



**UNIVERSIDADE DOS AÇORES**



**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA DE COIMBRA**

**CONTRIBUTO PARA O ESTUDO PARASITÁRIO DO PESCADO  
SELVAGEM DA COSTA ATLÂNTICA:  
O CASO DA SARDA E DO CARAPAU**

**ÂNGELA CLARISSE FIGUEIREDO PINTO ÂNGELO**

**MESTRADO EM ENGENHARIA ZOOTÉCNICA**

**Orientador da Escola Superior Agrária de Coimbra**

**Maria Antónia Pereira da Conceição**

**Coimbra  
2010**



**UNIVERSIDADE DOS AÇORES**



**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA DE COIMBRA**

**CONTRIBUTO PARA O ESTUDO PARASITÁRIO DO PESCADO  
SELVAGEM DA COSTA ATLÂNTICA:  
O CASO DA SARDA E DO CARAPAU**

**ÂNGELA CLARISSE FIGUEIREDO PINTO ÂNGELO**

**MESTRADO EM ENGENHARIA ZOOTÉCNICA**

**Orientador da Escola Superior Agrária de Coimbra**

**Maria Antónia Pereira da Conceição**

**Coimbra  
2010**

## ÍNDICE GERAL

I. INTRODUÇÃO.....	12
II. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
1 FILO APICOMPLEXA Levine, 1970 .....	15
1.1 Coccidioses do tecido hemático .....	15
1.1.1 Ciclo biológico .....	17
1.2 Coccidioses do aparelho digestivo .....	18
1.2.1 Ciclo biológico .....	19
2 FILO PLATELMINTHES .....	21
2.1 SUBCLASSE MONOGENEA Carus, 1863 .....	21
2.1.1 Ciclo biológico .....	22
2.2 SUBCLASSE DIGENEA Van Beneden, 1858 .....	23
2.2.1 Ciclo biológico .....	25
2.3 CLASSE CESTODA revista por Schimidt, 1986 .....	27
2.3.1 Ciclo biológico .....	29
3 FILO ACANTHOCEPHALA Rudolphi, 1808 .....	31
3.1 Ciclo biológico .....	32
4 FILO NEMATODA Rudolphi, 1808 .....	34
4.1 Ciclo biológico .....	36
5 FILO ARTROPODA.....	38
5.1 CLASSE CRUSTACEA Pennant, 1777 .....	38
5.1.1 Ciclo biológico .....	39
6 IMPORTÂNCIA DOS HELMINTAS NA SANIDADE, QUALIDADE E INSPECÇÃO DO PESCADO.....	40
7 ESTUDO DOS HOSPEDEIROS.....	44
7.1 Carapau – <i>Trachurus trachurus</i> Lineu, 1758.....	44
7.2 Sarda – <i>Scomber scombrus</i> Lineu, 1758 .....	46
III. TRABALHO EXPERIMENTAL.....	48
1 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
1.1 Caracterização do local de captura .....	48
1.2 Origem e espécies de pescado.....	48
1.3 Caracterização do sistema de captura .....	48
1.4 Caracterização das amostras .....	49
1.5 Materiais e soluções utilizadas: .....	50

1.6	Metodologia de colheita, fixação e coloração.....	51
1.7	Recolha parasitária .....	51
1.7.1	Pele .....	51
1.7.2	Opérculos e brânquias .....	52
1.7.3	Cavidade visceral .....	52
IV.	RESULTADOS .....	55
1	Gerais .....	55
2	Identificação parasitária .....	63
2.1	Endoparasitas.....	63
2.1.1	Família Haemogregarinidae Neveu - Lemaire, 1901 .....	63
2.1.1.1	<i>Haemogregarina bigemina</i> Laveran e Mesnil, 1901 .....	63
2.1.2	Família Eimeriidae Minchin, 1903 .....	64
2.1.2.1	<i>Goussia clupearum</i> Thélohan, 1894 .....	64
2.1.2.2	<i>Goussia cruciata</i> Thélohan, 1892 .....	65
2.1.3	Família Anisakidae Skrjabin e Karohin, 1945 .....	65
2.1.3.1	<i>Hysterothylacium aduncum</i> Rudolphi, 1802 .....	66
2.1.3.2	<i>Raphidascaris acus</i> Bloch, 1779 .....	67
2.1.3.3	<i>Contracaecum</i> sp. ....	67
2.1.3.4	<i>Anisakis</i> sp. Rudolphi, 1809 .....	68
2.1.4	Família Rhadinorhynchidae Travassos, 1923 .....	69
2.1.4.1	<i>Rhadinorhynchus pristis</i> Rudolphi, 1802 .....	69
2.2	Ectoparasitas.....	70
2.2.1	Família Gastrocotylidae Price, 1943 .....	70
2.2.1.1	<i>Gastrocotyle trachuri</i> V. Bem e Hesse, 1863 .....	70
2.2.1.2	<i>Pseudaxine trachuri</i> Parona e Perugia, 1890.....	71
2.2.2	Família Mazocraeidae Price, 1936 .....	71
2.2.2.1	<i>Kuhnia scombri</i> Morakote, 1990 .....	71
2.2.3	Família Didymozoidae Poche, 1907 .....	72
2.2.3.1	<i>Didymozoon</i> sp. Taschenberg, 1879 .....	72
2.2.4	Família Noctuoidea Latreille, 1809 .....	73
2.2.4.1	<i>Clavellisa scombri</i> Kurz, 1877 .....	73
2.2.5	Família Caligidae krøyer, 1837 .....	74
2.2.5.1	<i>Caligus chorinemi</i> krøyer, 1863 .....	74
2.2.5.2	<i>Caligus pelamydis</i> krøyer, 1863 .....	75
V.	DISCUSSÃO .....	76

VI. CONCLUSÕES .....	87
VII. BIBLIOGRAFIA.....	90
VIII. AGRADECIMENTOS .....	
IX. ANEXOS.....	
X. APÊNDICES .....	

## Resumo

Este trabalho teve como objectivo a avaliação parasitária de duas espécies de peixes de grande importância comercial em Portugal, o carapau (*Trachurus trachurus*, família Carangidae) e a sarda (*Scomber scombrus*, família Escombridae). Para tal, com origem na lota da Figueira – da – Foz, no período compreendido entre 25 de Fevereiro a 24 de Junho de 2009, examinou-se um total de 38 exemplares, sendo 20 carapaus e 18 sardas. Procedeu-se à necropsia parasitária destes, que incidiu sobre a pele, opérculos, brânquias e cavidade abdominal. Foram colhidos 1255 parasitas pertencentes a 6 grupos taxonómicos : conoidasídeos, tremátodos monogenéticos e digenéticos, acantocéfalos, nemátodos e crustáceos. Em ambas as espécies, *T. trachurus* (n=20) e em *S. Scombrus* (n=18) a prevalência parasitária foi de 100%. Quanto aos taxa mais presentes, constatou-se que no carapau, os nemátodos representaram 100% de prevalência, com uma intensidade parasitária média de 39.7 parasitas, sendo que na sarda, 72.2% estavam parasitadas, com uma intensidade parasitária de 15.8 parasitas. Os conoidasídeos estavam presentes em ambas as espécies de pescado, 85% dos exemplares de carapau e, 94.4% no caso da sarda. Este estudo deu um contributo para o conhecimento dos parasitas e da carga parasitária em *T. trachurus* e *S. scombrus*, sendo de realçar a presença de anisakídeos sob a forma larvar com importância em saúde pública.

## Abstract

The aim of this work was the evaluation of parasitic burden of two fish species of great commercial importance in Portugal, the horse mackerel (*Trachurus trachurus*, family Carangidae) and mackerel (*Scomber scombrus*, family Scombridae). The fish were collected from the fish market of Figueira da Foz, during the period from February 25<sup>th</sup> to June 24<sup>th</sup>, 2009. Thirty eight samples were examined, 20 horse mackerel and 18 mackerel. We performed the autopsy of these parasites, which focused on the skin, cap, gills and abdominal cavity. 1255 parasites belonging to six taxonomic groups: ctenophores, monogenetic and digenetic trematodes, acanthocephala, nematodes and crustaceans were harvested in both species. *T. trachurus* (n=20) and *S. scombrus* (n=18) had a 100% parasite prevalence. It was found that the horse mackerel, 100% nematodes accounted for 100% prevalence, with mean parasitic intensity of 39.7 parasites, and for the mackerel, 72.2 were parasitised, with a mean intensity of infection of 15.8 parasites. Protozoa were present in both species of fish in 85% horse mackerel, and 94.4% for mackerel.

This study has contributed to the knowledge of parasites species and parasite burden, in *T. trachurus* and *S. scombrus*, and to highlight the presence of anisakid larval with public health importance.

## ÍNDICE DAS ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Diagrama esquemático do desenvolvimento dos Apicomplexa: famílias Haemogregarinidae e Dactylosomatidae.....	17
<b>Figura 2.</b> Diagrama esquemático do desenvolvimento das coccídeas no hospedeiro e no exterior.....	20
<b>Figura 3.</b> Ciclo biológico do <i>Pseudodactylogyrus anguillae</i> .....	23
<b>Figura 4.</b> Padrões mais frequentes do ciclo de vida dos Digenea parasitas de peixes.....	24
<b>Figura 5.</b> Ciclo de vida do <i>Archigetes iowensis</i> .....	30
<b>Figura 6.</b> Ciclo de vida de duas espécies comuns de acantocéfalos dos peixes.....	33
<b>Figura 7.</b> Ciclo de vida dos ascarídeos marinhos ( <i>Contracaecum</i> sp., <i>Phocanema</i> sp., <i>Pseudoterranova</i> sp., <i>Anisakis</i> sp.....	37
<b>Figura 8.</b> Ciclo de vida do <i>Lepeophtheirus salmonis</i> .....	40
<b>Figura 9.</b> Distribuição geográfica do carapau ( <i>Trachurus trachurus</i> ).....	45
<b>Figura 10.</b> Distribuição geográfica da sarda ( <i>Scomber scombrus</i> ).....	46
<b>Figura 11.</b> Representação esquemática do sentido dos cortes.....	53
<b>Figura 12.</b> <i>Haemogregarina bigemina</i> .....	63
<b>Figura 13.</b> <i>Goussia clupearum</i> e <i>Goussia cruciata</i> .....	65
<b>Figura 14.</b> <i>Hysterothylacium aduncum</i> .....	66
<b>Figura 15.</b> <i>Raphidascaris acus</i> .....	67
<b>Figura 16.</b> <i>Contracaecum</i> sp.....	68
<b>Figura 17.</b> <i>Anisakis</i> sp.....	69
<b>Figura 18.</b> <i>Rhadinorhyncus pristis</i> .....	69
<b>Figura 19.</b> <i>Gastrocotyle trachuri</i> .....	70
<b>Figura 20.</b> <i>Pseudaxine trachuri</i> .....	71
<b>Figura 21.</b> <i>Kuhnia scombri</i> .....	72
<b>Figura 22.</b> <i>Didymozoon</i> sp.....	73
<b>Figura 23.</b> <i>Clavelissa scombri</i> .....	73
<b>Figura 23.</b> <i>Caligus chorinemi</i> .....	74
<b>Figura 24.</b> <i>Caligus pelamydis</i> .....	75

## ÍNDICE DAS TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Percentagem de carapaus e sardas parasitados por classe de parasitas e total de exemplares (N. <sup>o</sup> ) recolhidos por classe parasitária. ....	55
<b>Tabela 2.</b> Local de recolha, classes de parasitas e número de parasitas colectados no carapau.....	57
<b>Tabela 3.</b> Avaliação parasitária por tamanho de hospedeiro: n. <sup>o</sup> de parasitas, prevalência e intensidade parasitária em <i>T. trachurus</i> .....	59
<b>Tabela 4.</b> Local de recolha, classes de parasitas e número de parasitas colectados na sarda.....	60
<b>Tabela 5.</b> Avaliação parasitária por tamanho do hospedeiro; n. <sup>o</sup> de parasitas, prevalência e intensidade média em <i>S. scombrus</i> . ....	62

## ÍNDICE DOS GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Percentagem de carapaus parasitados segundo duas classes de tamanho (20 – 30.1) e (30.1 – 40) cm para cada classe parasitária. ....	58
<b>Gráfico 2.</b> Percentagem de sardas parasitadas segundo duas classes de tamanho (20 – 30.1) e (30.1 – 40) cm para cada classe parasitária. ....	61

## ÍNDICE DE ANEXOS

**Anexo I.** Ficha de necrópsia

**Anexo II.** Carpau

**Anexo III.** Sarda

## I. INTRODUÇÃO

Na alimentação humana, o peixe constitui uma fonte de proteína de alto valor nutricional, tão importante quanto a carne bovina. Contudo, os peixes, podem também ser acometidos por uma vasta gama de agentes causadores de patologias de origem bacteriana, virótica, fúngica e/ou parasitária, colocando em risco, algumas vezes, a saúde do consumidor a par com eventuais consequências para os ecossistemas marinhos.

Os peixes marinhos constituem, ao nível mundial (1) um dos recursos alimentares de maior qualidade e abundância. O teor proteico das diferentes espécies de peixe varia de 15 a 20%, e é fonte importante de gorduras insaturadas, vitaminas e minerais. Em Portugal, por razões culturais e socioeconómicas, aliado à extensa costa marítima, valores recentes apontam para um consumo de pescado *per capita*<sup>1</sup> de cerca de 56.5 kg/ano/habitante, o que torna Portugal o país com maior consumo *per capita* da União europeia (25) onde o valor médio se situa à volta dos 22.7 kg/pessoa (dados de 2001). Valores de capitação superiores só são encontrados em países como o Japão, a Islândia e alguns pequenos países insulares. Calcula-se que o pescado represente cerca de 25% na dieta diária de origem animal dos portugueses (2).

Não se pode pensar na indústria do pescado sem o conhecimento da etiologia e patologia no contexto da alimentação humana e no desenvolvimento das indústrias pesqueiras. A ictioparasitologia atingiu um nível relevante de importância pois a tecnologia do pescado, no seu aspecto de inspecção, visa a segurança do consumidor. Segundo Barros *et al.*, (3), o conhecimento para o efectivo controlo do pescado na origem, é uma exigência de órgãos internacionais que, através de mecanismos legais, estabelecem a normalização obrigatória dos produtos da pesca destinados ao consumo humano. É o caso da Decisão n.º 93/140/CEE da Comissão,

---

<sup>1</sup> Consumo de pescado *per capita* medido em peso à saída da água.

de 19 de Janeiro, que obriga ao controlo visual da detecção de parasitas nos produtos de pesca e, o Regulamento (CE) n.º 853/2004, de 29 de Abril, que obriga à não comercialização para consumo humano do pescado ou partes de pescado que apresentem manifestamente parasitas.

As zoonoses parasitárias transmitidas por pescado, cada vez mais vêm chamando a atenção de pesquisadores e autoridades sanitárias do mundo inteiro, por serem causas de problemas de saúde pública, devido ao consumo de pescado cru ou insuficientemente cozido (4-9).

Estudos da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1995 (10), estimaram que cerca de 39 milhões de pessoas estavam infectadas no mundo todo, com parasitas transmitidos pela ingestão de peixe e crustáceos de água doce, crus ou mal cozidos, sendo que a maioria dessas pessoas (38 milhões) vive na Ásia e o restante na Europa e América Latina.

A realização de trabalho visando a educação sanitária e consciencialização da população sobre o perigo representado pela ingestão do pescado cru vem crescendo em importância nos últimos anos, apesar das barreiras culturais e socioeconómicas. O desenvolvimento de técnicas que melhorem a inspecção do pescado em relação às zoonoses por ele transmitidas merece consideração, para que se estabeleça uma maior protecção à população (5).

O estudo das doenças de peixes, principalmente das 17.000 espécies de teleósteos, sobre a identificação dos inúmeros agentes causadores de infecções e das respostas que produzem no hospedeiro, é segundo Barros *et al.* (3) actualmente, factor de maior importância para a economia de qualquer país, tendo em vista o pescado ser um alimento de excelente valor nutritivo.

Os estudos relativos à patologia e parasitologia de peixes são temas de crescente importância no contexto da piscicultura mundial (11-15), todavia, estudos da patologia piscícola não têm o mesmo nível de pesquisa do verificado em outras

espécies de animais e, assim, a bibliografia especializada tem revelado nesse sentido, escassez de informações (4).

Os peixes selvagens apresentam-se parasitados por grande variedade de parasitas, porém, raramente apresentam sinais clínicos de patologias. Isto é possível graças ao seu bom estado nutricional e fisiológico em equilíbrio com o ambiente, evitando a manifestação de doenças. Contribui também para isso o efeito de predador que elimina os peixes doentes. Mesmo em ambientes naturais, quando ocorrem alterações ambientais com reflexos nos mecanismos de defesa dos peixes, estes tornam-se mais sujeitos à acção dos patógenos podendo manifestar sinais clínicos de doenças. (16). Segundo Takemoto *et al.*, (17) existem um grande número de espécies de ictioparasitas a serem descritas, já que muitos peixes ainda não foram estudados objectivando a pesquisa dos seus parasitas.

Dada a escassez de informações a respeito da fauna parasitária de peixes da costa portuguesa, é fundamental o desenvolvimento de trabalhos que objectivem o conhecimento da riqueza biológica do Atlântico Nordeste (FAO 27), e a partir daí determinar a importância sanitária e de saúde pública de peixes comercializados e/ou beneficiados na região, buscando padronizar técnicas eficientes na inspecção de pescado, protegendo o consumidor e beneficiando exportadores.

Para atender à demanda desta área de conhecimento, o presente trabalho teve o intuito de estudar a fauna helmintológica de pescado selvagem de importância comercial (carapau e sarda), relacionar a espécie parasitária presente com os factores de risco inerentes ao hospedeiro – alimentação, idade (peso) e época do ano.

## **II. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **1 FILO APICOMPLEXA Levine, 1970**

Os Apicomplexa são protozoários parasitas obrigatórios caracterizados por possuir, em determinados fases da sua vida, uma estrutura chamada complexo apical somente observável pelo microscópio electrónico. Este complexo, constituído normalmente por um anel polar, um conóide, micronemas, róprias e microtubos localiza-se no pólo apical e, permite-lhes penetrar na célula hospedeira.

Alguns dos estádios de desenvolvimento dos Apicomplexa são imóveis. O esporozoíto (forma infectante) pode ter movimentos mais ou menos pronunciados, enquanto que os gâmetas masculinos possuem quase sempre movimentos bastantes activos (18). Além desta característica geral, a maioria das espécies formam esporos e/ou oocistos.

A maior parte das espécies conhecidas têm distribuição geográfica mundial e são parasitas de inúmeras espécies de peixes marinhos e de água doce. Algumas parecem ter especificidade parasitária, enquanto que outras foram escritas para dezenas de hospedeiros de vários continentes.

O potencial patogénico destes parasitas, parece não ser, de um modo geral, muito severo tratando-se de peixe selvagem. Apesar das relações parasita-hospedeiro não terem sido estudadas na maior parte dos casos, tudo indica que as lesões produzidas são de pequena extensão, de carácter local e sem repercussão apreciável na condição do hospedeiro (18).

#### **1.1 COCCIDIOSES DO TECIDO HEMÁTICO**

As hemogregarinas são hemoprotozoários parasitas frequentemente encontrados nas células sanguíneas dos peixes. De acordo com as características de desenvolvimento das suas espécies, há parasitas que pertencem às chamadas “esquizoemogregarinas” por sofrerem esquizogonia nas células sanguíneas, e formas que aparentemente não possuem esquizogonia intracelular Becker (1970) (18).

Os merontes intraleucocitários das espécies do género *Haemogregarina* (Danilewsky, 1985) alojam dois a oito merozoítos e não aumentam significativamente o tamanho da célula hospedeira. O comprimento dos merozoítos e dos gamontes, em forma de banana ou crescente, varia entre 4 a 5 µm; contudo, os merontes intraleucocitários podem atingir 26x23 µm (15) e localizam-se no espaço compreendido entre o núcleo e a periferia da célula hospedeira.

Existem mais de 50 espécies de hospedeiros marinhos e de água doce, sobretudo nos primeiros, mas este número pode, segundo Eiras (18) não ser correcto, pois há razões para crer que parasitas sanguíneos insuficientemente caracterizados foram erradamente incluídos no género *Haemogregarina*.

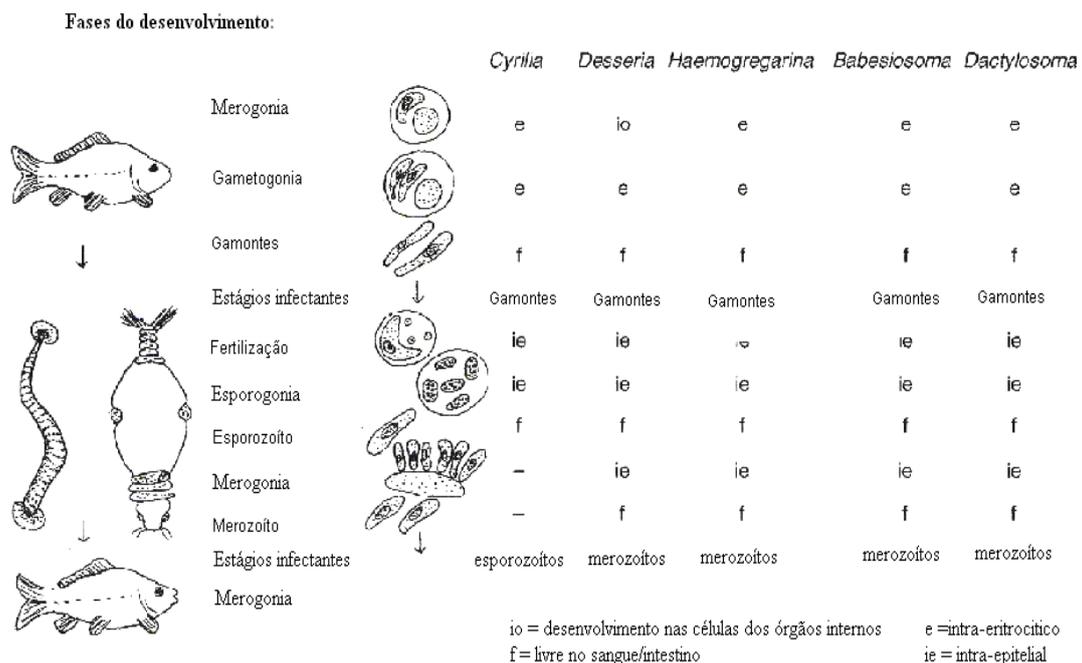
Pouco se sabe acerca da especificidade do hospedeiro para este tipo de parasitas. A maior parte das hemogregarinas conhecidos têm sido descritos para uma única espécie de peixe (15). Pelo contrário, a espécie mais estudada é a *H. bigemina*, e foi descrita nos hospedeiros *Lipophrys pholis* (caboz gigante) e *Coryphoblennius galerita* (caboz de crista) em 1902 em França. Desde então, foi descrita para 85 espécies pertencentes a 59 géneros com larga distribuição geográfica, encontrando-se em Portugal como parasita de *L. pholis* (18). De igual modo, pouco se sabe acerca do potencial patogénico das hemogregarinas. Maclean e Davies (1990) (18), descrevem lesões no rim e baço da sarda (*Scomber scombrus*) formadas por cápsulas fibrosas contendo grande número de macrófagos, encerrando células semelhantes a hemogregarinas. Um grande número de autores descreve ainda, alterações das células sanguíneas (modificação da forma, deslocamento e achatamento do núcleo), associadas com a parasitose das mesmas (18).

Resultados de Eiras (21) referentes a várias espécies de peixes parasitados e não parasitados por vários hemoprotozoários (incluindo *H. bigemina*) mostram que alterações semelhantes são bastantes frequentes em exemplares não parasitados, pelo que segundo este autor, estas alterações poderão não ser devidas, pelos menos na totalidade, à parasitose.

### 1.1.1 Ciclo biológico

O desenvolvimento dos hemogregarídeos parasitas dos peixes é principalmente conhecido do estudo de infecções naturais. Possuem ciclo biológico heteroxeno, o qual envolve dois hospedeiros: o definitivo (os peixes) e o vector (hirudíneos ou insectos) (Figura 1).

Segundo Carvalho-Varela (22), os esporozoítos são inoculados na corrente sanguínea do peixe pelos hirudíneos infectados. Penetram nos linfócitos, monócitos e neutrófilos, onde se desenvolvem em merontes e formam merozoítos. A primeira merogonia tem lugar nos órgãos internos, enquanto que a segunda pode verificar – se nos leucócitos e eritrócitos periféricos. Após os ciclos merogónicos, os merozoítos vermiformes penetram nos eritrócitos ou nos leucócitos para formar macro e microgamontes.



