NÃO		EB	
44	PESCADA	1A	S	NÃO			
45	PESCADA	1A	S	NÃO			
55	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
56	PESCADA	1B	Q	NÃO			
58	PESCADA	1A	Q	NÃO			
70	PESCADA	1A	S	NÃO			
79	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
81	PESCADA	2C	Q	SIM			
82	PESCADA	1A	S	NÃO			
83	PESCADA	1A	S	NÃO			
84	PESCADA	1A	S	NÃO			
96	PESCADA	1A	NS	NÃO		EC	
97	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
99	PESCADA	1B	Q	NÃO			
104	PESCADA	1B	S	SIM			
106	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM	
110	PESCADA	2C	NS	NÃO		EB	
135	PESCADA	1A	NS	NÃO		CAM/B.cereus	
136	PESCADA	1A	S	NÃO			
162	PESCADA	1A	S	NÃO			
171	PESCADA	1A	S	NÃO			
173	PESCADA	1A	S	NÃO			
174	PESCADA	1B	Q	NÃO			
184	PESCADA	1A	NS	NÃO		EC	
185	PESCADA	1A	Q	NÃO			
188	PESCADA	1B	S	NÃO			
191	PESCADA	1B	S	NÃO			
200	PESCADA	1A	Q	NÃO			
213	PESCADA	1A	S	NÃO			
239	PESCADA	1A	S	NÃO			
240	PESCADA	1A	S	NÃO			
241	PESCADA	1A	S	NÃO			
251	PESCADA	1A	Q	NÃO			
275	PESCADA	2C	Q	NÃO			
276	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
277	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
281	PESCADA	2C	Q	NÃO			
282	PESCADA	2C	NS	NÃO		CAM/EB/EC	
283	PESCADA	1A	S	NÃO			
285	PESCADA	1A	NS	SIM		CAM	

Precursores de Aminas Biogênicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICRORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2017							
286	PESCADA	1A	S	NÃO			
287	PESCADA	1B	S	NÃO			
288	PESCADA	1B	S	NÃO			
291	PESCADA	1B	S	NÃO			
296	PESCADA	1A	S	NÃO			
300	PESCADA	1A	S	NÃO			
302	PESCADA	1B	Q	SIM			
303	PESCADA	1A	Q	NÃO			
34	PESCADA	1A	Q	NÃO			
2	ATUM	1A	S	NÃO			
31	ATUM	1B	S	NÃO			
32	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB	
33	ATUM	1B	S	NÃO			
37	ATUM	1B	S	NÃO			
67	ATUM	2D	NS	NÃO		CAM/EB	
77	ATUM	1A	Q	NÃO			
86	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/BOLORES/B.cereus	
91	ATUM	1B	Q	NÃO			
93	ATUM	1B	S	NÃO			
114	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB	PRESENTE
115	ATUM	1B	NS	NÃO		EB/EC	
119	ATUM	2C	Q	NÃO			
123	ATUM	1A	S	NÃO			
128	ATUM	1B	Q	SIM			
131	ATUM	2C	NS	SIM		CAM	
132	ATUM	2C	NS	SIM		CAM	
133	ATUM	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
143	ATUM	2C	S	NÃO			
144	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM	
145	ATUM	1B	Q	SIM			
146	ATUM	1B	NS	SIM		CAM/EB/EC	
150	ATUM	2C	NS	SIM		CAM/EB/BOLORES	
151	ATUM	2C	Q	NÃO			
152	ATUM	2C	S	NÃO			
165	ATUM	2C	NS	SIM		CAM/EB	
167	ATUM	1A	S	SIM			
170	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM/EB	
181	ATUM	1B	NS	SIM		CAM/EB	
189	ATUM	2C	Q	NÃO			
190	ATUM	1A	Q	NÃO			
192	ATUM	1A	S	NÃO			
198	ATUM	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
209	ATUM	2C	S	NÃO			
210	ATUM	2C	Q	NÃO			
234	ATUM	2C	Q	NÃO			
235	ATUM	2C	NS	NÃO		EB	
236	ATUM	2C	NS	NÃO		EB	

