

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM HIGIENE VETERINÁRIA E  
PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL**

**MICHELLE CRISTIE GONÇALVES DA FONSECA**

**TAXONOMIA INTEGRATIVA E ASPECTO HIGIÊNICO-SANITÁRIO  
DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES TELEÓSTEOS  
MARINHOS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

**UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
FLUMINENSE**

**NITERÓI  
2016**

MICHELLE CRISTIE GONÇALVES DA FONSECA

**TAXONOMIA INTEGRATIVA E ASPECTO HIGIÊNICO-SANITÁRIO DE  
HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES TELEÓSTEOS MARINHOS DO ESTADO  
DO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Carmona de São Clemente

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Knoff

Niterói

2016

**MICHELLE CRISTIE GONÇALVES DA FONSECA**

**TAXONOMIA INTEGRATIVA E ASPECTO HIGIÊNICO-SANITÁRIO DE  
HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES TELEÓSTEOS MARINHOS DO ESTADO  
DO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Aprovada em      de      2016.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Professor Dr. Sergio Carmona de São Clemente  
Universidade Federal Fluminense

---

Professor Dr. Marcelo Knoff  
Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

---

Professora Dra. Danuza Pinheiro Bastos Garcia de Mattos  
Universidade Federal Fluminense

---

Professora Dra. Delir Corrêa Gomes Maués da Serra Freire  
Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

---

Professora Dra. Simone Chincicz Cohen  
Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

Niterói, 2016

A minha querida mãe Célia “minha vida” por ser meu leme, meu guia, meu chão. Por todo seu amor, incentivo, apoio, dedicação e presença constante em minha vida. Com todo o meu amor, carinho, respeito e admiração hoje e sempre.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado entendimento para discernir tudo o que me foi ensinado. Por ter me concedido vida, saúde e inteligência para eu chegar à conclusão deste meu trabalho.

Em particular à minha mãe, por sua força, determinação e presença constante em minha vida. Por sua torcida organizada que não me permite cansar ou muito menos desistir da busca pelo saber.

À minha irmã Thaisa Christine e aos meus familiares por terem acreditado em mim, me apoiado e serem grandes amigos ao longo desta jornada.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Sérgio Carmona de São Clemente e Prof. Dr. Marcelo Knoff que mais uma vez dedicaram seus conhecimentos, seriedade, experiência, amizade, apoio e contribuição imprescindíveis para me orientar e esclarecer em cada etapa deste meu novo conhecimento.

A Profa. Dra. Delir Corrêa Gomes Maués da Serra Freire, pelas horas dedicadas a transmitir seus conhecimentos e experiências para a formação de novos profissionais.

A Profa. Dra. Simone Chincz Cohen e Profa. Dra. Danuza Pinheiro Bastos Garcia de Mattos pelo privilégio de tê-las como banca examinadora e participação na realização da minha meta profissional.

Aos Professores da Pós-Graduação da Universidade Federal Fluminense (UFF) e demais funcionários, por tudo o que me ensinaram, pelas preciosas horas que a mim dedicaram.

Ao Prof. Dr. Eduardo José Lopes Torres do Laboratório de Helminologia Romero Lascasas Porto da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) e Sr. Isaac Albert Mallet do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura da Universidade

Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) pela valiosa assistência na obtenção das fotomicrografias em MEV.

A Profa. Dra. Alena Mayo Iñiguez e Profa. M.Sc. Maria Isabel N. Di Azevedo do LABTRIP, Instituto Oswaldo Cruz, IOC, Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, pela participação de grande valia na realização da análise molecular e filogenia dos helmintos.

Ao aluno e amigo Vinicius Machado Costa e Silva (*in memoriam*) pela valiosa colaboração, amizade e companheirismo. Pelos bons momentos que ficarão guardados para sempre em minha memória e meu coração.

A Srta. Heloisa Maria Nogueira Diniz e Sr. Ricardo Baptista Schmidt do Serviço de Produção e Tratamento de Imagens do Instituto Oswaldo Cruz, pelo processamento das figuras.

As amigas M.Sc. Bianca Porto Kuraien, M.Sc. Gabrielle Fontenelle, M.Sc. Janaina Ribeiro, Profa. M.Sc. Mariana Lopes Leão, e aos tantos outros amigos da UFF por sua amizade, incentivo e companheirismo que dividimos ao longo destes anos.

As amigas Profa. Adriana Rodrigues Mainenti, Profa. Dra. Daniela de Almeida Lopes, Profa. Juliane Nunes Bernardo da Silva, e aos tantos outros colegas do Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz, IOC, Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, pelos bons momentos de alegria, pela participação de todos na divisão de conhecimentos e ajuda mútua.

A Srta. Vanda Amorim, Sra. Sonia Teixeira e Sr. Elias do Nascimento pela participação de grande valia na realização deste trabalho.

Ao Sr. Drausio Ferreira, Srta. Mariana Oliveira e Sr. André Veiga, secretários da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária, UFF, pela amizade e colaboração.

Ao Sr. Marcelo dos Santos Pereira Junior por sua assistência na coleta dos linguados.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de pesquisa que possibilitou minha dedicação exclusiva ao referido Programa de Pós-Graduação.

A todas as pessoas que de uma forma ou outra contribuíram para o sucesso desta minha realização. A todos fica o meu respeito e reconhecimento.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King



## RESUMO

A presença de parasitos no pescado tem sido motivo de preocupação para pesquisadores do mundo inteiro, devido aos enormes prejuízos econômicos para a indústria pesqueira, principalmente pelas espécies zoonóticas que conferem risco para a saúde pública e não em menor importância por aquelas que apresentam aspecto repugnante ao consumidor. Este trabalho foi dividido em três estudos, no primeiro, o objetivo foi identificar larvas de Anisakidae devido a sua importância higiênico-sanitária e na saúde pública, cujos parasitos infectam espécimes do peixe sapo-pescador, *Lophius gastrophysus*, obtidos em mercados dos municípios de Cabo Frio, Niterói, Duque de Caxias e Rio de Janeiro. Para tal, foram investigados 87 espécimes de *L. gastrophysus*. Desses, 17 (19,5%) estavam parasitados por larvas de anisakídeos. Estes peixes estavam parasitados com as espécies: *Anisakis simplex*, *Hysterothylacium* sp. e *Raphidascaris* sp., que apresentaram prevalências de 1,14, 12,6 e 12,6%, intensidade e intensidade média de infecção de 1, 2,81 e 10,5 e abundância média de 0,01, 0,35 e 1,33, respectivamente. Os sítios de infecção observados foram: o estômago, serosas do estômago e intestino e cavidade abdominal. Este foi o primeiro registro de *A. simplex*, *Hysterothylacium* sp. e *Raphidascaris* sp. nesta espécie de peixe. No segundo estudo, objetivou-se investigar as larvas de nematoides Anisakidae e Raphidascarididae, através do estudo integrativo, morfológico, morfométrico e genético, que infectam os linguados *Paralichthys patagonicus* (Pp) e *Xystreurys rasile* (Xr), comercializados no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, e assim, identificar as espécies de nematoides, relacionando seus índices parasitários de prevalência (P), intensidade média (IM), abundância média (AM), amplitude de infecção (AI) e sítios de infecção (SI), juntamente com a sua importância sanitária. Para esse estudo foram necropsiados 66 espécimes de linguados, sendo 36 espécimes de *P. patagonicus* e 30 de *X. rasile*, que estavam parasitados por um total de 5915 larvas de terceiro estágio (L<sub>3</sub>) de nematoides, sendo 5666 L<sub>3</sub> coletadas de *P. patagonicus* e 249 de *X. rasile*, pertencentes as espécies *Anisakis typica* com P = 11,1%, IM = 1.25, AM = 0.13, AI = 1-2 em Pp; P = 16.6%, IM = 1.8, AM = 0.3, RI = 1-3 em Xr; *Terranova* sp. com P = 33.3%, IM = 2.66, AM = 0.88, AI = 1-11 em Pp; P = 10%, IM = 1, AM = 0.1 em Xr; *Contraecaecum* sp. com P = 8.3%, IM = 1.66, AM = 0.13, RI = 1-3 em Pp; P = 13.3%, IM = 1.33, AM = 0.13, AI = 1-2 em Xr; *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* com P = 100%, IM = 154.2, AM = 154.2, AI = 1-859 em Pp; P = 93.3%, IM = 7.21, AM = 6.73, AI = 1-17 em Xr; e *Raphidascaris* sp. com P = 38.8%, IM = 5.14, AM = 2, AI = 1-21 em Pp; P = 33.3%, IM = 3.1, AM = 1.03, AR = 1-8 em Xr. A identificação taxonômica foi baseada nos caracteres morfológicos e morfométricos, e a análise genética foi usada para *A. typica* e *H. deardorffoverstreetorum*. A caracterização genética confirmou a identificação dos espécimes das espécies de *Anisakis* e *Hysterothylacium*, usando ambos os alvos moleculares ITS e *cox2*, sendo este o primeiro registro de *A. typica*, *H. deardorffoverstreetorum* e *Raphidascaris* sp. parasitando esses linguados. O terceiro estudo teve como objetivo identificar morfológica e morfometricamente e geneticamente as espécies de Acanthocephala que parasitam *P. isosceles* (Pi), *P. patagonicus* (Pp) e *X. rasile* (Xr), apresentando seus índices parasitários de prevalência (P), intensidade (I), intensidade média (IM), abundância (A), abundância média (AM) e assim como as suas amplitudes de infecção (AI) e sítios de infecção. Os 120 espécimes de linguados estudados, 60 *P. isosceles*, 30 *P. patagonicus* e 30

*X. rasile*, foram coletados na costa do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Os resultados obtidos mostraram que os espécimes de *P. isosceles* e *P. patagonicus* estavam parasitados por acantocéfalos juvenis pertencentes as espécies *Serrasentis sagittifer* com P = 11.7%, IM = 1.4, AM = 0.17, AI = 1-4 em *Pi*; P = 26.7%, IM = 4.4, AM = 1.17, AI = 1-11 em *Pp*; *Bolbosoma turbinella* com P = 13.3 %, IM = 2.0, AM = 0.27, AI = 1-4 em *Pi*; P = 13.3 %, IM = 2.5, AM = 0.33, AI = 1-4 em *Pp*; *Corynosoma australe* com P = 5%, IM = 3.3, AM = 0.17, AI = 1-5 em *Pi*; P = 16.7 %, IM = 3.6, AM = 0.6, AI = 1-7 em *Pp*; P = 10 %, IM = 2, AM = 0.2, AI = 1-4 em *Xr*; e *C. cetaceum* com P = 1.7%, I = 1, A = 0.017 em *Pi*; P = 26.7 %, IM = 2.25, AM = 0.6, AI = 1-6 em *Pp*. Os espécimes de *X. rasile* estavam parasitados por *C. australe*, além disso, a caracterização genética confirmou a identificação dos espécimes pertencentes aos gêneros *Bolbosoma* e *Corynosoma*, como demonstrado pela análise filogenética, usando ambos os alvos moleculares ITS e *cox1*. Este é o primeiro registro para *S. sagittifer* e *B. turbinella* nos linguados das espécies *P. patagonicus* e *X. rasile*.

**Palavras-chave:** Nematoides. Acanthocephala. Importância higiênico-sanitária. Peixes teleósteos. Taxonomia integrativa. Brasil.

## ABSTRACT

The presence of parasites in fish has been of concern to researchers worldwide due to huge economic losses to the fishery industry, especially by zoonotic species that confer risk to public health and not less important for those with repugnant aspect to consumer. This work was divided into three studies, in the first, the aim was to identify Anisakidae larvae due to its hygienic-sanitary importance and public health, whose parasites infect fish specimens of the blackfin goosefish, *Lophius gastrophysus*, purchased from markets in the municipalities of Cabo Frio, Niterói, Duque de Caxias and Rio de Janeiro. For this, 87 specimens of *Lophius gastrophysus* were investigated. Seventeen fish (19.5%) were parasitized with larvae of anisakid nematodes. These fish were parasitized with the species: *Anisakis simplex*, *Hysterothylacium* sp. and *Raphidascaris* sp. with prevalence of 1.14, 12.6 and 12.6%, intensity and mean intensity of infection of 1, 2.81, 10.5 and mean abundance of 0.01, 0.35 and 1.33, respectively. The sites of infection were stomach, stomach and intestine serosas and abdominal cavity. This is the first record of *A. simplex*, *Hysterothylacium* sp. and *Raphidascaris* sp. for this species of fish. In the second study aimed to study anisakid and raphidascaridid nematodes larvae through integrative study, morphological, morphometric and genetic, which infect flounders *P. patagonicus* and *X. rasile* commercialized in the State of Rio de Janeiro, Brazil, and thus, identify the nematodes species, relating to their parasitary indices of prevalence, mean intensity, mean abundance, range of infection, and infection sites, along with their sanitary importance. For this study, were necropsied 66 flounders specimens, i.e. 36 specimens of *P. patagonicus* and 30 of *X. rasile*, that were parasitized by a total of 5915 third larvae nematode (L<sub>3</sub>), being 5666 collected of *P. patagonicus* and 249 of *X. rasile*, of *Anisakis typica* with P = 11.1%, MI = 1.25, MA = 0.13, RI = 1-2 in Pp; P = 16.6%, MI = 1.8, MA = 0.3, RI = 1-3 in Xr; *Terranova* sp. with P = 33.3%, MI = 2.66, MA = 0.88, RI = 1-11 in Pp; P = 10%, MI = 1, MA = 0.1 in Xr; *Contracaecum* sp. with P = 8.3%, MI = 1.66, MA = 0.13, RI = 1-3 in Pp; P = 13.3%, MI = 1.33, MA = 0.13, RI = 1-2 in Xr; *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* with P = 100%, MI = 154.2, MA = 154.2, RI = 1-859 in Pp; P = 93.3%, MI = 7.21, MA = 6.73, RI = 1-17 in Xr; and *Raphidascaris* sp. with P = 38.8%, MI = 5.14, MA = 2, RI = 1-21 (Pp); P = 33.3%, MI = 3.1, MA = 1.03, RI = 1-8 in Xr. The taxonomic identification was based on morphological and morphometrical characters, and genetic analyses was used for *A. typica* and *H. deardorffoverstreetorum*. The genetic characterization confirmed the species identification of *Anisakis* and *Hysterothylacium* specimens, using both ITS and *cox2* molecular targets. This is the first report of *A. typica*, *H. deardorffoverstreetorum*, and *Raphidascaris* sp. parasitising these flounder species. Considerations on the zoonotic potential of the parasites and their rules in sanitary inspection are presented. The third study aimed to identify morphologic, morphometrically and genetically Acanthocephala species parasitizing *P. isosceles*, *P. patagonicus* and *X. rasile*, presenting their parasitary indices of prevalence, intensity, mean intensity, abundance, mean abundance, range of infection, and their infection site. Hundred twenty specimens of flounder, i.e. 60 of *Paralichthys isosceles*, 30 of *P. patagonicus* and 30 of *X. rasile* were collected from the coast of State of Rio de Janeiro, Brazil. The results showed that the specimens of *P. isosceles* and *P. patagonicus* were parasitized with acanthocephalan juveniles of species *Serrasentis sagittifer* with P = 11.7%, MI = 1.4, MA = 0.17 RI = 1-4 in Pi; P = 26.7%, MI = 4.4, MA = 1.17, RI = 1-11

in *Pp*; *Bolbosoma turbinella* with P = 13.3 %, MI = 2.0, MA = 0.27, RI = 1-4 in *Pi*; P = 13.3 %, MI = 2.5, MA = 0.33, RI = 1-4 in *Pp*; *Corynosoma australe* with P = 5%, MI = 3.3, MA = 0.17, RI = 1-5 in *Pi*; P = 16.7 %, MI = 3.6, MA = 0.6, RI = 1-7 in *Pp*; P = 10 %, MI = 2, MA = 0.2, RI = 1-4 in *Xr* and *C. cetaceum* with P = 1.7%, I = 1, A = 0.017 in *Pi*; P = 26.7 %, MI = 2.25, MA = 0.6, RI = 1-6 in *Pp*. The specimens of *X. rasile* were parasitized with *C. australe*, besides this, the genetic characterization confirmed the species identification of the specimens belonging to the genera *Bolbosoma* and *Corynosoma*, as demonstrated by phylogenetic analysis using both ITS and *cox1* molecular targets. This is the first report of *S. sagittifer* and *B. turbinella* in the flounders *P. patagonicus* and *X. rasile*.

**Keywords:** Nematodes. Acanthocephala. Higienic-sanitary importance. Teleostean fish. Integrative taxonomy. Brazil.

## SUMÁRIO

**RESUMO, p. 9**

**ABSTRACT, p. 11**

**LISTA DE FIGURAS, p. 15**

**LISTA DE TABELAS, p. 19**

**1 INTRODUÇÃO, p. 21**

**2. REVISÃO DE LITERATURA, p. 23**

2.1 PESCADO, p. 23

2.2 PRODUÇÃO PESQUEIRA MUNDIAL E NO BRASIL, p. 24

2.3 CONSUMO E PRODUTOS DA PESCA NO BRASIL, p. 25

2.4 HOSPEDEIROS ESTUDADOS, p. 26

**2.4.1 *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915, p. 26**

**2.4.2 *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890, p. 27**

**2.4.3 *Paralichthys patagonicus* Jordan, 1889, p. 29**

**2.4.4 *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891), p. 30**

2.5 PARASITOLOGIA DO PESCADO, p. 31

**2.5.1 Nematoides Anisacidae e Raphidascarididae, p. 32**

2.5.1.1 Anisaciose e Anisacidose, p. 36

**2.5.2 Acantocephala, p. 38**

**2.5.3 Outros Helmintos em Teleósteos do Presente Estudo, p. 40**

2.6 HIPERSENSIBILIDADE E ALERGIAS RELACIONADAS AO CONSUMO DE PESCADO, p. 40

2.7 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE PARASITOS DE PESCADO, p. 42

2.8 MEDIDAS PREVENTIVAS CONTRA PARASITOSSES ASSOCIADAS AO CONSUMO DE PEIXES, p. 43

**3 DESENVOLVIMENTO, p. 45**

3.1 ARTIGO 1: ANISAKIDAE NEMATODES IN THE BLACKFIN GOOSEFISH, *Lophius gastrophysus* MIRANDA-RIBEIRO, 1915 PURCHASED IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL, p. 46

3.2 ARTIGO 2: INTEGRATE TAXONOMY OF ANISAKIDAE AND RAPHIDASCARIDIDAE NEMATODES OF *Paralichthys patagonicus* AND *Xystreurys rasile* (PISCES: TELEOSTEI) OF SANITARY IMPORTANCE IN THE SOUTH EASTERN BRAZIL MARINE ECOREGION, p. 52

3.3 ARTIGO 3: INTEGRATIVE TAXONOMY OF ACANTHOCEPHALANS PARASITIZING FLOUNDERS *Paralichthys isosceles*, *P. patagonicus* AND *Xystreurys rasile* (PISCES: TELEOSTEI) IN THE SOUTH EASTERN BRAZIL MARINE ECOREGION, p. 89

**4 CONSIDERAÇÕES FINAIS, p. 126**

**5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 128**

**6 APENDICE, p. 149**

6.1 CAPITULO DE LIVRO: ZOONOSE: DIFILOBOTRÍASE, p. 150

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** *Lophius gastrophysus*, p. 27

**Figura 2** *Paralichthys isosceles*, p. 28

**Figura 3** *Paralichthys patagonicus*, p. 29

**Figura 4** *Xystreurys rasile*, p. 31

**ARTIGO 2**

**Figure 1 (a-c)** *Anisakis typica* collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, ventral view, showing larval tooth, esophagus and ventriculus; b) detail of larval tooth, ventral view; c) detail of the tail showing mucron, p. 59

**Figure 2 (a-c)** *Terranova* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, ventral view, showing larval tooth, esophagus, intestinal cecum and ventriculus; b) detail of larval tooth, ventral view; c) tail, p. 61

**Figure 3 (a-c)** *Terranova* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*, SEM. a) anterior region, ventro-lateral view, showing larval tooth, and excretory pore; b) tail, ventral view; c) tail, dorsal view, p. 62

**Figure 4 (a-c)** *Contracaecum* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, lateral view, showing larval tooth, esophagus, ventriculus, ventricular appendix and intestinal cecum; b) detail larval tooth, ventral view; c) tail, p. 64

**Figure 5 (a, b)** *Contracaecum* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*, SEM. a) anterior region, ventro-lateral view, showing larval tooth, and excretory pore; b) tail, lateral view, p. 65

- Figure 6 (a-c)** *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, ventral view, showing esophagus, ventriculus, ventricular appendix and intestinal cecum; b) conical tail, lateral view, showing mucron; c) detail of mucron, p. 66
- Figure 7 (a-c)** *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* collected of *Paralichthys patagonicus*, SEM. a) anterior region, ventro-lateral view; b) tail, ventro-lateral view, showing mucron; c) Detail of mucron, p. 67
- Figure 8 (a-c)** *Raphidascaris* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, ventral view, showing larval tooth, nerve ring, esophagus, ventriculus, ventricular appendix; b) detail larval tooth, ventral view; c) tail lateral view, p. 69
- Figure 9 (a, b)** *Raphidascaris* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*, SEM. a) anterior region, dorso-lateral view, showing larval tooth; b) tail, lateral view, p. 70
- Figure 10** mtDNA *Anisakis* sp. *cox2* phylogenetic tree. NJ tree inferred from *Anisakis* sp. mtDNA *cox2* gene sequences from this study (PP) and GenBank sequences, p. 72
- Figure 11** *Hysterothylacium* sp. ITS-1 phylogenetic tree. Neighbor-Joining tree inferred from *Hysterothylacium* sp. ITS-1 region sequences from this study (PP) and GenBank sequences, p. 73
- Figure 12** mtDNA *Hysterothylacium* sp. *cox2* phylogenetic tree. NJ tree inferred from *Hysterothylacium* sp. mtDNA *cox2* gene sequences from this study (PP) and GenBank sequences, p. 74



### ARTIGO 3

- Figure 1 (a-d)** Juveniles of *Serrasentis sagittifer* in *Paralichthys isosceles*. **a** Female, total, lateral view. **b** Detail of vagina, ventral view. **c** Hooks of proboscis and sensory papilla. **d** Male, posterior portion, lateral view, p. 95
- Figure 2 (a, b)** Juvenile of *Serrasentis sagittifer* in *Paralichthys patagonicus*. **a** Male, total, lateral view. **b** Detail of proboscis and neck, p. 96
- Figure 3 (a, b)** Juveniles of *Serrasentis sagittifer* in *Paralichthys isosceles*, SEM **a** Proboscis, neck and anterior trunk spines. **b** Detail of trunk combs, p. 96
- Figure 4 (a-d)** Juveniles of *Bolbosoma turbinella* in *Paralichthys isosceles*. **a** Female, total, lateral view. **b** Detail of vagina, ventral view. **c** Hooks of proboscis. **d** Male, posterior portion, lateral view, p. 99
- Figure 5** Juvenile of female of *Bolbosoma turbinella* in *Paralichthys patagonicus*. Detail of vagina, ventral view, p. 100
- Figure 6** Juvenile of *Bolbosoma turbinella* in *Paralichthys isosceles*, SEM. Proboscis, neck and trunk spines, p. 100
- Figure 7 (a-d)** Juveniles of *Corynosoma australe* in *Paralichthys patagonicus*, **a** Female, total, lateral view. **b** Detail of proboscis of a female. **c** Female, posterior end, lateral view. **d** Male, posterior end, ventral view, p. 103
- Figure 8 (a-c)** Juvenile of *Corynosoma australe* in *Paralichthys patagonicus*, SEM, **a** Male, total, latero dorsal view. **b** Detail of proboscis of a male, latero dorsal view. **c** Male, posterior portion, detail of genital spines, latero dorsal view, p. 104

- Figure 9** Juveniles of *Corynosoma cetaceum* in *Paralichthys patagonicus*. **a** Male, total, lateral view. **b** Proboscis, neck and trunk spines, lateral view. **c** Female, posterior end, lateral view. The brackets indicate the two ventral trunk folds that are devoid of spines, lateral view. **d** Male, posterior end, detail of genital spine, lateral view, p. 107
- Figure 10** ML phylogenetic trees inferred from ITS sequences from this study (HE14, HE23, and HE25) and GenBank sequences (species and accession numbers are shown). **a** ITS Dataset I applying TN92+G model. **b** ITS Dataset II using K2P+G model. Numbers at nodes are support bootstrap values higher than 50%. Regular numbers correspond to ML analysis, and italic numbers to NJ analysis with K2P model, p. 110 e 111
- Figure 11** ML phylogenetic tree inferred from *cox1* gene sequences from this study (HE 25, HE38 and HE43) and GenBank sequences. Numbers at nodes are the support bootstrap values higher than 50%. Regular numbers correspond to ML analysis using HKY model and G+I parameters, and italic numbers to NJ analysis with K2P model, p. 112

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 2

- Table 1** Morphometric data on *Anisakis typica* third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil, p. 60
- Table 2** Morphometric data on *Terranova* sp. third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil, p. 62
- Table 3** Morphometric data on *Contracaecum* sp. third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil, p. 65
- Table 4** Morphometric data on *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil, p. 68
- Table 5** Morphometric data on *Raphidascaris* sp. third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil, p. 71

### ARTIGO 3

- Table 1** Measurements of juveniles of *Serrasentis sagittifer*, males and females, collected from *Paralichthys isosceles* and *P. patagonicus*, p. 97
- Table 2** Measurements of juveniles of *Bolbosoma turbinella*, males and females, collected from *Paralichthys isosceles* and *P.*

*patagonicus*, p. 101

**Table 3** Measurements of juveniles of *Corynosoma australe*, males and females, collected from *Paralichthys isosceles*, *P. patagonicus* and *Xystreurys rasile*, p. 105

**Table 4** Measurements of juveniles of *Corynosoma cetaceum*, males and females, collected from *Paralichthys isosceles* and *P. patagonicus*, p. 108

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente a presença de parasitos no pescado tem sido motivo de preocupação para pesquisadores do mundo inteiro, devido aos enormes prejuízos econômicos para a indústria pesqueira, principalmente pelas espécies zoonóticas que conferem risco para a saúde pública e não em menor importância por aquelas que apresentam aspecto repugnante ao consumidor.

O peixe sapo-pescador *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 e os linguados *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890, *P. patagonicus* Jordan, 1889 e *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891) constituem uma apreciada categoria de pescado e apresentam elevado valor comercial, principalmente no mercado internacional (BERNARDES et al., 2005).

Os nematóides estão entre os mais frequentes e mais importantes parasitos de peixes, constituindo uma significativa parte da parasitofauna desses hospedeiros de água doce, salobra e marinha em todo o mundo. Eles parasitam os órgãos do corpo de peixes e alguns são conhecidos como agentes de sérias doenças de peixes, causando consideráveis perdas para a indústria (MORAVEC, 2007).

As larvas de anisacídeos podem parasitar diversas espécies de peixes, os quais são seus hospedeiros intermediários e/ou paratênicos. Já suas formas adultas atingem a maturidade sexual principalmente no estômago de aves piscívoras e mamíferos marinhos. Quando larvas vivas são acidentalmente ingeridas pelo homem, estas podem determinar lesões em diferentes pontos do trato gastrointestinal ou migrar para localizações extra intestinais, desencadeando diferentes manifestações da enfermidade (AUDICANA; KENNEDY, 2008; DASCHNER et al., 1997; GÓMEZ et al., 2003; HOCHBERG; HAMER, 2010; IVANOVIC et al., 2015; MATTIUCCI et al., 2013; RUBIO et al., 2003).

Outro grupo importante de parasitos são os do filo Acanthocephala, onde o número de espécies conhecidas é superior a mil e, das quais mais da metade são parasitos de peixes marinhos ou de água doce (TARASCHEWSKI, 2008). Segundo Amin (1985, 1987), os acantocéfalos que parasitam os peixes pertencem as classes Paleacanthocephala, Eoacanthocephala e Polyacanthocephala. Porém a maioria das espécies é incluída nas duas primeiras classes e a última, menos estudada, possui um número reduzido de espécies conhecidas. Os espécimes adultos, juvenis

e os cistacantos desses acantocéfalos parasitam peixes e mamíferos marinhos distribuídos amplamente pelo mundo. Esses acantocéfalos adquirem importância higiênico sanitária pelo aspecto repugnante que transferem ao consumidor, sendo os peixes descartados na indústria de beneficiamento, nos serviços de inspeção ou rejeitados pelo consumidor, causando prejuízos econômicos.

As manifestações alérgicas a antígenos de parasitos de peixes são bastante frequentes, principalmente aquelas atribuídas aos anisacuídeos. Os casos de hipersensibilidade ocorrem em consequência do consumo do pescado infectado por larvas de anisacuídeos em indivíduos previamente sensibilizados, ou seja, que já tiveram contato anterior com os antígenos dessas larvas, ocasionados por manuseio ou ingestão, que se dispersaram na musculatura do peixe infectado. Alguns antígenos de *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809) são extremamente resistentes à aplicação do calor ou de congelamento não havendo alteração no seu potencial alergênico. Adicionalmente, a larva de terceiro estágio do *A. simplex* possui um amplo número de moléculas alergênicas, e reatividade a estes alérgenos ocorre de forma exagerada (AUDICANA et al., 2002; LÓPEZ-SERRANO et al., 2000; SABATER; SABATER, 2000). Em relação aos acantocéfalos não existem estudos onde tenha sido testado o potencial alergênico para humanos.

Sendo assim, tendo em vista a escassez de dados na literatura mundial sobre os parasitos desses teleósteos, o presente estudo buscou trazer contribuições inéditas utilizando a taxonomia integrativa para adicionar novos dados morfológicos, morfométricos e análise genética desses helmintos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PESCADO

Segundo a portaria nº 185 do MAPA, pescado é a denominação genérica que compreende os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada, usados na alimentação humana (BRASIL, 1952, 1997).

O pescado é uma fonte de proteína tão importante para o homem quanto a carne bovina, porém com aproximadamente 60% menos calorias. Os pescados correspondem a 5,6% do total de proteína e a 15,6% do total de proteína animal consumida mundialmente (BAUTISTA; ENGLER, 2005; CATO, 1998; FRANCO; LANDGRAF, 2003; HOLUH; HOLUB, 2004). Porém, dentre os produtos cárneos, o pescado é o mais susceptível às alterações devido as suas características intrínsecas, pois a quantidade de água elevada e o pH próximo à neutralidade, na sua musculatura, favorecem o desenvolvimento microbiano; além disto o teor de gorduras insaturadas, facilmente oxidáveis, e a ação dos sucos digestivos e as enzimas dos tecidos promovem a deterioração química do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2003; OETTERER, 1991; PHILIPPI, 2003).

Mesmo sendo extremamente variável, a composição química da carne do pescado, especialmente dos peixes, aproxima-se da composição de aves, bovinos e suínos. Seu principal componente é a água, cuja proporção (na parte comestível) pode variar de 64% a 90%, seguido pelas proteínas, 17 a 25%, e pela gordura, que pode variar de 0,5% a 25%. A proteína do peixe é altamente digerível e rica em metionina e lisina, considerados aminoácidos essenciais, não sendo sintetizados pelo organismo humano e cuja ingestão na dieta é fundamental. A composição dos aminoácidos essenciais (histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina) nos peixes é completa, balanceada e bastante semelhante entre as espécies de água doce e salgada (FIB, 2009).

Entre os constituintes minoritários dos pescados estão os sais minerais, que têm seu teor variando de 1,0% e 2,0%; os carboidratos, (no caso dos peixes) não chegam a representar 1,0% da sua composição, e as substâncias nitrogenadas não protéicas (sem importância nutricional) que não atingem 0,5% na carne dos peixes frescos (FIB, 2009).

## 2.2 PRODUÇÃO PESQUEIRA MUNDIAL E NO BRASIL

A carne do pescado é um importante alimento da dieta diária das populações de muitos países e contribui com cerca de um quarto da oferta de proteína de origem animal, além de ser fonte importante de emprego e renda em alguns países (GONÇALVES et al., 2008). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação - FAO, a produção pesqueira mundial em 2014 foi de 158 milhões de toneladas, incluindo a produção extrativa e a aquicultura (FAO, 2014).

Os cinco maiores produtores do mundo são, sequencialmente: China, Indonésia, Índia, Peru e Japão. O Brasil, devido ao vasto território marítimo e grande quantidade de espécies nativas possui um grande potencial de produção, entretanto, é o 18º colocado no ranking mundial, com produção média de 1.264.765 toneladas em 2010 (MPA, 2012) e 19º em 2014 (FAO, 2014).

A produção do pescado no Brasil tem o maior potencial do mundo com 8.500 km<sup>2</sup> de costa marítima, cinco milhões de hectares de terras alagadas (reservatórios) e 12% do total de reserva de água doce do planeta (BRASIL, 2005). O Estado do Maranhão, com 640 km<sup>2</sup> de costa, a segunda do Brasil em extensão, oferece uma enorme variedade de espécies de pescado de importância comercial, com um grande potencial de crescimento, tanto na pesca quanto na aquicultura (MARANHÃO, 1999). Entretanto, apesar de o Brasil ser um dos líderes mundiais na produção e exportação de frango, carne suína e bovina, o pescado nunca ocupou um papel de destaque na produção de proteína animal nobre (MINOZZO et al., 2008).

Segundo o Ministério de Pesca e Agricultura - MPA (MPA, 2013) com o aumento no consumo de pescados, houve uma motivação por parte da indústria do pescado, sobretudo da aquicultura, que é a modalidade com mais espaço para crescer a produção. Para o Ministério de Pesca e Agricultura (MPA, 2013) em 2011, a criação de pescado em cativeiro no Brasil atingiu 628,7 mil toneladas, o que representou um crescimento de 31,1% em relação ao ano anterior. Entretanto, este grande empenho ainda foi insuficiente para atender a demanda. De acordo com o Ministério, a produção brasileira de pescado alcançou 1,43 milhão de toneladas, das quais uma pequena parte, 42.263 toneladas, foi destinada à exportação em 2011, e o País ainda precisou importar 37% do pescado consumido.



Em relação à produção de águas interiores, a FAO informou em seu relatório que a produção global de captura de águas interiores atingiu 11,6 milhões de toneladas em 2012, mas a sua participação na produção total de captura global ainda não excedeu 13% (FAO, 2014). Para a organização, a produção aquícola mundial atingiu 90,4 milhões toneladas (peso vivo equivalente) em 2012 (US \$ 144.400.000.000), incluindo 66,6 milhões toneladas de peixes e 23,8 milhões de toneladas de algas aquáticas, com estimativas para 2013 de 70,5 milhões e 26,1 milhões de toneladas, respectivamente. Ainda, segundo a FAO, só a China produziu 43,5 milhões toneladas de peixes e 13,5 milhões de toneladas de algas aquáticas naquele ano (FAO, 2014).

### 2.3 CONSUMO DE PRODUTOS DA PESCA NO BRASIL

O consumo de carne de peixe tem aumentado de forma significativa ao longo dos anos devido às qualidades nutricionais benéficas (BURGER, 2008; MACIEL et al., 2013). Esse aumento caracterizou um perfil de consumidores exigentes em relação ao produto a ser comprado.

A presença de vitaminas (A e D), íons importantes (cálcio e fósforo), ácidos graxos insaturados (ômega 3 e 6) e alto teor proteico são qualidades encontradas em algumas espécies e que estão relacionados à diminuição da incidência de doenças cardiovasculares (GONÇALVES et al., 2009; MACHADO et al., 2013; SILVA et al., 2013; TAVARES et al., 2013). Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a ingestão regular de pescado (duas vezes por semana) pode exercer efeito favorável sobre os níveis de triglicerídeos, pressão sanguínea, mecanismo de coagulação e ritmo cardíaco, na prevenção do câncer (mama, próstata e cólon), redução da incidência de arteriosclerose e de acidentes vasculares cerebrais isquêmicos, declínio cognitivo, redução dos riscos de depressão, ansiedade, doenças inflamatórias, auxilia na integridade das membranas celulares e tecidos nervosos (SOUZA et al., 2003). Além disso, há estudos que indicam que o consumo regular de pescado por mulheres grávidas reduz o risco de problemas neuronais nas crianças. Portanto, o consumo de pescado tem sido associado a diversos benefícios para saúde humana, fato que tem estimulado as pesquisas na área (SOCCOL; OETTERER, 2003; TACON; METIAN, 2013).

Apesar das estatísticas mostrarem expansão do setor aquícola brasileiro em aproximadamente 21% ao ano (OSTRENSKY et al., 2008), o consumo de pescado per capita não apresenta crescimento na mesma proporção, sendo a carne menos consumida no país (CARVALHO; LEMOS, 2009). O consumo per capita mundial em 1997 foi aproximadamente de 15,7 kg ao ano, dados mais recentes demonstraram que no Brasil, em 2010, o consumo per capita foi aproximadamente 9,75 kg de pescado ao ano, inferior ao recomendando pela Organização Mundial de Saúde - OMS de 12 kg por habitantes ao ano (MPA, 2012; OSTRENSKY et al., 2008). O consumo per capita na região Sudeste, incluindo Belo Horizonte, é inferior, aproximadamente 5,4 kg/hab./ano (SARTORI; AMÂNCIO, 2012). Mesmo diante dos diversos benefícios, o consumo de pescado ainda é baixo em muitos países e tal fato pode estar vinculado a diferenças culturais, influências do grupo social, conveniência do preparo, preço elevado e problemas na cadeia de produção (BOMBARDELLI et al., 2005; MACIEL et al., 2009; OETTERER, 2002; OLSEN et al., 2007; OSTRENSKY et al., 2008; PIENIAK et al., 2010; TUU et al., 2008).

## 2.4 HOSPEDEIROS ESTUDADOS

### 2.4.1 *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915

Ordem: Lophiiformes

Família: Lophiidae

Gênero: *Lophius* Linnaeus, 1758

Os espécimes de *L. gastrophysus* (Figura 1) são bentônicos, apresentam a cabeça e tronco largos, fortemente achatados e parte posterior do corpo menos desenvolvida. Corpo sem escamas, marrom escuro e com a margem inferior da nadadeira peitoral enegrecida. Boca muito ampla, com a mandíbula projetando-se anteriormente à maxila superior; e um ilício próximo a ponta do focinho que corresponde ao primeiro espinho da nadadeira dorsal. São encontrados em intervalos de profundidade que variam de 40 - 620 m de profundidade (BERNARDES et al., 2005; FIGUEIREDO; MENEZES, 1978).

Esta espécie apresenta importante valor comercial no Brasil, principalmente para a exportação. No sudeste e sul do Brasil, o peixe sapo foi identificado como um

dos principais alvos no processo de expansão da pesca demersal para áreas profundas da Zona Econômica Exclusiva Brasileira, a qual tomou impulso no ano 2001. Com elevado valor econômico no mercado internacional e devido a crescentes oportunidades de exportação para países europeus e asiáticos, a espécie desencadeou o rápido desenvolvimento de uma pescaria dirigida, tanto por embarcações nacionais quanto arrendadas, e uma ampla e inédita ocupação das áreas de pesca do talude entre o norte do Rio de Janeiro e o sul do Rio Grande do Sul (PEREZ et al., 2002; RAMELLA et al., 2005).



**Figura 1.** *Lophius gastrophysus*. Barra = 5 cm.

#### **2.4.2 *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890**

Ordem: Pleuronectiformes

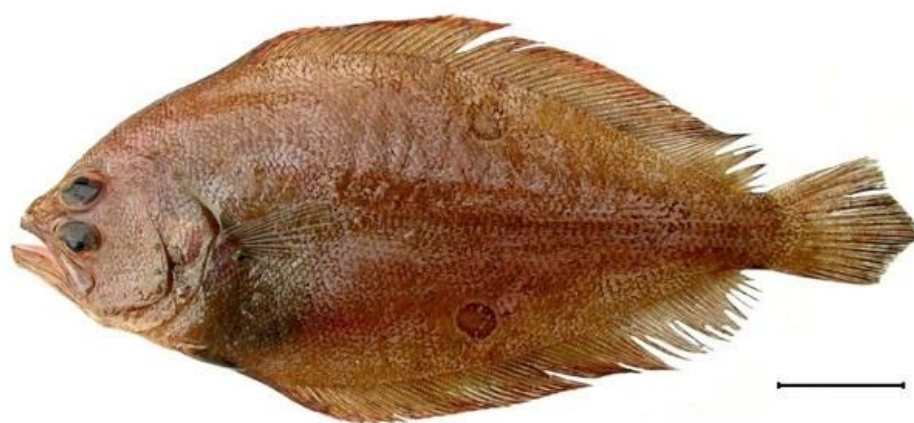
Família: Paralichthyidae

Gênero: *Paralichthys* Girard, 1858

A ordem Pleuronectiformes (Osteichthyes, Teleostei) inclui os peixes conhecidos como linguados, linguas-de-mulata, solhas ou tapas, constituindo um grupo muito distinto, com morfologia extremamente peculiar (NELSON, 1994). Os linguados encontram-se largamente distribuídos ao longo de toda a costa brasileira,

até mesmo em águas interiores (FIGUEIREDO; MENEZES, 2000). Na região sudeste do Brasil são citadas cinco famílias, 14 gêneros e 31 espécies, onde as cinco espécies brasileiras do gênero *Paralichthys* e gênero *Xystreurys*, família Paralichthyidae, que ocorrem no litoral do Estado do Rio de Janeiro assumem grande importância comercial, principalmente no mercado internacional (BERNARDES et al. 2005).

A espécie *P. isosceles* (Figura 2) se distingue das outras por apresentar três ocelos muito nítidos: dois situados sobre a vertical que passa aproximadamente pela metade da distância entre a margem posterior do opérculo e a base da nadadeira caudal, um deles próximo à base da nadadeira dorsal e o outro próximo à base da nadadeira anal, e o terceiro situado na região pré-peduncular, sobre a linha lateral; uma minúscula mancha negra circular na região distal da nadadeira pélvica esquerda, entre o terceiro e quarto raios. Atingem pelo menos 29 cm de comprimento e ocorrem desde a costa até 190 m de profundidade, sendo mais comum a partir dos 50 m. Os peixes desta espécie distribuem-se no sudoeste do oceano Atlântico, do Brasil até a Argentina. Como todas as espécies do gênero são demersais, e tem sua alimentação constituída de peixes e cefalópodes. (FIGUEIREDO; MENEZES, 2000).



**Figura 2.** *Paralichthys isosceles*. Barra = 5 cm.

### 2.4.3 *Paralichthys patagonicus* Jordan, 1889

Ordem: Pleuronectiformes

Família: Paralichthyidae

Gênero: *Paralichthys* Girard, 1858

Conhecido vulgarmente como linguado, esta espécie se diferencia das outras do gênero, principalmente, por apresentar dois ocelos no corpo, um sobre o início da parte reta da linha lateral e outro sobre a região mais anterior do último terço da parte reta da linha lateral (FIGUEIREDO; MENEZES, 2000). Os linguados da espécie *P. patagonicus* (Figura 3) distribuem-se desde Cabo Frio, Estado do Rio de Janeiro, Brasil até a Patagônia, Argentina. A espécie apresenta um período reprodutivo prolongado com desova entre a primavera e o final do verão com maior intensidade no mês de novembro (ARAÚJO; HAIMOVICI, 2000; MACCHI; DÍAZ DE ASTARLOA, 1996). No sul do Brasil, o comprimento médio de primeira maturação sexual foi estimado em 33 cm para as fêmeas e 31 cm para os machos (ARAÚJO; HAIMOVICI, 2000). Como todas as espécies do gênero, é um predador voraz que se alimenta de peixes, e também de cefalópodes e crustáceos (ARAÚJO; HAIMOVICI, 2000).



**Figura 3.** *Paralichthys patagonicus*. Barra = 8 cm.

A espécie *P. patagonicus* constitui uma importante espécie de peixe de águas sul-americanas, sendo a espécie de linguado economicamente mais importante, devido a abundância e o tamanho que atinge, em comparação com outros peixes planos (DÍAZ DE ASTARLOA, 1994).

Esta espécie está incluída na chamada pesca fina por causa da alta qualidade da carne do pescado e seu alto preço no mercado (MASSA et al., 2005).

#### **2.4.4 *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891)**

Ordem: Pleuronectiformes

Família: Paralichthyidae

Gênero: *Xystreurys* Jordan & Gilbert 1880

A espécie *X. rasile* (Figura 4) apresenta como características, cor castanho, do mais claro ao mais escuro, com numerosas manchas escuras de tamanho variável que tendem a formar ocelos presentes ao longo das nadadeiras dorsal e anal e em uma fileira longitudinal acima e abaixo da linha lateral; sobre a linha lateral há dois grandes ocelos escuros, elípticos, um na junção das partes curva e reta e outro sobre o início do terço posterior da parte reta; são considerados de porte médio, alcançando 40 cm de comprimento. Ocorrem desde o norte do Estado do Rio de Janeiro, até a Patagônia (FIGUEIREDO; MENEZES, 2000).

Esses linguados se reproduzem na primavera - verão (outubro a fevereiro) com maior intensidade no mês de novembro. O tamanho médio da primeira maturação sexual é calculado de 20 cm nos machos e 21 cm nas fêmeas, com 1 e 2 anos de idade, respectivamente. É uma espécie de crescimento rápido. A idade máxima registrada é de oito anos para ambos os sexos, mas as médias de tamanho por idade que as fêmeas alcançam é maior que a dos machos (DÍAZ DE ASTARLOA et al., 1997).

