

Ângela Fernanda Corriça Vaz

**PARASITOSSES PROVOCADAS POR *Kudoa*
(MYXOSPOREA) E LARVAS DE ANISAKIDAE EM
Trachurus trachurus EM PORTUGAL**



Departamento de Zoologia e Antropologia da
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Março - 2000

Ângela Fernanda Corriça Vaz

**PARASITOSSES PROVOCADAS POR *Kudoa*
(MYXOSPOREA) E LARVAS DE ANISAKIDAE EM
Trachurus trachurus EM PORTUGAL**



*Tese submetida à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto
para obtenção do grau de Mestre em Ecologia Aplicada*

Departamento de Zoologia e Antropologia da
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Março - 2000

À memória da minha avó Maria Amélia Reis

AGRADECIMENTOS

Não posso deixar de agradecer a todos aqueles que com o seu apoio tornaram possível a realização deste trabalho e em particular:

Às Professoras Doutoras Aurélia Saraiva e Cristina Cruz, o meu sincero agradecimento pela orientação, disponibilidade, paciência e leitura crítica deste trabalho.

À Comissão Científica do Grupo de Zoologia-Antropologia, que possibilitou a realização deste trabalho.

À Dra. Dulce Machado pelo auxílio prestado nas traduções efectuadas neste trabalho.

Às amigas Almerinda Marques e Carla Mateus pelo encorajamento, amizade, disponibilidade e humor mantido ao longo do curso de Mestrado.

Às amigas Ana Amaro e Helena Carla Cardoso por todo o apoio durante o primeiro ano do curso de Mestrado.

À minha mãe, pai e irmã que sempre me apoiaram e pela paciência que tiveram durante estes anos.

Ao Ricardo pela infinita paciência, dedicação, carinho, encorajamento e apoio.

RESUMO

A pesquisa de parasitas pertencentes às famílias KUDOIDAE e ANISAKIDAE em carapau (*Trachurus trachurus*) obtidos nos mercados da cidade do Porto foi efectuada mensalmente de Outubro de 1998 até Agosto de 1999.

A observação de amostras de músculo demonstrou a existência de esporos pertencentes ao género *Kudoa*, detectados pela primeira vez neste hospedeiro, em Portugal.

Procedeu-se à caracterização dos esporos em preparações extemporâneas de músculo observadas em microscopia óptica.

Os esporos apresentavam forma arredondada, com 4 cápsulas polares idênticas, em vista apical (largura do esporo: 5,0 - 8,5 µm; espessura do esporo: 4,0 - 7,5 µm; cápsula polar: 1,0 - 3,0 µm x 0,8 - 2,0 µm) e forma piramidal arredondada em vista lateral (comprimento do esporo: 4,0 - 7,0 µm; cápsula polar: 1,5 - 3,0 µm x 1,0 - 2,0 µm).

Foi ainda detectada uma outra espécie pertencente ao género *Kudoa* (apenas no mês de Maio), que apresentava esporos com cápsulas polares de tamanho diferente.

A prevalência da parasitose de *Trachurus trachurus* por *Kudoa* sp. foi elevada ao longo de todo o ano, encontrando-se parasitados 84,7% dos 209 exemplares analisados.

A intensidade da parasitose apresentou grandes variações, tendo sido possível observar desde exemplares muito pouco parasitados até exemplares intensamente parasitados.

O músculo de alguns exemplares intensamente parasitados apresentava uma consistência amolecida verificando-se, histologicamente, a existência de massas de esporos localizadas intracelularmente nas fibras musculares que se encontravam mais ou menos degeneradas.

A pesquisa de larvas de ANISAKIDAE foi efectuada por observação à lupa das vísceras e cavidade geral de exemplares de carapau.

38,3% dos exemplares observados encontravam-se parasitados. As prevalências mais elevadas foram observadas nos meses de Abril e Agosto.

A parasitose apresentou intensidades baixas e apenas se detectaram larvas pertencentes aos géneros *Anisakis* e *Hysterothylacium*.

Com o objectivo de detectar larvas enquistadas na musculatura dos peixes, procedeu-se ainda, à realização de dois métodos de pesquisa: método de compressão e de digestão. Não se obtiveram resultados positivos com nenhum dos dois métodos.

A presença de MYXOSPOREA pertencentes ao género *Kudoa* e de larvas de ANISAKIDAE, pode ter um aspecto negativo na comercialização de *Trachurus trachurus* e poderá também colocar em risco a saúde pública.

ABSTRACT

In order to detect the presence of KUDOIDAE and ANISAKIDAE, monthly sampling of mackerel (*Trachurus trachurus*), obtained in markets in Oporto, was carried out from October 1998 to August 1999.

Kudoa spores were detected in muscle of this host for the first time in Portugal.

The spore characterisation was made in fresh smears from muscle.

The spores were rounded with 4 identical polar capsules in apical view (spore width: 5,0 - 8,5 μm ; spore thickness: 4,0 - 7,5 μm ; polar capsule: 1,0 - 3,0 μm x 0,8 - 2,0 μm) and broadly pyramidal in side view (spore length: 4,0 - 7,0 μm ; polar capsule: 1,5 - 3,0 μm x 1,0 - 2,0 μm).

In May, another *Kudoa* species was observed. The spores presented polar capsules from different size.

Kudoa sp. was found in 84,7% of the specimens (n=209) and high prevalences values were found during all the year around.

The intensity of infection showed a great variation. Light to heavy infections were detected in the specimens observed.

Heavily infected specimens showed softening of the muscle. Histologically, clusters of spores were observed intracellularly in muscle fibres which were often degenerated.

The mackerel body cavity was examined for the presence of ANISAKIDAE larvae.

Larvae were found in 38,3% of the specimens. The highest prevalences were observed in April and August.

The intensity of infection was low and only *Anisakis* and *Hysterothylacium* larvae were observed.

In order to detect the presence of encysted larvae in muscle, a digestion and a squashed technique were used. No larvae were detected by these methods.

The presence of *Kudoa* (MYXOSPOREA) and ANISAKIDAE larvae may lower the commercial value of *Trachurus trachurus* and may render the fish dangerous for human consumption.

RÉSUMÉ

L'enquête sur les parasites appartenant à la famille des KUDOIDAE et des ANISAKIDAE dans le chinchard (*Trachurus trachurus*) prélevés sur les marchés de la ville de Porto fut réalisée mensuellement entre Octobre de 1998 et Août de 1999.

L'observation des échantillons de muscle démontre l'existence de spores appartenant au genre *Kudoa*, détectés pour la première fois, dans cet hôte au Portugal.

On a procédé à la caractérisation des spores dans des préparations extemporanées de muscles observées au microscope optique.

Les spores présentaient une forme arrondie avec 4 capsules polaires identiques, en observation apical, (largeur du spore: 5,0 - 8,5 μm ; épaisseur du spore: 4,0 - 7,5 μm ; capsule polaire: 1,0 - 3,0 μm x 0,8 - 2,0 μm) et forme pyramidal arrondie en observation latérale (longueur du spore: 4,0 - 7,0 μm ; capsule polaire: 1,5 - 3,0 μm x 1,0 - 2,0 μm).

On a détecté aussi, une autre espèce appartenant au genre *Kudoa* (uniquement pendant le mois de Mai) qui présentait des spores avec capsules polaires de dimension différente.

La présence de la parasitose du *Trachurus trachurus* par le *Kudoa* sp. a été élevée tout au long de l'année, 84,7% des 209 exemplaires analysés se trouvaient parasités.

L'intensité de la parasitose présentait de grandes variations. On a pu observer des exemplaires très peu parasités et d'autres au contraire fortement parasités.

Le muscle de certains exemplaires intensément parasités présentait une consistance molle au point de se vérifier histologiquement l'existence de masses de spores localisées intra-celulairement dans les fibres musculaires, plus ou moins dégénérées.

La recherche sur les larves de ANISAKIDAE fut effectuée grâce à l'observation à la loupe des viscères et de la cavité générale d'exemplaires de chinchards.

38,3% des exemplaires observés se trouvaient parasités. Les présences les plus élevées furent observées pendant les mois d'Avril et d'Août.

La parasitose présentait une intensité basse et l'on a à peine détecté des larves appartenances aux genres *Anisakis* et *Hysterothylacium*.

L'objectif étant de détecter les larves accrochées dans la musculature des poissons, on a procédé aussi à la réalisation de deux méthodes d'enquête: méthode de compression et de digestion. On n'a pas obtenu de résultats positifs avec aucune de ces deux méthodes.

La présence de MYXOSPOREA appartenant au genre *Kudoa* et de larves de ANISAKIDAE, peut avoir un aspect négatif dans la commercialisation du *Trachurus trachurus* et pourra aussi mettre en danger la santé publique.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJECTIVOS	15
3. DESCRIÇÃO DO HOSPEDEIRO	16
4. PARASITOSE PROVOCADA POR <i>Kudoa</i> EM <i>Trachurus trachurus</i>	19
4.1- INTRODUÇÃO	19
4.1.1- Posição sistemática	19
4.1.2- Caracterização e ciclo de vida de <i>Kudoa</i>	19
4.2- MATERIAL E MÉTODOS	21
4.3- RESULTADOS	23
4.3.1- Caracterização dos esporos de <i>Kudoa</i> spp. detectados no músculo de <i>Trachurus trachurus</i>	23
4.3.2- Prevalência da parasitose	28
4.3.2.1- Prevalência ao longo do ano	28
4.3.2.2- Prevalência nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro	30
4.3.2.3- Prevalência nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado	32
4.3.3- Intensidade da parasitose	34
4.3.3.1- Intensidade ao longo do ano	34
4.3.3.2- Intensidade nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro	36
4.3.3.3- Intensidade nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado	38

4.3.4- Alterações verificadas nas fibras musculares de <i>Trachurus trachurus</i> por <i>Kudoa</i> sp.	40
4.3.5- Comparação da eficácia de dois métodos de pesquisa de esporos de <i>Kudoa</i> sp.	44
4.4- DISCUSSÃO	45
5. PARASITOSE PROVOCADA POR LARVAS DE ANISAKIDAE EM <i>Trachurus trachurus</i>	49
5.1- INTRODUÇÃO	49
5.1.1- Posição sistemática	49
5.1.2- Caracterização e ciclo de vida dos ANISAKIDAE	49
5.2- MATERIAL E MÉTODOS	53
5.3- RESULTADOS	55
5.3.1- Prevalência da parasitose	55
5.3.1.1- Prevalência ao longo do ano	55
5.3.1.2- Prevalência nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro	57
5.3.1.3- Prevalência nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado	59
5.3.2- Intensidade da parasitose	61
5.3.2.1- Intensidade ao longo do ano	61
5.3.2.2- Intensidade nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro	63
5.3.2.3- Intensidade nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado	65
5.3.3- Identificação das larvas de ANISAKIDAE	67
5.3.4- Comparação da eficácia de dois métodos de pesquisa de larvas de ANISAKIDAE	72

5.4- DISCUSSÃO	72
6. CONCLUSÕES	75
7. ANEXO	78
8. BIBLIOGRAFIA	90

1. INTRODUÇÃO

" Quando se encontra sem se procurar é porque já muito se procurou sem se encontrar."

(Albert Einstein)

O interesse no estudo dos parasitas de peixes tem aumentado nas últimas décadas nomeadamente devido às implicações económicas e na saúde humana.

A localização de determinados parasitas na musculatura de espécies de peixes de interesse económico, pode dificultar a sua comercialização ou, em situações extremas, impedir a exploração de determinados stocks, devido à fraca aparência do pescado o que faz com que a sua aceitação pelo consumidor seja nula.

Por outro lado, algumas espécies de parasitas podem infectar o homem através da ingestão de peixe parasitado, especialmente se estes se localizam na musculatura ou que para ela migram após a morte do peixe.

O impacto dos parasitas pode também verificar-se de um modo indirecto, devido à redução das taxas de assimilação, reprodução e de crescimento dos animais parasitados.

Por outro lado, a expansão da aquacultura nos últimos anos, tanto a nível nacional como a nível internacional, originou a criação de numerosas instalações com o objectivo de satisfazer as crescentes necessidades alimentares motivadas, principalmente, pela pressão demográfica.

Um dos principais problemas encontrados na elaboração destes projectos é o aparecimento de enfermidades, provocadas nomeadamente por parasitas.

O conhecimento dos parasitas de peixes em meio natural é um adjuvante para o diagnóstico e controle de parasitoses que afectam determinadas espécies de cultivo, e que podem chegar a causar mortalidades massivas traduzíveis em importantes perdas económicas.

Todos estes factos são responsáveis pelo aumento do esforço na investigação parasitológica, especialmente em relação a determinadas espécies de peixes.

Torna-se assim necessário investir cada vez mais no estudo do conhecimento da ecologia e dinâmica das populações de parasitas.

Os parasitas que serão objecto de estudo, pertencem à família ANISAKIDAE e KUDOIDAE, uma vez que estas famílias albergam espécies que se localizam na musculatura e que podem ser transmitidas ao Homem (ANISAKIDAE) e reduzir ou impedir a comercialização do pescado, devido às alterações que provocam na musculatura (KUDOIDAE).

O carapau (*Trachurus trachurus*) é uma espécie economicamente importante em Portugal tornando os estudos de índole parasitológica fundamentais.

Embora a nível europeu, estejam referenciadas algumas espécies parasitas pertencentes às famílias ANISAKIDAE e KUDOIDAE em *Trachurus trachurus*, os estudos em Portugal são extremamente escassos, pelo que se pretende, tanto quanto possível, incrementar o seu conhecimento.

2. OBJECTIVOS

O primeiro objectivo deste trabalho consistiu na caracterização da parasitose provocada por *Kudoa* e larvas de ANISAKIDAE em *Trachurus trachurus* em Portugal, recorrendo a estudos de prevalência e intensidade ao longo do ano, e suas relações com outros factores (tamanho e sexo do hospedeiro).

Em segundo lugar, foi nosso objectivo determinar os efeitos histopatológicos provocados por *Kudoa* sp. no músculo de *Trachurus trachurus*.

Por último, pretendemos também, comparar a eficácia de dois métodos de pesquisa (método de digestão e de compressão de tecidos) de *Kudoa* e de larvas de ANISAKIDAE, no músculo.

3. DESCRIÇÃO DO HOSPEDEIRO

O carapau é um peixe marinho da família dos CARANGIDAE.

Apresenta uma cor cinzenta-azulada ou esverdeada na região dorsal e nos flancos e prateada na região ventral.

A linha lateral do seu corpo está coberta por grandes escamas com espinhos (a serrilha). Pode atingir no máximo 60 cm de comprimento.

É um peixe gregário, pelágico, distribuído pelo Mediterrâneo e Atlântico, desde a Noruega até à África do Sul (Figura 3.1).

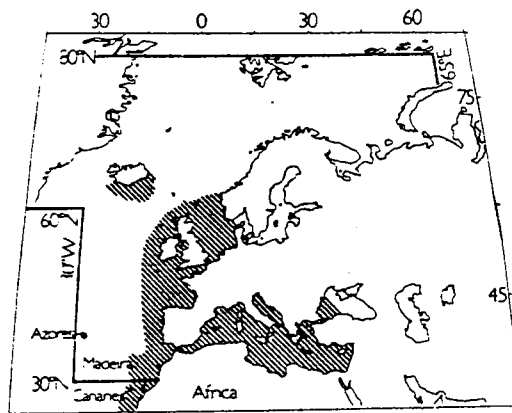


Figura 3.1- Distribuição do género *Trachurus*, segundo Whitehead *et al.*, 1986.

Conhecem-se quatro espécies pertencentes ao género *Trachurus* Rafinesque, 1810:

- . *Trachurus mediterraneus* Steindachner, 1868
- . *Trachurus picturatus* Bowdich, 1825
- . *Trachurus trachurus* Linnaeus, 1758
- . *Trachurus trecae* Cadenat, 1949

Trachurus trachurus foi a espécie escolhida para a realização deste estudo, por ser a que se encontra em maior quantidade ao longo da nossa costa (Santos, comunicação pessoal).

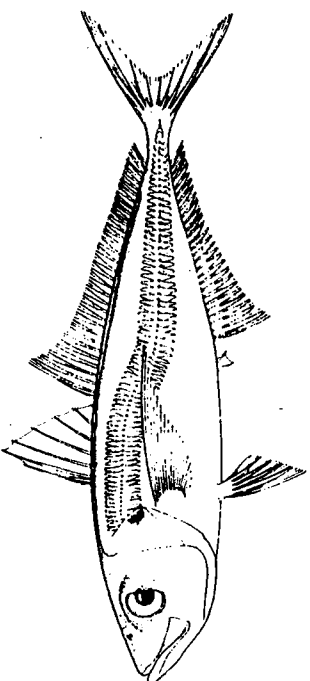
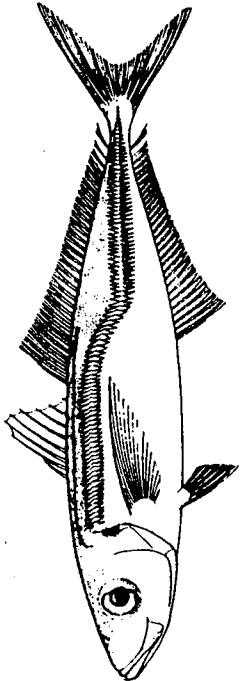
A caracterização dos peixes examinados relativamente ao comprimento e peso encontra-se na Tabela 3.1.

Tabela 3.1- Comprimento e peso dos exemplares de *Trachurus trachurus* examinados. Média \pm desvio padrão (mínimo - máximo).

Meses	Comprimento (cm)	Peso (g)
Outubro	19,7 \pm 2,39 (17,3 - 25,5)	70,5 \pm 30,5 (46,6 - 146,8)
Novembro	19,8 \pm 1,16 (18,0 - 22,1)	69,4 \pm 11,41 (50,0 - 88,3)
Dezembro	24,4 \pm 1,57 (20,5 - 26,2)	114,6 \pm 21,8 (67,2 - 142,2)
Janeiro	23,7 \pm 1,86 (21,0 - 27,1)	105,3 \pm 20,73 (79,1 - 145,0)
Fevereiro	24,7 \pm 3,51 (20,6 - 29,4)	124,9 \pm 50,22 (67,9 - 211,3)
Março	25,0 \pm 3,18 (17,8 - 29,3)	121,1 \pm 16,52 (95,4 - 152,8)
Abril	25,4 \pm 1,92 (22,4 - 29,5)	130,2 \pm 25,0 (82,9 - 180,7)
Maio	24,3 \pm 0,93 (22,8 - 26,2)	126,5 \pm 15,0 (101,8 - 171,0)
Junho	16,7 \pm 1,16 (15,1 - 19,6)	44,7 \pm 8,9 (31,5 - 63,4)
Julho	16,4 \pm 0,34 (15,6 - 17,1)	39,4 \pm 2,3 (36,3 - 43,9)
Agosto	21,6 \pm 5,48 (16,5 - 29,9)	108,2 \pm 79,3 (40,8 - 236,3)

Convém, no entanto, referir que a espécie *Trachurus picturatus* também poderá ser encontrada com alguma frequência na costa portuguesa. Fez-se, por isso, um levantamento das suas características com o objectivo de a distinguir da espécie pretendida (Tabela 3.2).

Tabela 3.2- Comparação entre as espécies *Trachurus trachurus* e *Trachurus picturatus*.

ESPÉCIE	COR	TAMANHO	HABITAT	DISTRIBUIÇÃO	OUTRAS CARACTERÍSTICAS
<p><i>Trachurus trachurus</i></p> 	<p>Parte superior do corpo e cabeça cinzento escuro</p> <p>Pequena mancha preta opercular</p> <p>Cor prateada na região ventral</p>	<p>Até 60cm</p>	<p>Zonas com fundo arenoso entre 100-200 metros de profundidade</p> <p>Zonas pelágicas</p>	<p>Nordeste do Atlântico, desde a Islândia até Cabo Verde</p>	<p>Linha lateral coberta por grandes escamas com espinhos (serrilha)</p> <p>Barbatana lateral atinge na sua extensão a serrilha</p>
<p><i>Trachurus picturatus</i></p> 	<p>Parte superior do corpo e cabeça cinzento claro ou azul esverdeado</p> <p>Pequena mancha preta opercular</p> <p>Cor prateada na região ventral</p>	<p>Até 60cm</p>	<p>Zonas até 370 metros de profundidade</p> <p>Zonas pelágicas</p> <p>Algumas vezes confinados às zonas neríticas</p>	<p>Parte oeste do Mediterrâneo</p> <p>Parte sul do Golfo da Biscaia</p> <p>Ilhas dos Açores, Madeira e Canárias</p>	<p>Serrilha com escamas menos largas e mais pequenas</p> <p>Barbatana lateral não atinge (não toca) a serrilha</p>

4. PARASITOSE PROVOCADA POR *Kudoa* EM *Trachurus trachurus*

4.1- INTRODUÇÃO

4.1.1- Posição sistemática

Reino: PROTISTA

Sub-Reino: PROTOZOA

Filo: MYXOZOA Grassé, 1970

Classe: MYXOSPOREA Butschli, 1881

Ordem: MULTIVALVULIDA Schulman, 1959

Família: KUDOIDAE Meglitsch, 1960

Gênero: *Kudoa* Meglitsch, 1947

4.1.2- Caracterização e ciclo de vida de *Kudoa*

O gênero *Kudoa* caracteriza-se por possuir esporos quadrangulares, estrelados ou arredondados em observação apical, quatro valvas e quatro cápsulas polares (Lom & Dyková, 1992), como ilustra a Figura 4.1.