Precursores de Aminas Biogênicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICRORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2017							
267	ATUM	2C	NS	NÃO		CAM/EB/EC	
269	ATUM	2D	NS	NÃO		CAM/EB	
3	SALMÃO	1A	S	NÃO			
12	SALMÃO	1A	S	NÃO			
63	SALMÃO	1A	NS	NÃO		CAM	
64	SALMÃO	1A	S	NÃO			
65	SALMÃO	1A	NS	NÃO		CAM	
66	SALMÃO	2D	S	NÃO			
68	SALMÃO	1A	S	NÃO			
90	SALMÃO	1A	S	NÃO			
109	SALMÃO	1A	S	NÃO			
111	SALMÃO	2C	Q	NÃO			
124	SALMÃO	1A	Q	NÃO			
156	SALMÃO	2C	Q	SIM			
226	SALMÃO	1A	Q	NÃO			
237	SALMÃO	1A	NS	SIM		EB	
257	SALMÃO	1A	S	NÃO			
5	ALABOTE	1A	S	NÃO			
242	ALABOTE	1A	Q	NÃO			
196	ARINCA	1A	S	NÃO			
57	POLVO	1A	S	NÃO			
59	POLVO	1A	S	NÃO			
13	SOLHA	1A	S	NÃO			
158	SOLHA	1A	S	NÃO			
17	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
21	BACALHAU	2C	Q	SIM			
24	BACALHAU	1A	S	NÃO			
25	BACALHAU	2C	Q	SIM			
36	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
46	BACALHAU	2C	NS	NÃO		CAM	
52	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
53	BACALHAU	1A	S	NÃO			
54	BACALHAU	2C	Q	NÃO			
73	BACALHAU	1A	S	NÃO			
74	BACALHAU	1A	S	SIM			
98	BACALHAU	2C	Q	NÃO			
121	BACALHAU	2C	NS	NÃO		EB	
122	BACALHAU	2A	S	NÃO			
125	BACALHAU	1A	S	NÃO			
153	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
157	BACALHAU	1A	S	NÃO			
159	BACALHAU	1A	S	NÃO			
169	BACALHAU	1A	S	NÃO			
179	BACALHAU	2A	NS	NÃO		EB	
195	BACALHAU	2A	NS	NÃO		CAM	
197	BACALHAU	1A	S	NÃO			
199	BACALHAU	1A	S	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICRORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2017							
201	BACALHAU	1A	NS	NÃO		CAM	
202	BACALHAU	2C	Q	NÃO			
206	BACALHAU	1A	S	NÃO			
223	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
233	BACALHAU	1A	Q	NÃO			
284	BACALHAU	2C	S	NÃO			
289	BACALHAU	1B	S	SIM			
292	BACALHAU	2C	Q	NÃO			
293	BACALHAU	2C	NS	SIM		CAM	
294	BACALHAU	2C	NS	NÃO			
19	PEIXE-ESPADA	1A	Q	NÃO			
20	PEIXE-ESPADA	2C	NS	NÃO			PRESENTE
22	PEIXE-ESPADA	1A	Q	NÃO			
23	PEIXE-ESPADA	1A	Q	NÃO			
27	CARAPAU	2C	Q	NÃO			
28	CARAPAU	2A	Q	NÃO			
30	CARAPAU	1A	S	NÃO			
273	CARAPAU	1A	Q	NÃO			
42	MARISCO	1A	Q	NÃO			
11	ABROTEA	1A	Q	NÃO			
47	ABROTEA	1A	Q	SIM			
80	ABROTEA	1A	S	NÃO			
278	ABROTEA	1A	Q	NÃO			
279	ABROTEA	1A	S	NÃO			
280	ABROTEA	1A	NS	NÃO		CAM	
50	CAVALA	1A	S	NÃO			
51	CAVALA	1A	S	NÃO			
92	CAVALA	1B	S	NÃO			
101	CAVALA	1B	S	NÃO			
102	CAVALA	1A	Q	NÃO			
103	CAVALA	2C	NS	SIM		CAM/EB	
245	CAVALA	1A	Q	NÃO			
246	CAVALA	1A	S	NÃO			
247	CAVALA	1A	S	NÃO			
248	CAVALA	1A	S	NÃO			
253	CAVALA	1A	S	NÃO			
254	CAVALA	1A	Q	NÃO			
255	CAVALA	1A	S	NÃO			
256	CAVALA	1A	Q	NÃO			
297	CAVALA	1A	Q	NÃO			
298	CAVALA	1A	S	NÃO			
299	CAVALA	1A	S	NÃO			
301	CAVALA	1A	NS	NÃO			
62	VALENCIANA	1A	S	SIM			
182	VALENCIANA	1A	NS	NÃO		EC	
187	VALENCIANA	1A	Q	NÃO			
205	VALENCIANA	1A	S	SIM	X		