Os linguados desta espécie fazem parte da chamada pesca fina porque são um produto de alta qualidade e as capturas são relativamente pequenas (cerca de 8.000 toneladas em 1997), quando comparada a outros recursos demersais, como a pescada (650.000 toneladas em 1997) (FABRÉ et al., 2001).



**Figura 4.** *Xystreurys rasile*. Barra = 6 cm

## 2.5 PARASITOLOGIA DO PESCADO

Podem ser observados vários grupos de seres vivos que podem viver em uma relação de parasitismo com animais aquáticos. Estes, podem causar prejuízos à saúde dos animais parasitados, perdas econômicas aos produtores ou à indústria da pesca, e por vezes também significar um risco à saúde dos consumidores do pescado. Dentre os parasitos responsáveis por infecções acidentais em humanos, os mais comuns são os cestóides *Diphyllobothrium* sp. Cobbold, 1858 e *Diplogonoporus* sp. Lönnberg, 1892, os trematódeos das famílias Heterophyidae *Heterophyes* sp. Cobbold, 1866 e *Metagonimus yokogawai* (Katsurada, 1912) e Opisthorchiidae *Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875) Looss, 1907 e *Opisthorchis* sp. Blanchard, 1895, e os nematóides dos gêneros *Anisakis* Dujardin, 1845 e *Pseudoterranova* Mosgovoy, 1950 (AUDICANA et al., 2002).

Alguns parasitos, mesmo sem potencial zoonótico, podem conferir aspecto repugnante ao pescado, onde os peixes são descartados pelo consumidor ou condenados pelo Serviço de Inspeção, quando na indústria de beneficiamento. Além disso, podem representar riscos à saúde humana por desencadearem respostas alérgicas em organismos previamente sensibilizados (BRASIL, 1952).

No Brasil existem, relatos sobre a ocorrência de nematóides anisaquideos em vários peixes de importância comercial e moluscos bivalves marinhos (OKUMURA et al., 1999).

### 2.5.1 Nematoides Anisakidae e Raphidascarididae

As larvas da família Anisakidae desenvolvem seu ciclo biológico no ambiente aquático, onde as larvas têm como hospedeiros intermediários peixes, crustáceos ou cefalópodes e têm como hospedeiros definitivos, os mamíferos marinhos (SMITH; WOOTEN, 1978; VALLS et al. 2005). O homem é um hospedeiro acidental e neste ocorre a síndrome da larva migrante ou anisakuíase que caracteriza-se por dores abdominais, cólicas, náuseas e eventualmente vômitos (ANTÓN et al., 2008; ALONSO et al., 1997; AUDICANA; KENNEDY, 2008; AUDICANA et al., 2002; DASCHNER et al., 1997; GARCÍA; ARAUZO, 2004; GÓMEZ et al., 2003; MERCADO et al., 1997, 2001; PURELLO-D'AMBRÓSIO et al., 2000; RODRÍGUEZ et al., 2006; RUBIO et al., 2003). Van Thiel et al. (1960) descreveram o primeiro caso de anisakuíase humana. Os casos conhecidos no mundo têm como causa principal os hábitos alimentares, tais como o consumo de peixes crus, mal cozidos, defumados a frio e inadequadamente salgados contendo a larva L<sub>3</sub> infectante (ACHA; SZYFRES, 2003).

Os nematóides da família Anisakidae são de interesse para a inspeção sanitária, onde os gêneros *Anisakis*, *Pseudoterranova* Mozgovoi, 1951 e *Contracaecum* Railliet & Henry, 1912 são os helmintos presentes em peixes que apresentam maior importância zoonótica (ADAMS et al., 1997). A maioria dos casos é reportada para as espécies *A. simplex* e *Pseudoterranova decipiens* (Krabbe, 1878) (ADAMS et al., 1997; ARCANGELI et al., 1997; MERCADO et al., 2001). Apesar de não ser comum, a espécie *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) também está envolvida em um caso humano no Pacífico (YAGI et al. 1996).

Os peixes teleósteos, por estarem envolvidos no ciclo biológico dos anisakuídeos, como hospedeiros intermediários, vem sendo investigados no intuito de se encontrar as formas larvares desses nematoides. Algumas pesquisas foram realizadas detectando a presença de larvas da família Anisakidae em peixes teleósteos marinhos e de água doce comercializados no litoral brasileiro, onde Abdallah et al. (2002, 2005) registraram a presença de *Anisakis* sp., *Contracaecum* sp., *Raphidascaris* sp. Railliet & Henry, 1915 em espécimes de cavalinha *Scomber japonicus* e registraram a presença de *Raphidascaris* sp. Railliet & Henry, 1915 em espécimes de sairú *Cyphocharax gilbert*. Alves e Luque (2006) registraram a presença de larvas de *Anisakis* sp., *Contracaecum* sp. e *Raphidascaris* sp. em cinco



espécies de escombrídeos do litoral do Rio de Janeiro. Alves et al. (2002a, b; 2004) estudaram a prevalência e a intensidade de infecção do anisquídeo *Contracaecum* sp. no mesentério de *Genypterus brasiliensis*; também estudaram *Anisakis* sp. e *Contracaecum* sp. em *Urophycis mystaceus* e espécimes de *Contracaecum* sp., *Raphidascaris* sp. em *Urophycis brasiliensis* respectivamente. Alves et al. (2005) notificaram a presença em *Balistes capriscus* e *B. vetula* do anisquídeo *Contracaecum* sp.

Azevedo et al. (2006, 2007) registraram *Contracaecum* sp. em acarás coletados no Rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro e *Hysterothylacium* sp. e *Raphidascaris* sp. do gordinho *Peprilus paru*. Barros (1994) relatou a presença de *Contracaecum* sp. em pargos *Pagrus pagrus*. Barros e Cavalcanti (1998) estudaram sete espécies de pescado de elevado consumo provenientes de litoral Nordeste do Brasil e registraram a presença de larvas Anisakidae nesses pescados.

Em 1993, Barros e Amato (1993) estudaram a prevalência dos gêneros *Contracaecum* e *Anisakis* em peixes espada *Trichiurus lepturus*. São Clemente et al. (1994) observaram a resistência a baixas temperaturas das larvas de anisquídeos, coletadas neste mesmo hospedeiro; espécimes dos gêneros *Anisakis*, *Pseudoterranova* e *Contracaecum*, parasitando *T. lepturus*, apresentaram também resistência a refrigeração, congelamento, cocção e salga (MARQUES et al. 1995; SÃO CLEMENTE et al. 1996). Benigno et al. (2012) estudaram espécimes de *Hoplerythrinus unitaeniatus*, *Hoplias malabaricus* e *Pygocentrus nattereri*, do Lago Arari, Ilha do Marajó, Estado do Pará e observaram que os nematóides *Contracaecum* sp., *Eustrongylides* sp. e *Procamallanus* sp. estavam presentes nas três espécies de peixes. Bicudo et al. (2005) registraram *Anisakis* sp. em *Prionotus punctatus*. Cordeiro e Luque (2005) ao estudarem espécimes de peixe-galo *Selene setapinnis* registraram a presença de larvas de *Anisakis* sp., *Contracaecum* sp. *Hysterothylacium* sp., *Terranova* sp. e *Raphidascaris* sp.

Dias et al. (2010) estudaram espécimes de peixe-porco, *Aluterus monoceros* de estabelecimentos de pescado nos municípios de Niterói e Rio de Janeiro e observaram larvas de *Anisakis* sp. encontradas no mesentério de um peixe; e de *Contracaecum* sp. no fígado e mesentério, sendo as larvas de *Anisakis* sp. registradas pela primeira vez parasitando este peixe. Dias et al. (2011) registraram as espécies *Anisakis* sp. e *Contracaecum* sp. parasitando *Scomberomorus cavalla*. Felizardo et al. (2009a, b) fizeram um inventário das larvas Anisakidae parasitos de

linguado *P. isosceles* e observaram que as larvas de *A. simplex*, *Contracaecum* sp., *Hysterothylacium* sp., *Terranova* sp. e *Raphidascaris* sp. estavam presentes na cavidade abdominal, mesentério, intestino, fígado, mucosa estomacal, estômago, ovários, musculatura abdominal e nas serosas do coração, baço, estômago, rim e ovário. Além disso, registraram a histopatologia pelas larvas de *Hysterothylacium* sp. nesses espécimes de *P. isosceles*. Fontenelle et al. (2013, 2015) registraram a presença de *Anisakis* sp., *Terranova* sp., *Contracaecum* sp. e *H. deardorffoverstreetorum* Knoff, Felizardo, Iñiguez, Maldonado Jr, Torres, Pinto & Gomes, 2012 em espécimes de *Cynoscion guatucupa* e registraram *Terranova* sp., e *H. fortalezae* (Klein, 1973) em *Selene setapinnis* respectivamente. Germano e Germano (1998) discutiram a importância dos nematoides *A. simplex* e *Pseudoterranova* sp. responsáveis pela anisaquíase após o consumo de pescado marinho cru, mal cozido, inadequadamente salgado, insuficientemente congelado ou defumado. Knoff et al. (2004) relataram a primeira ocorrência de larvas de *Anisakis* sp. na musculatura de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis*. Knoff et al. (2007) relataram *A. physeteris* (Baylis, 1923), *A. simplex*, *Anisakis* sp., *Pseudoterranova decipiens* (Krabbe, 1878), *Pseudoterranova* sp., *Hysterothylacium* sp., *Raphidascaris* sp., *Contracaecum* sp. e *Terranova* sp. de *G. brasiliensis*. Knoff et al. (2012) descreveram a partir da caracterização morfológica e molecular uma nova espécie de larva de *Hysterothylacium* Ward & Magath, 1917 parasitos de *P. isosceles*. Lacerda et al. (2009) ao estudarem duas espécies de corvinas, *Pachyurus bonariensis* e *Plagioscion ternetzi*, coletadas no Pantanal, Mato Grosso registraram *Contracaecum* sp.

Luque e Alves (2001) registraram a presença de *Contracaecum* sp., *Pseudoterranova* sp. e *Raphidascaris* sp. em xaréu, *Caranx hippos* e em xerelete, *Caranx latus*. Luque e Chaves (1999) observaram a ecologia da comunidade de metazoários parasitos da anchova *Pomatomus saltator* e registraram as espécies *Anisakis* sp. e *Contracaecum* sp. Luque et al. (2002, 2008) registraram *Anisakis* sp., *Contracaecum* sp. e *Raphidascaris* sp. no peixe trilha, *Mullus argentinae*. Marques et al. (1995) testaram a utilização do frio (resfriamento e congelamento) na sobrevivência de larvas de nematóides anisaquídeos em *Trichiurus lepturus*. Padovani et al. (2005) testaram o efeito *in vitro* da radiação gama em larvas de *Anisakis* sp. coletadas de congro-rosa *G. brasiliensis*. Paraguassú et al. (2005) registraram *Contracaecum* sp. no acará, *Geophagus brasiliensis* no reservatório de

Lajes, Estado do Rio de Janeiro. Pereira et al. (2000) registraram a prevalência de *A. simplex* e *Pseudoterranova* sp. na musculatura e superfície da pele do bacalhau importado, *Gadus morhua*, comercializado no Estado de São Paulo. Luque et al. (2003) encontraram *Contracaecum* sp. em *Paralichthys brasiliensis* no mesentério, entretanto, não relataram a presença destes na musculatura.

Pereira Jr. et al. (2004) estudaram larvas de *Hysterothylacium* sp. de *Micropogonias furnieri* coletadas no Rio Grande do Sul. Prado e Capuano (2006) fizeram o relato de nematóides da família Anisakidae em bacalhau, pescado importado, comercializado em Ribeirão Preto, São Paulo. Rego et al. (1983) estudaram os parasitas de anchovas, *P. saltator* no Rio de Janeiro. Ribeiro et al. (2014) registraram pela primeira vez *Hysterothylacium* sp. em *Chaetodipterus faber* e pampo *Trachinotus carolinus*. Saad e Luque (2009) registraram as larvas de anisakiade na musculatura de pargos *Pagrus pagrus* coletados no Estado do Rio de Janeiro; Sabas e Luque (2003) registraram *Hysterothylacium* sp. e *Terranova* sp. em *Cynoscion guatucupa* e *Macrodon ancylodon*. Salgado et al. (2004) registraram larvas de anisquídeos em espécimes de *Pseudopercis numida* e *G. brasiliensis*. São Clemente et al. (1994) registraram os anisquídeos em *P. pagrus* realizando um estudo do seu controle através de baixas temperaturas. São Clemente et al. (1995) registraram o parasitismo por *Contracaecum* sp., *Terranova* sp. e *Raphidascaris* sp. em peixe-espada *T. lepturus* e em São Clemente et al. (1996) testaram a sobrevivência de larvas de anisquídeos de peixe-espada submetidos ao processo de salmouragem e cocção. Silva e São Clemente (2001) registraram os nematóides da mesma família em filés de dourado *Coryphaena hippurus* e ariocó *Lutjanus synagris*. Silva et al. (2000) estudaram os parasitos do peixe-espada *T. lepturus* e registraram as espécies *Anisakis* sp., *Contracaecum* sp., *Raphidascaris* sp., *Pseudoterranova* sp. Tavares et al. (2001) registraram anisquídeos em olho-de-cão *Priacanthus arenatus*. Tavares et al. (2004) estudaram os nematóides *Hysterothylacium* sp. e *Pseudoterranova* sp. de *Tylosurus acus* e Tavares e Luque (2006) listaram os peixes da família Anisakidae do litoral do Rio de Janeiro enfocando aspectos da sistemática, biologia e da importância em saúde coletiva.

No Brasil, já foram realizados estudos envolvendo os nematóides em espécimes de peixes sapo-pescador *L. gastrophysus*, onde Saad et al. (2012) identificaram *Anisakis* Tipo I, *Terranova* sp., *Contracaecum* sp., *Hysterothylacium* sp. e *Raphidascaris* sp. parasitando esta espécie e Knoff et al. (2013) (ARTIGO 1)

registraram a presença de *Anisakis simplex*, *Hysterothylacium* sp. e *Raphidascaris* sp.

Estudos relacionados aos nematóides Anisakidae em linguados têm sido realizados em algumas regiões do mundo. No Chile, Riffo (1991) e González et al. (2001) encontraram *Anisakis* sp. no mesentério e no intestino e *Pseudoterranova* sp. na musculatura de *Hippoglossina macrops*. No Canadá, Arthur e Albert (1994) encontraram *A. simplex* e *P. decipiens* na musculatura de *Reinhardtius hippoglossoides*. No Chile Oliva et al. (1996) registraram *Anisakis* sp., *A. physeteris*, *P. decipiens* e *Hysterothylacium* sp. em *Paralichthys adspersus* e Torres et al. (2000) registraram a presença de *A. simplex*, *P. decipiens* e *Hysterothylacium* sp. em *P. microps*. Castillo-Sánchez et al. (1998) e Perez-Ponce de Leon et al. (1999) encontraram espécies de *Hysterothylacium* sp., *Anisakis* sp., *Contracaecum* sp. em *P. californicus* no México. Incorvaia e Díaz de Astarloa (1998) observaram a presença de larvas pertencentes aos gêneros *Terranova*, *Raphidascaris* e *Contracaecum* em *P. orbignyanus* e *P. patagonicus* e *Anisakis* e *Hysterothylacium* em *P. patagonicus*. Koie (1999) no Golfo da Finlândia referiram *A. simplex*, *Hysterothylacium aduncum* Rudolphi, 1802, *Raphidascaris acus* (Bloch, 1779) e *Contracaecum* sp. parasitando *Platichthys flesus*. Marques et al. (2006) durante estudo realizado em Portugal sobre a identificação molecular de espécies pertencentes ao gênero *Anisakis* provenientes de linguados, examinando 25 espécies da ordem de Pleuronectiformes observaram que apenas sete espécies desses peixes estavam positivas e que não foi possível identificar estas larvas além do nível genérico. Na Argentina, Alarcos e Timi (2012) estudaram e encontraram *Anisakis simplex*, *Terranova galeocerdonis* (Thwaite, 1927), *Contracaecum* sp., *Pseudoterranova* sp., *Hysterothylacium* sp. e *H. aduncum* em *X. rasile*, *P. patagonicus* e *P. isosceles*.

#### 2.5.1.1 Anisaquiose e Anisaquidose

Em 1876 Leucckart descreveu pela primeira vez um caso de parasitose humana, por nematóide da família Anisakidae em uma criança na Groelândia. Contudo, só no século XX e a partir dos anos 60, Van Thiel et al. (1960) estabeleceram uma relação causa-efeito do parasito com a doença humana.

A anisaquiose é uma antropozoonose de distribuição mundial, que ocorre principalmente em regiões próximas ao litoral, devido à facilidade de consumo de produtos do mar. É causada pela ingestão acidental de larvas de nematóides da família Anisakidae, possui maior prevalência nos países em que o consumo de produtos de pesca ocorre sob forma de produtos crus, mal cozidos, defumados a frio, inadequadamente salgados e refrigerados. É considerada endêmica no Japão, Espanha, Chile e no Peru (CABRERA; OGNIO, 2002; LÓPEZ SERRANO et al., 2000; SÃO CLEMENTE et al., 1995; VALLS et al., 2005).

Atualmente, denomina-se Anisaquiose apenas manifestações provocadas por parasitos do gênero *Anisakis*. Já Anisaquidose é um termo mais genérico, sendo destinado a manifestações provocadas por todas as espécies da família Anisakidae e inclui também o *Hysterothylacium* sp. (KLIPMEL; PALM, 2011).

A anisaquidose provocada por parasitos do gênero *Hysterothylacium* é de rara ocorrência e foi relatada por Yagi et al. (1996), onde um paciente relatou dor abdominal e diarreia durante a passagem completa do parasito pelo tubo gastrointestinal, sendo expelido ainda vivo pelas fezes do individuo. A anisaquidose, é descrita nas formas gastrointestinais e extra-intestinais (hepática, esplênica e pulmonar) e deve ser considerada em pacientes que apresentam dor abdominal e antecedentes de ingestão de peixes e/ou mariscos crus. As formas gastrointestinais podem subdividir-se em luminal, quando apenas existe a aderência do parasita à mucosa digestiva e é quase sempre assintomática, podendo as larvas serem detectadas nas fezes e nos vômitos. Já a forma gástrica está associada a náuseas, vômitos e epigastralgias que surgem 24-48 horas após a ingestão e acompanha, frequentemente, sintomas cutâneos e intestinais, cuja sintomatologia, é semelhante à apendicite, ileíte ou diverticulite, podendo, até, evoluir para perfuração intestinal com peritonite (NUNES et al., 2003; TORRES, 2000).

No Brasil, existe até o momento um registro sobre a anisaquidose humana, que foi diagnosticada por meio de endoscopia digestiva, onde mostraram a presença de larvas de nematóides e, também, os ferimentos causados por eles (CRUZ et al., 2010). Segundo Amato e Barros (1984) e Luque e Chaves (1999), a presença de parasitos de peixes marinhos com repercussão na saúde pública, era um problema muito pouco estudado no Brasil.

É importante considerar a subnotificação ou diagnóstico incorreto de casos de anisaquidose devido a semelhança de sintomas de outras doenças com quadros

gastrointestinais como a obstrução intestinal, apendicite, peritonite ou doença de Crohn (BARROS et al., 2006; MCCARTHY; MOORE, 2000; SABATER; SABATER, 2000).

### 2.5.2 Acanthocephala

Os acantocefalos são invertebrados, com sexos separados, que apresentam tamanhos que variam de alguns centímetros a aproximadamente 70 cm, porém a maioria mede cerca de 1 cm de comprimento (MILLER; DUNAGAN, 1985). São exclusivamente parasitos do tubo digestório de vertebrados. São endoparasitas que possuem como característica morfológica principal, na região anterior do corpo, uma probóscide invaginável e retrátil onde são encontrados os ganchos e espinhos utilizados para fixação no hospedeiro. Não possuem sistema digestório, fazendo a absorção dos nutrientes através das paredes do corpo. Os sexos são separados, exibindo acentuado dimorfismo sexual. O ciclo de vida é heteroxeno, envolvendo dois hospedeiros. A cópula ocorre no intestino do hospedeiro. Os ovos são expelidos para o exterior e ingeridos pelo hospedeiro intermediário, no qual se rompem e originam o acântor. Este se desenvolve para uma forma encistada, o cistacanto. Depois da ingestão da larva pelo hospedeiro definitivo o cistacanto liberta-se, desenvolvendo-se para adulto, que se fixa ao intestino do hospedeiro (EIRAS et al., 2006).

O número de espécies conhecidas é superior a mil, das quais mais da metade são parasitos de peixes marinhos ou de água doce (AMIN, 1987; TARASCHEWSKI, 2008; VERWEYEN et al., 2011). Segundo Amin (1985, 1987), os acantocéfalos que parasitam os peixes pertencem às classes Paleacanthocephala, Eoacanthocephala e Polyacanthocephala. Porém a maioria das espécies é incluída nas duas primeiras classes e a última, menos estudada, possui um número reduzido de espécies.

Roberts e Janovy Jr (2000) relataram que as infecções em humanos por acantocefalos são poucas devido à natureza dos hospedeiros intermediários e paratênicos envolvidos nos ciclos de vida dos parasitos. Foram registrados casos de acantocefalíases humana adquiridos pela ingestão de peixe cru causados por *Acanthocephalus rauschi* Golvan, 1969 e *Corynosoma strumosum* (Rudolphi, 1802) Lühe de 1904, ambos em esquimós no Alasca (GOLVAN, 1969; SCHMIDT, 1971).

Além disso, espécimes de uma espécie não determinada pertencente ao gênero *Bolbosoma* foram registrados parasitando japoneses (BEAVER et al., 1983). Efeitos patológicos e a sintomatologia da acantocéfaliase humana têm sido relatados, como fraqueza, tonturas, cólicas abdominais agudas e perfuração do intestino e, em outros casos assintomáticos (ACHA SZYFRES, 2003; BEAVER et al., 1983; TADA et al., 1983).

Adultos, juvenis e cistacantos de *Serrasentis sagittifer*, *Bolbosoma turbinella*, *Corynosoma australe* e *C. cetaceum* já foram registrados em mamíferos marinhos e peixes do mundo. Espécimes de *Serrasentis sagittifer* (Linton, 1889) Van Cleave, 1923 têm sido encontrados em peixes do México e na costa dos Estados Unidos da América, oeste da África, Brasil, Austrália, Golfos Árabe e Pérsico, Mar Vermelho e oceano Índico (ABDEL-GHAFFAR et al., 2014; AMIN; SEY, 1996; GOLVAN, 1969; JANSEN; BURRESON, 1990; KARDOUSHA, 2005; MAGHAMI et al., 2008; PETROCHENKO, 1971a; RUCKET et al., 2009; SALGADO-MALDONADO, 1978; TRAVASSOS, 1966; VERWEYEN, et al., 2011; YAMAGUTI, 1963); *Bolbosoma turbinella* (Diesing, 1851) Porta, 1908 têm sido registrados em cetáceos dos oceanos Atlântico e Pacífico, Artico e Antártico, e em peixes da costa Chilena (ALARCOS et al., 2016; BAYLIS, 1929, 1932; DAILEY; VOGELBEIN, 1991; GALKINA, 1972; GEORGE-NASCIMENTO; ARANCIBAI, 1992; KLUMOV, 1963; MACHADO FILHO, 1964; MEASURES, 1992, 1993; MEYER, 1932; PETROCHENKO, 1971b; SILVA; COUSIN, 2006); *Corynosoma australe* Johnston, 1937 e *C. cetaceum* Johnston & Best, 1942 em mamíferos e peixes dos oceanos Pacífico e Atlântico (ALARCOS; TIMI, 2012; ALARCOS et al., 2016; ANDRADE et al., 1997; AZNAR et al., 1994a, b, 1999a, b, 2001, 2002a, b, 2004, 2006, 2012, 2015; BRAICOVICH et al., 2005; BERON-VERA et al., 2007, 2008; BROWNELL JR, 1975; CORCUERA et al., 1995; DANS et al., 1999; FIGUEROA; PUGA, 1990; GOLVAN, 1959; HERNANDEZ-ORTS et al., 2013; KAGEI et al., 1976; KNOFF et al., 2001; OLIVA et al., 1996, 2008; PETROCHENKO, 1971b; SANTOS et al., 2008; SARDELLA et al., 2005; SCHIMIDT; DAILEY, 1971; SHOSTAK et al., 1986; SMALES, 1986; TANTALEÁN et al., 2005; TORRES et al., 1992; YAMAGUTI, 1963; ZDZITOWIECKI, 1984).

### 2.5.3 Outros Helmintos em Teleósteos do Presente Estudo

Em relação a espécie *L. gastrophysus*, São Clemente et al. (2007) registraram a presença de *Tentacularia coryphaenae* Bosc, 1802, *Nybelinia* sp. Poche, 1926, *Mixonybelinia* sp. Palm, 1999 e *Progrillotia dollfusi* Carvajal & Rego, 1983 em espécimes de peixe sapo-pescador.

No Brasil, já foram feitos trabalhos relacionados à fauna parasitária de linguados. Felizardo et al. (2010) registraram oito espécies de cestóides Trypanorhyncha, *Nybelinia lingualis* (Cuvier, 1817), *Heteronybelinia nipponica* (Yamaguti, 1952) Palm, 1999, *Otobothrium* sp. Linton, 1891, *Pterobothrium heteracanthum* Diesing, 1850, *P. crassicolle* Diesing, 1850, *Grillotia carvajalregorum* (Carvajal & Rego, 1983) Menoret & Ivanov, 2009, *Callitetrarhynchus gracilis* (Rudolphi, 1819) Pintner, 1931; os cestóides Tetracyllidae *Scolex pleuronectis* Müller, 1788 e os cestóides Diphyllobothriidae *Diphyllobothrium* sp. 1 Cobbold, 1858 e *Diphyllobothrium* sp. 2. em *P. isosceles*. Felizardo et al. (2011) registraram duas espécies os trematódeos Didymozoidae dos tipos Torticaecum Yamaguti (1942) e Neotorticaecum Kurochkin & Nikolaeva (1978) em *P. isosceles* e *P. patagonicus*. Knoff et al. (2012) fizeram a caracterização morfológica e molecular e descreveram a espécie, *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* parasito de *P. isosceles*. Fonseca et al. (2012) estudaram os cestóides Trypanorhyncha de *P. patagonicus* e *X. rasile* com a redescrição da espécie *Nybelinia erythraea* Dollfus, 1960.

## 2.6 HIPERSENSIBILIDADE E ALERGIAS RELACIONADAS AO CONSUMO DE PESCADO

Os casos de hipersensibilidade ocorrem em consequência ao consumo do pescado com a presença de larvas de anisacídeos em indivíduos previamente sensibilizados. Alguns antígenos de *A. simplex* são extremamente resistentes à aplicação do calor ou de congelamento não havendo alteração no seu potencial alergênico. Adicionalmente, a larva de terceiro estágio do *A. simplex* possui um amplo número de moléculas alergênicas, e reatividade a estes alérgenos pode



ocorrer de forma exagerada (AUDICANA et al., 2002; LÓPEZ SERRANO et al., 2000; SABATER; SABATER, 2000).

Uma específica e intensa resposta imune, com a possibilidade de induzir reações anafiláticas por *A. simplex* encontrada em pacientes, foi relatada depois da ingestão de peixes, cuja comprovação foi feita através da prova negativa realizada com os hospedeiros, mas sendo positiva no que se refere a ingestão do parasito (DEL POZO et al., 1997). Fernández et al. (2001) destacam que a ingestão de pescado cru na Espanha tem apresentado uma relação direta entre o aumento de sensibilização a *A. simplex* com o avanço da idade. A elevada frequência de anticorpos IgE específico para *A. simplex* em indivíduos com ou sem reações alérgicas, tem sido um fator importante gerador de dúvida quanto ao diagnóstico. A IgE específica para *A. simplex* é a única variável independente da alergia provocada pelo parasito. López-Serrano (2001) de forma controversa, sugere que a verdadeira alergia a proteínas termoestáveis de *A. simplex* parece ser menos frequente que o suposto, e que a resposta IgE mediada em sua maioria em pacientes sensibilizados, poderia corresponder a contatos transitórios prévios com o parasito vivo. Toro et al. (2006) chamam atenção para os resultados laboratoriais (soropositividade para *A. simplex*) aliados a um acurado histórico de hábitos de consumo de pescado, podem auxiliar na identificação de possíveis episódios de anisaquíases de relevância clínica. Estes autores ainda destacaram que somente os casos de anisaquíases, que causam alergias severas ou sintomas gástricos, têm sido diagnosticados, pois nestes casos a necessidade do uso de técnicas diagnósticas invasivas propiciam a sua comprovação.

Entre as reações alérgicas dois tipos podem ser diferenciados: uma reação anafilática induzida por antígenos termoestáveis e desenvolvida independente do peixe ter sido submetido a cocção ou congelamento, desta forma sem larvas viáveis em seu interior; e um parasitismo digestivo agudo acompanhado de sintomas alérgicos, conhecida também como anisaquidose gastroalérgica (CORRES et al., 2001). Apenas alguns indivíduos apresentam sinais clínicos como urticária e angioedema associado à dor abdominal e vômito, descrito como anisaquiose gastroalérgica. Neste caso, os sintomas de hipersensibilidade após o contato com o parasito, são mais intensos e severos do que os gástricos (LÓPEZ SERRANO et al., 2000; VALLS et al., 2005). As manifestações clínicas surgem após um período de latência da ingestão do pescado cru ou insuficientemente cozido, que geralmente é

de uma a doze horas para a afecção gástrica e reações alérgicas, e a partir de doze horas para afecções intestinais. Acredita-se que os antígenos provenientes de larvas de anisacídeos se dispersam na musculatura do peixe infectado e podem causar reações alérgicas em indivíduos sensibilizados mesmo que o nematoide se encontre morto quando consumido (SOLAS et al., 2008).

De acordo com Ortega e Martínez-Cócerca (2000) é imprescindível conhecer as diferentes formas clínicas da enfermidade, do diagnóstico e posterior atividade terapêutica. Como uma forma de profilaxia, os autores recomendam a evisceração do pescado, ainda no barco em alto mar, diminuindo assim a possibilidade de contaminação da carne do pescado. Audicana (2000) relata que a espécie *A. simplex* é um fator etiológico de anafilaxia em adultos com idade média entre 40 a 60 anos que regularmente consomem pescados, sugerindo uma prevalência similar ou maior que outros alimentos, considerados tradicionalmente alergênicos. A exposição repetida às proteínas parece frequente, em vista dos dados de alta incidência de parasitismo nos pescados na Espanha.

Embora os relatos de anisacídose alérgica apontem o *A. simplex* como principal responsável pelas reações de hipersensibilidade, Caldas et al. (1998) sugeriram que há reação cruzada entre antígenos de *A. simplex* e *H. aduncum*. Segundo Caldas et al. (1998) esses parasitos possuem alguns antígenos comuns e outros que são espécie-específicos. Outras espécies distintas como *Ascaris lumbricoides* (Linnaeus, 1758), *Ascaris suum* (Goeze, 1782), *Toxacara canis* (Werner, 1782), *Blatella germanica* (Linnaeus, 1767) e gênero *Chironomus* Meigen, 1803 também apresentaram reações cruzadas descritas com antígenos de *A. simplex* (CALDAS et al., 1998).

O diagnóstico desta parasitose em humanos é difícil devido à ausência de sintomas e sinais clínicos característicos, porém ele se confirma ao se observar a larva, quando é expectorada ou extraída mediante endoscopia de zonas acessíveis (esôfago, estômago, cólon); contudo, é mais difícil quando a larva migra até o intestino delgado ou está extragastrointestinal, requerendo com frequência cirurgia ou quando a infecção se torna crônica e a larva é destruída pelo sistema imune (DEL REY-MORENO et al., 2008).

## 2.7 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE PARASITOS DE PESCADO

A legislação em vigor no Brasil com relação aos parasitos de pescado é o Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952 (BRASIL, 1952), publicado no Diário Oficial da União de 07/07/1952, que em seu artigo 445, item 4, cita como impróprio para o consumo, o pescado que apresenta infestação muscular maciça por parasitos, que possam prejudicar ou não a saúde do consumidor. Todo pescado considerado impróprio deve ser condenado e transformado em subprodutos não comestíveis.

## 2.8 MEDIDAS PREVENTIVAS CONTRA PARASITASES ASSOCIADAS AO CONSUMO DE PEIXES

A evisceração a bordo logo após a captura tem sido apontada por diversos autores como uma medida de controle, uma vez que a presença das larvas na musculatura ocorre, em sua maioria, por migração das larvas nas vísceras para a musculatura durante os períodos de espera nos barcos e entrepostos (DIAS et al., 2010, 2011; KNOFF et al., 2007; VALLS et al., 2005). Além disso, como ressaltado por Sabater e Sabater (2000), não se deve descartar diretamente ao mar essas vísceras, pois os órgãos parasitados seriam ingeridos por mamíferos marinhos e completariam seu ciclo, para evitar o aumento da disponibilidade do parasito em seu habitat.

A análise visual dos peixes com descarte de espécimes parasitados também é recomendada e prevista na legislação de países como Espanha, dentre outros. Na indústria, esta análise pode incluir a utilização da “candling table” para análise e amostragem do produto filetado (ALONSO-GÓMEZ et al., 1997, AUDICANA et al., 2000).

Para prevenção, recomenda-se a não ingestão do peixe cru, e a cocção deverá atingir 70 °C por um minuto. O congelamento na temperatura de – 20 °C por, no mínimo, 72 horas e a salga, desde que em altas concentrações de sal sejam distribuídas uniformemente em todo o peixe, são capazes de matar os parasitos (ACHA; SZYFRES, 2003). Porém, a morte das larvas não inviabiliza os antígenos alergênicos, segundo Sabater e Sabater (2000), a retirada da porção ventral da

musculatura, minimizaria a ocorrência da alergia, visto que essa região, por estar mais próximo das vísceras é, em geral, a mais parasitada.

Outra medida importante para a prevenção é a conscientização. Alguns autores sugerem que as autoridades sanitárias realizem campanhas educacionais por folhetos explicativos, informes, reportagens, debates e propagandas, através de uma abordagem correta, clara e didática evitando-se alarme social desnecessário, conduzindo à conscientização e educação sobre o assunto (DIAS et al., 2010; KNOFF et al., 2007; SABATER; SABATER, 2000).

Em relação ao tratamento não existem fármacos eficazes para o combate da anisquidose, sendo a eliminação das larvas por extração endoscópica o tratamento de eleição (FERRE, 2001).

### 3 DESENVOLVIMENTO

O estudo foi iniciado com a análise dos nematoides Anisakidae do peixe sapo-pescador *Lophius gastrophysus* comercializados nos municípios de Cabo Frio, Niterói, Duque de Caxias e Rio de Janeiro. Em seguida, foram realizadas as taxonomias integrativas dos nematoides Anisakidae e Raphidascarididae dos linguados *Paralichthys patagonicus* e *Xystreurys rasile* e dos acantocefalos de *P. isosceles*, *P. patagonicus* e *Xystreurys rasile*, comercializados no litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Os resultados são apresentados a seguir na forma de manuscritos.

3.1 ARTIGO 1: ANISAKIDAE NEMATODES IN THE BLACKFIN GOOSEFISH, *Lophius gastrophysus* MIRANDA-RIBEIRO, 1915 PURCHASED IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL

3.2 ARTIGO 2: INTEGRATE TAXONOMY OF ANISAKIDAE AND RAPHIDASCARIDIDAE NEMATODES OF *Paralichthys patagonicus* AND *Xystreurys rasile* (PISCES: TELEOSTEI) OF SANITARY IMPORTANCE IN THE SOUTH EASTERN BRAZIL MARINE ECOREGION

3.3 ARTIGO 3: INTEGRATIVE TAXONOMY OF ACANTHOCEPHALANS PARASITIZING FLOUNDERS *Paralichthys isosceles*, *P. patagonicus* AND *Xystreurys rasile* (PISCES: TELEOSTEI) IN THE SOUTH EASTERN BRAZIL MARINE ECOREGION

3.1 ARTIGO 1: ANISAKIDAE NEMATODES IN THE BLACKFIN GOOSEFISH, *Lophius gastrophysus* MIRANDA-RIBEIRO, 1915 PURCHASED IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL

Autores:

Marcelo Knoff, Sergio Carmona de São Clemente, Michelle Cristie Gonçalves da Fonseca, Nilza Nunes Felizardo, Francisco Carlos de Lima, Roberto Magalhães Pinto, Delir Corrêa Gomes

Publicado: Março de 2013

Acta Scientiarum, Biological Sciences, v. 35, n. 1, p. 219-133, 2013 (Quails B3 - Capes 2014)



## Anisakidae nematodes in the blackfin goosefish, *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 purchased in the State of Rio de Janeiro, Brazil

Marcelo Knoff<sup>1\*</sup>, Sergio Carmona de São Clemente<sup>2</sup>, Michelle Cristie Gonçalves da Fonseca<sup>1</sup>, Nilza Nunes Felizardo<sup>1</sup>, Francisco Carlos de Lima<sup>2</sup>, Roberto Magalhães Pinto<sup>1</sup> and Delir Corrêa Gomes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, 21045-900, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

<sup>2</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. \*Author for correspondence. E-mail: knoffm@ioc.fiocruz.br

**ABSTRACT.** The blackfin goosefish is included in a prized fish category, representing valuable fishery resource worldwide. The aim of this study was to identify the Anisakidae larvae parasitizing this fish species, considering the hygienic-sanitary and public health importance of these parasites infecting specimens of the blackfin goosefish, *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 (Lophiidae), purchased from markets in the municipalities of Cabo Frio, Niterói, Duque de Caxias and Rio de Janeiro; parasitological indices and sites of infection are presented. From March 2000 to December 2005, 87 specimens of *Lophius gastrophysus* were investigated for helminths. Seventeen fish (19.5%) were parasitized with larvae of anisakid nematodes. *Anisakis simplex*, *Hysterothylacium* sp. and *Raphidascaris* sp. appeared with prevalence of 1.14, 12.6 and 12.6%, intensity and mean intensity of infection of 1, 2.81, 10.5 and mean abundance of 0.01, 0.35 and 1.33 respectively. The sites of infection were stomach, stomach and intestine serosas and abdominal cavity. This is the first record of *Anisakis simplex*, *Hysterothylacium* sp. and *Raphidascaris* sp. for this species of fish.

**Keywords:** *Anisakis simplex*, *Hysterothylacium*, *Raphidascaris*, larvae, *Lophius gastrophysus*.

## Nematoides Anisakidae no peixe sapo-pescador, *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 comercializado no Estado do Rio de Janeiro, Brasil

**RESUMO.** Nematoides Anisakidae no peixe sapo-pescador, *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 comercializados no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. O peixe sapo-pescador é muito apreciado e representa um valioso recurso pesqueiro em nível mundial. O objetivo deste estudo foi o de identificar larvas de Anisakidae pela sua importância higiênico-sanitária e na saúde pública, cujos parasitos infectam espécimes do peixe sapo-pescador, *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 (Lophiidae), obtidos em mercados dos municípios de Cabo Frio, Niterói, Duque de Caxias e Rio de Janeiro; são apresentados os índices parasitológicos e sítios de infecção dos helmintos encontrados. Foram investigados 87 espécimes de *Lophius gastrophysus* no período de março de 2000 a dezembro de 2005. Desses, 17 (19,5%) estavam parasitados por larvas de anisquídeos. *Anisakis simplex*, *Hysterothylacium* sp. e *Raphidascaris* sp. apareceram com prevalências de 1,14, 12,6 e 12,6%, intensidade e intensidade média de infecção de 1, 2,81 e 10,5, abundância média de 0,01, 0,35 e 1,33 respectivamente. Os sítios de infecção foram o estômago, serosas do estômago e intestino e cavidade abdominal. Este é o primeiro registro de *Anisakis simplex*, *Hysterothylacium* sp. e *Raphidascaris* sp. nesta espécie de peixe.

**Palavras-chave:** *Anisakis simplex*, *Hysterothylacium*, *Raphidascaris*, larvas, *Lophius gastrophysus*.

### Introduction

The species *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 (Lophiidae), is widely known as “fishing fish” due to the way they attract preys to its wide mouth by moving the illicium. The lophiids are considered poor swimmers found in depths not exceeding 200 m, occasionally reaching 1,000 m, and mostly inhabit bottom environments. Eggs and larvae are pelagic, whereas juveniles are demersal, occupying deeper areas when adults (VALENTIM et al., 2007). The blackfin goosefish is included in a prized fish

category, representing a valuable fishery resource worldwide. *Lophius gastrophysus* occurs from the State of Rio de Janeiro to Argentina, is the only species of Lophiiformes found in the Brazilian southeastern region (FIGUEIREDO; MENEZES, 1978) and is considered of high commercial value, mainly for international market. Considering the increasing opportunities to export meat of this fish species to the European and Asian countries, there was a rapid development related to organized fishery procedures involving Brazilian or other hired ships

in a wide and unprecedented occupation of fishing areas in the region between the north of Rio de Janeiro and south of Rio Grande do Sul (PEREZ et al., 2002; RAMELLA et al., 2005).

Exhaustively described over the years the food-borne parasitic infections are still of great concern in public health, with emphasis in the role played by the anisakid nematodes in the spreading of human anisakiasis due to infections with *Anisakis*, *Pseudoterranova* and *Contracaecum*, with the species *A. simplex* (Rudolphi, 1809) and *P. decipiens* (Krabbe, 1878) reported in most cases (ADAMS et al., 1997).

In humans, this parasitosis can occur after the ingestion of raw, poor cooked/smoked or superficially salted fish meat containing infective larvae (ACHA; SZYFRES, 2003; AUDICANA et al., 2002; HUANG; BUSSIÉRAS, 1988). Larvae can remain in the stomach cavity, without invading the tissues, causing a generally asymptomatic infection. In the invasive cases, larvae migrate to the gastric or intestinal mucosa inducing the appearance of edema, ulcers and bleeding (ACHA; SZYFRES, 2003); cases of angioedema, nausea, vomiting, diarrhea, acute cutaneous rash, anaphylaxis, allergy, abdominal tumors, polyarthritis, angina-like thoracic pain, epigastric pain, bronchial spasm, empty stomach sensation, gastric ulcer simulation, ileitis and appendicitis (ALONSO et al., 1997; AUDICANA et al., 2002; DASCHNER et al., 1997; GARCÍA; ARAUZO, 2004; GÓMEZ et al., 2003; MERCADO et al., 1997, 2001; PURELLO-D'AMBRÓSIO et al., 2000; RODRÍGUEZ et al., 2006; RUBIO et al., 2003).

In fish, anisakiasis can affect several organs and the number of larvae can reach up to 100 specimens/fish (ACHA; SZYFRES, 2003). Usually, the most affected organ is the liver and the most important change is the atrophy (ACHA; SZYFRES, 2003). Anisakids can remain encapsulated in other organs, perforating the stomach wall, may cause visceral adherence and muscular destruction (ACHA; SZYFRES, 2003; EIRAS; REGO, 1987; FELIZARDO et al., 2009a; MOTTA et al., 2008; REGO et al., 1985; TEKIN-ÖZAN; KIR, 2007). Teleosteans, which play a role in the life cycle of anisakid worms as intermediate hosts, have been investigated aiming at finding the larval forms of these nematodes. This paper deals with the report of anisakids parasitizing specimens of *L. gastrophysus*, together with parasitological indices of prevalence, intensity, mean intensity, range of infection, mean abundance and sites of infection.

### Material and methods

From March 2000 to December 2005, 87 specimens (female) of the blackfin goosfish

*L. gastrophysus* were obtained from markets in the municipalities of Cabo Frio (39 specimens), Niterói (34 specimens), Duque de Caxias (six specimens), and Rio de Janeiro (eight specimens). Fish had 27-68 cm (40.95 cm) length. After being purchased, they were carried in isothermal containers with ice to the Laboratory of Helminth Parasites of Vertebrates, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, to be investigated for helminths. The identification of fish is in accordance with Figueiredo and Menezes (1978). For the recovery procedures, specimens were eviscerated; the organs and abdominal musculature were transferred to individual Petri dishes with a 0.65% NaCl solution to be further examined under a stereoscope microscope. The filets, obtained after an incision from near the opercula to the insertion of the caudal fin, were observed using a negatoscope. Nematodes were processed for study in accordance with Amato et al. (1991). Identification of larval Anisakidae was based on Rego et al. (1983), Petter and Maillard (1988), Timi et al. (2001) and Felizardo et al. (2009b). The parasitic indices are in accordance with Bush et al. (1997). Representative specimens were deposited in the Helminthological Collection of the Oswaldo Cruz Institute (CHIOC), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro State, Brazil.

### Results

The Anisakidae collected from the specimens of *L. gastrophysus* were represented by larval stages, most of them with high prevalence. Only *A. simplex* occurred with prevalence lower than 10%. Seventeen specimens (19.5%) were parasitized with 3<sup>rd</sup> stage larvae of *A. simplex*, *Hysterothylacium* sp. and *Raphidascaris* sp. *Anisakis simplex* occurred only in the stomach serosa with prevalence of 1.14%, 1 of intensity and 0.01 of mean abundance (CHIOC no. 35687). *Hysterothylacium* sp. presented prevalence of 12.6% in different sites, with a mean infection of 2.81, range of infection of 1-10 specimens/fish and mean abundance of 0.35. Larvae were found in the stomach, intestinal serosa and abdominal cavity (CHIOC no. 35686). *Raphidascaris* sp. had prevalence of 12.6%, 10.5 of mean intensity, range of infection of 1-89 specimens/fish and mean abundance of 1.33. These larvae were present in the stomach (CHIOC no. 35685). Sixty-five per cent of the 17 parasitized fishes were infected with a single anisakid species, whereas 35% had hosted two species. Single infections occurred in 11 specimens, five parasitized with *Hysterothylacium* sp. and six with *Raphidascaris* sp. Co-infections with two species were



observed in six fish, one with *Anisakis simplex* and *Hysterothylacium* sp. and five with *Hysterothylacium* sp. and *Raphidascaris* sp.