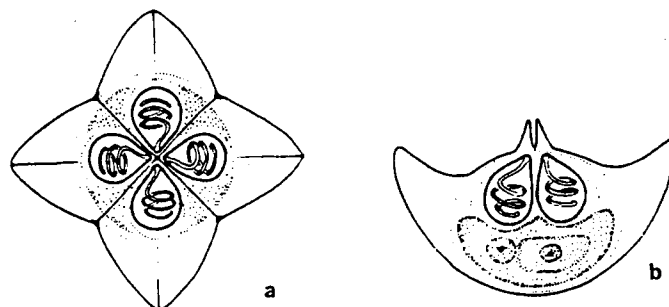


Figura 4.1- Esporos de *Kudoa lunata* em posição apical (a) e lateral (b).

Segundo Lom *et al.* 1983.

Os parasitas pertencentes a este género têm vindo a ser detectados no músculo esquelético (Bunton & Poynton, 1991; Harrell & Scott, 1985), cardíaco (Kabata & Whitaker, 1989) e no músculo liso da parede intestinal (Narasimhamurti & Kalavati, 1979a), cérebro e sistema nervoso (Langdon, 1990; Narasimhamurti & Kalavati, 1979b), rim, peritoneu, glomérulos e mesentério (Paperna & Steinitz, 1982), e cavidade pericardial (Nakajima & Egusa, 1978; Egusa & Nakajima, 1980).

Recentemente foi descrita uma nova espécie, *Kudoa ovivora*, ocorrendo nos ovários (Swearer & Robertson, 1999).

Contudo, o género *Kudoa* é considerado um parasita típico do músculo esquelético, uma vez que é neste tecido que é detectado mais frequentemente.

As parasitoses provocadas por *Kudoa* têm sido principalmente estudadas em peixes cujo valor económico é elevado.

É o caso, por exemplo, da pescada do Pacífico (*Merluccius productus*) que é frequentemente parasitada por *Kudoa paniformis* e *Kudoa thyrsites* (Morado & Sparks, 1986; Whitaker, 1986).

Estudos realizados por Kabata & Whitaker (1981, 1985) e Whitaker & Kabata (1987), em *Merluccius productus*, demonstram a importância desta parasitose neste hospedeiro. De acordo com Lom & Dyková (1992), a prevalência desta parasitose pode atingir 90%.

Neste hospedeiro, os parasitas formam pseudocistes dentro das fibras musculares, com aparência de cordões brancos ou negros ao longo da musculatura, que fazem com que a sua aceitação comercial seja muito baixa.

Segundo Kabata & Whitaker (1981), a partir de certa altura do desenvolvimento das pseudocistes, há deposição de melanina à volta das fibras musculares infectadas, que se tornam por isso mais escuras, chegando mesmo a ficar negras. A melanização (reacção de defesa do hospedeiro) tem um efeito adverso nos esporos, uma vez que as pseudocistes negras contêm esporos parcialmente destruídos, enquanto que nas brancas os esporos permanecem intactos. Outros estudos descrevem o mesmo fenómeno (Cruz e Silva & Grazina Freitas, 1984; Kabata & Whitaker, 1986; Stehr, 1986).

Um outro problema relacionado com as parasitoses provocadas por *Kudoa* é o facto de estes produzirem enzimas proteolíticas que, após a morte do hospedeiro actuam sobre o músculo, provocando a sua liquefacção. Como consequência, o peixe deixa de ter valor comercial e os stocks não podem ser aproveitados (Barja & Toranzo, 1993).

Em Portugal, este fenómeno foi também observado no único hospedeiro, *Sardina pilchardus*, onde *Kudoa* sp. foi detectado (Menezes *et al.*, 1989; Gilman, 1995).

Relativamente ao hospedeiro em análise no presente trabalho, apenas encontramos referências a duas espécies parasitas. *Kudoa quadratum* Thélohan, 1895, é uma espécie que parasita o músculo de *Trachurus trachurus* no Oceano Atlântico e Mar Mediterrâneo e *Kudoa nova* é referenciada como espécie parasita do músculo de *Trachurus* spp. no Oceano Atlântico, Mar Mediterrâneo e Mar Negro (Lom & Dyková, 1992; Swearer & Robertson, 1999).

O ciclo de vida de *Kudoa* sp., foi revisto por Kabata & Whitaker (1985). Segundo estes autores, o esporo é o estado que serve para a disseminação do parasita. O modo de libertação mais usual, será através da morte do hospedeiro e consequentemente da decomposição do músculo. Os esporos, depois de libertados, são ingeridos pelo novo hospedeiro (*in* Eiras, 1994).

Após a ingestão dos esporos estes fixam-se ao intestino, abrindo as valvas e libertando o esporoplasma que penetra na mucosa intestinal, sendo daí transportado até ao músculo onde se desenvolve, originando novos esporos.

Este ciclo de vida está de acordo com o que se sabia sobre o ciclo dos MYXOSPOREA. No entanto, Wolf & Markiw (1984) demonstraram que *Myxobolus cerebralis*, parasita de várias espécies de salmonídeos, tem um ciclo de vida que envolve além do hospedeiro vertebrado, um outro hospedeiro, um anelídeo, havendo uma alternância de uma fase de MYXOSPOREA com outra de ACTINOSPOREA, respectivamente no hospedeiro vertebrado e invertebrado.

Um ciclo semelhante, tem vindo a ser descrito para muitas espécies de MYXOSPOREA, pelo que é provável que *Kudoa* sp. também possua um ciclo de vida dixeno (Eiras, 1994).

4.2- MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período compreendido entre Outubro de 1998 e Agosto de 1999 foram efectuadas amostragens mensais de cerca de 20 exemplares de *Trachurus trachurus*, obtidos num mercado da cidade do Porto.

Todos os exemplares foram medidos, pesados e o seu sexo, sempre que possível, determinado.

A pesquisa de *Kudoa* sp. foi efectuada por esmagamento do músculo entre lâmina e lamela - método de compressão.

A observação foi feita a fresco com ampliação de 400X, percorrendo a preparação em toda a sua extensão e a abundância da parasitose determinada utilizando a simbologia apresentada na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Simbologia utilizada para caracterizar a abundância da parasitose.

Sem esporos	0
1-10 esporos/ 100 campos	+
11-100 esporos/ 100 campos	++
mais de 100 esporos/ 100 campos	+++

Com base nos resultados obtidos, determinou-se a prevalência e a intensidade:

- . ao longo do ano,
- . nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro,
- . nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado.

Sempre que possível, a variação destes parâmetros foi analisada estatisticamente, utilizando o Teste de Qui-quadrado, com um nível de confiança de 95% (Siegel & Castellan, 1989).

A caracterização dos esporos foi efectuada em preparações temporárias, através da medição de esporos, provenientes de várias amostras, em vista apical e lateral com ampliações de 1000X.

Com o objectivo de comparar a eficácia deste método com o método de digestão, durante o mês de Fevereiro realizou-se a digestão de pequenos pedaços de amostra de músculo de cada um dos vinte exemplares.

Procedeu-se à digestão (5 partes de solução de pancreatina a 0,25% para uma parte de tecido) a 37°C durante 5 horas. Optou-se por utilizar a pancreatina em vez de tripsina, recomendada por Lom & Dyková (1992), por esta se encontrar disponível no laboratório. A pancreatina contém, além de outras enzimas, tripsina na sua composição.

A suspensão foi filtrada através de uma gaze e centrifugada a 1500 rpm..

Posteriormente, o produto digerido foi observado entre lâmina e lamela, ao microscópio óptico.

As amostras de músculo foram fixadas em formol tamponado a 4% e processadas histologicamente segundo uma metodologia convencional. As preparações histológicas foram coradas pela Hematoxilina de Erlich e pelo Azul de Metileno.

4.3- RESULTADOS

4.3.1- Caracterização dos esporos de *Kudoa* spp. detectados no músculo de *Trachurus trachurus*

No presente trabalho foram observadas duas espécies pertencentes ao género *Kudoa*, uma presente durante todo o ano e outra apenas observada em Maio.

Embora seja feita a caracterização de ambas as espécies, apenas será objecto de análise a espécie que ocorreu durante todo o período de estudo.

Na Tabela 4.2 apresenta-se a caracterização de esporos da espécie detectada ao longo de todo o ano. Os esporos possuíam forma arredondada, em vista apical e forma piramidal, em vista lateral. Apresentavam quatro cápsulas polares de tamanho idêntico (Figuras 4.2 e 4.3).

Na Tabela 4.3 os esporos caracterizados pertencem a uma outra espécie de *Kudoa*, que apenas foi detectada no mês de Maio. Os esporos apresentavam forma estrelada em vista apical e possuíam cápsulas polares de tamanho diferente (Figuras 4.4 e 4.5).

Tabela 4.2- Características dos esporos de *Kudoa* sp. detectados ao longo de todo o ano no músculo de *Trachurus trachurus*.

Média ± desvio padrão (mínimo - máximo). Medidas expressas em µm.

ESPORO	Vista apical (n= 30)	Vista lateral (n= 30)
Comprimento	-	5,5 ± 0,8 (4,0 - 7,0)
Largura	6,5 ± 0,9 (5,0 - 8,5)	-
Espessura	5,4 ± 1,0 (4,0 - 7,5)	-
CÁPSULA POLAR		
Comprimento	1,9 ± 0,5 (1,0 - 3,0)	2,1 ± 0,4 (1,5 - 3,0)
Largura	1,2 ± 0,3 (0,8 - 2,0)	1,4 ± 0,3 (1,0 - 2,0)

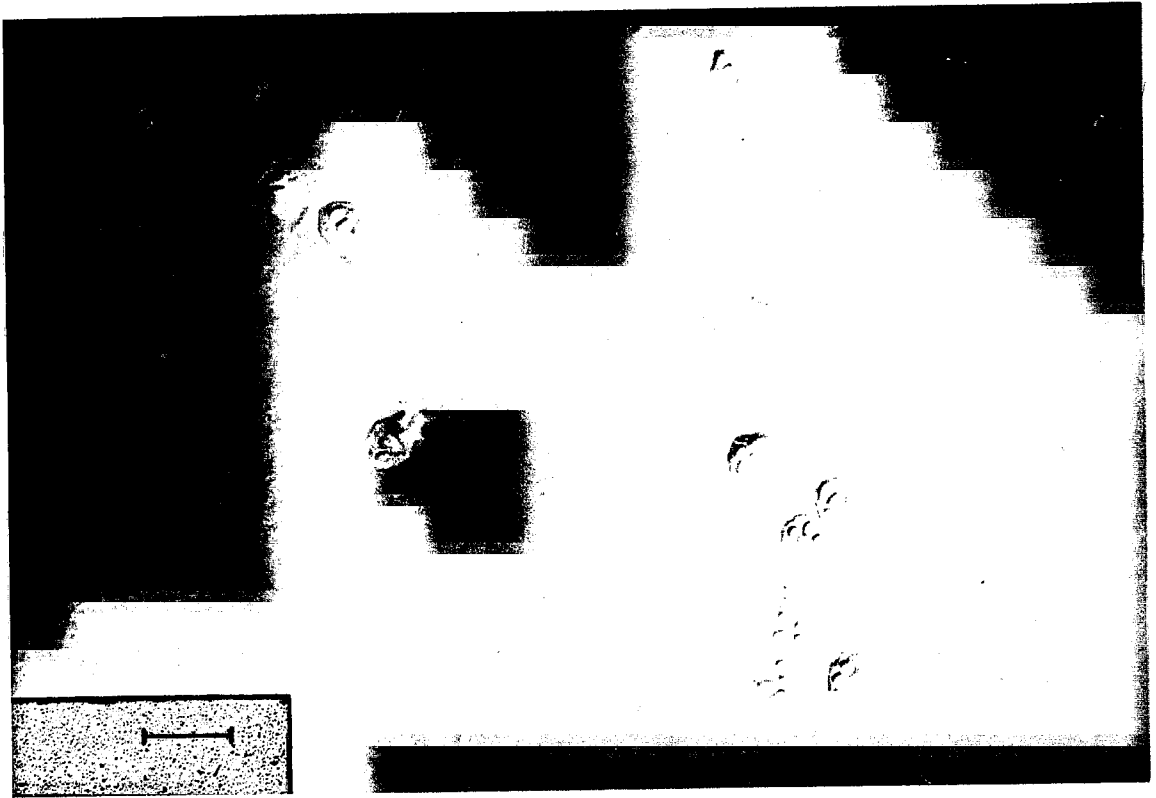


Figura 4.2- Esporos de *Kudoa* sp. detectados ao longo de todo o ano no músculo de *Trachurus trachurus*, a fresco (Escala = 10 μ m).

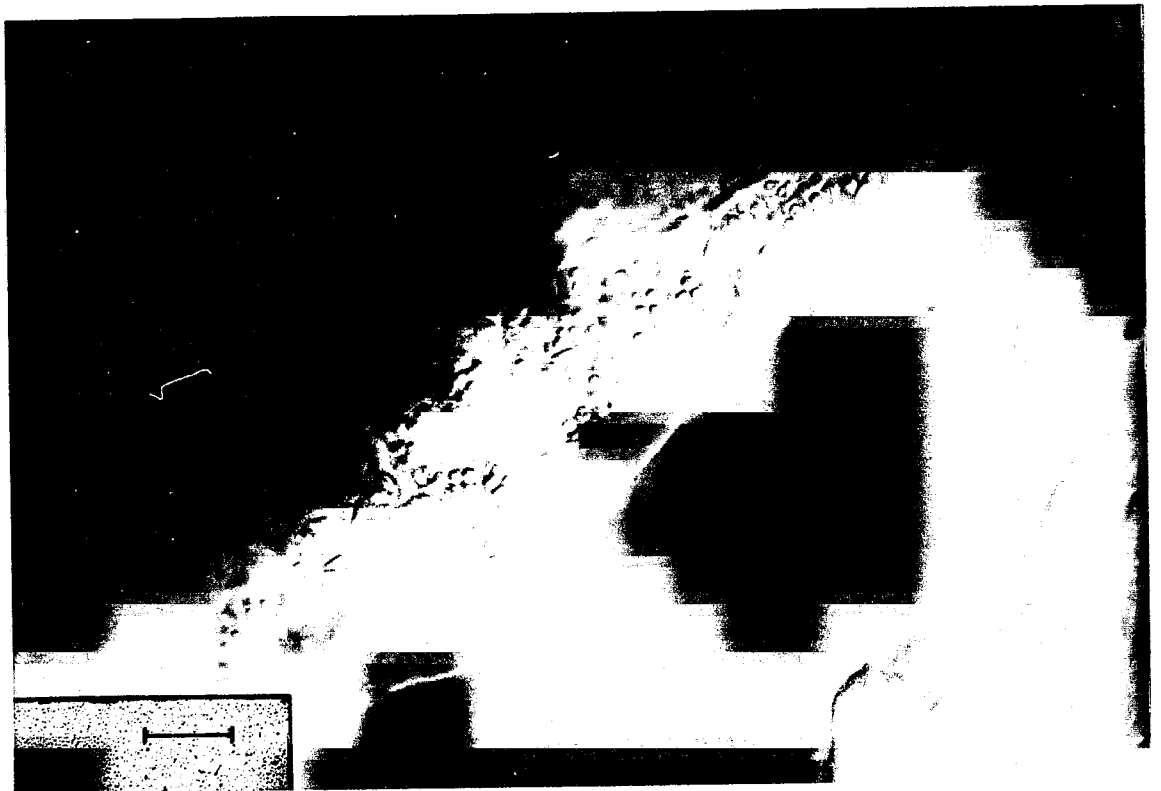


Figura 4.3- Esporos de *Kudoa* sp. detectados ao longo de todo o ano no músculo de *Trachurus trachurus*, a fresco (Escala = 10 μ m).

Tabela 4.3- Características dos esporos de *Kudoa* sp. detectados em Maio no músculo de *Trachurus trachurus*.

Média \pm desvio padrão (mínimo - máximo). Medidas expressas em μm .

ESPORO	Vista apical (n= 30)	Vista lateral (n= 18)
Comprimento	-	6,6 \pm 0,4 (6,0 - 7,0)
Largura	7,9 \pm 0,7 (7,0 - 9,0)	-
Espessura	5,5 \pm 0,9 (4,0 - 7,5)	-
CÁPSULA POLAR MAIOR		
Comprimento	5,1 \pm 0,6 (4,0 - 6,0)	5,1 \pm 0,3 (5,0 - 6,0)
Largura	2,2 \pm 0,3 (2,0 - 3,0)	1,7 \pm 0,2 (1,5 - 2,0)
CÁPSULA POLAR MENOR		
Comprimento	1,4 \pm 0,3 (1,0 - 2,0)	1,8 \pm 0,3 (1,5 - 2,5)
Largura	1,1 \pm 0,2 (1,0 - 1,5)	1,1 \pm 0,2 (1,0 - 1,5)

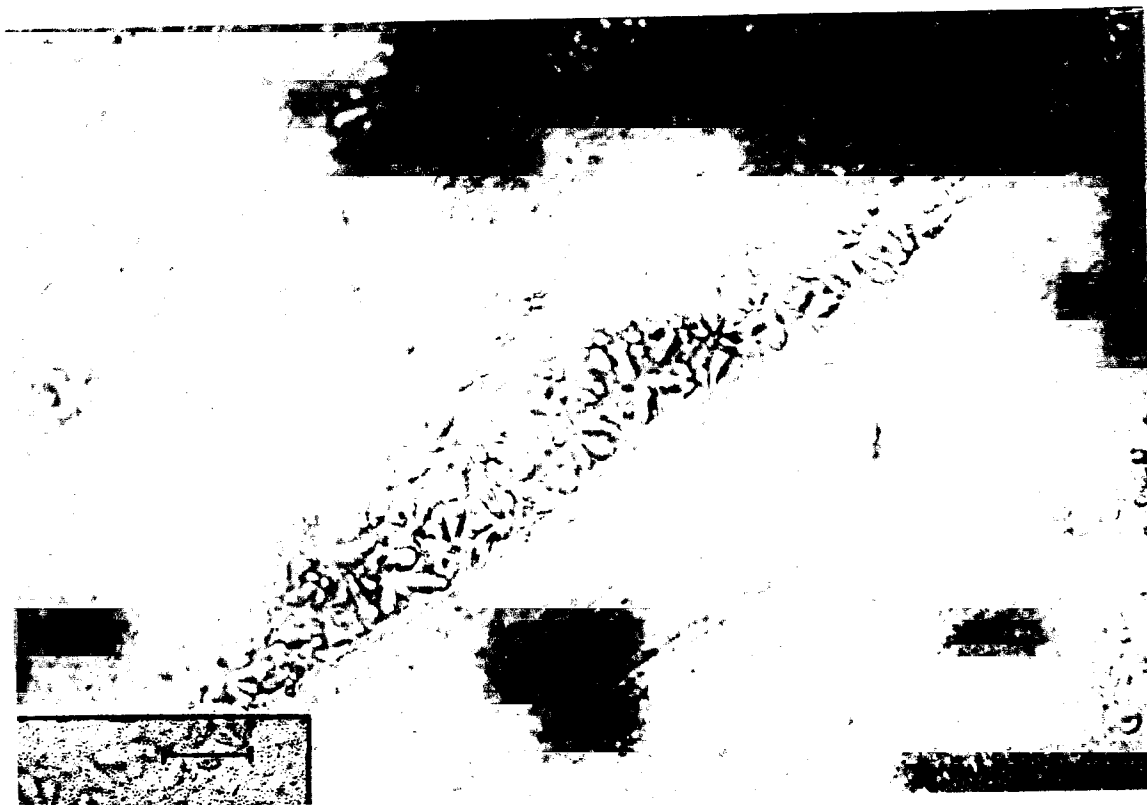


Figura 4.4- Esporos de *Kudoa* sp. detectados em Maio no músculo de *Trachurus trachurus*, a fresco (Escala = 10 μ m).