Precursores de Aminas Biogênicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICRORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2017							
266	VALENCIANA	1A	S	NÃO			
3	SALMÃO	1A	S	NÃO			
12	SALMÃO	1A	S	NÃO			
63	SALMÃO	1A	NS	NÃO		CAM	
64	SALMÃO	1A	S	NÃO			
65	SALMÃO	1A	NS	NÃO		CAM	
66	SALMÃO	2D	S	NÃO			
67	SALMÃO	2D	NS	NÃO		CAM/EB	
68	SALMÃO	1A	S	NÃO			
90	SALMÃO	1A	S	NÃO			
109	SALMÃO	1A	Q	NÃO			
111	SALMÃO	1B	Q	NÃO			
124	SALMÃO	1A	Q	SIM			
156	SALMÃO	1B	Q	NÃO			
226	SALMÃO	1A	Q	NÃO			
237	SALMÃO	1A	NS	SIM		EB	
257	SALMÃO	1A	S	NÃO			
269	SALMÃO	2D	NS	NÃO		CAM/EB	
69	CHOCO	1A	S	NÃO			
193	CHOCO	2C	NS	NÃO		CAM	
268	CHOCO	1A	S	SIM			
72	DELICIAS DO MAR	1B	NS	NÃO		EB	
75	POTA	1A	S	NÃO			
117	POTA	1A	S	NÃO			
224	POTA	1A	S	NÃO			
229	POTA	1A	S	NÃO		EB	
244	POTA	2A	S	NÃO			
304	POTA	1B	NS	NÃO		CAM	
78	MARUCA	1A	S	NÃO			
107	MARUCA	1B	S	SIM			
108	MARUCA	1B	S	SIM			
112	MARUCA	1B	S	NÃO			
113	MARUCA	1B	NS	NÃO		EV	
129	MARUCA	1B	S	NÃO			
147	MARUCA	1B	S	SIM			
94	CORVINA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
95	CORVINA	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
105	CORVINA	2C	S	NÃO			
141	CORVINA	1A	S	SIM			
160	CORVINA	1A	S	NÃO			
249	CORVINA	1A	S	NÃO			
250	CORVINA	1A	Q	NÃO			
14	RED FISH	1A	Q	NÃO			
35	RED FISH	2C	NS	NÃO	X	CAM/EB	
120	CAMARÃO	1A	Q	NÃO			
137	CAMARÃO	1A	Q	NÃO			
161	CAMARÃO	1A	S	NÃO			

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICRORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2017							
175	CAMARÃO	1A	Q	NÃO			
186	CAMARÃO	1A	S	SIM			
243	CAMARÃO	1A	NS	NÃO		CAM/EB	
271	CAMARÃO	1A	Q	NÃO			
138	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
139	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	2C	Q	NÃO			
140	DOURADINHOS (INDUSTRIAL)	2C	NS	NÃO		CAM/EB/EC	
149	ESCAMUDO	1A	Q	NÃO			
166	PALOCO	1A	Q	SIM			
10	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	SIM			
18	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
19	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
20	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO			PRESENTE
22	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
23	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
38	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	SIM			
48	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
49	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
55	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	NÃO			
60	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
70	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO		CAM/EB	
71	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO			
83	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
87	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	S	NÃO			
88	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
89	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	NS	NÃO		EB	
111	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	NÃO			
113	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	S	NÃO			
127	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
163	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
169	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	SIM		CAM/EB	
172	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
177	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
180	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO		CAM/EC	
188	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	SIM			
194	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	S	NÃO			
217	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
225	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO		EB	
227	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
228	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
230	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	NÃO		EB/EC	
259	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
260	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	NÃO			
261	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
263	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICRORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2017							
264	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO			
265	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	NS	NÃO		EB	
272	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	2C	Q	NÃO			
290	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
291	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
295	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	NÃO		EB	
300	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	NÃO			
303	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	S	NÃO			