This is the first report of *A. simplex*, *Hysterothylacium* sp. and *Raphidascaris* sp. in *L. gastrophysus*.

### Discussion

The specific identification is restricted to a small group of larvae on the basis of morphological and morphometrics data, in accordance with previous findings related to anisakid larvae, recovered from other marine fish that occur in the littoral of the State of Rio de Janeiro, reported by Felizardo et al. (2009a and b).

The presence of larval stages of nematodes indicates the potential of this fish species as an intermediate host in life cycles of parasites trophically transmitted in the marine environment. Valentim et al. (2008) noting about 40 food items in the stomach of *L. gastrophysus*, among them, fish, mollusks and crustaceans, had suggested that the diet of *L. gastrophysus* promotes its role as intermediate hosts; thus the present results corroborate this statement, since only larval stages of the helminths were recovered. In Brazil, to date, there are no reports relative to human anisakiasis in despite of the recovery of larvae from marine and freshwater fish, and marine cetacean (ABDALLAH et al., 2005; BRASIL-SATO; SANTOS, 2005; KNOFF et al., 2004, 2007; LACERDA et al., 2009; LUQUE; POULIN, 2004; MOTTA et al., 2008; PRADO; CAPUANO, 2006; PEREIRA et al., 2000; TAVARES; LUQUE, 2006; SALGADO et al., 2004; SILVA; SÃO CLEMENTE, 2001; SILVA et al., 2000), together with the finding of alive Anisakidae larvae in the musculature of teleosts (KNOFF et al., 2007; PADOVANI et al., 2005; SAAD; LUQUE, 2009).

The ingestion of raw fish meat (sashimi, sushi and "ceviche"), or smoked fish is becoming more frequent than ever in great Brazilian urban centers; the meat derives from marine and freshwater fish, including autochthonous or imported species that could promote the appearing of human anisakiasis in Brazil, taking into account the increasing popularity of restaurants and fast food facilities, specialized in serving exotic dishes as reported by Germano and Germano (1998). According to McCarthy and Moore (2000) the change of alimentary habits is an important cause for the establishment of helminth zoonotic infections, thus increasing the risk factors. Amato and Barros (1984) have reinforced this argument suggesting that anisakiasis may become an emergent zoonosis in Brazil. In addition, Pereira et al. (2000) have asserted that a major risk factor for infections is related to the frequent travels people

choose, for business or fun, to countries in which exotic alimentary habits are maintained, along with the importation of natural, smoked or salted marine products. The World Health Organization - WHO informs that human infections can be prevented by avoiding the ingestion of raw fish meat, remarking that most of the anisakid species harmful to humans die under high temperatures; nevertheless, even the ingestion of well cooked fish meat containing dead larvae can promote the appearance of allergenic processes (ACHA; SZYFRES, 2003; ALONSO et al., 1997; AUDICANA et al., 2002; KASUYA et al., 1990).

### Conclusion

The report on the presence of anisakid larvae emphasizes the importance of the Sanitary Inspection Service in adopting specific procedures to detect the presence of larvae and promote their control, considering their zoonotic threat; the prevention of anisakiasis mostly depends on the population sanitary education together with the knowledge of proper rules to be followed in order to avoid the spreading of this zoonosis (KNOFF et al., 2007; TAVARES; LUQUE, 2006).

### Acknowledgements

To Caroline Del Giudice de Andrada, MVD and Rodrigo do Espírito Santo Padovani, MVD for the technical support during their fellowship grants from the LHPV/IOC, to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq and to Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado Rio de Janeiro - Fapej for partial financial support.

### References

- ABDALLAH, V. D.; AZEVEDO, R. K.; LUQUE, J. L. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos do sairú *Cyphocharax gilbert* (Quoy e Gaimard, 1824) (Characiformes: Curimatidae) do Rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 4, p. 154-159, 2005.
- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. *Zoonoses and communicable diseases common to man and animals*. 3rd ed. Washington, D.C.: PAHO, 2003. v. III
- ADAMS, A. M.; MURREL, K. D.; CROSS, J. H. Parasites of fish and risk to public health. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, v. 16, n. 2, p. 652-660, 1997.
- ALONSO, A.; DASCHNER, A.; MORENO-ANCILO, A. Anaphylaxis with *Anisakis simplex* in the gastric mucosa. *The New England Journal of Medicine*, v. 337, n. 5, p. 350-351, 1997.

- AMATO, J. F. R.; BARROS, G. C. Anisakíase humana no Brasil. Problema inexistente ou não pesquisado. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 6, n. 1, p. 12, 1984.
- AMATO, J. F. R.; BOEGER, W. A.; AMATO, S. B. **Protocolos para laboratório-coleta e processamento de parasitos de pescado**. 1. ed. Seropédica: Imprensa Universitária, UFRRJ, 1991.
- AUDICANA, M. T.; ANSOTEGUI, I. J.; CORRES, L. F.; KENNEDY, M. W. *Anisakis simplex*: dangerous - dead and alive? **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 1, p. 20-25, 2002.
- BRASIL-SATO, M.; SANTOS, M. D. Metazoan parasites of *Conorhynchus conirostris* (Valenciennes, 1840), an endemic siluriform fish of the São Francisco Basin, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 4, p. 160-166, 2005.
- BUSH, A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575-583, 1997.
- DASCHNER, A.; ALONSO-GÓMEZ, A.; MORA, C.; MORENO-ANCILLO, A.; VILLANUEVA, R.; LÓPEZ-SERRANO, M. C. Anisakiasis gastro-alérgica con parasitación masiva. **Revista Espanhola de Alergología e Immunologia Clínica**, v. 12, n. 6, p. 370-372, 1997.
- EIRAS, J. C.; REGO, A. A. The hystopathology of *Scomber japonicus* infection by *Nematobothrium scombri* (Trematoda: Didymozoidae) and of larval anisakid nematode infections in the liver of *Pagrus pagrus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, n. 2, p. 155-159, 1987.
- FELIZARDO, N. N.; MENEZES, R. C.; TORTELLY, R.; KNOFF, M.; PINTO, R. M.; GOMES, D. C. Larvae of *Hysterothylacium* sp. (Nematoda: Anisakidae) in the sole fish *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from the littoral of the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 166, n. 1/2, p. 175-177, 2009a.
- FELIZARDO, N. N.; KNOFF, M.; PINTO, R. M.; GOMES, D. C. Larval Anisakid nematodes of the flounder, *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from Brazil. **Neotropical Helminthology**, v. 3, n. 2, p. 57-64, 2009b.
- FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil**. II Teleostei (1). São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1978.
- GARCÍA, J. M. G.; ARAUZO, M. J. R. Dolor torácico anginoso como manifestación inicial de anisakiasis gástrica. **Annales de Medicina Interna**, v. 21, n. 4, p. 185-186, 2004.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Anisakiase: zoonose parasitária emergente no Brasil? **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 54, p. 26-35, 1998.
- GÓMEZ, B.; LASA, E.; ARROABARREN, S.; GARRIDO, S.; ANDA, M.; TABAR, A. I. Allergy of *Anisakis simplex*. **Annales del Sistema Sanitário de Navarro**, v. 26, supl. 2, p. 25-30, 2003.
- HUANG, W.; BUSSIÉRAS, J. Anisakidés et anisakidoses humaines. Première partie: Données bibliographiques. **Annales de Parasitologie Humaine et Compare**, v. 63, n. 2, p. 119-132, 1988.
- KASUYA, S.; HAMANO, H.; IZUMI, S. Mackerel-induced urticaria and *Anisakis*. **Lancet**, v. 335, n. 8690, p. 665, 1990.
- KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S. C.; GOMES, D. C.; PADOVANI, R. E. S. Primeira ocorrência de larvas de *Anisakis* sp. na musculatura de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. 1/2, p. 119-120, 2004.
- KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S. C.; FONSECA, M. C. G.; ANDRADA, C. D. G.; PADOVANI, R. E. S.; GOMES, D. C. Anisakidae parasitos de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, de interesse na saúde pública. **Parasitologia Latinoamericana**, v. 62, n. 3/4, p. 127-133, 2007.
- LACERDA, A. C. F.; SANTIN, M.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C.; BIALETZKI, A.; TAVERNARY, F. C. Helminths parasitizing larval fish from pantanal, Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 83, n. 1, p. 51-55, 2009.
- LUQUE, J. L.; POULIN, R. Use of fish as intermediate hosts by helminth parasites: a comparative analysis. **Acta Parasitologica**, v. 49, n. 4, p. 353-361, 2004.
- MCCARTHY, J.; MOORE, T. A. Emerging helminth zoonosis. **International Journal of Parasitology**, v. 30, n. 12/13, p. 1351-1360, 2000.
- MERCADO, R.; TORRES, P.; MAIRA, J. Human cases of gastric infection by a fourth larval stage of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae). **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 178-181, 1997.
- MERCADO, R.; TORRES, P.; MUÑOZ, V.; APT, W. Human infection by *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae) in Chile: Report of seven cases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 653-655, 2001.
- MOTTA, M. R. A.; PINHEIRO, D. C. S. N.; CARVALHO, V. L.; VIANA, D. A.; VICENTE, A. C. P.; INÍGUEZ, A. M. Gastric lesions associated with the presence of *Anisakis* spp. Dujardin, 1845 (Nematoda: Anisakidae) in Cetaceans stranded on the coast of Ceara, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 2, p. 91-95, 2008.
- PADOVANI, R. E. S.; KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S. C.; MESQUITA, E. F. M.; JESUS, E. F. O.; GOMES, D. C. The effect of *in vitro* gamma radiation on *Anisakis* sp. larvae collected from the pink cusk-eel, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 12, n. 1/3, p. 137-141, 2005.
- PEREIRA, A. D.; ATUI, M. B.; TORRES, D. M. A. G. V.; MANGINI, A. C. S.; ZAMBONI, C. Q. Incidência de parasitos da família Anisakidae em bacalhau (*Gadus morhua*) comercializados no Estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 59, n. 1/2, p. 45-49, 2000.
- PEREZ, J. A. A.; WARLICH, R.; PESSUTO, P. R.; LOPES, F. R. A. Estrutura e dinâmica da pescaria do peixe sapo *Lophius gastrophysus* no sudeste e sul do Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 28, n. 2, p. 205-231, 2002.

- PETTER, A. J.; MAILLARD, C. Larves d'ascarides parasites de poissons en Méditerranée Occidentale, **Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle**, v. 10, n. 2, p. 347-369, 1988.
- PRADO, S. P. T.; CAPUANO, D. M. Relato de nematóides da família Anisakidae em bacalhau comercializado em Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 6, p. 580-581, 2006.
- PURELLO-D'AMBRÓSIO, F.; PASTORELLO, E.; GANGEMI, S.; LOMBARDO, G.; RICCIARDI, L.; FOGLIANI, O.; MERENDINO, R. A. Incidence of sensitivity to *Anisakis simplex* in a risk population of fishermen/fishmongers. **Annales of Allergy Asthma and Immunology**, v. 84, n. 4, p. 439-444, 2000.
- RAMELLA, M. S.; KROTH, M. A.; TAGLIARI, C.; ARISI, A. N. M. Optimization of random amplified polymorph DNA protocol for molecular identification of *Lophius gastrophysus*. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 733-735, 2005.
- REGO, A. A.; VICENTE, J. J.; SANTOS, C. P. Parasitas de anchovas, *Pomatomus saltatrix* (L.) do Rio de Janeiro. **Ciência e Cultura**, v. 35, n. 9, p. 1329-1336, 1983.
- REGO, A. A.; CARVAJAL, J.; SCHAEFFER, G. Patogenia del hígado de peces (*Pagrus pagrus* L) provocada por larvas de nematodos Anisakidae. **Parasitologia al Día**, v. 9, n. 2, p. 75-79, 1985.
- RODRÍGUEZ, M. C. V.; TENA, E. V.; CALVILLO, M. C.; VILLACAMPA, M. M. Dolor abdominal recidivante: afectación gástrica e ileal por anisakis. **Annales de Medicina Interna**, v. 23, n. 11, p. 556-557, 2006.
- RUBIO, C.; LASA, E.; ARROABARREN, E.; GARRIDO, S.; GARCÍA, B. E.; TABAR, A. I. Anafilaxia. **Annales del Sistema Sanitario de Navarra**, v. 26, supl. 2, p. 103-110, 2003.
- SAAD, C. D. R.; LUQUE, J. L. Larvas de Anisakidae na musculatura do pargo, *Pagrus pagrus*, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, supl. 1, p. 71-73, 2009.
- SALGADO, R. L.; FARIA, G. A. M.; LIMA, F. C. Ocorrência de parasitos da família Anisakidae em pescado comercializado no município de Niterói/RJ, e sua importância para a saúde pública. **Arquivo de Ciência Veterinária e Zoologia**, v. 7, n. 2, p. 69, 2004.
- SILVA, L. J. O.; LUQUE, J. L.; ALVES, D. R.; PARAGUASSÚ, A. R. Ecologia da comunidade parasitária do peixe-espada *Trichiurus lepturus* (Osteichthyes: trichiuridae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 2, n. 2, p. 115-133, 2000.
- SILVA, C. M.; SÃO CLEMENTE, S. C. Nematóides da família Anisakidae e cestóides da ordem Trypanorhyncha em filés de dourado (*Coryphaena hippurus*) e aricó (*Lutjanus synagris*) e sua importância na inspeção de pescado. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 80/81, p. 75-79, 2001.
- TAVARES, L. E. R.; LUQUE, J. L. Sistemática, biologia e importância em saúde coletiva de larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas de peixes ósseos marinhos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. In: SILVA-SOUZA, A. T. (Ed.). **Saúde de Organismos Aquáticos no Brasil**. Maringá: Abrapoa, 2006. p. 297-328.
- TEKIN-ÖZAN, S.; KIR, I. Accumulation of some heavy metals in *Raphidascaris acus* (Bloch, 1779) and its host (*Esox lucius* L., 1758). **Türkiye Parazitoloji Dergisi**, v. 31, n. 4, p. 327-329, 2007.
- TIMI, J. T.; SARDELLA, N. H.; NAVONE, G. T. Parasitic nematodes of *Engraulis anchoita* Hubbs et Marini, 1935 (Pisces, Engraulidae) off the Argentine and Uruguayan coasts, South West Atlantic. **Acta Parasitologica**, v. 46, n. 3, p. 186-193, 2001.
- VALENTIM, M. F. M.; CARAMASCHI, E. P.; VIANNA, M. Biologia e ecologia de peixes do gênero *Lophius* (Lophiidae, Lophiiformes), com ênfase em *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915: Status atual. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 4, p. 503-520, 2007.
- VALENTIM, M. F. M.; CARAMASCHI, E. P.; VIANNA, M. Feeding ecology of monkfish *Lophius gastrophysus* in the South-western Atlantic Ocean. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 88, n. 1, p. 205-212, 2008.

Received on January 10, 2011.

Accepted on August 31, 2011.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

3.2 ARTIGO 2: INTEGRATE TAXONOMY OF ANISAKIDAE AND RAPHIDASCARIDIDAE NEMATODES OF *Paralichthys patagonicus* AND *Xystreurys rasile* (PISCES: TELEOSTEI) OF SANITARY IMPORTANCE IN THE SOUTH EASTERN BRAZIL MARINE ECOREGION

Autores:

Michelle Cristie Gonçalves da Fonseca, Marcelo Knoff, Alena Mayo Iñiguez, Maria Isabel N. Di Azevedo, Eduardo José Lopes Torres, Delir Corrêa Gomes, Nilza Nunes Felizardo, Sérgio Carmona de São Clemente

Submetido para publicação em 18/01/2016 no Periódico: International Journal of Food Microbiology (Qualis A1 - Capes 2014)

**Integrate taxonomy of Anisakidae and Raphidascarididae nematodes of *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* (Pisces: Teleostei) of sanitary importance in the South Eastern Brazil marine ecoregion**

**Michelle Cristie Gonçalves da Fonseca<sup>a</sup>, Marcelo Knoff<sup>b,\*</sup>, Alena Mayo Iñiguez<sup>c</sup>, Maria Isabel N. Di Azevedo<sup>c</sup>, Eduardo José Lopes Torres<sup>d</sup>, Delir Corrêa Gomes<sup>b</sup>, Nilza Nunes Felizardo<sup>a</sup>, Sérgio Carmona de São Clemente<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>Laboratório de Inspeção e Tecnologia do Pescado, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brazil Filho, 64, Vital Brazil, Niterói, RJ, 24230-340, Brazil

<sup>b</sup>Laboratório de Helminthos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Avenida Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21045-900, Brazil

<sup>c</sup>LABTRIP, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Avenida Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21045-900, Brazil

<sup>d</sup>Laboratório de Helminthologia Romero Lascasas Porto, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Escola de Ciências Médicas, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rua Prof. Manuel de Abreu 444, 5º andar, Vila Isabel, Rio de Janeiro, RJ, 20550-170, Brazil

**ABSTRACT**

From February 2007 to March 2015, 66 flounders specimens (Pleuronectiformes, Paralichthyidae) were collected in the State of Rio de Janeiro, Brazil, i.e., 36 *Paralichthys patagonicus* and 30 *Xystreurys rasile* specimens. The fish were measured, necropsied, filleted, and further had their organs analyzed. They were parasitized with Anisakidae and Raphidascarididae nematodes larvae. The specimens were parasitized with *Anisakis typica*, *Terranova* sp., *Contracaecum* sp., *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* and *Raphidascaris* sp. The parasitary indices of prevalence, intensity, mean intensity, abundance, mean abundance, range of infection, and infection site of each parasite species are presented. The taxonomic identification was based on morphological and morphometrical characters, and genetic analyses was used for *Anisakis typica* and *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum*. Genetic characterization confirmed the species identification of *Anisakis* and *Hysterothylacium*

specimens, as demonstrated by phylogenetic analysis, using both ITS and *cox2* molecular targets. That is the first report of *A. typica*, *H. deardorffoverstreetorum*, and *Raphidascaris* sp. parasitising these flounder species. Considerations on the zoonotic potential of the parasites and their roles in sanitary inspection are presented.

\* Corresponding author. Tel.: +55 21 2562-1462; fax: +55 21 2562-1511

*E-mail address*: knoffm@ioc.fiocruz.br (M. Knoff)

#### Keywords:

Anisakidae, Raphidascarididae, Nematodes, *Paralichthys patagonicus*, *Xystreureys rasile*, Brazil

## 1. Introduction

Flounder species included in Paralichthyidae occurring in the Brazilian coast, represent one of the most outstanding fishery resources in Brazil (Figueiredo and Menezes, 2000), and is widely sold in domestic and foreign markets.

Parasitic nematodes are known as important pathogens that cause problems for human and animal's health. Some of them naturally inhabit the marine environment, where they are widespread and can be found on different hosts' variety. Adults are commonly found in the digestive tract of marine mammals that are definitive hosts: when larvae infect aquatic invertebrates and other vertebrates like fish, these ones are intermediate hosts (Klimpel and Palm, 2011).

Parasitic infections associated with consumption of fishery products have always been a concern for the public health and for economy. Recently, the World Health Organization (WHO, 2013) has estimated a prevalence of approximately 56 million cases worldwide and about 400 million individuals exposed to parasitic infections risk (WHO, 2013). The main food-borne zoonoses associated with the consumption of fishery products are mainly attributable to trematodes, cestodes and nematodes *Anisakis* Dujardin, 1845, *Contracaecum* Railliet and Henry, 1912, and *Pseudoterranova* Mozgovoi, 1951 genera (Adams et al., 1997; Arcangeli et al., 1997; D'amico et al., 2014; Hochberg et al., 2010; Klimpel and Palm, 2011; Nagasawa and Moravec, 1995; Piccolo et al., 1999). Among these parasites, the anisakids are the most important under

the sanitary point of view, since they are capable to induce pathologies in humans such as anisakidosis, anisakiosis and pseudoterranovosis (Bandes et al., 2005; Chai et al., 2005; Klimpel and Palm, 2011; Puccio et al., 2008). In humans, this parasitosis can occur after the ingestion of raw, poor cooked/smoked or superficially salted fish meat containing infective larvae (Acha and Szyfres, 2003; Audicana et al., 2002; Huang and Bussi eras, 1988). Larvae can remain in the stomach cavity, without invading the tissues, causing a generally asymptomatic infection. In the invasive cases, larvae migrate to the gastric or intestinal mucosa inducing the appearance of edema, ulcers and bleeding (Acha and Szyfres, 2003); cases of angioedema, nausea, vomiting, diarrhea, acute cutaneous rash, anaphylaxis, allergy, abdominal tumors, polyarthritis, angina-like thoracic pain, epigastric pain, bronchi spasm, empty stomach sensation, gastric ulcer simulation, ileitis and appendicitis can occur (Alonso et al., 1997; Audicana et al., 2002; Daschner et al., 1997; García and Arauzo, 2004; Gómez et al., 2003; Mercado et al., 1997, 2001; Purello-D'ambrosio et al., 2000; Rodríguez et al., 2006; Rubio et al., 2003). In Brazil, there is only one reported case of anisakidosis (Cruz et al., 2010).

In Brazil, the nematodes have been referred parasitizing some species of marine teleost fish (Bicudo et al., 2005; Dias et al., 2011; Felizardo et al., 2009a; Fontenelle et al., 2013, 2015; Knoff et al., 2007, 2013; Ribeiro et al., 2014; São Clemente et al., 1995).

In South America, there are studies of parasites of some flounders of Paralicthyidae species in Brazil and Argentina. Report in Argentina was about the parasite community of three flounder species, *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890, *Paralichthys patagonicus* Jordan, 1889 and *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891). Records in Brazil were about the copepods *Caligus* sp., parasites of *P. orbignyanus* (Valenciennes, 1839); anisakid and raphidascaridid nematodes, parasites of *P. isosceles*; cestodes (Diphyllobothriidae and Trypanorhyncha) and trematodes (Didymozoidae), parasites of *P. isosceles* and *P. patagonicus*; and cestodes (Trypanorhyncha), parasites of *X. rasile* (Felizardo et al., 2009a, b, 2010, 2011; Fonseca et al., 2012; Knoff et al., 2012; Robaldo et al., 2002); and the anisakid and raphidascaridid nematodes, parasites of *P. isosceles*, collected in Brazil and Argentina (Alarcos and Timi, 2012; Alarcos et al., 2016).

Molecular biology has been used as an important tool for species identification and taxonomic studies of larvae and adults of anisakid and raphidascaridid nematodes, supporting the understanding of its biogeographical distribution (Di Azevedo et al.,

2015; Kijewska et al., 2002; Klimpel et al., 2007; Knoff et al., 2012; Kong et al., 2015; Mattiucci et al., 2007, 2009; Pontes et al., 2005; Shamsi et al., 2013).

The present study aimed to investigate genetic and morphological characters of the anisakid and raphidascaridid nematodes larvae infecting *P. patagonicus* and *X. rasile* commercialized in the State of Rio de Janeiro, Brazil, and, thus, to establish the proper species and their parasitary indices, relating to prevalence, mean intensity, mean abundance, range of infection, and infection sites, along with their sanitary importance.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Hosts, study area, and parasite collection

A total of 66 flounder specimens, i.e., 36 *Paralichthys patagonicus*, measuring 28.5-59 cm (40.8 cm) in length and weighing 280-2530 g (820.4 g) (February 2007 - March 2015), and 30 *Xystreurys rasile*, measuring 11.5-31 cm (24.3 cm) in length and weighing 20-240 g (158.5 g) (September - December 2010), were obtained in markets of the municipalities of Cabo Frio, Niterói, and Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil, considering the South Eastern Brazil marine ecoregion, in accordance with Spalding et al. (2007). Fish were maintained in isothermal boxes with ice and carried to the Laboratory of Helminth Parasites of Vertebrates, Oswaldo Cruz Institute (IOC), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro. Fish species were identified in accordance with Nakamura et al. (1986) and Figueiredo and Menezes (2000). Nematodes were collected, fixed, clarified, and preserved, in accordance with Eiras et al. (2006) and Knoff and Gomes (2012).

### 2.2. Morphological identification of parasites

The systematic position and phylogeny of the nematodes are in accordance with De Ley and Blaxter (2004) and taxonomic classification used for the Anisakidae and Raphidascarididae followed Fagerholm (1991) system, and larval identification was obtained in accordance with Bicudo et al. (2005), Felizardo et al. (2009a), Incorvaia and Díaz de Astarloa (1998), Knoff et al. (2012), Petter and Maillard (1988), and Timi et al. (2001). Measurements were obtained for specimens by bright field microscopy with



Olympus BX 41 and are in millimetres; ranges are followed by means in parentheses. Part of the specimens was processed by scanning electron microscopy (SEM). This material was processed as described by Lopes Torres et al. (2013). The samples were examined under a JEOL 5320 scanning electron microscope, operating at acceleration voltage of 15 kV.

### 2.3. Molecular and phylogenetic analysis

For genetic analysis, nematodes were ground with liquid nitrogen and DNA extraction, using QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen), as described by Iñiguez et al. (2012). Polymerase Chain Reactions (PCR) were performed targeting the first internal transcribed spacer (ITS-1) and the cytochrome c oxidase subunit II (*cox2*) gene, using primers and PCR conditions described by Nadler and Hudspeth (2000) and Knoff et al. (2012), respectively. PCR products were analyzed by electrophoresis in agarose gels and visualized under UV light, after ethidium bromide staining. Amplicons were directly sequenced using Big Dye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction kit (Applied Biosystems) in a 3100 Automated DNA Sequencer as recommended by the suppliers.

Pairwise/Blast/NCBI, SeqMan v7.0, ClustalW v1.35 (Thompson et al., 1994) and BioEdit v7.0.1 (Hall, 1999) softwares were used for editing and sequence analysis. Neighbor-Joining (NJ) phylogenetic trees were inferred using Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) v 6 (Tamura et al., 2013), with Kimura-2-Parameters (K2P) model, following Barcoding CBOL protocol (<http://www.barcoding.si.edu/PDF/Guidelines.pdf>). Additionally, Maximum Likelihood (ML) trees were constructed using the model selected by the Model Selection tool built in MEGA, which were Tamura-Nei (TN93) for *cox2* gene and K2P for ITS-1 region. Complete deletion and gamma distribution parameters were used. One thousand bootstrap replicates were applied to evaluate the reliability of clusters. *Anisakis berlandi* (GenBank DQ116429), *Pseudoterranova decipiens* (GenBank AY 821737) and *Pseudoterranova ceticola* (GenBank DQ116435) were used as outgroup for *cox2* gene (*Hysterothylacium* sp.), ITS-1 region (*Hysterothylacium* sp.), and *cox2* gene (*Anisakis* sp.), respectively. The

nucleotide sequences were deposited on GenBank with the accession numbers KU356695 – KU356703.

#### 2.4. Parasitary indices and nematode deposits

The parasitary terms were used according to Bush et al. (1997). The used abridgments are P = prevalence, MI = mean intensity, MA = mean abundance, and RI = range of infection. Collected voucher specimens were deposited in the Helminthological Collection of the Oswaldo Cruz Institute (CHIOC), FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

### 3. Results

#### 3.1. Morphological identification

All hosts (100%) were parasitized by, at least, one species of parasite. A total of 5,915 third-stage nematode larvae (L<sub>3</sub>) were collected, i.e., 5,666 of *P. patagonicus* and 249 of *X. rasile*. Some larvae were alive and showed high motility.

Rhabditida Chitwood, 1933

Spirurina Railliet & Henry, 1915

Ascaridomorpha De Ley & Blaxter, 2002

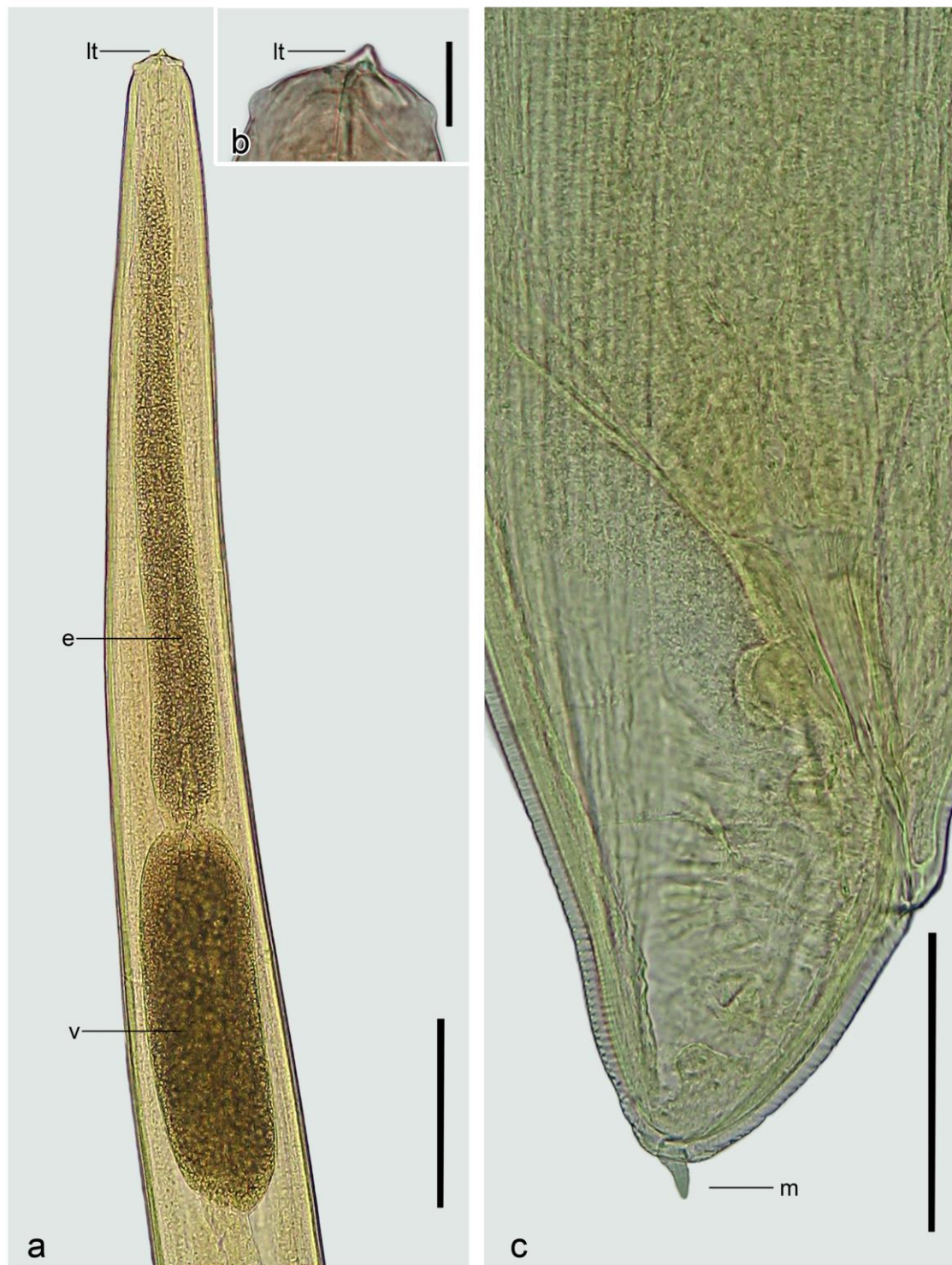
Ascaridoidea Baird, 1853

Anisakidae Railliet & Henry, 1912

*Anisakis* Dujardin, 1809

*Anisakis typica* (Diesing, 1860) (Fig. 1)

Main features observed in five L<sub>3</sub> from *P. patagonicus* and seven from *X. rasile*: cuticle with thin transversal striation. Anterior extremity with a dorsal and two poorly developed ventro-lateral lips. Six cephalic papillae, one pair in the dorsal lip and one pair in each ventro-lateral lip. Boring tooth below the oral aperture, between the two ventro-lateral lips. Excretory pore opening beneath the boring tooth. Deirids inconspicuous. Ventriculus longer than large. Ventricular appendix and intestinal cecum absent. Two nearly spherical rectal glands. Tail conical, mucron present.



**Fig. 1.** *Anisakis typica* collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, ventral view, showing larval tooth (lt), esophagus (e) and ventriculus (v); b) detail of larval tooth (lt), ventral view; c) detail of the tail showing mucron (m). Scale-bars: a = 0.4 mm, b = 0.05 mm, and c = 0.2 mm.

Measurements of larvae from *P. patagonicus* and *X. rasile* are showed in Table 1.

**Table 1**

Morphometric data on *Anisakis typica* third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil.

<i>A. typica</i>	<i>P. patagonicus</i>	<i>X. rasile</i>
	(n=5)	(n=7)
Body length (l)	22.40-24.95 (23.91)	21.05-24.97 (23.33)
Body width (w)	0.40-0.42 (0.41)	0.40-0.47 (0.42)
Nerve ring <sup>a</sup>	0.20-0.25 (0.23)	0.28-0.32 (0.29)
Esophagus (l)	1.75-1.85 (1.80)	1.50-1.70 (1.60)
Esophagus (w)	0.12-0.27 (0.17)	0.18-0.20 (0.18)
Ventriculus (l)	0.67-0.82 (0.73)	0.89-0.94 (0.79)
Ventriculus (w)	0.15-0.27 (0.18)	0.25-0.30 (0.28)
Tail (l)	0.08-0.12 (0.10)	0.09-0.13 (0.10)
Mucron (l)	0.005-0.020 (0.013)	0.005-0.010 (0.007)

<sup>a</sup>Distance to the anterior end.

#### Taxonomic summary

Hosts: *P. patagonicus* (*Pp*) and *X. rasile* (*Xr*).

Localities: Niterói and Cabo Frio (*Pp*) and Rio de Janeiro (*Xr*).

Parasitary indices: P = 11.1%, MI = 1.25, MA = 0.13, RI = 1-2 (*Pp*); P = 16.6%, MI = 1.8, MA = 0.3, RI = 1-3 (*Xr*).

Infection sites: stomach, intestine, liver, and abdominal cavity (*Pp*); stomach, intestine, liver, and abdominal cavity (*Xr*).

Collected specimens: 5 (*Pp*); 9 (*Xr*).

Deposited specimens: CHIOC 36766, 36767, 36768 (*Pp*); CHIOC 36781, 36782, 36783 (*Xr*).

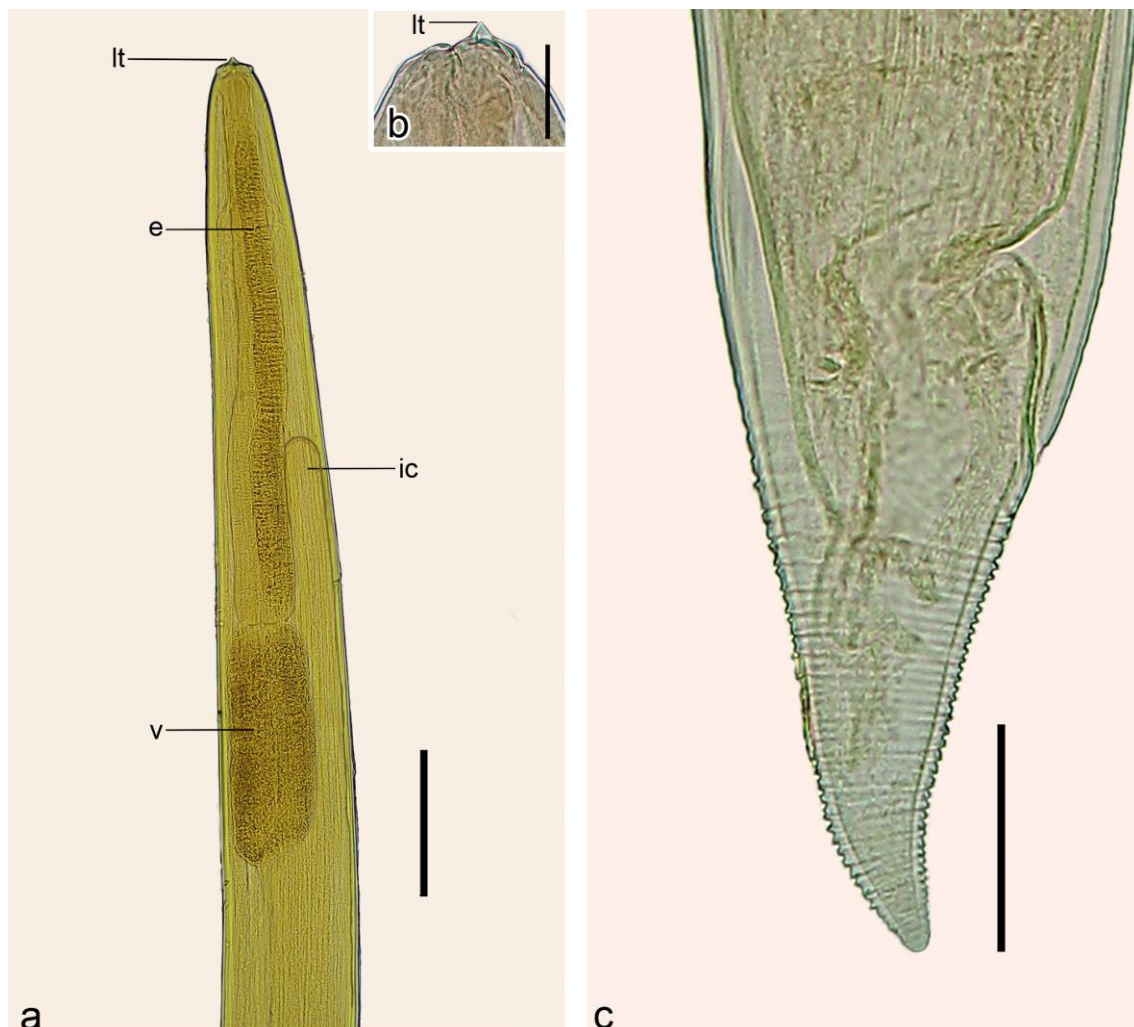
*Terranova* Leiper & Atkinson, 1914

*Terranova* sp. (Figs 2 and 3)

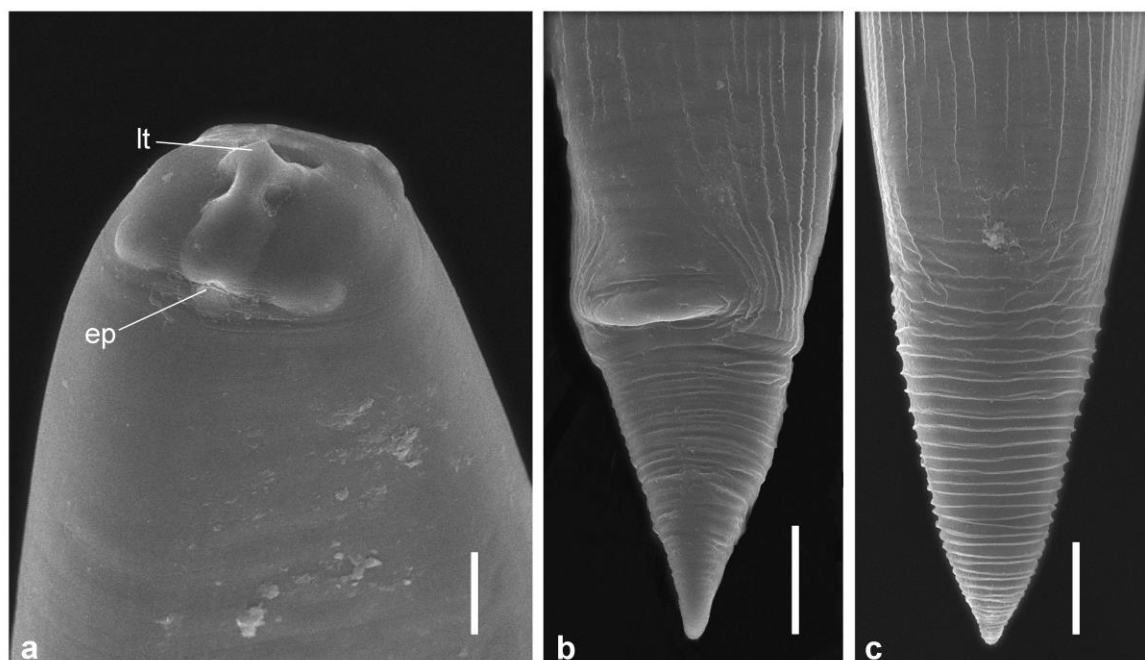
Main features observed in 10 L<sub>3</sub> from *P. patagonicus* and three from *X. rasile*: cuticle with thin transversal striation more evident in the posterior extremity of the

body. Anterior extremity with a dorsal and two poorly developed ventrolateral lips. Six cephalic papillae, one pair in the dorsal lip and one pair in each ventro-lateral lip. Boring tooth below the oral aperture, between the two ventro-lateral lips. Excretory pore opening beneath the boring tooth. Deirids inconspicuous. Ventriculus longer than large. Ventricular appendix absent. Intestinal cecum twice the length of the ventriculus. Two nearly spherical rectal glands. Tail conical, mucron absent.

Measurements of larvae from *P. patagonicus* and *X. rasile* are showed in Table 2.



**Fig. 2.** *Terranova* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, ventral view, showing larval tooth (lt), esophagus (e), intestinal cecum (ic) and ventriculus (v); b) detail of larval tooth (lt), ventral view; c) tail. Scale-bars: a = 0.4 mm, b = 0.05 mm, and c = 0.1 mm.



**Fig. 3.** *Terranova* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*, SEM. a) anterior region, ventro-lateral view, showing larval tooth (lt), and excretory pore (ep); b) tail, ventral view; c) tail, dorsal view. Scale-bars: a = 10  $\mu$ m, b, c = 20  $\mu$ m.

**Table 2**

Morphometric data on *Terranova* sp. third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil.

<i>Terranova</i> sp.	<i>P. patagonicus</i>	<i>X. rasile</i>
	(n=10)	(n=3)
Body length (l)	4.57-7.85 (6.29)	5.72-6.35 (5.97)
Body width (w)	0.16-0.21 (0.17)	0.14-0.18 (0.16)
Excretory pore <sup>a</sup>	0.26-0.29 (0.27)	-
Nerve ring <sup>b</sup>	0.16-0.23 (0.19)	0.17-0.22 (0.19)
Esophagus (l)	0.50-0.87 (0.74)	0.78-0.85 (0.81)
Esophagus (w)	0.05-0.08 (0.06)	0.08-0.14 (0.11)
Ventriculus (l)	0.24-0.44 (0.33)	0.36-0.40 (0.38)
Ventriculus (w)	0.09-0.13 (0.10)	0.15-0.18 (0.16)
Intestinal cecum (l)	0.18-0.42 (0.25)	0.33-0.42 (0.38)
Intestinal cecum (w)	0.03-0.06 (0.04)	0.05-0.08 (0.06)
Tail (l)	0.08-0.16 (0.13)	0.13-0.16 (0.14)

<sup>a</sup>Inconspicuous in some specimens. <sup>b</sup>Distance to the anterior end.

#### Taxonomic summary

Hosts: *P. patagonicus* (*Pp*) and *X. rasile* (*Xr*).

Localities: Rio de Janeiro, Niterói and Cabo Frio (*Pp*) and Rio de Janeiro (*Xr*).

Parasitary indices: P = 33.3%, MI = 2.66, MA = 0.88, RI = 1-11 (*Pp*); P = 10%, MI = 1, MA = 0.1 (*Xr*).

Infection sites: stomach, intestine, liver, abdominal cavity, and abdominal musculature, (*Pp*); intestine, liver, and abdominal cavity (*Xr*).

Collected specimens: 32 (*Pp*); 3 (*Xr*).

Deposited specimens: CHIOC 36769, 36770, 36771 (*Pp*); CHIOC 36784, 36785, 36786 (*Xr*).

#### *Contracaecum* Railliet & Henry 1912

*Contracaecum* sp. (Figs 4 and 5)

Main features observed in four L<sub>3</sub> from *P. patagonicus* and four from *X. rasile*: cuticle with thin transversal striation, more evident in the posterior extremity of the body. Anterior extremity with a dorsal lip and two poorly developed ventrolateral lips. Six cephalic papillae, one pair in the dorsal lip and one pair in each ventro-lateral lip. Boring tooth near the oral aperture, between the two ventrolateral lips. Excretory pore opening beneath the boring tooth. Deirids inconspicuous. Ventriculus small and sub spherical. Ventricular appendix nearly twice longer than the intestinal cecum. Two almost spherical rectal glands. Tail conical, mucron absent.

Measurements of larvae from *P. patagonicus* and *X. rasile* are showed in Table 3.

#### Taxonomic summary

Hosts: *P. patagonicus* (*Pp*) and *X. rasile* (*Xr*).