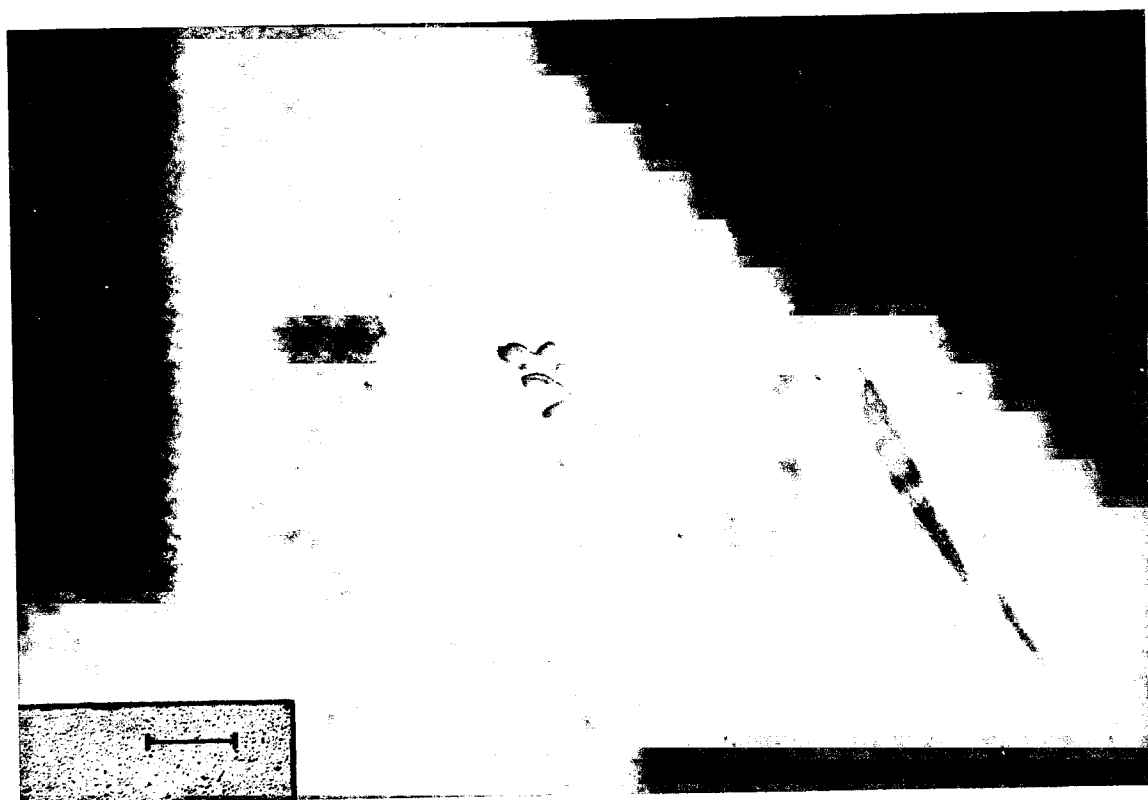


Figura 4.5- Esporos de *Kudoa* sp. detectados em Maio no músculo de *Trachurus trachurus*, a fresco (Escala = 10 μ m).

4.3.2- Prevalência da Parasitose

4.3.2.1- Prevalência da parasitose ao longo do ano

Kudoa sp. foi encontrada em todos os meses do ano. A prevalência da parasitose foi bastante elevada (84,7% dos 209 exemplares observados encontravam-se parasitados) tendo variado entre 70% em Maio e Agosto e 100% em Janeiro (Tabela 4.4 e Figura 4.6).

Tabela 4.4- Prevalência da parasitose provocada por *Kudoa* sp. ao longo do ano.

Mês	Nº indivíduos parasitados	Nº indivíduos não parasitados	Nº indivíduos observados	Prevalência (%)
Outubro	12	1	13	92,3
Novembro	18	2	20	90,0
Dezembro	14	2	16	87,5
Janeiro	20	0	20	100,0
Fevereiro	17	3	20	85,0
Março	17	3	20	85,0
Abril	19	1	20	95,0
Maio	14	6	20	70,0
Junho	15	5	20	75,0
Julho	17	3	20	85,0
Agosto	14	6	20	70,0

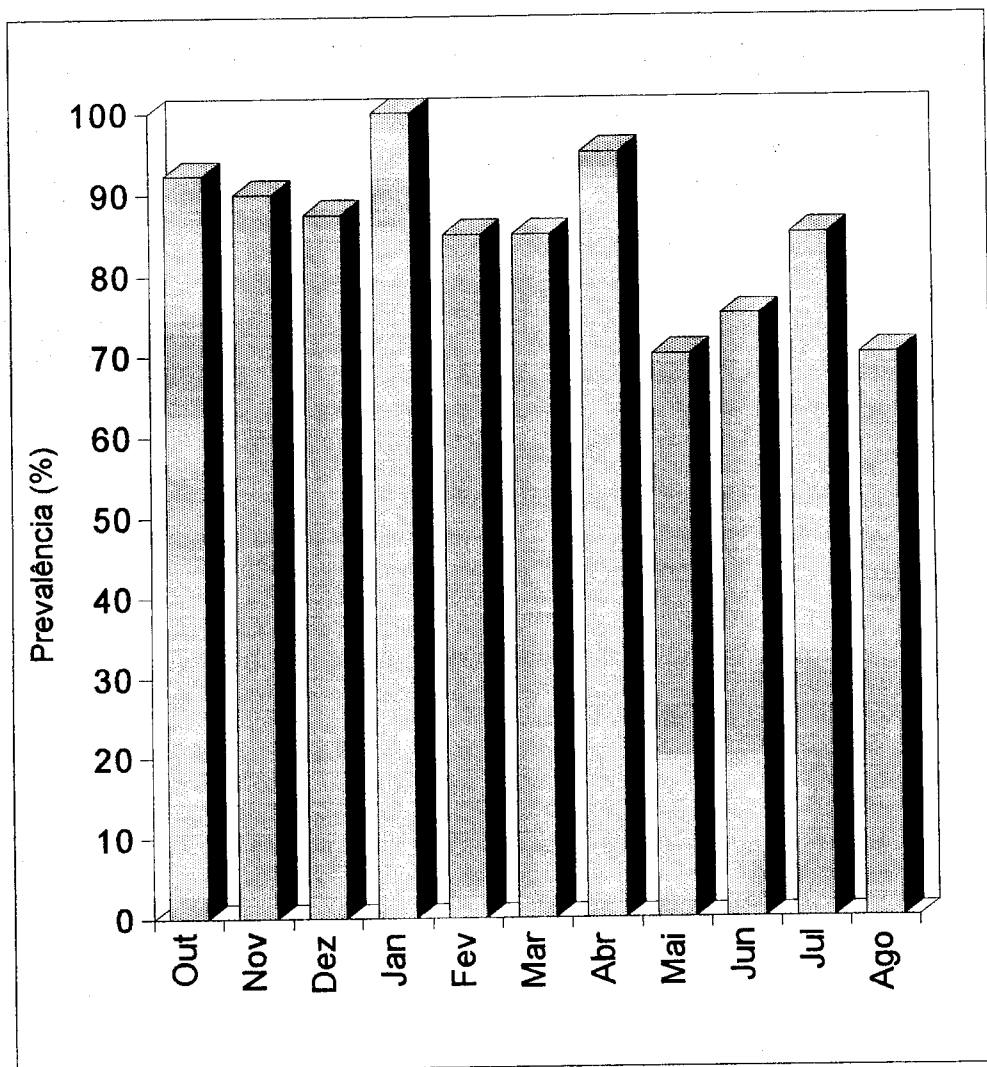


Figura 4.6- Prevalência da parasitose provocada por *Kudoa* sp. ao longo do ano.

4.3.2.2- Prevalência da parasitose nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro

Para determinar a relação entre a ocorrência do parasita e o comprimento do hospedeiro, consideraram-se 5 classes de comprimento (1: 15,0 - 17,9 cm; 2: 18,0 - 20,9 cm; 3: 21,0 - 23,9 cm; 4: 24,0 - 26,9 cm; 5: 27,0 - 29,9 cm).

Os valores de prevalência variaram entre 77% na classe 1 e 90,2% na classe 3 (Tabela 4.5 e Figura 4.7).

Tabela 4.5- Prevalência da parasitose provocada por *Kudoa* sp. nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro.

Classes de tamanho (cm)	Nº indivíduos parasitados	Nº indivíduos não parasitados	Nº indivíduos observados	Prevalência (%)
15,0 - 17,9	37	11	48	77,0
18,0 - 20,9	35	4	39	89,7
21,0 - 23,9	37	4	41	90,2
24,0 - 26,9	51	7	58	87,9
27,0 - 29,9	17	6	23	73,9

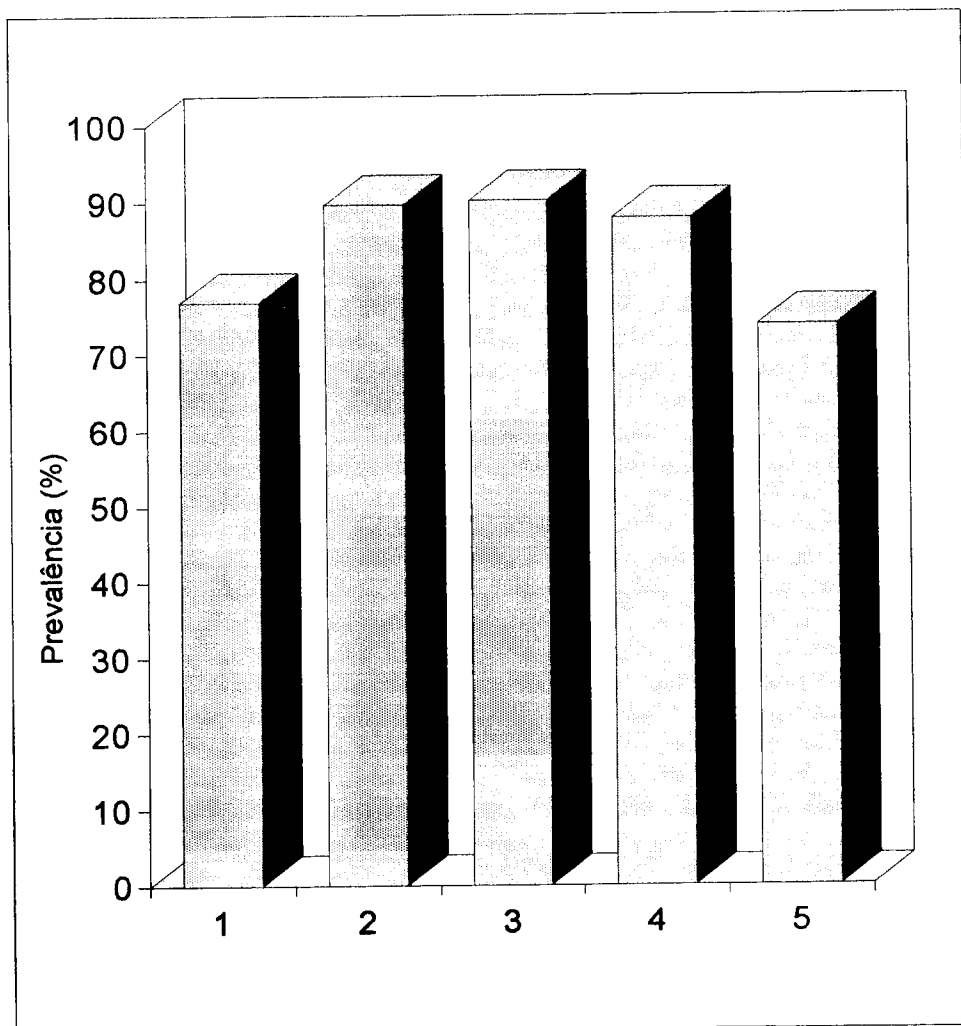


Figura 4.7- Prevalência da parasitose provocada por *Kudoa* sp. nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro (1: 15,0 - 17,9 cm; 2: 18,0 - 20,9 cm; 3: 21,0 - 23,9 cm; 4: 24,0 - 26,9 cm; 5: 27,0 - 29,9 cm).

A ocorrência do parasita não foi significativamente diferente nas diferentes classes de tamanho ($\chi^2 = 6,5$; gl = 4; $P > 0,05$).

4.3.2.3- Prevalência da parasitose nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado

Os valores de prevalência obtidos para os diferentes sexos e indivíduos de sexo indiferenciado, variaram entre 77,4% nos machos e 95,0% nos indivíduos de sexo indiferenciado (Tabela 4.6 e Figura 4.8).

Tabela 4.6- Prevalência da parasitose provocada por *Kudoa* sp. nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado.

Sexo	Nº indivíduos parasitados	Nº indivíduos não parasitados	Nº indivíduos observados	Prevalência (%)
Machos	65	19	84	77,4
Fêmeas	55	10	65	84,6
Indiferenciado	57	3	60	95,0

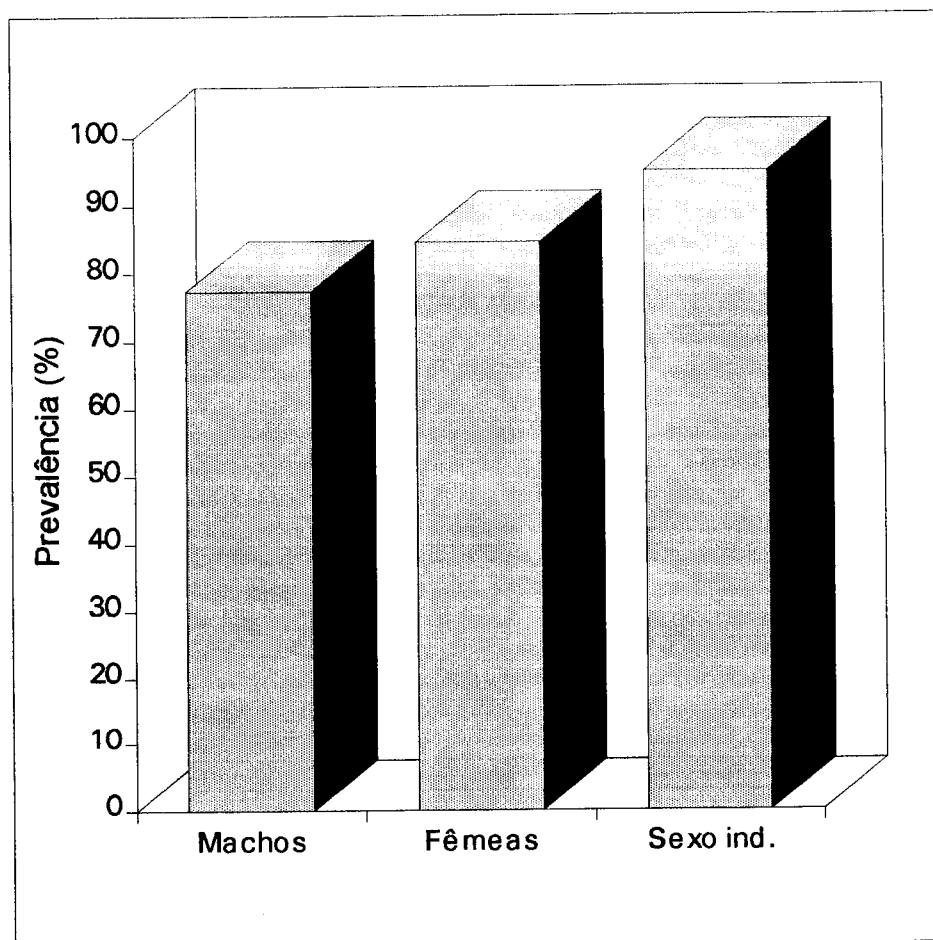


Figura 4.8- Prevalência da parasitose provocada por *Kudoa* sp. nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado.

A ocorrência do parasita foi significativamente diferente para os machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado ($\chi^2 = 8,52$; gl = 2; $P < 0,05$). Quando comparados os machos e fêmeas a ocorrência do parasita não foi significativamente diferente ($\chi^2 = 1,3$; gl = 1; $P > 0,05$).

4.3.3- Intensidade da parasitose

A intensidade da parasitose foi analisada considerando 3 classes de intensidade (+: intensidade baixa; ++: intensidade média; +++: intensidade elevada) definidas na Tabela 4.1.

Para a realização do Teste de Qui-quadrado optou-se por juntar as classes de intensidade média e elevada numa só classe, para que fosse possível aplicar o teste.

4.3.3.1- Intensidade da parasitose ao longo do ano

A intensidade da parasitose apresentou grandes variações, sendo possível observar desde indivíduos pouco parasitados até indivíduos intensamente parasitados.

A intensidade observada em cada mês encontra-se expressa na Tabela 4.7 e representada na Figura 4.9.

Tabela 4.7- Intensidade da parasitose provocada por *Kudoa* sp. ao longo do ano. (Número de hospedeiros parasitados com intensidade baixa (+), média (++) e elevada (+++)).

Mês	Classes de intensidade			Nº indivíduos parasitados
	+	++	+++	
Outubro	7	4	1	12
Novembro	15	2	1	18
Dezembro	11	2	1	14
Janeiro	15	5	0	20
Fevereiro	15	2	0	17
Março	7	8	2	17
Abril	10	4	5	19
Maió	10	3	1	14
Junho	14	1	0	15
Julho	12	5	0	17
Agosto	10	4	0	14

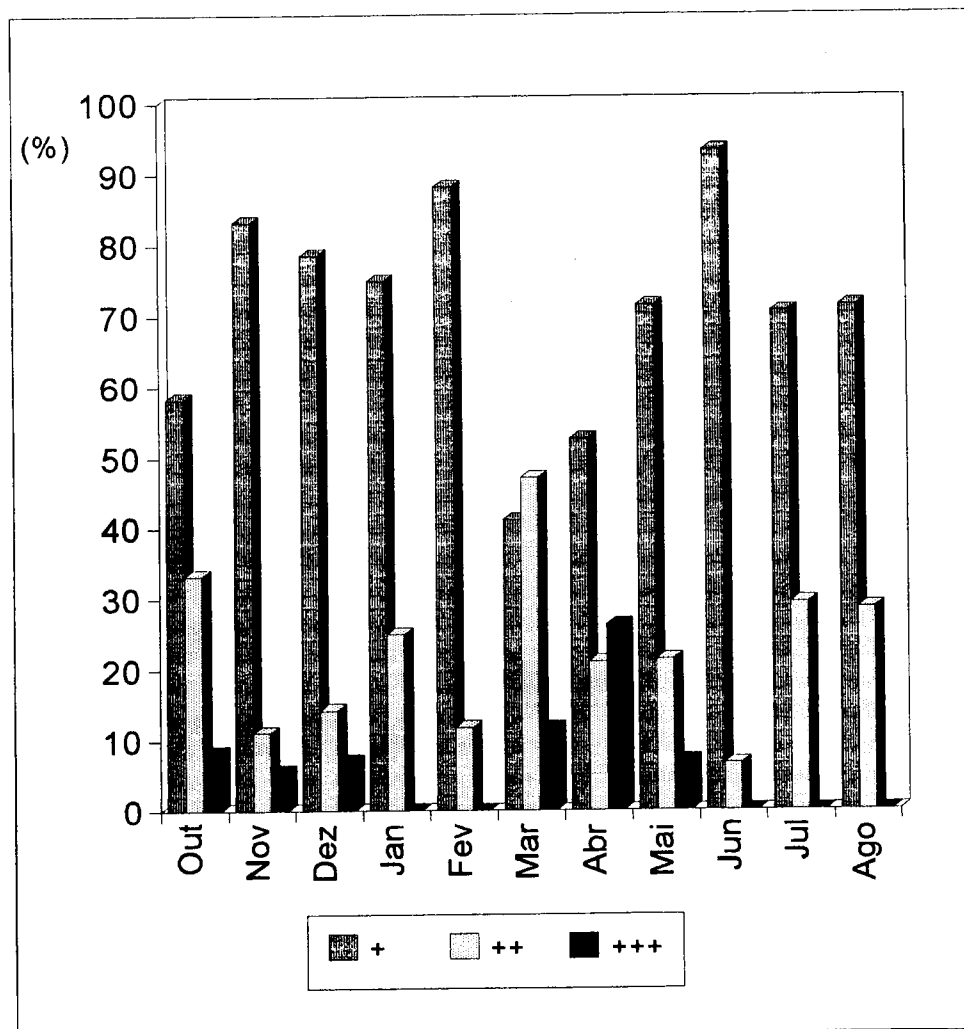


Figura 4.9- Intensidade da parasitose provocada por *Kudoa* sp. ao longo do ano. (Percentagem de indivíduos parasitados com intensidade baixa (+), média (++) e elevada (+++), em cada mês).

A intensidade da parasitose foi significativamente diferente ao longo do ano ($\chi^2 = 27,43$; $gl = 10$; $P < 0,05$).

As percentagens mais altas de indivíduos com intensidade elevada foram obtidas em Março e Abril.

4.3.3.2- Intensidade da parasitose nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro

A intensidade observada em cada classe de tamanho encontra-se expressa na Tabela 4.8 e representada na Figura 4.10.

Tabela 4.8- Intensidade da parasitose provocada por *Kudoa* sp. nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro. (Número de hospedeiros parasitados com intensidade baixa (+), média (++) e elevada (+++) nas diferentes classes de tamanho).