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICRORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2018							
3	ATUM	1A	S	NÃO			
8	ATUM	1A	S	SIM			
17	ATUM	1B	NS	NÃO		CAM	
34	ATUM	2A	NS	NÃO		CAM/EB	
36	ATUM	1B	NS	NÃO		EB	
45	ATUM	1B	S	NÃO			
46	ATUM	1A	S	NÃO			
47	ATUM	1A	S	SIM			
48	ATUM	1A	NS	NÃO		CAM/EB/STA	
52	ATUM	1A	S	NÃO			
5	BACALHAU	1A	S	NÃO			
20	BACALHAU	1A	S	NÃO			
22	BACALHAU	1A	S	NÃO			
23	BACALHAU	1A	S	NÃO			
24	BACALHAU	1A	Q	NÃO		CAM	
25	BACALHAU	1A	S	NÃO			
26	BACALHAU	1A	S	NÃO			
59	BACALHAU	1A	S	NÃO			
8	CAVALA	1A	S	NÃO			
9	1A	A	S	NÃO		CAM	
10	POTA	1A	S	NÃO			
18	POTA	1A	S	NÃO			
19	POTA	1A	S	NÃO			
28	POTA	1A	S	NÃO			
39	POTA	1A	S	NÃO			
57	POTA	1A	Q	NÃO		CAM	
58	POTA	1A	Q	NÃO		CAM	
11	PESCADA	1A	S	SIM			
13	PESCADA	1A	S	NÃO			
21	PESCADA	1A	S	NÃO			
30	PESCADA	1A	S	NÃO			
37	PESCADA	1A	NS	SIM		CAM/EB/EC	
38	PESCADA	1B	S	NÃO			

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Nº LINHA	TIPO PESCADO	GRUPO ANÁLISE	APRECIÇÃO	TRANSPORTE	FUNGOS	MICROORGANISMOS	L-MONO CONTAGEM
2018							
50	PESCADA	1A	S	NÃO			
53	PESCADA	1A	S	NÃO			
54	PESCADA	1A	NS	NÃO		EC	
14	SOLHA	1A	S	NÃO			
15	SOLHA	1A	S	SIM			
29	LULA	1A	S	NÃO			
32	CAÇÃO	1A	S	NÃO			
33	TINTUREIRA	1A	S	NÃO			
35	RED-FISH	2A	S	NÃO			
55	PERCA	1A	Q	NÃO		CAM	
56	TAMBORIL	1A	S	NÃO			
4	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	NÃO		CAM	
6	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	S	NÃO			
16	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
27	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	NÃO		CAM/EB	
31	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	Q	SIM		CAM/EB	
42	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
43	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	NS	NÃO		CAM	
44	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			
49	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1B	Q	NÃO		CAM	
60	PEIXE (NÃO DESIGNADO)	1A	S	NÃO			

Legenda da tabela:

1A- Grupo de alimentos totalmente cozinhados, não manuseados após tratamento térmico

1B- Grupo de alimentos totalmente cozinhados, manuseados após tratamento térmico

2A- Grupo de alimentos compostos por alimentos totalmente cozinhados adicionados a pequenas quantidades de alimentos crus

2C- Grupo de alimentos compostos por alimentos totalmente cozinhados adicionados a alimentos crus

2D- Grupo de alimentos compostos por alimentos como queijo fabricado com leite cru, carne ou peixes crus

Q - Questionável

S- Satisfatório

NS- Não satisfatório

CAM- Microrganismos a 30 °C /Contagem de aeróbios mesófilos

EB- Enterobacteriaceae a 37 °C

EC- Escherichia coli

STA- Estafilococos coagulase positiva

B.cereus- Bacillus Cereus

Inquérito à Caracterização da População com Quadros de Alergia Alimentar

Este questionário surge no âmbito da Dissertação de Mestrado com o tema "Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua relação com o desenvolvimento de alergias" realizada na Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa e no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, pela Mestranda Catarina Marques da Costa e sob orientação do Doutor Rui Pinto e da Doutora Carla Motta.

A alergia é um quadro clínico que dada a sua complexidade e a variedade de fatores que a determinam, exige um diagnóstico integrado envolvendo um vasto leque de entidades clínicas ligadas a diferentes áreas científicas.

O estudo tem como objetivo principal avaliar o estado da população portuguesa, relativamente a esta temática tendo em conta as novas evidências científicas acerca deste tema.

Se tem 18 ou mais anos de idade, a sua participação é muito importante para nos ajudar a produzir um melhor conhecimento científico relativamente às dinâmicas e problemas relacionados com a temática da alergia alimentar.

Neste sentido, gostaríamos de lhe pedir que respondesse a um questionário cujo preenchimento demora cerca de 7-8 minutos. O inquérito é anónimo e voluntário, estando os resultados acessíveis apenas à equipa de investigação, cumprindo as condições de anonimato ao abrigo da lei que enquadra o RGPD: Lei n.º 58/2019.

Caso pretenda participar, confirme que aceita as condições de participação, clicando primeiro na caixa que surge em baixo.