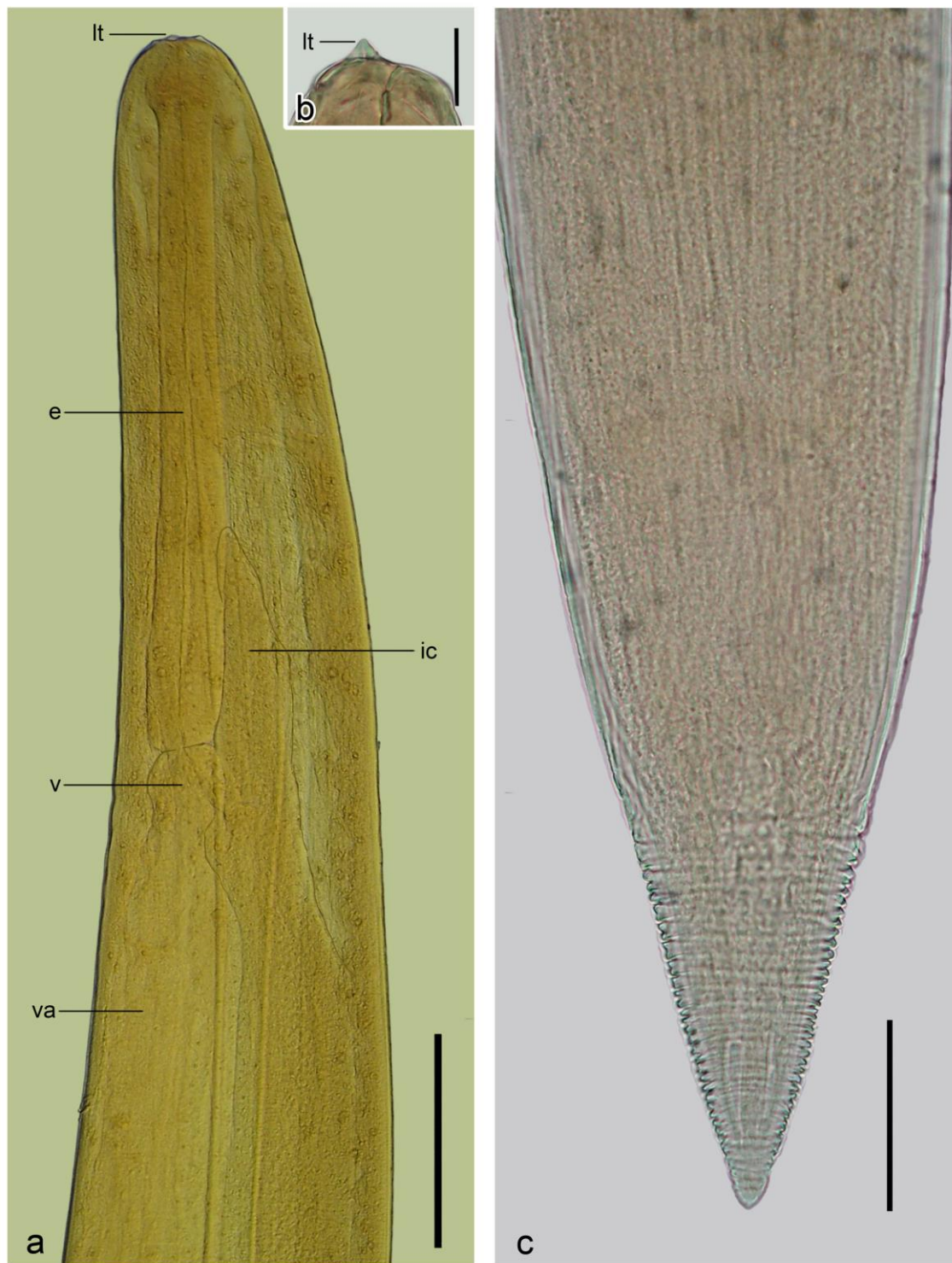
Localities: Niterói (*Pp*) and Rio de Janeiro (*Xr*).

Parasitary indices: P = 8.3%, MI = 1.66, MA = 0.13, RI = 1-3 (*Pp*); P = 13.3%, MI = 1.33, MA = 0.13, RI = 1-2 (*Xr*).

Infection sites: abdominal musculature, stomach, intestine, and abdominal cavity (*Pp*); stomach, intestine, and abdominal cavity (*Xr*).

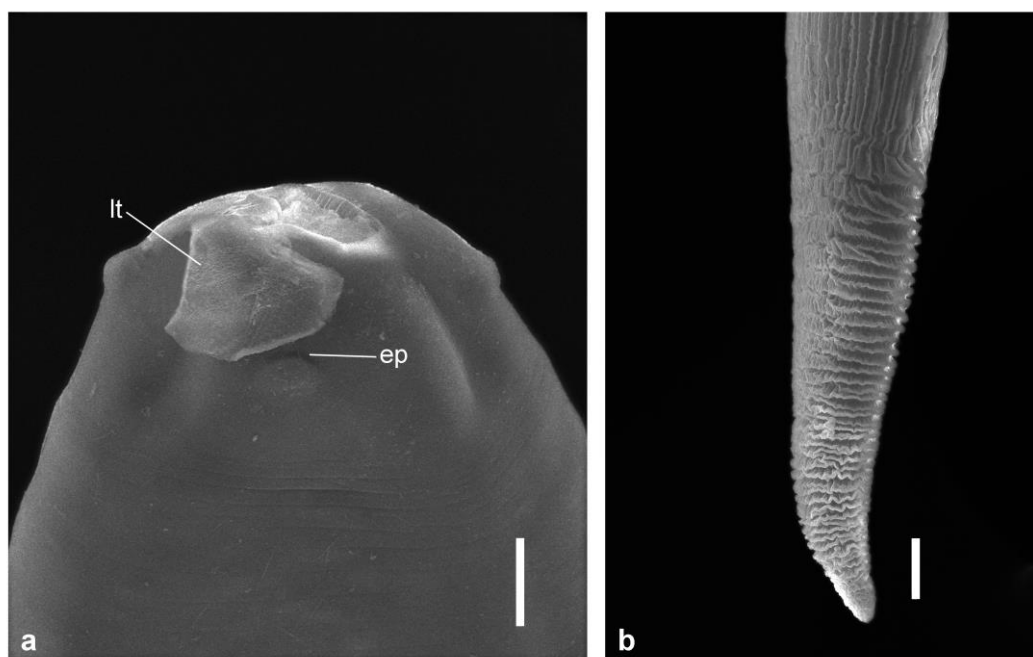
Collected specimens: 5 (*Pp*); 4 (*Xr*).

Deposited specimens: CHIOC 36772, 36773 (*Pp*); CHIOC 36787, 36788 (*Xr*).



**Fig. 4.** *Contracaecum* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, lateral view, showing larval tooth (lt), esophagus (e), ventriculus (v), ventricular appendix (va) and intestinal cecum (ic); b) detail larval tooth (lt), ventral view; c) tail. Scale-bars: a = 0.4 mm, and b and c = 0.1 mm.





**Fig. 5.** *Contracaecum* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*, SEM. a) anterior region, ventro-lateral view, showing larval tooth (lt), and excretory pore (ep); b) tail, lateral view. Scale-bars: a and b = 10  $\mu$ m.

**Table 3**

Morphometric data on *Contracaecum* sp. third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurus rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil.

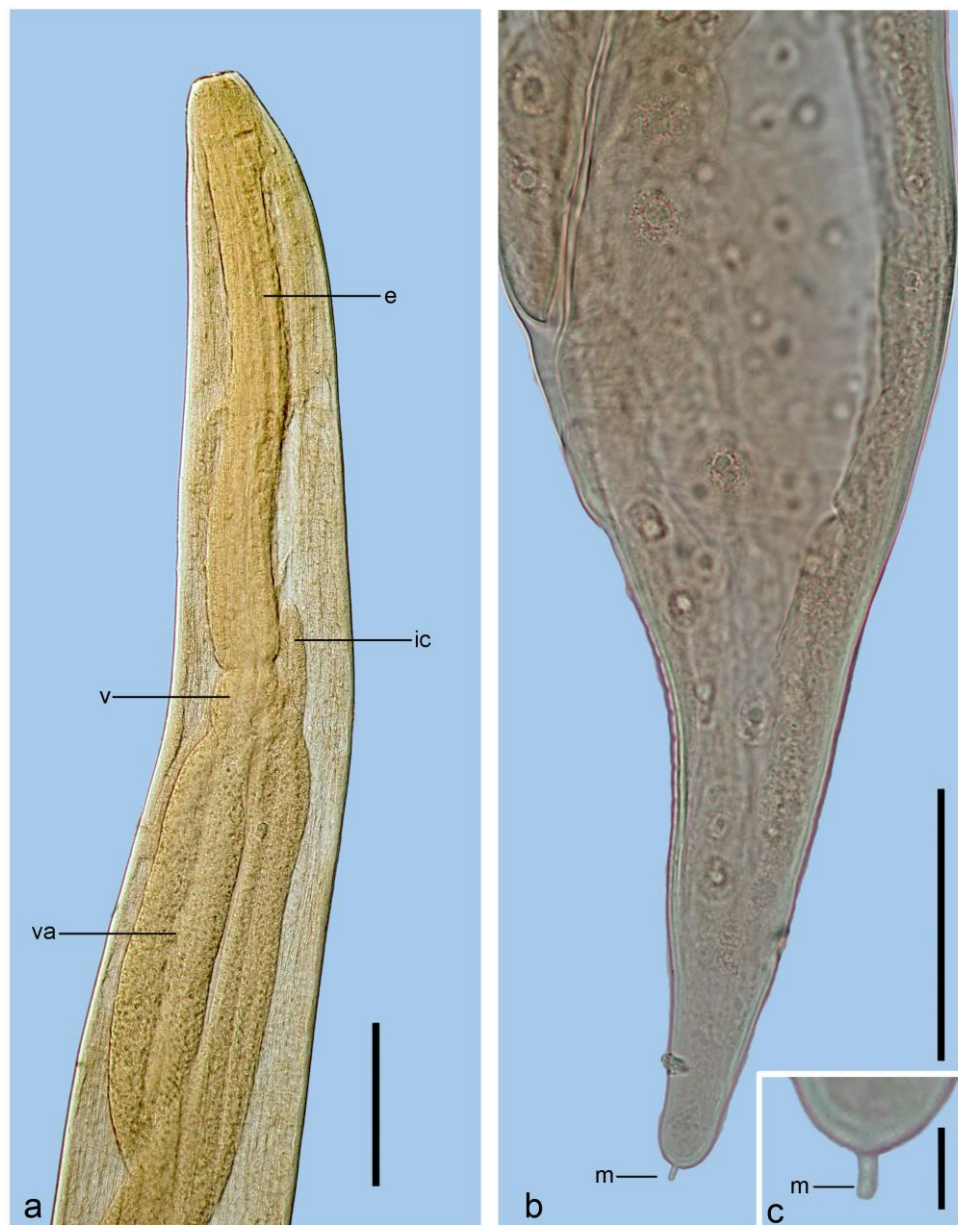
<i>Contracaecum</i> sp.	<i>P. patagonicus</i>	<i>X. rasile</i>
	(n=4)	(n=4)
Body length (l)	3.05-4.80 (4.03)	3.25-4.30 (3.90)
Body width (w)	0.14-0.19 (0.16)	0.14-0.16 (0.15)
Nerve ring <sup>a</sup>	0.16-0.17 (0.16)	0.16-0.17 (0.16)
Esophagus (l)	0.60-0.65 (0.63)	0.55-0.60 (0.57)
Esophagus (w)	0.25-0.28 (0.26)	0.25-0.26 (0.25)
Ventriculus (l)	0.02-0.04 (0.03)	0.04-0.07 (0.05)
Ventriculus (w)	0.030-0.035 (0.031)	0.030-0.040 (0.036)
Appendix ventricular (l)	0.44-0.46 (0.45)	0.44-0.45 (0.44)
Appendix ventricular (w)	0.13-0.16 (0.14)	0.13-0.15 (0.14)
Intestinal cécum (l)	0.26-0.30 (0.27)	0.27-0.29 (0.28)
Tail (l)	0.11-0.14 (0.12)	0.11-0.13 (0.12)

<sup>a</sup>Distance to the anterior end.

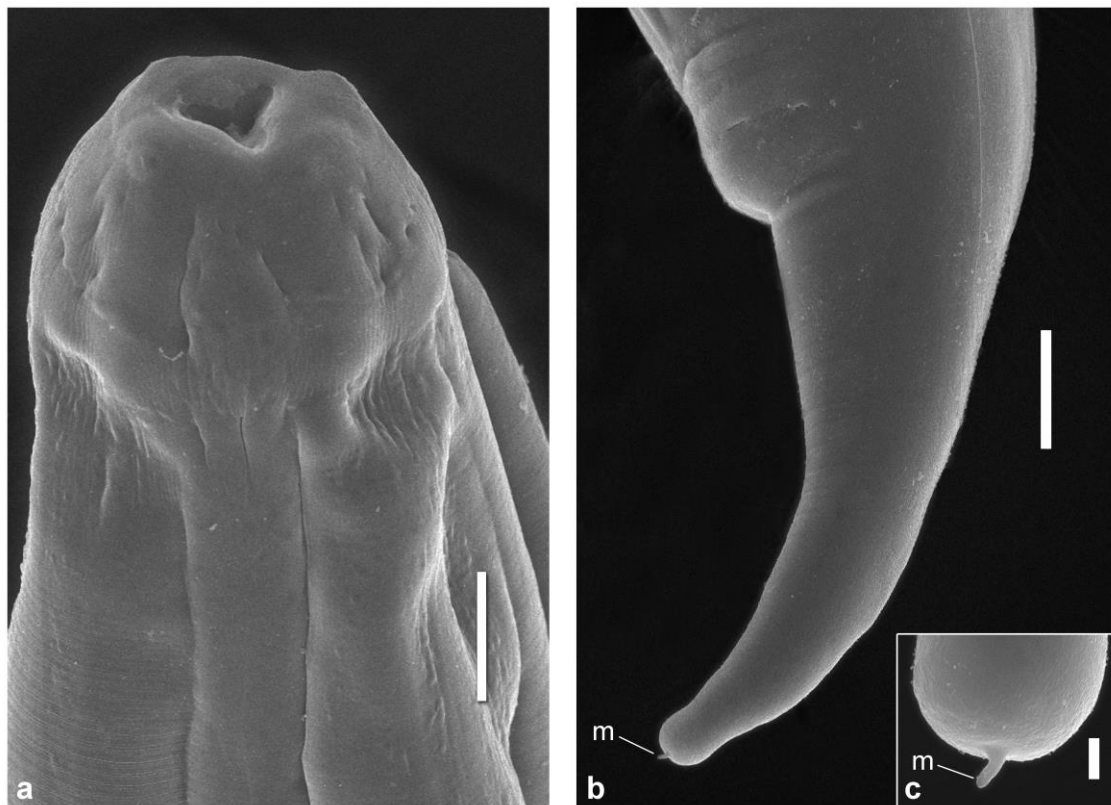
Raphidascarididae Hartwich, 1954

*Hysterothylacium* Ward & Magath, 1917

*Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* Knoff, Felizardo, Iñiguez, Maldonado Jr, Torres, Pinto & Gomes, 2012 (Figs 6 and 7)



**Fig. 6.** *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, ventral view, showing esophagus (e), ventriculus (v), ventricular appendix (va) and intestinal cecum (ic); b) conical tail, lateral view, showing mucron (m); c) detail of mucron (m). Scale-bars: a = 0.4 mm, b = 0.1 mm, and c = 0.025 mm.



**Fig. 7.** *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* collected of *Paralichthys patagonicus*, SEM. a) anterior region, ventro-lateral view; b) tail, ventro-lateral view, showing mucron (m); c) Detail of mucron (m). Scale-bars: a and b = 20  $\mu\text{m}$ , c = 2  $\mu\text{m}$ .

Main features observed in 14 L<sub>3</sub> from *P. patagonicus* and 12 from *X. rasile*: cuticle with lateral alae extending along the body with a wedge-shaped support, devoid of basal extension. Anterior extremity with a dorsal and two poorly developed ventro-lateral lips. Nine cephalic papillae, two pairs in the dorsal lip together with a large papilla and one pair in each ventro-lateral lip. Boring tooth absent. Excretory pore opening below the nerve ring. Ventriculus nearly spherical. Ventricular appendix twice longer than the esophagus. Intestinal cecum present. Four subspherical rectal glands. Tail conical, mucron present.

Measurements of larvae from *P. patagonicus* and *X. rasile* are showed in Table 4.

#### Taxonomic summary

Hosts: *P. patagonicus* (*Pp*) and *X. rasile* (*Xr*).

**Table 4**

Morphometric data on *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreureys rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil.

<i>H. deardorffoverstreetorum</i>	<i>P. patagonicus</i>	<i>X. rasile</i>
	(n=14)	(n=12)
Body length (l)	2.45-17.32 (9.54)	4.50-9.17 (6.31)
Body width (w)	0.12-0.47 (0.25)	0.15-0.29 (0.19)
Excretory pore <sup>a</sup>	0.35	-
Nerve ring <sup>b</sup>	0.31-0.41 (0.37)	0.12-0.26 (0.20)
Esophagus (l)	0.47-1.01 (0.65)	0.40-0.79 (0.53)
Esophagus (w)	0.03-0.10 (0.06)	0.05-0.10 (0.07)
Ventriculus (l)	0.04-0.12 (0.07)	0.05-0.10 (0.08)
Ventriculus (w)	0.03-0.12 (0.08)	0.04-0.10 (0.07)
Appendix ventricular (l)	0.14-0.81 (0.43)	0.43-0.64 (0.50)
Appendix ventricular (w)	0.02-0.18 (0.09)	0.06-0.11 (0.08)
Intestinal cécum (l)	0.05-0.46 (0.16)	0.13-0.23 (0.16)
Tail (l)	0.06-0.21 (0.14)	0.15-0.30 (0.25)
Mucron (l)	0.001-0.004 (0.001)	0.001-0.002 (0.001)

<sup>a</sup> Inconspicuous in some specimens.

<sup>b</sup> Distance to the anterior end.

Localities: Rio de Janeiro, Niterói and Cabo Frio (*Pp*) and Rio de Janeiro and Niterói (*Xr*).

Parasitary indices: P = 100%, MI = 154.2, MA = 154.2, RI = 1-859 (*Pp*); P = 93.3%, MI = 7.21, MA = 6.73, RI = 1-17 (*Xr*).

Infection sites: stomach, intestine, liver, stomach serosa, abdominal cavity, and abdominal musculature (*Pp*); stomach, intestine, liver, abdominal cavity, and abdominal musculature (*Xr*).

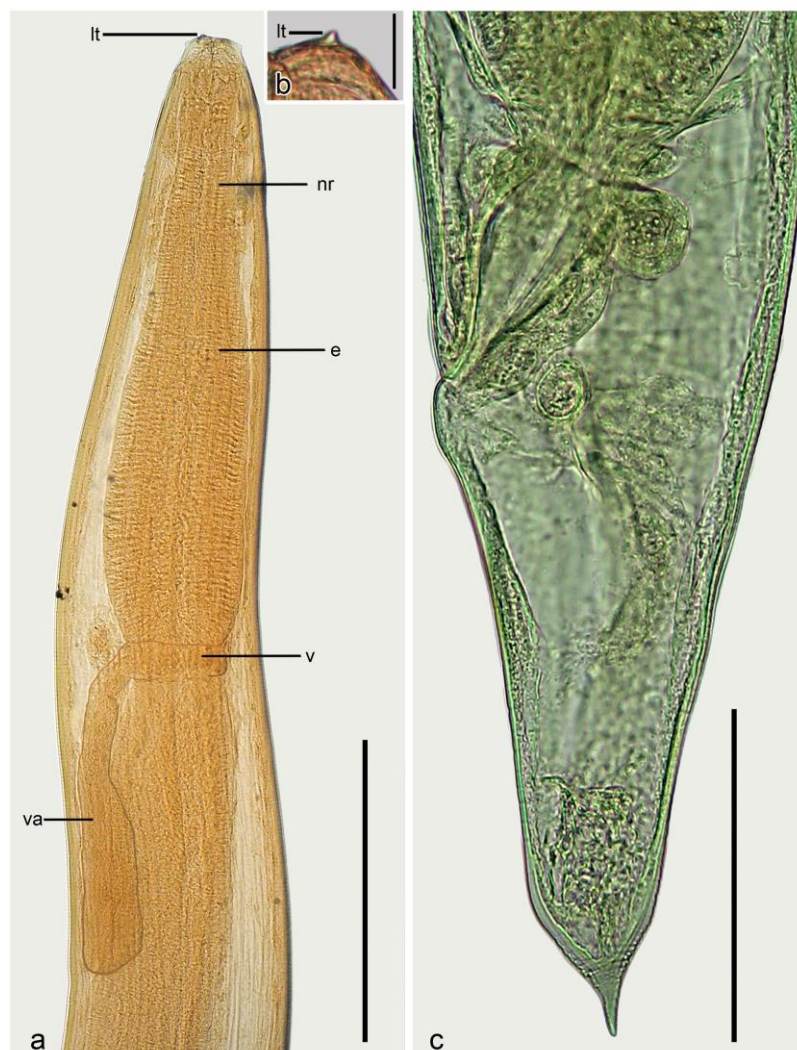
Collected specimens: 5552 (*Pp*); 202 (*Xr*).

Deposited specimens: CHIOC 36774, 36775, 36776, 36777 (*Pp*); CHIOC 36789, 36790, 36791 (*Xr*).

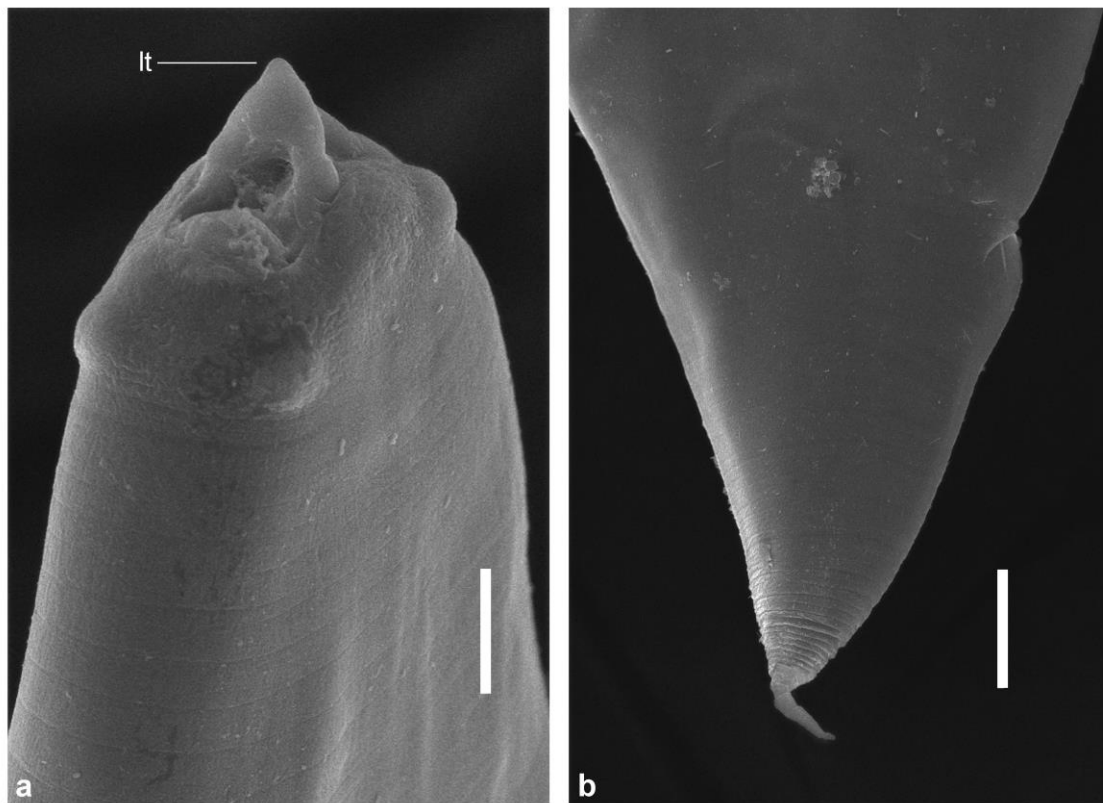
*Raphidascaris* Railliet & Henry, 1915

*Raphidascaris* sp. (Figs 8 and 9)

Main features observed in 12 L<sub>3</sub> from *P. patagonicus* and 12 from *X. rasile*: cuticle smooth, devoid of striations. Lateral alae extending along the body. Poor developed lips. Ventral boring tooth present. Ventriculus wider than long. Ventricular appendix present. Intestinal cecum absent. Excretory pore below the nerve ring. Two rectal glands nearly spherical. Tail pointed with well defined transversal striations in the terminal portion.



**Fig. 8.** *Raphidascaris* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*. a) anterior region, ventral view, showing larval tooth (lt), nerve ring (nr), esophagus (e), ventriculus (v), ventricular appendix (va); b) detail larval tooth (lt), ventral view; c) tail lateral view. Scale-bars: **a** = 0.4 mm, **b** = 0.1 mm, and **c** = 0.2 mm.



**Fig. 9.** *Raphidascaaris* sp. collected of *Paralichthys patagonicus*, SEM. a) anterior region, dorso-lateral view, showing larval tooth (lt); b) tail, lateral view. Scale-bars: a = 10  $\mu\text{m}$  and b = 20  $\mu\text{m}$ .

Measurements of larvae from *P. patagonicus* and *X. rasile* are showed in Table 5.

#### Taxonomic summary

Hosts: *P. patagonicus* (*Pp*) and *X. rasile* (*Xr*).

Localities: Rio de Janeiro, Niterói and Cabo Frio (*Pp*) and Rio de Janeiro (*Xr*).

Parasitary indices: P = 38.8%, MI = 5.14, MA = 2, RI = 1-21 (*Pp*); P = 33.3%, MI = 3.1, MA = 1.03, RI = 1-8 (*Xr*).

Infection sites: stomach, intestine, liver, abdominal cavity, and abdominal musculature (*Pp*); stomach, intestine, liver, abdominal cavity, and abdominal musculature (*Xr*).

Collected specimens: 72 (*Pp*); 31 (*Xr*).

Deposited specimens: CHIOC 36778, 36779, 36780 (*Pp*); CHIOC 36792, 36793, 36794, 36795 (*Xr*).

**Table 5**

Morphometric data on *Raphidascaris* sp. third-stage larvae collected from *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* in the State of Rio de Janeiro, Brazil.

<i>Raphidascaris</i> sp.	<i>P. patagonicus</i>	<i>X. rasile</i>
	(n=12)	(n=12)
Body length(l)	2.81-10.87 (7.11)	1.85-7.75 (5.39)
Body width (w)	0.15-0.35 (0.28)	0.25-0.45 (0.35)
Excretory pore <sup>a</sup>	0.06-0.12 (0.09)	-
Nerve ring <sup>b</sup>	0.14-0.22 (0.20)	0.19-0.24 (0.12)
Esophagus (l)	0.47-0.91 (0.74)	0.60-0.87 (0.78)
Esophagus (w)	0.08-0.19 (0.14)	0.12-0.18 (0.14)
Ventriculus (l)	0.03-0.07 (0.05)	0.05-0.08 (0.06)
Ventriculus (w)	0.07-0.16 (0.12)	0.06-0.14 (0.10)
Appendix ventricular (l)	0.30-0.55 (0.45)	0.37-0.50 (0.43)
Appendix ventricular (w)	0.03-0.09 (0.06)	0.05-0.08 (0.06)
Tail (l)	0.10-0.35 (0.20)	0.10-0.16 (0.13)

<sup>a</sup> Inconspicuous in some specimens.

<sup>b</sup> Distance to the anterior end.

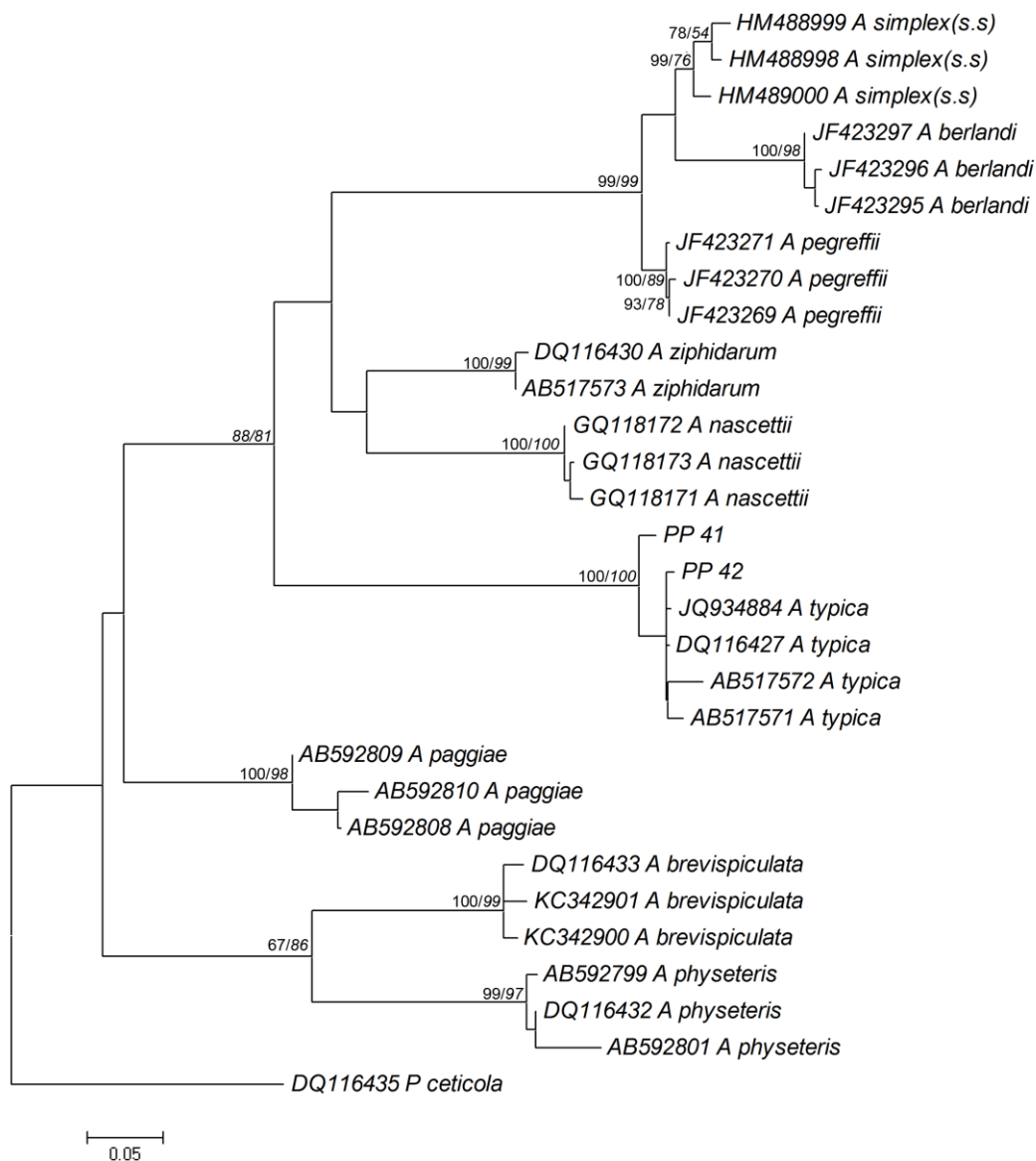
### 3.2. Genetic analysis

Genetic analysis of mtDNA *cox2* and ITS-1 region revealed amplicons with the expected size (629bp and ~500bp, respectively). The pairwise/Blast/NCBI comparisons with GenBank dataset revealed 99% of similarity with *Anisakis typica* dataset (coverage of 99%) of two specimens. Additionally, 13 specimens revealed 98%-100% of similarity with *Hysterothylacium deadorffoverstreetorum* sequences for both markers with coverage higher than 96%.

Concerning *Anisakis* genetic analysis, the topologies of ML and NJ trees for both markers were corroborative, confirming the specimen's identification as *A. typica*. Phylogenetic tree shows *Anisakis* sp. from the present study clustering, with high bootstrap value (NJ= 100%, ML=100%; Fig. 10), with *A. typica* sequences.

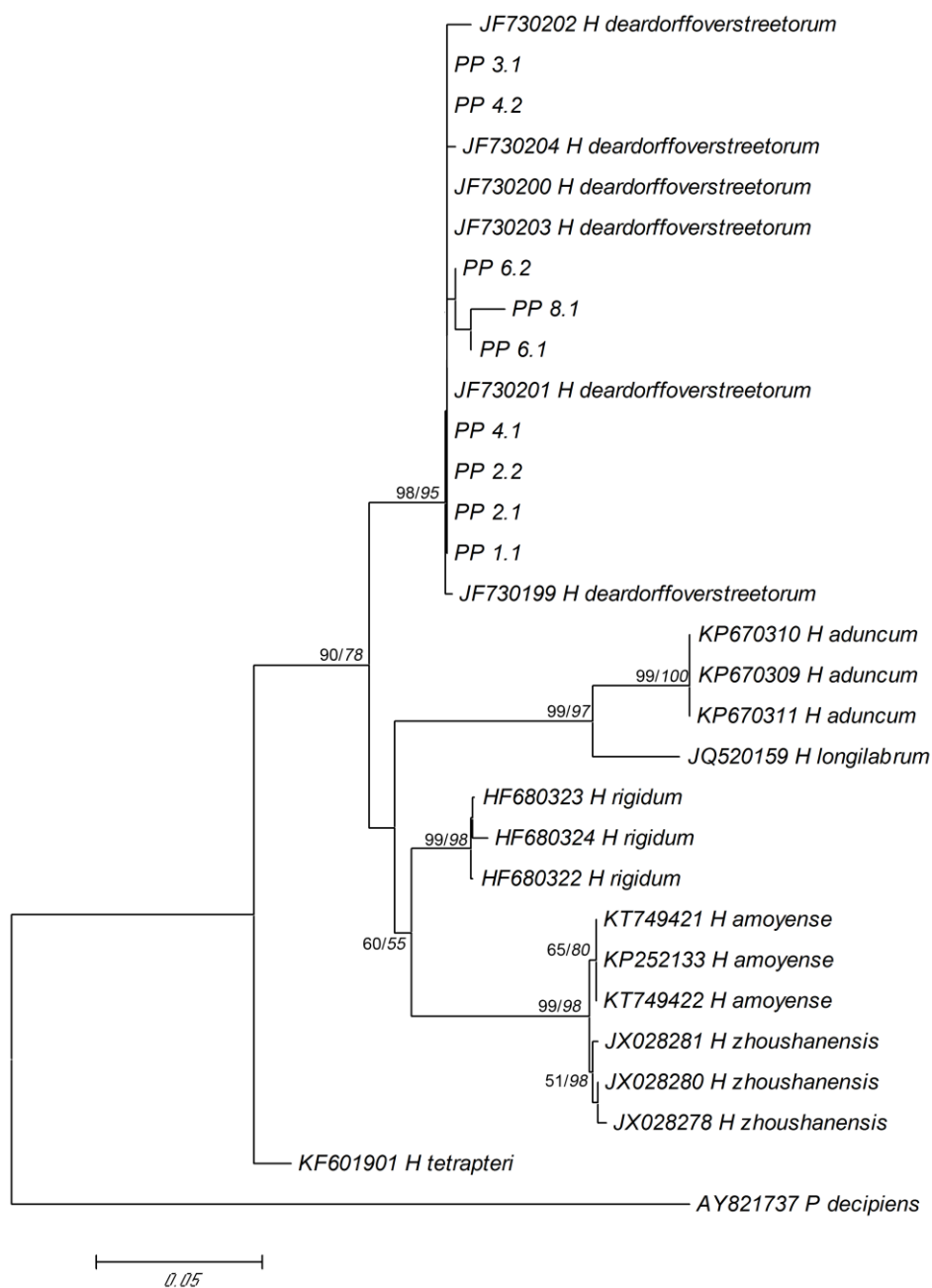
Regarding *Hysterothylacium* analysis, the topologies of ML and NJ trees for both markers were identical confirming the specimen identification as *H.*

*deadorffoverstreetorum*. Phylogenetic analysis revealed *Hysterothylacium* sp. from clustering of this study with *H. deadorffoverstreetorum* sequences in a monophyletic clade with high bootstrap value, both in ITS-1 tree (NJ=98%, ML=95%; Fig. 11), as in mtDNA *cox2* tree (NJ= 100%, ML=100%; Fig. 12). However, in mtDNA *cox2*



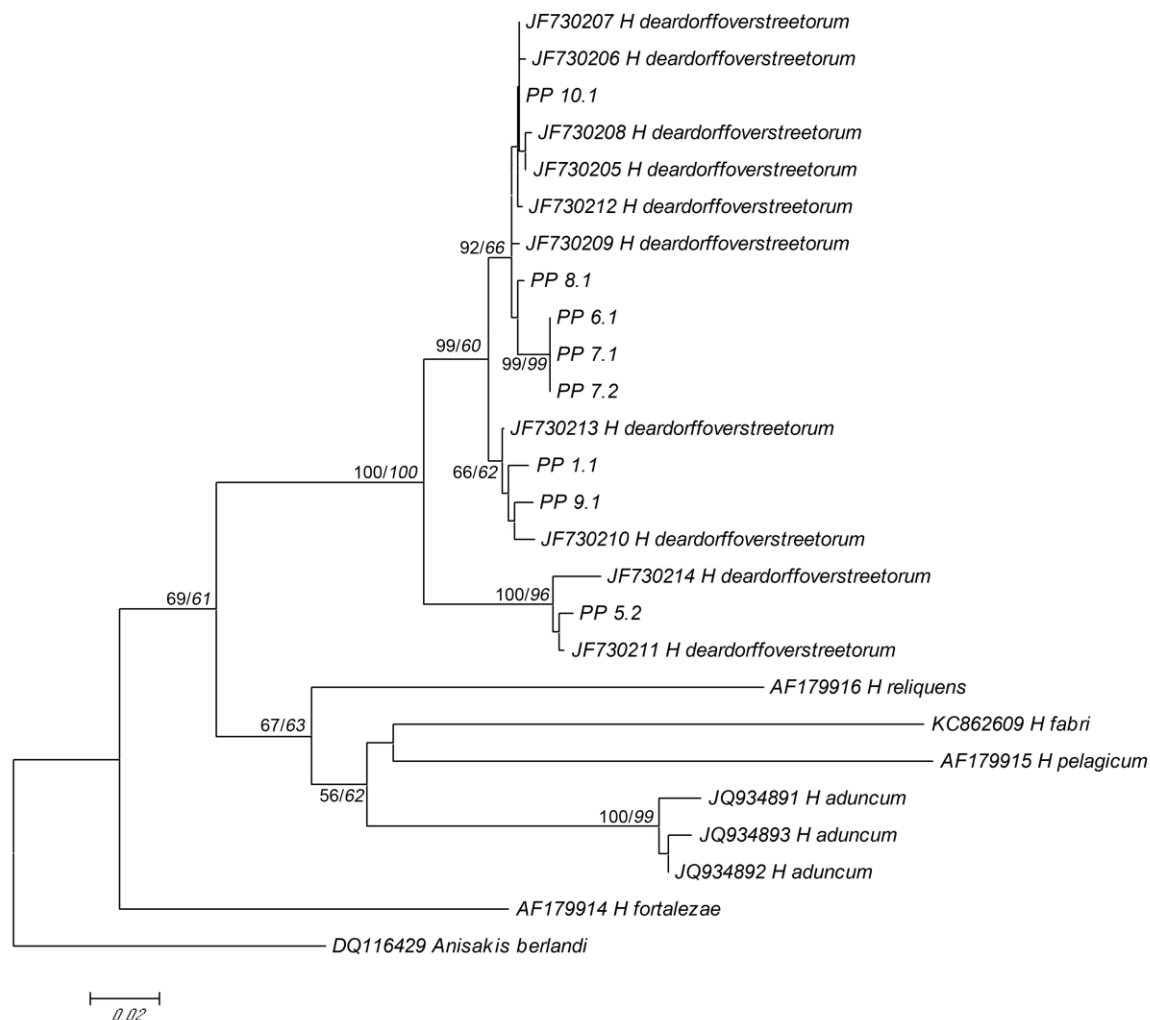
**Fig. 10.** mtDNA *Anisakis* sp. *cox2* phylogenetic tree. NJ tree inferred from *Anisakis* sp. mtDNA *cox2* gene sequences from this study (PP) and GenBank sequences (accession numbers are shown). Numbers at nodes are bootstrap values higher than 50%. Regular numbers correspond to NJ K2P distribution support values and numbers in italics correspond to ML TN93 plus gamma distribution support values. *Pseudoterranova ceticola* is the outgroup. The tree is drawn to scale, with branch lengths measured as the number of substitutions per site.





**Fig. 11.** *Hysterothylacium* sp. ITS-1 phylogenetic tree. Neighbor-Joining tree inferred from *Hysterothylacium* sp. ITS-1 region sequences from this study (PP) and GenBank sequences (accession numbers are shown). Numbers at nodes are bootstrap values higher than 50%. Regular numbers correspond to neighbor-joining K2P plus gamma distribution support values and numbers in italics correspond to ML K2P plus gamma distribution support values. *Pseudoterranova decipiens* is the outgroup. The tree is drawn to scale, with branch lengths measured as the number of substitutions per site.

phylogenetic analysis 2 subclusters are observed with high bootstrap values, suggesting possible distinct species, but further studies are necessary to elucidate this result



**Fig. 12.** mtDNA *Hysterothylacium* sp. *cox2* phylogenetic tree. NJ tree inferred from *Hysterothylacium* sp. mtDNA *cox2* gene sequences from this study (PP) and GenBank sequences (accession numbers are shown). Numbers at nodes are bootstrap values higher than 50%. Regular numbers correspond to NJ K2P plus gamma distribution support values and numbers in italics correspond to ML TN93 plus gamma distribution support values. *Anisakis berlandi* is the outgroup. The tree is drawn to scale, with branch lengths measured as the number of substitutions per site.

#### 4. Discussion and conclusion

The morphology and morphometry of the of *Anisakis* sp. L<sub>3</sub> in the present study were in accordance with the specimens reported by Felizardo et al. (2009a) which were collected on *P. isosceles*, also from State of Rio de Janeiro, Brazilian coast. Some slight differences observed in the length and width of the worms of *P. patagonicus* and *X. rasile* can be attributed to intraspecific ranges. However, the genetic analysis clearly demonstrated that the specimens belongs to *Anisakis typica*. *A. typica* occurs in warmer temperate and tropical waters, infecting Delphinidae, Phocoenidae, Pontoporidae and hardly Kogiidae. In spite of new anisakid species have been recently identified in the coast off Brazil (Di Azevedo et al., 2014, 2015), *A. typica* is still the most reported in the country by both morphological and molecular diagnosis (D'Amelio et al., 2000; Borges et al., 2012; Iñiguez et al., 2009, 2011; Mattiucci et al., 2002; Motta et al., 2008; Pantoja et al., 2015; Valentini et al., 2006). Because the larvae could only be confirmed based on molecular markers, in Brazil the species have been confirmed in the intermediate/paratenic hosts *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758), *Auxis thazard* (Lacepède, 1800) and *Trichiurus lepturus* Linnaeus, 1758 (Mattiucci et al., 2002; Iñiguez et al., 2009; Borges et al., 2012). Since is also the most generalist regarding the definitive host (Iñiguez et al., 2011), together with the fish cited above, *P. isosceles* could be consider as a dietary item of a variety of cetaceans reported.

The *Terranova* sp. larvae specimens collected in the present study were in accordance with the morphology and morphometry of the specimens collected on the State of Rio de Janeiro, Brazil, by Felizardo et al. (2009a).

The morphology and morphometry of the *Contracaecum* sp. larvae collected in the present study were in accordance with those ones described by Petter and Maillard (1988) from fish caught in the Mediterranean, and by Timi et al. (2001) and Felizardo et al. (2009a) in South American marine waters.

The *H. deadorffoverstreetorum* larvae found in the present study were in accordance with the species described by Knoff et al. (2012). In the present study, *H. deadorffoverstreetorum* genetic identification was based on two differences markers. While ITS was categorical in discriminating the specimens as *H. deadorffoverstreetorum* in a monophyletic clade, mtDNA *cox2* phylogeny placed the specimens in *H. deadorffoverstreetorum* subclusters. In the *H. deadorffoverstreetorum*

description, Knoff et al. (2012) affirmed that *cox2* phylogeny showed some intraspecific genetic heterogeneity. However, ITS phylogeny and also, in silico *cox2* protein have demonstrated a unique evolutionary taxon (Knoff et al., 2012; Pantoja et al., 2015), as well as in the present study. The fact is that the current *cox2* phylogeny results in *P. patagonicus*, and others (Borges et al., 2012; Pantoja et al., 2015), provided new sequence data that emphasize a high intraspecific genetic heterogeneity, suggesting possible distinct lineages of *H. deadorffoverstreetorum*. Therefore, further studies are necessary to elucidate this taxonomic problem.

The morphology and morphometry of the specimens of *Raphidascaris* sp. recorded in the present study were in agreement with those ones reported by Timi et al. (2001) and Felizardo et al. (2009a).

The presence of larval stages of nematodes indicates the potential of these fishes species as intermediate hosts in life cycles of parasites trophically transmitted in the marine environment (Klimpel and Palm, 2011; Knoff et al., 2013). Thus, the present study corroborates this statement, since only larval stages of the helminths were recovered from fishes in this study.