**Figura 1. Diagrama esquemático do desenvolvimento dos Apicomplexa: famílias Haemogregarinidae e Dactylosomatidae. (adaptado de Woo (1995) (15)).**

Regista-se nalgumas espécies a divisão dos gamontes nos eritrócitos, enquanto que noutras, se transformam directamente em micro e macrogamontes. Os

gamontes são ingeridos pelo vector (hirudíneo) durante a sua refeição sanguínea. No intestino do hirudíneo são libertados das células sanguíneas e os micros e macrogamontes unem-se durante o processo de fertilização sendo envolvidos por uma fina membrana. Os microgamontes produzem quatro microgâmetas, um dos quais fertiliza o macrogamonte. Tem lugar, a formação de oocistos, que pode ocorrer quer no interior do enterocito quer sobre a sua superfície, num vacúolo parasitóforo.

## 1.2 COCCIDIOSES DO APARELHO DIGESTIVO

São infecções tissulares e intracelulares, provocadas por várias espécies das famílias Eimeriidae localizadas sob a superfície da membrana celular ou no interior das microvilosidades intestinais, e espécies (?) da família Cryptosporidiidae (22).

As coccídeas parasitas do aparelho digestivo dos peixes pertencem, segundo Molnár (1995) (22), aos géneros *Eimeria*, *Goussia*, *Crystallospora* e *Calyptospora* (Eimeriidae) e ao género *Cryptosporidium* (Cryptosporidiidae).

A maioria das coccídeas dos peixes infectam o epitélio intestinal com um valor de diâmetro do oocisto de 8-14 µm, mas um número relativamente grande, especialmente as que apresentam oocistos maiores, diâmetro de oocisto de 17 a 30 µm desenvolvem-se extra – intestino, nomeadamente no rim, baço, fígado, serosas e gónadas.

No género *Eimeria*, as espécies têm um esporocisto com uma única valva e uma abertura polar fechada por um corpo Stieda. O género *Goussia*, cuja a espécie tipo é *G. clupearum*, é morfologicamente caracterizado por ter esporocistos ovais sem corpo Stieda, compostos por duas valvas de tamanhos iguais unidas por uma linha de sutura meridional. O género *Crystallospora* difere de *Goussia* pela estrutura do esporocisto que é formada por duas valvas, cada uma com forma de pirâmide hexagonal, unidas pela base formando um dodecaedro. Valvas têm paredes separadas por um pequeno espaço e a parede mais interna é elipsóide. O género

*Epieimeria*, apresenta esporocistos idênticos aos da *Eimeria*, com corpo Stieda, merogamia e gamogamia epicelulares e esporogonia intracelular (23).

Os agentes etiológicos são cosmopolitas, como os seus hospedeiros. As coccídeas foram registadas em 55 ordens de peixes, em menor número nos elasmobrânquios do que nos teleósteos. Entre estes, são mais frequentes nos ciprinídeos e nos percídeos, mostrando especificidade – hospedeiro restrita (24).

Muitas espécies produzem oocistos continuamente ao longo do ano, algumas espécies só os produzem na Primavera (22).

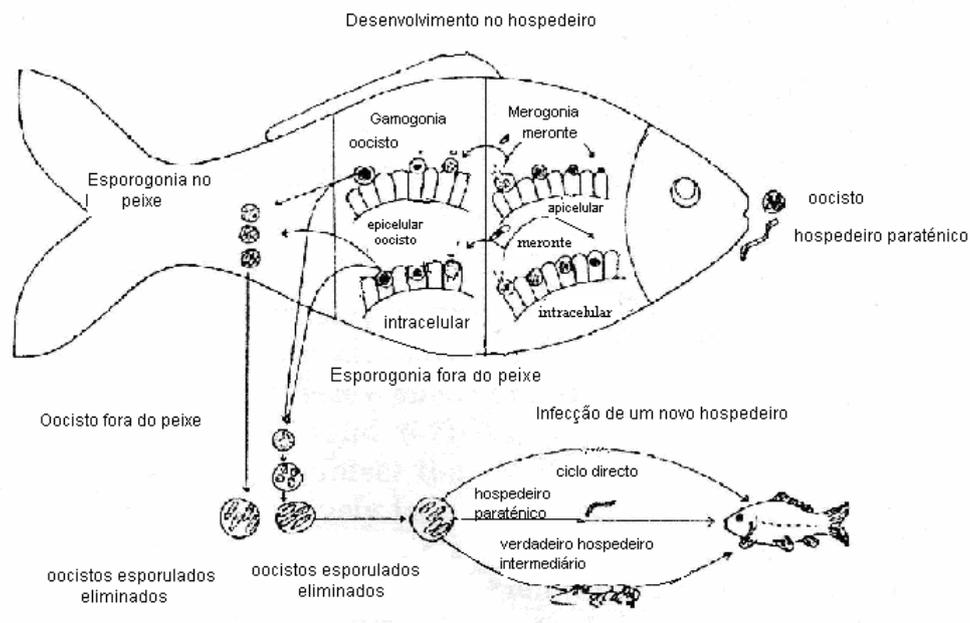
As coccídeas intestinais dos peixes são muitas vezes assintomáticas em peixe selvagem. No entanto, dados referentes à patogenia dos Eimeriida nos peixes são bastante escassos. Dyková e Lom (23), referem que a maior parte dos estudos não indicam a localização exacta da esporulação dos oocistos bem como a referente a outros estados, nem o tipo de célula infectada. Muitas espécies foram consideradas não patogénicas ou bem adaptadas ao hospedeiro apenas porque as observações diziam respeito a infecções de pequena intensidade ou a um estado para o qual não foi observada reacção dos tecidos do hospedeiro.

As coccídeas extraintestinais podem, apresentar um considerável potencial patogénico, ao provocarem a destruição das células infectadas, incluindo os órgãos reprodutores (*Eimeria sardinae*), muito vulgar nos testículos da sardinhas e do arenque causando a castração parasitária; o fígado dos clupeídeos (*Goussia clupearum*, associada com inflamação e necrose); o baço, a bexiga-natatória e outros órgãos (22).

### **1.2.1 Ciclo biológico**

As fases de desenvolvimento das coccídeas parasitas dos peixes são semelhantes às dos Eimeriidae dos animais homeotérmicos. A maior parte tem um ciclo de vida monoxeno. Nas palavras de Eiras (18), supõe-se existir um ciclo de vida heteroxeno para muitas espécies de Eimeriida, sobretudo aquelas que infectam outros órgãos do hospedeiro que não o tubo digestivo durante toda a vida deste. O estado

infectante (esporozoítio) é formado no interior do oocisto (Figura 2). Após a ingestão pelo hospedeiro, o esporozoítio penetra o epitélio intestinal para atingir o local final da infecção. O esporozoítio (envolvido num vacúolo parasitóforo do citoplasma ou do núcleo celular) torna-se arredondado, aumenta de volume e transforma-se num meronte (esquizonte), o qual produz muitos merozoítos por reprodução assexuada (merogonia ou esquizogonia). Os merozoítos são libertados, invadem outras células e formam merontes de segunda e terceira geração. A gametogonia começa, quando a última geração de merozoítos forma micro e macrogamontes. Nos microgamontes desenvolvem-se numerosos microgâmetas flagelados. Após fertilizado, o macrogamonte produz um zigoto, que por sua vez forma um oocisto.



**Figura 2 . Diagrama esquemático do desenvolvimento das coccídeos no hospedeiro e no exterior.** (adaptado de Woo (1995) (15).

Durante a esporulação, o zigoto divide-se no interior do oocisto e forma esporocistos, nos quais se irão desenvolver os esporozoítos (esporogonia). Esta pode ser endógena ou exógena, isto é, consegue desenrolar-se no interior ou exterior dos peixes. A infecção do hospedeiro pode ser directa, por ingestão dos oocistos esporulados, ou indirecta após a sua ingestão por anelídeos ou microcrustáceos. Contudo, Carvalho-Varela (22) apoia a maioria dos autores, que afirmam, que estes

invertebrados são hospedeiros-paraténicos, onde os esporozoítos não sofrem qualquer desenvolvimento.

## **2 FILO PLATELMINTHES**

### **2.1 SUBCLASSE MONOGENEA Carus, 1863**

Os monogenéticos são metazoários ectoparasitas, que afectam principalmente as brânquias, a pele, as barbatanas, as escamas e a superfície do epitélio nasal dos peixes de água doce, salobra e salgada.

Segundo Cone *et al.* (1987) (15), algumas espécies de muito poucos géneros adaptaram-se como endoparasitas: por exemplo, dos géneros *Acolpenteron* e *Kritskyia* foram observadas na bexiga e canais urinários; do género *Enterogyrus* fixaram-se na parede interior do intestino.

São platelmintes de dimensões bastante pequenas a médias (de poucos milímetros a 2-3 centímetros), de forma muito variável (elíptica, lanceolada e discóide, passando por formas intermédias) (22).

A estrutura mais característica dos monogenéticos com grande importância, do ponto de vista taxonómico, é o órgão posterior de fixação, o haptor. Este órgão é constituído na maior parte das espécies por um número variável de estruturas esclerotizadas, chamadas ganchos, barras e âncoras. Noutras espécies, apresenta ventosas, formações em pinça ou complexos de ganchos (25).

Os monogenéticos são normalmente divididos em duas subclasses Monopisthocotylea e Polyopisthocotylea, distintas na sua patogenicidade, função do modo e natureza da alimentação. Enquanto os membros pertencentes à primeira subclasse se alimentam fundamentalmente das células epiteliais da superfície do corpo do hospedeiro, originando danos tissulares significativos, através da ruptura provocada pela fixação e alimentação do tegumento externo, os pertencentes à segunda, realizam-na a partir do sangue, não provocando danos tecidulares importantes, devido à maneira delicada da sua fixação nas lamelas branquiais

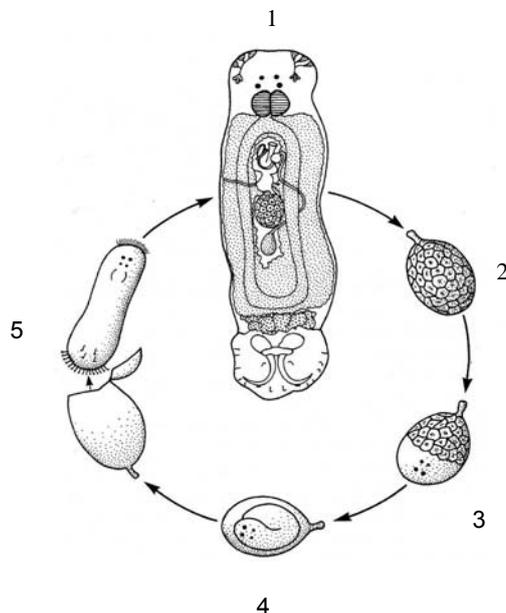
secundárias e ao modo subtil como o sangue é retirado dos vasos sanguíneos subjacentes. Assim, se a sua potencial patogenicidade é bem diferente, pois raramente membros da subclasse Polyopisthocotylea estão associados com a mortalidade do hospedeiro, por outro lado, as espécies dos Monopisthocotylea são potencialmente mais patogénicas, principalmente quando possuem localização branquial, embora os prejuízos provocados sejam normalmente minimizados, dado que os parasitas se deslocam regularmente sobre o hospedeiro (22). Também em infecções menos intensas as pequenas lesões são portas abertas para infecções secundárias (16).

### **2.1.1 Ciclo biológico**

Os monogenéticos são hermafroditas com ciclo de vida monoxénico, tendo a maioria das espécies reprodução ovípara, ovovivípara, embora alguns sejam vivíparos. Nos primeiros (ovíparos e ovovivíparos) (Figura 3), os adultos formam ovos não embrionados, induzidos, em muitas espécies, por estímulos como turbulência, temperatura, fotoperíodo e presença de produtos de excreção do hospedeiro (18). Estes, ao serem libertados, fixam-se ao hospedeiro pelo seu filamento ou filamentos polares, eclodem e libertam os oncomiracídeos (larvas ciliadas, providas de um grande número de ganchos na extremidade posterior), os quais nadam activamente até encontrarem um novo hospedeiro, sobre o qual se implantam, perdem gradualmente a epiderme ciliada e transformam-se em adultos. A fixação deve ocorrer no prazo máximo de 24 horas, pois morrem em caso contrário (22).

Nos vivíparos, a invasão do novo hospedeiro efectua-se por transferência directa de peixe-a-peixe, quando estes nadam na proximidade, que é o mais vulgar, pelo seu hábito gregário. Assim, no género *Gyrodactylus* existe poliembrionia, os ovos não contêm vitelo visível e fundem-se no íntimo do útero do progenitor. No interior do primeiro embrião forma-se um segundo, neste um terceiro e no terceiro um quarto – um complexo de quatro. Quando o primeiro embrião completa o seu desenvolvimento, abandona o seu progenitor e imediatamente se fixa ao hospedeiro,

transformando-se rapidamente em adulto, embora mantenha encerradas no seu seio as gerações embrionárias posteriores de acordo com Schaperclaus *et al.* (1992) (22).



**Figura 3. Ciclo biológico do *Pseudodactylogyrus anguillae*.** (1) Parasita adulto; (2) Ovo; (3) Ovo embrionado; (4) Oncomiracídio; (5) Eclosão da larva (adaptado de Woo (1995) (15).

O desenvolvimento embrionário e a eclosão dos ovos dos monogenéticos exacerba-se extraordinariamente com o aumento da temperatura, mas cessa na maioria das espécies, quando aquela se mantém a 4° C (22).

Na maioria dos casos, a selecção natural resulta em organismos que causam um mínimo de prejuízo ao hospedeiro. O principal sinal clínico destas doenças é a intensa produção de muco nas brânquias e superfície corporal do peixe (16). É importante destacar conforme refere Campos (26), que a patogenicidade não é comum e a morte do hospedeiro não favorece a transmissão.

## 2.2 SUBCLASSE DIGENEA Van Beneden, 1858

Os membros da classe Digenea formam o grupo mais numeroso dos platelmintes monozóicos. São maioritariamente endoparasitas dos peixes, com microbiótipos no intestino, vesícula biliar, bexiga – natatória, corrente sanguínea e, praticamente em todos os principais órgãos do seu corpo, quando estes actuam como hospedeiros definitivos.

Embora sejam referidos como helmintas achatados pelo facto de pertencerem aos platelmintos, algumas espécies podem ter forma cilíndrica, esférica ou serem piriformes. O tamanho é bastante variável, medindo de menos de 1 mm até vários centímetros de comprimento (25).

Distinguem-se *grosso modo* dos membros da classe Monogenea, por possuírem geralmente duas ventosas proeminentes na superfície do seu corpo: uma localizada na parte anterior conhecida por ventosa oral e a outra situada na região ventral, com o nome de acetábulo. Ambas, as ventosas, são usadas para fixação e locomoção. O sistema digestivo normalmente é incompleto, sendo que os cecos terminam em fundo cego (22) (25).

Conforme relata Pavanelli *et al.* (16), a patogenicidade determinada pelos digenéticos depende geralmente da espécie, localização, tamanho e fase de desenvolvimento. Os conhecimentos actuais permitem concluir que, os estádios adultos dos digenéticos poucas vezes causam prejuízos significativos, sendo mais pronunciados nas infecções por metacercárias (formas larvares), dado o enquistamento possível em qualquer tecido ou órgãos, com excepção das cartilagens e ossos, debilitando o hospedeiro (17).

Alguns estádios larvares são zoonóticos e podem causar repugnância ao consumidor pelo que os peixes nunca devem ser consumidos crus ou mal cozinhados, antes de serem inspeccionados.

*Derogenes varicus*, espécie que já foi citada para mais de 100 hospedeiros, será provavelmente a que tem mais ampla distribuição geográfica. É encontrada em zonas temperadas subárcticas e subantárcticas e nas águas profundas dos mares quentes, supondo-se que a sua distribuição é mundial e que se deverá estender às zonas mais frias das águas tropicais (18).

### 2.2.1 Ciclo biológico

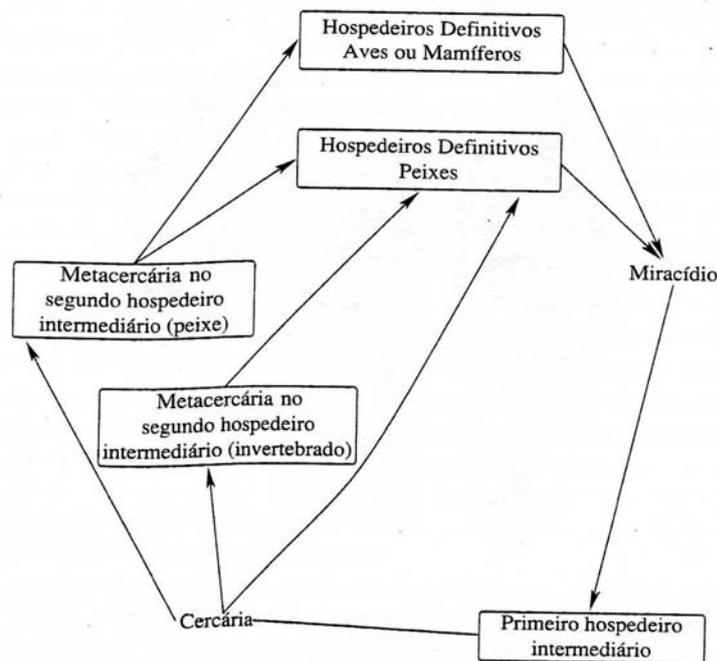
Os digenéticos são parasitas monóicos ou hermafroditas (com excepção de alguns membros da família *Didymozoidae*), que são dióicos, isto é, possuem dimorfismo sexual. Pode verificar-se a autofecundação ou a fecundação cruzada entre os indivíduos da mesma espécie (22).

O ciclo biológico é sempre indirecto e possui, em comum, a exigência de um molusco primeiro hospedeiro intermediário (com excepção dos membros do género *Aporocotyle* que completam o seu desenvolvimento larvar em anelídeos poliquetas), no qual o parasita se multiplica exponencialmente por reprodução assexuada permitindo que só um miracídio (larva de vida livre) produza um grande número de cercárias. Todavia, as metacercárias nem sempre continuam a reproduzir-se assexuadamente no meio exterior ou no segundo hospedeiro intermediário. Somente os adultos se reproduzem sexuadamente no hospedeiro definitivo (15).

A Figura 4 esquematiza os padrões dos ciclos – biológicos dos digenéticos que atingem a maturidade sexual nos peixes, dando particular relevância ao comportamento das cercárias em relação ao hospedeiro.

Os estádios de desenvolvimento correspondem, em termos gerais, aos seguintes: adulto, que vive no hospedeiro definitivo; ovo (ovóide e geralmente operculado) que é eliminado com as fezes ou a urina deste e sofre a sua eclosão no meio exterior ou num molusco (primeiro hospedeiro intermediário); miracídio, que se liberta, após a eclosão do ovo, no meio exterior ou num molusco; esporocisto, rédia (ou ambos) e cercária, fases larvares que se desenvolvem no molusco; cercária-livre ou englobada em bolas de muco, que ao abandonar o primeiro hospedeiro intermediário, pode, activa ou passivamente, penetrar directamente no hospedeiro definitivo e fechar, assim, ciclo-biológico, ou penetrar ou ser ingerida pelo segundo hospedeiro-intermediário e transformar-se em metacercária, ou ainda, procurar um suporte exterior (vegetais, rochas, etc.) para se enquistar e formar, então, a metacercária. Quando esta está madura, torna-se infectante para o hospedeiro-

definitivo, que a ingere, juntamente com o segundo hospedeiro-intermediário ou com a vegetação ou com outro suporte e o parasita atinge o estágio adulto (22).



**Figura 4 . Padrões mais frequentes do ciclo de vida dos Digenea parasitas de peixes (Needham e Woottten (1978) (18).**

Assim, os peixes podem ser, segundos hospedeiros-intermediários, hospedeiros-paraténicos (em geral, metacercárias musculares) e, finalmente, hospedeiros-definitivos destes parasitas.

A eliminação diária ou periódica de cercárias pelos moluscos gastrópodes é, na maioria, muito semelhante ou mesmo mais elevada, mas o tempo de produção é mais curto para os digenéticos em gastrópodes que possuem somente estádios de esporocistos (Strigeidae, Sanguinicolidae, Plagiorchidae) (15). A produção de cercárias exhibe também produções diárias ou periódicas. Os períodos de menor produção de cercárias correspondem à renovação das reservas de células germinais nos esporocistos ou nas rédias. A emissão pode ser estimulada pela salinidade (períodos de maré), pela temperatura, e pela luz (ciclos diurnos ou dia - noite), todos em interacção com a periodicidade intrínseca, mas não foi estabelecida uma

correlação significativa entre a eliminação das cercárias e a o comportamento do peixe – hospedeiro Paperna e Lengy (1963) (22).

Em suma, os membros da classe Digenea apresentam os ciclos biológicos indirectos ou heteroxenos mais complicados do reino animal, pois necessitam para os completar, de um hospedeiro-definitivo, de um ou dois hospedeiros intermediários e, por vezes, de hospedeiros paraténicos.

O maior factor limitante para a dispersão dos digenéticos são os moluscos hospedeiros. Estes, servem como primeiro hospedeiro intermediário, pertencem à classe Gastropoda e Pelecypoda (bivalves), mas alguns, também apresentam desenvolvimento na Scaphopoda (parasita lamelobrânquio), Palombi (1941), Wright (1971) (15).

No entanto, grande número de espécies de digenéticos atingem o estado adulto no peixe, através de outros organismos planctónicos e bêntonicos. No ambiente marinho, por exemplo, através da utilização de crustáceos (anfípodes, copépodos, isópodes e outros), celenterados, ctenóferos, poliquetas e moluscos Koie (1985) (15) e até, o próprio peixe juvenil/peixe predador (22).

### **2.3 CLASSE CESTODA revista por Schimidt, 1986**

Os céstodos constituem uma importante classe de endoparasitas, que no estágio adulto apresentem o corpo achatado dorsoventralmente em forma de fita, segmentada ou não, sem cavidade geral e sem tubo digestivo, cujos os órgãos de fixação se situam apenas na extremidade anterior.

Localizam-se normalmente no lúmen intestinal ou nos cegos pilóricos dos peixes enquanto adultos. No entanto, de acordo com (25) alguns podem localizar-se noutros órgãos ou regiões como a cavidade corporal, válvula espiral (elasmobrânquios), estômago e canais biliares e pancreáticos.

Como relata Oliveira (27), os estádios larvares possuem uma forma esferóide ou oblonga, localizam-se nos músculos, nas vísceras e na cavidade geral e, embora

em regra não apresentem órgãos sexuais, nalguns casos estes já se podem encontrar perfeitamente diferenciados e próximos da maturação, como se denota no caso das larvas plerocercóides da ordem Trypanorhyncha.

Os céstodos dos peixes integram-se nas subclasses Cestodaria (foliáceos, sem segmentos podendo ter uma ventosa anterior) ou falsos céstodos e Eucestoda (geralmente segmentados, em forma de fita ou estróbilo, alongados) ou verdadeiros céstodos. Entre os Cestodaria só os membros da ordem Amphilinidea parasitam peixes teleósteos e condríctios. Pelo contrário, nos Eucestoda doze a treze ordens encontram-se nos peixes e nove das doze são exclusivas destes animais, segundo a classificação seguida por Carvalho – Varela (22).

A maioria das espécies pertence ao grupo das chamadas ténias verdadeiras, que são constituídas por uma região anterior, o escólex, onde se localizam estruturas de fixação, o estróbilo, composto por proglotes cujo o número varia de alguns até centenas, e onde se desenvolve o sistema reprodutivo. Muitos podem ainda, apresentar uma região intermédia, chamada colo, onde são encontradas células germinativas responsáveis pela formação dos proglotes (25).

Os estádios larvares de alguns céstodos dos peixes apresentam um certo impacte económico, por causarem aspectos repugnantes ao consumidor, que conduzem à rejeição de alguns hospedeiros nas lotas e mercados. Neste contexto situam-se os céstodos da ordem Trypanorhyncha. Esta ordem é caracterizada pela presença, no ápice de escólex, de quatro tentáculos eversíveis que sustentam um complexo de diversos ganchos utilizados pelo adulto para a fixação ao trato gastrointestinal. O estágio larval, conhecido como plerocercos ou pós-larva, é encontrado nas cavidades corpóreas de peixes teleósteos e crustáceos (22).

A maior parte dos céstodos que parasitam os peixes com importância económica situam-se em regiões temperadas do norte e regiões árticas, sendo que algumas espécies (*Diphyllobothrium*, *Tripanophorus* e *Ligula*) têm uma distribuição circumpolar (15).

Quando em infecções massivas, algumas espécies de céstodos podem provocar prejuízos importantes nos peixes, determinando obstruções intestinais capazes de levar os hospedeiros à morte. Noutros casos, determinam lesões na parede do intestino do hospedeiro provocadas pelas estruturas de adesão existentes no escólex. No entanto a maioria dos céstodos parece não provocar grandes prejuízos já que os danos são apenas verificados nos locais de fixação com leve irritação localizada (16).