Classes de tamanho (cm)	Classes de intensidade			Nº indivíduos parasitados
	+	++	+++	
15,0 - 17,9	27	10	0	37
18,0 - 20,9	26	8	1	35
21,0 - 23,9	31	4	2	37
24,0 - 26,9	32	11	8	51
27,0 - 29,9	10	7	0	17

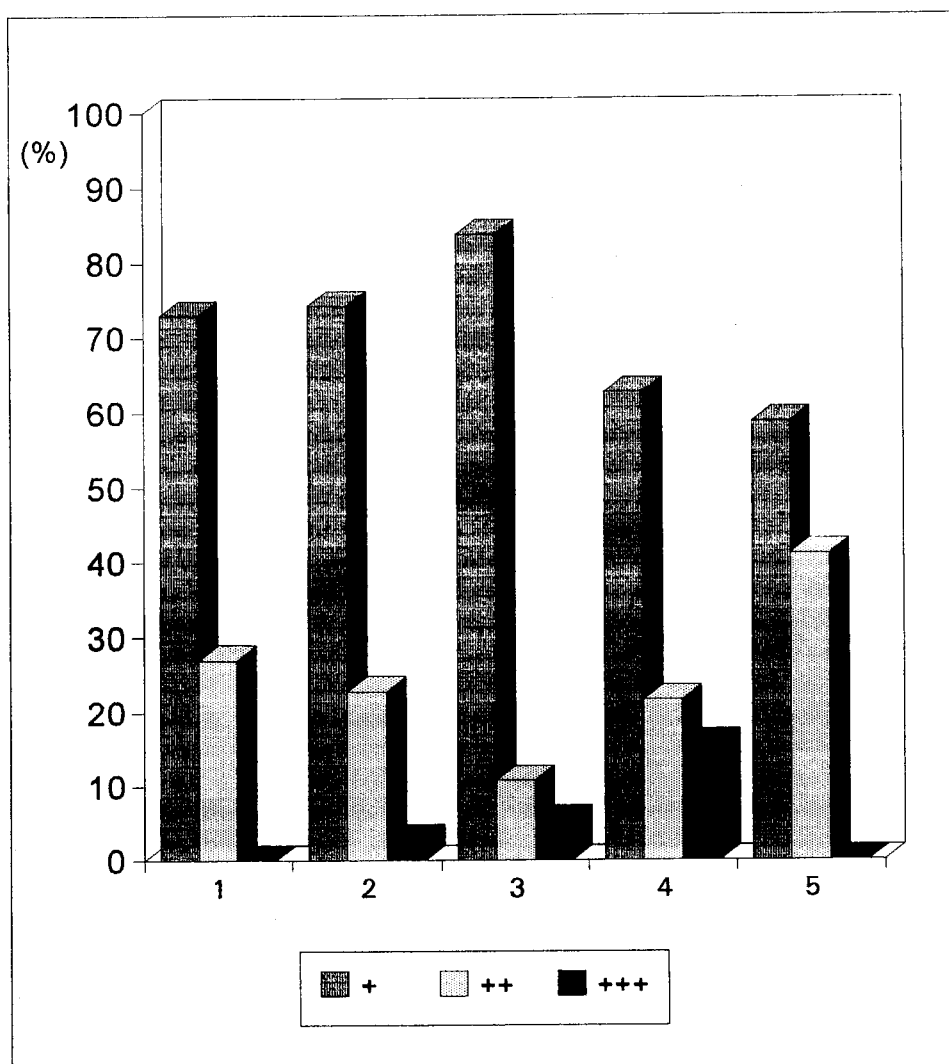


Figura 4.10- Intensidade da parasitose provocada por *Kudoa* sp. nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro. Percentagem de indivíduos parasitados com intensidade baixa (+), média (++) e elevada (+++), em cada classe de tamanho (1: 15,0 - 17,9 cm; 2: 18,0 - 20,9 cm; 3: 21,0 - 23,9 cm; 4: 24,0 - 26,9 cm; 5: 27,0 - 29,9 cm).

A intensidade da parasitose não foi significativamente diferente nas diferentes classes de tamanho ($\chi^2 = 6,1$; gl = 4; $P > 0,05$). É no entanto de referir que os hospedeiros maiores (classe 4 e 5) apresentaram geralmente intensidades de parasitoses mais altas.

4.3.3.3- Intensidade da parasitose nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado

A intensidade para machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado, encontra-se expressa na Tabela 4.9 e representada na Figura 4.11.

Tabela 4.9- Intensidade da parasitose provocada por *Kudoa* sp. nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado. (Número de hospedeiros parasitados com intensidade baixa (+), média (++) e elevada (+++) no sexo masculino, feminino e com sexo indiferenciado).

Sexo	Classes de intensidade			Nº indivíduos parasitados
	+	++	+++	
Machos	43	18	4	65
Fêmeas	40	10	5	55
Indiferenciado	43	12	2	57

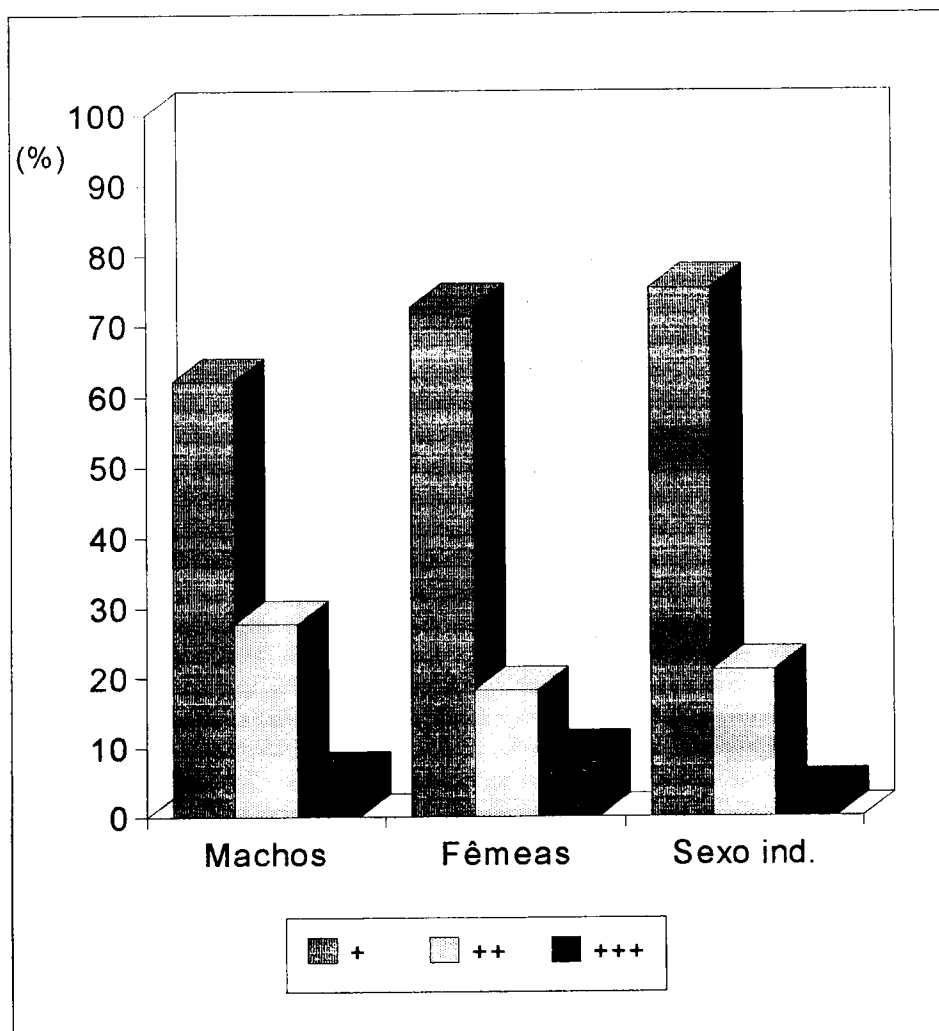


Figura 4.11- Intensidade da parasitose provocada por *Kudoa* sp. nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado. Percentagem de indivíduos parasitados com intensidade baixa (+), média (++) e elevada (+++), no sexo masculino, no sexo feminino e com sexo indiferenciado.

A intensidade da parasitose não foi significativamente diferente nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado ($\chi^2 = 1,33$; $gl = 2$; $P > 0,05$). É no entanto de referir que os indivíduos de sexo indiferenciado apresentaram geralmente intensidades mais baixas.

4.3.4- Alterações verificadas nas fibras musculares de *Trachurus trachurus* por *Kudoa* sp.

Nos exemplares mais intensamente parasitados detectou-se um amolecimento acentuado do músculo, verificando-se histologicamente a ocorrência intracelular de esporos de *Kudoa* sp. nas fibras musculares (Figuras 4.12; 4.13; 4.14; 4.15; 4.16 e 4.17).

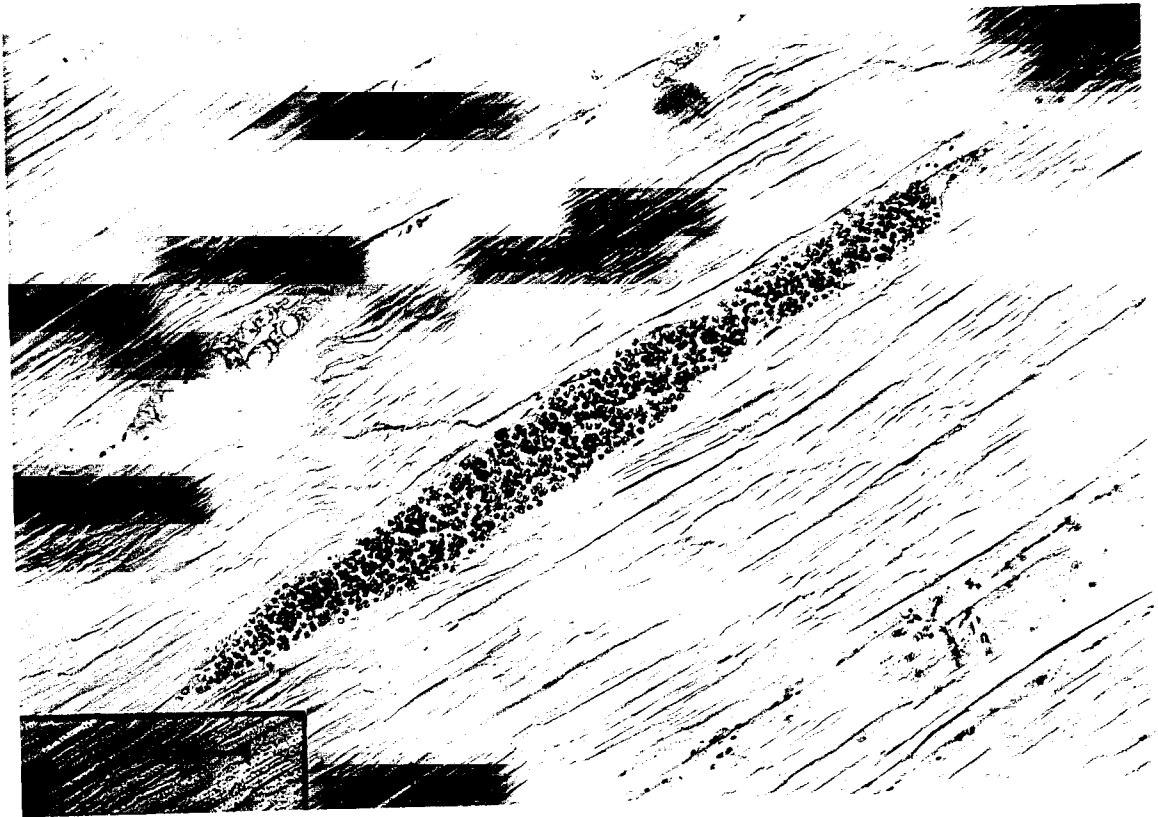


Figura 4.12- Fibras musculares degeneradas contendo massas de esporos de *Kudoa* sp.
(Coloração: Hematoxilina de Erlich; escala = 50 μ m).

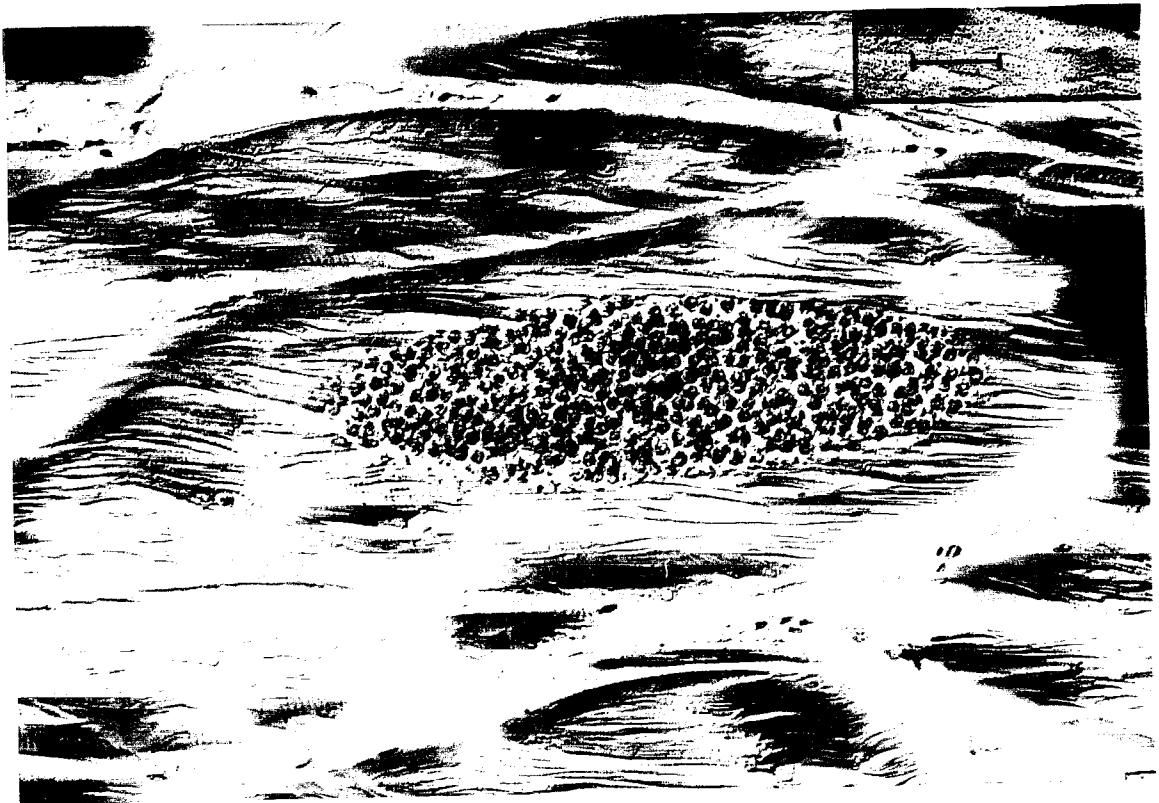


Figura 4.13- Fibras musculares degeneradas contendo massas de esporos de *Kudoa* sp.
(Coloração: Hematoxilina de Erlich; escala = 25 μ m).



Figura 4.14- Fibras musculares degeneradas contendo massas de esporos de *Kudoa* sp.
(Coloração: Hematoxilina de Erlich; escala = 10 μ m).



Figura 4.15- Fibras musculares contendo massas de esporos de *Kudoa* sp.
(Coloração: Azul de Metileno; escala = 50 μ m).

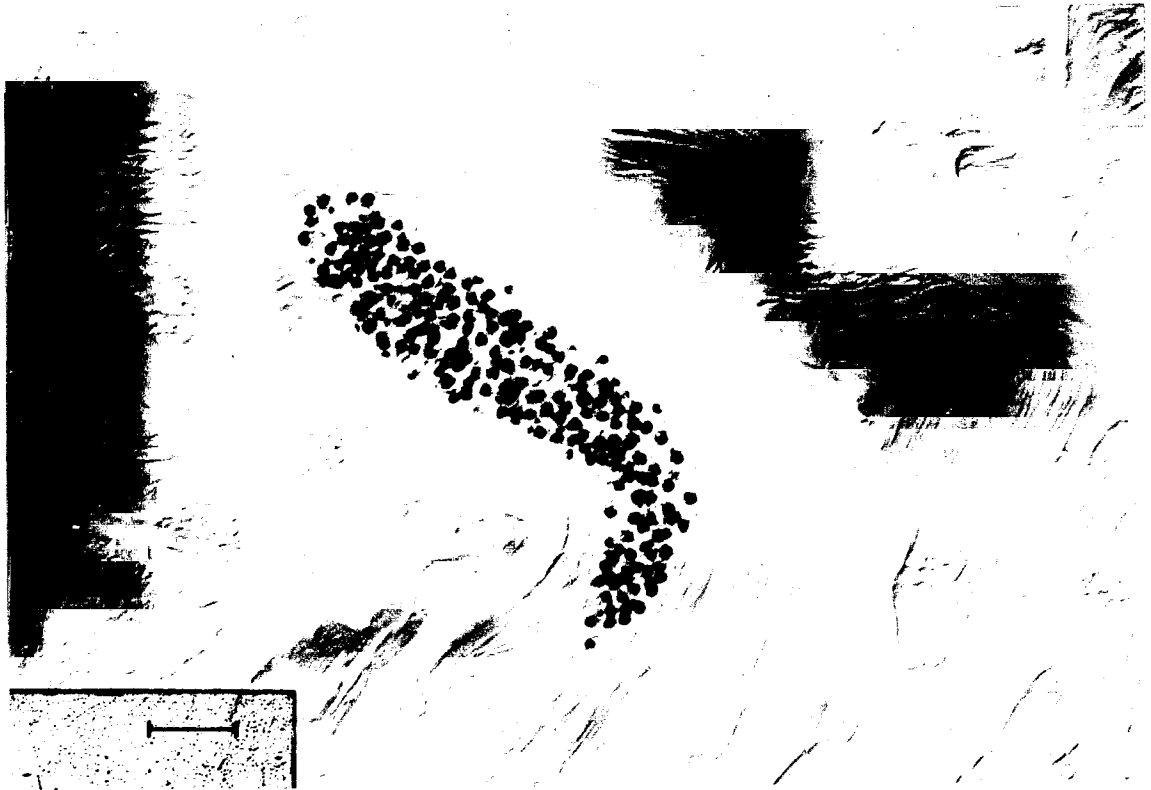


Figura 4.16- Fibras musculares contendo massas de esporos de *Kudoa* sp.
(Coloração: Azul de Metileno; escala = 25 μ m).

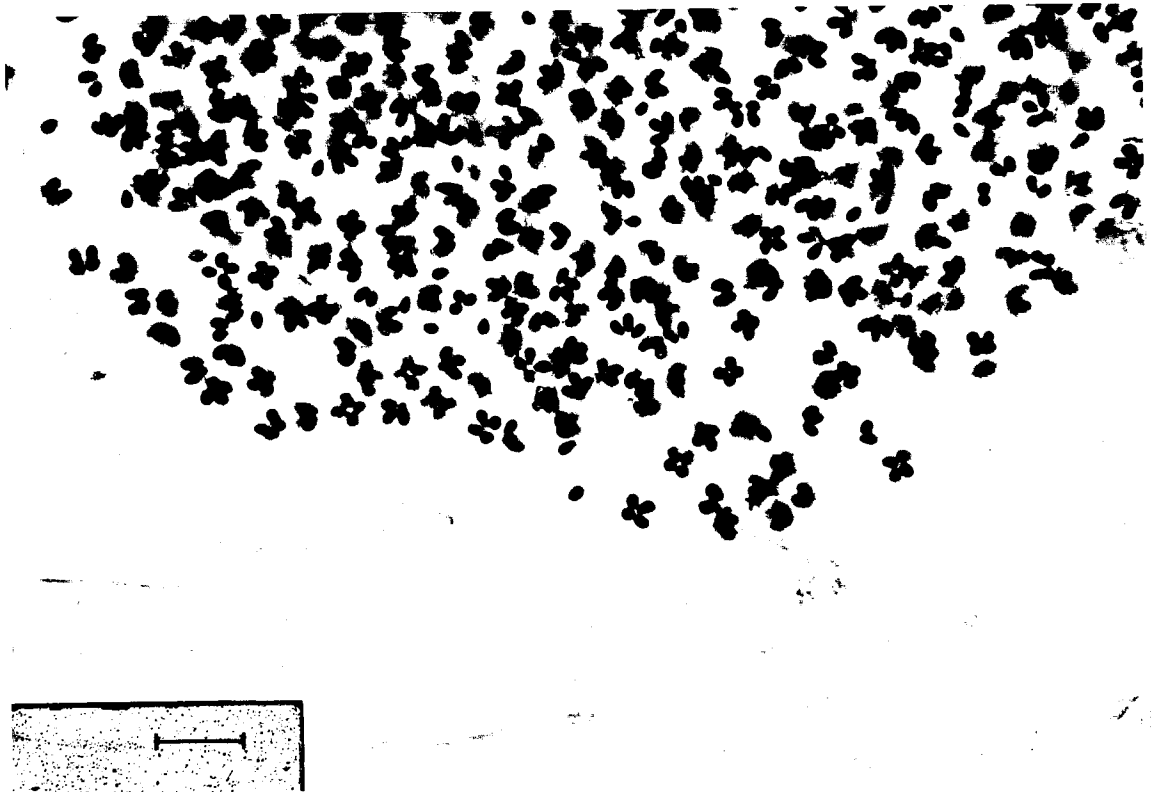


Figura 4.17- Fibras musculares contendo massas de esporos de *Kudoa* sp.
(Coloração: Azul de Metileno; escala = 10 μ m).

4.3.5- Comparação da eficácia de dois métodos de pesquisa de esporos de *Kudoa* sp.

No mês de Fevereiro foram utilizados dois métodos de pesquisa de esporos de *Kudoa* sp., o método de compressão e o método de digestão, no intuito de determinar a eficácia de cada um.

Na Tabela 4.10 encontram-se os resultados obtidos.