In Brazil, there is only one reported case with human anisakidosis. It was diagnosed by means of gastrointestinal endoscopy, which showed the presence of nematode larvae and, thus, injuries caused by them (Cruz et al., 2010). The nematode species was identified as *Anisakis*-like; and this case, therefore, suggests that further diagnosis ought to have included accurate species identification for avoiding doubts as suggested by Knoff et al. (2013). Otherwise, the anisakid larvae have been recovered from marine and freshwater fish and anisakid adults from marine mammals in Brazil (Fontenelle et al., 2013, 2015; Knoff et al., 2013), together with the finding of alive anisakid larvae in the musculature of teleosteans (Knoff et al., 2007; Padovani et al., 2005; Saad and Luque, 2009), because of that, it was expected more reported cases of human anisakidosis, but it maybe related with the low consumption of raw fish dishes by the Brazilian population (Melo et al., 2015).

The same fish species of the present study were analysed by Alarcos and Timi (2012) in Argentina, and they reported *Contracaecum* sp. and *Hysterothylacium* sp. Comparing with our results, *Contracaecum* sp. occurred with higher parasitary indices in *P. patagonicus*, with prevalence (P) of 39.22% and mean abundance (MA) of 0.61; and lower indices in *X. rasile*, with P = 12.77% and MA = 0.21; and *Hysterothylacium*

sp. occurred with lower parasitary indices in *P. patagonicus*, with  $P = 27.45\%$  and  $MA = 0.49$ , and in *X. rasile*, with  $P = 33.33\%$  and  $MA = 0.69$ . Alarcos and Timi (2012) also studied the *P. isosceles* species, which presented higher parasitary indices for *Contracaecum* sp., with  $P = 50.98\%$  and  $MA = 1.37$ , and lower parasitary indices for *Hysterothylacium* sp., with  $P = 37.25\%$  and  $MA = 0.63$ . *Contracaecum* sp. and *Hysterothylacium* sp. were infecting only the mesentery in all hosts. The present study showed differences for the same hosts; these species of nematodes larvae were present in other sites of infection, *Contracaecum* sp. was present in abdominal musculature, stomach, intestine, and abdominal cavity in *P. patagonicus*; and it was present in stomach, intestine, and abdominal cavity in *X. rasile*; *Hysterothylacium* was present in stomach, intestine, liver, stomach serosa, abdominal cavity, and abdominal musculature in *P. patagonicus*; and it was present in stomach, intestine, liver, abdominal cavity, and abdominal musculature in *X. rasile*. The *P. patagonicus* and *X. rasile* species are new recorded hosts for *Terranova* sp., *H. deardorffoverstreetorum*, and *Raphidascaris* sp.

In Brazil, Felizardo et al. (2009a), studying another species of *Paralichthys*, *P. isosceles*, reported *Terranova* sp., *Hysterothylacium* sp., and *Raphidascaris* sp. Parasitary indices were the most recorded, slightly lower than the record in the present study, with the exception of *Hysterothylacium* sp., which presented the same prevalence, but with lower mean abundance ( $P = 5\%$  and  $MA = 0.07$ ,  $P = 3.3\%$  and  $MA = 0.03$ ,  $P = 100\%$  and  $MA = 30.3$ ,  $P = 36.7\%$  and  $MA = 1.18$ , respectively). *Contracaecum* sp. was infecting only the intestine; and, in the present study, it was parasitizing beyond other infection sites, i.e., abdominal musculature, stomach, and abdominal cavity in *P. patagonicus*, and stomach and abdominal cavity in *X. rasile*. Felizardo et al. (2009a) found also *Terranova* sp., *Hysterothylacium* sp. and *Raphidascaris* sp. on the same infection sites as the present study, and on the other sites as stomach mucosa by *Terranova* sp., heart, kidney, liver, ovary, and spleen seroses, mesentery, ovary, stomach mucosa by *Hysterothylacium* sp., and stomach serosa by *Raphidascaris* sp.

Although the same host species collected by Alarcos and Timi (2012) in Argentina, has been studied in the present paper, differences among the parasitary indices of *Contracaecum* sp. and *Hysterothylacium* sp. were observed; they were collected on host from both countries; moreover, three more nematode larvae species were collected in this study. Comparing this study with Felizardo et al. (2009a), they found different

flounder species, *P. isosceles*, in Brazilian coast, presented the same five nematode larvae species, with similar parasitry indices. Possibly, these differences observed between the reports of Argentinian coast and report of this study, and the similarities between the both reports of Brazilian coast, must be related to the ecoregions influences, because, in both cases they are occurring on the same biogeographic realms, Temperate South America, but they are from different ecoregions, Uruguay-Buenos Aires Shelf and South Eastern Brazil, respectively (Spalding et al., 2007).

Alarcos et al. (2016) studied comparatively the parasite's assemblage structure of *P. isosceles* collected from Niterói and Cabo Frio, coast of State of Rio de Janeiro, and waters off Necochea, Argentina, with the one studied by Alarcos and Timi (2012); they initially considered Niterói and Necochea as belonging to the same marine Argentinian Province, or Warm Temperate Southwestern Atlantic, based on Menni et al. (2010) and Spalding et al. (2007); they tested the Cabo Frio samples as belonging to Brazilian Province, or Tropical Southwestern Atlantic, and have expected a higher similarity among samples caught within the same biogeographical provinces as a consequence of this hierarquical biogeographical scheme. However, they observed that flounders collected from Niterói were more similar to those ones from Cabo Frio than to Necochea's fish. They observed that some zoogeographic studies consider the region of Rio de Janeiro within the Brazilian Province, extending its southern limit with the Argentinian Province to Santa Catarina, in accordance with Floeter et al. (2008) and Briggs and Bowen (2012). Alarcos et al. (2016) found parasite's assemblage of different structure in Necochea, when compared to Niterói and Cabo Frio; they found parasite's ssemblage with similar structure in these last two localities. According to Spalding et al. (2007), Necochea belongs to a different marine ecoregion, Uruguay-Buenos Aires Shelf. Indeed, this difference is reflected on the parasite species found in *P. isosceles*, collected on the coast of Rio de Janeiro by Felizardo et al. (2009a), and also by this study; this fact reinforces that the fish collected in Rio de Janeiro, Niterói, and Cabo Frio, belong to the same marine ecoregion, South Eastern Brazil (Spalding et al. 2007), so, the same biogeographic province (Floeter et al., 2008; Briggs and Bowen, 2012).

Adding to the comments of Luque et al. (1995) about other Brazilian fish, the larvae presence in this study on paralichthyids fish, shows the intermediate trophic level of these fish in the marine food chain, and suggests also to act as intermediate host, because just fish under larvae stage were found.

The presence of anisakid larvae in the musculature is particularly relevant, because they present risk for human consumption. Considering the high number of anisakidosis cases around the world, more research is needed, in addition to constant sanitary education for consumers, aiming towards giving preference to the fish consumption that was previously frozen or properly cooked (D'amico et al., 2014; Knoff et al., 2007, 2013).

Moreover, there is possibility larvae migration from other sites of infection to the host's musculature. This migration can occur both in live fish and in dead fish after they have been caught, especially during long storage periods on boats and in warehouses. Therefore, it has been recommended that fish should be gutted on board the boat, so as to minimize the migration of these larvae. Thus, it is extremely important that sanitary surveillance professionals and other works within the fish supply chain, from catch to consumption, should be aware of fish parasitic diseases and about prophylaxis forms with implementation of sanitary education programs at all levels (Dias et al., 2010, 2011; Knoff et al., 2013).

### **Acknowledgments**

The authors would like to thank Mrs. Heloisa Nogueira Diniz and Mr. Ricardo Baptista Schmidt (Serviço de Produção e Tratamento de Imagens do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ) for processing the figures; Mr. Isaac Albert Mallet (Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura da Universidade Estadual do Rio de Janeiro) for assistance in obtaining photographs by SEM; and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for partial financial support.

### **References**

- Acha, P.N., Szyfres, B., 2003. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals, third ed. Washington, D.C.: PAHO.
- Adams, A.M., Murrel, K.D., Cross, J.H., 1997. Parasites of fish and risk to public health. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties 6, 652-660.

- Alarcos, A.J., Timi, J.T., 2012. Parasite communities in three sympatric flounder species (Pleuronectiformes: Paralichthyidae). *Parasitology Research* 110, 2155–2166.
- Alarcos, A.J., Pereira, A.N., Taborda, N.L., Luque, J.L., Timi, J.T., 2016. Parasitological evidence of stocks of *Paralichthys isosceles* (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) at small end geographical scales in South American Atlantic coasts. *Fisheries Research* 173, 221-228.
- Alonso, A., Daschner, A., Moreno-Ancilo, A., 1997. Anaphylaxis with *Anisakis simplex* in the gastric mucosa. *The New England Journal of Medicine* 337, 350-351.
- Arcangeli, G., Galuppi, A., Bichieri, M., Gamberini, R., Presicce, M., 1997. Experimental trials on the viality of *Anisakis* larvae in brine solutions. *Industry Conserves* 71, 501-507.
- Audicana, M.T., Ansotegui, I.J., Corres, L.F., Keneddy, M.W., 2002. *Anisakis simplex*: dangerous – dead and alive? *Trends in Parasitology* 18, 20-25.
- Bandes, A., Selgrad, S., Ríos, M., Salas, H., 2005. Nemátodos de la familia Anisakidae en el pescado fresco que se expende para el consumo humano en Caracas. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel* 36, 21-9.
- Bicudo, A.J.A., Tavares, L.E.R., Luque, J.L., 2005. Anisakidae larvae (Nematoda: Ascaridoidea) parasites of the bluewing searobin *Prionotus punctatus* (Bloch, 1793) (Osteichthyes: Triglidae) from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 14, 109-118.
- Borges, J., Cunha, L., Santos, H., Monteiro-Neto, C., Santos, C., 2012. Morphological and molecular diagnosis of anisakid nematode larvae from cutlassfish (*Trichiurus lepturus*) off the coast of Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One* 7, e40447.
- Briggs, J.C., Bowen, B.W., 2012. A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. *Journal of Biogeography* 39, 12-30.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited. *Journal of Parasitology* 83, 575-583.
- Chai, J.Y., Murrell, D.K., Lymbery, A.J., 2005. Fish-borne parasitic zoonoses: Status and issues. *International Journal for Parasitology*, 35, 1233-1254.



- Cruz, A.R., Souto, P.C.S., Ferrari, C.K.B., Allegretti, S.M., Arrais-Silva, W.W., 2010. Endoscopic imaging of the first clinical case of Anisakidosis in Brazil. *Scientia Parasitologica* 11, 97-100.
- D'Amelio, S., Mathiopoulos, K.D., Santos, C.P., Pugachev, O.N., Webb, S.C., Picanco, M., Paggi, L., 2000. Genetic markers in ribosomal DNA for the identification of members of the genus *Anisakis* (Nematoda: Ascaridoidea) defined by polymerase-chain-reaction base drestriction fragment length polymorphism. *International Journal of Parasitology* 30, 223–226.
- D'amico, P., Malandra, R., Costanzo, F., Castigliero, L., Guidi, A., Gianfaldoni, D., Armani, A., 2014. Evolution of the *Anisakis* risk management in the European and Italian context. *Food Research International* 64, 348-362.
- Daschner, A., Alonso-Gómez, A., Mora, C., Moreno-Ancillo, A., Villanueva, R., López Serrano, M.C., 1997. Anisakiasis gastro-alérgica com parasitação masiva. *Revista Espanhola de Alergología e Inmunologia Clínica* 12, 370-372.
- De Ley, P., Blaxter, M., 2004. A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. In: Cook, R., Hunt, D.J. (eds). *Nematology monographs and perspectives*. Leiden: E.J. Brill, 633-653.
- Dias, F.J.E., São Clemente, S.C., Knoff, M., 2010. Nematoides anisaquídeos e cestoides Trypanorhyncha de importância em saúde pública em *Aluterus monoceros* (Linnaeus, 1758) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal* 19, 94-97.
- Dias, F.J.E., São Clemente, S.C., Pinto, R.M., Knoff, M., 2011. Anisakidae nematodes and Trypanorhyncha cestodes of hygienic importance infecting the king mackerel *Scomberomorus cavalla* (Osteichthyes: Scombridae) in Brazil. *Veterinary Parasitology* 175, 351-355.
- Di Azevedo, M.I.N., Carvalho, V.L., Iñiguez, A.M., 2014. First record of the anisakid nematode *Anisakis nascettii* in the Gervais' beaked whale *Mesoplodon europaeus* from Brazil. *Journal of Helminthology* 28, 1-6.
- Di Azevedo, M.I.N., Knoff, M., Carvalho, V.L., Mello, W.N., Lopes Torres, E.J., Gomes, D.C., Iñiguez, A.M., 2015. Morphological and genetic identification of *Anisakis paggiae* (Nematoda: Anisakidae) in dwarf sperm whale *Kogia sima* (Owen, 1866) from Brazilian waters. *Diseases of Aquatic Organisms* 113, 103-111.

- Eiras, J.C., Takemoto, R.M., Pavanelli, G.C., 2006. Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes, second ed, Rev Ampl. Eduem, Maringá.
- Fagerholm, H.P., 1991. Systematic implications of male caudal morphology in ascaridoid nematode parasites. *Systematic Parasitology* 19, 215-229.
- Felizardo, N.N., Knoff, M., Pinto, R.M., Gomes, D.C., 2009a. Larval anisakid nematodes of the flounder, *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from Brazil. *Neotropical Helminthology* 3, 57-64.
- Felizardo, N.N., Menezes, R.C., Tortelly, R., Knoff, M., Pinto, R. M., Gomes, D.C., 2009b. Larvae of *Hysterothylacium* sp. (Nematoda: Anisakidae) in the sole fish *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from the littoral of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Parasitology* 166, 175-177.
- Felizardo, N.N., Torres, E.J.L., Fonseca, M.C.G., Pinto, R.M., Gomes, C.D., Knoff, M., 2010. Cestodes of the flounder *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Osteichthyes - Paralichthyidae) from the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Neotropical Helminthology* 4, 113-125.
- Felizardo, N.N., Justo, M.C., Knoff, M., Fonseca, M.C.G., Pinto, R.M., Gomes, D.C., 2011. Juvenile didymozoids of the types, Torticaecum and Neotorticaecum (Didymozoidae: Digenea), from new marine fish hosts (Pisces: Teleostei) in the Neotropical region of Brazil. *Journal of Helminthology* 85, 270-275.
- Figueiredo, J.L., Menezes, N.A., 2000. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. VI. Teleostei (5). Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Floeter, S.R., Rocha, L.A., Robertson, D.R., Joyeux, J.C., Smith-Vaniz, W.F., Wirtz, P., Edwards, A.J., Barreiros, J.P., Ferreira, C.E.L., Gasparini, J.L., Brito, A., Falcon, J.M., Bowen, B.W., Bernardi, G., 2008. Atlantic reef fish biogeography and evolution. *Journal of Biogeography* 35, 22-47.
- Fonseca, M.C.G., São Clemente, S.C., Felizardo, N.N., Gomes, D.C., Knoff, M., 2012. Trypanorhyncha cestodes of hygienic-sanitary importance infecting flounders *Paralichthys patagonicus* Jordan, 1889 and *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891) of the Neotropical region, Brazil. *Parasitology Research* 111, 865–874.
- Fontenelle, G., Knoff, M., Felizardo, N.N., Lopes, L.M.S., São Clemente, S.C., 2013. Nematodes of zoonotic importance in *Cynoscion guatucupa* (Pisces) in the state of Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal* 22, 281-284.

- Fontenelle, G., Knoff, M., Felizardo, N.N., Lopes Torres, E.J., Lopes, L.M.S., Gomes, D.C., São Clemente, S.C., 2015. Anisakidae and Raphidascarididae larvae parasitizing *Selene setapinnis* (Mitchill, 1815) in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinarian Parasitology*, Jaboticabal 24, 72-77.
- García, J.M.G., Arauzo, M.J.R., 2004. Dolor torácico anginoso como manifestación inicial de anisakiasis gástrica. *Annales de Medicina Interna* 21, 185-186.
- Gómez, B., Lasa, E., Arroabarren, S., Garrido, S., Anda, M., Tabar, A.I., 2003. Allergy of *Anisakis simplex*. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* 26, supl. 2, 25-30.
- Hall, T., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41, 95-98.
- Hochberg, N.S., Hamer, D.H., Hughes, J.M., Wilson, M.E., 2010. Anisakidosis: Perils of the deep. *Clinical Infectious Diseases* 51, 806-812.
- Huang, W., Bussiéras, J., 1988. Anisakidés et anisakidoses humaines. Première partie: Données bibliographiques. *Annales de Parasitologie Humaine et Compare* 63, 119-132.
- Incorvaia, I.S., Díaz De Astarloa, J.M., 1998. Estudio preliminar de las larvas (Nematoda: Ascaridida) parásito de *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) y *Paralichthys patagonicus* (Pisces: Pleuronectiformes). *Boletín Chileno de Parasitología* 53, 38-42.
- Iñiguez, A.M., Santos, C.P., Vicente, A.C., 2009. Genetic characterization of *Anisakis typica* and *Anisakis physeteris* from marine mammals and fish from the Atlantic Ocean off Brazil. *Veterinary Parasitology* 165, 350-356.
- Iñiguez, A.M., Carvalho, V.L., Motta, M.R., Pinheiro, D.C., Vicente, A.C., 2011. Genetic analysis of *Anisakis typica* (Nematoda: Anisakidae) from cetaceans of the northeast coast of Brazil: new data on its definitive hosts. *Veterinary Parasitology* 178, 293-299.
- Iñiguez, A.M., Leles, D., Jaeger, L.H., Carvalho-Costa, F.A., Araújo, A., 2012. Genetic characterization and molecular epidemiology of *Ascaris* spp. from humans and pigs in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 106, 604-612.

- Kijewska, A., Rokicki, J., Sitko, J., Wegrzyn, G., 2002. Ascaridoidea: a simple DNA assay for identification of 11 species infecting marine and freshwater fish, mammals and fish-eating birds. *Experimental Parasitology* 101, 35-39.
- Klimpel, S., Palm, H.W., 2011. Anisakid Nematode Ascaridoidea Life Cycles and Distribution: Increasing Zoonotic Potential in the Time of Climate Change? In: Mehlhorn, H. (Ed.), *Progress in Parasitology, Parasitology Research Monographs* 2, pp. 201-221.
- Klimpel, S., Kellermanns, E., Palm, H.W., Moravec, F., 2007. Zoogeography of fish parasites of the pearlside (*Maurolicus muelleri*), with genetic evidence of *Anisakis simplex* (s.s.) from the Mid-Atlantic Ridge. *Marine Biology* 152, 725-732.
- Knoff, M., São Clemente, S.C., Fonseca, M.C.G., Andrada, C.G., Padovani, R.E.S., Gomes, D.C., 2007. Anisakidae parasitos de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil de interesse na saúde pública. *Parasitologia Latinoamericana* 62, 127-133.
- Knoff, M., Gomes, D.C., 2012. Metodologia básica para coleta e o processamento de helmintos parasitos. In: Molinaro, E.M., Caputo, L.F.G, Amendoeira, M.R.R. (Eds). *Conceitos métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde*, Vol. 5. Rio de Janeiro, EPSJV, pp. 251-281.
- Knoff, M., Felizardo, N.N., Iñiguez, A.M., Maldonado, A.J.R., Torres, E.J.L., Pinto, R.M., Gomes, D.C., 2012. Genetic and morphological characterisation of a new species of the genus *Hysterothylacium* (Nematoda) from *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) of the Neotropical region, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 107, 186-193.
- Knoff, M., São Clemente, S.C., Fonseca, M.C.G., Felizardo, N.N., LIMA, F.C., Pinto, R.M., Gomes, D.C., 2013. Anisakidae nematodes in the blackfin goosefish, *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 purchased in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences Maringá* 35, 129-133.
- Kong, Q., Fanb, L., Zhang, J., Akao, N., Dong, K., Lou, D., Ding, J., Tong, Q., Zheng, B., Chen, R., Ohta, N., Lu, S., 2015. Molecular identification of *Anisakis* and *Hysterothylacium* larvae in marine fishes from the East China Sea and the Pacific coast of central Japan. *International Journal of Food Microbiology* 199, 1-7.
- Luque, J.L., Amato, J.F.R., Takemoto, R.M., 1995. Helminth larval stages in *Orthopristis ruber* and *Haemulon steindachneri* (Osteichthyes: Haemulidae) from

- the coast of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Biologia* 55, 33-38.
- Lopes Torres, E.J., Souza, W., Miranda, K., 2013. Comparative analysis of *Trichuris muris* surface using conventional, low vacuum, environmental and field emission scanning electron microscopy. *Veterinary Parasitology* 196, 409-416.
- Mattiucci, S., Paggi, L., Nascetti, G., Portes Santos, C., Costa, G., Di Benedetto, A.P., Ramos, R., Argyrou, M., Cianchi, R., Bullini, L., 2002. Genetic markers in the study of *Anisakis typica* (Diesing, 1860): larval identification and genetic relationships with other species of *Anisakis* Dujardin, 1845 (Nematoda: Anisakidae). *Systematic Parasitology* 51, 159–170.
- Mattiucci, S., Abaunza, P., Damiano, S., Garcia, A., Santos, M.N., Nascetti, G., 2007. Distribution of *Anisakis* larvae, identified by genetic markers, and their use for stock characterization of demersal and pelagic fish from European waters: An update. *Journal of Helminthology* 81, 117-127.
- Mattiucci, S., Paoletti, M., Webb, S.C., 2009. *Anisakis nascettii* n.sp. (Nematoda: Anisakidae) from beaked whales of the southern hemisphere: morphological description, genetic relationships between congeners and ecological data. *Systematic Parasitology* 74, 199-217.
- Melo, C.C.V., Fabrini, B.C., Costa, A.C., Mattos, B.O., Santos, L.C., Freitas, R.T.F. 2015. Caracterização dos consumidores de peixe do município de Lavras, Minas Gerais. *Boletim de Indústria Animal* 72, 178-184.
- Menni, R.C., Jaureguizar, A.J., Stehmann, M.F.W., Lucifora, L.O., 2010. Marine biodiversity at the community level: zoogeography of sharks, skates, rays and chimaeras in the southwestern Atlantic. *Biodiversity and Conservation* 19, 775-796.
- Mercado, R., Torres, P., Maira, J., 1997. Human cases of gastric infection by a fourth larval stage of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae). *Revista de Saúde Pública* 31, 178-181.
- Mercado, R., Torres, P., Muñoz, V., Apt, W., 2001. Human infection by *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae) in Chile: Report of seven cases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96, 653-655.
- Motta, M.R.A., Pinheiro, D.C.S.N., Carvalho, V.L., Viana, D.A., Vicente, A.C.P., Iniguez, A.M., 2008. Gastric lesions associated with the presence of *Anisakis* spp.

- Dujardin, 1845 (Nematoda: Anisakidae) in Cetaceans stranded on the coast of Ceara. *Braz. Biota Neotropical* 8, 91–95.
- Nadler, S.A., Hudspeth, D.S., 2000. Phylogeny of the Ascaridoidea (Nematoda: Ascaridida) based on three genes and morphology: hypotheses of structural and sequence evolution. *Journal of Parasitology* 86, 380-393.
- Nagasawa, K., Moravec, F., 1995. Larval anisakid nematodes of Japanese common squid (*Todaroles pacificus*) from the sea Japan. *Journal of Parasitology* 81, 69-75.
- Nakamura, I., Inada, T., Takeda, M., Hatanaka, H., 1986. Important fishes trawled off Patagonia. Japan Marine Fishery Resource Research Center, Tokyo.
- Padovani, R.E.S., Knoff, M., São Clemente, S.C., Mesquita, E.F.M., Jesus, E.F.O., Gomes, D.C., 2005. The effect of in vitro gamma radiation on *Anisakis* sp. larvae collected from the pink cusk-eel, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária* 12, 137-141.
- Pantoja, C.S., Borges, J.N., Santos, C.P., Luque, J.L., 2015. Molecular and morphological characterization of anisakid nematode larvae from the sandperches *Pseudoperca numida* and *Pinguipes brasilianus* (Perciformes: Pinguipedidae) off Brazil. *Journal of Parasitology* 101, 492–499.
- Petter, J.A., Maillard, C. 1988. Larves d'ascarides parasites de poissons em Méditerranée Occidentale. *The Bulletin of the Natural History Museum* 10, 347-369.
- Pontes, T., D'amelio, S., Costa, G., Paggi, L., 2005. Molecular characterization of larval anisakid nematodes from marine fishes of Madeira by a PCR-based approach, with evidence for a new species. *Journal of Parasitology* 9, 1430-1434.
- Puccio, F., Cifarelli, D., Blanco, F., López, E., Sarmiento, L., Ordaz, R., Figueroa, I., Capriles, A., Hagel, I., Prisco, M.C., Roque, M.E., Machado, L., Ghezzi, M.E., 2008. Reactividad alérgica a *Anisakis simplex* y su asociación con asma bronquial en niños escolares del estado Nueva Esparta, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 48, 145-52.
- Purello-D'ambrósio, F., Pastorello, E., Gangemi, S., Lombardo, G., Ricciardi, L., Fogliani, O., Merendino, R.A., 2000. Incidence of sensitivity to *Anisakis simplex* in a risk population of fishermen/fishmongers. *Annales of Allergy Asthma and Immunology* 84, 439-444.

- Piccolo, G., Manfredi, M.T., Hoste, L., Vercruysse, J., 1999. Anisakidae larval infection in fish fillets sold in Belgium. *Veterinary Quaternary* 21, 66-67.
- Ribeiro, J., São Clemente, S.C., Lopes, L.M.S., Knoff, M., 2014. Nematode larvae of hygienic importance infecting *Chaetodipterus faber* (Broussonet, 1782) and *Trachinotus carolinus* (Linnaeus, 1766) (Pisces: Teleostei) in Brazil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária* 36, 121-124.
- Robaldo, R., Pereira JR., J., Sampaio, L.A., Kütter, V., Bianchini, A., 2002. Ovoposição e desenvolvimento inicial de *Caligus* sp. (Copepoda: Caligidae) parasita de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) em cativeiro. *Atlântica, Rio Grande* 24, 85-88.
- Rodríguez, M.C.V., Tena, E.V., Calvillo, M.C., Villacampa, M.M., 2006. Dolor abdominal recidivante: afectación gástrica e ileal por *Anisakis*. *Annales de Medicina Interna* 23, 556-557.
- Rubio, C., Lasa, E., Arroabarren, E., Garrido, S., García, B.E., Tabar, A.I., 2003. Anafilaxia. *Annales del Sistema Sanitario de Navarra* 26, 103-110.
- Saad, C.D.R., Luque, J.L., 2009. Larvas de Anisakidae na musculatura do pargo, *Pagrus pagrus*, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 18, 71-73.
- São Clemente, S.C., Marques, M.C., Serra-Freire, N.M., Lucena, F.P., 1995. Análise do parasitismo de peixe espada *Trichiurus lepturus* L. do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitologia al Dia* 19, 146-149.
- Shamsi, S., Gasser, R., Beveridge, I., 2013. Description and genetic characterisation of *Hysterothylacium* (Nematoda: Raphidascarididae) larvae parasitic in Australian marine fishes. *Parasitology International* 62, 320-328.
- Spalding, M.D., Fox, H.E., Allen, G.R., Davidson, N., Ferdaña, Z.A., Finlayson, M., Halpern, B.S., Jorge, M.A., Lombana, A.L., Lourie, S.A., Martin, K.D., Mcmanus, E., Molnar, J., Recchia, C.A., Robertson, J., 2007. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience* 57, 573-583.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30, 2725-2729.

- Timi, J.T., Sardella, N.H., Navone, G.T., 2001. Parasitic nematodes of *Engraulis anchoita* Hubbs et Marini, 1935 (Pisces, engraulidae) off the Argentine and Uruguayan coasts, South West Atlantic. *Acta Parasitologica* 46, 186-193.
- Valentini, A., Mattiucci, S., Bondanelli, P., Webb, S.C., Mignucci-Giannone, A.A., Colom-Llavina, M.M., Nascetti, G., 2006. Genetic relationships among *Anisakis* species (Nematoda: Anisakidae) inferred from mitochondrial *cox2* sequences, and comparison with allozyme data. *Journal of Parasitology* 92, 156–166.
- World Health Organization, 2013. Foodborne trematode infections. Fact sheet N°368 (Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs368/en/index.html>. Accessed 15 March 2015).



3.3 ARTIGO 3: INTEGRATIVE TAXONOMY OF ACANTHOCEPHALANS PARASITIZING FLOUNDERS *Paralichthys isosceles*, *P. patagonicus* AND *Xystreurys rasile* (PISCES: TELEOSTEI) IN THE SOUTH EASTERN BRAZIL MARINE ECOREGION

Autores:

Michelle Cristie Gonçalves da Fonseca, Alena Mayo Iñiguez, Maria Isabel N. Di Azevedo, Nilza Nunes Felizardo, Eduardo José Lopes Torres, Delir Corrêa Gomes, Sérgio Carmona de São Clemente, Marcelo Knoff

Submetido para publicação em 05/02/2016 no Periódico: Parasitology Research (Qualis A2 - Capes 2014)

**Integrative taxonomy of acanthocephalans parasitizing flounders *Paralichthys isosceles*, *P. patagonicus* and *Xystreurys rasile* (Pisces: Teleostei) from the South Eastern Brazil marine ecoregion**

**Michelle Cristie Gonçalves da Fonseca · Alena Mayo Iñiguez · Maria Isabel N. Di Azevedo · Nilza Nunes Felizardo · Eduardo José Lopes Torres · Delir Corrêa Gomes · Sérgio Carmona de São Clemente · Marcelo Knoff**

**Abstract** Flounders (Pleuronectiformes, Paralichthyidae) are fish of commercial and economical importance. From October 2006 to July 2012, 120 specimens of flounders were collected from the coast of Rio de Janeiro State, Brazil, 60 *Paralichthys isosceles*, 30 *P. patagonicus* and 30 *Xystreurys rasile*. Fish were measured, necropsied, filleted and further had their organs investigated. *Paralichthys isosceles* and *P. patagonicus* were parasitized with acanthocephalan juveniles of *Serrasentis sagittifer*, *Bolbosoma turbinella*, *Corynosoma australe* and *C. cetaceum*. *Xystreurys rasile* was parasitized with *C. australe*. Parasitary indices of prevalence, intensity, mean intensity, abundance, mean abundance, range of infection, and infection site of each parasite species were evaluated. The taxonomic identification was based on morphological, morphometric, and molecular data. Genetic characterization confirmed the species identification of *Bolbosoma* and *Corynosoma* specimens, as demonstrated by phylogenetic analysis using both ITS and *cox1* molecular targets. The study of integrative taxonomy is the report in Brazil with new hosts records of *S. sagittifer* and *B. turbinella* in the flounders *P. patagonicus* and *X. rasile*.

**Key words** *Serrasentis*, *Bolbosoma*, *Corynosoma*, *Paralichthys*, *Xystreurys*, molecular taxonomy, *cox1*, ITS, Brazil

---

M. C. G. Fonseca · N. N. Felizardo · S. C. São Clemente

Laboratório de Inspeção e Tecnologia do Pescado, Faculdade de Medicina Veterinária,  
Universidade Federal Fluminense,  
Rua Vital Brazil Filho, 64, Vital Brazil,  
Niterói, RJ, 24230-340, Brazil

M. Knoff · D. C. Gomes

Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ,  
Avenida Brasil, 4365, Manguinhos,

Rio de Janeiro, RJ, 21045-900, Brazil

A. M. Iñiguez (corresponding author) · M. I. N. Di Azevedo

LABTRIP, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ,

Avenida Brasil, 4365, Manguinhos,

Rio de Janeiro, RJ, 21045-900, Brazil

e-mail: alena@ioc.fiocruz

E. J. L. Torres

Laboratório de Helminologia Romero Lascasas Porto, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Escola de Ciências Médicas, Universidade Estadual do Rio de Janeiro,

Rua Prof. Manuel de Abreu 444, 5º andar, Vila Isabel,

Rio de Janeiro, RJ, 20550-170, Brazil

## Introduction

Thorny-headed worms or acanthocephalans are endoparasitic helminthes with about 1,150 described species (Amin 1987; Verweyen et al., 2011). Acanthocephalans have been found in marine and freshwater fish worldwide, causing various pathological conditions

In previous helminthological survey of flounders off the coast of State of Rio de Janeiro, Brazil, taxonomic and parasitological studies were published: Felizardo et al. (2009 a, b) and Knoff et al. (2012) on nematodes, Felizardo et al. (2010) and Fonseca et al. (2012) on cestodes, and Felizardo et al. (2011) on didymozoids.

Roberts and Janovy Jr (2000) reported that acanthocephalan infections in humans are scarce because of the nature of intermediate and paratenic hosts involved in their life cycles. Human acanthocephaliasis acquired by ingesting raw fish were reported with specimens of *Acanthocephalus rauschi* Golvan, 1969 and *Corynosoma strumosum* (Rudolphi, 1802) Lühe, 1904, both in Alaskan Eskimos (Golvan, 1969; Schmidt, 1971). Furthermore, *Bolbosoma* specimens were recorded parasitizing humans in Japan (Tada et al., 1983). Some pathologic effect and symptomatology of the human acanthocephaliasis have been reported, such as weakness, dizziness, acute abdominal colics and perforation of the intestine. Asymptomatic cases have also been reported (Beaver et al., 1983; Tada et al., 1983; Acha and Szyfres, 2003).

García-Varela et al. (2013) affirmed that the taxonomic characterization of acanthocephalans based only on morphology lead to an unstable classification system. A wider taxonomic selection of samples is crucial to understanding the phylogenetic relationships among genera and species and consequently, to clearly define the association with their intermediate and definitive in an ecological context. However, there is a poor representation particularly of marine taxa, with only a single specimen by species in many genera. Therefore, phylogenetic relationships within Acanthocephala are far from being well established (García-Varela et al., 2013; Verweyen et al., 2011).

The present paper adds new taxonomic data on morphological, parasitary indices and genetic analysis from four acanthocephalan species parasitizing flounders from the coast of Rio de Janeiro, Brazil.

## Materials and methods

From 120 specimens of flounders captured off the coast from four municipalities of State of Rio de Janeiro, Brazil, 124 juveniles acanthocephalan were recovered: 37 from *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (n = 60), measuring 25.0-39.5 cm (33.8 cm) in length and weighing 164-680 g (420.4 g), collected during the period of October 2006 to March 2008 from the municipality of Angra dos Reis; 81 from *P. patagonicus* Jordan, 1889 (n = 30), measuring 28.5-59 cm (40.8 cm) by 280-2530 g (820.4 g), collected from February 2007 to July 2012; and six from *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891) (n =30), measuring 11.5-31 cm (24.3 cm) by 20-240 g (158.5 g), collected from September to December 2010, both from municipalities of Niterói, Cabo Frio and Rio de Janeiro. Fish species were identified in accordance with Carvalho-Filho (1999) and Figueiredo and Menezes (2000). Acanthocephalans were collected, fixed in A.F.A., clarified with Beechwood-creosote, stained with carmim or Delafield hematoxyline and preserved in ethanol 70° GL according to Eiras et al. (2006). The taxonomic identification was in accordance to Meyer (1932), Golvan (1959, 1969), Yamaguti (1963), Travassos (1966), Petrochenko (1971a, b), Salgado-Maldonado (1978), Amin (1985, 1987), Figueroa and Puga (1990), Measures (1992), Pereira Jr and Neves (1993), and Sardella et al. (2005). Morphometric analysis was conducted using a bright field microscopy with an Olympus BX 41. Measurements are in millimetres, range are followed by means in parentheses. Whole mounted samples were photographed using an Axiophot Zeiss with micrographic system, and drawings were made with the aid of a drawing tube. Part of the specimens were processed by scanning electron microscopy (SEM), samples were fixed in

70% ethanol, dehydrated in an ethanol series (100°GL), dried in CO<sub>2</sub> criticalpoint, coated in gold, and examined and photographed using a scanning electron microscope JEOL SM-25 SII and Zeiss 962, under an acceleration voltage of 15 kvolts.

Since all acanthocephalans were fixed in AFA, and preserved in ethanol 70° GL, for a period varying from 6-8 years, specimens reserved for genetic analysis were rinsed in a 0.65% NaCl solution, observed under stereomicroscope for morphological identification and preserved at -20°C until DNA extraction procedure. *Serrasentis* sp. (n=3), *Bolbosoma* sp. (n=20), and *Corynosoma* sp. (n=8) were submitted to genetic analysis. Samples were ground with liquid nitrogen, and DNA extraction was conducted using QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany), as described (Iñiguez et al., 2011, 2012). PCR reactions targeting the complete nuclear internal transcribed spacer region (ITS), and the cytochrome c oxidase subunit I (*cox1*) gene were performed. ITS PCR primers and conditions, for amplification of ~800bp, were as described in Zhu et al. (1999) and Knoff et al. (2012), respectively. The *cox1* PCR reactions were performed targeting a 655bp fragment using the primers LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') and HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGT GACCAAAAAATCA-3') (Folmer et al., 1994). Reactions were performed on 50µl using 10mM Tris-HCl (pH 8.0) 50mM KCl, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2mM of each dNTP, 400 ng of each primer, 1.5U Platinum Taq polymerase (Invitrogen), and 50 ng of genomic DNA. The PCR reactions were subjected to an initial cycle of 3min at 96 °C, followed by 35 cycles at 96 °C for 1min, 56 °C for 1min, and 72 °C for 1min in a programmable thermal controller (PTC100 60v, MJ Research, Inc). PCR products were analyzed by electrophoresis in agarose gels 1.2% for ITS and 1.8% for *cox1*, and then visualized under UV light, after ethidium bromide staining.

Amplicons were directly sequenced using Big Dye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction kit (Applied Biosystems) in a 3100 Automated DNA Sequencer as recommended by the suppliers. Sequencing analysis was performed using the global Basic Local Alignment Search Tool search (National Center for Biotechnology Information database) and BioEdit v7.0.4.1 (Department of Microbiology, North Carolina State University, USA) (Hall, 1999). Brazilian acanthocephalans sequences were compared with all acanthocephalan sequences available on GenBank for both targets. ITS datasets were constructed with all reference sequences available on Genbank (12/2015) from *Bolbosoma*, *Corynosoma* and *Polymorphus* genera. The *cox1* dataset contained all available sequences on Genbank (12/2015) from *Bolbosoma*, *Corynosoma*, *Hexaglandula* and *Leptorhynchoides* genera. Phylogenetic and molecular evolutionary analyses were conducted using MEGA

version 6 (Tamura et al., 2013). Phylogenetic trees were constructed using the Neighbor-Joining (NJ) method, Kimura-2-Parameters (K2P) model, following the barcoding CBOL protocol (<http://www.barcodeoflife.org/content/resources/standardsand-guidelines>). Pairwise deletion parameter was applied with 1000 bootstrap replicates. Maximum likelihood (ML) trees were constructed using the best-fitting model of DNA substitution, using the Bayesian information criterion. The parasitary therns were used according to Bush et al. (1997).

For parasitary indices, the abridgments are: P = prevalence, I = intensity, MI = mean intensty, A = abundance, MA = mean abundance and RI = range of infection. Collected voucher specimens were deposited in the Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

## Results

Echinorhynchida Southwell & MacFie, 1925

Rhadinorhynchidae Travassos, 1923

Serrasentinae Petrochenko, 1956

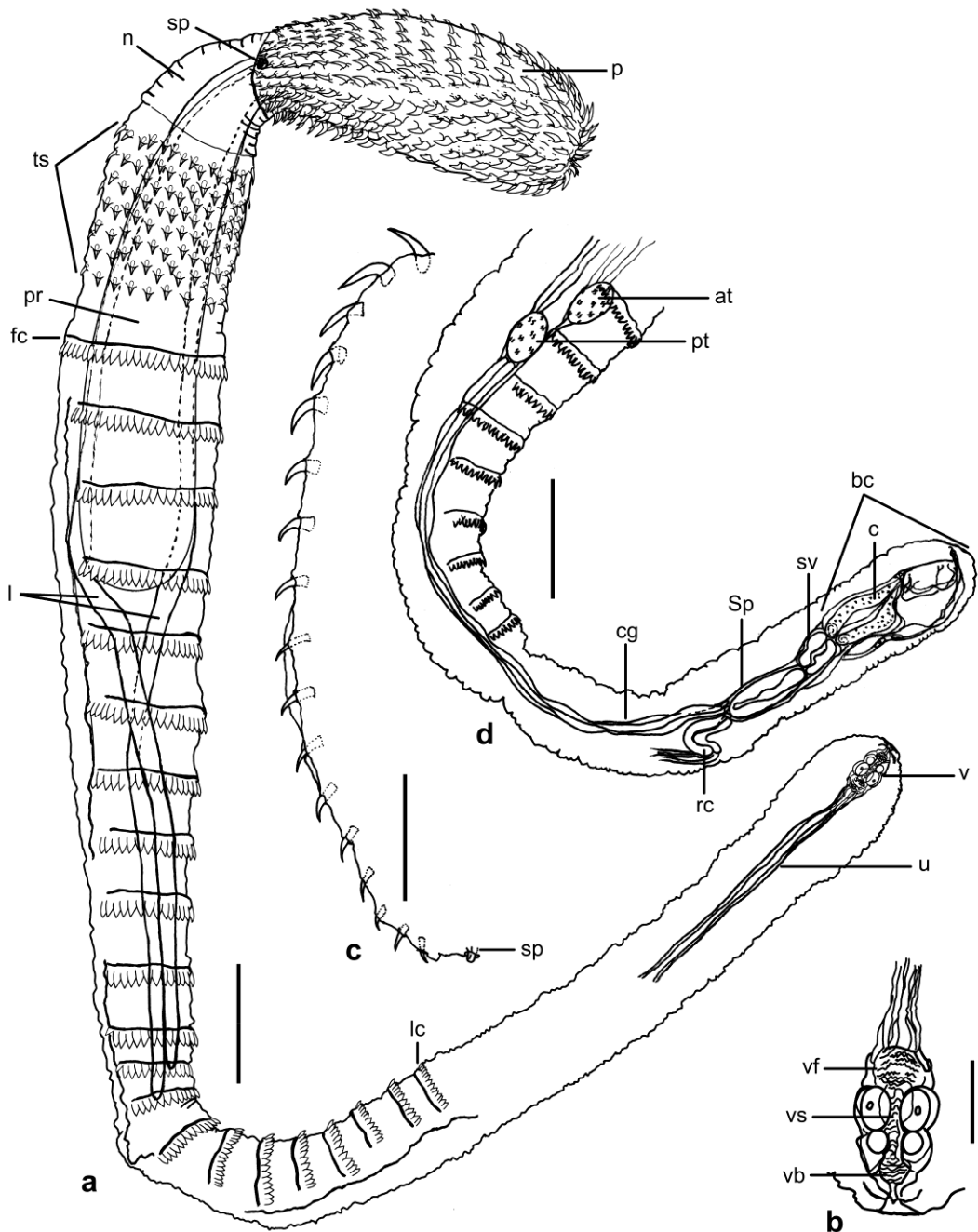
*Serrasentis* Van Cleave, 1923

*Serrasentis sagittifer* (Linton, 1889) Van Cleave, 1923

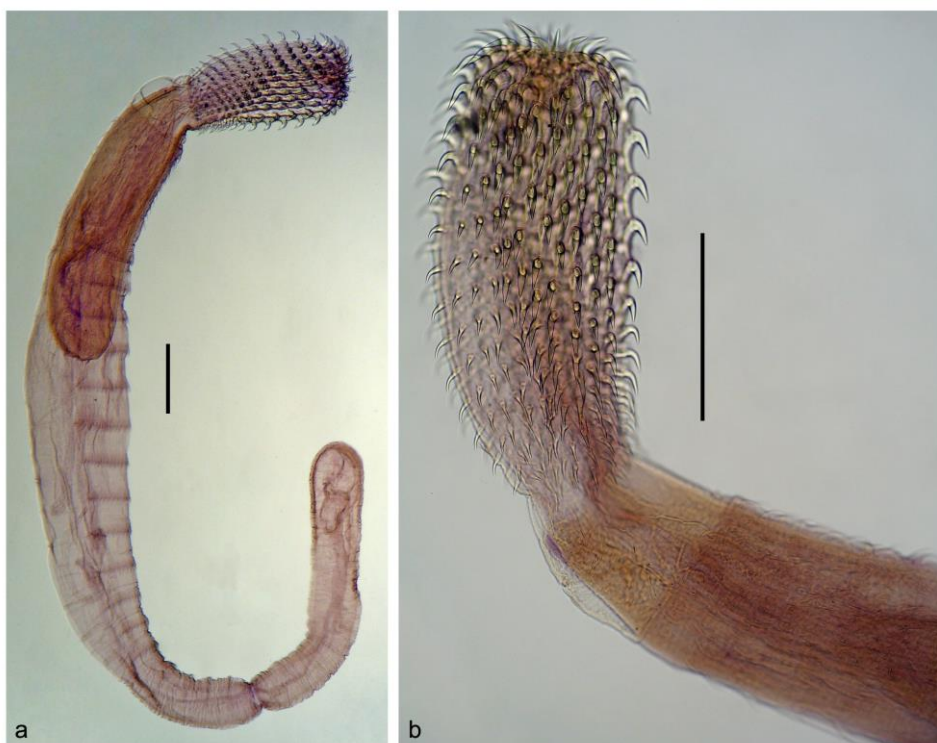
(Figs. 1a-d, 2a-b, 3a-b)

### Description

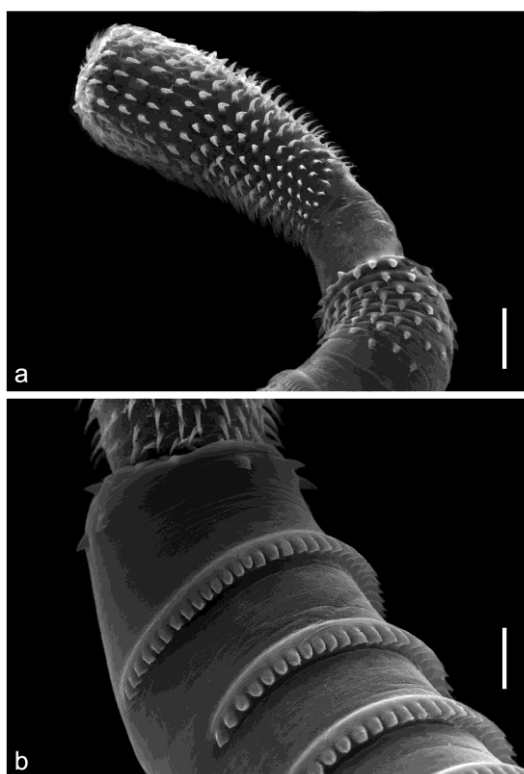
Based on 45 juveniles collected of *P. isosceles* and *P. patagonicus*: body elongated and cylindrical. Anterior extremity with hooks forming combs arranged on the ventral and lateral region, longitudinally curved U-shaped. Proboscis claviform, armed with a 22-24 longitudinal hook rows at total, each one with 16-17 hooks. Neck short and conical, naked. Proboscis hooks thicker in ventral than dorsal parts, decreasing in size from the apex to the base. Proboscis receptacle with a thick double wall. A pair of leminisci extremely long, which extend to 2/4 of the trunk. Small sensory papilla, on each side of the proboscis, between longitudinal rows of hooks baseline. Trunk elongated, with 24-28 longitudinal rows of 8-9 spines on anterior extremity; followed by transversal rows of combs of spines, 18-20 in males and 18-22 females, on ventral surface, in a region occupying 2/4 of the trunk extension. Male genital apparatus: two ovoid testes in tandem, four tubular cement glands, and receptacle of cement linked at a Saefftigen's pouch elongated, seminal vesicle pyriform, and cirrus spiny inside of a bursa copulatrix. Female genital apparatus: ovarium balls primordium, uterine bell, uterus and a muscular vagina divided in funnel, sphincter, and bulb.