Obrigada pela sua colaboração.

*Obrigatório

Aceita participar neste estudo?

Marcar apenas uma opção

Sim

Não

Caracterização Demográfica

Género *

Marcar apenas uma opção.

Feminino

Masculino

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade
Outra:

Idade *

Nível Escolaridade *

Marcar apenas uma opção.

Ensino Básico

Ensino Secundário

Licenciatura

Pós-Graduação Mestrado Doutoramento

Outra:

Peso (Kg) *

Altura (cm)

Selecione por favor o seu concelho de residência

Marcar apenas uma opção.

Abrantes Águeda

Aguiar da Beira Alandroal Albergaria-A-Velha Albufeira

Alcácer do Sal Alcanena Alcobaça Alcochete Alcoutim Alenquer Alfândega da Fé Alijó

Aljezur Aljustrel Almada Almeida Almeirim Almodôvar Alpiarça

Alter do Chão Alvaiázere Alvito Amadora Amarante Amares Anadia

Angra do Heroísmo Ansião

Arcos de Valdevez Arganil

Armamar Arouca Arraiolos Arronches

Arruda dos Vinhos Aveiro

Avis Azambuja Baião Barcelos Barrancos Barreiro Batalha Beja Belmonte Benavente Bombarral Borba

Boticas Braga Bragança

Cabeceiras de Basto

Cadaval

Caldas da Rainha Calheta

Calheta de São Jorge Câmara de Lobos Caminha

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade
Campo Maior Cantanhede Carrazeda de Ansiães Carregal do Sal Cartaxo

Cascais

Castanheira de Pêra Castelo Branco Castelo de Paiva Castelo de Vide Castro Daire

Castro Marim Castro Verde Celorico da Beira Celorico de Basto Chamusca Chaves

Cinfães Coimbra

Condeixa-A-Nova Constância Coruche

Corvo Covilhã Crato Cuba Elvas

Entroncamento Espinho Esposende Estarreja Estremoz Évora

Fafe Faro

Felgueiras

Ferreira do Alentejo Ferreira do Zêzere Figueira da Foz

Figueira de Castelo Rodrigo

Figueiró dos Vinhos Fornos de Algodres

Freixo de Espada À Cinta Fronteira

Funchal Fundão Gavião Góis Golegã Gondomar Gouveia Grândola Guarda Guimarães Horta

Idanha-A-Nova

Ílhavo

Lagoa (Algarve) Lagoa (São Miguel) Lagos

Lajes das Flores Lajes do Pico Lamego

Leiria Lisboa Loulé Loures Lourinhã Lousã Lousada Mação

Macedo de Cavaleiros Machico

Madalena

Mafra Maia Mangualde Manteigas

Marco de Canaveses Marinha Grande Marvão

Matosinhos Mealhada Mêda

Melgaço Mértola Mesão Frio Mira

Miranda do Corvo Miranda do Douro Mirandela Mogadouro Moimenta da Beira Moita

Monção Monchique Mondim de Basto Monforte Montalegre Montemor-O-Novo Montemor-O-Velho

Montijo

Mora Mortágua Moura Mourão Murça Murtosa

Nazaré Nelas Nisa Nordeste Óbidos Odemira Odivelas Oeiras Oleiros Olhão

Oliveira de Azeméis Oliveira de Frades Oliveira do Bairro Oliveira do Hospital Ourém

Ourique Ovar

Paços de Ferreira Palmela

Pampilhosa da Serra Paredes

Paredes de Coura Pedrógão Grande Penacova Penafiel

Penalva do Castelo Penamacor Penedono

Penela Peniche

Peso da Régua Pinhel

Pombal

Ponta Delgada

Ponta do Sol Ponte da Barca Ponte de Lima Ponte de Sor Portalegre Portel Portimão Porto

Porto de Mós Porto Moniz Porto Santo

Póvoa de Lanhoso Póvoa de Varzim Povoação

Praia da Vitória Proença-A-Nova Redondo

Reguengos de Monsaraz Resende

Ribeira Brava Ribeira de Pena Ribeira Grande Rio Maior Sabrosa Sabugal

Salvaterra de Magos Santa Comba Dão Santa Cruz

Santa Cruz da Graciosa Santa Cruz das Flores Santa Maria da Feira Santa Marta de Penaguião Santana