Tabela 4.10- Resultados obtidos na pesquisa de esporos de *Kudoa* sp. utilizando o método de compressão e de digestão.
(-: ausência de esporos, +: presença de esporos)

Exemplar	Presença de <i>Kudoa</i> sp. (M. Compressão)	Presença de <i>Kudoa</i> sp. (M. digestão)
1	+	-
2	+	-
3	+	-
4	+	-
5	+	-
6	+	-
7	+	+
8	+	-
9	+	-
10	+	-
11	-	-
12	-	+
13	+	+
14	+	+
15	+	+
16	+	-
17	+	+
18	+	+
19	+	+
20	-	-

O valor da prevalência obtido com o método de compressão foi de 85% e com o método de digestão foi de apenas 40%. Com excepção de um indivíduo, os esporos detectados pelo método de digestão foram sempre detectados pelo método de compressão.

Verificou-se também a existência de esporos muito danificados após a digestão efectuada.

4.4- DISCUSSÃO

No presente trabalho foram encontradas duas espécies pertencentes ao género *Kudoa* que no entanto não foi possível identificar.

Actualmente existem referenciadas 45 espécies pertencentes ao género *Kudoa* muitas das quais insuficientemente caracterizadas (Lom & Dyková, 1992; Swearer & Robertson, 1999).

Na bibliografia consultada as únicas referências de espécies pertencentes ao género *Kudoa* parasitas do género *Trachurus* foram as espécies *Kudoa quadratum* e *Kudoa nova*, ambas com cápsulas polares de tamanho idêntico (Lom & Dyková, 1992; Swearer & Robertson, 1999).

Kudoa quadratum possui esporos quadrangulares (comprimento do esporo: 6,0 - 7,0 μm , espessura média: 5,0 μm), bastante diferentes dos que encontramos ao longo do ano, que apresentaram forma arredondada, comprimento ligeiramente inferior e espessura maior.

A espécie *Kudoa nova*, com esporos arredondados, aproxima-se da por nós observada, apesar das dimensões dos esporos e cápsulas (comprimento do esporo: 5,3 - 6,5 μm , largura do esporo: 8,5 - 9,8 μm , espessura do esporo: 7,5 - 8,0 μm , comprimento da cápsula polar: 2,7 - 3,2 μm , in Swearer & Robertson, 1999) serem superiores às dos esporos descritos no presente trabalho.

Apenas baseados nos nossos resultados e na bibliografia consultada parece-nos prematuro tirar conclusões sobre a possível espécie a que os esporos observados pertencem.

A outra espécie observada, possuindo esporos com cápsulas polares de tamanho diferente é ainda de mais difícil identificação, uma vez que existem várias

espécies descritas com este tipo de morfologia e nenhuma delas referenciada para o género *Trachurus*. Com os dados que dispomos não nos é possível tirar qualquer conclusão sobre a possível espécie a que estes esporos pertencem.

Os valores de prevalência da parasitose de *Trachurus trachurus* por *Kudoa* sp. foram bastante elevados ao longo do ano.

Lom & Dyková (1992) referem que os valores de prevalência de parasitoses provocadas por MYXOSPOREA podem ser bastante elevados, podendo chegar aos 100%, apesar de, por vezes, apenas alguns peixes de determinados stocks estarem infectados. Estes autores referem na pescada do Pacífico (*Merluccius productus*) valores de prevalência até 90%, quando parasitada por duas espécies de *Kudoa* (*Kudoa paniformis* e *Kudoa thyrsites*). Bunton & Poynton (1991), observaram também valores de prevalência elevados (85%) em *Morone americana*.

Em Portugal, Menezes *et al.* (1989), referem valores de prevalência de 30% em Sardinha (*Sardina pilchardus*), proveniente do porto de Peniche e Gilman (1995), a valores de prevalência anual, no mesmo hospedeiro, de 47,7%.

O valor por nós encontrado (84,7%) foi bastante superior quando comparado com estes últimos.

Segundo Lom & Dyková (1992) a prevalência de uma infecção por MYXOSPOREA num determinado hospedeiro é o resultado da interacção de vários factores: fisiológicos (resistência do hospedeiro) e ecológicos (ambiente, nutrição).

Uma das explicações para valores de prevalência tão elevados ao longo do ano poderá estar relacionada com uma alimentação rica em anelídeos (se *Kudoa* apresentar, à semelhança de outros MYXOSPOREA, um ciclo de vida dixeno) e/ou uma permanência do parasita no hospedeiro por períodos muito longos.

Menezes *et al.* (1989) concluíram (embora não apoiados em bases estatísticas) que os valores de prevalência da parasitose por *Kudoa* sp. aumentam à medida que o tamanho do hospedeiro aumenta. No presente trabalho tal relação não se verifica, uma vez que não foi observada uma diferença significativa na ocorrência do parasita nas diferentes classes de tamanho.

A ocorrência da parasitose nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado é significativamente diferente, não havendo diferença significativa nos machos e fêmeas.

Os indivíduos de sexo indiferenciado parecem ser os mais susceptíveis à parasitose, com um valor de prevalência de 95,0%.

A ausência de diferentes prevalências em machos e fêmeas está de acordo com o observado por Kabata & Whitaker (1981), Menezes *et al.* (1989) e Gilman (1995), em parasitoses provocadas por *Kudoa* spp..

Os valores de intensidade são significativamente diferentes ao longo do ano sendo as maiores intensidades da parasitose encontradas nos meses de Março e Abril.

Refira-se que os hospedeiros examinados durante os meses de Março e Abril são os de maior tamanho (ver caracterização do comprimento e peso dos hospedeiros, nos diferentes meses, Tabela 3.1).

Embora não existam diferenças significativas nos valores de intensidade nas diferentes classes de tamanho, verifica-se que os indivíduos maiores (classe 4 e classe 5) são aqueles que apresentam na generalidade uma intensidade da parasitose mais elevada. Sendo assim, a variação de intensidade obtida ao longo do ano pode possivelmente atribuir-se à variação do tamanho do hospedeiro.

Exemplares maiores, e portanto mais velhos, tem uma maior probabilidade de terem ingerido uma maior quantidade de parasitas, o que associado a uma parasitose de longa duração se poderá reflectir numa intensidade mais elevada.

Os valores de intensidade obtidos para machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado não são significativamente diferentes.

O âmbito de realização deste estudo não nos permite concluir, com segurança, quais os factores que determinam os diferentes valores de prevalência e intensidade registados.

Considerando que, muito provavelmente, *Kudoa* sp. terá um ciclo de vida dixeño, envolvendo dois hospedeiros, um vertebrado e outro invertebrado (anelídeos), uma maior ou menor quantidade de anelídeos existentes nas águas, poderá influenciar os valores de prevalência e intensidade da parasitose de *Trachurus trachurus* por *Kudoa*.

Em alguns exemplares parasitados, verificou-se um amolecimento do tecido muscular. Este fenómeno terá sido possivelmente provocado pela produção de enzimas proteolíticas produzidas pelo parasita após a morte do hospedeiro.

Um fenómeno idêntico é referido em diversos hospedeiros (Kabata & Whitaker, 1981, 1985; Stehr & Whitaker, 1986; Obiekezie *et al.*, 1987; Whitaker & Kabata, 1987; Menezes *et al.*, 1989; Langdon, 1991; Langdon *et al.*, 1992; Lom & Dyková, 1992; Barja & Toranzo, 1993; Holliman, 1994; Gilman, 1995; St-Hilaire *et al.*, 1997; Davies *et al.*, 1998).

Histologicamente foram observados esporos localizados intracelularmente em fibras musculares, que geralmente se encontravam mais ou menos degeneradas, provavelmente devido à actuação de enzimas proteolíticas produzidas pelo parasita.

O método de digestão utilizado não se revelou eficaz, uma vez que não foram detectados esporos em muitos dos hospedeiros parasitados. Além disso, os esporos de *Kudoa* sp. apareceram muito danificados o que nos leva a pensar que a solução de digestão utilizada possa provocar a destruição destes esporos.

O método de compressão é muito mais simples de realizar, bastante mais eficaz e fiável.

5. PARASITOSE PROVOCADA POR LARVAS DE ANISAKIDAE EM *Trachurus trachurus*

5.1- INTRODUÇÃO

5.1.1- Posição Sistemática

Classe: NEMATODA

Sub-Classe: SECERNENTEA Linstow, 1905

Ordem: ASCARIDIDA Skrjabin et Schulz, 1940

Super-Família: ASCARIDOIDEA Railliet et Henry, 1915

Família: ANISAKIDAE Railliet et Henry, 1912

5.1.2- Caracterização e Ciclo de Vida dos ANISAKIDAE

A família ANISAKIDAE alberga espécies cujas larvas têm uma enorme importância económica (Grabda, 1991). Estas são importantes dada a sua distribuição cosmopolita e a sua abundância em peixes de interesse comercial.

Estas larvas têm também uma grande importância do ponto de vista da saúde pública, uma vez que podem parasitar acidentalmente o homem quando este ingere carne de peixe parasitada crua ou mal cozinhada.

Relativamente a esta família são conhecidos seis géneros cujas larvas ocorrem como parasitas de peixes marinhos:

- . *Raphidascaris* Railliet et Henry, 1915
- . *Hysterothylacium* Ward et Magath, 1917
- . *Contracaecum* Railliet et Henry, 1912
- . *Anisakis* Dujardin, 1845
- . *Pseudoterranova* Mozyovog in Skrjabin et al., 1951
- . *Goezia* Zeder, 1800

A distinção morfológica destas larvas, a nível genérico, baseia-se fundamentalmente na presença ou ausência de um apêndice ventricular e/ou de um ceco intestinal e na posição do poro excretor (na base dos lábios ou ao nível do anel nervoso) encontrando-se sumariada na Figura 5.1.

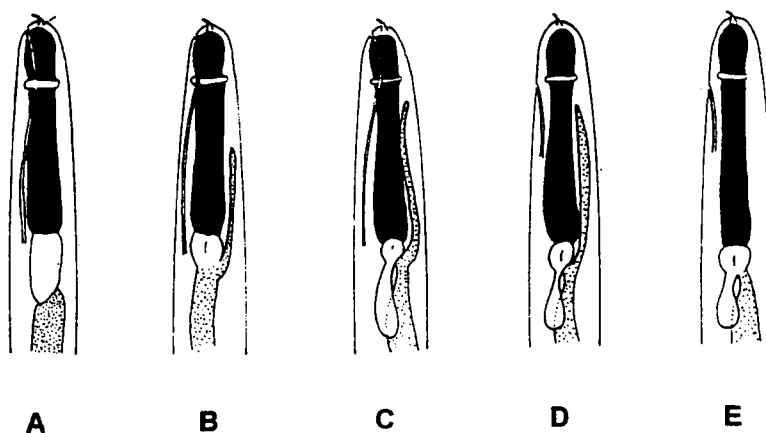


Figura 5.1- Representação do terceiro estado larvar de géneros pertencentes à família ANISAKIDAE. A- *Anisakis*; B- *Pseudoterranova*; C- *Contracaecum*; D- *Hysterothylacium*; E- *Raphidascaris*. A sombreado: intestino; a negro: esófago; a branco: ventrículo. Adaptado de Grabda (1991).

A identificação até à espécie baseada unicamente em características morfológicas é geralmente impossível (Moravec, 1994). Algumas espécies apenas se conseguem distinguir a nível bioquímico.

No ciclo de vida dos ANISAKIDAE é necessário a intervenção de um hospedeiro intermediário (oligoquetas, larvas de insectos, crustáceos) e geralmente um hospedeiro paraténico (peixe) sendo o hospedeiro definitivo variável.

Os géneros *Raphidascaris*, *Hysterothylacium*, e *Goezia* têm como hospedeiro definitivo peixes, os géneros *Pseudoterranova* e *Anisakis* mamíferos marinhos e o género *Contraecaecum* aves piscívoras.

A título de exemplo será referido mais pormenorizadamente o ciclo de vida de *Anisakis simplex*, uma vez que se trata de um ANISAKIDAE que na sua forma larvar é extremamente frequente em peixes marinhos.

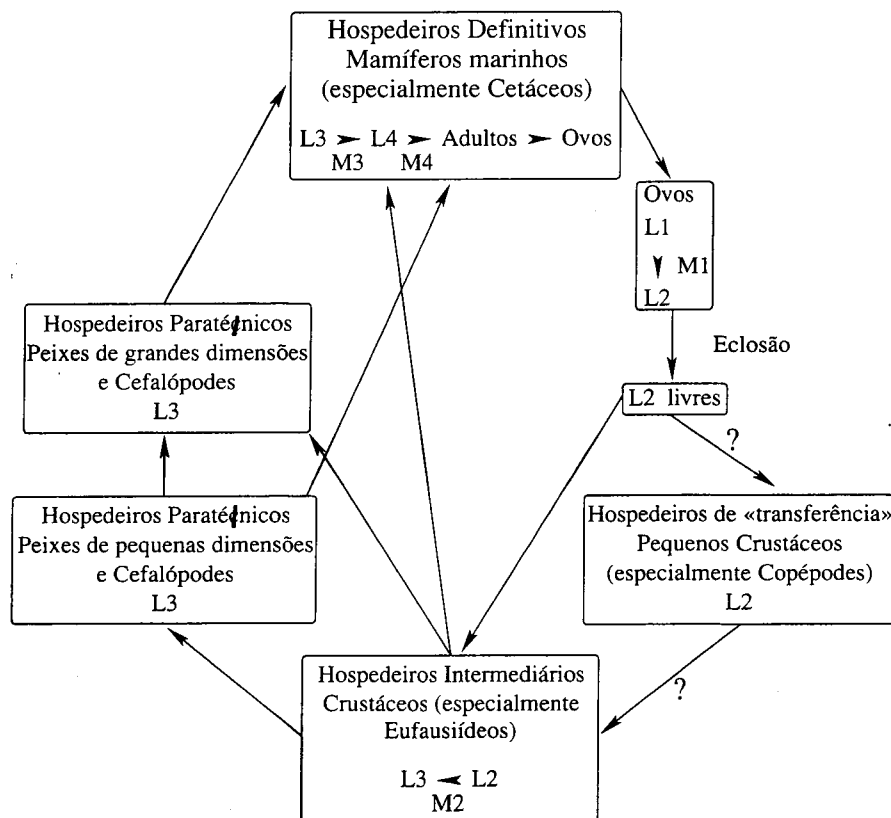


Figura 5.2- Ciclo de vida de *Anisakis simplex* segundo Nagasawa (1989).

Anisakis simplex é um nemátode especialmente abundante em águas frias e polares. O seu terceiro estado larvar foi encontrado num grande número de espécies de peixes, muitas das quais, com uma grande importância comercial por estarem destinadas ao consumo humano (Ortueta Bilbao *et al.*, 1999).

Os adultos destes parasitas encontram-se em mamíferos marinhos (cetáceos e penípedes). Nestes, produzem os ovos que são expulsos para o exterior através das fezes ocorrendo o desenvolvimento embrionário em meio marinho.

A primeira muda ocorre dentro do ovo. A larva resultante (L2) eclode ainda envolvida pela cutícula da muda.

As larvas L2 são ingeridas pelos hospedeiros intermediários (crustáceos marinhos) geralmente eufausídeos (Smith, 1983). Nestes migram para o hemocel, onde mudam para a fase larvar seguinte (L3).

Peixes (especialmente teleósteos) e cefalópodes adquirem a infecção quando se alimentam de crustáceos infectados (Wootten & Smith, 1975). Nestes hospedeiros as larvas penetram a parede do tubo digestivo e atingem a cavidade geral onde aumentam de tamanho mas não sofrem qualquer muda, sendo portanto, hospedeiros paraténicos.

Mamíferos marinhos ficam infectados quando se alimentam de hospedeiros paraténicos ou intermediários. O principal local de infecção é o estômago, onde ocorrem as terceira e quarta mudas.

Recentemente membros da WAAVP- *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*- reviram a nomenclatura das doenças de origem parasitária, recomendando os termos Anisakuídeos, Anisakuíoses, Contracécose e Pseudoterranovose como doenças parasitárias provocadas respectivamente pela família ANISAKIDAE, género *Anisakis*, género *Contracaecum* e espécie *Pseudoterranova decipiens* (in Blanco, 1998). Os casos de infecções humanas mais frequentes são devidas ao género *Anisakis*.

Larvas de *Anisakis* foram pela primeira vez reconhecidas como potenciais agentes patogénicos do Homem em 1955, na Holanda por Van Thiel *et al.* (in Pippy & Banning, 1975; Blanco, 1998). No entanto, é no Japão que se manifesta um maior número de casos (95% dos casos mundiais) devido aos hábitos alimentares da população (confeção de pratos constituídos por peixe cru ou semi-cru como sushi, sashimi).

Na Europa a doença é menos comum (3,5% do total) registando-se a maioria dos casos na Holanda, Alemanha e França. Em Espanha, foram recentemente diagnosticados oito casos de Anisakuíose humana (Blanco, 1998).

Tanto quanto se sabe, no nosso país nunca foi diagnosticada uma infecção humana provocada por estes parasitas.

Uma vez ingeridas pelo Homem, as larvas podem originar lesões em diferentes pontos do tracto gastrointestinal ou migrar para localizações extragastrointestinais, dando lugar a diferentes formas clínicas da doença.

Recentemente, descobriu-se que antigénios da espécie *Anisakis simplex* podem causar alergias em humanos. Valiñas *et al.* (1999) realizaram estudos de

índole imunológica no sentido de conhecer a soroprevalência da alergia causada por antígenos de *Anisakis simplex* na Comunidade Autónoma Galega.

Relativamente à sintomatologia das anisaquidoses, esta confunde-se com a das úlceras gástricas e inflamação do apêndice. Nos países onde a anisaquidose é frequente o diagnóstico pode ser simples, mas em países onde em geral não ocorre o seu diagnóstico é difícil.

A possibilidade de uma infecção é maior quando se ingere peixe cru ou mal cozinhado, no entanto, mesmo peixe bem cozido pode provocar infecção. As larvas sobrevivem aproximadamente 78 minutos a temperaturas de 45°C, a processos de fumagem até 40°C e várias semanas em soluções de NaCl. A congelação parece ser o único método capaz de matar totalmente estas larvas. As larvas de *Anisakis* só resistem 2h a -20°C e morrem rapidamente (1s) quando submetidas a temperaturas superiores a 60°C (Bier *et al.*, 1987 *in* Blanco, 1998).

Segundo Blanco (1998) uma das principais medidas de controle passa pela informação junto das populações sobre os riscos associados à ingestão de pratos elaborados à base de peixe cru ou insuficientemente cozinhado.

A razão pela qual algumas espécies de peixe apresentam numerosas larvas na musculatura não é ainda muito clara. A migração das larvas para a musculatura após a morte do hospedeiro não se verifica em todas as espécies.

Smith (1984 *in* Eiras, 1994), sugeriu que este tipo de movimento migratório *post-mortem* poderia ter lugar, principalmente, nas espécies de peixes que contêm grandes quantidades de lípidos no seu tecido muscular.

5.2- MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares utilizados para determinar a ocorrência de larvas de ANISAKIDAE em *Trachurus trachurus* foram os mesmos utilizados para a pesquisa de *Kudoa*.

Depois de medidos, pesados e determinado o sexo, os hospedeiros foram dissecados, retirando-se o tubo digestivo para uma placa de Pétri para posterior observação à lupa.

A pesquisa de larvas de ANISAKIDAE foi também efectuada na cavidade geral dos hospedeiros.

As larvas detectadas foram mortas em álcool a 70% quente e conservadas em álcool a 70°.

A identificação das larvas foi feita de acordo com a tabela de identificação proposta por Moravec (1994).

Com base nos resultados obtidos determinou-se a prevalência e a intensidade:

- . ao longo do ano,
- . nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro,
- . nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado.

A variação destes parâmetros foi analisada utilizando os Testes recomendados por Siegel & Castellan (1989).

Para comparar prevalências utilizou-se o Teste de Qui-quadrado, com um nível de confiança de 95%.

Para comparar intensidades foi utilizado o Teste de Medianas, com um nível de confiança de 95%.

Com o objectivo de detectar a presença de larvas na musculatura dos peixes, procedeu-se à realização de dois métodos de pesquisa: método de compressão e método de digestão.

Para o método de compressão colheu-se uma amostra de musculatura de cada exemplar que, depois de fortemente comprimida entre duas lâminas, foi observada ao microscópio óptico.

Durante os três primeiros meses (Outubro, Novembro e Dezembro) realizou-se em paralelo o método de digestão. Neste método procedeu-se à digestão de pequenos pedaços de músculo (1000 ml de solução de digestão para 2g de músculo) a 37°C durante 7 horas.

A solução utilizada para a digestão foi a seguinte:

- 1000 ml de soro fisiológico 0,9%;
- 7 ml de ácido clorídrico concentrado;
- 6 g de pepsina.

O produto digerido foi observado numa placa de Pétri ao estereoscópio para detecção e contagem das larvas.

5.3- RESULTADOS

5.3.1- Prevalência da parasitose

5.3.1.1- Prevalência da parasitose ao longo do ano

Foram encontradas larvas de ANISAKIDAE em todos os meses estudados com a exceção de Outubro. A prevalência da parasitose provocada por estas larvas foi de 38,3% num total de 209 exemplares observados.

Os valores de prevalência variaram entre 0% em Outubro e 70% em Abril e Agosto (Tabela 5.1 e Figura 5.3).

Tabela 5.1- Prevalência da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE ao longo do ano.