**Fig. 1** Juveniles of *Serrasentis sagittifer* in *Paralichthys isosceles*. a Female, total, lateral view. b Detail of vagina, ventral view. c Hooks of proboscis and sensory papilla. d Male, posterior portion, lateral view. Abbreviations: at = anterior testis, bc = bursa copulatrix, c = cirrus, cg = cement glands, fc = first comb, l = leminisci, lc = last comb, n = neck, p = proboscis, pr = proboscis receptacle, pt = posterior testis, rc = receptacle cement, sp = sensory papilla, Sp = Saefftingen's pouch, sv = seminal vesicle, ts = trunk spines, u = uterus, v = vagina, vb = vagina bulb, vf = vagina funnel, vs = vagina sphincter. Bars a and d = 0.4 mm, b = 0.1 mm, and c = 0.2 mm



**Fig. 2** Juvenile of *Serrasentis sagittifer* in *Paralichthys patagonicus*. **a** Male, total, lateral view. **b** Detail of proboscis and neck. Bars **a** and **b** = 0.4 mm



**Fig. 3** Juveniles of *Serrasentis sagittifer* in *Paralichthys isosceles*, SEM. **a** Proboscis, neck and anterior trunk spines. **b** Detail of trunk combs. Bars **a** = 200  $\mu$ m and **b** = 100  $\mu$ m



Measurements of juveniles, males and females, collected of *P. isosceles* and *P. patagonicus* are showed in Table 1

**Table 1** Measurements of juveniles of *Serrasentis sagittifer*, males and females, collected from *Paralichthys isosceles* and *P. patagonicus*

<i>S. sagittifer</i>	<i>P. isosceles</i>		<i>P. patagonicus</i>	
	Males (n=4)	Females (n=4)	Males (n=7)	Females (n=4)
Body length	3.8-7.9 (6.5)	6.24-7.46 (6.85)	4.77-7.52 (5.92)	4.35-9.2 (6.76)
Trunk length	3.12-7.05 (5.70)	6.0-7.0 (6.50)	3.94-6.67 (4.98)	3.05-8.17 (5.53)
Trunk width	0.25-0.72 (0.54)	0.50-0.66 (0.58)	0.52-0.57 (0.55)	0.40-0.65 (0.52)
Proboscis length	0.67-0.97 (0.81)	1.10-1.12 (1.11)	0.52-0.95 (0.72)	0.75-1.02 (0.92)
Proboscis width	0.20-0.27 (0.22)	0.30-0.45 (0.37)	0.27-0.40 (0.31)	0.22-0.40 (0.32)
Basal hooks length	0.037-0.050 (0.041)	0.045-0.055 (0.050)	0.042-0.052 (0.049)	0.045-0.055 (0.050)
Basal hooks width	0.007-0.010 (0.008)	0.007-0.010 (0.008)	0.010-0.012 (0.011)	0.007-0.010 (0.008)
Subapical hooks length	0.055-0.072 (0.063)	0.067-0.095 (0.078)	0.072-0.080 (0.075)	0.067-0.095 (0.077)
Subapical hooks width	0.017-0.020 (0.018)	0.015-0.025 (0.020)	0.012-0.027 (0.016)	0.015-0.025 (0.020)
Apical hooks length	0.062-0.087 (0.076)	0.090-0.100 (0.095)	0.072-0.080 (0.076)	0.080-0.097 (0.086)
Apical hooks width	0.017-0.027 (0.021)	0.015-0.030 (0.022)	0.016-0.027 (0.020)	0.015-0.030 (0.021)
Neck length	0.20-0.37 (0.30)	0.24-0.46 (0.35)	0.30-0.35 (0.32)	0.24-0.46 (0.33)
Neck width	0.20-0.32 (0.25)	0.25-0.48 (0.36)	0.22-0.37 (0.30)	0.27-0.35 (0.32)
Proboscis receptacle length	1.10-1.80 (1.38)	1.52-1.74 (1.63)	1.55-1.77 (1.65)	1.13-1.93 (1.57)
Proboscis receptacle width	0.22-0.32 (0.28)	0.36-0.40 (0.38)	0.35-0.37 (0.36)	0.18-0.47 (0.27)
Trunk spines length	0.035-0.067 (0.054)	0.31-0.55 (0.43)	0.057-0.062 (0.059)	0.052-0.062 (0.059)
Trunk spines width	0.017-0.030 (0.024)	0.027-0.030 (0.029)	0.027-0.037 (0.031)	0.012-0.037 (0.022)
Leminisci length	2.50-3.20 (2.90)	3.20-4.25 (3.90)	2.25-2.82 (2.50)	1.92-2.97 (2.07)
Anterior testis length	0.10-0.25 (0.16)	-	0.10-0.14 (0.12)	-
Anterior testis width	0.05-0.12 (0.08)	-	0.08-0.11 (0.09)	-
Posterior testis length	0.10-0.21 (0.15)	-	0.09-0.13 (0.10)	-
Posterior testis width	0.05-0.10 (0.07)	-	0.07-0.11 (0.09)	-
Cement glands	0.15-0.25 (0.19)	-	0.10-0.20 (0.15)	-
Uterine bell length	-	0.12-0.16 (0.14)	-	0.06-0.12 (0.09)
Uterine bell width	-	0.03-0.04 (0.035)	-	0.035-0.070 (0.052)
Uterus length	-	0.46-0.52 (0.48)	-	0.40-0.62 (0.50)
Vagina length	-	0.18-0.20 (0.19)	-	0.13-0.18 (0.15)

Measurements in millimetres and means in parentheses

Taxonomic summary:

Hosts: *Paralichthys isosceles* (*Pi*) and *P. patagonicus* (*Pp*).

Parasitary indices: P = 11.7%, MI = 1.4, MA = 0.17 RI = 1-4 (*Pi*); P = 26.7%, MI = 4.4, MA = 1.17, RI = 1-11 (*Pp*).

Infection sites: intestine (*Pi*); stomach and intestine (*Pp*).

Collected specimens: 10 (*Pi*); 35 (*Pp*).

Deposited specimens: CHIOC 37828, 37829, 37830, 37831(*Pi*); CHIOC 38079a,b, 38080, 38081a-c, 38082, 38083 (*Pp*).

Polymorphida Petrochenko, 1956

Polymorphidae Meyer, 1931

Corynosomatinae Petrochenko, 1964

*Bolbosoma* Porta, 1908

*Bolbosoma turbinella* (Diesing, 1851)

(Figs. 4a-d, 5, 6)

Description

Based on 26 juvenile acanthocephalans collected from *P. isosceles* and *P. patagonicus*: Body elongated, anterior region dilated and proboscis cylindrical, armed with 20-22 longitudinal rows with 7-8 hooks. Neck short with greater width at the posterior end without hooks. Bulb flatened with trunk spines covering about half of proboscis receptacle, with 38-40 longitudinal rows with 21-22 hooks, extending dorsally and ventrally. Spines smaller close at the neck base. A pair of lemnisci with similar length, slightly convoluted, variable in length. Male genital apparatus: testes ovoid, in line. Four cement glands tubular, followed by Saefftigen's pouch elongated, seminal vesicle ovoid, and bursa copulatrix. Female genital apparatus: ovarian balls primordium, uterine bell elongated, uterus straight, and a muscular vagina divided in funnel, sphincter, and bulb.

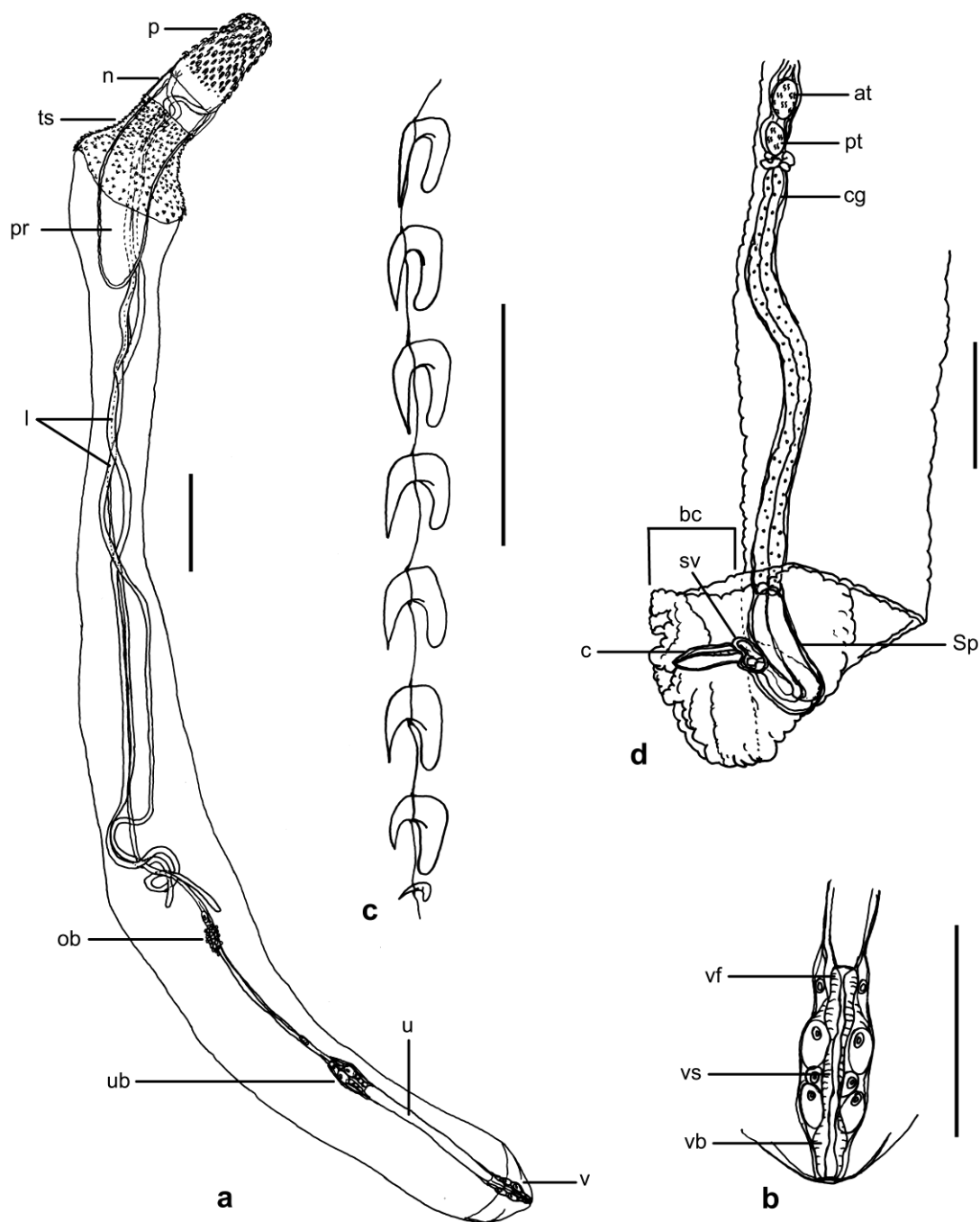
Measurements of juveniles of *B. turbinella*, males and females, collected from *P. isosceles* and *P. patagonicus* are showed in Table 2.

Taxonomic summary:

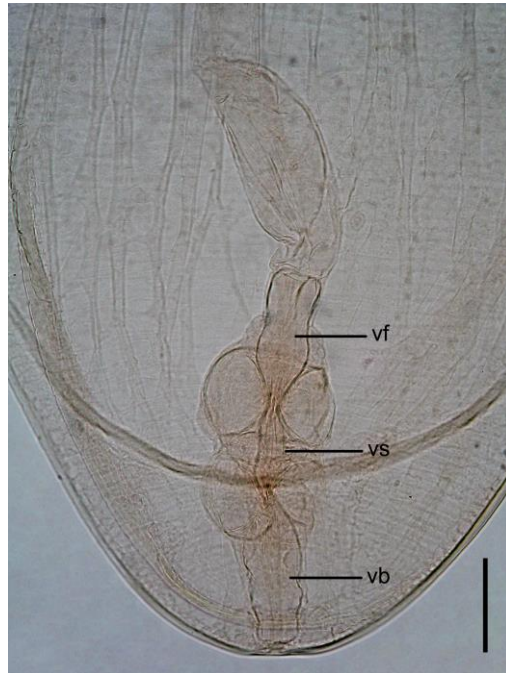
Hosts: *Paralichthys isosceles* (*Pi*) and *P. patagonicus* (*Pp*).

Parasitary indices: P = 13.3 %, MI = 2.0, MA = 0.27, RI = 1-4 (*Pi*); P = 13.3 %, MI = 2.5, MA = 0.33, RI = 1-4 (*Pp*).

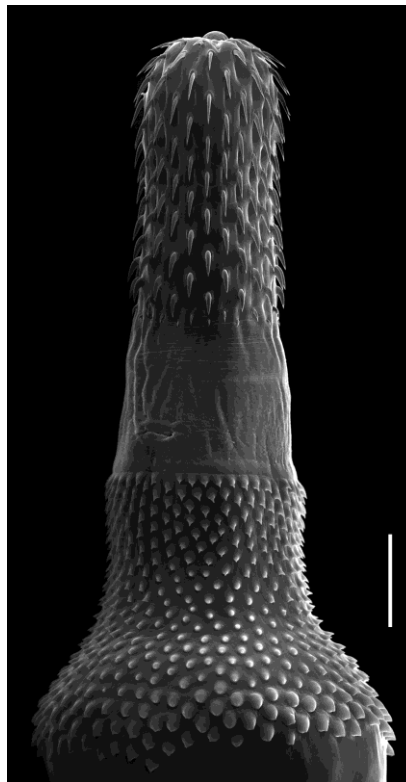
Infection sites: stomach and intestine (*Pi*); intestine (*Pp*).



**Fig. 4** Juveniles of *Bolbosoma turbinella* in *Paralichthys isosceles*. **a** Female, total, lateral view. **b** Detail of vagina, ventral view. **c** Hooks of proboscis. **d** Male, posterior portion, lateral view. Abreviations: at = anterior testis, bc = bursa copulatrix, c = cirrus, cg = cement glands, l = lemnisci, n = neck, ob = ovarian balls primordium, p = proboscis, pr = proboscis receptacle, pt = posterior testis, Sp = Saeffigen's pouch, sv = seminal vesicle, ts = trunk spines, u = uterus, ub = uterine bell, v = vagina, vb = vagina bulb, vf = vagina funnel, vs = vagina sphincter. Bars **a** = 0.8 mm, **b** and **d** = 0.4 mm, and **c** = 0.2 mm



**Fig. 5** Juvenile of female of *Bolbosoma turbinella* in *Paralichthys patagonicus*. Detail of vagina, ventral view. Abreviatures: vb = vagina bulb, vf = vagina funnel, vs = vagina sphincter. Bar = 0.1 mm



**Fig. 6** Juvenile of *Bolbosoma turbinella* in *Paralichthys isosceles*, SEM. Proboscis, neck and trunk spines. Bar = 200  $\mu$ m

Collected specimens: 16 (*Pi*); 10 (*Pp*).

Deposited specimens: CHIOC 37832, 37833, 37834, 37835 (*Pi*); CHIOC 38084, 37988, 37989, 37990 (*Pp*).

**Table 2** Measurements of juveniles of *Bolbosoma turbinella*, males and females, collected from *Paralichthys isosceles* and *P. patagonicus*

<i>B. turbinella</i>	<i>P. isosceles</i>		<i>P. patagonicus</i>
	Males (n=4)	Females (n=4)	Females (n=4)
Body length	6.45-8.05 (7.05)	7.05-11.62 (8.49)	6.25-11.00 (8.56)
Trunk length	4.62-6.07 (5.16)	5.35-9.00 (6.51)	4.72-8.72 (6.65)
Trunk width	0.25-0.70 (0.59)	0.47-0.85 (0.65)	0.72-0.95 (0.85)
Proboscis length	0.53-0.61 (0.58)	0.42-0.80 (0.60)	0.40-0.75 (0.55)
Proboscis width	0.21-0.27 (0.23)	0.26-0.47 (0.33)	0.26-0.28 (0.27)
Basal hooks length	0.025-0.035 (0.030)	0.022-0.027 (0.024)	0.020-0.030 (0.025)
Basal hooks width	0.010-0.012 (0.011)	0.007-0.012 (0.010)	0.007-0.010 (0.009)
Subapical hooks length	0.072-0.080 (0.075)	0.070-0.080 (0.073)	0.067-0.082 (0.075)
Subapical hooks width	0.017-0.022 (0.019)	0.017-0.025 (0.021)	0.010-0.022 (0.016)
Apical hooks length	0.075-0.082 (0.079)	0.070-0.092 (0.081)	0.062-0.092 (0.078)
Apical hooks width	0.012-0.015 (0.013)	0.012-0.017 (0.015)	0.010-0.015 (0.013)
Neck length	0.15-0.19 (0.17)	0.14-0.25 (0.18)	0.18-0.26 (0.21)
Neck width	0.28-0.40 (0.34)	0.30-0.53 (0.40)	0.42-0.55 (0.49)
Proboscis receptacle length	0.92-1.50 (1.11)	0.78-1.76 (1.18)	0.59-1.54 (1.16)
Proboscis receptacle width	0.29-0.37 (0.33)	0.21-0.43 (0.33)	0.41-0.48 (0.43)
Trunk spines length	0.037-0.052 (0.044)	0.037-0.047 (0.041)	0.040-0.050 (0.044)
Trunk spines width	0.022-0.030 (0.027)	0.015-0.032 (0.025)	0.015-0.027 (0.022)
Leminisci length	3.75-5.10 (4.24)	3.87-7.12 (5.04)	2.55-7.0 (4.41)
Anterior testis length	0.120-0.135 (0.124)	-	-
Anterior testis width	0.050-0.095 (0.072)	-	-
Posterior testis length	0.090-0.145 (0.117)	-	-
Posterior testis width	0.060-0.095 (0.073)	-	-
Uterine bell length	-	0.20-0.42 (0.33)	0.36-0.47 (0.39)
Uterine bell width	-	0.08-0.14 (0.12)	0.10-0.13 (0.12)
Uterus length	-	0.65-1.24 (0.92)	0.62-1.00 (0.83)
Vagina length	-	0.36-0.41 (0.38)	0.30-0.43 (0.36)

Measurements in millimetres and means in parentheses

*Corynosoma* Lühe, 1904

*Corynosoma australe* Johnston, 1937

(Figs. 7a-d, 8a-c)

#### Description

Based on 34 juveniles collected from *P. isosceles*, *P. patagonicus* and *X. rasile*: Body pyriform, anterior region dilated and proboscis cylindrical. Proboscis wider at the posterior end, armed with 18 longitudinal rows with 12-14 hooks; 9-11 anterior hooks, with well developed roots posteriorly directed, and 3 small basal hooks with small roots anteriorly directed. Neck short with greater width at the posterior end without hooks. Anterior portion of trunk swollen and flattened in form of a bulb. Proboscis receptacle with double-walled. Tegumental spines covering bulb at dorsal foretrunk length, extending by ventral region to posterior end. A pair of lemnisci moderately short, lobe-like, reaching  $\frac{1}{2}$  proboscis receptacle. In some female specimens, genital and tegumental spines are contiguous in ventral region but clearly distinguishable. Genital opening surrounded by triangular genital spines larger than tegumental spines. Male genital apparatus: testes rounded, contiguous. Six cement glands claviform, followed by Saeffigen's pouch elongated, seminal vesicle elongated, and bursa copulatrix. Female genital apparatus: ovarian balls primordium, uterine bell elongated, uterus straight, and a muscular vagina divided in funnel, sphincter, and bulb. Male genital spines show a distinctive radial pattern of distribution, with 14 spines each side around bursa copulatrix opening, and one more central spine called "c", at dorsal surface. The female genital spines shifted to ventral side and are smaller than those ones of males.

Measurements of juveniles of *C. australe*, males and females, collected from *P. isosceles*, *P. patagonicus* and *X. rasile* are showed in Table 3.

#### Taxonomic summary:

Hosts: *Paralichthys isosceles* (*Pi*), *P. patagonicus* (*Pp*) and *X. rasile* (*Xr*).

Parasitary indices: P = 5%, MI = 3.3, MA = 0.17, RI = 1-5 (*Pi*); P = 16.7 %, MI = 3.6, MA = 0.6, RI = 1-7 (*Pp*); P = 10 %, MI = 2, MA = 0.2, RI = 1-4 (*Xr*).

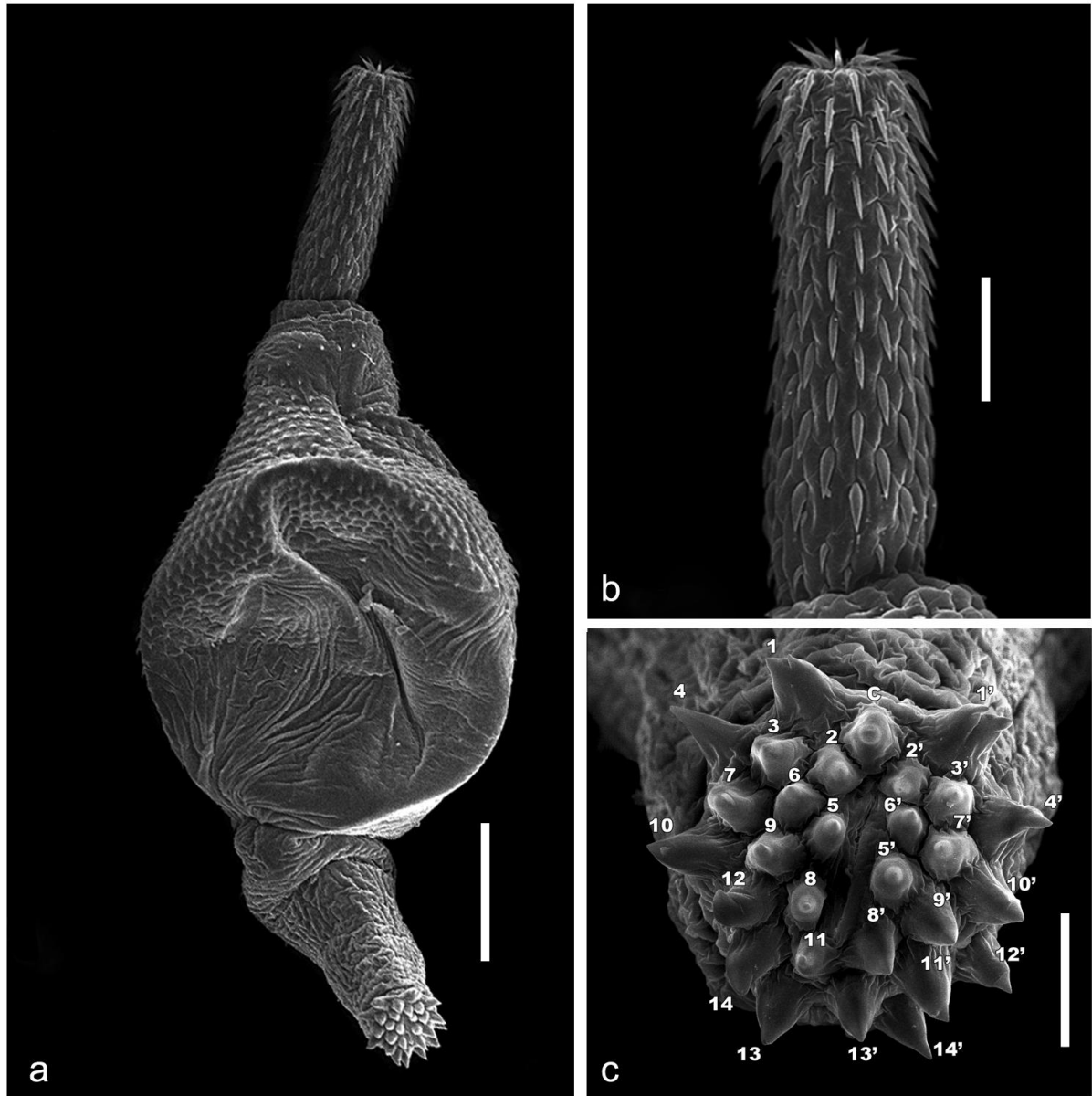
Infection sites: stomach and intestine (*Pi*); intestine (*Pp*, *Xr*).

Collected specimens: 10 (*Pi*); 18 (*Pp*); 6 (*Xr*).

Deposited specimens: CHIOC 37836b (*Pi*); CHIOC 37172, 37837, 37964, 38048a-b, 38049a-b, 38050a-c (*Pp*); 38055, 38056 (*Xr*).



**Fig. 7** Juveniles of *Corynosoma australe* in *Paralichthys patagonicus*. **a** Female, total, lateral view. **b** Detail of proboscis of a female. **c** Female, posterior end, lateral view. **d** Male, posterior end, ventral view. Bars **a** = 1 mm, **b** = 0.25 mm, **c** = 0.2 mm, and **d** = 0.1 mm



**Fig. 8** Juvenile of *Corynosoma australe* in *Paralichthys patagonicus*, SEM. **a** Male, total, latero dorsal view. **b** Detail of proboscis of a male, latero dorsal view. **c** Male, posterior portion, detail of genital spines, showing a distinctive radial pattern of distribution, latero dorsal view. Bars **a** = 200  $\mu\text{m}$ , **b** = 100  $\mu\text{m}$ , **c** = 40  $\mu\text{m}$



**Table 3** Measurements of juveniles of *Corynosoma australe*, males and females, collected from *Paralichthys isosceles*, *P. patagonicus* and *Xystreureys rasile*

<i>C. australe</i>	<i>P. isosceles</i>	<i>P. patagonicus</i>		<i>X. rasile</i>
	Males (n=1)	Males (n=4)	Females (n=7)	Males (n=2)
Body length	2.90	1.77-2.42 (2.15)	2.82-3.6 (2.98)	2.07-3.32 (2.70)
Trunk length	2.20	1.42-1.57 (1.51)	1.7-2.6 (2.05)	1.45-2.70 (2.07)
Trunk width	0.92	0.54-0.6 (0.56)	0.68-1.36 (1.01)	0.55-0.85 (0.70)
Proboscis length	0.63	0.34-0.47 (0.42)	0.04-0.90 (0.62)	0.56-0.76 (0.66)
Proboscis width	0.19	0.14-0.17 (0.15)	0.17-0.38 (0.27)	0.10-0.37 (0.23)
Basal hooks length	0.017-0.027 (0.021)	0.015-0.027 (0.019)	0.025-0.040 (0.030)	0.015-0.022 (0.018)
Basal hooks width	0.005-0.010 (0.008)	0.007-0.010 (0.009)	0.005-0.01 (0.006)	0.005-0.007 (0.006)
Subapical hooks length	0.045-0.055 (0.050)	0.042-0.050 (0.044)	0.045-0.075 (0.059)	0.040-0.070 (0.050)
Subapical hooks width	0.010-0.015 (0.011)	0.010-0.015 (0.011)	0.01-0.012 (0.011)	0.010-0.012 (0.011)
Apical hooks length	0.045-0.050 (0.047)	0.040-0.050 (0.045)	0.045-0.080 (0.061)	0.047-0.072 (0.06)
Apical hooks width	0.007-0.012 (0.009)	0.007-0.010 (0.008)	0.007-0.01 (0.008)	0.010-0.012 (0.011)
Neck length	0.24	0.12-0.16 (0.14)	0.16-0.29 (0.22)	0.11-0.13 (0.12)
Neck width	0.33	0.20-0.26 (0.23)	0.27-0.61 (0.39)	0.24-0.33 (0.28)
Proboscis receptacle length	0.91	0.62-0.75 (0.67)	0.64-1.24 (1.00)	0.67-1.07 (0.87)
Proboscis receptacle width	0.18	0.12-0.17 (0.15)	0.21-0.30 (0.27)	0.23-0.26 (0.24)
Trunk spines length	0.040-0.045 (0.041)	0.032-0.045 (0.040)	0.025-0.045 (0.035)	0.035-0.055 (0.045)
Trunk spines width	0.017-0.022 (0.019)	0.012-0.017 (0.015)	0.010-0.022 (0.016)	0.007-0.025 (0.016)
Genital spine length	0.042-0.045 (0.043)	0.042-0.045 (0.044)	0.025-0.047 (0.037)	0.035-0.045 (0.040)
Genital spine width	0.017-0.022 (0.019)	0.015-0.022 (0.018)	0.012-0.040 (0.026)	0.015-0.025 (0.020)
Leminisci length	0.70	0.49	0.31-0.70 (0.54)	0.43-0.53 (0.48)
Leminisci width	0.24	0.26	0.21-0.28 (0.24)	0.26-0.32 (0.29)
Right testis length	0.13	0.07-0.10 (0.09)	-	0.04-0.13 (0.09)
Right testis width	0.085	0.055-0.085 (0.07)	-	0.100-0.105 (0.102)
Left testis length	0.11	0.065-0.095 (0.085)	-	0.11-0.14 (0.12)
Left testis width	0.010	0.045-0.060 (0.053)	-	0.110-0.130 (0.120)
Cement glands length	0.12-0.16 (0.14)	0.09-0.12 (0.11)	-	0.12-0.15 (0.14)
Cement glands width	0.025-0.030 (0.027)	0.025-0.030 (0.028)	-	0.025-0.035 (0.030)
Uterus length	-	-	0.17-0.30 (0.24)	-
Vagina length	-	-	0.19-0.28 (0.22)	-

Measurements in millimetres and means in parentheses

*Corynosoma cetaceum* Johnston & Best, 1942

(Fig. 9a-d)

#### Description

Based on 19 juveniles collected from *P. isosceles* and *P. patagonicus*: Body pyriform, anterior region dilated and proboscis cylindrical. Proboscis wider at the posterior end, armed with 18-20 longitudinal rows with 15-16 hooks; 12-13 anterior hooks, with well developed roots posteriorly directed, and 2-3 (usually 2) small basal hooks with small roots anteriorly directed. Neck short with greater width at the posterior end without hooks. Anterior portion of trunk swollen and flattened in form of a bulb. In females, the foretrunk and hindtrunk were defined by a typical ventral fold. In males, this fold was more superficial and not always discernible. Proboscis receptacle with double-walled. Tegumental spines covering bulb at dorsal foretrunk length; in males, these spines extending by ventral region, covering trunk length (60-75%); in females, they extending by ventral region, covering trunk length (97-98%), and ventrally trunk exhibits 2 transverse folds, devoid of spines, delimiting blunt lobe between foretrunk and hindtrunk. A pair of lemnisci moderately short, lobe-like, reaching  $\frac{1}{2}$  proboscis receptacle. Genital spines absent in both sexes, less frequently males present a unique genital spine, clearly distinguishable. Male genital apparatus: testes rounded, contiguous. Six cement glands claviform, followed by Saefftigen's pouch elongated, seminal vesicle elongated, and bursa copulatrix. Female genital apparatus: ovarian balls primordium, uterine bell elongated, uterus straight, and a muscular vagina divided in funnel, sphincter, and bulb.

Measurements of juveniles of *C. cetaceum*, males and females, collected from *P. isosceles* and *P. patagonicus* are showed in Table 4.

#### Taxonomic summary:

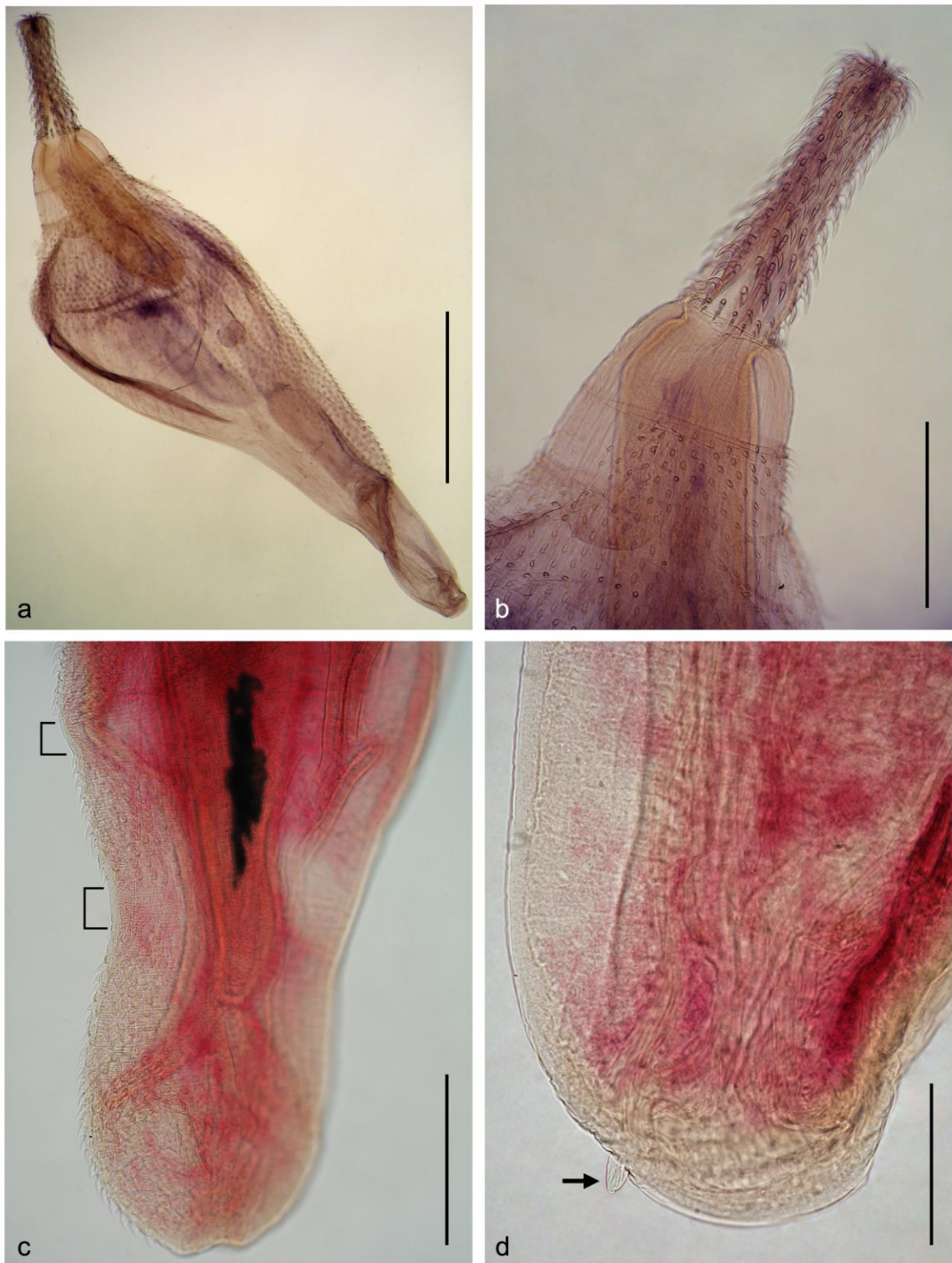
Hosts: *Paralichthys isosceles* (*Pi*) and *P. patagonicus* (*Pp*).

Parasitary indices: P = 1.7%, I = 1, A = 0.017 (*Pi*); P = 26.7 %, MI = 2.25, MA = 0.6, RI = 1-6 (*Pp*).

Infection sites: intestine (*Pi* and *Pp*).

Collected specimens: 1 (*Pi*); 18 (*Pp*).

Deposited specimens: CHIOC 37836a (*Pi*); CHIOC 38051, 38052a-f, 38053, 38054 (*Pp*).



**Fig. 9** Juveniles of *Corynosoma cetaceum* in *Paralichthys patagonicus*. **a** Male, total, lateral view. **b** Proboscis, neck and trunk spines, lateral view. **c** Female, posterior end, lateral view. The brackets indicate the two ventral trunk folds that are devoid of spines, lateral view. **d** Male, posterior end, arrow indicate the genital spine, lateral view. Bars **a** = 1 mm, **b** = 0.5 mm, **c** = 0.4 mm, and **d** = 0.1 mm

**Table 4** Measurements of juveniles of *Corynosoma cetaceum*, males and females, collected from *Paralichthys isosceles* and *P. patagonicus*

<i>C. cetaceum</i>	<i>P. isosceles</i>		<i>P. patagonicus</i>	
	Female (n=1)	Males (n=7)	Females (n=5)	
Body length	3.53	2.93-5.24 (4.19)	2.43-3.34 (3.07)	
Trunk length	2.7	2.55-3.82 (3.24)	2.25-2.45 (2.36)	
Trunk width	0.97	1.00-1.58 (1.25)	0.76-1.05 (0.91)	
Proboscis length	0.77	0.72-1.07 (0.83)	0.54-0.92 (0.81)	
Proboscis width	0.26	0.24-0.36 (0.29)	0.27-0.34 (0.29)	
Basal hooks length	0.030-0.040 (0.035)	0.030-0.040 (0.036)	0.027-0.042 (0.034)	
Basal hooks width	0.007-0.010 (0.008)	0.007-0.012 (0.009)	0.005-0.010 (0.008)	
Subapical hooks length	0.072-0.090 (0.079)	0.065-0.085 (0.075)	0.072-0.087 (0.082)	
Subapical hooks width	0.015-0.020 (0.017)	0.015-0.020 (0.017)	0.012-0.022 (0.017)	
Apical hooks length	0.075-0.087 (0.082)	0.065-0.082 (0.074)	0.080-0.090 (0.085)	
Apical hooks width	0.012-0.015 (0.013)	0.012-0.015 (0.013)	0.010-0.017 (0.013)	
Neck length	0.23	0.17-0.33 (0.22)	0.15-0.23 (0.17)	
Neck width	0.51	0.35-0.55 (0.44)	0.29-0.64 (0.41)	
Proboscis receptacle length	1.13	1.00-1.37 (0.001)	1.13-1.30 (1.18)	
Proboscis receptacle width	0.38	0.23-0.40 (0.33)	0.32-0.42 (0.36)	
Trunk spines length	0.042-0.050 (0.045)	0.050-0.057 (0.052)	0.040-0.052 (0.045)	
Trunk spines width	0.037-0.040 (0.040)	0.015-0.037 (0.024)	0.027-0.042 (0.036)	
Leminisci length	-	0.40-0.84 (0.62)	0.32-0.54 (0.50)	
Leminisci width	-	0.22-0.48 (0.31)	0.28-0.44 (0.35)	
Right testis length	-	0.12-0.18 (0.15)	-	
Right testis width	-	0.06-0.12 (0.08)	-	
Left testis length	-	0.10-0.17 (0.13)	-	
Left testis width	-	0.09-0.12 (0.10)	-	
Cement glands length	-	0.21-0.33 (0.28)	-	
Cement glands width	-	0.04-0.06 (0.05)	-	
Copulatrix bursa length	-	0.36-1.03 (0.56)	-	
Copulatrix bursa width	-	0.18-0.42 (0.28)	-	
Uterus length	0.54	-	0.45-0.58 (0.51)	
Vagina length	0.28	-	0.24-0.30 (0.26)	

Measurements in millimetres; means in parentheses

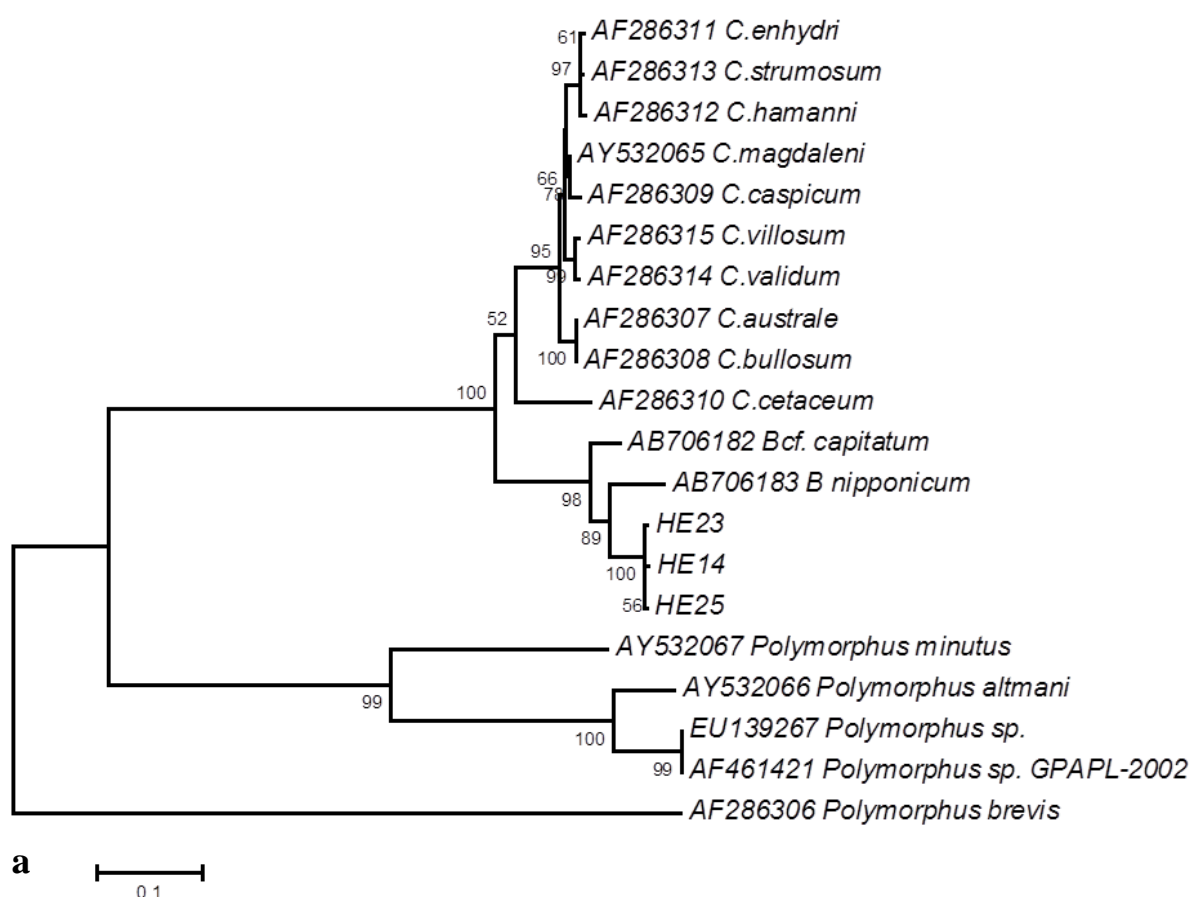
The 124 juvenile acanthocephalans were belonging to four species, *S. sagittifer* (*Ss*), *B. turbinella* (*Bt*), *C. australe* (*Ca*) and *C. cetaceum* (*Cc*), of Palaeacanthocephala Meyer, 1931, 37 specimens were collected of 16 *P. isosceles* parasitized by 4 species, presenting 1 multiple infection with 3 species (*Ss*, *Bt*, *Ca*), 4 multiple infections with 2 species, being 3 with *Ss*, *Bt* and 1 with *Ca*, *Cc*, and 11 with unique infections, 6 with *Ss*, 4 with *Bt* and 1 with *Ca*; 81 specimens were collected of 13 *P. patagonicus* parasitized by 4 species, presenting 2 multiple infections with 3 species (*Ss*, *Ca*, *Cc*; *Ss*, *Bt*, *Cc*), 2 multiple infections with 2 species (*Ss*, *Ca*) and 3 multiple infections with 2 species (*Ss*, *Bt*; *Bt*, *Cc*; *Ca*, *Cc*) and 3 unique infections, being 2 with *Cc* and 1 with *Ss*; and 6 specimens were collected of 3 *X. rasile* parasitized by a unique species (*Ca*).