Santarém

Santiago do Cacém Santo Tirso

São Brás de Alportel São João da Madeira São João da Pesqueira São Pedro do Sul

São Roque do Pico São Vicente Sardoal

Sátão Seia Seixal

Sernancelhe Serpa

Sertão Sesimbra Setúbal

Sever do Vouga Silves

Sines Sintra

Sobral de Monte Agraço Soure

Sousel Tábua Tabuaço Tarouca Tavira

Terras de Bouro Tomar

Tondela

Torre de Moncorvo Torres Novas Torres Vedras

Trancoso Trofa Vagos

Vale de Cambra Valença Valongo ' Valpaços

Velas

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alergicidade

Vendas Novas Viana do Alentejo Viana do Castelo Vidigueira

Vieira do Minho Vila de Rei

Vila do Bispo Vila do Conde Vila do Porto Vila Flor

Vila Franca de Xira Vila Franca do Campo

Vila Nova da Barquinha Vila Nova de Cerveira Vila Nova de Famalicão Vila Nova de Foz Côa Vila Nova de Gaia

Vila Nova de Paiva Vila Nova de Poiares Vila Pouca de Aguiar Vila Real

Vila Real de Santo António Vila Velha de Ródão

Vila Verde Vila Viçosa Vimioso

Vinhais Viseu Vizela Vouzela

Doença Alérgica

Tem doenças respiratórias diagnosticadas? *

Marcar apenas uma opção.

Sim

Não Avançar para a pergunta 10

Outra:

Doença Respiratória

Qual ou quais doenças do foro respiratório tem diagnosticadas *

Sabe a diferença entre alergia, intolerância e sensibilidade? *

Marcar apenas uma opção.

Sim Não

Tem alguma alergia diagnosticada? *

Marcar apenas uma opção.

Sim

Não Avançar para a pergunta 13

Alergias Diagnosticadas

Por favor indique qual ou quais as alergias que tem diagnosticadas.

Marcar tudo o que for aplicável.

Ácaros Polens Fungos Insetos Alimentos

Outros animais (domésticos, aves, outros)

Outra:

Intolerância ou Alergia Alimentar

Na pergunta anterior referiu ter alguma intolerância ou alergia alimentar diagnosticada?

Marcar apenas uma opção.

Sim Não

Precursosores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade
Alergias Alimentares

Por favor indique qual ou quais alergias alimentares tem diagnosticadas *

Marcar tudo o que for aplicável.

Frutos Secos ou de Casca Rija Ovos

Soro do Leite

Peixe, mariscos e crustáceos Trigo

Soja Morangos

Outra:

Na pergunta anterior referiu ser alérgico a peixe, marisco e/ou crustáceos?

Marcar apenas uma opção.

Sim

Não Avançar para a pergunta 19

Quando foi o primeiro contacto com o alimento alérgico?

Marcar apenas uma opção.

Até aos 2 anos 3 - 14 anos

Depois dos 14 anos

Outra:

Avançar para a pergunta 17

Alergia Pescado

Qual o tipo de pescado a que é alérgico?

Precusores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade

Marcar apenas uma opção.

Peixe

Marisco

Moluscos

Outros

Caso saiba a espécie específica a que é alérgico por favor indique. Caso exista um tipo de confeção específica a que é intolerante/alérgico pode indicar também (ex: alimento grelhado)

Clínica

É seguido por algum profissional de saúde?

Marcar apenas uma opção.

Sim

Não Avançar para a pergunta 23

Qual a especialidade do profissional de saúde que acompanha o diagnóstico alérgico/ intolerância?

Marcar apenas uma opção.

Clínica Geral

Alergologista

Gastroenterologista

Outra:

Precursores de Aminas Biogénicas no Pescado e a sua Relação com a Alerginicidade
O seu diagnóstico foi feito laboratorialmente ou através de algum processo clínico?

Marcar apenas uma opção.

Sim

Não Avançar para a pergunta 23

Método de Diagnóstico

Qual foi o método de diagnóstico?

Marcar tudo o que for aplicável.

Prova de sensibilidade cutânea (Skin Prick Test)

Teste serológico de IgE específico

Dieta de Eliminação

Desafio Oral (para reações não mediadas por IgE)

Outra:

Idade da primeira manifestação

Tem a alergia desde que idade?

Marcar apenas uma opção.

Até 2 anos

3 - 14 anos

14 - 21 anos

Após os 21 anos

Outra:

Quais os principais sintomas/ manifestações que sente quando faz alergia a um alimento?

Marcar apenas uma opção.

Respiratórias

Gastroenterológicos

Dermatológicos

Neurológicos

Outra: _____