Mês	Nº indivíduos parasitados	Nº indivíduos não parasitados	Nº indivíduos observados	Prevalência (%)
Outubro	0	13	13	0,0
Novembro	1	19	20	5,0
Dezembro	7	9	16	43,8
Janeiro	5	15	20	25,0
Fevereiro	11	9	20	55,0
Março	8	12	20	40,0
Abril	14	6	20	70,0
Maio	11	9	20	55,0
Junho	4	16	20	20,0
Julho	5	15	20	25,0
Agosto	14	6	20	70,0

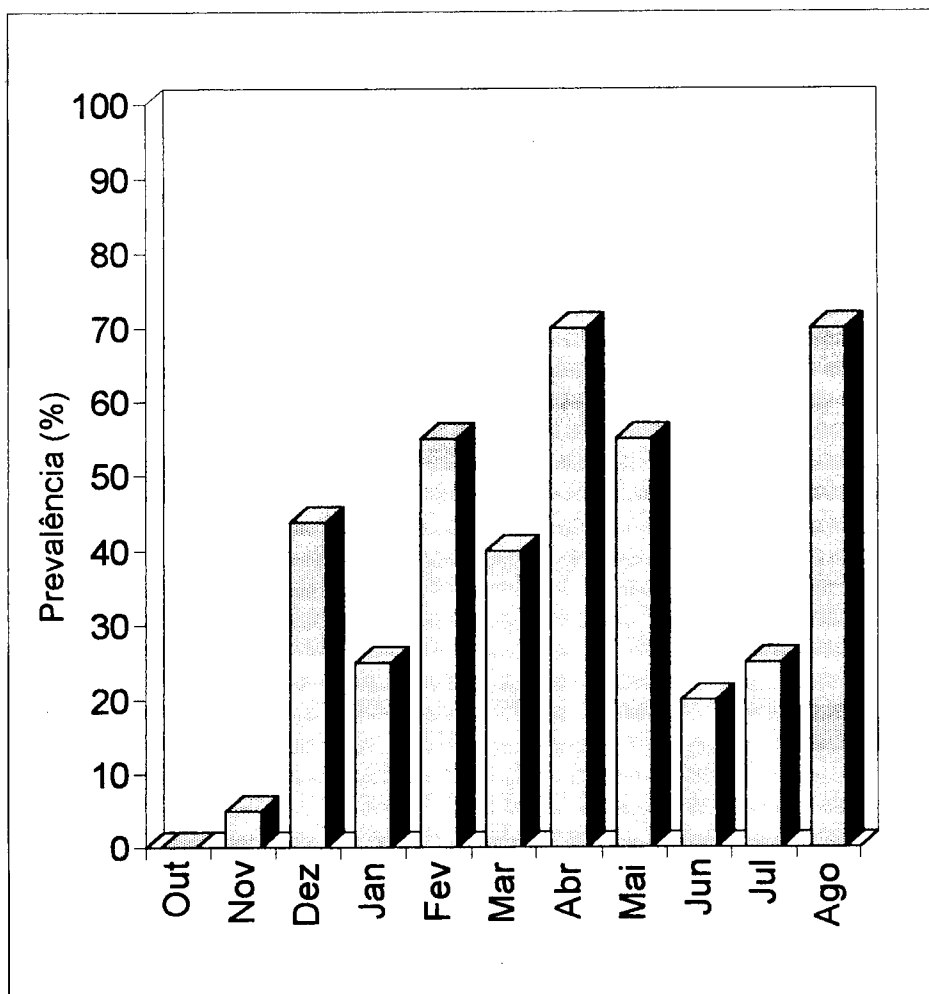


Figura 5.3- Prevalência da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE ao longo do ano.

A ocorrência do parasita foi significativamente diferente ao longo do ano ($\chi^2 = 45,28$; $gl = 10$; $P < 0,05$).

5.3.1.2- Prevalência da parasitose nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro

Para determinar a relação entre a ocorrência das larvas e o comprimento do hospedeiro, consideraram-se as mesmas cinco classes de comprimento utilizadas para o estudo da ocorrência de *Kudoa*.

Os valores da prevalência variaram entre 27,1% (classe 1: 15,0 - 17,9 cm) e 56,5% (classe 5: 27,0 - 29,9 cm) (Tabela 5.2 e Figura 5.4).

Tabela 5.2- Prevalência da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro.

Classes de tamanho (cm)	Nº indivíduos parasitados	Nº indivíduos não parasitados	Nº indivíduos observados	Prevalência (%)
15,0 - 17,9	13	35	48	27,1
18,0 - 20,9	12	27	39	30,8
21,0 - 23,9	16	25	41	39,0
24,0 - 26,9	26	32	58	44,8
27,0 - 29,9	13	10	23	56,5

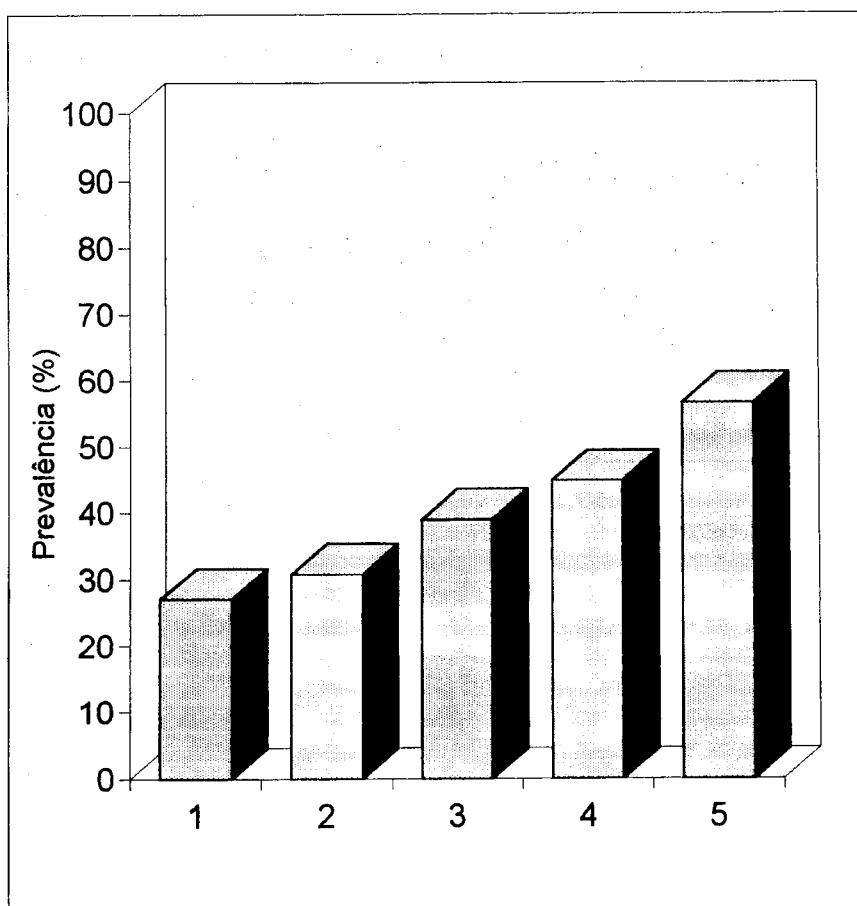


Figura 5.4- Prevalência da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro. (1: 15,0 - 17,9 cm; 2: 18,0 - 20,9 cm; 3: 21,0 - 23,9 cm; 4: 24,0 - 26,9 cm; 5: 27,0 - 29,9 cm).

A ocorrência do parasita não foi significativamente diferente para as diferentes classes de tamanho ($\chi^2 = 7,69$; $gl = 4$; $P > 0,05$), embora se verifique uma tendência de aumento da prevalência com o aumento do tamanho do hospedeiro.

5.3.1.3- Prevalência da parasitose nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado

Os valores de prevalência variaram entre os 16,7% nos indivíduos de sexo indiferenciado e 49,2% nas fêmeas (Tabela 5.3 e Figura 5.5).

Tabela 5.3- Prevalência da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado.

Sexo	Nº indivíduos parasitados	Nº indivíduos não parasitados	Nº indivíduos observados	Prevalência (%)
Machos	38	46	84	45,2
Fêmeas	32	33	65	49,2
Indiferenciado	10	50	60	16,7

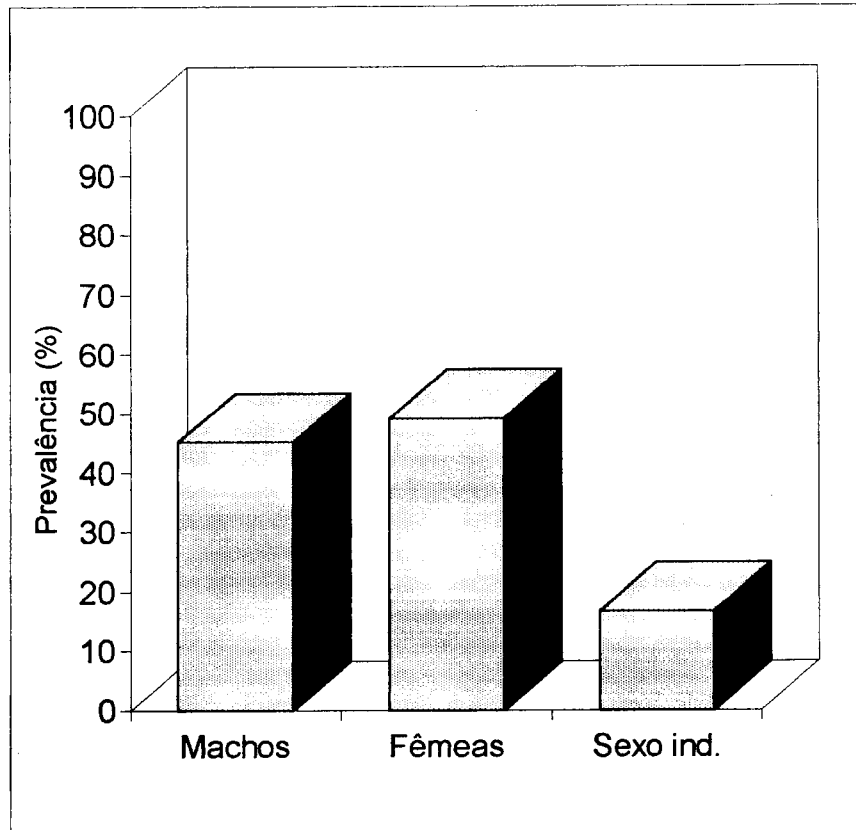


Figura 5.5- Prevalência da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado.

A ocorrência do parasita foi significativamente diferente para os machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado ($\chi^2 = 16,9$; $gl = 2$; $P < 0,05$), apresentando estes a prevalência mais baixa.

5.3.2- Intensidade da parasitose

5.3.2.1- Intensidade da parasitose ao longo do ano

As intensidades médias variaram entre 1,0 em Novembro e Junho e 3,7 em Abril (Tabela 5.4 e Figura 5.6).

Tabela 5.4- Intensidade da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE ao longo do ano.

Mês	Intensidades		
	Média	Mínima	Máxima
Outubro	-	-	-
Novembro	1,0	1	1
Dezembro	2,4	1	7
Janeiro	3,4	1	7
Fevereiro	1,5	1	3
Março	1,1	1	2
Abril	3,7	1	11
Maio	1,6	1	5
Junho	1,0	1	1
Julho	1,6	1	3
Agosto	2,3	1	7

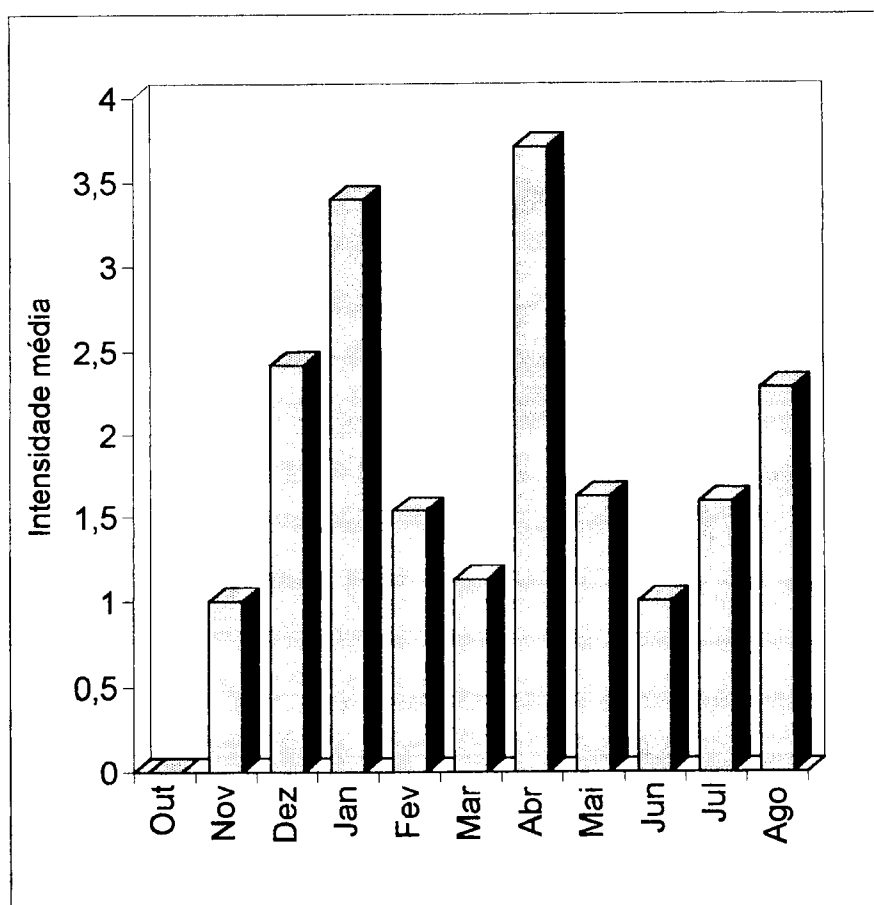


Figura 5.6- Intensidade média da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE ao longo do ano.

5.3.2.2- Intensidade da parasitose nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro

A intensidade média variou entre 1,8 (classe 1: 15,0 - 17,9 cm) e 2,8 (classe 3: 21,0 - 23,9 cm) (Tabela 5.5 e Figura 5.7).

Tabela 5.5- Intensidade da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro.

Classes de tamanho (cm)	Intensidades		
	Média	Mínima	Máxima
15,0 - 17,9	1,8	1	4
18,0 - 20,9	1,5	1	3
21,0 - 23,9	2,8	1	7
24,0 - 26,9	2,4	1	11
27,0 - 29,9	2,1	1	7

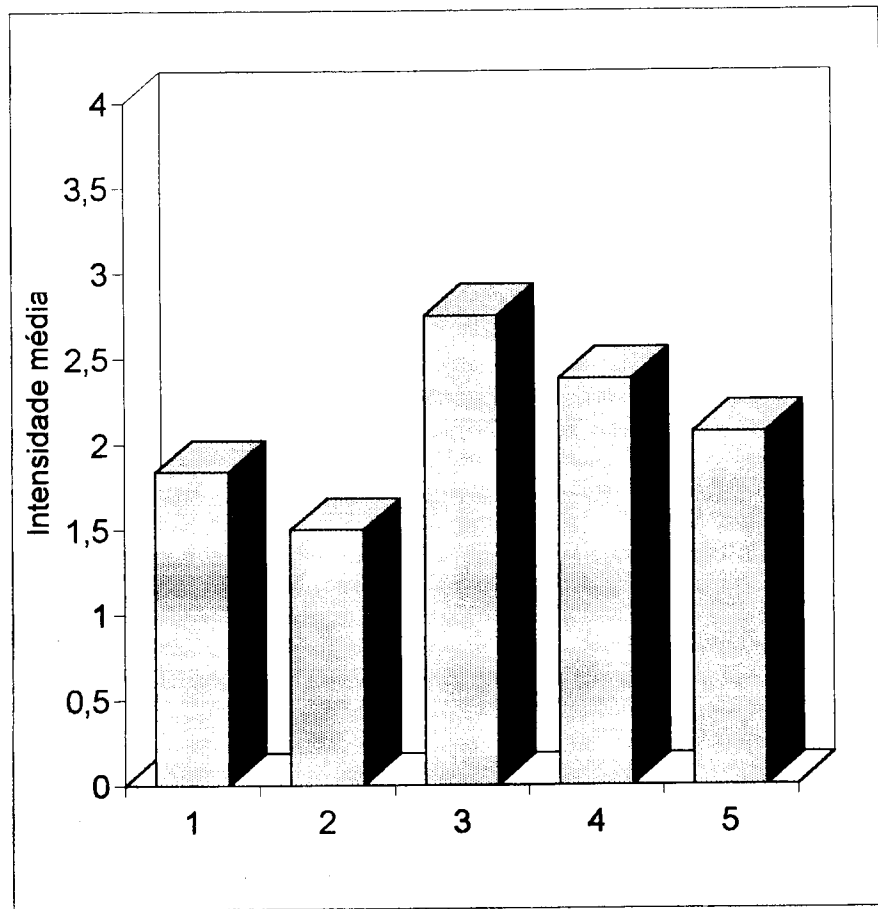


Figura 5.7- Intensidade média da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro (1: 15,0 - 17,9 cm; 2: 18,0 - 20,9 cm; 3: 21,0 - 23,9 cm; 4: 24,0 - 26,9 cm; 5: 27,0 - 29,9 cm).

A intensidade da parasitose não foi significativamente diferente para as diferentes classes de tamanho ($\chi^2 = 0,849$; $gl = 4$; $P > 0,05$).

5.3.2.3- Intensidade da parasitose nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado

A intensidade média variou entre 2,1 nas fêmeas e 2,3 nos indivíduos de sexo indiferenciado (Tabela 5.6 e Figura 5.8).

Tabela 5.6- Intensidade da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado.

Sexo	Intensidades		
	Média	Mínima	Máxima
Machos	2,2	1	11
Fêmeas	2,1	1	10
Indiferenciado	2,3	1	7

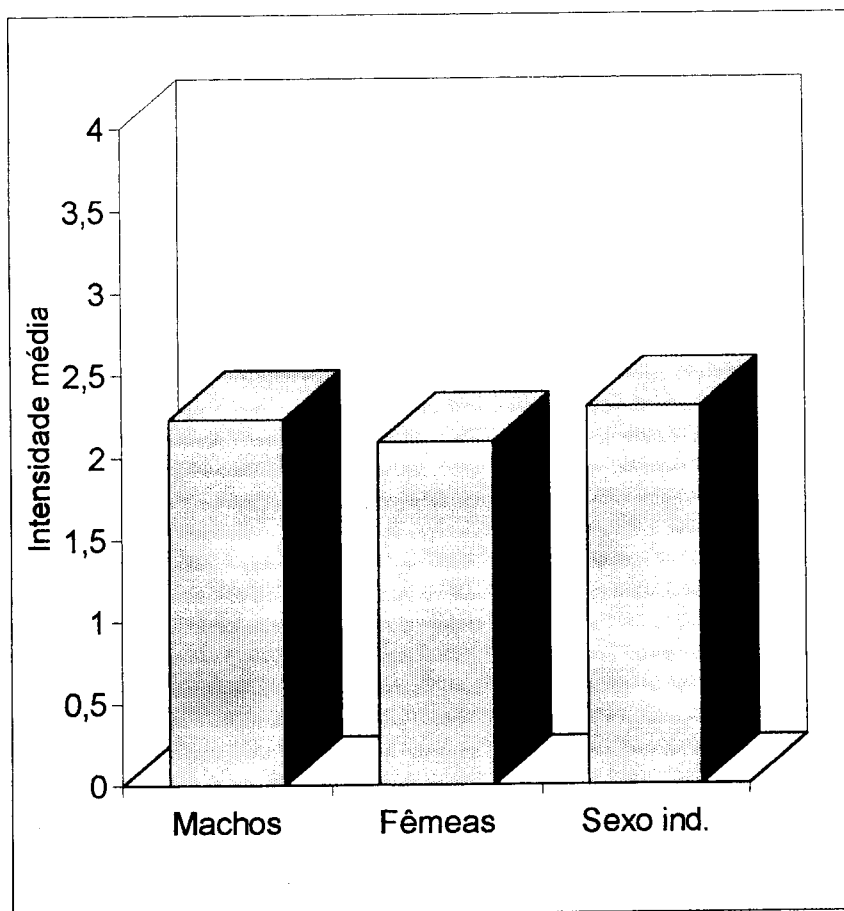


Figura 5.8- Intensidade média da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado.

A intensidade da parasitose não foi significativamente diferente para os machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado ($\chi^2 = 0,732$; $gl = 2$; $P > 0,05$).

5.3.3- Identificação das larvas de ANISAKIDAE

Os hospedeiros analisados encontravam-se parasitados com larvas pertencentes aos géneros *Anisakis* (prevalência = 18,7%) e *Hysterothylacium* (prevalência = 22,0%).

Foram observadas 175 larvas, 6 das quais não foi possível identificar, 78 (presentes em 39 hospedeiros) das quais pertencentes ao género *Anisakis* (intensidade média = 2,0) e 91 (presentes em 46 hospedeiros) ao género *Hysterothylacium* (intensidade média = 2,0).

Na Tabela 5.7 encontram-se os resultados obtidos ao longo do ano.

Tabela 5.7- Número de larvas de cada género detectadas ao longo do ano.