Among 31 worms submitted to genetic analysis, 4/20 *Bolbosoma* sp. and 1/8 *Corynosoma* sp. yielding DNA sequences. No DNA sequence was obtained from *Serrasentis* sp. worms. Three specimens of *Bolbosoma* sp. and one from *Corynosoma* sp. were positive to ITS regions and 2 *Bolbosoma* sp. and one *Corynosoma* sp. for *cox1* gene.

A ITS dataset (843bp) was constructed with all reference sequences available on Genbank (12/2015) from *Bolbosoma*, *Corynosoma* and *Polymorphus* genera, including samples HE14, HE23, and HE25 (ITS dataset I). Due to the low quality of HE38, ITS dataset was shortened (574pb) and named Dataset II. The *cox1* dataset contained all sequences available on Genbank (12/2015) from *Bolbosoma*, *Corynosoma*, *Hexaglandula* and *Leptorhynchoides* genera, and samples HE25, HE38 and HE43. Maximum likelihood (ML) trees were constructed using the Tamura 3-parameter model (TN92) with the gamma distribution (+G) for ITS dataset I; K2P+G for ITS dataset II; and Hasegawa-Kishino-Yano model (HKY) plus gamma distribution and invariable sites (+G+I) for *cox1* dataset, as it was determined to be the best-fitting model of DNA substitution using the Bayesian information criterion. Nucleotide sequences were deposited in GenBank with the accession numbers KU314817-KU314823.

Regarding ITS dataset I, phylogenetic trees based on NJ K2P and ML TN92+G (Fig. 10a) confirmed *Bolbosoma* sp. identification. The three specimens grouped with the only two ITS sequences available of *Bolbosoma* species, *B. capitatum* e *B. nipponicum* with high bootstrap values of 98% and 99%, for NJ and ML analysis, respectively. Regarding ITS Dataset II (NJK2P and MLK2P), one specimen (HE38) of *Corynosoma* sp. (Fig. 10b), was including in genus-specific cluster (NJ = 73%, ML = 76%), closely related to *C. australe* and *C. bullosum* subcluster (NJ = 88%, ML = 93%). Both Dataset I and II and methods agreed in showing *Bolbosoma* and *Corynosoma* genera as monophyletic, and closely related (NJ = 100%, ML =

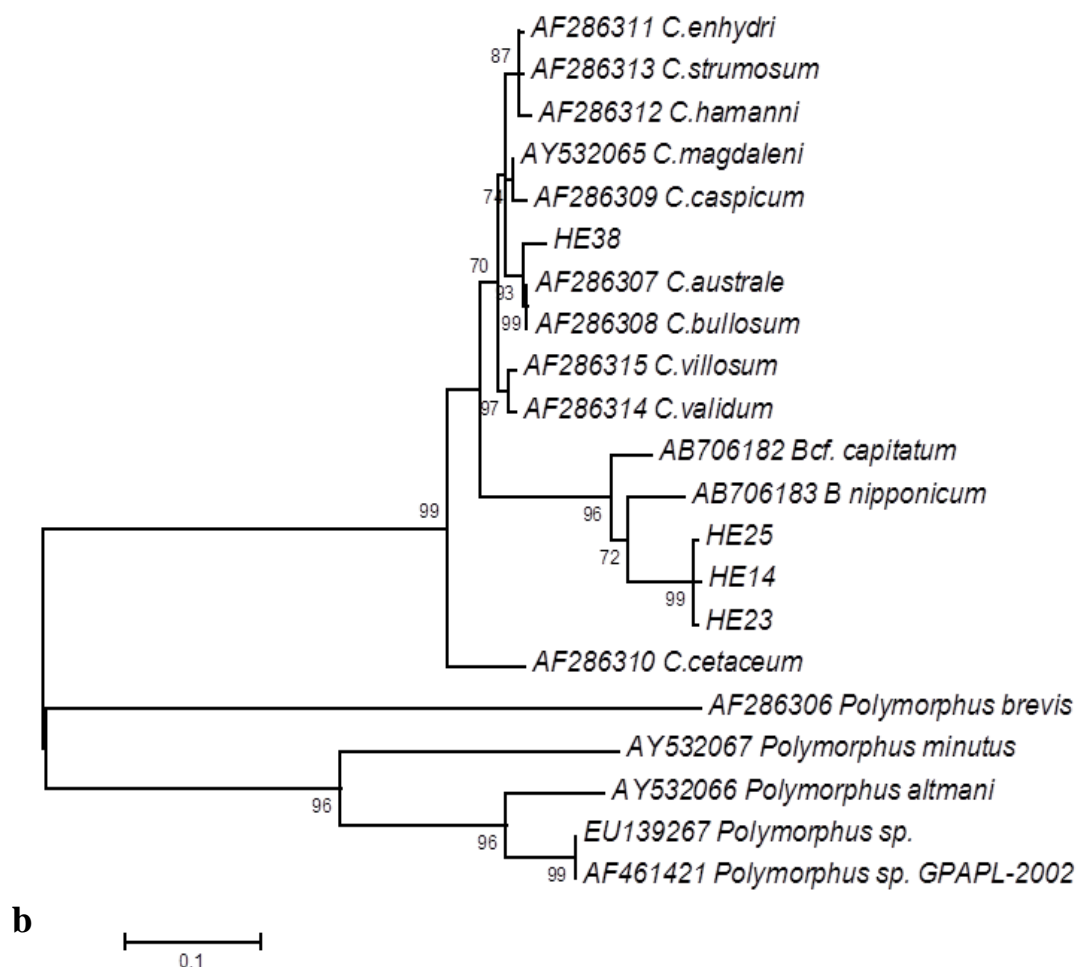
99/98%) and *Polymorphus* genus as polyphyletic. The exception is when ML analysis is applied that *C. cetaceum* (AF286310) did not group within *Corynosoma* genus cluster and is placed as outgroup, basal to the two genera *Bolbosoma*, and *Corynosoma*. In relation to *cox1*, phylogenetic trees, based on NJ K2P and ML HKY+G+I, demonstrated the same topology (Fig. 11). HE38 specimen grouped within *Corynosoma* sp. cluster with the higher support for both NJ and ML analysis (bootstrap=100%). In the same way, the two *Bolbosoma* sp. sequences from this study (HE25 and HE43) clustered together with maximum support (bootstrap=100%), with all *Bolbosoma cox1* sequences available (NJ = 94%, ML= 98%), and



**Fig. 10** ML phylogenetic trees inferred from ITS sequences from this study (HE14, HE23, and HE25) and GenBank sequences (species and accession numbers are shown). **a** ITS Dataset I applying TN92+G model.

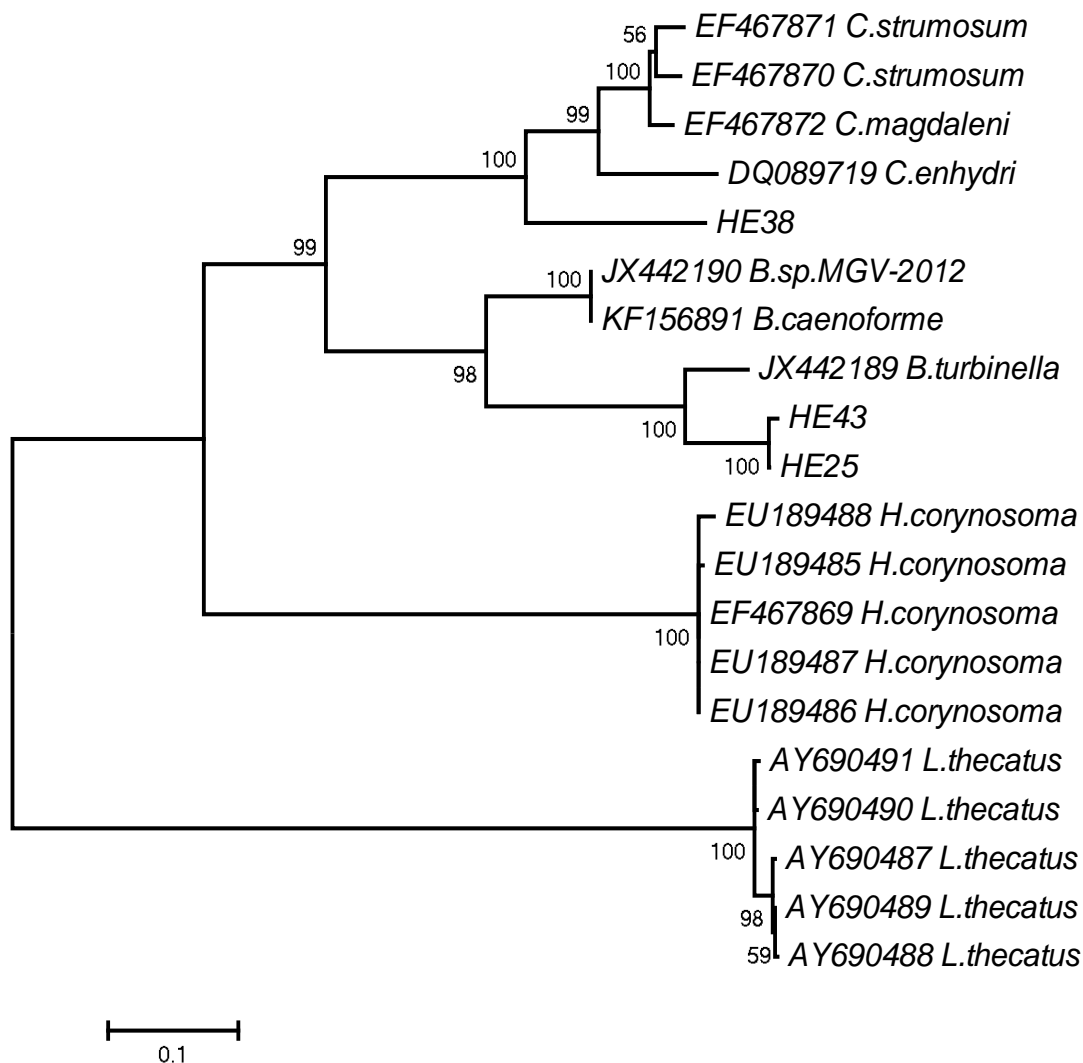
(Continued...)

(Continued..)



**Fig. 10** ML phylogenetic trees inferred from ITS sequences from this study (HE14, HE23, and HE25) and GenBank sequences (species and accession numbers are shown). **b** ITS Dataset II using K2P+G model. Numbers at nodes are support bootstrap values higher than 50%. Regular numbers correspond to ML analysis, and italic numbers to NJ analysis with K2P model.

robustly with *B. turbinella* with the higher bootstrap value (NJ/ML = 100%). The analysis also revealed that a sequence deposited as *Bolbosoma sp. MGV-2012* could be assigned to *B. caenoforme* (bootstrap=100%). Additionally, two species-specific clades from *Hexaglandula corynosoma* and *Leptorhynchoides thecatus* were produced with the higher bootstrap value for both NJ and ML analysis (Fig. 11).



**Fig. 11** ML phylogenetic tree inferred from *cox1* gene sequences from this study (HE 25, HE38 and HE43) and GenBank sequences. Numbers at nodes are the support bootstrap values higher than 50%. Regular numbers correspond to ML analysis with HKY model and G+I parameters, and italic numbers to NJ analysis with K2P model

## Discussion and conclusion

Adults, juveniles and cysthacanth of the 4 acanthocephalan species found in this study, have been found in marine mammals and fish worldwide. *Serrasentis sagittifer* in fish from Mexican and United States of America Atlantic coasts, Western Africa, Brazil, Australia,



Arabian and Persian Gulfs, Red Sea, and Indian Ocean (Yamaguti 1963; Travassos 1966; Golvan 1969; Petrochenko 1971a; Salgado-Maldonado 1978; Jansen and Burreson 1990; Amin and Sey 1996; Kardousha 2005; Maghami et al. 2008; Rucket et al. 2009; Verweyen et al. 2011; Abdel-Ghaffar et al. 2014). *Bolbosom turbinella* in cetaceans from Atlantic and Pacific oceans, Arctic and Antarctic waters, and in fish from Chilean, Argentinean and Brazilian coasts (Baylis 1929, 1932; Meyer 1932; Klumov 1963; Machado Filho 1964; Petrochenko 1971b; Galkina 1972; George- Nascimento and Arancibai 1992; Measures 1992, 1993; Dailey and Vogelbein 1991; Silva and Cousin 2006; Alarcos et al. 2016). *Corynosoma australe* and *C. cetaceum* in mammals and fish from Pacific and Atlantic oceans (Golvan 1959; Yamaguti 1963; Petrochenko 1971b; Schimdt and Dailey 1971; Brownell Jr 1975; Kagei et al. 1976; Zdzitowiecki 1984; Smales 1986; Shostak et al. 1986; Figueroa and Puga 1990; Torres et al. 1992; Aznar et al. 1994a, b, 1999a, b, 2001, 2002a, b, 2006, 2015; Corcuera et al. 1995; Oliva et al. 1996, 2008; Andrade et al. 1997; Dans et al. 1999; Knoff et al. 2001; Aznar et al. 2004, 2006, 2012; Braicovich et al. 2005; Sardella et al. 2005; Tantaleán et al. 2005; Beron-Vera et al. 2007, 2008; Santos et al. 2008; Alarcos and Timi 2012; Hernandez-Orts et al. 2013; Alarcos et al. 2016).

The species *S. sagittifer* identified in the present study resembled morphologically those previously recorded as immature and adult specimens from various teleost species reported in the world (Yamaguti 1963; Travassos 1966; Golvan 1969; Petrochenko 1971a; Salgado-Maldonado 1978; Abdel-Ghaffar et al. 2014). They resemble to the cystacanth specimen measurements collected from Red Sea and Arabian Gulf fish, but our specimens presented body lengths lightly smaller (Al-Zubaidy and Mhaisen, 2012; Kardousha, 2005). Emphasizing the comments of Al-Zubaidy and Mhaisen (2012), the difference in size can be assigned to the developmental stage of the helminth and some other minor differences in the number and length of structures due to intraspecific variation, taking in account that in the present study they are juveniles.

In the Brazilian coast, specimens of *Serrasentis* sp. (cystacanths) have been reported on teleost hosts. All of them were deposited in the CHIOC (Luque et al. 1995, 1996a, b, 2003; Takemoto et al. 1996; Alves et al. 2005; Santos et al. 2008; Paschoal et al., 2015). After analyses of the deposited specimens of hosts, *Haemulon steindachneri* (Jordan and Gilbert, 1882) (33325a, b, 33326, 33327), *Orthopristis ruber* (Cuvier, 1830) (33328), *Paralonchurus brasiliensis* (Steindachner, 1875) (35102), *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 (36484), *Anisotremus surinamensis* (Bloch, 1791) (37940), *A. virginicus* (L., 1758) (37941) and *Conodon nobilis* (L., 1758) (37942, 37943) it was possible to identify them as *S. sagittifer*.

The unique report of adult specimens was made by Travassos (1966) (CHIOC 29128) from *R. canadus*.

The juvenile specimens of *B. turbinella* collected in the present study were according to the previous morphological descriptions of adults collected from cetaceans, mainly by the proboscis hooks and the trunk spine distributions (Porta 1908; Machado Filho 1964; Petrochenko 1971b; Measures 1992). Morphometrically, comparing the specimens structures of present study with adult specimens of *B. turbinella* collected of *Balaenoptera borealis* from Brazil by Machado Filho (1964) deposited in CHIOC (29781-29831), specimens presented smaller lengths, and the difference in size that could be related to the developmental stage of the helminth.

Some cystacanth specimens deposited on the CHIOC, nominated as *Corynosoma* sp., collected of Brazilian chondrosteian and teleostean fish [*Squatina* sp. (34282), *Squalus megalops* (Macleay, 1881) (34284a-b), *Galeorhinus galeus* (Linnaeus, 1758) (34285, 34286, 34287a-b), *Scomber japonicus* Houttuyn, 1782 (36247), *Prionotus punctatus* (Bloch, 1793) (36521), *Euthynnus alleteratus* (Rafinesque, 1810) (36534), and *Sarda sarda* (Bloch, 1793) (36548)] reported by Knoff et al. (2001), Alves et al. (2003), Alves and Luque (2006), and Bicudo et al. (2005) had reevaluated their morphological characters and it was possible identify them as *B. turbinella*.

The morphological and morphometrical characters of *C. australe* specimens collected in the present study are according to the previous descriptions reported to the cysthacanth in Brazilian and Argentinean fish hosts (Pereira Jr and Neves 1993; Knoff et al. 2001; Sardella et al. 2005; Aznar et al. 2015), and resembled morphologically with adults of the original description (Johnston, 1937; Petrochenko, 1971b). According to Sardella et al. (2005) the male genital opening was surrounded by 3 irregular rows of 18 - 34 triangular spines, and in the present study the male specimens showed a pattern of distribution of 29 spines around genital opening (Fig. 8c). the cystacanth specimens nominated as *Corynosoma* sp., deposited on the CHIOC reported by Alves et al. (2003), Bicudo et al. (2005), Alves and Luque (2006), collected in Brazilian teleostean fish [*S. japonicas* (36247), *P. punctatus* (36521), *E. alleteratus* (36534), and *S. sarda* (36548)] had reevaluated the morphological characters and they were identified as *C. australe*.

In present study, the *C. cetaceum* specimens presented morphological and morphometric characters according to the original and others previous descriptions (Johnston and Best 1942; Petrochenko 1971b; Figueroa and Puga 1990; Aznar et al. 1999a, b, 2002a, b, 2015; Sardella et al. 2005).

In Argentina, Alarcos and Timi (2012) also reported juvenile acanthocephalans in the same hosts of the present study, but only *C. australe* and *C. cetaceum* species were reported. Comparing with our results, *C. australe* occurred with higher parasitary indices in *P. patagonicus*, with prevalence (P) = 94.12% and mean abundance (MA) = 6.35; in *P. isosceles* with P = 92.16% and MA = 14.69 and in *X. rasile* with P = 89.58% and MA = 9.23. The species *C. cetaceum* occurred in *P. patagonicus* with higher parasitary indices (P = 74.51% and MA = 2.55), and in *X. rasile* (P = 2.08% e MA = 0.04), differently from the present study which occurred only in *P. isosceles* and *P. patagonicus*. Furthermore, Alarcos et al. (2016) reported *P. isosceles* parasitized by *C. australe* and *B. turbinella* juveniles from Cabo Frio municipality, and *B. turbinella* from Niterói municipality, Rio de Janeiro, Brazil. Contrasting with the present work, they found only two acanthocephalan species, *C. australe* with similar parasitary indices (P = 7.9% and MA = 0.1), and *B. turbinella* from Cabo Frio with slightly higher indices (P = 36.8% and MA = 0.5) and from Niterói, with slightly higher indices (P = 25% and MA = 0.6). In the present study, *P. isosceles* presented more two acanthocephalan species, *S. sagittifer* and *C. cetaceum*.

Concerning the genetic analysis, we can state that efficiency in the DNA recovery was low, since from 31 worms submitted to DNA extraction 4/20 *Bolbosoma* sp. and 1/8 *Corynosoma* sp. yielding DNA sequences. This is due to fixatives solutions as formalin and alcohols that affect considerably the DNA preservation as showed before (Srinivasan et al., 2002; Iñiguez et al., 2011). However, it was possible to confirm the morphological identification of *Bolbosoma* sp. and *Corynosoma* sp. specimens using the two molecular targets. Because only two ITS *Bolbosoma* sp. sequences are available, neither of them belong to *B. turbinella*, the phylogenetic analysis validated the genus but not the species identification of specimens. In contrast, *cox1* analysis confirmed *B. turbinella* identification of specimens from this study, complementing the morphological species identification. The molecular target *cox1*, the universal barcode for species recognition, has been shown an excellent species marker for acanthocephalans (Garcia- Varela et al., 2008; 2009; 2013). The present study confirmed this *cox1* efficiency as observed on *B. caenoforme* discrimination from a non-identified Genbank sequence (JX442190), the clearly species definition of *H. corynosoma* and *L. thecatus* and also the demonstration of paraphyly of *Polymorphus* genus. Opposite to *B. turbinella* genetic identification, *cox1* phylogeny placed the *Corynosoma* sp. specimen, morphologically classified as *C. australe* into the genus cluster, being the ITS trees more informative, displayed it closely related to *C. australe*, but also to *C. bullosum*. A richer DNA dataset is needed to conduct a more conclusive analysis. This, together with the use of

fixed specimens, are the main problems of the molecular taxonomy of helminths. It is necessary to encourage the generation of more curated DNA data, generated in collaboration with classical taxonomists, validated by publications or from specimens available in institutional biological collections.

Although we studied the same host species collected by Alarcos & Timi (2012), from the same biogeographic realms (Temperate South America) and province (Warm Temperate Southwestern Atlantic), they are from different ecoregions, i.e., South Eastern Brazil ecoregion in this study and Uruguay-Buenos Aires Shelf ecoregion from Alarcos & Timi collect (2012). According to Spalding et al. (2007), the species composition is likely to be determined by the predominance of a small number of ecosystems and/or a distinct suite of oceanographic or topographic features. The dominant biogeographic forcing agents defining the ecoregions vary from location to location but may include isolation, upwelling, nutrient inputs, freshwater influx, temperate regimes, ice regimes, exposure, sediments, currents, and bathymetric or coastal complexity, and that these ecoregions differences can be influencing these fish parasite communities of both regions. This can be observed in Alarcos and Timi (2012) and Alarcos et al. (2016) where they not collected the same number of species and presented some differences on parasitary indices for the same hosts when compared with our results, as mentioned above.

Adding to the comments of Luque et al. (1995) in others Brazilian fish, the presence of cysthacanth, and in the present study, juveniles, on paralichthyids, reveals the intermediate trophic level of these fishes in the marine food web, and also suggests to act as paratenic host, since it was only found as juvenile stage. The present study is the first integrative taxonomic analysis of acanthocephalans from Brazil, providing novel morphological and molecular data, and new hosts records (*P. isosceles* and *P. patagonicus* for *S. sagittifer*, and *P. patagonicus* for *B. turbinella*), contributing for a better comprehension of this taxonomic group.

**Acknowledgments** The authors would like to thank Mrs Heloisa Nogueira Diniz and Mr Ricardo Baptista Schmidt (Serviço de Produção e Tratamento de Imagens do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ) for processing the figures; the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico–CNPq and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES for partial financial support.

## References

- Abdel-Ghaffar F, Morsy K, Abdel-Gaber R, Mehlhorn H, Al Quraishy S, Mohammed S (2014) Prevalence, morphology, and molecular analysis of *Serrasentis sagittifer* (Acanthocephala: Palaeacanthocephala: Rhadinorhynchidae), a parasite of gilthead Sea bream *Sparus aurata* (Sparidae). *Parasitol Res* 113:2445-2454
- Acha PN, Szyfres B. (2003) Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. 3rd ed. Vol. III. Parasitoses. Scientific and Technical Publication N° 580, Washington D.C.: PAHO
- Figueiredo JL, Menezes NA (2000) Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil. VI. Teleostei (5). Universidade de São Paulo, Museu de Zoologia, São Paulo
- Alarcos AJ, Timi JT (2012) Parasite communities in three sympatric flounder species (Pleuronectiformes: Paralichthyidae): similar ecological filters driving toward repeatable assemblages. *Parasitol Res* 110:2155-2166
- Alarcos AJ, Pereira AN, Taborda NL, Luque JL, Timi JT (2015) Parasitological evidence of stocks of *Paralichthys isosceles* (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) at small end geographical scales in South American Atlantic coasts. *Fish Res* 173:221-228
- Alves DR, Luque JL, AbdallahVD (2003) Metazoan parasites of chub mackerel, *Scomber japonicus* Houttuyn (Osteichthyes: Scombridae), from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 12:164-170
- Alves DR, Paraguassú AR, Luque JL (2005) Community ecology of the metazoan parasites of the grey triggerfish, *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 and queen triggerfish *B. vetula* Linnaeus, 1758 (Osteichthyes: Balistidae) from the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 14:71-77
- Alves DR, Luque JL (2006) Ecologia das comunidades de metazoários parasitos de cinco espécies de escombrídeos (Perciformes: Scombridae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet* 15: 167-181
- Al-Zubaidy AB, Mhaisen FT (2012) A record of two species of Acanthocephala (Echinorhynchida: Rhadinorhynchidae) from Red Sea fishes, Yemeni coastal waters. *Mesopt J Mar Sci* 27:15-28
- Amin OM (1985) Classification. In: Crompton DWT, Nickol BB. *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge University Press, London, pp. 27-72

- Amin OM (1987) Key to the Families and Subfamilies of Acanthocephala, with the erection of a new class (Polyacanthocephala) and a new order (Polyacanthorhynchida). *J Parasitol* 73:1216-1219
- Amin OM, Sey O (1996) Acanthocephala from Arabian Gulf fishes off Kuwait, with descriptions of *Neoechinorhynchus dimorphospinus* sp. n. (Neoechinorhynchidae), *Tegorhynchus holospinosus* sp. n. (Illiosentidae), *Micracanthorhynchina kwaitensis* sp. n. (Radiorhynchidae), and *Slendrorhynchus breviclaviproboscis* gen. n., sp. n. (Diplosetidae); and key to species of the genus *Micracanthorhynchina*. *J Helminthol Soc Wash* 63:201-210
- Andrade ALV, Pinedo MC, Pereira Jr J (1997) The gastrointestinal helminths of Franciscana, *Pontoporia blaiuillei*, in Southern Brazil. *Rep Int Whaling Commission* 47:669-673
- Aznar FJ, Raga JA, Corcuera J, Monzón F (1994a) Helminths as biological tags for franciscana (*Pontoporia blaiuillei*) (Cetacea, Pontoporidae) in Argentinian and Uruguayan waters. *Mammalia* 59:427-435
- Aznar FJ, Balbuena JA, Raga JA (1994b) Helminth communities of *Pontoporia blaiuillei* (Cetacea, Pontoporidae) in Argentinian waters. *Canadian J Zool* 72:702-706
- Aznar FJ, Bush AO, Fernández M, Raga JA (1999a) Constructional morphology and mode of attachment of the trunk of *Corynosoma cetaceum* (Acanthocephala: Polymorphidae). *J Morphol* 241:237-249
- Aznar FJ, Bush AO, Raga JA (1999b) *Polymorphus arctocephali* Smales, 1986 a synonym of *Corynosoma cetaceum* Johnston & Best, 1942 (Acanthocephala: Polymorphidae). *Syst Parasitol* 44:59-70
- Aznar FJ, Bush AO, Balbuena JA, Raga JA (2001) *Corynosoma cetaceum* in the stomach of franciscanas, *Pontoporia blaiuillei* (Cetacea): an exceptional keys of habitat selection by an acanthocephalan. *J Parasitol* 87:536-541
- Aznar FJ, Berón-Vera B, Crespo EA, Raga JA (2002a) Presence of genital spines in a male *Corynosoma cetaceum* Johnston and Best, 1942 (Acanthocephala). *J Parasitol* 88:403-404
- Aznar FJ, Bush AO, Raga JA (2002b) Reduction and variability of trunk spines in the acanthocephalan *Corynosoma cetaceum*: the role of physical constraints on attachment. *Invertebrate Biol* 121:104-114
- Aznar FJ, Cappozzo HL, Taddeo D, Montero FE (2004) Recruitment, population structure, and habitat selection of *Corynosoma australe* (Acanthocephala) in South American fur seals, *Arctocephalus australis*, from Uruguay. *Canadian J Zool* 82:726-733

- Aznar FJ, Pérez-Ponce de León G, Raga JA (2006) Status of *Corynosoma* (Acanthocephala: Polymorphidae) based on anatomical, ecological, and phylogenetic evidence, with the erection of *Pseudocorynosoma* n. gen. J Parasitol 92:548-564
- Aznar FJ, Hernandez-Orts J, Suarez AA, Garcia-Varela M, Raga JA, Cappozzo HL (2012) Assessing host-parasite specificity through coprological analysis: a case study with species of *Corynosoma* (Acanthocephala: Polymorphidae) from marine mammals. J Helminthol 86:156-164
- Aznar FJ, Crespo EA, Raga JA, Hernandez-Orts J (2015) Trunk spines in cystacanths and adults of *Corynosoma* spp. (Acanthocephala): *Corynosoma cetaceum* as an exceptional case of phenotypic variability. Zoomorphol. DOI 10.1007/s00435-015-0290-7
- Baylis HA (1929) Parasitic nematoda and acanthocephala collected in 1925-1927. Discovery Reports 1:542-559
- Baylis HA (1932) A list of worms parasitic in Cetacea. Discovery Reports 6:393-418
- Beaver PC, Otsuji T, Yoshimura H, Uchikawa R, Sato A (1983) Acanthocephalan, probably *Bolbosoma*, from the peritoneal cavity of man in Japan. Am J Trop Med Hig 32:1016-1018
- Beron-Vera B, Crespo EA, Raga JA, Fernandez M (2007) Parasite communities of common dolphins (*Delphinus delphis*) from Patagonia: the relation with host distribution and diet and comparison with sympatric hosts. J Parasitol 93:1056-1060
- Beron-Vera B, Crespo EA, Raga JA (2008) Parasites in stranded cetaceans of Patagonia. J Parasitol 94:946-948
- Bicudo AJA, Tavares LER, Luque JL (2005) Metazoários parasitos da cabrinha *prionotus punctatus* (Bloch, 1793) (Osteichthyes: Triglidae) do litoral do estado Rio de Janeiro, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet 14:27-33
- Braicovich PE, González RA, Tanzola RD (2005) First record of *Corynosoma australe* (Acanthocephala, Polymorphidae) parasitizing seahorse, *Hippocampus* sp. (Pisces, Syngnathidae) in Patagonia (Argentina). Acta Parasitologica 50:145-149
- Brownell Jr RL (1975) Progress report on the biology of the franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei*, in Uruguayan Waters. J Fish Res Board Canada 32:1073-1078
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited. J Parasitol 83:575-583
- Carvalho-Filho, A (1999) Peixes da Costa Brasileira. Melro, São Paulo, 320pp.

- Corcuera J, Monzón F, Aguilar A, Borrell A, Raga JA (1995) Life story data, organochlorine pollutants and parasites from eight Burmeister's porpoises, *Phocoena spinipinnis*, caught in northern Argentine Waters. Rep Int Whaling Commission 16:365-372
- Dailey MD and Vogelbein WK (1991) Parasite fauna of three species of antarctic whales with reference to their use as potential stock indicators. Fish Bull 89:355-365
- Dans SL, Reyes LM, Pedraza SM, Raga JA, Crespo EA (1999) Gastrointestinal helminths of the dusk dolphin, *Lagenorhynchus obscurus* (Grey, 1828), off Patagonia in the Southwest Atlantic. Mar Mammal Sci 15:649-660
- Eiras JC, Takemoto RM, Pavanelli GC (2006) Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes. 2 ed Rev Ampl. Eduem, Maringá
- Felizardo NN, Menezes RC, Tortelly R, Knoff M, Pinto RM, Gomes DC (2009b) Larvae of *Hysterothylacium* sp. (Nematoda: Anisakidae) in the sole fish *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from the littoral of the state of Rio de Janeiro, Brazil. Vet Parasitol 166:175-177
- Felizardo NN, Knoff M, Pinto RM, Gomes DC (2009a). Larval anisakid nematodes of the flounder, *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from Brazil. Neotrop Helminthol 3:57-64
- Felizardo NN, Torres E JL, Fonseca MCG, Pinto RM, Gomes DC, Knoff M (2010) Cestodes of the flounder *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Osteichthyes- Paralichthyidae) from the state of Rio de Janeiro, Brazil. Neotrop Helminthol 4:113-126
- Felizardo NN, Justo MC, Knoff M, Fonseca MCG, Pinto RM, Gomes DC (2011) Juvenile didymozoids of the types, Torticaecum and Neotorticaecum (Didymozoidae: Digenea), from new marine fish hosts (Pisces: Teleostei) in the neotropical region of Brazil. J Helminthol 85:270-275
- Figueiredo JL, Menezes NA (2000) Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil. VI. Teleostei (5). Universidade de São Paulo, Museu de Zoologia, São Paulo
- Figuerola L, Puga S (1990) *Corynosoma cetaceum* Johnston y Best, 1942 (Acantocephala) em delfín chileno, *Cephalorhynchus eutropia* Gray, 1846 (Cetacea: Delphinidae). Bol Chil Parasitol 45:93-95
- Fonseca MCG, São Clemente SC, Felizardo NN, Gomes DC, Knoff M (2012) Trypanorhyncha cestodes of hygienic-sanitary importance infecting *Paralichthys patagonicus* Jordan, 1889 and *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891) of the Neotropical region, Brazil. Parasitol Res 111:865-874



- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol* 3: 294-299.
- Galkina GG (1972) Monorchism in thorny-headed worms of the genus *Bolbosoma* Porta, 1908 (Acanthocephala: Polymorphidae). (in Russian) *Tr Biol Pochv Inst Nov Ser* 11:116-120
- García-Varela M, Pérez-Ponce de León G, Aznar FJ, Nadler SA (2008) Validating the systematic position of *Proflicollis* Meyer, 1931 and *Hexaglandula* Petrochenko, 1950 (Acanthocephala: Polymorphidae) using cytochrome c oxidase (*cox 1*). *J Parasitol* 94:212-217
- García-Varela M, Pérez-Ponce de León G, Aznar FJ, Nadler AS (2009) Systematic position of *Pseudocorynosoma* and *Andracantha* (Acanthocephala, Polymorphidae) based on nuclear and mitochondrial gene sequences. *J Parasitol* 95:178-185
- García-Varela M, Pérez-Ponce de León G, Aznar FJ, Nadler AS (2013) Phylogenetic relationship among genera of Polymorphidae (Acanthocephala), inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *Mol Phylogenet Evol* 68:176-184
- George-Nascimento M, Arancibia H (1992) Ecological stocks of the jack mackerel (*Trachurus symmetricus murphyi* Nichols) in three fishing áreas off Chile, detected through comparison of the parasite fauna and morphometry. *Rev Chile Hist Nat* 65:453-470
- Golvan YJ (1959) Acanthocéphales du genre *Corynosoma* Lühe 1904 parasites de mammifères d'Alaska et de Midway. *Ann Parasitol Hum Comp* 34:288-321
- Golvan YJ (1969) Systematique des Acanthocephales (Acanthocephala Rudolphi, 1801). L'ordre des Paleacanthocephala Meyer, 1931. La super-famille des Echinorhynchoidea (Cobbold, 1876) Golvan et Houin, 1963. *Mem Mus Nat Hist Nat Paris, sér A, zool*, 57:1-373
- Hernandez-Orts JS, Montero FE, Juan-Garcia A, Garcia NA, Crespo EA, Raga JA, Aznar FJ (2013) Intestinal helminth fauna of the South American sea lion *Otaria flavescens* and fur seal *Arctocephalus australis* from northern Patagonia, Argentina. *J Helminthol* 87:336-347
- Iñiguez AM, Carvalho VL, Motta MR, Pinheiro DC, Vicente AC (2011) Genetic analysis of *Anisakis typica* (Nematoda: Anisakidae) from cetaceans of the northeast coast of Brazil: new data on its definitive hosts. *Vet Parasitol* 178:293-299

- Jansen ME, Burreson EM (1990) Parasites of summer flounder, *Paralichthys dentatus*, in the Chesapeake Bay. J Helminthol Soc Wash 57:31-39
- Johnston TH (1937) Entozoa from the Australian hair seal. Proc Linn Soc New South Wales 62:9-16
- Johnston TH, Best EW (1942) Australian Acanthocephala no.3. Trans R Soc S Aust 66: 250-254
- Kagei N, Tobayama T, Nagasaki Y (1976) On the helminthum of franciscana, *Pontoporia blainvillei*. Sci Rep Whales Res Inst 28:161-166
- Kardousha MM (2005) Helminths parasite larvae collected from Arabian Gulf fish. IV: Description of four larvae including two metacercariae, one didymozoid and one acanthocephalan from Emirate coast. Arab Gulf J Sci Res 23:23-27
- Klumov SK (1963) Food and helminth fauna of whalebone whales (Mystacoceti) in the main whaling regions of the world ocean. (in Russian). Tr Inst Okeanol 71:94-194
- Knoff M, São Clemente SC, Pinto RM, Gomes DC (2001) Digenea and Acanthocephala of elasmobranch fishes from the Southern Coast of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 96:1095-1101
- Knoff M, Felizardo NN, Iñiguez AM, Maldonado Jr A, Torres E JL, Pinto RM, Gomes DC (2012) Genetic and morphological characterization of a new species of the genus *Hysterothylacium* (Nematoda) from *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) of the Neotropical Region, State of Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 107:186-193
- Luque JL, Amato JFR, Takemoto RM (1995) Helminth larval stages in *Orthopristis ruber* and *Haemulon steindachneri* (Osteichthyes: Haemulidae) from the coast of the State of Rio de Janeiro, Brazil. Rev Bras Biol 55:33-38
- Luque JL, Amato JFR, Takemoto RM (1996a) Comparative analysis of the communities of metazoan parasites *Orthopristis ruber* and *Haemulon steindachneri* (Osteichthyes: Haemulidae) from the southern Brazilian littoral: I. Structure and influence of the size and sex of hosts. Rev Bras Biol 56:279-292
- Luque JL, Amato JFR, Takemoto RM (1996b) Comparative analysis of the communities of metazoan parasites *Orthopristis ruber* and *Haemulon steindachneri* (Osteichthyes: Haemulidae) from the southern Brazilian littoral: II. Diversity, interspecific associations, and distribution. Rev Bras Biol 56:293-302

- Luque JL, Alves DR, Ribeiro RS (2003) Community ecology of the metazoan parasites of banded croaker, *Paralochurus brasiliensis* (Osteichthyes: Sciaenidae), from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Scientiarum (Biol Sci)* 25:273-278
- Machado Filho DA (1964) Contribuição para o conhecimento do gênero *Bolbosoma* Porta, 1908 (Palaecanthocephala, Polymorphidae). *Rev Brasil Biol* 24:341-348
- Maghami SSG, Khanmohammadi M, Kerdeghari M (2008) *Serrasentis sagittifer* (Acanthocephala: Radiorhynchidae) from the Japanese Thread Fin Bream, *Nemipterus japonicus*, in Bushehr Waters of Persian Gulf. *J Animal Vet Adv* 7:1430-1433
- Meyer A (1932) Acanthocephala. Dr. H G Bronns Klassen und Ordnungen des Tier-Reichs. Akad Verlagsgesellsch m b H, Leipzig
- Measures LN (1992) *Bolbosoma turbinella* (Acanthocephala) in a blue whale, *Balaenoptera musculus*, stranded in the St. Lawrence Estuary, Quebec. *J Helminthol Soc Wash* 59:06-211.
- Measures LN (1993) Annotated list of metazoan parasites reported from the blue whale, *Balaenoptera musculus*. *J Helminthol Soc Wash* 60:62-66
- Oliva ME, Castro RE, Burgos R (1996) Parasites of the Flatfish *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) (Pleuronectiformes) from Northern Chile. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 91:301-306
- Oliva ME, Vadivia IM, Costa G, Freitas M, Pinheiro de Carvalho MA, Sanches L, Luque JL (2008) What can metazoan parasites reveal about the taxonomy of *Scomber japonicus* Houttuyn in the coast of South America and Madeira Islands? *J Fish Biol* 72:545-554
- Paschoal F, Cezar AD, Luque JL (2015) Checklist of metazoan associated with grunts (Perciformes, Haemulidae) from the Nearctic and Neotropical regions. *Check List* 11:doi:10.15560/11.1.1501
- Pereira Jr J, Neves LFM (1993) *Corynosoma australe* Johnston, 1937 (Acanthocephala, Polymorphidae) em *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Perciformes, Sciaenidae) do litoral do Rio Grande do Sul. *Comun Mus Cien PUCRS, ser zool* 6:51-61
- Petrochenko VI (1971a) Acanthocephala of domestic and wild animals. Vol. I. Ed Skrjabin KI, Academy of Science of URSS, Moscow. Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem
- Petrochenko VI (1971b) Acanthocephala of domestic and wild animals. Vol. II. Ed Skrjabin KI, Academy of Science of URSS, Moscow. Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem

- Porta A (1908) Nota sugli Acanthocefali di Mammiferi del Museo Zoologico di Napoli. Ann Mus Zool R Univ Napoli (Nuova Ser) 2(22):6
- Roberts LS, Janovy Jr J (2000) Schmidt GD, Roberts LS Foundations of Parasitology. 7 ed. NY: Mc Graw Hill, New York
- Rucket S, Klimpel S, Al-Quraishy S, Mehlhorn H, Palm HW (2009) Transmission of fish parasites into grouper mariculture (Serranidae: *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822)) in Lampung Bay, Indonesia. Parasitol Res 104:523-532
- Salgado-Maldonado G (1978) Acanthocéfalos de peces v. Redescrpción de quatro espécies de palaeacanthocéfalos parasitos de peces de México. An Inst Biol Univ Nal Autón México (Ser Zool) 49:49-70
- Santos CP, Gibson DI, Tavares LER, Luque LL (2008) Checklist of Acanthocephala associated with the fishes of Brasil. Zootaxa 1938:1-22
- Sardella NH, Mattiucci S, Timi JT, Bastida RO, Rodríguez DH, Nascetti G (2005) *Corynosoma australe* Johnston, 1937 and *C. cetaceum* Johnston & Best, 1942 (Acanthocephala: Polymorphidae) from marine mammals and fishes in Argentinian waters: allozyme markers and taxonomic status. Syst Parasitol 61:143-156
- Schmidt G, Dailey MD (1971) Zoogeographic and generic status of *Polymorphus* (*Polymorphus*) *cetaceum* (Johnston et Best, 1942) comb. n. (Acanthocephala). Proc Helminthol Soc Wash 38:137
- Schmidt GD (1971) Acanthocephalan infection of man, with two new records. J Parasitol 57: 582-584
- Shostak AW, Dick TA, Szalai AJ, Bernier LMJ (1986) Morphological variability in *Echinorhynchus gabi*, *E. leidy*, and *E. salmonis* (Acanthocephala: Echinorhynchidae) from fishes in northern Canadian waters. Can J Zool, 64:985-995
- Silva RZ, Cousin JCB (2006) Anormalidade intestinal parasitária em *Pontoporia blainvillei* (Cetacea, Platanistoidea, Pontoporiidae) da região litorânea de Rio Grande, RS, Brasil. Biociências 14:37-46
- Smales LR (1986) Polymorphidae (Acanthocephala) from Australian mammals with descriptions of two new species. Syst Parasitol 8:91-100
- Srinivasan M, Sedmack D, Jewell S (2002) Effect of fixatives and tissue processing on the content and integrity of nucleic acids. Am J Pathol 161:1961-1971
- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge MA, Lombana AL, Lourie SA, Martin KD, McManus E, Molnar J, Recchia CA,

- Robertson J (2007) Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience* 57(7):573-583
- Tada I, Otsuji Y, Kamiya H, Mimori T, Sakaguchi Y, Makizumi S (1983) The first case of human infected with an acanthocephalan parasite, *Bolbosoma* sp. *J Parasitol* 69: 205-208.
- Takemoto RM, Amato JFR, Luque JL (1996) Comparative analysis of the metazoan parasite communities of leatherjackets, *Oligoplites palometa*, *O. saurus*, and *O. saliens* (Osteichthyes: Carangidae) from Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Biol* 56:639-650
- Tantaleán M, Sánchez L, Gómez L, Huiza A (2005) Acantocéfalos del Peru. *Rev Peru Biol* 12:83-92
- Torres P, Oporto JA, Brieva LM, Escare L (1992) Gastrointestinal helminths of the cetaceans *Phocoena spinipinnis* (Burmeister, 1865) and *Cephalorhynchus eutropia* (Gray, 1856) from Southern Coast of Chile. *J Wildlife Diseases* 28:313-315
- Travassos L (1966) *Serrasentis sagittifer* (Linton, 1889) (Acanthocephala). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 64:1-10
- Verweyen L, Klimpel S, Palm HW (2011) Molecular Phylogeny of the Acanthocephala (Class Palaeacanthocephala) with a paraphyletic assembled of the orders Polymorphida and Echinorhynchida. *Plos One* 6:doi:101371/journal.pone.0028285
- Yamaguti S (1963) *Systema Helminthum*. Volume V. Acanthocephala. Interscience Publishers Inc, New York
- Zdzitowiecki K (1984) Some antarctic acanthocephalans of the genus *Corynosoma* parasitizing Pinnipedia, with descriptions of three new species. *Acta Parasitol Pol* 29:359-377

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este é o primeiro registro de *A. simplex*, *Hysterothylacium* sp. e *Raphidascaris* sp. parasitando espécimes de *L. gastrophysus* e de *Anisakis typica*, *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* e *Raphidascaris* sp. parasitando os linguados *Paralichthys patagonicus* e *Xystreurys rasile*.