### **2.3.1 Ciclo biológico**

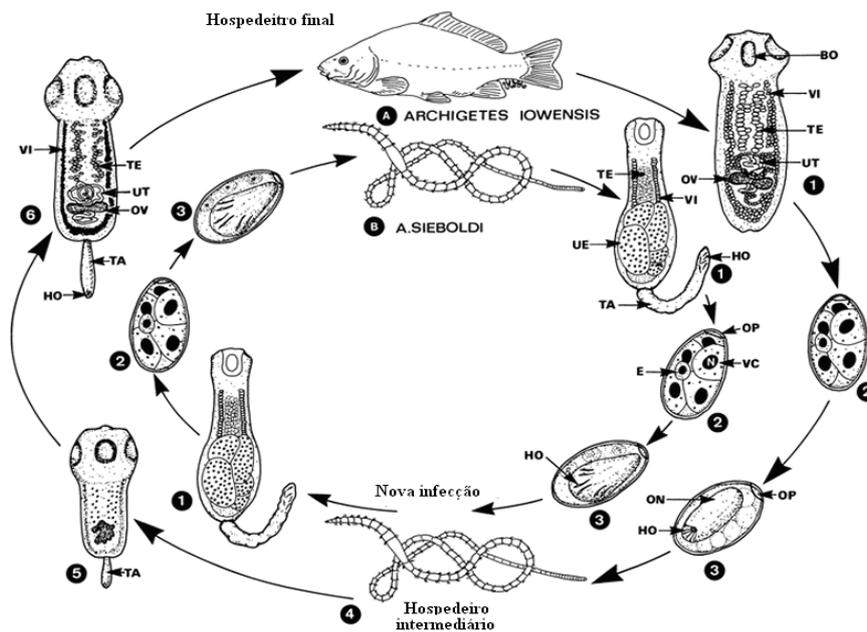
A grande maioria dos céstodos dos peixes, possuem um ciclo biológico indirecto, necessitando de um ou dois hospedeiros intermediários, invertebrados ou vertebrados, e no caso de parasitarem os peixes, estes podem ser segundos hospedeiros intermediários, hospedeiros paraténicos ou hospedeiros definitivos.

A sua transmissão é sempre passiva, com excepção dos membros da ordem Amphilinidea e, obtem-se, quando o ovo, a oncosfera ou a larva plerocercóide são ingeridos, como comida ou com ela, estando assim, estritamente relacionada com a dieta do hospedeiro em cada estágio do ciclo de biológico (22).

O ciclo de vida de poucas espécies desses céstodos é conhecido, mas, classicamente, sabe-se que atingem a maturidade no tubo digestivo de peixes elasmobrânquios, como tubarões e raias, existindo diferentes espécies de peixes teleósteos que actuam como hospedeiros intermediários e/ou paraténicos, Overstreet (1977), Rêgo (1987) e Palm (1997) (27).

O ciclo biológico básico dos céstodos ( Figura 5) compreende assim: um estágio adulto no lúmen do trato gastrointestinal, no qual elimina ovos, que contém um embrião ou oncosfera hexacante (com seis ganchos) na subclasse Eucestoda e um embrião com 10 ganchos na subclasse Cestodaria. No hemocélio (cavidade geral dos invertebrados) do primeiro hospedeiro intermediário (geralmente nos Eucestoda um artrópode copépode e outro organismos zooplanctónicos, e nos Cestodaria, um crustáceo anfípode) a larva (coracídeo)

desenvolve-se até alcançar o estágio de larva procercóide pode variar, de acordo com os diferentes grupos taxonómicos.



**Figura 5. Ciclo de vida da *Archigetes iowensis* (A) e *A. sieboldi* (B) de acordo com Mackienwicz e outros.** 1. Os estágios sexualmente maduros dos hermafroditas vivem no intestino de muitas espécies de peixes (A) ou na cavidade abdominal das oligoquetas (= anelídeos; *Limnodrilus*, *Tubifex*). De acordo com os mesmos autores, *A. sieboldi* pode também formar estádios férteis no hospedeiro (peixe). 2. Ovos não-embriados passam para a água via fecal (A) ou após a morte das oligoquetas (B). 3. O desenvolvimento embrionário completa-se ao fim de 14-16 dias na água a cerca de 18-22°C, permitindo a formação da oncosfera (ON). Estes ovos constituem uma forma infectante. No *A. sieboldi* o desenvolvimento (1-3) repete-se noutra oligoqueta (i.e. desenvolvimento indirecto). Uma vez que os estágios sexualmente maduros são procercóides, este desenvolvimento é progenético. 4-6 No *A. iowensis* um hospedeiro intermediário está, necessariamente, envolvido; isto parece também ocorrer no *A. sieboldi* se os hospedeiros finais forem peixes. Quando as oligoquetas ingerem ovos infectados, a oncosfera eclode do ovo e penetra na cavidade do corpo. Cada oncosfera desenvolve-se numa larva procercóide. Cada procercóide desenvolve órgãos reprodutivos completos em 60 dias (6). Quando estes procercóides são ingeridos por um hospedeiro final, a larva perde a sua cauda torna-se adulta e inicia a produção de oócitos e espermatozóides. Após a cópula, os ovos são eliminados com as fezes do hospedeiro. BO, botrium (ventosa acetabular); E, ovo; HO, ganchos da oncosfera; N, núcleo; ON, oncosfera; OP, opérculo; OV, ovário; TA, cauda; TE, testículos; UE, útero (gravídico) com ovos; UT, útero; VC, célula vitelina; VI, glândulas vitelinas (vitellarium) (adaptado Mehlhorn (28)).

O mais corrente, é que o peixe ingira o invertebrado (primeiro hospedeiro intermediário) infectado e que a larva procercóide se desenvolva até à fase de larva plerocercóide, habitualmente na cavidade geral ou nos músculos do próprio peixe predador, da mesma espécie ou de outra distinta (funcionando como segundo hospedeiro intermediário ou como hospedeiro paraténico). Mas pode acontecer, que o

peixe da mesma espécie (geralmente de mais idade, predador) devore o peixe miúdo infectado com larvas plerocercóides, as quais alcançam a maturidade sexual no intestino.

Assim, uma mesma espécie de peixe pode actuar simultaneamente como segundo hospedeiro intermediário e como hospedeiro definitivo, fenómeno denominado de auto heteroxenia (22).

### **3 FILO ACANTHOCEPHALA Rudolphi, 1808**

Os acantocéfalos são helmintas de corpo cilíndrico, bilateralmente simétricos, pseudocelomados e sem canal alimentar, caracterizados por possuírem um probóscis (ou trompa) invaginável e retráctil, armado de ganchos. A superfície do corpo é lisa, se bem que apresente rugas transversais exteriores, que lhe dão a aparência de anéis. Os sexos são separados exibindo acentuado diformismo sexual (16).

O tamanho dos acantocéfalos pode variar de alguns milímetros a cerca de setenta centímetros, a maioria medindo cerca de 1 cm de comprimento (29).

São cerca de quatrocentas, as espécies de acantocéfalos adultos e, formas larvares que os peixes podem albergar parasitando o intestino dos peixes. As formas larvares de muitas outras espécies ocorrem nas vísceras, especialmente no mesentério e no fígado dos peixes, que actuam então, como hospedeiros paraténicos. Os adultos, devido à ausência do tubo digestivo, são quase sempre encontrados no intestino dos peixes (22).

Quanto ao relacionamento parasita hospedeiro, este grupo de endoparasitas é considerado, como tendo um baixo potencial patogénico para o hospedeiro. A intensidade da patogenia depende da espécie, do número de espécimes, do tamanho dos parasitas e hospedeiros e do nível de penetração do probóscis. Em casos extremos podem chegar a provocar perfuração intestinal acompanhada de hemorragias. Por vezes, podem observar-se outras alterações patológicas, função de

tecidos ou órgãos afectados, quando as formas adultas conseguem atravessar o intestino ou quando enquistam no mesentério ou fígado, no estágio larvar (16).

São cosmopolitas, parasitando peixes da maioria dos grupos sistemáticos, de águas doce ou salgada, desde o Ártico ao Antártico, tanto em águas superficiais como profundas Nickol (1995) (15).

### **3.1 Ciclo biológico**

Os acantocéfalos dos peixes requerem um ou dois hospedeiros intermediários e os próprios peixes podem ser hospedeiros intermediários ou hospedeiros definitivos, dependendo da espécie parasitária. Carvalho-Varela (22) distingue, três tipos de ciclos-biológicos:

- ◆ ciclos aquáticos, em que intervem um só hospedeiro intermediário (o mais típico, tanto em acantocéfalos de peixes de água doce como salgada);

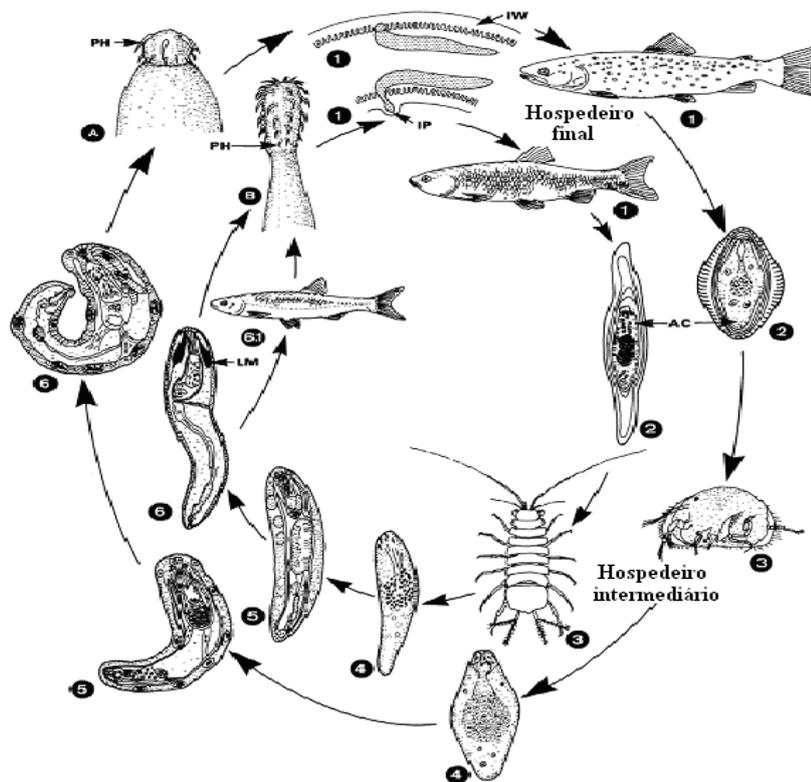
- ◆ ciclos aquáticos, em que interagem um hospedeiro intermediário e um definitivo hospedeiro paraténico facultativo. Neste caso os hospedeiros definitivos são peixes predadores.

- ◆ ciclos aquáticos terrestres, em que o peixe hospedeiro paraténico pode ser ingerido por um hospedeiro definitivo receptivo (anfíbio, raramente réptil, ave ou mamífero).

Normalmente, as fêmeas eliminam na água os ovos com o embrião completamente desenvolvido (acantor) que são ingeridos por um hospedeiro intermediário (geralmente anfípodes, copépodes, isópodes e ostracodermes), em cujo o hemocélio se desenvolve o acantor através de vários estádios ontogénicos (acantelas) até formarem uma larva infectante (cistacanto), a qual prossegue o ciclo até se converter em acantocéfalo adulto no intestino do hospedeiro definitivo. Por vezes, os cistacantos enquistam-se nos tecidos de outro peixe (hospedeiro paraténico), regra geral no mesentério ou no fígado, pelo que o peixe pode ser então simultaneamente hospedeiro paraténico e hospedeiro definitivo. Em certas outras espécies de acantocéfalos, o peixe hospedeiro paraténico podem ser ingerido por um

hospedeiro definitivo receptivo (anfíbio, répteis, aves ou mamíferos), onde alcançam o estágio adulto no intestino.

Porém, não existe ciclo sazonal para o *Pomphorhynchus laevis*, pois esta espécie está presente durante todo o ano nos peixes e, as flutuações de intensidade de infecção não dependem da temperatura, mas provavelmente de acordo com os hábitos alimentares do hospedeiro Kennedy (1972) (22).



**Figura 6 . Ciclo de vida de duas espécies comuns de acantocéfalos dos peixes A; B. 1.** As formas adultas fixam-se à parede intestinal do hospedeiro final, trutas (A) ou caboz e outros peixes (B). 2. Ovos embrionados são eliminados com as fezes do hospedeiro. 3-6 Os hospedeiros (A *Asellus aquaticus*, B crustáceos, ostreídeos) infectam-se por ingestão dos ovos. No interior do intestino a larva acantor (4) é libertada para a cavidade do corpo e transforma-se na larva acantela (5). Este estágio diferencia-se do da larva infectante ao fim de 30-60 dias (6) dependendo das condições do meio. Os hospedeiros finais infectam-se por ingestão dos hospedeiros intermediários. Quando o mugem e outros peixes ingerem os hospedeiros intermediários (*Asellus aquaticus*), a larva infectante entra nas vísceras da vítima, mas não há desenvolvimento posterior seguido de degeneração imediata. Os hospedeiros paraténicos podem ser uma fonte de infecção para o hospedeiro final. *Neoechinorhynchus rutili* e *A. anguillae* atingem a maturidade sexual ao fim de 20-30 ou 40-60 dias, respectivamente (período prépatente). As formas adultas vivem só por 2-3 meses (período patente). AC, acantor; IP, protuberância inflamada da parede intestinal; IW, parede intestinal; LM, PH, ganchos (probóscis) (adaptado Mehlhorn (28)).

#### **4 FILO NEMATODA Rudolphi, 1808**

De acordo com os dados disponíveis, os nemátodos constituem o maior grupo de parasitas dos peixes e são representados por dezassete famílias, das quais, os membros de cinco delas parasitam exclusivamente estes animais.

Os nemátodos são helmintas de formato cilíndrico com as extremidades filiformes ou fusiformes, geralmente de pequeno tamanho (menor de 4 cm) e providos de cutícula. São pseudocelomados com simetria bilateral, tubo digestivo incompleto e sexos separados, apresentando dimorfismo sexual (18) (25).

No peixe, os nemátodos adultos podem viver no intestino ou nas cavidades do corpo e as larvas ocorrem principalmente na cavidade abdominal dos peixes (livres no lúmen intestinal ou mais vulgarmente no mesentério e nas serosas que cobrem os órgãos internos); ocasionalmente, ou após a sua morte, enroladas ou espiralada na musculatura (região hipoaxial) ou mesmo já encapsuladas (normalmente após terem sofrido acção do gelo ou serem congeladas antes de evisceração).

Os principais critérios para a classificação das espécies são o tamanho do corpo, estrutura das extremidades posterior e anterior, posição do poro excretor e características da zona de transição entre o esófago e o intestino. Critérios estes, muitas vezes também válidos para a determinação específica dos estados larvares mais adiantados. Estudos recentes, no âmbito da bioquímica, têm demonstrado que algumas espécies, há muito devidamente conhecidas e caracterizadas sob o ponto de vista anatómico e morfológico, correspondem segundo Eiras (19), a mais do que uma espécie que apenas são distintas àquele nível.

Porém, Carvalho-Varela (22), ao consultar alguns destes estudos, corrobora a posição de Moravec (13), que por mais úteis e imprescindíveis que eles sejam, a utilização de métodos diferentes na preparação dos espécimes a examinar, têm conduzido a uma considerável variabilidade intra-específica dos nemátodos, que podem induzir a conclusões erradas.

A prevalência e intensidade da infecção do *Anisakis simplex*, nemátodo que na forma larvar é extremamente frequente nos peixes marinhos, é função do regime alimentar e da acessibilidade de hospedeiros intermediários parasitados. Resultados de infecções experimentais levaram à conclusão de que os eufausídeos têm a maior importância como hospedeiros intermediários de *A. simplex*. A sua infecção dá-se pela ingestão das L<sub>2</sub>, que migram para o hemocélio, onde mudam para L<sub>3</sub> e aí se encontram livres e não encapsuladas (30). Os eufausídeos são uma das mais importantes fontes de alimentação para os teleósteos mais frequentemente infectados por *Anisakis sp.* Por isso, apesar de os graus de prevalência da parasitose de eufausídeos por *Anisakis* serem geralmente baixos, segundo Davey (30) e Smith (31), as L<sub>3</sub> são facilmente acumuladas nos teleósteos devido à grande quantidade de presas ingeridas.

Yoshinaga *et al.* (32), através da observação de exemplares selvagens e de infecções experimentais, verificou que o ciclo de vida de *Hysterothylacium haze*, parasita de *Acanthogobius flavimanus*, pode ser directo, sendo até então a primeira vez que tal tipo de ciclo foi descrito para um nemátodo parasita de peixes.

Presentemente, grande número de géneros e espécies de nemátodos dos peixes, estão são considerados como sendo os mais importantes helmintas parasitas, sob o ponto de vista económico a nível mundial, não só pelos efeitos patogénicos mas também pela acção sobre o potencial biótico dos peixes, seus hospedeiros. Segundo Carvalho-Varela (22), esta patogenicidade é devida à sua grande mobilidade, aos seus mais diversos microbiótipos em que normalmente se encontram (na pele, sob as escamas, olhos, vasos sanguíneos, cavidade geral, intestino músculos, fígado, coração, bexiga natatória, gónadas e outras vísceras), ao seu modo de fixação e à alimentação à custa do hospedeiro.

Os efeitos patogénicos das infecções por nemátodos estão poucos estudados e, a maioria da informação é baseada em observações de campo. Existem poucos casos relatados de mortalidade devida a infecções por nemátodos. Alguns autores,

Bauer *et al.* (1997), Dick e Choudhury (1995) e Moravec (1994) (15) concordam que os danos causados no hospedeiro são efectivados através da subtracção de nutrientes, alimentando-se de tecido, sangue ou serosa; e por dano mecânico directo através de outras migrações, considerando as formas larvares mais prejudiciais aos hospedeiros do que os parasitas adultos, uma vez que podem migrar em direcção a determinados órgãos provocando lesões significativas.

Em suma, de acordo com Thatcher (1991) (15) os prejuízos causados nos peixes pelos nemátodos, variam intensamente, dependendo da espécie considerada, do órgão atacado e da intensidade da parasitose.

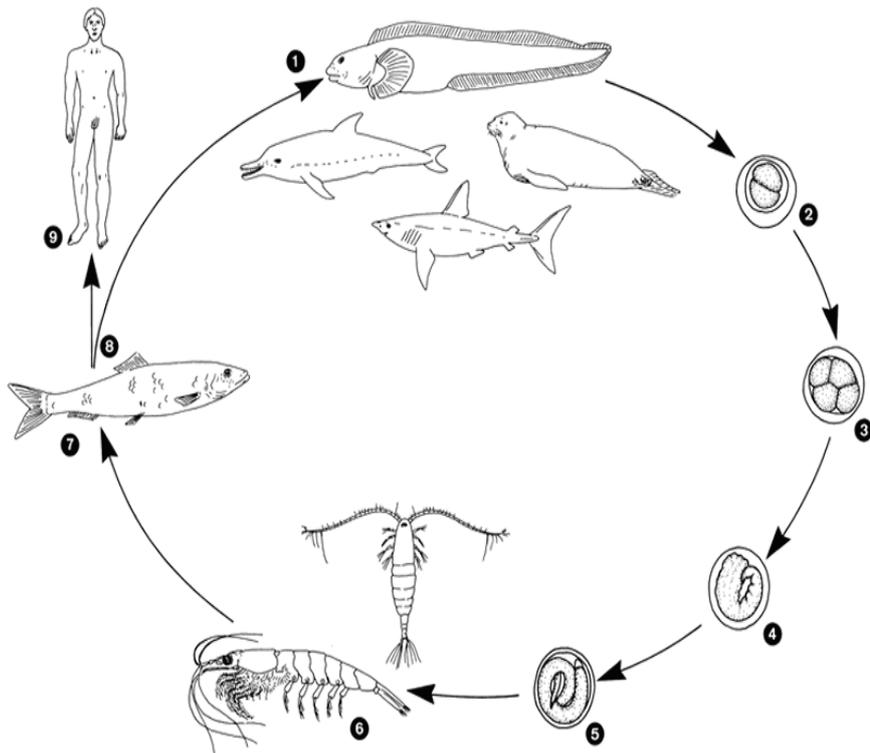
O *A. simplex* é um nemátodo cuja a forma larvar tem sido encontrada em mais de duas centenas de espécies de peixes marinhos, na maioria dos oceanos e mares, principalmente nos arenques (Família Clupeidae) e na pescada (Família dos Gadidae), e a forma adulta é parasita do estômago e intestino delgado de mamíferos marinhos ictiófagos como baleias, golfinhos, focas, morsas e leões-marinhos, particularmente nas águas polares e nas regiões mais frias das zonas temperadas (15).

#### **4.1 Ciclo biológico**

A maioria das fêmeas dos nemátodos dos peixes são ovíparas e os ovos, transparentes, redondos a ovais têm um diâmetro médio de cerca de 40x50 µm, e eclodem geralmente na água (Figura 7), libertando uma larva natatória de vida livre após 4-8 dias a 13-18°C, ou em 20-27 dias a 5-7°C, que evoluciona normalmente em cinco estádios, com quatro mudas. A primeira muda dá-se dentro dos ovos. A larva resultante (L<sub>2</sub>) que eclode está ainda envolvida pela cutícula da muda, tendo um comprimento médio de cerca de 335 µm nessas condições, e de 230 µm sem cutícula. São bastante activas podendo sobreviver 3 – 4 semanas a 13°-18°C e 6 – 7 semanas a 5-7°C (22).

Alguns géneros são ovovivíparos (por exemplo: *Camallanus* e *Philometra*) e as fêmeas eliminam directamente larvas natatórias. Em ambos os casos, a larva infectante é ingerida por um hospedeiro intermediário (usualmente um microcrustáceo

planctônico, ou outro peixe mais jovem ou de menores dimensões, este como hospedeiro paratênico), ou então, por um hospedeiro definitivo (aves, mamíferos ou peixes predadores). Excepcionalmente, conhecem – se alguns nemátodos de peixes, que têm ciclo – biológico directo (por exemplo, *Capillaria* e *Capillostogyliodes* sp.), isto é, sem hospedeiro intermediário obrigatório (18) (22).



**Figura 7. Ciclo de vida dos ascarídeos marinhos (*Contracaecum* sp., *Phocanema* sp., *Pseudoterranova* sp., *Anisakis* sp.).** 1. Os parasitas adultos vivem no intestino dos peixes ou dos mamíferos marinhos (hospedeiros finais). 2. Os ovos, quando expelidos pelas fezes não são embrionados. 3-5. A formação da L1 e L2 ocorre no interior dos ovos que flutuam na água. 6. Aparentemente, uma grande variedade de pequenos crustáceos marinhos pode actuar como hospedeiros intermediários quando ingerem ovos embrionados. No interior do hospedeiro intermediário forma-se a L3 (se bem que tem sido sugerido que em algumas espécies a L3 pode ser livre). 7. Quando a L3 (no interior dos crustáceos) é ingerida pelos peixes, encontra-se encapsulada e enrolada em espiral e acumula-se no interior de vários órgãos, incluindo músculos, sem que ocorra desenvolvimento posterior. Alguns autores acreditam que estas larvas desenvolvem a forma L4. Não havendo muda posterior, estes peixes são considerados como hospedeiros de transporte ou paraténicos. A acumulação de L3 ocorre com frequência em peixes carnívoros. 8. A infecção do hospedeiro final ocorre por ingestão de peixe infectado. No interior do estômago destes podem ocorrer ulcerações e no intestino, perfurações. 9. Os humanos podem tornar-se, de alguma forma, hospedeiros paraténicos, ao ingerirem peixe cru ou mal cozinhado (como o arenque) passando a sofrer de anisakidiose aguda, que pode levar à morte (adaptado Mehlhorn (28)).

## 5 FILO ARTROPODA

### 5.1 CLASSE CRUSTACEA Pennant, 1777

Os crustáceos habitam todos os ecossistemas marinhos, mas muitos vivem na água doce ou salobra e poucos na terra. Estão actualmente descritas cerca de duas mil espécies de artrópodes marinhos, a maior parte pertencente à classe Copepoda que afectam o peixe, prejudicando a sobrevivência do hospedeiro ou causando repugnância ao consumidor.

Os copépodes são metazoários ectoparasitas de dimensões variáveis (de poucos milímetros a dois centímetros), altamente modificados cujos apêndices orais e natatórios se têm transformado em potentes órgãos de fixação ao hospedeiro (1).

A maioria das espécies desta classe pertence à família *Ergasilidae* (65 espécies são parasitas de peixe de água – doce e 33 de teleósteos marinhos) (33).

A família *Caligidae* contém 445 espécies em 33 géneros: mais de três quartos destas espécies (239), são membros do género *Caligus* (15).