MESES	Género <i>Anisakis</i>	Género <i>Hysterothylacium</i>	Larvas não identificadas	TOTAIS
Outubro	0	0	-	0
Novembro	1	0	-	1
Dezembro	3	14	-	17
Janeiro	6	11	-	17
Fevereiro	11	6	-	17
Março	6	3	-	9
Abril	26	24	2	52
Maio	13	5	-	18
Junho	1	3	-	4
Julho	0	5	3	8
Agosto	11	20	1	32
TOTAIS	78	91	6	175

Nas Figuras 5.9, 5.10, 5.11, 5.12 e 5.13 apresentam-se fotografias relativas às larvas encontradas.

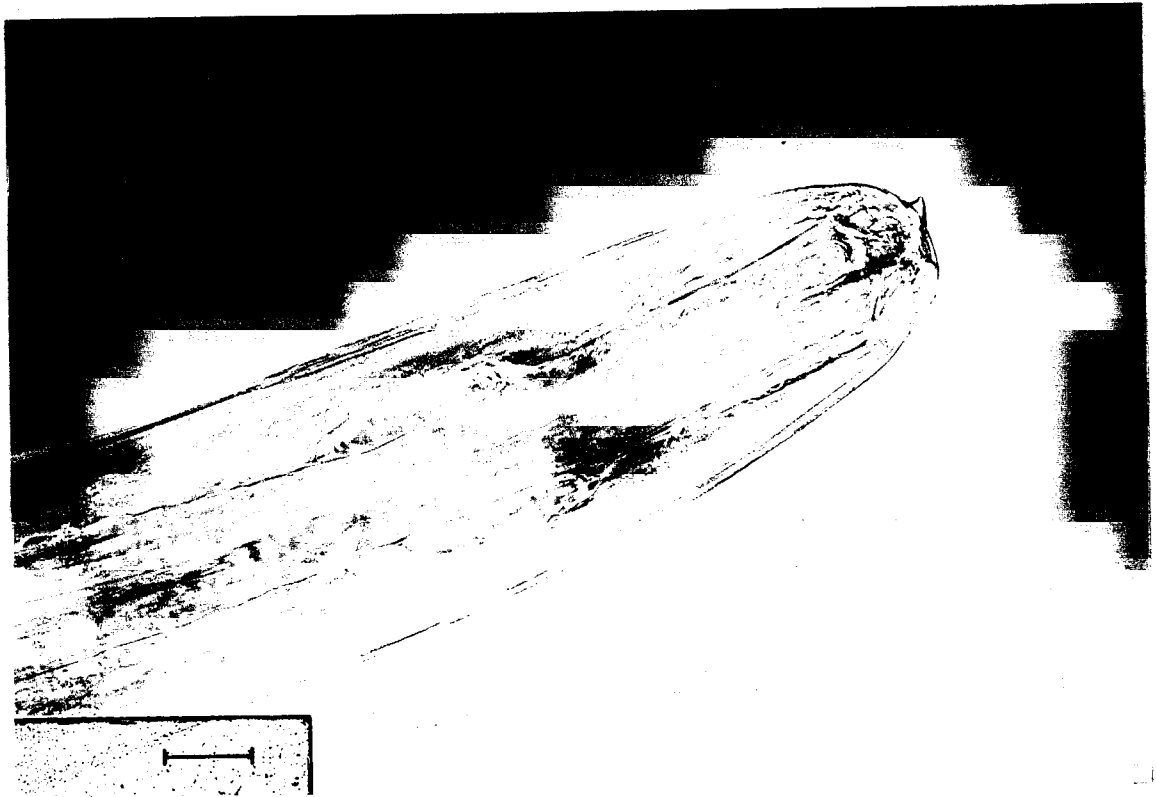


Figura 5.9- Região anterior de *Anisakis* sp.. Escala = 50 μ m.

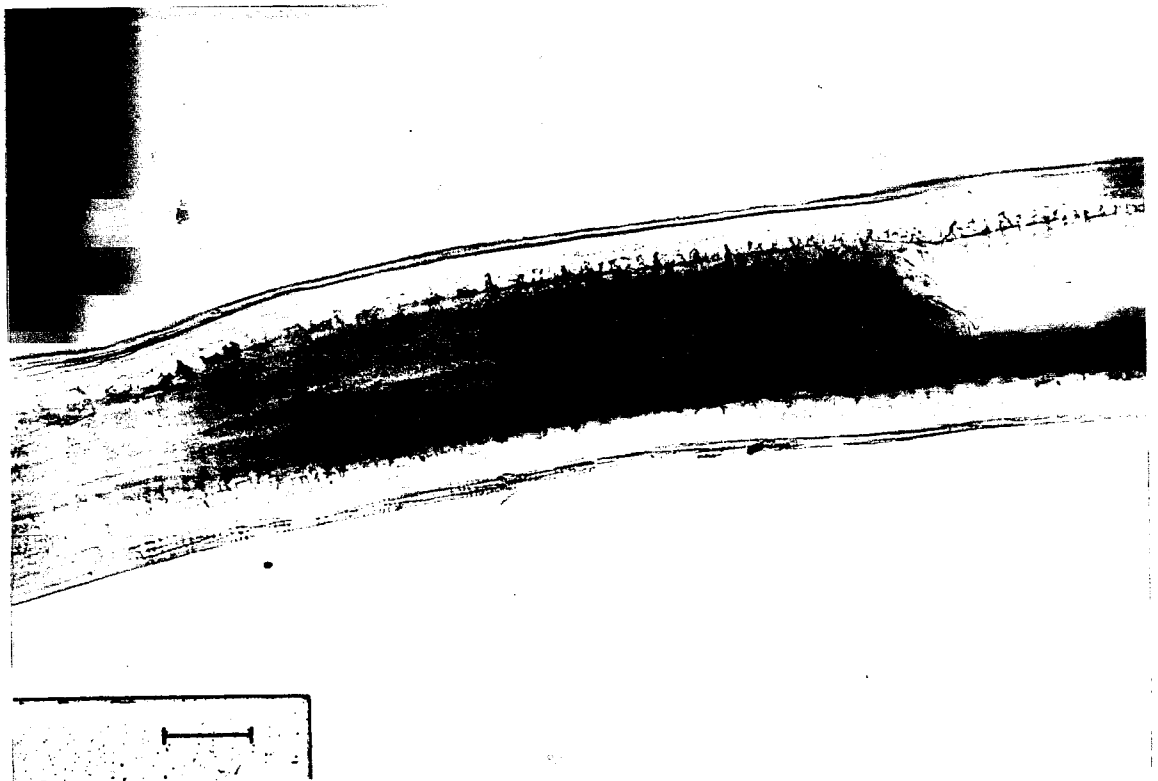


Figura 5.10- Região ventricular de *Anisakis* sp.. Escala = 100 μ m.



Figura 5.11- Região posterior de *Anisakis* sp.. Escala = 50 μ m.



Figura 5.12- Região anterior de *Hysterothylacium* sp. com o ceco intestinal bem evidente. Escala = 50 μ m.

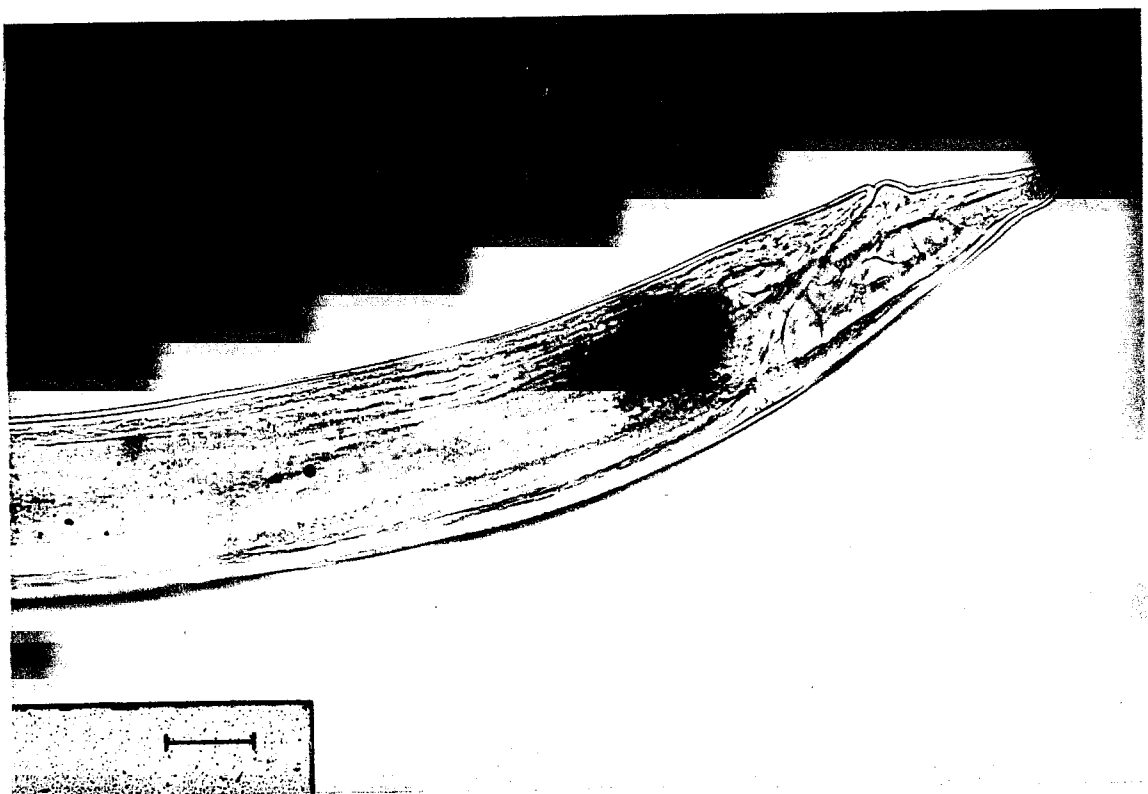


Figura 5.13- Região posterior de *Hysterothylacium* sp. Escala = 50 μ m.

5.3.4- Comparação da eficácia de dois métodos de pesquisa de larvas de ANISAKIDAE

Os métodos de compressão e de digestão foram utilizados com o objectivo de detectar a presença de larvas enquistadas na musculatura dos hospedeiros examinados.

Não se obteve qualquer resultado positivo com nenhum dos métodos.

5.4- DISCUSSÃO

Em Portugal, está descrita a ocorrência de *Anisakis*, *Hysterothylacium* e *Contracaecum* em *Trachurus trachurus* (Carvalho Varela & Cunha Ferreira, 1984).

Num estudo realizado em duas Rias da Galiza (Sanmartín *et al.*, 1994) foram observadas em *Trachurus trachurus* as seguintes larvas de ANISAKIDAE: *Anisakis* (prevalência de 44% e 67%, intensidade média de 7,3 e 8,2, respectivamente na Ria de Muros e Ria de Arosa) e *Hysterothylacium* (prevalência de 78% e 99%, intensidade média de 16,7 e 6,3 respectivamente na Ria de Muros e Ria de Arosa).

Os resultados obtidos no presente trabalho são idênticos no que se refere à presença de larvas dos dois géneros, embora as prevalências e intensidades obtidas sejam inferiores. A relação entre os dois géneros é diferente nos locais amostrados no que se refere à prevalência (prevalência de *Hysterothylacium* relativamente à prevalência de *Anisakis* muito superior na Galiza e apenas ligeiramente superior no presente trabalho) e intensidade média (intensidade média de *Hysterothylacium* relativamente à intensidade média de *Anisakis* é superior na Ria de Muros, inferior na Ria de Arosa e igual no presente trabalho).

Estes resultados poderão ser explicados pelo grau de acessibilidade de hospedeiros intermediários ou paraténicos em diferentes regiões geográficas.

Devido às baixas prevalências e intensidades encontradas, a análise das variações destes parâmetros no presente estudo, foi feita considerando o conjunto das larvas de ANISAKIDAE independentemente do género a que pertencem.

Embora a prevalência varie significativamente ao longo do ano não é possível encontrar um padrão de variação facilmente explicável. Um dos factores que possivelmente contribuem para a variação observada relaciona-se com o tamanho do hospedeiro. Refira-se que um dos meses em que a prevalência foi mais elevada (Abril) corresponde à amostra cuja média dos comprimentos dos exemplares é mais elevada.

Verifica-se também que, embora não exista uma diferença significativa na ocorrência das larvas nas diferentes classes de tamanho, os valores de prevalência mais elevados são observados nas classes de tamanho maiores. Resultados semelhantes foram obtidos por Lang *et al.* (1989) em estudos realizados no Mar Báltico em arenques.

A relação entre o comprimento do hospedeiro e a ocorrência da parasitose parece ser lógica se pensarmos que os hospedeiros mais velhos estiveram expostos à parasitose durante um período de tempo maior.

Os valores obtidos para a prevalência da parasitose são significativamente diferentes nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado, sendo estes os que apresentam a prevalência mais baixa.

Na bibliografia consultada não se encontraram referências relativas à influência do sexo e estado de maturação dos hospedeiros nos valores de prevalência da parasitose. Com base apenas nos nossos resultados, os indivíduos imaturos parecem ser menos susceptíveis à parasitose o que eventualmente poderá ser devido a um efeito conjunto do tamanho do hospedeiro e seu estado fisiológico, na resistência à parasitose.

Os valores de intensidade variaram ao longo do ano não sendo no entanto possível encontrar um padrão de variação. O valor mais elevado de intensidade média registou-se no mês de Abril (3,7).

Os valores de intensidade média não são significativamente diferentes nas diferentes classes de tamanho. No entanto, as classes 3, 4 e 5 (classes com hospedeiros de maior tamanho) apareceram com valores de intensidade elevados relativamente às classes 1 e 2 (classes com hospedeiros de menor tamanho).

Blanco (1998) refere que normalmente a carga parasitária aumenta com a idade e tamanho do hospedeiro. O mesmo autor acrescenta que no bacalhau se verificou que a partir de determinado comprimento a intensidade da parasitose diminui. Este dado parece-nos importante pois, curiosamente, também na nossa pesquisa a classe de tamanho maior (classe 5, com hospedeiros de comprimento

entre os 27,0 e 29,9 cm) apresentou uma intensidade média inferior relativamente às classes 3 e 4.

Também Grabda (1976) chegou a valores de intensidades, em arenques e bacalhau, menores na classe de tamanho maior. Provavelmente os indivíduos mais velhos, e por isso maiores, possuem um sistema de defesa mais eficiente.

A intensidade da parasitose nos machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado, não foi significativamente diferente.

Relativamente à relação do sexo dos hospedeiros com a intensidade da parasitose também não se encontrou qualquer referência na bibliografia consultada.

O âmbito da realização deste estudo não nos permite concluir quais os factos que determinam os valores de prevalência e intensidade obtidos. No entanto, parece-nos lógico afirmar, que o regime alimentar dos hospedeiros e a acessibilidade aos hospedeiros intermediários parasitados poderá determinar os valores de prevalência e intensidade.

Foram utilizados dois métodos de pesquisa para detecção de larvas enquistadas na musculatura. Nos dois métodos os resultados foram negativos. Assim, não podemos comparar a sua eficácia.

Os nossos resultados estão de acordo com os observados por Carvalho Varela & Cunha Ferreira (1984) no mesmo hospedeiro. Também estes autores não detectaram quaisquer formas larvares de ANISAKIDAE na musculatura de *Trachurus trachurus*. No entanto, Sanmartín *et al.* (1994) utilizando uma solução de digestão semelhante à nossa, detectou prevalências superiores a 20% de larvas do género *Anisakis* e de 38% de larvas de *Hysterothylacium* na musculatura perivisceral de *Trachurus trachurus*.

Bueno (1992 *in* Blanco, 1998), refere valores de prevalência superiores a 30% de larvas encontradas na musculatura de bacalhau, besugo e pescada.

O facto de não terem sido encontradas larvas, por nenhum dos métodos utilizados, pode levantar algumas questões. O peixe por nós examinado, adquirido num mercado da cidade do Porto, encontrava-se sempre fresco. Provavelmente não decorreu tempo suficiente para que as larvas migrassem das vísceras para a musculatura.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados observados parece-nos poder retirar as seguintes conclusões relativamente à parasitose provocada por *Kudoa* em *Trachurus trachurus*:

1. *Kudoa* foi identificado pela primeira vez em *Tachurus trachurus* em Portugal.
2. Verificou-se a ocorrência de uma espécie ao longo de todo o ano e o aparecimento de uma outra espécie apenas no mês de Maio.
3. A prevalência da parasitose por *Kudoa* sp. (84,7%) foi bastante elevada ao longo do período de amostragem.
4. A ocorrência do parasita é independente do tamanho do hospedeiro.
5. A prevalência da parasitose nos indivíduos de sexo indiferenciado é mais elevada que nas fêmeas e nos machos.
6. Os valores de intensidade da parasitose foram significativamente diferentes ao longo do ano e estão possivelmente relacionados com o tamanho do hospedeiro.
7. Embora não exista uma diferença significativa para os valores de intensidade encontrados nas diferentes classes de tamanho, os exemplares maiores têm geralmente intensidades superiores.
8. A intensidade da parasitose foi independente do sexo e estado de maturação do hospedeiro.
9. A parasitose provoca um amolecimento muscular, muito provavelmente devido à actuação de enzimas proteolíticas produzidas pelo parasita, diminuindo, por este motivo, o valor comercial do pescado.

10. O método de digestão, por nós utilizado, não foi eficaz. A solução de pancreatina utilizada provavelmente destrói parcial ou totalmente os esporos de *Kudoa* sp..

No que diz respeito à parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE, baseados nos nossos resultados, parece-nos poder afirmar que:

1. *Trachurus trachurus* encontra-se parasitado por larvas pertencentes a dois géneros de ANISAKIDAE: *Anisakis* e *Hysterothylacium*.

2. A prevalência da parasitose provocada por larvas de ANISAKIDAE foi de 38,3%. A prevalência de infecção por larvas de *Anisakis* (18,7%) foi ligeiramente inferior à observada para *Hysterothylacium* (22,0%) sendo estes valores de prevalência bastante inferiores ao anteriormente descrito para este hospedeiro.

3. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas na ocorrência de larvas nas diferentes classes de tamanho do hospedeiro verificaram-se valores de prevalência mais elevados nas classes de tamanho maiores.

4. A ocorrência do parasita foi significativamente diferente para os machos, fêmeas e indivíduos de sexo indiferenciado.

5. Os valores de intensidade média observados, quer para *Anisakis* quer para *Hysterothylacium*, foram bastante inferiores aos anteriormente descritos para este hospedeiro.

6. Embora não tenha sido observada uma diferença significativa para os valores de intensidade encontrados nas diferentes classes de tamanho, os exemplares de maiores dimensões apresentaram geralmente intensidades mais elevadas.

7. A intensidade da parasitose foi independente do sexo e estado de maturação do hospedeiro.

8. Contrariamente às observações de alguns autores, não foram detectadas larvas de ANISAKIDAE a parasitar o músculo de *Trachurus trachurus*.

Parece-nos ser possível concluir que a presença do MYXOSPOREA *Kudoa* sp. bem como de larvas de nemátodes ANISAKIDAE no carapau pode ter um aspecto negativo na sua comercialização, assim como poderá colocar em risco a saúde pública.