**Caligídeos:** copépodes de formato achatado e ventralmente apresentam apêndices orais modificados em forma de garra. Os caligídeos adultos mostram normalmente dimorfismo sexual; a fêmea é usualmente maior que o macho e os apêndices do macho, particularmente as primeiras maxilas e as segundas antenas, estão modificados para ajudar a fixação durante a cópula.

Com presença nos filamentos branquiais, no opérculo, e na pele do hospedeiro. Podem também localizar -se nas narinas e cavidade bucal (1).

As formas parasitárias podem ser constituídas por adultos e algumas formas larvares, podendo estas, estar fixas, através de órgãos de fixação também elaborados, ou ter alguma capacidade de fixação à superfície do hospedeiro. A sua presença, desde logo, é visível devido ao tamanho que podem atingir, ou à presença de sacos ovígeros, cuja a cor contrasta frequentemente com a da pele do hospedeiro o que permite a observação a olho nú (25).

Os hospedeiros apresentam pequenas manchas brancas que correspondem aos locais de alimentação dos parasitas. Em níveis elevados de infestação podem se formar lesões mais extensas e profundas, com exposição do músculo e de aspecto hemorrágico (16). Podem ainda ser vectores de doenças de etiologia vírica e, presumivelmente, hospedeiros definitivos de hemoparasitas (18).

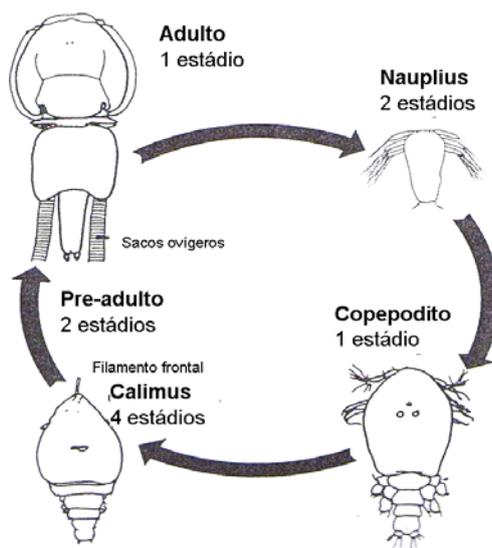
Entre os crustáceos parasitas, são os copépodes que possuem uma vasta gama de acções sobre os peixes hospedeiros. São provavelmente responsáveis pelas mesmas, por possuírem um filamento frontal (órgão de fixação larvar) que permite a segurança dos estádios “calimus”, os mais vulneráveis do seu ciclo biológico, ou, enquanto adultos, terem alguma capacidade de manutenção no hospedeiro (22).

Segundo Kabata (33), a natureza e severidade dos efeitos patogénicos dos crustáceos sobre os peixes são determinados pelas seguintes relações ecológicas: o grau de intimidade da interacção entre o parasita e o hospedeiro; a duração de contacto entre eles; as dimensões relativas dos crustáceos (parasitas) e dos peixes (hospedeiros), bem como as dimensões absolutas dos crustáceos; importância dos tecidos ou órgãos do peixe afectado pelo parasita; a história evolucionária das relações entre as duas componentes do sistema.

*Caligus elongatus* é uma espécie cosmopolita e tem sido encontrado em mais de 80 espécies de peixes em 17 ordens e 42 famílias (incluindo os teleósteos, salmonídeos, pleuronectídeos, escombrídeos, clupeídeos gadídeos e alguns elasmobrânquios). É a mais comum espécie de copépode parasita em águas Britânicas (33).

### **5.1.1 Ciclo biológico**

O ciclo biológico de *L. salmonis* engloba o complemento típico dos caligídeos: de dois estádios de náuplius de vida-livre (N1 e N2), um estágio copepodito infectante (C) quatro estádios calimus fixados (Ch1 a Ch4), dois estádios pré-adultos de vida-livre (Pa1 s e Pa2), e um estágio adulto (A) (Figura 8).



**Figura 8. Ciclo de vida do *Lepeophtheirus salmonis* (adaptado de Woo (1995) (15).**

Os factores ecológicos serão dos mais importantes condicionantes da infestação. A influência da salinidade sobre a mesma é notória nos hospedeiros que vivem em zonas de salinidade variável e nos migradores anádromos (18).

A prevalência e intensidade de infecção nos peixes de vida livre são usualmente baixas, embora White (34) já tenha encontrado jovens salmões do Atlântico (*Salmo salar*) na Nova Escócia, fortemente infectados exibindo lesões severas.

## **6 IMPORTÂNCIA DOS HELMINTAS NA SANIDADE, QUALIDADE E INSPECÇÃO DO PESCADO**

Um aspecto importante a ser considerado está na aparência da carne parasitada por helmintas. Leitão (35) relata que os animais parasitados não são boas fontes alimentares para as pessoas, pois, apesar dos peixes constituírem-se em excelente fonte de proteínas, lípidos, vitaminas e sais minerais, quando tais nutrientes são provenientes de um animal parasitado, enfraquecido e com seu metabolismo alterado pela presença de parasitas, os mesmos tornam-se pobres e insuficientes como fonte alimentar.

Segundo Eiras (18), uma outra importante consequência de algumas parasitoses é a redução do peso dos peixes, frequentemente acompanhada por uma diminuição do conteúdo lipídico e aumento da quantidade de água no músculo, além de aumentar a susceptibilidade desses animais a infecções por agentes oportunistas, como fungos e bactérias. Em adição aos efeitos sobre a saúde dos peixes, os helmintas causam consideráveis perdas económicas na indústria pesqueira, já que as autoridades sanitárias geralmente proíbem a venda de peixes contendo larvas visíveis (36). Okumura *et al.* (37) afirmam que esses parasitas também podem ser patogénicos para os peixes, pois costumam invadir órgãos como o fígado, gónadas, mesentério e musculatura corporal, provocando extensa patologia, principalmente, quando um grande número de parasitas está presente.

Segundo Thacher e Brites Neto (36), como algumas doenças de peixes têm carácter zoonótico, o pescado destinado ao consumo humano deve ser alvo de maior preocupação por parte dos serviços de fiscalização sanitária.

Apesar da maior segurança do alimento que é fornecido hoje ao consumidor, alguns, e especialmente os de origem animal, ainda são relativamente inseguros se não forem manipulados e preparados adequadamente para o consumo, já que a presença de alguns parasitas zoonóticos em peixes é motivo de preocupação (38).

Amato e Barros (39) chamam a atenção para o grande número de casos de anisacuíase humana, que ocorrem principalmente em países como o Japão, Holanda, Noruega, EUA, Peru, entre outros, onde há o hábito de ingerir peixes crus ou mal cozidos, em pratos culinários conhecidos, como o “sushi” e o “sashimi” dos orientais, o “ceviche” dos hispano-americanos, e o “green herring” dos holandeses.

Em Portugal, e ao contrário do que era habitual na cultura gastronómica, é hoje frequente o consumo de pratos preparados à base de peixe cru, resultante da recente popularidade de pratos tradicionais japoneses. Os peixes teleosteos comercializados em Portugal podem conter larvas de nemátodos anisacuídeos na serosa das vísceras, serosa da musculatura ou mesmo no interior da massa muscular.

Segundo um estudo conduzido por Nunes *et al.* (6), com o objectivo de avaliar a sensibilização específica ao *Anisakis simplex*, no barlavento algarvio em 100 indivíduos, o diagnóstico clínico da urticária esteve presente em 15% da totalidade da amostra. Os TSC (Testes de Sensibilidade Cutânea) a alimentos foram positivos em 9% dos indivíduos, sendo os alergénicos de peixe responsáveis por 3% das sensibilizações. Estes mesmos autores assinalam a IgE específica sérica (RAST-Pharmacia) para *Anisakis simplex* esteve presente em oito indivíduos; quatro deles com baixas concentrações e os restantes com valores moderados.

Importa, pois, alertar as unidades hospitalares portuguesas para esta “recente” patologia, sobretudo nas zonas piscatórias, onde existem hábitos alimentares de ingestão de peixes e crustáceos frescos deficientemente confeccionados.

Estes peixes consumidos crus, mal passados, defumados a frio e inadequadamente salgados, mantêm esses nemátodos viáveis e que podem acarretar ao homem, ulcerações no aparelho gastrointestinal e sintomas como: dor e cólica abdominal e eventualmente, vômito, não havendo tratamento medicamentoso, porque estas larvas fixam-se na mucosa gastrointestinal, provocam lesão e, morrem (9).

De acordo com Eiras (40), a infecção por Anisakidae ocorre de modo natural em centenas de espécies de peixes, destacando-se os nemátodos *Anisakis simplex* e *Pseudoterranova decipiens* como os de maior importância em saúde pública, porém, a prevalência varia de acordo com a época do ano e conforme o ambiente marinho. As larvas destes helmintas podem sobreviver muitos anos na musculaturas dos peixes, aumentando em número com o tempo de vida do hospedeiro. Segundo Germano *et al.* (41), os anisacuídeos do género *Contracaecum* tem importância apenas do ponto de vista estético do peixe como produto comercial, já que não apresentam risco zoonótico.

A única fase evolutiva desses parasitas encontrada nos peixes e no próprio homem é a larvar (42). Barros e Cavalcanti (43) aludem que nos peixes, as L<sub>3</sub> localizam-se nas serosas viscerais e podem migrar para a musculatura, onde se

enquistam e, se ingeridas, constituem um risco potencial sob o ponto de vista de saúde pública. Estas migrações ocorrem quando se trata de peixes gordos nos quais a maior parte dos lípidos está concentrado no músculo (44) (45). Supõe-se que os estímulos que determinam essa saída poderão estar relacionados com a presença de músculo gordo adjacente, bem como, provavelmente, com alterações físico-químicas das vísceras e o aumento da temperatura que se verifica no hospedeiro após a sua morte.

Deste modo estão criadas condições para uma fácil infecção humana se os parasitas forem ingeridos vivos através do consumo de peixe cru ou semi-cru. A infecção humana é ainda facilitada pelo facto das L<sub>3</sub> bastante resistentes a mudanças ambientais e vários processos de cura. Podem sobreviver quatro a cinco dias a temperaturas de -20°C (morrem se forem congeladas a -30°C durante pelo menos 16 horas e depois conservadas a -12°C durante uma semana). A salga pode não ser, por si só suficiente para as matar, dado que sobrevivem várias semanas numa solução de NaCl (mas morrem em solução saturada de sal). Por outro lado, são necessários durante o cozimento, 5 minutos a 60°C, para garantir a morte das larvas sendo que sobrevivem a processos de fumagem até 40°C (5).

*Clonorchis sinensis*, *Opistorchis felineus*, *Opistorchis viverrini*, parasitas digenéticos que afectam o pescado selvagem têm sido descritos como ocorrendo no homem e, são os que ocasionam mais graves consequências (infecção hepática), estando distribuídos ampla e mundialmente, infectando milhões de pessoas; *C. sinensis* é endémico ao longo do Leste Asiático e na Costa Pacífica Americana, distribuição geográfica que coincide com a do 1º hospedeiro intermediário, *Parafossalurus manchouricus*, e espécies estreitamente aparentadas. Este digenea infecta milhões de pessoas, e em certas áreas da China, cerca de 100% dos habitantes estão parasitados; *O. Felineus* é natural da Europa Central e Oriental; *O. Viverrini* é encontrado exclusivamente no Sudoeste Asiático, principalmente ao norte da Tailândia (18).

O homem, que constitui o mais adequado hospedeiro definitivo, infecta-se pela ingestão de peixe cru. As metacercárias de *C. sinensis* podem ser encontradas em mais de 80 espécies de peixe nas quais enquistam no tecido conjuntivo subcutâneo e músculo. Com a sua ingestão pelos hospedeiros definitivos, os parasitas migram para os canais biliares do fígado, começando a produzir ovos cerca de 3 a 4 semanas depois da infecção. *O. felinus* e *O. Veverrini* têm um ciclo de vida semelhante ao de *C. sinensis*, tendo os peixes como segundo hospedeiros intermediários e o homem como um dos definitivos. As infecções humanas são também muito importantes, calculando-se que apenas na Tailândia existam cerca de 4 milhões de pessoas infectadas (18).

A metacercária é muito resistente, sobrevivendo mais de 2 meses a temperatura de refrigeração, salga, ou conservas de peixe. O tempo decorrido entre a ingestão até à infecção tornar-se sintomática é de 4 semanas. A maioria das pessoas são portadoras assintomáticas, embora febre, dor epigástrica e eosinófilia possa desenvolver-se numa semana, após a ingestão do peixe infectado. Infecção com *C. sinensis* e *O. Viverrini* também está associado com o aumento da incidência de colangiocarcinoma nas áreas endémicas (46).

## **7 ESTUDO DOS HOSPEDEIROS**

O estudo do hospedeiro no que concerne à sua biologia e habitat é importante para a compreensão das infecções parasitárias relacionadas com a espécie de peixe, sua distribuição geográfica e oceânica, uma vez que a alimentação e época do ano estão dependentes daqueles factores.

Seguidamente revê-se o referente ao carapau e à sarda, espécies em estudo.

### **7.1 CARPAU – *Trachurus trachurus* Lineu, 1758**

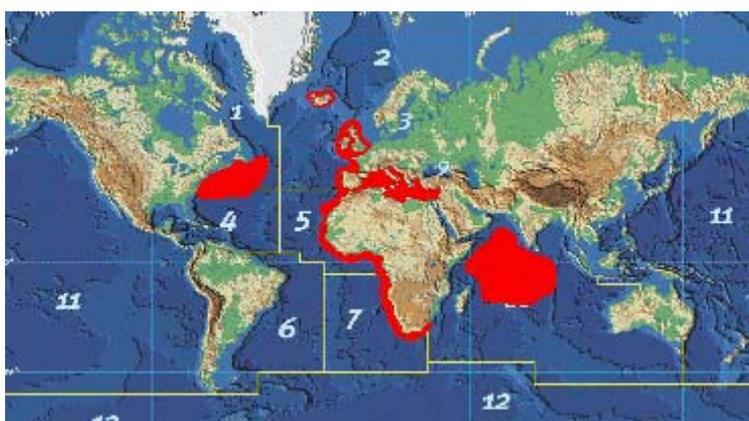
O carapau é um peixe que se encontra presente em vários mares, principalmente no oceano Atlântico. Possui um corpo fusiforme, comprimido

lateralmente com uma tonalidade azul esverdeada no dorso, flancos prateados e ventre branco. A linha lateral é proeminentemente formada por escamas em forma de escudos ósseos, podendo atingir um comprimento máximo de 45 cm mas em regra tem entre 10 e 30 cm (47) (48).

Distribui-se predominantemente pelas zonas subtropicais (67° N, 19° S, 26° W, 41° E), do Atlântico Nordeste, da Islândia à Ilha de Cabo Verde, Mar Mediterrâneo e Mar Marmara e raramente no Mar Negro (49). Também o podemos encontrar no Atlântico Oeste, Índico e Pacífico Oeste (50) (Figura 9).

Sendo uma espécie oceânica pelágica de nível trófico variável em função da quantidade de alimento disponível; encontra-se usualmente entre os 100 e os 200m de profundidade, podendo ir até aos 500m, formando grandes cardumes em áreas costeiras com fundos arenosos (49) (50).

A dieta alimentar do carapau consiste preferencialmente em crustáceos e cefalópodes (49) (50) (51). As alterações sazonais que ocorrem na sua dieta correspondem a uma maior diversidade de alimento disponível no Inverno em comparação com outras épocas do ano, mantendo-se o *Krill* (*Euphausia superba*) como o principal alimento durante todo o ano.



**Figura 9. Distribuição geográfica do carapau (*Trachurus trachurus*).** Zonas de Pesca: (1) Atlântico Noroeste (FAO 21); (2) Atlântico Nordeste (FAO 27); (3) Mar Báltico (FAO 27); (4) Atlântico Centro-Oeste (FAO 31); (5) Atlântico Centro-Este (FAO 34); (6) Atlântico Sudoeste (FAO 41); (7) Atlântico Sudeste (FAO 47); (8) Mar Mediterrâneo (FAO 37); (9) Mar Negro (FAO 37); (10) Oceano Índico (FAO 51, 57); (11) Oceano Pacífico (FAO 61, 67, 71, 77, 81, 87); (12) Antártico (FAO 48, 58, 88) (adaptado de: An illustrated dictionary of fish and shellfish (2003) (52).

O carapau nas zonas costeiras alimenta-se de zooplâncton (larvas de copépodes e de decápodes), aumentando a incorporação de outros peixes na sua dieta com o crescimento. Com o aumento de tamanho, o carapau desloca-se para águas mais profundas, ficando alterada a disponibilidade e o tipo de alimentação e provocando uma variação na sua dieta (51).

## 7.2 SARDA – *Scomber scombrus* Lineu, 1758

É um peixe caracterizado por possuir um corpo fusiforme, alongado, muito hidrodinâmico, coberto de escamas muito finas e pouco perceptíveis. O dorso azul - cinzento apresenta zebruras negras pouco onduladas praticamente verticais, ventre e flancos cinzento prateado. No estado adulto mede entre 20 e 40 cm e pesa entre 300g e 1 Kg (48).



**Figura 10. Distribuição geográfica da sarda (*Scomber scombrus*).** Zonas de Pesca: (1) Atlântico Noroeste (FAO 21); (2) Atlântico Nordeste (FAO 27); (3) Mar Báltico (FAO 27); (4) Atlântico Centro-Oeste (FAO 31); (5) Atlântico Centro-Este (FAO 34); (6) Atlântico Sudoeste (FAO 41); (7) Atlântico Sudeste (FAO 47); (8) Mar Mediterrâneo (FAO 37); (9) Mar Negro (FAO 37); (10) Oceano Índico (FAO 51, 57); (11) Oceano Pacífico (FAO 61, 67, 71, 77, 81, 87); (12) Antártico (FAO 48, 58, 88) (adaptado An Illustrated Dictionary of Fish and Shellfish (2003) (52).

Sendo uma espécie oceânica pelágica, de nível trófico mesodermal, abundante nos mares tropicais e temperados (Norte do Atlântico): 70° N, 25° S, 77° W, 42° E; é uma espécie característica do Atlântico Este: desde a Noruega aos Açores e Marrocos, o Mar Mediterrâneo e o Mar Negro. Também está presente na zona Oeste do Mar Báltico (53) (49) (Figura 10).

Espécie pelágica, vive desde a superfície até aos 120m de profundidade e forma grandes cardumes junto à superfície sendo abundante em águas frias e temperadas. Situa-se em águas mais profundas e afastadas da costa no Inverno mas desloca-se para perto da zona costeira na Primavera onde a temperatura da água varia entre os 11 e os 14°C (53) (54). É ainda maioritariamente de vida diurna.

A sarda é um grande predador (51). Os adultos alimentam-se de várias quantidades de crustáceos pelágicos, principalmente copépodes e eufasiáceos mas também de larvas de caranguejo, anfípodes, pequenos clupeídeos e cefalópodes (49) (55).

Existe sazonalidade na dieta desta espécie, predominando o zooplâncton no Verão e peixes e decápodes no Outono (51).

### **III. TRABALHO EXPERIMENTAL**

#### **1 MATERIAL E MÉTODOS**

##### **1.1 Caracterização do local de captura**

O presente trabalho foi efectuado com base em amostragem realizadas durante 4 meses, de Fevereiro a Junho de 2009. As espécies amostradas foram capturadas n Atlântico Nordeste (FAO 27), ao largo da costa Portuguesa, estando a localização das capturas representada pela Divisão IX, Rectângulo estatístico 9E0 que engloba os portos pesqueiros da zona da Figueira-da-Foz e Aveiro.

##### **1.2 Origem e espécies de pescado**

As espécies utilizadas neste trabalho foram seleccionadas por se tratar de espécies abundantes nas descargas na Lota da Figueira-da-Foz, por serem representativas do pescado consumido em Portugal e, ainda por apresentarem continuidade de captura ao longo de todo o ano. Este último critério de selecção, considerou-se prioritário para que fosse possível realizar um número de amostras aceitável, durante pelas menos 2 estações do ano (Primavera e Verão).

Assim, as espécies seleccionadas foram espécimes pertencentes à família Carangidae; o carapau (*Trachurus trachurus*) e à família Scombridae; a sarda (*Scomber scombrus*).

##### **1.3 Caracterização do sistema de captura**

As amostras tiveram na sua totalidade, proveniência da arte de pesca com arrasto de fundo de portas abertas. Este sistema de captura consiste no reboque de redes por navios denominados arrastões, sendo a rede largada da popa (rede arrastada à ré do navio), directamente sobre o leito do mar.

As embarcações mantinham o pescado em gelo nos porões em condições de pescado fresco, o que obriga a que estes navios operem em águas não demasiado

afastadas local de descarga de forma a que o peixe não permanecesse mais de 8 horas a bordo, sendo este um dos pontos que se regulam as normas sanitárias aplicáveis aos produtos de pesca a bordo de determinados navios pesqueiros, fixadas pela Directiva 92/48/CEE de 16 de Junho.

#### **1.4 Caracterização das amostras**

Foram utilizadas no presente trabalho, duas espécies de peixes colectadas no período de Fevereiro a Junho de 2009, totalizando 38 espécimes, assim distribuídos: 20 de carapau, *Trachurus trachurus* Lineu, 1758 com variação de comprimento total (CT) de 21 a 37 cm (média 29.82 cm); 18 de sarda, *Scomber scombrus* Lineu, 1758 com variação de comprimento total (CT) de 26 a 39 cm (média de 30.42 cm).

As espécies de pescado em causa ofereciam-se para comercialização frescas, inteiras e não evisceradas.

Quinzenalmente foram obtidas amostras de dois exemplares para cada espécie, tendo sido transportados e acondicionados até ao laboratório de Parasitologia da Escola Superior Agrária de Coimbra (ESAC) em ambiente protegido e refrigerado sendo realizada a observação das estruturas exteriores e necrópsia dos exemplares no espaço de 8 horas, evitando assim alterações *post-mortem* e, principalmente migrações parasitárias, como resposta aos fenómenos de autólise do peixe.

No momento da colheita de cada amostra foi garantida a identificação do hospedeiro em questão, utilizando para o efeito uma ficha de necrópsia (Anexo I) onde se procedeu ao registo dos seguintes parâmetros:

- comprimento total individual: da ponta anterior até à posterior (medido ao mm inferior);
- largura total individual: linha paralela ao opérculo com início no ponto de inserção da barbatana dorsal até ao ponto de inserção da barbatana peitoral (medido ao mm inferior);
- peso total individual (com erro inferior a 0.01 g);

- aspectos externos (eventuais alterações, descolorações, quistos ou massas tumorais, existência de hemorragias, ectoparasitas).

### 1.5 Materiais e soluções utilizadas:

- ✓ Microscópio binocular *Leitz Laborlux 11* com oculares periplan 10x e objectiva a seco de 4/0.11 ou de 10/0.25.
- ✓ Lupa estereoscópica *Nikon, SMZ-2*
- ✓ Centrífuga *Hettich Universal*
- ✓ Placa de aquecimento *Ika –Werke*
- ✓ Balança *Salter*
- ✓ Máquina fotográfica *Sanyo VPC-CA6*
- ✓ Ocular micrométrica *Leitz Wetzlar* com ocular Periplan 10 x/18
- ✓ Lâminas com 7.5 x 2.5 cm
- ✓ Lamelas com 7.6 x 2.16 cm
- ✓ Lamelas 16 x16 cm
- ✓ *Bisturi*
- ✓ Pipetas de *Pasteur*
- ✓ Pinça bico de pato
- ✓ Pinça dentes de rato
- ✓ Pincéis n.<sup>os</sup> 6, 10
- ✓ Agulha
- ✓ Tesoura de pontas finas
- ✓ Tesoura de ponta romba
- ✓ *Eppendorfs*
- ✓ Tubos de centrífuga
- ✓ Sacos de plástico
- ✓ Suporte para tubos de centrífuga
- ✓ Solução fisiológica 0,65%
- ✓ Álcool a 70%
- ✓ Formol a 5%
- ✓ Formalina 1:4000
- ✓ Coloração *May-Grüwald* e *Giemsa*
- ✓ Coloração Hematoxilina de *Delafield*
- ✓ Dicromato de Potássio
- ✓ Solução de Lugol
- ✓ Lactofenol
- ✓ Óleo de cravo

- ✓ Caixas de *Petri*
- ✓ Água destilada
- ✓ Água da torneira

## **1.6 Metodologia de colheita, fixação e coloração**

A metodologia da colheita parasitária dada as características específica de habitat do pescado é feita através da necrópsia das amostras.

A necrópsia teve como objectivo pôr em evidência e colher os diferentes elementos parasitários: ovos, larvas e parasitas. No presente trabalho, foram adoptados os procedimentos de necrópsia de acordo com as técnicas descritas por Eiras *et al.* (25), como objectivo de fazer uma observação sistemática detalhada das estruturas externas e internas dos peixes recolhendo todas as formas parasitárias existentes. Após a colheita, os parasitas foram agrupados e etiquetados por órgão e conservados em *eppendorfs* numerados e datados.

A metodologia de fixação dos parasitas foi a seguinte: monogenéticos e digenéticos adultos, fixados com formol a 5%; crustáceos com álcool a 70%; nemátodos foram fixados a quente (60°C) com formol a 5% para distensão do corpo, acantocéfalos foram colocados em água destilada para que ocorresse a eversão do probóscis e fixados com formol a 5%.

Sofreram ainda coloração os digenéticos, corados com Hematoxilina de *Delafield*, clarificados e conservados em óleo de cravo. Os crustáceos foram clarificados, no momento da observação, com lactofenol.

## **1.7 Recolha parasitária**

### **1.7.1 Pele**

A necrópsia iniciou-se pela pele, através do reconhecimento detalhado da superfície externa do peixe pela inspecção macroscópica, uma vez que muitos parasitas que aí se localizam são visíveis a olho nú.

Outro procedimento de grande importância consistiu em observar ao microscópio óptico o muco obtido por raspagem da pele. Esta raspagem foi realizada no sentido ântero-posterior, sendo o produto da raspagem colocado em lâmina com uma gota de água destilada, misturando-se cuidadosamente com o auxílio de duas agulhas e cobrindo-se com lamela. A observação do muco permite a pesquisa de protozoários.

### **1.7.2 Opérculos e brânquias**

Depois de observada a pele, submeteram-se as brânquias a exame. Para tal, primeiramente removeu-se o opérculo que foi sujeito a observação à lupa, em placa de *Petri* para pesquisa de lesões ou parasitas. Posteriormente, efectuou-se uma observação macroscópica às brânquias e de seguida, individualizou-se o segundo e terceiro arco branquial para exame à lupa em placa de *Petri* com formalina 1:4000, procedendo-se à varredura das lamelas com pincel. De seguida, efectuou-se a colheita das formas parasitárias em *ependorf* com formol a 5%.

Este procedimento permitiu a detecção de parasitas bem como a análise da sua dispersão ao longo da superfície branquial.

Todas as formações nodulares (frequentemente esbranquiçadas ou amareladas) foram cuidadosamente removidas e o seu conteúdo examinado ao microscópio óptico, pois frequentemente correspondem a quistos de protozoários

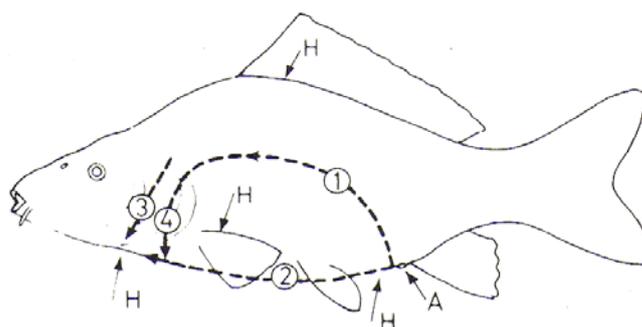
Estas observações permitiram a pesquisa de protozoários, copépodes e tremátodos.

### **1.7.3 Cavidade visceral**

O passo seguinte no processo de necrópsia consiste na abertura da cavidade visceral e exposição dos respectivos órgãos (Figura 11). Para tal, fez-se uma primeira incisão à frente do ânus. O corte decorreu desde este ponto inicial, passando por entre as barbatanas abdominais até á frente, até alcançar a cavidade que aloja o coração,

cortando e separando o cinturão escapular por debaixo da garganta. O segundo corte, que também parte do ponto de incisão inicial, segue adiante do ânus, traçando um arco pelo bordo superior da cavidade abdominal, seguindo em frente para logo curvar em baixo, até à altura das brânquias.

A porção da parede corporal assim delimitada desprende-se deixando à vista os órgãos contidos na cavidade abdominal que foram primeiramente observados *in situ*.



**Figura 11. Representação esquemática do sentido dos cortes.** As incisões de 1 a 4 realizam-se sequencialmente ou então efectua-se primeiro o corte 3. A: ânus; H: pontos para efectuar o rebatimento de pele (adaptado de Reichenbach – klinke (1982) (56).

Esta primeira observação permitiu a detecção de parasitas localizados ou aderidos à superfície dos órgãos ou na própria cavidade visceral.

Para a inspecção macroscópica dos órgãos foram retirados o fígado, gónadas, estômago, intestino e cecos e, individualizados em placa de *Petri*, com soro fisiológico 0,65%. Em cada um deles, foi dada especial atenção a eventuais zonas de descoloração, modificações na textura e presença de nódulos. Neste caso, as zonas afectadas foram isoladas e observadas separadamente utilizando lupa e ou microscópio óptico, conforme fosse mais adequado.

No que concerne ao exame de sangue, este foi realizado com a maior brevidade possível, obtido por punção do coração. A agulha foi introduzida em posição oblíqua em direcção postero - anterior. De seguida foi realizada a extensão sanguínea, deixando-se secar ao ar. Posteriormente, estas foram coradas pelo método *May-Grüwald* e *Giemsa* com o objectivo de pesquisar protozoários sanguíneos.

No que respeita ao tubo digestivo, foi também observado o respectivo conteúdo. Para tal, o estômago foi aberto mediante um corte longitudinal tal como o intestino. O conteúdo intestinal foi retirado e observado à lupa e microscópio óptico entre lâmina e lamela, tendo tido esta observação a finalidade de detectar ovos, larvas e parasitas adultos. A parede do lúmen intestinal foi sujeita também a observação dado que são frequentes os parasitas que a ela se aderem como se verifica com os céstodos e acantocéfalos.

O fígado, sofreu disseção para exame dos tecidos com posterior observação ao microscópio, para pesquisa de protozoários.

As águas de lavagem dos órgãos dos exemplares de cada espécie foram sujeitas a decantação, conservação do seu conteúdo e refrigeradas até ao momento da sua observação.

Este último procedimento destinou-se à pesquisa de formas parasitárias (ovos, larvas).

## IV. RESULTADOS

### 1 Gerais

Nas duas espécies de hospedeiros estudadas foram encontrados ecto e endoparasitas. Num total de 38 peixes necrópsiados foram colhidos 1255 parasitas, sendo que todos os peixes analisados estavam parasitados por uma ou mais espécies de parasitas (Apêndices II e III).

A Tabela 1 mostra a percentagem de peixes parasitados para as diferentes classes de parasitas (conadasídeos, tremátodos monogenéticos e digenéticos, nemátodos, acantocéfalos e crustáceos).

Em *T. trachurus* 4 classes de parasitas foram colectadas, ou seja, em 20 carapaus, respectivamente 17 (85%) apresentaram conadasídeos e 20 (100%) nemátodos sendo estas classes as mais representativas.

Em *S. scombrus*, 6 classes de parasitas foram colectadas, sendo que 17 sardas (94.4%) tinham conadasídeos e 72.2% (13) tinham nemátodos.

Resume – se ainda o número (N.º) de exemplares de parasitas recolhidos para cada classe, tendo sido, no total de 1255.

**Tabela 1. Percentagem de carapaus e sardas parasitados por classe de parasitas e total de exemplares (N.º) recolhidos por classe parasitária.**

	Conadasídea (%)	Monogenea (%)	Digenea (%)	Nematoda (%)	Acanthocephala (%)	Crustacea (%)
Carapau (n=20)	85	60	10	100	0	0
Sarda (n=18)	94.4	33.3	50	72.2	5.6	50
N.º (1255)	*	91	53	1077	3	31

\* não contabilizado: evidência por observação microscópica das águas de lavagem do fígado e restantes órgãos (estômago intestino e cecos) após conservação.

Quanto ao número de parasitas recolhidos, excluindo o grupo de protozoários, perfizeram no seu total 1255 exemplares, maioritariamente nemátodos (1077) e tremátodos monogenéticos (91) seguido dos digenéticos (53), crustáceos (31) e acantocéfalos (3).

Dentro dos tremátodos digenéticos apenas foi possível identificar até ao género um verme, sendo que todos os outros levantaram dúvidas, na medida em que se supôs tratar-se de formas larvares, não havendo disponibilidade de bibliografia que permitisse com segurança chegar ao género.

A Tabela 2 refere-se ao local de recolha, classes de parasitas e número de parasitas colectados nos 20 exemplares de carapau, no período em estudo.

No carapau, foram encontradas nas brânquias duas espécies de monogenéticos identificadas: *Gastrocotyle trachuri*, com 51 exemplares e *Pseudaxine trachuri* num único exemplar de carapau e, ainda, duas espécies não identificadas.

Nos esfregaços de sangue foram encontradas três espécies de conasaídeos: *Goussia cruciata*, *Goussia clupearum* e *Haemogregarina bigemina*. Na cavidade abdominal, as espécies identificadas eram de larvas do 3º estágio de Anisakídeos. Em virtude da dificuldade de identificação morfológica, apenas se identificou o género: *Anisakis* sp. e *Contracaecum* sp.. Para além destas, identificaram-se ainda duas espécies: *Raphidascaaris acus* encontradas em pequeno número (13 exemplares) e *Hysterothylacium aduncum* (1 exemplar). Recolheram-se ainda três exemplares de anisakídeos e um ascarídeo que não se identificaram.

Nos cecos, encontrou-se ainda dois tremátodos digenéticos que não foi possível identificar.

Os nemátodos representaram a grande maioria do total de espécimes colectados (793), sendo o *Anisakis* sp. o género parasitário com maior prevalência e também, o que obteve maior diversificação dos locais de recolha, uma vez que as larvas estavam presentes em todos os órgãos da cavidade abdominal (fígado,

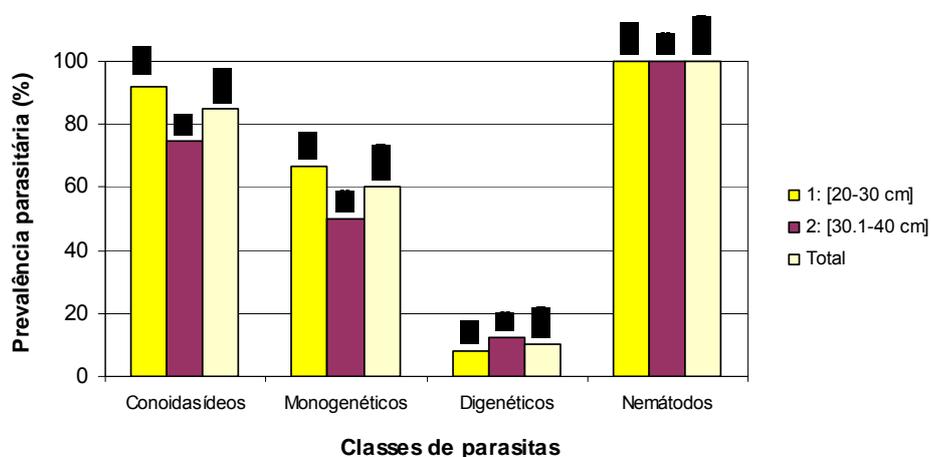
gónadas, estômago, intestino e cecos) bem como mesentério e serosa intestinal devido à migração do parasita a partir do intestino.

**Tabela 2. Local de recolha, classes de parasitas e número de parasitas colectados em carapau.**

Local de recolha	Classe	Parasita	Nº
Brânquias	Monogenea	<i>Gastrocotyle trachuri</i>	51
		<i>Pseudaxine trachuri</i>	1
		<i>Heteroxinus atlanticus</i> ?	1
		<i>Dactylogiridae n.i.</i>	1
<b>Total</b>			<b>54</b>
Sangue (esfregaço)	Conoidasida	<i>Haemogregarina bigemina</i>	*
Gónadas	Nematoda	<i>Anisakis</i> sp.	246
	Nematoda	<i>Raphidascaris acus</i>	1
	Nematoda	<i>Contraecum</i> sp.	1
	Nematoda	n.i	1
	Nematoda	Ascarídeo n.i	1
Fígado	Nematoda	<i>Anisakis</i> sp.	20
	Conoidasida	<i>Goussia cruciata</i>	*
	Conoidasida	<i>Goussia clupearum</i>	*
	Nematoda	<i>Raphidascaris acus</i>	1
Estômago	Nematoda	<i>Anisakis</i> sp.	219
	Nematoda	<i>Raphidascaris acus</i>	3
	Conoidasida	<i>Goussia cruciata</i> .	*
	Conoidasida	<i>Goussia clupearum</i>	*
Intestino	Nematoda	<i>Anisakis</i> sp.	144
	Nematoda	<i>Raphidascaris acus</i>	4
	Nematoda	<i>Hysterothylacium aduncum</i>	1
	Nematoda	<i>Contraecum</i> sp.	2
	Nematoda	n.i	1
	Conoidasida	<i>Goussia cruciata</i>	*
Cecos	Nematoda	<i>Anisakis</i> sp.	143
	Nematoda	<i>Raphidascaris acus</i>	4
	Nematoda	n.i	1
	Conoidasida	<i>Goussia ccruciata</i>	*
	Conoidasida	<i>Goussia clupearum</i>	*
<b>Total</b>			<b>793</b>
Cecos	Digenea	n.i.	2
<b>Total</b>			<b>2</b>

\*; não contabilizado ; n.i. ; não identificado

**Gráfico 1. Percentagem de carapaus parasitados segundo duas classes de tamanho (20 – 30.1) e (30.1 – 40) cm para cada classe parasitária.**



A apreciação da percentagem de carapaus parasitados em função do seu tamanho (Gráfico 1; Tabela 3) permitiu observar que existia mais exemplares parasitados por conoidasídeos e tremátodos monogenéticos na classe de menor tamanho (20 a 30 cm) e que havia uma percentagem superior de carapaus parasitados por tremátodos digenéticos na classe 2 (30,1 a 40 cm). Independentemente do seu tamanho, todos os carapaus apresentaram infecção por nemátodos.

A intensidade média parasitária reportada à média do número de parasitas por género e espécie existentes no total dos hospedeiros, separadamente para a sarda e para o carapau.

Na tabela 3 quanto às taxas mais presentes, constatou-se que no carapau, os nemátodos apresentaram uma intensidade média de 39.7, seguido dos tremátodos monogenéticos com 2.7.

**Tabela 3. Avaliação parasitária por tamanho de hospedeiro : n.º de parasitas, prevalência e intensidade média parasitária em *T. trachurus*.**

Classe de tamanho (cm)	N.º parasitados/hospedeiro	Prevalência (%)	Intensidade média parasitária
Protozoários			
1: [20-30]	11/12	91.7	*
2: [30.1-40]	6/8	75	*
<b>Total</b>	<b>17/20</b>	<b>85</b>	<b>*</b>
Monogenéticos			
1: [20-30]	8/12	66.7	3.8
2: [30.1-40]	4/8	50	1.1
<b>Total</b>	<b>12/20</b>	<b>60</b>	<b>2.7</b>
Digenéticos			
1: [20-30]	1/12	8.3	0.08
2: [30.1-40]	1/8	12.5	0.12
<b>Total</b>	<b>2/20</b>	<b>10</b>	<b>0.1</b>
Nemátodos			
1: [20-30]	12/12	100	20.2
2: [30.1-40]	8/8	100	68.9
<b>Total</b>	<b>20/20</b>	<b>100</b>	<b>39.7</b>

\* ; não contabilizado

A Tabela 4 refere-se ao local de recolha, classes de parasitas e número de parasitas colectados nos 18 exemplares de sarda.

Na sarda foram colhidas 6 classes parasitárias. Dentro dos conasaideos, encontrou-se a *Goussia clupearum*. Quanto aos tremátodos monogenéticos encontraram-se 37 exemplares da espécie *Kunhia scombri* (sendo bastante comum nas lamelas branquiais da sarda), 3 exemplares do género *Didymozoon* e 30 exemplares de crustáceos; 26 *Caligus pelamydis*, 1 *Caligus chorinemi* e 3 *Clavelissas scombri*.

As larvas do 3º estágio de *Anisakis* sp. foram dentro dos nemátodos, as recolhidas em maior número (284) e apenas uma de *Hysterothylacium aduncum*, e encontravam-se dispersas nos locais mais diversos da sarda: em alguns órgãos da cavidade abdominal (gónadas, estômago, intestino e cecos) bem como mesentério e serosa abdominal.

Três exemplares do acantocéfalo *Rhadinorhynchus pristis* foram encontrados no intestino de um exemplar de sarda.

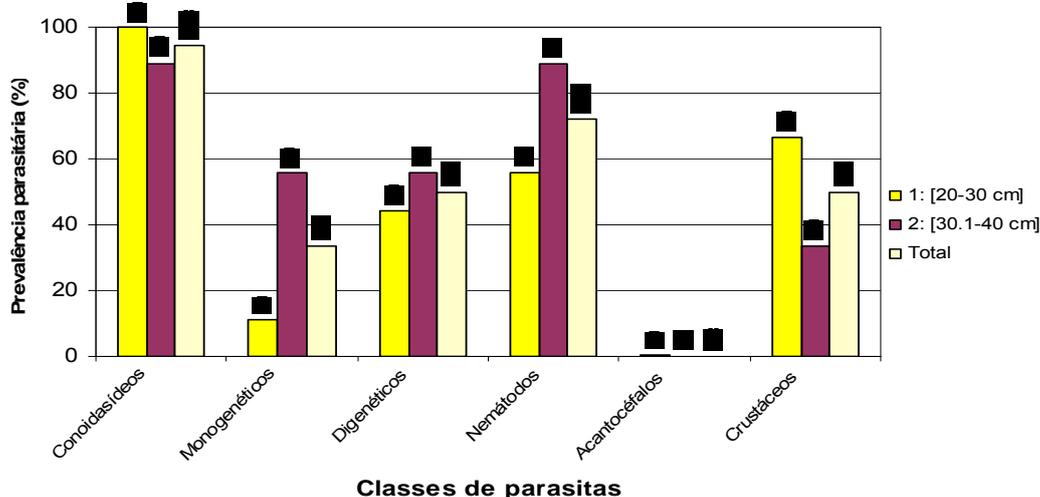
Recolheram-se ainda 48 espécimes de tremátodos digenéticos não sendo possível a sua identificação.

**Tabela 4. Local de recolha, classes de parasitas e número de parasitas colectados na sarda.**

Local de recolha	Classe	Parasita	Nº
Brânquias	Monogenea	<i>Kuhnia scombri</i>	37
<b>Total</b>			<b>37</b>
Brânquias	Digenea	<i>Didymozoon</i> sp.	3
<b>Total</b>			<b>3</b>
Brânquias	Crustacea	<i>Caligus pelamydis</i>	27
		<i>Caligus chorinemi</i>	1
		<i>Clavelissa scombri</i>	3
<b>Total</b>			<b>31</b>
Fígado	Conoidasida	<i>Goussia clupearum</i>	*
Gónadas	Nematoda	<i>Anisakis</i> sp.	82
Estômago	Nematoda	<i>Anisakis</i> sp.	48
	Nematoda	<i>Hysterothylacium aduncum</i>	1
	Nematoda	n.i.	3
	Conoidasida	<i>Goussia clupearum</i>	*
Intestino	Nematoda	<i>Anisakis</i> sp.	120
	Nematoda	n.i.	1
	Conoidasida	<i>Goussia clupearum</i>	*
Cecos	Nematoda	<i>Anisakis</i> sp.	29
	Conoidasida	<i>Goussia clupearum</i>	*
<b>Total</b>			<b>284</b>
Fígado	Digenea	n.i.	1
Estômago	Digenea	n. i.	44
Intestino	Digenea	n.i.	3
<b>Total</b>			<b>48</b>
Intestino	Acanthocephala	<i>Rhadinorhynchus pristis</i> .	3
<b>Total</b>			<b>3</b>

\*; não contabilizado; n.i. ; não identificado

**Gráfico 2. Percentagem de sardas parasitadas segundo duas classes de tamanho (20 – 30.1) e (30.1 – 40) cm para cada classe parasitária.**



A apreciação da percentagem de sardas parasitadas em função do seu tamanho (Gráfico 2;Tabela 5) permitiu observar que existia mais exemplares parasitados por tremátodos (monogenéticos e digenéticos) e nemátodos na classe de maior tamanho (30.1 a 40 cm) enquanto que nas sardas mais pequenas (20 a 30 cm) havia mais exemplares parasitados por conoidasídeos e crustáceos. A presença de acantocéfalos foi verificada apenas na sarda da classe 1 (20 a 30 cm).

Na Tabela 5 quanto aos taxa mais presentes, constatou-se que na sarda, os nemátodos apresentaram uma intensidade média de 15.8 enquanto que os digenéticos apresentavam 2.8 parasitas por peixe.

**Tabela 5. Avaliação parasitária por tamanho do hospedeiro ; n. ° de parasitas, prevalência e intensidade média em *S. scombrus*.**

Classe de tamanho (cm)	N. ° parasitados/ hospedeiro	Prevalência (%)	Intensidade média parasitária
<b>Protozoários</b>			
1: [20-30]	9/9	100	*
2: [30.1-40]	8/9	88.9	*
<b>Total</b>	<b>17/18</b>	<b>94.4</b>	<b>*</b>
<b>Monogenéticos</b>			
1: [20-30]	1/9	11.1	0.4
2: [30.1-40]	5/9	55.6	3.7
<b>Total</b>	<b>6/18</b>	<b>33.3</b>	<b>2.1</b>
<b>Digenéticos</b>			
1: [20-30]	4/9	44.4	3.1
2: [30.1-40]	5/9	55.6	2.6
<b>Total</b>	<b>9/18</b>	<b>50</b>	<b>2.8</b>
<b>Nemátodos</b>			
1: [20-30]	5/9	55.6	16.9
2: [30.1-40]	8/9	88.9	14.7
<b>Total</b>	<b>13/18</b>	<b>72.2</b>	<b>15.8</b>
<b>Acantocéfalos</b>			
1: [20-30]	1/9	11.1	0.33
2: [30.1-40]	0/9	0	0
<b>Total</b>	<b>1/18</b>	<b>5.6</b>	<b>0.17</b>
<b>Crustáceos</b>			
1: [20-30]	6/9	66.7	1.9
2: [30.1-40]	3/9	33.3	1.6
<b>Total</b>	<b>9/18</b>	<b>50</b>	<b>1.7</b>

\* não contabilizado

## 2. Identificação parasitária

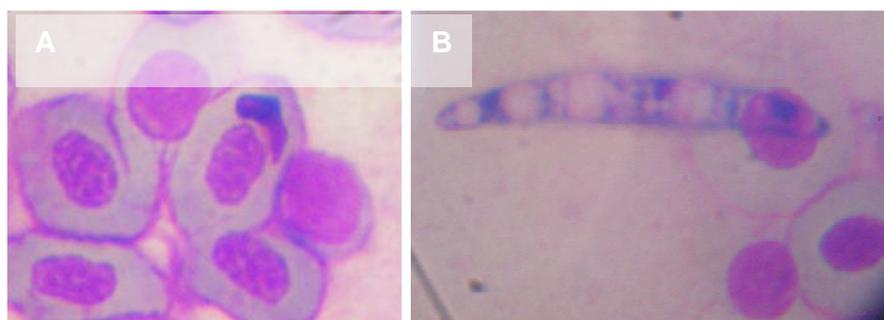
### 1.1 Endoparasitas

#### 1.1.1 Família Haemogregarinidae Neveu - Lemaire, 1901

Em dois exemplares de carapau observou-se a espécie *Haemogregarina bigemina*, em esfregaço de sangue.

##### 1.1.1.1 *Haemogregarina bigemina* Laveran e Mesnil, 1901

A descrição dos dois estádios de *Haemogregarina bigemina* basearam – se na observação do trofozoíto em eritrócito maduro (Fig. A) e de um gamonte extracelular (Fig. B), a partir de esfregaço de sangue de carapau.



**Figura 12.** Esfregaço de sangue: coloração Giemsa de eritrócitos (100x) de *T. trachurus* com dois estádios de *Haemogregarina bigemina*. (A): trofozoíto; (B): gamonte extracelular. (Fotografias originais).

Nos dois eritrócitos parasitados, o núcleo do eritrócito estava centrado, e as células do hospedeiro levemente alargadas, 19.1 (15.1 - 22.4)  $\mu\text{m}$  de largura por 16.3 (14.3 - 19.1)  $\mu\text{m}$  de comprimento (n=2) quando comparados com eritrócitos normais 18.7 (15.3 - 21.1)  $\mu\text{m}$  por 13.7 (12.8 - 17.1)  $\mu\text{m}$  (n=18). Os trofozoítos mediam 4.2 - 5.1  $\mu\text{m}$  de comprimento por 1.6 - 2.3  $\mu\text{m}$  de largura (Fig. A), com forma reniforme, alongada, com uma das extremidades pontiaguda; o gamonte extracelular media 10.9 (8.6 - 12.7)  $\mu\text{m}$  de comprimento por 2.6 (1.3 - 2.8)  $\mu\text{m}$  de largura (Fig. B), com forma vermiforme de extremidades arredondadas. A cromatina nuclear apresentava

granulações ao longo de toda a célula com maior concentração no terço inferior e posterior. O vacúolo parasitóforo não era visível. O parasita foi encontrado em esfregaço, tendo este, sido executado a partir de sangue colhido do coração.