7. ANEXO

Tabela 7.1- Amostra referente ao mês de Outubro.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	24,1	125,8	ind.	+++	0	-
2	25,5	146,8	ind.	+	0	-
3	18,2	54,0	ind.	+	0	-
4	18,3	50,9	ind.	++	0	-
5	19,0	60,0	ind.	++	0	-
6	18,6	56,3	ind.	+	0	-
7	17,9	46,6	ind.	++	0	-
8	19,4	65,0	ind.	+	0	-
9	18,7	53,9	ind.	+	0	-
10	19,6	70,2	ind.	++	0	-
11	17,3	49,8	ind.	0	0	-
12	19,8	66,7	ind.	+	0	-
13	20,0	70,3	ind.	+	0	-

Tabela 7.2- Amostra referente ao mês de Novembro.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	19,3	60,5	ind.	+	0	-
2	19,8	64,4	ind.	+	0	-
3	18,6	59,8	ind.	+	0	-
4	18,6	58,5	ind.	+	0	-
5	19,1	60,2	ind.	0	0	-
6	18,6	59,9	ind.	++	0	-
7	18,6	61,3	ind.	+	1	<i>Anisakis</i>
8	19,1	59,9	ind.	0	0	-
9	19,7	64,4	ind.	+	0	-
10	18,2	60,3	ind.	+	0	-
11	20,6	79,3	ind.	+++	0	-
12	20,5	77,7	ind.	+	0	-
13	20,1	74,3	ind.	++	0	-
14	18,0	50,0	ind.	+	0	-
15	21,2	81,2	ind.	+	0	-
16	21,1	84,8	ind.	+	0	-
17	20,2	80,3	ind.	+	0	-
18	21,2	83,9	ind.	+	0	-
19	20,6	78,9	ind.	+	0	-
20	22,1	88,3	ind.	+	0	-

Tabela 7.3- Amostra referente ao mês de Dezembro.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	23,4	98,3	ind.	++	1	<i>Hysterothylacium</i>
2	20,5	67,2	ind.	++	0	-
3	24,3	112,6	ind.	+	0	-
4	26,1	141,7	F	+	2	<i>Hysterothylacium</i>
5	23,7	104,0	ind.	+	2	1- <i>Hysterothylacium</i> 1- <i>Anisakis</i>
6	25,4	131,3	ind.	+	1	<i>Anisakis</i>
7	24,4	118,9	F	+	0	-
8	24,5	114,0	F	+	0	-
9	26,1	133,2	F	+	1	<i>Anisakis</i>
10	24,5	120,3	F	+++	3	<i>Hysterothylacium</i>
11	24,6	113,4	F	+	7	<i>Hysterothylacium</i>
12	24,9	115,5	F	+	0	-
13	21,6	70,8	F	+	0	-
14	26,2	142,2	F	+	0	-
15	24,1	116,5	M	0	0	-
16	25,8	134,1	M	0	0	-

Tabela 7.4- Amostra referente ao mês de Janeiro.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	23,0	96,2	ind.	+	6	<i>Anisakis</i>
2	23,6	101,9	ind.	++	0	-
3	25,2	120,5	F	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
4	25,4	130,1	F	+	2	<i>Hysterothylacium</i>
5	21,7	86,7	ind.	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
6	21,0	79,1	ind.	+	0	-
7	23,7	101,6	ind.	+	7	<i>Hysterothylacium</i>
8	21,6	81,6	ind.	++	0	-
9	21,7	88,6	ind.	+	0	-
10	24,1	103,0	ind.	+	0	-
11	25,5	125,7	ind.	+	0	-
12	26,1	117,7	ind.	+	0	-
13	25,8	145,0	ind.	+	0	-
14	27,1	140,3	ind.	++	0	-
15	21,4	82,1	F	+	0	-
16	23,5	99,7	ind.	++	0	-
17	21,1	79,5	F	+	0	-
18	25,3	129,5	ind.	+	0	-
19	22,3	93,3	F	+	0	-
20	24,2	103,4	F	++	0	-

Tabela 7.5- Amostra referente ao mês de Fevereiro.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	21,2	82,4	ind.	+	0	-
2	21,3	81,9	F	+	1	Anisakis
3	20,6	70,7	F	+	3	<i>Hysterothylacium</i>
4	22,1	73,8	ind.	+	0	-
5	22,6	82,2	F	+	0	-
6	20,8	68,6	F	++	1	Anisakis
7	21,7	84,4	ind.	+	0	-
8	20,9	67,9	ind.	+	1	Anisakis
9	21,6	80,6	M	+	0	-
10	20,7	70,7	ind.	+	2	1- Anisakis 1- <i>Hysterothylacium</i>
11	26,5	149,5	F	0	2	<i>Hysterothylacium</i>
12	27,6	166,5	F	0	0	-
13	28,1	188,3	F	+	1	Anisakis
14	26,8	142,8	M	+	0	-
15	29,2	211,3	F	+	2	Anisakis
16	28,2	156,6	F	++	1	Anisakis
17	29,4	193,3	M	+	2	Anisakis
18	29,2	191,5	M	+	1	Anisakis
19	27,7	173,1	M	+	0	-
20	27,3	161,2	M	0	0	-

Tabela 7.6- Amostra referente ao mês de Março.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	25,1	122,4	M	+	0	-
2	26,8	135,0	M	+++	1	<i>Anisakis</i>
3	26,4	116,1	F	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
4	24,8	121,9	M	+	1	<i>Anisakis</i>
5	27,3	153,0	M	++	0	-
6	25,1	130,0	M	0	1	<i>Anisakis</i>
7	27,7	152,8	M	0	0	-
8	25,1	116,4	M	++	0	-
9	24,7	121,0	M	+	0	-
10	25,4	123,1	M	++	2	<i>Anisakis</i>
11	25,6	142,3	F	++	0	-
12	21,9	122,1	F	+	0	-
13	18,4	102,7	M	++	1	<i>Hysterothylacium</i>
14	17,8	98,5	M	++	0	-
15	24,7	102,7	F	+	0	-
16	23,6	98,1	M	0	0	-
17	29,2	121,3	ind.	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
18	29,3	123,6	F	++	0	-
19	29,1	124,1	M	++	0	-
20	21,2	95,4	F	+++	1	<i>Anisakis</i>

Tabela 7.7- Amostra referente ao mês de Abril.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	22,4	82,9	M	+	2	1- <i>Hysterothylacium</i> 1- Não identificado
2	24,8	127,6	F	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
3	23,3	115,8	F	+	5	<i>Hysterothylacium</i>
4	23,5	96,7	M	+	7	6- <i>Hysterothylacium</i> 1- <i>Anisakis</i>
5	25,5	128,6	F	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
6	23,1	90,8	F	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
7	24,7	128,4	F	+++	3	<i>Hysterothylacium</i>
8	24,2	111,0	M	++	11	9- <i>Anisakis</i> 1- <i>Hysterothylacium</i> 1- Não identificado
9	26,2	146,5	F	++	0	-
10	25,6	126,2	F	+++	10	<i>Anisakis</i>
11	25,7	142,9	F	+++	1	<i>Anisakis</i>
12	25,1	135,5	M	+	0	-
13	23,0	106,0	M	+++	0	-
14	25,6	145,5	M	+	0	-
15	25,4	134,6	F	++	0	-
16	29,3	169,8	F	+	1	<i>Anisakis</i>
17	26,5	139,1	M	+++	2	<i>Hysterothylacium</i>
18	29,5	180,7	M	0	4	3- <i>Anisakis</i> 1- <i>Hysterothylacium</i> 2- <i>Hysterothylacium</i> 1- <i>Anisakis</i>
19	27,6	158,2	M	+	3	2- <i>Hysterothylacium</i> 1- <i>Anisakis</i>
20	26,1	137,0	M	++	0	-

Tabela 7.8- Amostra referente ao mês de Maio.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	24,1	121,6	M	++	1	<i>Hysterothylacium</i>
2	22,8	101,8	M	+	0	-
3	22,9	112,5	M	+	1	<i>Anisakis</i>
4	24,6	120,0	M	+++	2	<i>Hysterothylacium</i>
5	24,6	120,0	M	0	2	<i>Hysterothylacium</i>
6	25,1	126,5	M	++	0	-
7	23,7	116,0	M	0	1	<i>Anisakis</i>
8	24,5	117,2	F	0	0	-
9	25,4	138,3	F	0	0	-
10	23,7	121,2	M	+	0	-
11	24,2	114,7	M	+	0	-
12	23,8	133,3	F	0	5	<i>Anisakis</i>
13	25,1	137,3	M	+	1	<i>Anisakis</i>
14	23,2	117,2	F	+	0	-
15	23,5	121,7	F	0	1	<i>Anisakis</i>
16	25,5	144,3	M	+	1	<i>Anisakis</i>
17	26,2	171,0	F	+	0	-
18	23,6	136,1	M	+	0	-
19	25,3	139,2	F	++	1	<i>Anisakis</i>
20	23,4	119,8	F	+	2	<i>Anisakis</i>

Tabela 7.9- Amostra referente ao mês de Junho.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	16,4	40,7	M	+	0	-
2	15,1	36,3	F	+	0	-
3	17,2	53,7	M	+	0	-
4	16,7	46,6	M	+	0	-
5	15,3	32,6	F	0	1	<i>Hysterothylacium</i>
6	16,7	41,0	M	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
7	17,1	48,2	F	0	0	-
8	19,4	62,7	F	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
9	16,3	38,8	M	+	0	-
10	16,5	39,2	F	+	0	-
11	17,3	49,4	M	0	0	-
12	16,8	46,1	M	+	0	-
13	16,0	41,4	F	0	0	-
14	16,2	41,0	M	0	0	-
15	15,8	37,4	M	+	0	-
16	15,2	31,5	M	++	0	-
17	17,1	52,1	F	+	0	-
18	16,3	39,8	M	+	1	<i>Anisakis</i>
19	19,6	63,4	F	+	0	-
20	17,0	52,8	F	+	0	-

Tabela 7.10- Amostra referente ao mês de Julho.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	16,7	42,6	M	+	2	<i>Hysterothylacium</i>
2	16,2	36,3	M	0	0	-
3	16,2	36,8	M	+	1	Não identificado
4	16,7	43,8	M	+	0	-
5	16,4	40,9	M	++	0	-
6	16,8	43,9	M	+	0	-
7	16,5	39,6	M	+	0	-
8	16,3	39,6	M	++	0	-
9	16,6	38,0	M	+	0	-
10	16,4	38,4	M	0	0	-
11	15,9	37,0	M	+	3	1- <i>Hysterothylacium</i> 2- Não identificados
12	16,3	40,0	F	+	0	-
13	16,5	38,4	M	++	0	-
14	16,3	36,3	M	0	0	-
15	16,7	39,9	F	+	0	-
16	16,4	39,0	M	++	1	<i>Hysterothylacium</i>
17	15,6	37,9	M	+	0	-
18	16,8	39,6	F	+	0	-
19	17,1	42,5	F	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
20	16,2	38,2	M	++	0	-

Tabela 7.11 - Amostra referente ao mês de Agosto.

Exemplar	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Presença de <i>Kudoa</i> sp.	Larvas de ANISAKIDAE	
					Nº de larvas	Gêneros identificados
1	16,9	41,2	M	+	2	<i>Hysterothylacium</i>
2	17,4	51,0	M	+	3	2- <i>Hysterothylacium</i> 1- Não identificado
3	16,8	47,1	M	++	3	<i>Hysterothylacium</i>
4	16,5	40,8	M	0	1	<i>Hysterothylacium</i>
5	17,0	44,2	M	0	4	<i>Hysterothylacium</i>
6	26,7	165,6	F	+	0	-
7	27,9	176,9	M	0	1	<i>Anisakis</i>
8	18,3	55,6	M	0	1	<i>Hysterothylacium</i>
9	18,2	55,5	M	0	1	<i>Hysterothylacium</i>
10	18,6	59,2	M	+	3	<i>Hysterothylacium</i>
11	17,7	53,7	M	++	0	-
12	18,1	58,8	ind.	+	0	-
13	18,2	58,9	M	+	1	<i>Hysterothylacium</i>
14	18,6	62,9	M	+	2	<i>Hysterothylacium</i>
15	17,5	58,6	ind.	+	0	-
16	29,5	231,2	M	+	0	-
17	29,7	228,7	F	0	2	<i>Anisakis</i>
18	29,9	234,7	F	++	1	<i>Anisakis</i>
19	29,0	236,3	M	+	7	<i>Anisakis</i>
20	28,5	203,1	F	++	0	-

8. BIBLIOGRAFIA

- Barja, J. L. & Toranzo, A. E., 1993. Myoliquefaction post-mortem caused by the Myxosporean *Kudoa thyrsites* in Atlantic Salmon in Spain. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 13 (3): 86-88.
- Blanco, R. I., 1998. *Anisakuíosis y su diagnóstico*. Departamento de Microbiología y parasitología. Lab. de parasitología. Ed. de Florencio M. Ubeira. Universidade de Santiago de Compostela, 144 pp.
- Bunton, T. E., & Poynton, S. L., 1991. *Kudoa* sp. (Myxosporea, Multivalvulida) infection in juvenil white perch, *Morone americana* (Gmelin): histopathology and spore morphology. *J. Fish Diseases*, 14: 589-594.
- Carvalho Varela, M. & Cunha Ferreira, V., 1984. Larva Migrans Visceral por *Anisakis* e outros Ascarídeos: Helmintozoonoses potenciais por consumo de peixes marinhos em Portugal. *Rev. Port. Ciênc. Veter.*, LXXIX: 299-309.
- Cruz e Silva, M. P. & Grazina Freitas, M. S., 1984. *Kudoa* sp. em músculo de pescada (*Merluccius productus* (L.)). *Rep. Trab. L. N. I. V.*, XVI: 151-154.
- Davies, A. J., Andrews, T., Upton, N. P. D. & Matthews, R. A., 1998. *Kudoa* as a contributory cause of muscle necrosis in gobies. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 18 (2): 62-65.
- Egusa, S. & Nakajima, K., 1980. *Kudoa amamiensis* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida) Found in Cultured Yellowtails and Wild Damsel-fishes from Amami - Ohshima and Okinawa, Japan. *Bull. Janan. Soc. Sci. Fish.*, 46 (10): 1193-1198.

Eiras, J. C., 1994. *Elementos de Ictioparasitologia*. F. Eng. António de Almeida, 399 pp.

Gilman, M., 1995. Estudos sobre a parasitose de *Sardina pilchardus* (Walb., 1792) pelo Myxosporea *Kudoa* sp. ao longo da costa de Portugal. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 80 pp.

Grabda, J., 1976. The occurrence of Anisakid nematode larvae in Baltic cod (*Gadus morhua callarias* L.) and the dynamics of their invasion. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, Vol VI, Fasc. I.

Grabda, J., 1991. *Marine Fish Parasitology. An Outline*. PWN- Polish Scientific Publishers, Wanzawa. 306 pp.

Harrell, L. W. & Scott, T. M., 1985. *Kudoa thyrstitis* (Gilchrist) (Myxosporea: Multivalvulida) in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.. *J. of Fish Diseases*, 8: 329-332.

Holliman, A., 1994. Sea trout, *Salmo trutta*, a new host for the myxosporean *Kudoa thyrstitis* (Gilchrist) ?. *Veterinary record*, 134: 524-525.

Kabata, Z. & Whitaker, D. J., 1981. Two species of *Kudoa* (Myxosporea: Multivalvulida) parasitic in the flesh of *Merluccius productus* (Ayres, 1855) (Pisces: Teleostei) in the Canadian Pacific. *Can. J. Zool.*, 59:2085-2091.

Kabata, Z. & Whitaker, D. J., 1985. Parasites as a limiting factor in exploitation Pacific whiting, *Merluccius productus*. *Mar. Fish. Rev.*, 47(2): 55-59.

- Kabata, Z. & Whitaker, D. J., 1986. Distribution of two species of *Kudoa* (Myxozoa: Multivalvulida), in the offshore population of the Pacific hake, *Merluccius productus* (Ayres, 1855). *Can. J. Zool.*, 64: 2103-2110.
- Kabata, Z. & Whitaker, D. J., 1989. *Kudoa thyrsites* (Gilchrist, 1924) (Myxozoa) in the cardiac muscle of Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.) and steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Zool.*, 67:341-342.
- Lang, T., Weber, W., Neudecker, T. & Kuhl Morgen-Hille, G., 1989. *Anisakis* sp. in herring of the Baltic Sea. In: *Nematode problems in North Atlantic fish*. Ed. by H. Moller. Report from a Workshop in Kiel: 46.
- Langdon, J. S., 1990. Observation on new *Myxobolus* species and *Kudoa* species infecting the nervous system of Australian fishes. *J. Appl. Ichthyol.*, 6:107-116.
- Langdon, J. S., 1991. Myoliquefaction post-mortem ("milky flesh") due to *Kudoa thyrsites* (Gilchrist) (Myxosporea: Multivalvulida) in mahi mahi, *Coryphaena hippurus*. L.. *J. Fish Diseases*, 14: 45-54.
- Langdon, J. S., Thorne, T. & Fletcher, W. J., 1992. Reservoir hosts and new clupeoid host records for the myoliquefactive myxosporean parasite *Kudoa thyrsites* (Gilchrist). *J. Fish Diseases*, 15: 459-471.
- Lom, J., Dyková, I. & Lhotáková, S., 1983. *Kudoa lunata* n.sp. (Myxozoa, Myxosporea) and notes on the Nature of Muscular "Cysts" of the Genus *Kudoa*. *Arch. Protistenk.*, 127: 387-397.
- Lom, J. & Dyková, I., 1992. Protozoan Parasites of Fishes. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, Vol. 26. Elsevier Science Publishers, 315 pp.

- Menezes, J., Vigário, A. M., Moledo, A. & Pita G., 1989. Recurso sardinha: Parasitose com incidência económica. *Pesca e Navegação*, 96: 22-24.
- Morado, J. F. & Sparks, A., 1986. Observations on the host-parasite relations of the Pacific whiting, *Merluccius productus* (Ayres), and two myxosporea parasites, *Kudoa thyrstitis* (Gilchrist, 1924) and *K. paniformis* Kabata & Whitaker, 1981. *J. Fish Diseases*, 9: 445-455.
- Moravec, F., 1994. *Parasitic Nematodes of Freshwater Fishes of Europe*. Academia, Praha, 473 pp.
- Nagasawa, K., 1989. The Life Cycle of *Anisakis simplex*. In: *Nematode problems in North Atlantic fish*. Ed. by H. Moller. Report from a Workshop in Kiel: 3-8.
- Nakajima, K. & Egusa, S., 1978. *Kudoa pericardialis* n. sp. (Myxosporidea: Chlonomyxidea) from Cultured Yellowtail, *Seriola quinqueradiata* Temminck et Schlegel. *B. Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44 (2):117-120.
- Narasimhamurti, C. C. & Kalavati, C., 1979a. *Kudoa sphyraeni* n. sp. (Myxosporidia: Protozoa) parasitic in muscles of the gut of the marine fish, *Sphyraena jello* Cuv.. *Proc. Indian Acad. sci*, vol. 88 B, part I, number 4: 265-268.
- Narasimhamurti, C. C. & Kalavati, C., 1979b. *Kudoa tetraspora* n. sp. (Myxosporidia: Protozoa) parasitic in the brain tissue of *Mugil cephalus*. *Proc. Indian Acad. sci*, vol. 88 B, part I, number 1: 85-89.
- Obiekezie, A. I., Moller, H. & Anders, K., 1987. *Kudoa* sp. infection in the musculature of wild tongue sole, *Cynoglossus senegalensis* (Kaup, 1858) from the coast of West Africa. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 7(2): 38-40.

- Ortueta Bilbao, S., Paz Gestoso, S., Freire Santos, F. & Iglesias Blanco, R., Santamarina Fernández, M.T., 1999. Anisakiosis Gástrica en Rape (*Lophius Piscatorius*). VI Congreso Ibérico de Parasitología. Córdoba.
- Paperna, I., Steinitz, H., 1982. *Kudoa* infection in the glomeruli, mesentery and peritoneum of cultured *Sparus aurata* L. . *J. Fish Diseases*, 5: 539-543.
- Pippy, J. H. C. & Banning, P. Van., 1975. Identification of *Anisakis* Larva (I) as *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809, det. Krabbe 1878) (Nematoda: Ascaridata). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. Vol. 32 (1): 29-32.
- Sanmartín, M. L., Quintero, P., Iglesias, R., Santamarina, M.T., Leiro, J. & Ubeira, F. M., 1994. *Nematodos parasitos en peces de las Costas Gallegas*. Ed. Díaz de Santos, S. A., 80 pp.
- Siegel, S. S. & Castellan Jr., N. J. 1989. *Non parametric Statistics for the behavioral sciences*. 2nd ed. McGraw-Hill International Editions. 399 pp.
- Smith, J. W., 1983. 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.*, 57:167-177.
- St-Hilaire, S., Hill, M., Kent, M. L., Whitaker, D. J. & Ribble, C., 1997. A comparative study of muscle texture and intensity of *Kudoa thyrsites* infection in farm-reared Atlantic salmon *Salmo salar* on the Pacific coast of Canada. *Dis. Aquat. Org.*, vol. 31: 221-225.
- Stehr, C., 1986. Sporogenesis of the myxosporean *Kudoa paniformis* Kabata & Whitaker, 1982 infecting the muscle of the Pacific whiting, *Merluccius productus* (Ayres). *J. Fish Diseases*, 9: 493-504.

- Stehr, C., & Whitaker, D. J., 1986. Host-parasite interaction of the myxosporeans *Kudoa paniformis* Kabata & Whitaker, 1981 and *Kudoa thyrsites* (Gilchrist, 1924) in the muscle of the Pacific whiting, *Merluccius productus* (Ayres): an ultrastructural study. *J. Fish Diseases*, 9: 505-517.
- Swearer S. E. & Robertson, D. R., 1999. Life History, Pathology, and Description of *Kudoa ovivora* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea): an ovarian parasite of Caribbean Labroid Fishes. *Int. J. Parasitol.*, 85 (2), p. 337-353.
- Valiñas, B., Lorenzo, S., García-Villaescusa, R., Barros, X., Sanmartín, M. L. & Ubeira, F. M., 1999. Estudio Epidemiológico de la Alergia causada por *Anisakis simplex* en la Población Gallega. VI Congreso Ibérico de Parasitología. Córdoba.
- Whitaker, D. J., 1986. Intensity of infection by two species of the Myxosporean parasite *Kudoa* and its distribution in six areas of the flesh of Pacific Heke (*Merluccius productus*). *Canadian Data Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, n. 598: 23p.
- Whitaker, D. J. & Kabata, Z., 1987. Early infection of *Merluccius productus* (Ayres) (Pisces: Teleostei) with *Kudoa thyrsites* (Gilchrist) (Myxozoa). *Can J. Zool.* 65:936-939.
- Whitehead, P. J. P., Bauchot, M. L., Hureau, J. C., Nielson, J. & Tortonese, E., 1986. *Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean*. Vol.II. UNESCO, 517-1007.
- Wolf, K. & Markiw, M. E., 1984. Biology Contravenes Taxonomy in the Myxozoa: New Discoveries Show Alternation of Invertebrate and Vertebrate Hosts. *Science*, 255:1449-1452.

Wootten, R. & Smith, J. W., 1975. Observational and experimental studies on the acquisition of *Anisakis* sp. larvae (Nematoda: Ascaridida) by trout in fresh water. *Int. J. Parasitol.*, 5:373-378.