### **1.1.2 Família Eimeriidae Minchin, 1903**

Foram observadas, por esmagamento do fígado e nas águas de lavagem dos órgãos (estômago, intestino e cecos) após conservação, as espécies: *Goussia clupearum* e *Goussia cruciata* foram observadas em dezassete exemplares de sarda e carapau, sendo que dois destes, apresentaram uma infecção mista, com as duas espécies presentes.

#### **1.1.2.1 *Goussia clupearum* Thélohan, 1894**

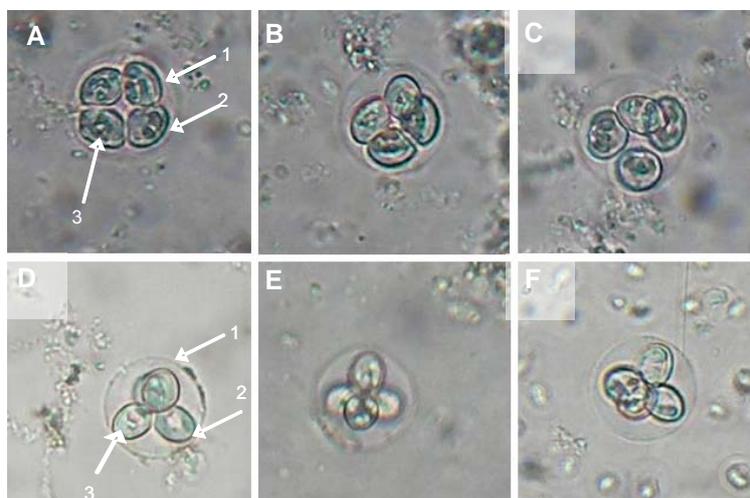
Os exemplares de *G. clupearum* (Fig. A, B, C) apresentavam-se de cor verde fluorescente, sendo constituídos por um oocisto de forma esférica com 19.2 (18 -25)  $\mu\text{m}$  (a1) de diâmetro contendo quatro esporocistos ovalados (a2), dispostos aleatoriamente com 8.5 (8 -12)  $\mu\text{m}$  de comprimento por 6.1 (4 – 10)  $\mu\text{m}$  de largura (n=18). Cada esporocisto continha dois esporozoítos (a3).

Por vezes, em alguns exemplares de sarda, o parênquima do fígado mostrava também alguns nódulos de cor esbranquiçada, a partir dos quais, por esmagamento, se fizeram observações, sendo que, dentro destas estruturas, aglomeravam-se grande número de formas esporuladas semelhantes às anteriores.

#### **1.1.2.2 *Goussia cruciata* Thélohan, 1892**

Os exemplares de *G. cruciata* (D, E, F) apresentavam-se também de cor verde fluorescente, constituídos por um oocisto esférico esporulado (d1) com 18.9 (17-20)  $\mu\text{m}$  de diâmetro, contendo quatro esporocistos elipsoidais, dispostos em forma de cruz

(d2) com 8.7 (8-9)  $\mu\text{m}$  de comprimento por 6.2 (6-6.5)  $\mu\text{m}$  de largura onde se observavam dois esporozoítos (d3).



**Figura 13.** *Goussia clupearum* (A, B, C) em *S. scombrus* e *Goussia cruciata* em *T. trachurus* (D, E, F) (40x) de oocistos (A1/D1) contendo esporocistos (A2/D2) onde se observam dois esporozoítos (A3/D3) por esporocisto. As amostras foram obtidas de preparações frescas de nódulo hepático e de tecido hepático (A, B, C) e (D, E,F). Exemplares observados em fresco. (Fotografias originais).

### 1.1.3 Família Anisakidae Skrjabin e Karohin, 1945

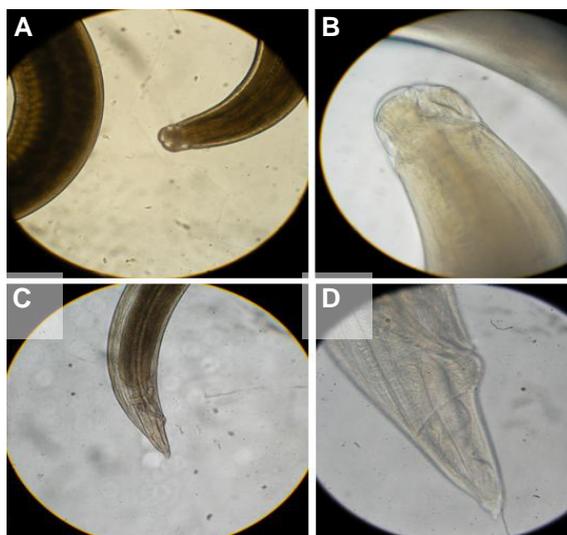
Dois exemplares de *Hysterothylacium aduncum*, foram colhidos, um num carapau e outro numa sarda. De outra espécie de nemátodo, *Raphidascaaris acus* recolheram – se 13 espécimes, em seis exemplares de carapau. Do género *Contraecaecum* sp., recolheram - se 3 larvas em dois exemplares de carapau ; 1077 larvas do género *Anisakis* sp. assim distribuídas: 284 em treze exemplares de sarda e 793 em dezanove exemplares de carapau.

A prevalência parasitária foi para o carapau de 100% e de 72.2% para a sarda com uma intensidade parasitária respectivamente de 39.7 e 15.8 parasitas por peixe.

### 1.1.3.1 *Hysterothylacium aduncum* Rudolphi, 1802

A descrição do *Hysterothylacium aduncum* foi baseada em dois espécimes larvares colectados em fresco. Corpo cilíndrico, esbranquiçado com as seguintes dimensões 12.0 e 14.8 mm (6.00 – 22.30) de comprimento por 0.24 e 0.27 (0.15 – 0.50) mm de largura; região cefálica bem diferenciada, separada do corpo por um ligeiro estrangulamento; boca circundada por 3 lábios; poro excretor localizado ao nível do anel nervoso; intestino com ceco intestinal anterior; cauda cónica com diversas e diminutas projecções, apresentando o comprimento de 0.11 e 0.16 mm (0.24 – 0.43).

Estes dois exemplares foram recolhidos, um no estômago de uma sarda e outro no intestino de um carapau no estágio de L<sub>3</sub>. Não foi encontrada patologia associada à parasitose.



**Figura 14.** *Hysterothylacium aduncum* morfologia da larva do 3º estágio em *T. trachurus*. Fotografias em posição lateral (10x: A e C) e (40x: B e D). (A, B): extremidade anterior com pormenor da região cefálica; (C, D): extremidade posterior com pormenor da região caudal em forma de cacto. Exemplar observado em fresco. (Fotografias originais).

### 1.1.3.2 *Raphidascaris acus* Bloch, 1779

A descrição deste parasita baseia - se em treze espécimes larvares colectados em fresco. Larva esbranquiçada com cutícula lisa; dimensões do corpo entre 5.2 – 6.4 mm (3.94 – 12.05) de comprimento, com largura entre 0.28 e 0,29 mm (0.14 – 0.35); extremidade cefálica arredondada, provida de três lábios pouco desenvolvidos; dente larvar orientado ventralmente; esófago muscular cilíndrico; anel nervoso em volta do esófago, no seu segundo terço; poro excretor situado um pouco abaixo do anel nervoso; intestino acastanhado e direito; cauda cônica, com o comprimento de 47 um (42 – 176); pequeno primórdio genital oval, localizado na parte média do corpo.

Este parasita foi encontrado na cavidade abdominal e recolhido das gónadas, estômago, intestino e cecos, no estágio de L<sub>3</sub> do carapau.

Não foi encontrada patologia associada à parasitose.



**Figura 15.** *Raphidascaris acus* morfologia da larva do 3º estágio em *T. trachurus*. (10x: A, B); (40x: C; D); (C): extremidade posterior com pormenor da região caudal; (D) extremidade anterior com pormenor da região cefálica. Exemplar observado em fresco. (Fotografias originais).

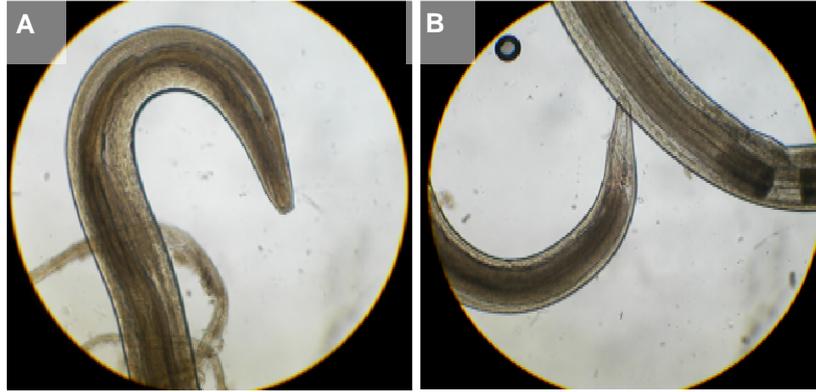
### 1.1.3.3 *Contracaecum* sp.

A descrição deste parasita foi baseada em três espécimes larvares colectados em fresco. Corpo cilíndrico, esbranquiçado entre 16.6 e 16.8 um (11.3 – 23) de comprimento e 0.5 um de largura; boca com 3 lábios e 3 interlábios; anel nervoso; apêndice intestinal e ceco intestinal expandido; cauda cônica; distância do ânus até à extremidade anterior foi 0.2  $\mu$ m (0.1 – 0.3).

Os parasitas foram recolhidos das gónadas e intestino no estágio de L<sub>3</sub>.

Não foi encontrada patologia associada à parasitose.

Não existiram dados que permitissem levar à classificação da espécie.



**Figura 16.** *Contracaecum* sp. morfologia da larva do 3º estágio. Fotografias originais (40x) mostrando (A) vista lateral da extremidade anterior com pormenor dos lábios; (B) vista lateral da região posterior com pormenor da cauda. Exemplar observado em fresco.

#### 1.1.3.4 *Anisakis* sp. Rudolphi, 1809

A descrição foi baseada em 1051 larvas colectadas em fresco. Cor esbranquiçada, corpo cilíndrico de comprimento e largura variável, respectivamente entre 10 e 20 mm (17.9 – 29.76) e entre 0.28 e 0.34 mm (0.25 – 0.54); cutícula com fina estriação, visível por vezes; dente larvar orientado ventralmente; esófago em forma de feijão entre (1.45 e 2.48 mm) (1.22 – 2.58); cauda cónica terminando numa ponta cuticular de comprimento entre 12 e 15  $\mu$ m.

O parasita foi recolhido da cavidade abdominal (fígado, gónadas, estômago, intestino e cecos) no estágio de L<sub>3</sub>. Na sarda não foi colectada qualquer larva no fígado. Todos os exemplares de carapau apresentaram larvas.

Não foi encontrada patologia associada à parasitose.

*Anisakis* sp. não foi classificado até à espécie porque não dispusemos de técnicas moleculares sendo que a taxonomia dos membros dos *Anisakis* baseada apenas na sua morfologia é confusa.



**Figura 17.** *Anisakis* sp. morfologia da larva do 3º estágio. (A, C: 40X) e (B: 10x) mostrando (A): vista lateral com respectivamente pormenor do dente larvar; pormenor do esófago (B) e (C) pormenor da ponta cuticular. Exemplar observado em fresco. (Fotografias originais).

#### 1.1.4 Família *Rhadinorhynchidae* Travassos, 1923

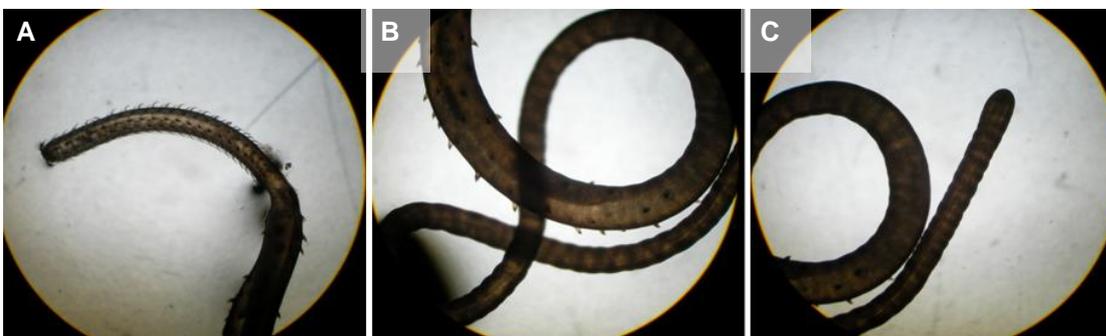
Foram colectados três espécimes pertencentes à família *Rhadinorhynchidae* num único exemplar de sarda.

##### 1.1.4.1 *Rhadinorhynchus pristis* Rudolphi, 1802

A descrição foi baseada em parasitas colectados em fresco. Corpo acastanhado, alongado com 22 mm (20-76); probóscis alongado, fino e claviforme com ganchos largos com 25 (8-26) fileiras; ganchos do pescoço anterior distribuídos em duas zonas e separadas por uma área sem espinhas; alguns dos ganchos só presentes de um só lado da porção anterior do corpo.

O parasita foi encontrado no intestino e é específico da sarda. A prevalência parasitária foi de 5.6 % com uma média de 0.17 parasitas por peixe.

Não foi encontrada patologia associada à parasitose.



**Figura 18.** *Rhadinorhynchus pristis*. Vista lateral do probóscis e pescoço (A:10x); (B, C: 10x) respectivamente vista lateral da porção mediana do corpo e porção terminal. Fotografias originais. Exemplar observado em fresco.

## 1.2 Ectoparasitas

### 1.2.1 Família *Gastrocotylidae* Price, 1943

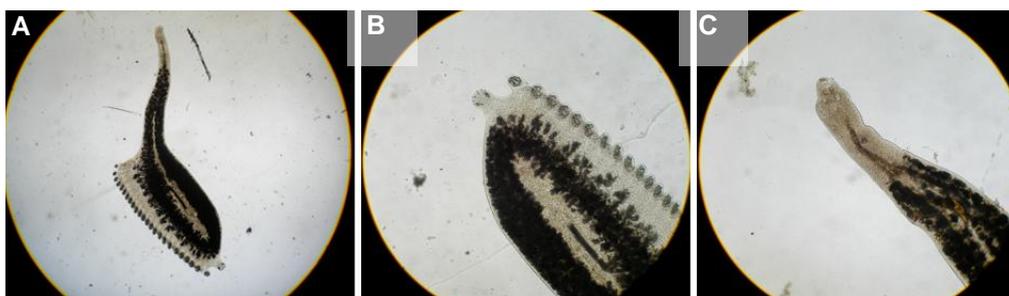
Cinquenta e um exemplares de *Gastrocotyle trachuri* foram encontrados em 12 carapaus.

#### 1.2.1.1 *Gastrocotyle trachuri* V. Bem e Hesse, 1863

A descrição foi baseada em parasitas colectados em fresco não comprimidos; corpo alongado (3 - 4 mm) de comprimento; ventosas presentes só de um lado da região posterior do corpo existindo completa ausência do lado oposto do corpo; corpo assimétrico estreito nos dois terços posteriores ao longo do lado esquerdo do qual surge opistohaptor que sustentava 24 - 43 ventosas (32-40), cada uma com (0.08-5) x 1mm; *Hamúli* na terminação do haptor.

O parasita foi encontrado nas brânquias (2 e 3ª arco branquial) e é específico da espécie *T. trachurus*. Foi observada hipersecreção de muco num exemplar com elevada carga parasitária (10 parasitas). Não foram encontrados ovos.

Não foi encontrada patologia associada à parasitose.



**Figura 19.** *Gastrocotyle trachuri* (A) em posição ventral (10x); Porções anterior (B) e posterior (C) (40x). Amostra obtida por varredura das lamelas do segundo e terceiro arco branquial mostrando fotografias originais em fresco.

### 1.2.1.2 *Pseudaxine trachuri* Parona e Perugia, 1890

A descrição foi baseada num único exemplar colectado no carapau em fresco. Corpo alongado medindo 3 mm de comprimento, assimétrico; ophistohaptor bem distinto, disposto obliquamente na porção posterior do corpo, no qual surge o haptor armado com 22 ventosas só de um lado medindo 0.04 por 0.04 mm; presença de ganchos na ponta. *Hamúli* na terminação do haptor ausente possivelmente por se ter danificado. Em teoria, esta espécie está descrita como podendo ter um máximo de 37 ventosas.



**Figura 20.** *Pseudaxine trachuri* (A) fotografia em posição ventral (10 x). Pormenor da porção posterior (B) com opisthaptor com 22 ventosas (40x); Porção anterior (C). Exemplar obtido por varredura com pincel das lamelas do segundo e terceiro arco branquial mostrando fotografias originais em fresco (A, B, C).

A prevalência parasitária para o carapau foi de 60% com uma intensidade média parasitária de 2.7 parasitas por peixe. Parasita encontrado nas brânquias (2º arco branquial). Não foram encontrados ovos. Não foi observada patologia associada à presença do parasita.

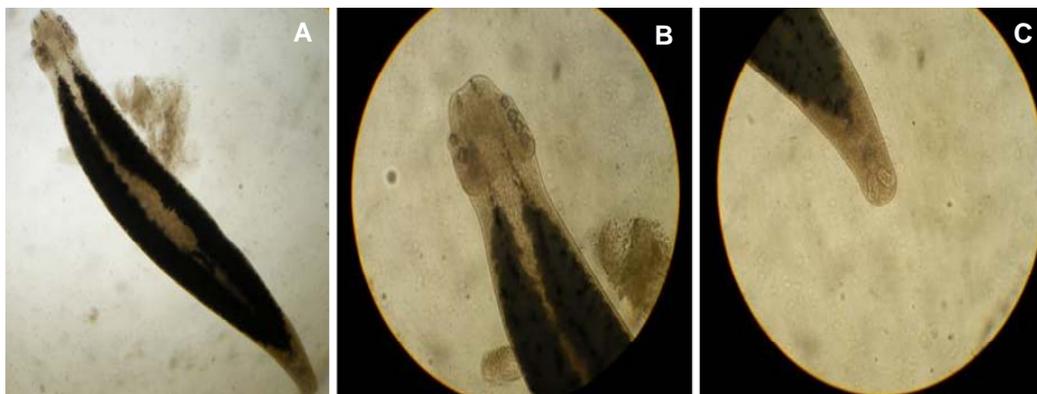
### 1.2.2 Família *Mazocraeidae* Price, 1936

Foram colectados trinta e sete espécimes em dezasete exemplares de *S. scombrus*.

#### 1.2.2.1 *Kuhnia scombr* Morakote, 1990

A descrição foi baseada em exemplares colectados em fresco. Apresentavam-se alongados, foliáceos, simétricos de comprimento variável entre 1.4 e 6.2 mm (1.3-

6.6). O opistohaptor mostrava-se relativamente pequeno e distintamente separado do corpo sendo constituído por quatro pequenas ventosas laterais (0.5x0.6) de cada bordo lateral, todas separadas por pedúnculos ao longo das margens laterais; bordo do opistohaptor não dividido, com um par de hamúli e *vitellaria* extensa à margem do haptor; genital *corona* com dois tipos de ganchos.



**Figura 21.** *Kuhnia scombri*. (A) Fotografia em posição ventral (10x); (B) pormenor do haptor com 4 ventosas laterais de cada lado ao microscópio óptico (40x); (C) pormenor da região posterior genital *corona* com 2 tipos de ganchos (40X). Fotos originais. Exemplar observado em fresco por varredura das lamelas do 2º e 3º arco branquial.

A prevalência parasitária para a sarda foi de 33.3% com uma intensidade média parasitária de 2.1 parasitas por peixe. Parasita encontrado nas brânquias (2º e 3ª arco branquial).

Não foram encontrados ovos.

Não foi observada patologia associada à parasitose.

### 1.2.3 Família *Didymozoidae* Poche, 1907

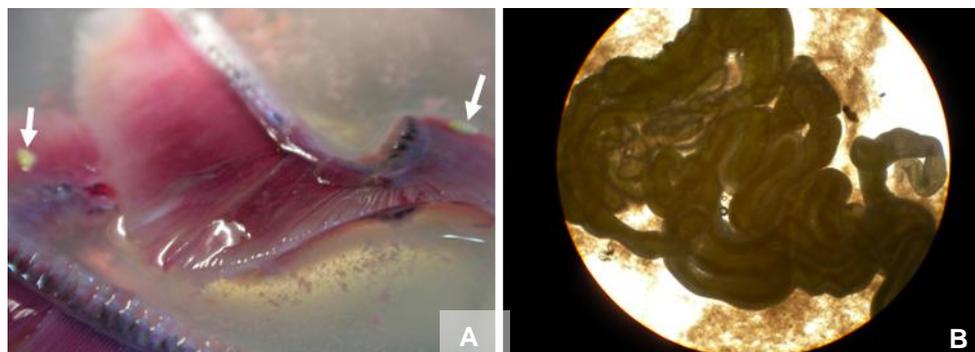
Foram colectados três espécimes num único exemplar de sarda.

#### 1.2.3.1 *Didymozoon* sp. (Taschenberg, 1879)

A descrição foi baseada em exemplares colhidos em fresco. Cápsulas amareladas de estrutura ovóide entre 1 e 2 mm de comprimento que ocorriam nas brânquias (arcos branquiais). Por disseção das cápsulas emergia uma estrutura enrolada de cor castanha escura.

Parasita encontrado nos arcos brânquias. Não se observou patologia associada à presença do parasita.

Não existiram dados que permitissem levar à classificação da espécie.



**Figura 22.** *Didymozoon* sp. (A) cápsulas amareladas na proximidade do arco branquial; (B) Fotografia (10x) da estrutura no interior da cápsula. Exemplar obtido em fresco. Fotos originais.

#### 1.2.4 Família *Noctuoidea* Latreille, 1809

Foram colectados três espécimes num único exemplar de sarda.

##### 1.2.4.1 *Clavellisa scombri* (Kurz, 1877)

A descrição foi baseada em espécimes colectados em fresco. Corpo era branco nacarado de comprimento variável entre 6.2 e 8.1 mm (5.4 – 8.5); corpo dividido em cabeça, cefalossoma, pescoço e tronco; a cabeça apresentava um escudo dorsal esclorizado; corpo mais ou menos circular e apresentava um notável tubérculo anal na extremidade posterior. Presença de sacos ovíferos.

Não foi observada patogenia associada à presença do parasita.



**Figura 23.** *Clavellisa scombri* (A): nas guelras; (B): sob lamela; (C): pormenor do tubérculo anal; (D): pormenor do corpo com presença de dois sacos ovíferos (5x). Exemplar observado em fresco. Fotos originais.

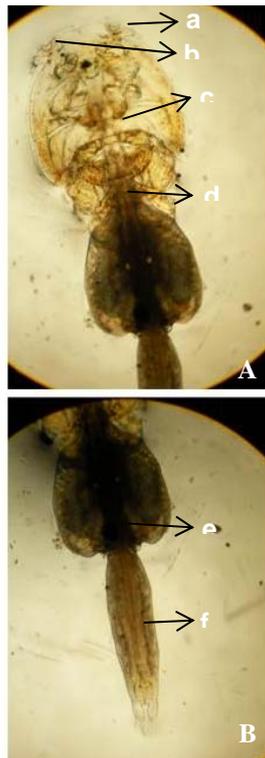
### 1.2.5 Família *Caligidae* Krøyer, 1837

Foram colectados das brânquias 28 espécimes, em nove exemplares de *S. scombrus*.

#### 1.2.5.1 *Caligus chorinemi* Krøyer, 1863

A descrição foi baseada num espécime colectado em fresco. Corpo amarelo esbranquiçado com comprimento de 5.6 mm (2.6 – 5.1); cefalosoma um pouco mais comprido do que largo representando cerca de dois terços do comprimento do corpo; lunúlas amplamente espaçadas e projectadas; o primeiro segmento do abdómen tinha aproximadamente o mesmo tamanho que o complexo genital; ausência de sacos ovíferos.

Não foi observada patogenia associada à parasitose.

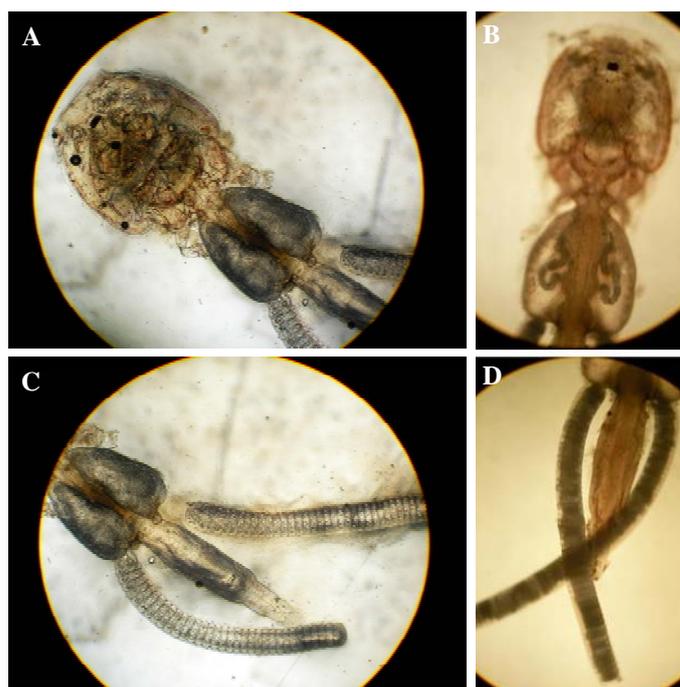


**Figura 24.** *Caligus chorinemi* (5x) mostrando: (A:) Vista ventral com pormenor da lúnulas (a), antenas (b), cefalotoráx (c) e segmento torácico (d) e (B) pormenor do abdómen (segmento genital (e) e anal (f)). Exemplar colhido nas brânquias e observado em fresco. Fotos originais

### 1.2.5.2 *Caligus pelamydis* krøyer, 1863

A descrição foi baseada em 27 espécimes colectados em fresco recolhidos das brânquias em nove exemplares da sarda. Corpo amarelo esbranquiçado com comprimento total entre 5.8 e 8 mm (5.0 – 6.6); cefalosoma de 40 – 45% do corpo; olho náuplio de cor vermelha; lunúlas na parte superior do cefalotórax longas circulares e não projectadas; o primeiro segmento do abdómen representava 23-25% do comprimento do corpo; complexo genital aproximadamente triangular. Presença de sacos ovígeros em alguns dos espécimes, cada um contendo cerca de 30 a 50 ovos.

A prevalência parasitária para a classe crustácea foi de 50% na sarda, com uma intensidade média parasitária de 1.7 parasitas por exemplar.



**Figura 25.** *Caligus pelamydis* (5x) mostrando: (A, B): Vista ventral e (C, D): pormenor dos sacos ovígeros. Exemplar colhido nas brânquias observado em fresco. Fotos originais

## V. DISCUSSÃO

Os espécimes identificados como *Haemogregarina bigemina* foram incluídos no Género *Haemogregarina*, tendo em conta a esporogonia desenrolar-se em vacúolos parasitóforos nas células do hospedeiro. A combinação de caracteres morfológicos e morfométricos estiveram de acordo com o referido por Nico *et al.* (57).

*H. bigemina* foi assinalada em dois exemplares de *T. trachurus*. Nos eritrócitos obteve-se somente uma forma intraeritrocitária e outra, extracelular livre, no plasma sanguíneo. Contrariamente aos estudos preconizados por Laird (58), Davies e Johnston e Davies (59) em *Lipophrys pholis* da Nova Zelândia e Inglaterra em que o primeiro autor verificou parasitismo de leucócitos (monócitos e linfócitos) e eritrócitos e, os segundos apenas observaram eritrócitos infectados, o que foi mais tarde corroborado por Eiras (60) e Eiras e Davies (20) nos mesmos hospedeiros da costa Portuguesa de Moledo do Minho até ao Estoril, estando também de acordo com o nosso estudo.

Quanto à forma dos eritrócitos, registou – se um ligeiro achatamento num deles, contudo, não significativo e sem alterações do núcleo. Um grande número de autores descreve alterações das células sanguíneas (modificação da forma, deslocamento e achatamento do núcleo) associadas à parasitose. Todavia, Eiras (21) num estudo referente a várias espécies de peixes parasitados e não parasitados por vários hematozoários (incluindo a *H. bigemina*) mostrou que alterações semelhantes são bastantes frequentes em exemplares não parasitados, pelo que as alterações referidas poderão não ser devidas, pelo menos integralmente, à parasitose.

No presente trabalho estiveram ausentes outro tipo de protozoários sanguíneos como por exemplo, Tripanossomas, normalmente encontrados no sangue. Os hirunídeos são normalmente considerados como vectores de hemoflagelados, parasitas dos peixes, quer de cultura quer selvagens (61). Talvez a ausência de tripanossomas nas amostras deste estudo, reflectam a ausência deste vector anelídeo,

o que vem corroborar o estudo de Eiras (18), uma vez que estes constataram ausência de outras parasitoses sanguíneas nas amostras do Atlântico Nordeste.

Observações de Davies e Johnston (59), Davies (62) e Smith *et al.* (57) mostram evidência que actualmente crustáceos isópodes da espécie *Gnathia* sustentam o desenvolvimento de *H. bigemina* em gnatídeos em *L. pholis* em Wales e Portugal (59) (62) (63), verificaram a existência de isópodes no intestino mais propriamente na sua larva “praniza” a existência de gametócitos, oocistos, esporoblastos e fusão de gâmetas (18).

Observações ainda de Eiras e Davies (20) referentes a um estudo anual de prevalência e intensidade da parasitose de *L. pholis* em Portugal, sugere a existência do vector deste parasita durante todo o ano. Neste estudo, não dispomos de dados que levem a corroborar tal análise, pese embora, os exemplares de *T. trachurus* parasitados correspondam a amostras colhidas na Primavera, não se tendo verificado a existência de *H. begamina* nas duas amostragens de Inverno. Por outro lado, a prevalência de *H. bigemina* pode ter sido maior, podendo-se estar na presença de falsos negativos.

Não foi encontrado qualquer registo de *H. bigemina* para *S. scombrus*. Contudo, Maclean e Davies (64) verificaram que as parasitoses sanguíneas de *S. scombrus* variavam anual e sazonalmente no Atlântico Nordeste, em diferentes pontos ao longo da rota migratória, supondo que a temperatura da água e o stress da postura poderiam influenciar essa variação. A temperatura da água foi tida como sendo de grande importância para a prevalência e severidade da infecção de *H. sachai* em *S. maximus*. Contraditoriamente, Eiras e Davies (20) não encontraram diferenças na prevalência sazonal da infecção de *L. pholis* por *H. bigemina* em Portugal, o que vem corroborar estes resultados no que concerne a *T. trachurus*.

Os espécimes identificados como *Goussia clupearum* e *Goussia cruciata* foram incluídos no género *Goussia* tendo em conta a morfologia dos esporocistos como sendo o critério mais importante para a classificação dos mesmos (65).

Este género revisto por Dyková e Lom (65), inclui todas as coccídeas de peixes com esporocistos bivalves sem corpo Stieda, compostos por duas valvas de tamanho iguais unidas por uma linha de sutura meridional.

As coccídeas presentes no fígado, estômago, intestino e cecos do carapau e da sarda mostram algumas destas características (visíveis ao microscópio óptico) do género *Goussia*.

A identificação ao nível da espécie foi baseada em Williams e Bunkley – Williams (66) para *G. clupearum* e para *G. cruciata* em Azevedo e Gestal (67).

*G. cruciata* difere da *G. clupearum* no tamanho dos oocistos, forma elipsoidal e distribuição dos esporocistos no interior do oocisto. Os oocistos de *G. cruciata* apresentam menor dimensão quando comparados com os oocistos de *G. clupearum*. Os esporocistos de *G. cruciata* de forma elipsoidal, estão dispostos em forma de cruz em contraste com a forma oval e arranjo aleatório de *G. clupearum*. *G. cruciata* infecta somente o género *Trachurus* (67) mostrando especificidade maior para o hospedeiro do que a *G. clupearum* que, sendo cosmopolita, bem como os seus hospedeiros, tem sido assinalada em nove espécies diferentes de teleósteos.

Pouco se conhece acerca da epidemiologia e patogenia das coccídeas nos peixes. Algumas espécies têm sido consideradas não patogénicas ou “bem adaptadas ao hospedeiro” apenas porque infecções no estado inicial ou infecções ligeiras não provocam reacções nos tecidos do hospedeiro. Neste presente estudo, não foram observadas lesões macroscópicas no tecido hepático para *G. cruciata*. Contudo, alguns espécimes de sarda apresentaram lesões hepáticas, nódulos esbranquiçados de 2 – 3 µm que correspondem provavelmente, a aglomerações de oocistos com eventual destruição funcional do parênquima e desenvolvimento de reacção inflamatória.

Segundo Williams H. e Bunkley - Williams (66), peixes maiores, logo mais velhos são mais infectados por *G. clupearum* o que não se verificou neste estudo visto

que a prevalência de infecção de *S. scombrus* foi de 100% para a classe de menor tamanho.

A prevalência de infecção para *G. cruciata* difere nitidamente para as duas classes de tamanho, sendo maior na classe de 20 – 30 cm, provavelmente por falta de imunidade, não parecendo pois, estar relacionada com animais mais velhos. Todavia, segundo Mackenzie *et al.* (68), o nível de infecção ou ocorrência depende do desenvolvimento dos estágios e pode variar sazonalmente.

Os espécimes, *Hysterothylacium aduncum*, *Raphidascaris acus*, *Contracaecum* e *Anisakis* sp. foram incluídos no género *Anisakis* tendo em conta estruturas anatómicas e morfológicas como o tamanho do corpo, estrutura das extremidades posterior e anterior, posição do poro excretor e características da zona de transição entre o esófago e intestino.

As duas larvas, *Hysterothylacium aduncum* colectadas no intestino e estômago de *T. trachurus* e *S. scombrus* foram identificadas de acordo com as descrições e ilustrações de Sanmartim *et al* (69). Pelas medidas fornecidas por Carvalho – Varela (22) e Sanmartim *et al.* (69), as larvas de *H. aduncum* apresentaram comprimentos assumidos entre os intervalos descritos. Os dois espécimes colhidos, um em cada peixe, foram identificados como sendo duas larvas do 3º estágio pela sua característica *sui generis* da cauda em forma de cacto com diminutas projecções.

*H. aduncum* é um nemátodo de distribuição cosmopolita que parasita normalmente peixes marinhos, podendo-se encontrar também em peixes de águas salobras (70) e de água doce (71).

Durante anos, a posição genérica de esta e outras espécies similares sofreram numerosas trocas e revisões. Foi considerada durante bastante tempo como um subgénero dentro de *Contracaecum*, Hartwich (69), restabelecendo o género *Thynascaris*, distinguindo – o de *Contracaecum* pela ausência de sistema excretor em forma de cinta, presença do poro excretor ao nível do anel nervoso e obtenção das

maturidade sexual somente em peixes, e não em mamíferos marinhos, como sucede com *Contracaecum*. Posteriormente Yamaguti (69) considerou como único género o *Contracaecum* tomando como carácter taxonómico principal a presença de ceco intestinal e apêndice ventricular. Finalmente, Deardorff e Overstreet (72) propuseram a validade do género *Hysterothylacium* e, segundo estes autores, neste género são incluídas todas as espécies que alcançam a maturidade sexual em peixes.

*C. clavatum* foi citado em *Lophius piscatorius* por Crozier (1987) (69), se bem que esta espécie deve referir-se a *H. aduncum*. Este autor, observou máximas infecções durante o Inverno, coincidindo com uma maior actividade predadora por parte dos hospedeiros. Neste estudo, os dois únicos espécimes foram encontrados na Primavera e, embora a colheita de amostras de peixe tenha ocorrido durante três estações, é difícil contrastar os nossos dados com os de Crozier, uma vez que nenhuma delas ocorreu no Inverno. De toda a maneira, assinalamos que não foram encontradas formas adultas durante o período em estudo.

Fagerholm (70) relatou a espécie *Zoarces viviparus* como o principal hospedeiro deste nemátodo em águas do Báltico. Observações levadas a cabo sobre este e outros peixes parecem indicar que a muda de L<sub>3</sub> a L<sub>4</sub> pode ver-se retardada pela diminuição da temperatura da água durante o Inverno, ocorrendo a 4ª muda principalmente na Primavera. Os adultos são sexualmente maduros durante o Verão, havendo postura por parte da fêmea.

Na espécie *S. scombrus* enquanto estudada durante todo o ano, tem-se verificado uma marcada estacionalidade durante a estação estival (64). Por outro lado, as larvas do 3º estágio foram observadas ao longo de todo o ano, em quase todas as hospedeiras examinadas. No nosso estudo, o único exemplar de *S. scombrus* que continha L<sub>3</sub> de *H. aduncum* ocorreu na Primavera, mas dado ser unicamente um exemplar não podemos corroborar a marcada sazonalidade por si só.

Sanmartin *et al.*, (69) consideram o *T. trachurus* como o principal hospedeiro de *H. aduncum* em águas ibéricas, contudo, não foi encontrado nenhum exemplar adulto;

em 38% por casos em que apareceu a L<sub>3</sub>, esta foi relatada penetrando a musculatura perivisceral. Estes autores explicam a ausência de *H. aduncum* nas amostras de *T. trachurus* por algum factor fisiológico ou etológico inerente a este hospedeiro.

Importa assinalar que as amostras de carapau analisadas neste estudo, só apresentaram um único espécime de *H. aduncum*; facto que difere notavelmente com os estudos de Sanmartin *et al.*, (69) e de Adroher *et al.* (73) em que estes últimos autores também acharam larvas de *H. aduncum* nos carapaus analisados.

Provavelmente, a baixa prevalência e intensidade das larvas de *H. aduncum* estará relacionada com a pouca quantidade encontrada em eufausídeos, o que dificulta a presença de L<sub>3</sub> nos peixes hospedeiros e por conseguinte dificuldades de informação sobre o seu ciclo de vida.

O trabalho de Adroher *et al.*, (73), sobre *T. trachurus* de diversas precedências vendidos em Granada, ressalva que os exemplares provenientes do Mediterrâneo ocidental apresentam níveis inferiores de infecção por larvas de anisakídeos que os de outras costas espanholas, como as de Cantábrico ou Atlântico.

Esta espécie não tem nenhum papel como agente causal de anisakidose humana como foi hipoteticamente formulado por Petter (1969), Vermeil *et al.* (1975) (69) ao questionarem a dita hipótese uma vez que não observaram penetração no estômago dos coelhos por parte destas larvas. Posteriormente, foi demonstrado que estas larvas tipo MB, precedentes de peixes do Golfo do México, são capazes de penetrar rapidamente no trato intestinal de ratos por infecção experimental. Contudo, as larvas tipo MA não conseguiram penetrar em tecidos marinhos (Norris e Overstreet, 1976) (69).

As larvas *Anisakis* (L<sub>3</sub>) colectadas no fígado, gónadas, estômago, intestino e cecos de *T. trachurus* e *S. scombrus* foram identificadas de acordo com as descrições e ilustrações de Carvalho - Varela (22). Pelas medidas fornecidas igualmente por Carvalho - Varela (22) e Luque *et al.* (74). As larvas L<sub>3</sub> de *Anisakis* sp. apresentaram comprimentos menores do que aquelas relatadas pelos autores. Entretanto, segundo

Timi *et al.* (75) as diferenças morfométricas encontradas entre espécimes de uma mesma espécie podem ocorrer em virtude de um desenvolvimento alométrico dos indivíduos. Køie (76) cita que a limitação de espaço nos primeiros hospedeiros intermediários (crustáceos e moluscos) pode influenciar no tamanho das larvas encontradas em peixes teleósteos.

As larvas apresentam as características descritas para o género, contudo para a determinação específica, seria necessária a utilização de outras ferramentas de diagnóstico, como por exemplo técnicas biomoleculares, e um maior conhecimento dos factores envolvidos no ciclo biológico do parasita no litoral português.

No presente trabalho, este nemátodo foi detectado com 100% de prevalência para as duas classes na espécie *T. trachurus*. Este hospedeiro, provavelmente, resulta mais infectado massivamente como consequência da ingestão da grande quantidade de hospedeiros paraténicos, como crustáceos eufausídeos preferencialmente, com maior disponibilidade sazonal no Inverno em comparação com outras épocas do ano mantendo-se o *krill* (*Euphausia superba*) como principal alimento durante todo o ano, aumentando a incorporação de outros peixes na dieta, ao longo do crescimento. Por outro lado, estes valores de prevalência resultam superiores aos detectados por Cruz *et al.*, (77) em carapaus analisados no mercado do Porto, apesar de ser claro a importância de *T. trachurus* como hospedeiro paraténico deste nemátodo no Atlântico Norte.

Na maioria dos hospedeiros de *T. trachurus* analisados, as larvas foram encontradas na cavidade abdominal e sobre as vísceras, sobretudo enroladas sobre as gónadas.

Em *S. scombrus*, os nemátodos foram detectados com 72. 2% de prevalência. Resultados bem superiores, quando comparados com os obtidos por Rego *et al.* (78), que reflectem uma prevalência de 29.8% para *S. scombrus* da costa portuguesa. Os resultados obtidos são igualmente superiores aos apresentados por López e Castell

(79), que reflectem uma prevalência de 32 % para sardas de venda em Castilla la Mancha, de origem não especificada.

Os diferentes valores de prevalência poderão estar relacionados com a abundância ou escassez bem como flutuações temporais de zooplâncton (pequenos crustáceos eufausiídeos) infectados por anisakídeos em maior ou menor proporção que constituíram durante alguns períodos o alimento da *S. scombrus* segundo Mazzocchi e Ribeira (1996) (80). Estes autores estudaram as variações estacionais de zooplâncton de superfície (0-50 m) no golfo de Nápoles, observando baixos valores no Inverno e máximos no Verão, o que poderia estar de acordo com os resultados obtidos neste estudo (período de Inverno/Primavera).

Também devem ser consideradas as migrações verticais e horizontais que *S. scombrus* realiza em busca de alimento sem esquecer que esta espécie, de hábitos alternativos, é epipelágica (Primavera e Outono) e mesodermal (no Inverno até aos 250 m); isto faz com que os alimentos que ingere sejam variados (invertebrados pelágicos, sobretudo, crustáceos, e juvenis de sardinha) (81). Estas características biológicas da sarda podem explicar a diferente prevalência e a intensidade de infecção e até a diversidade parasitária observada neste estudo, ao consumir hospedeiros intermediários com diferentes níveis de infecção segundo a zona ou então consumirem presas que não albergam anisakídeos (82).

As localizações preferenciais para as larvas de anisakídeos em *S. scombrus* como sendo a cavidade peritoneal e serosa digestiva, são coincidentes com os resultados de Lopes e Castell (79), não se tendo detectado para ambas as espécies de peixe em estudo, larvas na musculatura, o que contraria a ideia para *S. scombrus* em que ocorrem migrações para a musculatura, quando são armazenados durante algum tempo antes de eviscerados e que poderia estar relacionado com a biologia do hospedeiro em espécies de pescado gordas (44). O facto de que estas migrações *post mortem* só em determinadas espécies poderiam estar relacionadas com a biologia do hospedeiro. Segundo Smith (44) as larvas parecem migrar para a musculatura em

peixes que acumulam grande quantidade de lípidos no tecido muscular, enquanto que em peixes não gordos, que é o caso do carapau, que armazenam os lípidos no fígado e mesentério, a migração para o músculo, parece não ter lugar. Por outro lado e, segundo este autor, a distribuição das larvas num ou noutra habitat, quando o peixe está vivo, poderia ser influenciado por hábitos alimentares do hospedeiro. Assim, em peixes não piscíveros (*S. scombrus*), cuja dieta principal são eufausídeos, as larvas parecem distribuir-se sobretudo pela cavidade corporal, enquanto que em peixes piscíveros, que normalmente adquirem as larvas por ingestão de outros peixes infectados, as larvas parecem estar presentes em grande quantidade na musculatura.

Ao longo deste trabalho pôde - se observar a existência de migrações *post mortem* em *S. scombrus*. Algumas das larvas, apareceram perfurando a pele do peixe, tentando sair para o exterior, facto este observado após 20 h sobre a captura. Estes dados parecem não estar de acordo com os de Smih (44), pelo que seria importante levar a cabo estudos mais completos para conhecer com mais exactidão a distribuição das larvas no peixe vivo, e o comportamento que seguem após a morte do hospedeiro (69).

Nos dois hospedeiros em estudo, a maior prevalência de *Anisakis* sp. ocorreu na classe de maior tamanho para a sarda e na de menor tamanho para o carapau que segundo Lipskaja (1972) e Linderoth (1976) (69) são por natureza, encontrados em maior quantidade em peixes mais velhos o que poderá estar relacionado pela ausência de eufausídeos nos hospedeiros intermediários, no alimento dos peixes mais novos, embora não se tenha verificado tal facto para o carapau.

Os três espécimes de *Rhadinorhynchus pristis* colectados no intestino de um único exemplar de *S. scombrus* foram identificados de acordo com as descrições, ilustrações e medidas de Rego (83).

Cable e Linderoth (1963) (83) colocaram *R. pristis* no género *Rhadinorhynchus*; de acordo com estes autores esta espécie apresenta a parte inferior do probóscis como tendo uma área sem espinhas.

Os espécimes de *Gastrocotyle trachuri* foram identificados de acordo com as descrições ilustrações e medidas de Idris (84). A combinação de caracteres morfológicos, incluindo haptor colocado lateralmente, número de ventosas e sua presença só de um lado do corpo, bem como o seu estreitamento nos dois terços posteriores, identifica este monogenético como sendo a espécie *G. trachuri*.

De acordo com Liewellyn (85), o desenvolvimento ontogénico de *G. trachuri* é particularmente interessante, pois a larva apresenta simetria bilateral. A distribuição unilateral das ventosas parece estar relacionada com a direcção da corrente de ventilação das brânquias, na medida em que só ocorre de um dos lados, o que lhe confere a forma assimétrica que tanto pode ser à esquerda como à direita.

Neste estudo, a maior prevalência de infecção foi assinalada para a classe de carapau de menor tamanho, com 91.7%, tendo sido comumente encontrado entre Fevereiro e Março (formas juvenis) tornando-se raro a partir de Maio e Junho. Estudos similares de Llewellyn (86) em que parece altamente provável o padrão de ocorrência durante o ano, dos parasitas juvenis, nos hospedeiros mais velhos (1 – 3 anos) seguirem o mostrado para os hospedeiros do grupo com menos de um ano. Os juvenis de *G. trachuri* ocorreram normalmente de Outubro a Maio, tornando-se escassos em Junho, não se encontrando entre Julho e Setembro. E assim confirmado que *T. trachuri* não apresenta imunidade relacionada com a idade do hospedeiro relativamente ao *G. trachuri* em que isto acontece. Por outro lado, este estudo revela uma tendência contrária na prevalência da infecção, o que está de acordo com o reportado com Parachin (1973) (86).

*Caligus pelamydis* e *Caligus chorinemi* foram incluídos no género *Caligus* tendo em conta a presença de lunúlas acima do cefalotórax e antenas laterais; tórax usualmente cilíndrico; presença de sacos ovígeros normalmente maiores que o corpo; machos mais pequenos que as fêmeas e, quase todos de vida livre; fixação ao hospedeiro através de apêndices preênseis.

Os *Caligus* colectados nas brânquias, de peixes do Atlântico Norte, foram identificados ao nível da espécie de acordo com as descrições, ilustrações e medidas de Williams e Bunkley-Williams (66). O *C. chorinemi* apresentou comprimentos assumidos para o intervalo descrito. Contudo, a grande maioria dos exemplares colectados de *C. pelamydis* neste estudo, ultrapassou o comprimento assumido por aqueles autores. Segundo estes, maior carga parasitária e mais espécimes podem ocorrer em águas mais quentes que é o caso da zona deste estudo.

Registou-se maior prevalência parasitária para o grupo dos crustáceos (66.6%), na classe de menor tamanho de sardas, apesar de ser geralmente aceite que indivíduos maiores suportam maior fauna parasitária, quer em variedade de espécies quer em carga parasitária. Contudo, pouco trabalho tem sido desenvolvido no que concerne à relação tamanho do hospedeiro /idade e carga parasitária. *Caligus* sp. parece ser específico dos escombrídeos.

Devido à sua forma de alimentação no muco, tecido e sangue do hospedeiro, foi sugerido que os copépodes possam servir de vectores de doenças virais e bacterianas no peixe (87).

## VI. CONCLUSÕES

A sarda (*Scomber scombrus*) e o carapau (*Trachurus trachurus*) são espécies pelágicas ou mesodermais até aos 250m de profundidade, gregárias e migradoras litorais formando bancos (88). Ditas espécies, que têm hábitos similares entre si e se alimentam de pequenos peixes e invertebrados planctónicos, não mostraram resultados quanto ao parasitismo similares neste estudo; o que faz pensar nas possíveis preferências alimentares de cada uma delas, sobre os componentes do zooplâncton no momento da ingestão. Inclusive, comparando os resultados das amostras com a presença de anisakídeos, não se encontram semelhanças entre estas espécies, entre os meses no período de amostragem.

As flutuações quantitativas e qualitativas do plâncton podem ser uma das possíveis razões. Em geral, estas variações, na zona temperada dependem de factores como a temperatura e a incidência da luz, as quais geram variações de volume de fitoplâncton do qual se alimenta o zooplâncton Cognetti *et al.* (90), descreve em geral, um incremento do zooplâncton na primavera, com um ligeiro decréscimo em Agosto – Setembro e um ligeiro pico em Outubro.

As temperaturas da água do mar não influem directamente sobre a presença de parasitas no pescado mas, indirectamente devem ser consideradas importantes para explicar os deslocamentos verticais de algumas espécies de pescado em busca de alimento, assim como, a abundância e composição do zooplâncton de que se alimentam e em consequência, dos diferentes tipos de invertebrados (eufaisídeos).

A maior variabilidade de parasitas encontrados na sarda, quando comparada com o carapau, pode ser justificada pelas migrações verticais e horizontais em busca de alimento, assim como a abundância e composição do fitoplâncton de que se alimenta e ainda, as temperaturas amenas das águas em que se desloca, conduzindo a diferentes cargas parasitárias. Por outro lado, poderá sugerir o potencial deste peixe

como hospedeiro intermediário, em ciclos de parasitas transmitidos troficamente no ambiente marinho, na cadeia alimentar (outroa peixes e mamíferos marinhos).

*Anisakis* sp. mostrou ser a espécie de nemátodo dominante em *T. trachurus*, sendo a espécie que apresenta maior taxa de infecção nas amostras de carapau e sarda neste estudo. Por isso, pode ser encarada como uma espécie muito comum no Atlântico Norte. O *T. trachurus* é um hospedeiro intermediário (L<sub>3</sub> e L<sub>4</sub>) apropriado para o *Anisakis* sp. Em águas frias e temperada, favorecendo a sua transmissão aos seus principais hospedeiros definitivos, representados pelos golfinhos e focas.

A ocorrência de *Anisakis* sp. como espécie dominante no *T. trachurus* comparativamente com a sarda, pode estar relacionada com os hábitos alimentares e o modo de vida desta espécie de peixe, pois o carapau tem como principal presa crustáceos pelágicos ou peixes em vez de cefalópodes, os quais fazem parte maioritariamente da dieta da sarda. O carapau é principalmente um peixe comedouro de zooplâncton o que favorece a sua infecção por larvas de *Anisakis* sp.. Assim, carapus jovens e adultos, tornam-se infectados ao comer crustáceos. A maior quantidade de hospedeiros intermediários e finais, os quais provavelmente poderão ser influenciados pelas correntes marinhas e clima.

*Hysterothylacium aduncum* ocorreu em número reduzido, provavelmente devido a algum factor fisiológico ou etológico. A baixa prevalência poderá estar relacionada com a frequência quantidade de eufasídeos, o que dificulta a presença do parasita nos peixes hospedeiros

*Gastrocotyle trachuri* mostrou alta especificidade para *T. trachurus* não apresentando imunidade para os carapaus de classe de menor tamanho.

Os *Caligus pelamydis*, neste estudo apresentaram valores superiores no que concerne ao comprimento, provalmente devido às deslocações dos hospedeiros em águas mais quentes.

Não se observaram lesões evidentes nos hospedeiros, apesar de em alguns casos, a infecção poder ser relevante, como é caso das larvas de *Anisakis* sp. Excluem-se aqui as formações nodulares hepáticas de *Goussia clupearum* e o muco nas brânquias de *Kuhnia scombri*, dada a forte carga parasitária num exemplar de sarda.

No que respeita à identificação das espécies encontradas:

A *Haemogregarina bigemina* foi assinalada somente no *T. trachurus* e em duas formas, uma intraeritrocitária e, outra extracelular, livre no plasma sanguíneo.

*Goussia cruciata* difere da *Goussia clupearum*, no tamanho dos oocistos, na forma e distribuição dos espocistos no interior do oocisto. A *G. cruciata* infecta só o género *Trachurus*, mostrando alta especificidade para este hospederiop quando comparada com *G. cluperaum* que infecta a sarda e o carapau.

Foram encontradas larvas de nemátodos com potencial zoonótico nas amostras de carapau e sarda observadas. O risco para a anisakidiose por ingestão de peixe cru ou mal cozinhado, deve ser considerado uma realidade, pois a ocorrência de larvas de *Anisakis* sp. é enorme ou seja no conjunto dos 38 peixes estudados (18 sardas e 20 carapaus), em 33 deles (86.8%), este nemátodo esteve presente.

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. Luque, José L. Parasitologia de peixes marinhos na América do Sul: Estado actual e perspectivas. In: Sanidade de Organismos Aquáticos. São Paulo: Livraria Varela. Parte II; 2004.pp.199-215.
2. Dias, Afonso M. Importância da pesca, em particular em Portugal [documento online]: Algarve; Mestrado em Biologia Marinha, 2007/2008 [citado a 14 de Outubro 2009]. Disponível na Wide World Web: <http://w3.valg.pt/~madias/docência/documentos/BP0708-Notas01.pdf>.
3. Barros, Glênio C, Mendes, Emiko S, Santos, Fernando L. Patologia dos peixes. Brasília Revista CRMV 2002;26:44-56.
4. Okumura, Maria P M, Pérez, A C Agar, Espíndola – Filho, António. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado – revisão [artigo online]: São Paulo: Revista CRMV, 1999 [citado 1 Novembro 2009]. Disponível na Wide World Web: <http://www.hostcentral.com.br/crmv/PDF/v2n2a09.pdf>
5. Ramos, Paula. *Anisakis* sp.: um risco para a saúde pública? Veterinária Técnica 1998;30-41.
6. Nunes, C, Ladeira S, Mergulhão, A. Alergia ao *Anisakis simplex* na população portuguesa. Revista Portuguesa de Imunoalergologia 2003;11: 30-40.
7. Ortega – Beballon P, Carabias – Hernández A, Martín – Blázquez, A, *et al.* Anisakiase: une parasitose que le chirurgien doit connaître. Annales de Chirurgie 2005;130:407-10.
8. Petithory, Jean-Claude. Actualités sur l’anisakidose. Revue Francophone des Laboratoires 2008;399:87-93.
9. Loutan, Chappuis F. Helminthiases humaines transmises par les poissons [artigo online]: Genève: Revue Médicale Suisse, 2006 [citado 1 Setembro 2008]. Disponível na Wide World Web: <http://www.revmed.ch/article.php3?sid =31369>
10. FAO, Food and Agriculture Organization. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Parte 2. Temas de interés para los pescadores y acuicultores [documento online]: Roma: Departamento de pesca da FAO, 2008 [citado 8 Julho 2009]. Disponível na Wide World Web: <http://www.fao.org/DOCREP/003/X8002S/X8002S00.htm>.
11. Kabata, Z. Parasites and diseases of fish culture in the tropics. London: Taylor & Francis; 1985.
12. Lom, J; Dyková, I. Protozoan parasites of fishes. Development in aquaculture and fisheries science. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1992.
13. Moravec, Francis. Parasitic nematodes of freshwater fishes of Europe. Holland: Kluwer Academic Publishers; 1994.

14. Williams, Hardeford H; Jones, A. Parasitic worms of fish. London: Taylor & Francis; 1994.
15. Woo, PTK – ed. Fish diseases and disorders. Vol. I: Protozoan and metazoan infections. Wallingford UK: CAB International; 1995.
16. Pavanelli, Gilberto C; Eiras Jorge C; Takemoto Ricardo M. Doenças de peixes: profilaxia e tratamento. 2 ed. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2002.
17. Takemoto, Ricardo M; Lizama, Maria A P; Guidelli Gislaiane M *et al.* Parasitos de peixes em águas continentais. *In:* Ranzani – Paiva, Maria J T; Takemoto. Ricardo M; Lizama Maria A P. Sanidade dos organismos aquáticos. São Paulo: Livraria Varela. Parte II; 2004; 8: 179-198.
18. Eiras, Jorge Costa. Elementos de ictoparasitologia. Porto: Fundação Eng. António de Almeida ; 1993.
19. Eiras, Jorge Costa. Occurrence of *Haemogregarina bigemina* (Protozoa: Apicomplexa) in *Blennius pholis* (Pisces: Blenniidae) of the Portuguese west coast. *J. Fish Biol.* 1987; 30: 597-603.
20. Eiras, J C, Davies, AJ. *Haemogregarina bigemina*. (Protozoa, Apicomplexa) from *Blennius pholis* L. (Osteichthyes, Blenniidae): the investigation of seasonality in Portugal. *J. Fish Diseases.* 1991; 14: 683-87.
21. Eiras, Jorge Costa. Observations on erythrocyte abnormalities in fish. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 1990;10:64-68.
22. Carvalho-Varela, Manuel. Parasitas e parasitoses em piscicultura. Lisboa. Edição: Ordem dos Médicos Veterinários; 2005.
23. Molnár Kálmán. Phylum Apicomplexa. *In:* Woo, PTK -ed. Fish diseases and disorders, Vol 1: Protozoan and metazoan infections. Wallingford, UK: CAB International; 1995; 263-287.
24. Belova, LM; Krylov, MV. The distribution of coccidia (sporozoa: coccidia) on different systematic groups of fishes. (em russo). *Parazitologia.* 34(6): 522-533 (resumo). 2000.
25. Eiras, Jorge C; Takemoto Ricardo M; Pavanelli, Gilberto C. Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes. 2 ed. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2006.
26. Campos, Cristiane Fátima Meldau. Fauna parasitária e alterações teciduais em três espécies de peixes dos rios Aquidaviana e Miranda, Pantanal Sul Mato-Grossense. [Tese de doutoramento online]: São Paulo; Universidade Estadual Paulista; 2006 [citado 18 Outubro]. Disponível em Wide Word Web: <http://www.caunesp.br/Publicacoes/DissertacoesTeses/Teses/Tese%20Cristiane%20Fatima%20Meldau%20de%20Campos.pdf>.

27. Oliveira, Silvio Abner Lameira. Pesquisa de helmintas em musculatura e serosa abdominal de peixes de importância comercial capturados no litoral norte do Brasil. [Tese de Mestrado online]: Belém; Universidade Federal do Pará; 2005 [citado 11 Dezembro 2009]. Disponível na Wide Word Web: [http://www.ufpa.br/cienciaanimal/pdfs/CA-Ciencia-Animal/CA\\_Silvio\\_Abner\\_Lameira\\_de\\_Oliveira.pdf](http://www.ufpa.br/cienciaanimal/pdfs/CA-Ciencia-Animal/CA_Silvio_Abner_Lameira_de_Oliveira.pdf)
28. Mehlhorn, H. Parasitology Research & Enciclopedic Reference of Parasitology. [Livro online]: Würzburg; 2 ed; sd [citado a 29 Dezembro 2009]. Disponível na Wide Word Web: <http://parasitology.informatik.uni.wuerzburg.de/login/frame.php>.
29. Miller, DM; TT Dunegan. Funcional morphology *In*: DWT Crompton e BB Nickol, eds. Biology of the acanthocephala. Cambridge: Cambridge University Press, Uk; 1995; 73-123.
30. Davey, JT. A revision of the genus *Anisakis* Dujardin, 1845 (Nematoda: Ascaridata. J. Helminthol 1971; 45: 51-72.
31. Smith JW. Larval *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809, det. Krabbe, 1878) and larval *Hysterothylacium* sp. (Nematoda: Ascaridoidea) in euphausiids (Crustacea: Malacostraca) in the North-East Atlantic and northern North Sea. J Helminthol 1983; 167-177.
32. Yoshimaga, T; Ogawa, K e Wakabayashi, H. Life cycle of *Hysterothylacium haze* (Nematoda: Anisakidae: Raphisdascaridinae). J Parasitol. 1989; 75: 756 - 763.
33. Kabata, Z. Parasitic Copepoda of British Fishes. London: Ray Society; 1979.
34. White. HC. « Sea lice» (*Lepeophtheirus*) and death of salmon. J. Fish Res. Bd. Can.1940; 6: 24-29.
35. Leitão, Silva José. Parasitologia Veterinária. 3 ed. 2 vols. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1983.
36. Thatcher, VE; Brites NJ. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes Neotropicais de água doce. Rev. Bras. Med. Vet. 1984;16 (3): 111-128.
37. Okumura, MPM; Pérez, ACA; Espíndola Filho, A. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado – revisão. Revista de Educação Continuada do CRMV-SP. São Paulo. 1999; 2 (2): 66-80.
38. Okumura, MPM; Padovani, RES; São Clemente, SC. Pesquisa de nemátodeos e trematódeos em sushi e sashimi comercializados na Grande São Paulo – resumo. Higiene Alimentar. São Paulo. 2001; 15 (80/81); 111.
39. Amato, JRF; Barros GC. *Anisakis* humana no Brasil – problema inexistente ou mal pesquisado. Revista Brasileira de Medicina Veterinária. 1984; 6 (1) 12.
40. Eiras, JCA. A importância económica dos parasitas dos peixes. Higiene Alimentar. São Paulo. 1994; 8 (31): 11-13.
41. Germano, PML; Germano MIS. Anisakiase; Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. São Paulo: Livraria Varela. 2001.Parte 18: 299-316.

42. Germano, PML; Germano MIS. Anisakuíase: zoonose parasitária emergente no Brasil? Higiene alimentar. São Paulo: 1998; 12 (54): 26-35.
43. Barros, GC; Cavalcanti, JW. Larvas infectantes de anisakídeos em peixes de elevado consumo, provenientes do litoral nordeste do Brasil. Higiene alimentar. São Paulo: 1998; 12 (58):71-5.
44. Smith JW. The abundance of *Anisakis simplex* L<sub>3</sub> in the body – cavity and flesh of marine teleosts. J. Parasitol: 1984; 14: 491-95.
45. Smith JW. Wootten R. Experimental studies on the migration of *Anisakis* sp. Larvae (Nematoda: Ascaridida) in to the flesh of herring, *Clupea harengus* L. J Parasitol: 1975; 5: 138-6.
46. Masson, Maria Lúcia; Pinto Roger Almeida. Perigos associados ao consumo de alimentos derivados de peixe cru. 1998 [artigo online] Curitiba [citado a 12 Março 2009]. Disponível na Wide Word Web: <http://cjs.c3sl.ufpr.br/cjs2/index.php/alimentos/article/viewFile/13940/9393> v16, n.1: 71-84, jan/jun. 1998.
47. Sousa, PC Ana. Radiactividade em alguns espécies de pescado da zona de captura do Atlântico Nordeste, consumidas em Portugal. Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária; 2008.
48. Bernardo, FMA; Martins, HML. O pescado na alimentação portuguesa. 2 ed. Lisboa: Instituto Nacional de Formação Turística; 1997.
49. Unesco. Fishes of North-eastern Atlantic and Mediterranean. Editors Whihead, PJP; Bauchot, M-L; Hureau, J-C; Nielsen J; Tortonese, E. Vol I; 1986.
50. Smith-Vaniz, NF. Fishbase. 1986 [documento online] [citado a 7 Julho 2009]. Disponível na Wide Word Web: [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)
51. Cabral, HN; Murta, AG. The diet of blue whiting, hake, horse mackerel and mackerel of Portugal. J Appl Ichthyol 2002; 18: 14-23.
52. An illustred dictionary of fish and shellfish. Scandinavian Fishing year boock; 2003.
53. Collete, BB; Nauen, CE. Fishbase (1983) documento online] [citado a 7 Julho 2009]. Disponível na Wide Word Web: [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)
54. FAO. Fishes FAO d'identification des especes. Zone de pêche 34, 47. Família Scombridae, *Scomber scombrus*; 1981.
55. Gordo, LS. Aspectos da biologia de *Scomber scombrus* L. (Pisces, Scombridae) em dois locais da costa Portuguesa. Tese. Lisboa. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa; 1979.
56. Reichenbach – Klinke, H. – H. Enfermedades de los pesces. Zaragoza: Editorial Acribia; 1982.
57. Nico J Smith, Alexandra S Grutter, Robert D Adlard *et al.* Hematozoa of teleosts from Lizard Island, Australia with some comments on theirs possible mode of transmission and description of a new *heamogregarine* species. 2006; 77 – 108.

58. Laird M, Bullck, ML. Marine fish hematozoa from New Brunswick and New England. J. Fis. Res. Bd. Can. 1969; 26 : 1075 -1102.
59. Davie, AJ, Johnston, MRL. The biology of *Haemogregarina bigemina* Laveran e Mesnil, a parasite of the marine fish *Blennius pholis* Linnaeus. J. Protozool 1976; 23:315 – 320.
60. Eiras, JC. Detection of *Haemogregarina bigemina* (Protozoa: Apicomplexa) infection in fish erythrocytes by phase – contrast microscopy. J. Fish Biol. 1987; 31:291 –92.
61. Lom J, I Dyková. Protozoan parasites of fishes. Elsevier, Amsterdam – London – New York-Tokyo; 1992: 87 – 95.
62. Davies AJ. Further studies on *Haemogregarina bigemina* Laveran e Mesnil, the marine fish *Blennius pholis* L., and the isopod *Gnathia maxillaries* Montagu. J. Protozool. 1982; 29 (4): 576 - 583.
63. Davies AJ, Eiras JC, Austin RTE. Investigation into the transmission of *Haemogregarina bigemina* Laveran e Mesnil 1901 (Apicomplexa: Adeleorina) between intertidal fishes in Portugal. J. Fish Diseases.1994; 17: 283 - 89.
64. MacLean SA, Davies AJ. Prevalence and development of intraleukocytic haemogregarines from Northwest and Northeast Atlantic mackerel, *Scomber scombrus* L. J. Fish Diseases. 1990; 13: 59 – 68.
65. Dyková, I, Lom, J. Fish coccidia: critical notes on the life cycles, classification and pathogenicity. J. Fish Diseases. 1981; 4: 487 - 505.
66. Williams, H Ernest; Bunkley – Williams, Lucy. Parasites of offshore big game fishes of Puerto Rico and the Western Atlantic. Mayaguez: University of Puerto Rico; 1996.
67. Gestal C, Azevedo C. Ultrastructure of *Goussia cruciata* (Apicomplexa: Coccidia) infecting the liver of horse mackerel, *Trachurus trachurus* (L.), from Ibero – Atlantic waters. Journal of Fish Diseases 2005; 28: 125 – 132.
68. Mackenzie K, Campbell N, Mattiuci S, Ramos P, Pinto A, Abaunza P. Parasites as biological tags for stock identification of Atlantic horse mackerel *Trachurus trachurus* L. Fisheries Research 2008; 89:136 – 145.
69. Sanmartin ML, Quintero P, Iglesias R, Santamaria MT *et al.* Nematodos parasitos en peces de las costas galegas. Barcelona: Ediciones Díaz de Santos, SA; 1994.
70. Fagerholm HP. Parasites of fish in Finlanda. VI. Nematodes. Acta Academiae Aboensis 1982; Ser B; 40:1 – 128.
71. Moravec e Nagasawa. New records of amphipods as intermediate host for salmonid nematode parasites in Japan. Folia Parasitologica 1986; 33:45 – 49.
72. Deardorff TL, Overstreet RM. Review of *Hysterothylacium aduncum* and *Iheringascari* (both previously = *Thynnascaris*) (Nematoda: Anisakidae) from the northern Gulf of México. Proc Biol Soc Wash 1981; 93: 1035 – 1079.

73. Adroher FJ, Valero A, Valero R, Iglesias L. Larval anisakis (Nematoda:Ascaridoidea) in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the fish market in Granada, Spain. *Parasitology Research* 1996; 82:319 – 322.
74. Luque JL, Bicudo AJ, Tavares LE. Larvas de anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas da cabrinha *Prionotus punctatus* (Bloch, 1793) (Osteichthyes: Triglidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária* 2005; 14 (3): 109 – 118.
75. Timi JT, Sardella NH, Navone GT. Parasitic nematodes of *Engraulis anchoita* Hubbs et Marini, 1935 (Pisces, Engraulidae) of the Argentine and Uruguayan coasts, South West Atlantic. *Acta parasitologica* 2001; 46 (3): 186 – 193.
76. Køie M. Aspects of the cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Canadian Journal of Zoology* 1993; 71 (7): 1289 – 1296.
77. Cruz A, Vaz A, Saraiva A. Larval anisakids horse mackerel in Portugal. *Helminthologia* 2005;42 (1) 1:3 – 7.
78. Rego A Arandas, Carvalho – Varela M, Mendonça MM. Helminthofauna da sarda (*Scomber scombrus* L.) peixe da costa continental portuguesa. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1985; 80 (1): 97 – 100.
79. López Giménez R, Castell Monsalve J. Estudio de la tasa de parasitación por nematodos del género *Anisakis* en el pescado fresco de venta más frecuente en Castilla La Mancha. *Alimentaria* 1994; 31:37 – 42.
80. Mazzocchi MG, Ribeira D'Alcala M. Recurrent patterns in zooplankton structure and succession in a variable coastal environment. *ICES Journal Marine Science* 1996; 52:679 – 691.
81. Bauchot ML, Pras A. Guia de los peces de mar de Espana y de Europa. Barcelona. Ediciones Omega, SA 1993.
82. Scott JS, Bray SA. Helminth parasites of the alimentary tract of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides* (Walbaum)) on the Scotian shelf. *Canadian Journal of Zoology* 1989; 67: 1476 – 1481.
83. Rego, Arandas A. *Rhadinorhynchus pristis* (Rudolphi, 1802) acanthocephalan parasite of fishes, *Scomber scombrus* and *S. japonicus*. Some observations on the scanning electron microscope. (sd) Instituto Oswaldo Cruz.
84. Jones Idris E. Studies on the Monogenea of Plymouth. *Gastrocotyle trachuri* V. Ben and Hesse, 1863 [artigo online] London [citado a 12 Março 2009]. Disponível na Wide World Web: [http://sabella.mba.ac.uk/812/01/Studies\\_on\\_the\\_monogenea\\_of\\_Plymouth.\\_Gastrocotyle\\_trachuri\\_v\\_Ben.\\_And\\_Hesse,\\_1863.pdf](http://sabella.mba.ac.uk/812/01/Studies_on_the_monogenea_of_Plymouth._Gastrocotyle_trachuri_v_Ben._And_Hesse,_1863.pdf)
85. Llewellyn J. The larvae of some monogenetic trematode parasites of Plymouth fishes. *J. Mar. Biol. Ass. UK* 1957; 36: 243 – 259.

86. Llewellyn J. The life histories and population Dynamics of monogenean gill parasites of *Trachurus trachurus* (L.). J. Mar. Biol. Ass. UK 1962; 42: 587 – 600.
87. Johnson, C Stewart, Treasurer, W Jim, Bravo Sandra *et al.* A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. Zoological Studies 2004; 43 (2): 229 – 243.
88. Folch Guillèn, R. Amfibs, rèptils, mamífers. *In*: Història Natural dels Països Catalans. Barcelona. Fundació Enciclopèdia Catalana 1889; 13: 381 – 413.
89. Cognetti G, Sarà M, Masazzú G. Biología marina. Barcelona. Editorial Ariel SA 2001.

## VIII. AGRADECIMENTOS

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Antónia Pereira da Conceição, pela sugestão do tema em estudo, pela confiança na minha pessoa no desenvolvimento deste trabalho, não medindo esforços na orientação e apoio científico em todas as fases desta pesquisa.

À DOCAPESCA, nas pessoas do Sr. Júlio e Rosário, pelo apoio, confiança e boa vontade em ceder amostras de peixe em prol da pesquisa.

Aos Serviços de Acção Social da Universidade de Coimbra, na pessoa do seu administrador, Dr. António Luzio Vaz pela oportunidade na realização do mestrado.

Ao Dr. João Elísio Veiga, pelo apoio, confiança e facilidade nas ausências do Serviço.

À futura Doutorada Sandra Cristina Gamboa, minha amiga e exemplo de dedicação na labuta diária da sua carreira, pelo auxílio na preparação das figuras e formatação, mas, principalmente pela amizade e papel incentivo na continuação da minha carreira académica.

Ao Dr. Gil Figueiredo pelo auxílio na formatação final deste trabalho.

À Eng. Isabel Herdder, pela contribuição na busca incessante de material de apoio, mensuração e fotografias de alguns parasitas utilizados na pesquisa.

À minha mãe, Armanda Pinto Ângelo, protótipo de mulher e mãe, pelo amor incondicional em todas as etapas da minha vida.

À ESAC, por disponibilizar o laboratório de Parasitologia para análise das amostras deste trabalho.

À D.<sup>a</sup> Conceição Cravo, pela amizade e auxílio no processamento das amostras de peixe analisadas.

Ao Prof. Dr. Roberto Ross pela ajuda na elaboração do abstract.

A todos os meus animais e amigos a paciência demonstrada nos momentos em que não estive presente.

A todos os que contribuíram directa ou indirectamente para o bom andamento e conclusão deste trabalho.

## **IX. ANEXOS**

## **X. APÊNDICES**