No estudo dos nematoides do peixe sapo-pescador e dos linguados, a identificação foi baseada nos caracteres morfológicos e morfométricos, e a análise genética foi usada para as larvas L<sub>3</sub> das espécies *Anisakis typica* e *Hysterothylacium deardorffoverstreetorum* dos nematoides dos linguados. A caracterização genética confirmou a identificação dos espécimes de *Anisakis* e *Hysterothylacium*, utilizando os alvos moleculares ITS e *cox2*.

O presente estudo é a primeira análise taxonômica integrada dos acantocefalos parasitos de *P. isosceles*, *P. patagonicus* e *X. rasile* no Brasil, fornecendo novos dados morfológicos e moleculares e novos registros de hospedeiros, contribuindo para a melhor compreensão desse grupo taxonômico.

Foi apresentado um padrão de distribuição radial dos espinhos das caudas dos machos de *Corynosoma australe*.

Na análise genética, árvore de ITS dos espécimes de *Corynosoma* sp. mostrou que os espécimes estão relacionados com *C. australe* mas também com *C. bollosum*, e a análise do *cox1* confirmou a identificação dos espécimes de *B. turbinella* deste estudo, complementando a identificação morfológica da espécie. Além disso, as espécies *P. patagonicus* e *X. rasile* são novos registros de hospedeiros para as espécies *S. sagittifer* e *B. turbinella*.

Os estudos dos helmintos das comunidades parasitárias de *P. isosceles*, *P. patagonicus* e de *X. rasile* apresentaram resultados semelhantes, fato que era esperado, uma vez que todos os hospedeiros pertencem a mesma ecoregião marinha.

A presença de estágios larvares de nematoides e juvenis de acantocefalos indicam o potencial destes peixes como um hospedeiro intermediário no ciclo de vida de parasitos transmitidos troficamente no ambiente marinho.

A presença de parasitos em peixes comercializados para consumo humano é muito comum e pode oferecer riscos à saúde. Considerando o elevado número de

casos de anisquidoses em todo o mundo, mais pesquisas são necessárias para um melhor conhecimento a cerca da biologia desses helmintos.

Assim, é extremamente importante que os profissionais de vigilância sanitária e outros setores dentro da cadeia de abastecimento de peixes, desde a captura até o consumo, devam estar cientes de doenças parasitárias de peixes, e formas de profilaxia, com a implementação de programas de educação sanitária em todos os níveis.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH, V.D.; LUQUE, J.L.; ALVES, D.R.; PARAGUASSÚ, A.R. Aspectos quantitativos das infrapopulações de metazoários parasitos da cavalinha, *Scomber japonicus* (Osteichthyes: Scombridae); do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Universidade Rural*, v. 22, n. 2, p. 103-107, 2002.

ABDALLAH, V.D.; AZEVEDO, K.R.; LUQUE, J.L. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos de sairú *Cyphocharax gilbert* (Quoy & Gaimard, 1824) (Characiformes: Curumatidae) do Rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 4, p. 154-159, 2005.

ABDEL-GHAFFAR. F.; MORSY, K.; ABDEL-GABER, R.; MEHLHORM, H.; AL QURASHY, S.; MOHAMMED, S. Prevalence, morphology, and molecular analysis of *Serrasentis sagittifer* (Acanthocephala: Palaeacanthocephala: Rhadinorhynchidae), a parasite of gilthead Sea bream *Sparus aurata* (Sparidae). *Parasitology Research*, v. 113, p. 2445-2454, 2014.

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonoses and communicable diseases common to man and animals*. Third edition. Washington, D.C.: PAHO, 2003. 395 p.

ADAMS, A.M.; MURREL, K.D.; CROSS, J.H. Parasites of fish and risk to public health. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*, v. 6, n. 2, p. 652-660, 1997.

ALARCOS, A.J.; TIMI, J.T. Parasite communities in three sympatric flounder species (Pleuronectiformes: Paralichthyidae): Similar ecological filters driving toward repeatable assemblages. *Parasitology Research*, v. 110, n. 6, p. 2155-2166, 2012.

ALARCOS, A.J.; PEREIRA, A.N.; TABORDA, N.L.; LUQUE, J.L.; TIMI, J.T. Parasitological evidence of stocks of *Paralichthys isosceles* (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) at small end geographical scales in South American Atlantic coasts. *Fisheries Research*, v. 173, p. 221-228, 2016.

ALONSO, A.; DASCHNER, A.; MORENO-ANCILO, A. Anaphylaxis with *Anisakis simplex* in the gastric mucosa. *The New England Journal of Medicine*, v. 337, n. 5, p. 350-351, 1997.

ALONSO-GÓMEZ, A.; DASCHNER A.; MORENO-ANCILLO A.; BARRANCO P.; SUAREZ DE PARGA, J.M; LOPEZ SERRANO, M.C. Características clínicas em Anisakiasis Gastroalérgica. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, v. 5, n. 2, abstract 6, 1997.

ALVES, D.R.; LUQUE, J.L. Ecologia das comunidades de metazoários parasitos de cinco espécies de escombrídeos (Perciformes: Scombridae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 4, 16-181, 2006.



ALVES, D.R.; LUQUE, J.L.; PARAGUASSÚ, A.R. Community ecology of the metazoan parasites of pink cusk-eel, *Genypterus brasiliensis* (Osteichthyes: Ophidiidae), from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 5, p. 683-689, 2002a.

ALVES, D.R.; LUQUE, J.L.; PARAGUASSÚ, A.R.; JORGE, D.S.; VIÑAS, R.A. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos da abrótea, *Urophycis mystaceus* Ribeiro, 1903 (Osteichthyes, Phycidae), do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoociências*, v. 4, n. 1, p. 19-30, 2002b.

ALVES, D.R.; PARAGUASSÚ, A.R.; LUQUE, J.L. metazoários parasitos da abrótea, *Urophycis brasiliensis* (KAUP, 1858), (Osteichthyes: Phycidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 1, p. 49-55, 2004.

ALVES, D.R.; PARAGUASSÚ, A.R.; LUQUE, J.L. Community ecology of the metazoan parasites of the grey triggerfish, *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 and queen triggerfish *B. vetula* Linnaeus, 1758 (Osteichthyes: Balistidae) from the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 2, p. 71-77, 2005.

AMATO, J. F. R.; BARROS, G. C. Anisakíase humana no Brasil. Problema inexistente ou não pesquisado. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 6, n. 1, p. 12, 1984.

AMIN, O.M. Classification. In: CROMPTON, D.W.T.; NICKOL, B.B. *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge University Press, London, pp. 27-72, 1985.

AMIN, O.M. Key to the Families and Subfamilies of Acanthocephala, with the erection of a new class (Polyacanthocephala) and a new order (Polyacanthorhynchida). *Journal of Parasitology*, v. 73, p. 1216-1219, 1987.

AMIN, O.M.; SEY, O. Acanthocephala from Arabian Gulf fishes off Kwait, with descriptions of *Neoechinorhynchus dimorphospinus* sp. n. (Neoechinorhynchidae), *Tegorhynchus holospinosus* sp. n. (Illiosentidae), *Micracanthorhynchina kwaitensis* sp. n. (Radiorhynchidae), and *Slendrorhynchus breviclaviproboscis* gen. n., sp. n. (Diplosentidae); and key to species of the genus *Micracanthorhynchina*. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, v. 63, p. 201-210, 1996.

ANDRADE, A.L.V.; PINEDO, M.C.; PEREIRA JR, J. The gastrointestinal helminths of Franciscana, *Pontoporia blavillei*, in Southern Brazil. *Reports of the International Whaling Commission*, v. 47, p. 669-673, 1997.

ANTÓN, J.; ESCUDERO, R.; FERNÁNDEZ-BENÍTEZ, M. Anaphylaxis induced by *Anisakis*. *Allergologia et Immunopathologia*, v. 36, n. 1, p. 53-6, 2008.

ARAÚJO, J.N.E.; HAIMOVICI, M. Determinação de idades e crescimento do linguado-branco *Paralichthys patagonicus* (Jordan, 1889) no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Oceanografia*, v. 48, n. 1, p. 61-70, 2000.

ARCANGELI, G.; GALUPPI, A.; BICHERI, M.; GAMBERINI, R.; PRESICCE, M. Experimental trials on the viality of *Anisakis* larvae in brine solutions. *Industry Conserves*, v. 71, n. 4, p. 501-507, 1997.

ARTHUR, J.R.; ALBERT, E. A survey of parasites of Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*) caught off Atlantic Canada, with notes on their zoogeography in this fish. *Canadian Journal of Zoology*, v. 72, p. 765-778, 1994.

AUDICANA, M.T. Anafilaxia: nuevos aspectos. *Alergologia e Inmunologia Clinica*, v. 15, p. 65-96, 2000.

AUDICANA, M.T.; ANSOTEGUI, I.J.; CORRES, L.F.; KENNEDY, M.W. *Anisakis simplex* dangerous dead and alive? *Trends in Parasitology*, v. 18, p. 20-25, 2002.

AUDICANA, M.; GARCIA, M.; DEL POZO, M.D.; DIEZ, J.; MUÑOZ, D.; FERNÁNDEZ, E., ECHENAGUSIA, M.; FERNÁNDEZ DE CORRES, L.; ANSOTEGUI, I.J. Clinical manifestations of allergy to *Anisakis simplex*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 55, supl. 59, p. 28-33, 2000.

AUDICANA, M.T.; KENNEDY, M. W. *Anisakis simplex*: from Obscure Infections Worm to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 21, n. 2, p. 360-379, 2008.

ARTHUR, J.R.; ALBERT, E. A survey of parasites of Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*) caught off Atlantic Canada, with notes on their zoogeography in this fish. *Canadian Journal of Zoology*, v. 72, p. 765-778, 1994.

AZEVEDO, R.K.; ABDALLAH, V.D.; LUQUE, J.L. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos do acará *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Perciformes: Cichlidae) do Rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Scientiarum*, v. 28, n. 4, p. 403-411, 2006.

AZEVEDO, R.K.; ABDALLAH, V.D.; LUQUE, J.L. Aspectos quantitativos da comunidade de metazoários parasitos do gordinho *Peprilos paru* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Stromateidae), do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 1, p. 10-14, 2007.

AZNAR, F.J.; RAGA, J.A.; CORCUERA, J.; MONZÓN, F. Helminths as biological tags for franciscana (*Pontoporia blaiuillei*) (Cetacea, Pontoporidae) in Argentinian and Uruguayan waters. *Mammalia*, v. 59, p. 427-435, 1994a.

AZNAR, F.J.; BALBUENA, J.A.; RAGA, J.A. Helminth communities of *Pontoporia blaiuillei* (Cetacea, Pontoporidae) in Argentinian waters. *Canadian Journal of Zoology*, v. 72, p. 702-706, 1994b.

AZNAR, F.J.; BUSH, A.O.; FERNÁNDEZ, M.; RAGA, J.A. Constructional morphology and mode of attachment of the trunk of *Corynosoma cetaceum* (Acanthocephala: Polymorphidae). *Journal of Morphology*, v. 241, p. 237-249, 1999a.

AZNAR, F.J.; BUSH, A.O.; RAGA, J.A. *Polymorphus arctocephali* Smales, 1986 a synonym of *Corynosoma cetaceum* Johnston & Best, 1942 (Acanthocephala: Polymorphidae). *Systematic Parasitology*, v. 44, p. 59-70, 1999b.

AZNAR, F.J.; BUSH, A.O.; BALBUENA, J.A.; RAGA, J.A. *Corynosoma cetaceum* in the stomach of franciscanas, *Pontoporia blainvillei* (Cetacea): an exceptional keys of habitat selection by an acanthocephalan. *Journal of Parasitology*, v. 87, p. 536-541, 2001.

AZNAR, F.J.; BERÓN-VERA, B.; CRESPO, E.A.; RAGA, J.A. Presence of genital spines in a male *Corynosoma cetaceum* Johnston and Best, 1942 (Acanthocephala). *Journal of Parasitology*, v. 88, p. 403-404, 2002a.

AZNAR, F.J.; BUSH, A.O.; RAGA, J.A. Reduction and variability of trunk spines in the acanthocephalan *Corynosoma cetaceum*: the role of physical constraints on attachment. *Invertebrate Biology*, v. 121, p. 104-114, 2002b.

AZNAR, F.J.; CAPPOZZO, H.L.; TADDEO, D.; MONTERO, F.E. Recruitment, population structure, and habitat selection of *Corynosoma australe* (Acanthocephala) in South American fur seals, *Arctocephalus australis*, from Uruguay. *Canadian Journal of Zoology*, v. 82, p. 726-733, 2004.

AZNAR, F.J.; PÉREZ-PONCE DE LÉON, G.; RAGA, J.A. Status of *Corynosoma* (Acanthocephala: Polymorphidae) based on anatomical, ecological, and phylogenetic evidence, with the erection of *Pseudocorynosoma* n. gen. *Journal of Parasitology*, v. 92, p. 548-564, 2006.

AZNAR, F.J.; HERNANDEZ-ORTS, J.; SUAREZ, A.; GARCIA-VARELA, M.; RAGA, J.A.; CAPPOZZO, H.L. Assessing host-parasite specificity through coprological analysis: a case study with species of *Corynosoma* (Acanthocephala: Polymorphidae) from marine mammals. *Journal of Helminthology*, v. 86, p. 156-164, 2012.

AZNAR, F.J.; CRESPO, E.A.; RAGA, J.A.; HERNANDEZ-ORTS, J. Trunk spines in cystacanths and adults of *Corynosoma* spp. (Acanthocephala): *Corynosoma cetaceum* as an exceptional case of phenotypic variability. *Zoomorphology*, v. 135, n. 1, p. 19-31, 2015.

BARROS, G.C. Larvas de anisakídeos de peixes economicamente importantes da costa do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 26, p. 205-208, 1994.

BARROS, G.C.; AMATO, J.F.R. Larvas de anisakídeos de peixe-espada, *Trichiurus lepturus* L. da costa do estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 53, n. 2, p. 241-245, 1993.

BARROS, G.C.; CAVALCANTI, J.W. Larvas de anisakídeos em peixes de elevado consumo, provenientes do litoral nordeste do Brasil. *Higiene Alimentar*, v. 12, n. 58, p. 71-75, 1998.

BARROS, L.A.; MORAES FILHO, J.; OLIVEIRA, R.L. Nematóides com potencial zoonótico em peixes com importância econômica provenientes do rio Cuiabá. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.13, n.1, p. 55-57, 2006.

BAUTISTA, M.C.; ENGLER, M.M. The Mediterranean diet: is it cardioprotective? *Progress in Cardiovascular Nursing*, v. 20, n. 2, p. 70-6, 2005.

BAYLIS, H.A. Parasitic nematoda and acanthocephala collected in 1925-1927. *Discovery Reports*, v. 1, p. 542-559, 1929.

BAYLIS, H.A. A list of worms parasitic in Cetacea. *Discovery Reports*, v. 6, p. 393-418, 1932.

BEAVER, P.C.; OTSUJI, T.; YOSHIMURA, H.; UCHIKAWA, R.; SATO, A. Acanthocephalan, probably *Bolbosoma*, from the peritoneal cavity of man in Japan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 32, p. 1016-1018, 1983.

BENIGNO, R.N.M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; MATOS, E.R.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C.; KNOFF, M. Nematodes in *Hopleryrinus unitaeniatus*, *Hoplias malabaricus* and *Pygocentrus nattereri* (pisces Characiformes) in Marajó Island, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 21, n. 2, p. 165-170, 2012.

BERNARDES R.A.; FIGUEIREDO J.L.; RODRIGUES A.R.; FISCHER L.G.; VOOREN C.M.; HAIMOVICI M.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI C.L.B. *Peixes da zona econômica exclusiva da região Sudeste-Sul do Brasil*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2005, 295 p.

BERON-VERA, B.; CRESPO, E.A.; RAGA, J.Á.; FERNANDEZ, M. Parasite communities of common dolphins (*Delphinus delphis*) from Patagonia: the relation with host distribution and diet and comparison with sympatric hosts. *Journal of Parasitology*, v. 93, p. 1056-1060, 2007.

BERON-VERA, B.; CRESPO, E.A.; RAGA, J.A. Parasites in stranded cetaceans of Patagonia. *Journal of Parasitology*, v. 94, p. 946-948, 2008.

BICUDO, A.J.A.; TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L. 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 de Parasitologia Veterinária*, v.14, n.3, p.109-118, 2005.

BOMBARDELLI, R.A.; SYPERRECK, M.A.; SANCHES, E.A. Situação atual e perspectivas para o consumo, processamento e agregação de valor ao pescado. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*, v. 8, p. 181-195, 2005.

BRAICOVICH, P.E.; GONZÁLEZ, R.A.; TANZOLA, R.D. First record of *Corynosoma australe* (Acanthocephala, Polymorphidae) parasitizing seahorse, *Hippocampus* sp. (Pisces, Syngnathidae) in Patagonia (Argentina). *Acta Parasitologica*, v. 50, p. 145-149, 2005.

BRASIL 1952. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 29 mar, Seção 1, 1952. 1155 p.

BRASIL 1997. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Decreto 30.691/52. Brasília, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Diário Oficial da União de 07/07/ 1952, Seção 1: 10785.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Relatório da Secretaria de Aquicultura e Pesca. Brasília, DF, 2005. 105 p.

BROWNELL JR, R.L. Progress report on the biology of the franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei*, in Uruguayan Waters. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, v. 32, p. 1073-1078, 1975.

BURGER, J. Fishing, fish consumption, and awareness about warnings in a university community in central New Jersey in 2007, and comparisons with 2004. *Environmental Research*, v. 108, n. 1, p. 107-116, 2008.

CABRERA, R.; OGNIO, L.S. Probable emergencia de anisakiosis por larvas de *Anisakis physeteris* durante el fenómeno El Niño 1997-98 en la costa peruana. *Parasitologia Latinoamericana*, v. 57, n. 3-4, p. 166-170, 2002.

CALDAS, E.F.; GOMEZ, M.L.D.; ROMÁN, R.L. Allergenic cross-reactivity between third stage larvae of *Hysterothylacium aduncum* and *Anisakis simplex*. *Journal of Allergy Clinical Immunology*, v. 101, p. 554-555. 1998.

CARVALHO, R.; LEMOS, D. Fatos e Figuras: aquicultura e consumo de carnes no Brasil e no Mundo. *Panorama da Aquicultura*, v. 19, p. 46-49, 2009.

CASTILLO-SÁNCHEZ, E.; ROSALES-CASIÁN, J.A.; PÉREZ-PONCE, L.G. Helminthos parasitos de *Paralichthys californicus* (Osteichthyes: Paralichthyidae) em el Estero de Punta Banda, Bahía de Todos Santos y Bahía de San Quintín, Baja California, México. *Ciencias Marinas*, v. 24, p. 443-462, 1998.

CATO, J. *Seafood Safety: Economics of Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Programmes* FAO Fisheries Reports. Edição 381 de FAO Fisheries Technical Paper. Food & Agriculture Organization, 1998. 70 p.

CORCUERA, J.; MONZÓN, F.; AGUILAR, A.; BORRELL, A.; RAGA, J.A. Life story data, *organochlorine pollutants* and parasites from eight Burmeister's porpoises, *Phocoena spinipinnis*, caught in northern Argentine Waters. *Reports of the International Whaling Commission*, v. 16, p. 365-372, 1995.

CORDEIRO, A.S.; LUQUE, J.L. Aspectos quantitativos dos metazoários parasitos do sargo-de-dente, *Archosargus rhomboidalis* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Sparidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zootecias*, v. 7, n. 1, p. 7-14, 2005.

CORRES, F.L.; DEL POZO, M.D.; AIZPURU, F.; BUENDÍA, E. Prevalencia de la sensibilización a *Anisakis simplex* en tres áreas españolas, en relación a las diferentes tasas de consumo de pescado. Relevancia de la alergia a *Anisakis simplex*. *Alergología e Inmunología Clínica*, v. 16, p. 337-346, 2001.

CRUZ, A.R.; SOUTO, P.C.S.; FERRARI, C.K.B.; ALLEGRETTI, S.M.; ARRAIS-SILVA, W.W. Endoscopic imaging of the first clinical case of anisakidosis in Brazil. *Scientia Parasitologica*, v. 11, n. 2, p. 97-100, 2010.

DAILEY, M.D.; VOGELBEIN, W.K. Parasite fauna of three species of antarctic whales with reference to their use as potential stock indicators. *Fishery Bulletin*, v. 89, p. 355-365, 1991.

DANS, S.L.; REYES, L.M.; PEDRAZA, S.M.; RAGA, J.A.; CRESPO, E.A. Gastrointestinal helminths of the dusk dolphin, *Lagenorhynchus obscurus* (Grey, 1828), off Patagonia in the Southwest Atlantic. *Marine Mammal Science*, v. 15, p. 649-660, 1999.

DASCHNER, A.; ALONSO-GÓMEZ, A.; MORA, C. MORENO-ANCILLO, A.; VILLNUEVA, R. *Anisakiasis* gastro-alérgica con parasitación masiva. *Revista Española de Alergología e Inmunología Clínica*, v. 12, n. 6, p. 370-372, 1997.

DEL POZO, M.D.; AUDICANA, M.; DIEZ, J.M.; MUNÓZ, D.; ANSOTEGUI, I.J.; FERNÁNDEZ, E.; GARCÍA, M.; ETXENAGUSIA, M.; MONEO, I.; FERNÁNDEZ, C.L. *Anisakis simplex*, a relevant etiologic factor in acute urticaria. *Allergy*, v. 52, p. 576-579, 1997.

DEL REY-MORENO, A.; VALERO-LÓPEZ, A.; GÓMEZ-POZO, B.; MAYORGAMAYORGA, C.; et al. Utilidad de la anamnesis y de las técnicas inmunológicas en el diagnóstico de la anisakidosis en pacientes con abdomen agudo. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, v. 100, n. 3, p. 146-152, 2008.

DIAS, F.J.E.; SÃO CLEMENTE, S.C.; KNOFF, M. Nematoides anisaquideos e cestoides Trypanorhyncha de importância em saúde pública em *Aluterus monoceros* (Linnaeus, 1758) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 19, p. 20-23, 2010.

DIAS, F.J.E.; SÃO CLEMENTE, S.C.; PINTO, R.M.; KNOFF, M. Anisakidae nematodes and Trypanorhyncha cestodes of hygienic importance infecting the king mackerel *Scomberomorus cavalla* (Osteichthyes: Scombridae) in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 175, p. 351-355, 2011.

DÍAZ DE ASTARLOA, J.M. *Las especies del género Paralichthys del Mar Argentino (Pisces, Paralichthyidae)*. *Morfología y sistemática*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina, 1994. 194p.

DÍAZ DE ASTARLOA, J.M.; CAROZZA, C.R.; GUERRERO, R.A.; BALDONI, A.G.; COUSSEAU, M.B. Algunas características biológicas de peces capturados en una campaña costera invernal en 1993, en el área comprendida entre 34° y 41° S y su

relación con las condiciones ambientales. *INIDEP Informativo Técnico*, v. 14, 1997, 35 p.

EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C. *Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes*. 2 ed Rev Ampl. Eduem, Maringá, 2006. 199 p.

FABRÉ, N.N.; COUSSEAU, M.B.; DENEGRI, M.A. Aspectos de la dinámica poblacional del lenguado *Xystreurys rasile* (Jordan, 1890) en el sector del Atlántico Sudoccidental comprendido entre 34° y 40°S. *Investigaciones Marinas*, v. 29, n. 1, p. 83-105, 2001.

FELIZARDO, N.N.; KNOFF, M.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C. Larval anisakid nematodes of the flounder, *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from Brazil. *Neotropical Helminthology*, v. 3, n. 2, p. 57-64, 2009a.

FELIZARDO, N.N.; MENEZES, R.C.; TORTELLY, R.; KNOFF, M.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C. Larvae of *Hysterothylacium* sp. (nematoda: Anisakidae) in the sole fish *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from the littoral of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 166, p. 175-177, 2009b.

FELIZARDO, N.N.; TORRES, E.J.L.; FONSECA, M.C.G.; PINTO, R.M.; GOMES, C.D.; KNOFF, M. Cestodes of the flounder *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Osteichthyes - Paralichthyidae) from the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Neotropical Helminthology*, v. 4, p. 113-125, 2010.

FELIZARDO, N.N.; JUSTO, M.C.; KNOFF, M.; FONSECA, M.C.G.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C. Juvenile didymozoids of the types, Torticaecum and Neotorticaecum (Didymozoidae: Digenea), from new marine fish hosts (Pisces: Teleostei) in the neotropical region of Brazil. *Journal of Helminthology*, v. 85, p. 270-275, 2011.

FERNÁNDEZ, C.; DEL POZO, M.D.; AIZPURU, F. Prevalencia de la sensibilización a *Anisakis simplex* em tres áreas españolas, em relación a las diferentes tasas de consumo de pescado. Relevancia de la alergia a *Anisakis simplex*. *Alergología e Inmunología Clínica*, v. 16, p. 337-346. 2001.

FERRE, I. Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consumo de pescado. Departamento de Sanidad Humana y Animal, Centro de Ciencias Experimentales y de la Salud Universidad Cardenal, Valencia, España. *Revista AquaTIC*, v. 14, n. 7, 2001. Disponível em: <<http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?c=122/>>. Acessado em: 08 jan 2016.

FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. *Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. II Teleostei (1)*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1978.

FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, N.A. *Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. VI. Teleostei (5)*. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000. 116 p.

FIGUEROA, L.; PUGA, S. *Corynosoma cetaceum* Johnston y Best, 1942 (Acanthocephala) em delfín chileno, *Cephalorhynchus eutropia* Gray, 1846 (Cetacea: Delphinidae). *Boletín Chileno de Parasitología*, v. 45, p. 93-95, 1990.

FONSECA, M.C.G.; SÃO CLEMENTE, S.C.; FELIZARDO, N.N.; GOMES, D.C.; KNOFF, M. Trypanorhyncha cestodes of hygienic-sanitary importance infecting flounders *Paralichthys patagonicus* Jordan, 1889 and *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891) of the Neotropical region, Brazil. *Parasitology Research*, v. 111, n. 2, p. 865-874, 2012.

FONTENELLE, G.; KNOFF, M.; FELIZARDO, N.N.; LOPES, L.M.S.; CLEMENTE, S.C. Nematodes of zoonotic importance in *Cynoscion guatucupa* (Pisces) in the state of Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 22, n. 2, p. 281-284, 2013.

FONTENELLE, G.; KNOFF, M.; FELIZARDO, N.N.; LOPES TORRES, E.J.; LOPES, L.M.S.; GOMES, D.C.; SÃO CLEMENTE, S.C. Anisakidae and Raphidascarididae larvae parasitizing *Selene setapinnis* (Mitchill, 1815) in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinarian Parasitology*, v. 24, p. 72-77, 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO 2014. *The State of World Fisheries and Aquaculture, Opportunities and Challenges*. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>. Acessado em: 28 dez. 2015.

FOOD INGREDIENTS BRASIL - FIB. 2009. *Propriedades Funcionais das proteínas dos peixes*. N. 8, p. 21-32. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/100.pdf>. Acessado em: 08 jan 2016.

FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2003, 182 p.

GALKINA, G.G. Monorchism in thorny-headed worms of the genus *Bolbosoma* Porta, 1908 (Acanthocephala: Polymorphidae). (in Russian). *Proceedings of the Soil-Biology Institute. New Series*, v. 11, p. 116-120, 1972.

GARCÍA, J. M. G.; ARAUZO, M. J. R. Dolor torácico anginoso como manifestación inicial de anisakiasis gástrica. *Annales de Medicina Interna*, v. 21, n. 4, p. 185-186, 2004.

GEORGE-NASCIMENTO, M.; ARANCIBAI, H. Ecological stocks of the jack mackerel (*Trachurus symmetricus murphyi* Nichols) in three fishing áreas off Chile, detected through comparison of the parasite fauna and morphometry. *Revista Chilena de Historia Natural*, v. 65, p. 453-470, 1992.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. Anisakuíase: zoonose parasitária emergente no Brasil? *Higiene Alimentar*, v. 54, p. 26-35, 1998.

GOLVAN, Y.J. Acanthocéphales du genre *Corynosoma* Lühe 1904 parasites de mammifères d'Alaska et de Midway. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, v. 34, p. 288-321, 1959.



GOLVAN, Y.J. Systematique des Acanthocephales (Acanthocephala Rudolphi, 1801). L'ordre des Paleacanthocephala Meyer, 1931. La super-familie des Echinorhynchoidea (Cobbold, 1876) Golvan et Houin, 1963. *Memoirs du Museum National d'Histoire Naturelle Paris*, sér A, zool, v. 57, p. 1-373, 1969.

GÓMEZ, B.; LASA, E.; ARROABARREN, E.; GARRIDO, S.; ANDA, M.; TABAR, A.I. Alergia a *Anisakis simplex*. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, v. 26, Supl. 2, p. 25-30, 2003.

GONÇALVES, A.A.; PASSOS, M.G.; BIEDRZYCKI, A. Tendência do consumo de pescado na cidade de Porto Alegre: um estudo através de análise de correspondência. *Estudos Tecnológicos*, v.4, p.21- 36, 2008.

GONÇALVES, A.A.; PASSOS, M.G.; BIEDRZYCKI, A. Percepção do consumidor com relação à embalagem de pescado: estudo de caso com os alunos do curso de Engenharia de Alimentos. *Estudos Tecnológicos*, v.5, p.14-32, 2009.

GONZÁLEZ, M.T.; ACUNÃ, E.; OLIVA, M.E. Metazoan parasite fauna of the bigeye flounder, *Hippoglossina macrops*, from Northern Chile. Influence of host age and sex. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, p. 1049-1054, 2001.

HAYWAR, C.J.; KI, J.H.; HEO, G.J. Spread of *Neoheterobothrium hirame* (Monogenea), a serious pest of olive flounder *Paralichthys olivaceus*, to Korea. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 45, p. 209-213, 2001.

HERNANDEZ-ORTS, J.S.; MONTERO, F.E.; JUAN-GARCIA, A.; GARCIA, N.A.; CRESPO, E.A.; RAGA, J.A.; AZNAR, F.J. Intestinal helminth fauna of the South American sea lion *Otaria flavescens* and fur seal *Arctocephalus australis* from northern Patagonia, Argentina. *Journal of Helminthology*, v. 87, p. 336-347, 2013.

HOCHBERG, N.S.; HAMER, D.H. Anisakidosis: Perils of the Deep. *Clinical Infectious Diseases*, v. 51, n. 7, p. 806-812, 2010.

HOLUB, D.J.; HOLUB, B.J. Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v. 263, n. 1-2, p. 217-25, 2004.

INCORVAIA, S.I.; DÍAZ DE ASTARLOA, J.M. Estudio preliminar de las larvas (Nematoda: Ascaridida) parásito de *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839), y *Paralichthys patagonicus* (Pisces: Pleuronectiformes). *Boletín Chileno De Parasitología*, v. 53, p. 38-42, 1998.

IVANOVIC, J.; BALTIC, M.Z.; BOSKOVIC, M.; KILIBARDA, N.; DOKMANOVIC, M.; MARKOVIC, R.; JANJIC, J.; BALTIC, B. *Anisakis* infection and allergy in humans. *Procedia Food Science*, v. 5, p. 101-104, 2015.

JANSEN, M.E.; BURRESON, E.M. Parasites of summer flounder, *Paralichthys dentatus* in the Chesapeake Bay. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, v. 57, p. 31-39, 1990.

KAGEI, N.; TOBAYAMA, T.; NAGASAKI, Y. On the helminth of franciscana, *Pontoporia blainvillei*. *Scientific Report of Whales Research Institute*, v. 28, p. 161-166, 1976.

KARDOUSHA, M.M. Helminths parasite larvae collected from Arabian Gulf fish. IV: Description of four larvae including two metacercariae, one didymozoid and one acanthocephalan from Emirate coast. *The Arab Gulf Journal of Scientific Research*, v. 23, p. 23-27, 2005.

KLIMPEL, S.; PALM, H.W. *Anisakid Nematode Ascaridoidea Life Cycles and Distribution: Increasing Zoonotic Potential in the Time of Climate Change?* In: Mehlhorn, H. (Ed.), *Progress in Parasitology, Parasitology Research Monographs 2*, 2011, pp. 201-221.

KLUMOV, S.K. Food and helminth fauna of whalebone whales (Mystacoceti) in the main whaling regions of the world ocean. (in Russian). *Tr Inst Okeanol*, v. 71, p. 94-194, 1963.

KNOFF, M.; FELIZARDO, N.N.; INIGUEZ, A.M.; MALDONADO JR, A.; TORRES, E.J.L.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C. Genetic and morphological characterisation of a new species of the genus *Hysterothylacium* (Nematoda) from *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) of the Neotropical region, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 107, n. 2, p. 186-193, 2012.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; FONSECA, M.C.G.; ANDRADA, C.G.; PADOVANI, R.E.S.; GOMES, D.C. Anisakidae parasitos de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil de interesse na saúde pública. *Parasitologia Latinoamericana*, v. 62, p.127-133, 2007.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; FONSECA, M.C.G.; FELIZARDO, N.N.; LIMA, F.C.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C. Anisakidae nematodes in the blackfin goosefish, *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 purchased in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 35, p. 129-133, 2013.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; GOMES, D.C.; PADOVANI, R.E.S. Primeira ocorrência de larvas de *Anisakis* sp. na musculatura de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 11, n. 1/2, p. 119-120, 2004.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; PINTO, R.; GOMES, D.C. Digenea and Acanthocephala of elasmobranch fishes from the Southern Coast of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 6, p. 1095-1101, 2001.

KOIE, M. Metazoan parasites of flounder *Platichthys flesus* (L.) along a transect from the southwestern to the northeastern Baltic Sea. *Journal of Marine Science*, v. 56, p. 157-163, 1999.

LACERDA, A.C.F.; SANTIN, R.M.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C.; BIALETZKI, A.; TAVERNARI, F.C. Helminths parasitizing larval fish from Pantanal, Brazil. *Journal of Helminthology*, v. 83, n. 1, p. 51-55, 2009.

LÓPEZ-SERRANO, M.C. Controversia em el diagnóstico de alergia a *Anisakis simplex*. *Alergologia e Inmunologia Clinica*, v. 16, p. 39-56, 2001.

LÓPEZ-SERRANO, M.C.; ALONSO-GÓMEZ, A.; MORENO-ANCILLO, Á.; DASCHNER, Á.; SUÁREZ DE PARGA, J. Anisakiasis gastro-alérgica: hipersensibilidad inmediata debida a parasitación por *Anisakis simplex*. *Alergología Inmunología Clínica*, v. 15, p. 230-236, 2000.

LUQUE, J.L.; ALVES, D.R. Ecologia das comunidades de metazoários parasitos, do xaréu, *Caranx hippos* (Linnaeus) e do xerelete, *Caranx latus* Agassiz (Osteichthyes, Carangidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 18, n. 2, p. 399-410, 2001.

LUQUE, J.L.; CHAVES, N.D. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos de *Pomatomus saltator* (Osteichthyes: Pomatomidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 16, p. 711-723, 1999.

LUQUE, J.L.; PORROZZI, F.; ALVES, D.R. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos da trilha, *Mullus argentinae* (Osteichthyes: Mullidae), do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 11, n. 1, p. 33-38, 2002.

LUQUE, J.L.; ALVES, D.R.; RIBEIRO, R.S. Community ecology of the metazoan parasites of Banded Croaker, *Paralichthys brasiliensis* (Osteichthyes: Sciaenidae), from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Scientiarum*, v. 25, p. 273-278, 2003.

LUQUE, J.L.A.; FELIZARDO, N.N.B.; TAVARES, L.E.R. Community ecology of the metazoan parasites of namorado sandperches, *Pseudoperca numida* Miranda-Ribeiro, 1903 and *P. semifasciata* Cuvier, 1829 (Perciformes: Pinguipedidae), from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal for Biology*, v. 68, n. 2, p. 269-278, 2008.

MACCHI, G.J.; DIAZ DE ASTARLOA, J.M. Ciclo reproductivo y fecundidad del lenguado, *Paralichthys patagonicus*, Jordan en Jordan Y Goss, 1889. *Revista de Investigacion y Desarrollo Pesquero*, v. 10, p. 73-83, 1996.

MACHADO FILHO, D.A. Contribuição para o conhecimento do gênero *Bolbosoma* Porta, 1908 (Palaeacanthocephala, Polymorphidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 24, p. 341-348, 1964.

MACHADO, M.F.A.; MACEDO, L.S.O.; ROCHA, T.S.; RAMOS, L.S.N. Condições higiênicas sanitárias dos pontos de comercialização de peixes em mercados públicos na cidade de Teresina, PI. *Higiene Alimentar*, v. 27, p. 31-35, 2013.

MACIEL, E.S.; ANGELINI, M.F.C.; SUCASAS, L.F.A.; SAVAY-DA-SILVA, L.K.; GALVÃO, J.A.; OETTERER, M. Inquérito sobre o consumo de pescado em feira comemorativa da "Semana do Peixe" em cidade do interior de São Paulo. *Revista Ciência e Tecnologia - UNIMEP*, v. 31, n. 16, p. 59-68, 2009.

MACIEL, E.D.S.; SAVAY-DA-SILVA, L.K.; VASCONCELOS, J.S.; SONATI, J.G.; GALVÃO, J.A.; LIMA, L.K.F.D.; OETTERER, M. Relationship between the price of fish and its quality attributes: a study within a community at the University of São Paulo, Brazil. *Food Science and Technology*, v. 33, n. 3, p. 451-456, 2013.

MAGHAMI, S.S.G.; KHANMOHAMMADI, M.; KERDEGHARI, M. *Serrasentis sagittifer* (Acanthocephala: Radiorhynchidae) from the Japanese Thread Fin Bream, *Nemipterus japonicus*, in Bushehr Waters of Persian Gulf. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, v. 7, p. 1430-1433, 2008.

MARANHÃO - SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DESENVOLVIMENTO RURAL. *Zoneamento costeiro do Estado do Maranhão*. São Luís, 1999. 98 p.

MARQUES, M.C.; SÃO CLEMENTE, S.C.; BARROS, G.C.; LUCENA, F.P. Utilização do frio (resfriamento e congelamento) na sobrevivência de larvas de nematóides anisakídeos em *Trichiurus lepturus* (L.). *Higiene Alimentar*, v. 19, p. 23-28, 1995.

MARQUES, J.F.; CABRAL, H.N.; BUSI, M.; D'AMELIO, S. Molecular identification of *Anisakis* species from Pleuronectiformes off the Portuguese coast. *Journal of Helminthology*, v. 80, p. 47-51, 2006.

MASSA, A.E.; PALACIOS, D.L.; PAREDI, M.E.; CRUPKIN, M. Postmortem changes in quality indices of ice-stored flounder (*Paralichthys patagonicus*). *Journal of Food Biochemistry*, v. 29, 570-590, 2005.

MATTIUCCI, S.; FAZII, P.; DE ROSA, A.; PAOLETTI, M.; MEGNA, A.S.; GLIELMO, A.; DE ANGELIS, M.; COSTA, A.; MEUCCI, C.; CALVARUSO, V.; SORRENTINI, I.; PALMA, G.; BRUSCHI, F.; NASCETTI, G. Anisakiasis and Gastroallergic Reactions Associated with *Anisakis pegreffii* Infection, Italy. *Emerging Infectious Diseases*, v. 19, n. 3, p. 496-499, 2013.

MCCARTHY, J.; MOORE, T.A. Emerging helminth zoonoses. *International Journal for Parasitology*, v.30, p.1351-1360, 2000.

MEASURES, L.N. *Bolbosoma turbinella* (Acanthocephala) in a blue whale, *Balaenoptera musculus*, stranded in the St. Lawrence Estuary, Quebec. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, v. 59, p. 06-211, 1992.

MEASURES, L.N. Annotated list of metazoan parasites reported from the blue whale, *Balaenoptera musculus* *Journal of the Helminthological Society of Washington*, v. 60, p. 62-66, 1993.

MERCADO, R.; TORRES, P.; MAIRA, J. Human cases of gastric infection by a fourth larval stage of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae). *Revista de Saúde Pública*, v. 31, n. 2, p. 178-181, 1997.

MERCADO, R.; TORRES, P.; MUÑOZ, V.; APT, W. Human infection by *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae) in Chile: Report of seven cases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 5, p. 653-655, 2001.

MEYER, A. Acanthocephala. In: DR. H.G. BRONNS. *Klassen und Ordnungen des Tier-Reichs*. Akad Verlagsgesellschaft m b H, Leipzig, pp. 1-32, 1932.

MILLER, D.M.; DUNAGAN, T.T. Functional morphology. In: CROMPTON, D.W.T.; NICKOL, B.B. (Eds). *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 73-123, 1985.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA - MPA. *Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura - Brasil 2010*. Brasília, 2012. Disponível em: [http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes\\_e\\_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%20Dstico%20MPA%202010.pdf](http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%20Dstico%20MPA%202010.pdf). Acesso em: 14 dez. 2015.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA - MPA. *Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura - Brasil 2013*. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/files/docs/Publicidade/Cartilha-Balan%20A7o-2013-Minist%20A9rio-Pesca-quicultura.pdf>. Acessado em: 01 jan. 2016.

MINOZZO, M.G.I.; HARACEMIV, S.M.C.; WASZCZYNSKYJ, N. Perfil dos consumidores de pescado nas cidades de São Paulo (SP), Toledo (PR) e Curitiba (PR) no Brasil. *Alimentação Humana*, v. 14, n. 3, p. 133-140, 2008.

MORAVEC, F. Nematode parasites of fishes: recent advances and problems of their research. *Parassitologia*, v. 49, p. 155-160, 2007.

NELSON, J.S. *Fishes of the world*. New York, John Wiley & Sons 3<sup>rd</sup> ed., 1994. 600p.

NUNES, C.; LADEIRA, S.; MERGULHÃO, A. Alergia ao *Anisakis simplex* na população portuguesa. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*. v. XI, p. 30-40, 2003.

OETTERER, M. *Matéria-prima alimentar: pescado*. São Caetano do Sul: Centro de pesquisas do Instituto de Mauá de Tecnologia, 1991, 29 p.

OETTERER, M. *Industrialização do pescado cultivado*. Guaíba: Editora Agropecuária. 2002, 200 p.

OKUMURA, M.P.M.; PEREZ, A.C.A.; FILHO, A.E. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado - revisão. *Revista de educação continuada do CRMV-SP*, v. 02, fascículo 02, p. 66-80, 1999.

OLIVA, M.E.; CASTRO, R.E.; BURGOS, R. Parasites of the flatfish *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) (Pleuronectiformes) from Northern Chile. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, p. 301-306, 1996.

OLIVA, M.E.; VADIVIA, I.M.; COSTA, G.; FREITAS, M.; PINHEIRO DE CARVALHO, M.A.; SANCHES, L.; LUQUE, J.L. What can metazoan parasites reveal about the taxonomy of *Scomber japonicus* Houttuyn in the coast of South America and Madeira Islands? *Journal of Fish Biology*, v. 72, p. 545-554, 2008.

OLSEN, S.O.; SCHOLDERER, J.; BRUNS, K.; VERBEKE, W. Exploring the relationship between convenience and fish consumption: a cross-cultural study. *Appetite*, v. 49, n. 1, p. 84-91, 2007.

ORTEGA, D.J.; MARTÍNEZ-CÓCERA, C. Guía de actuación em patología producida por *Anisakis*. *Alergologia e Inmunologia Clinica*, v. 15, p. 267-272, 2000.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. *Aqüicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília: Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO)*, v. 1, 2008, 276 p.

PADOVANI, R.E.S.; KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; MESQUITA, E.F.M.; JESUS, E.F.O.; GOMES, D.C. The effect of *in vitro* gamma radiation on *Anisakis* sp. Larvae collected from the pink cusk-eel, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 12, n. 1/2, p. 137-141, 2005.

PARAGUASSÚ, A.R.; ALVES, D.R.; LUQUE, J.L. Metazoários parasitos do acará *Geophagus brasiliensis* (Quoy; Gaimard, 1824) (Osteichthyes: Cichlidae) do reservatório de Lajes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 1, p. 35-39, 2005.

PEREIRA, A.D.; ATUI, M.B.; TORRES, D.M.A.G.U.; MANGINI, A.C.S.; ZAMBONI, C.Q. Incidência de parasitos da família Anisakidae em Bacalhau (*Gadus morhua*) comercializado no Estado de São Paulo. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 59, p. 45-49, 2000.

PEREIRA JR, J.; ALMEIDA, F.M.; MORAIS, N.C.M.; VIANNA, R.T. *Hysterothylacium* sp. larvae (Nematoda:Anisakidae) in *Micropogonias furnieri* (Sciaenidae) from Rio Grande do Sul coast, Brazil. *Atlântica*, v. 26, n. 1, p. 55-60, 2004.

PEREZ, J.A.A.; WAHRLICH, R.; PEZZUTO, P.R.; LOPES, F.R.A. Estrutura e dinâmica da pescaria do peixe-sapo *Lophius gastrophysus* no sudeste e sul do Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 28, n. 2, p. 205-231, 2002.

PEREZ-PONCE DE LEON, G.; CASTILLO-SANCHEZ, E.; ROSALES-CASIAN, J. *Ciscessetrema unami* n. gen., n. sp. (Digenea: Cryptogonimidae: Cryptogoniminae) from *Paralichthys californicus* (Ayres, 1859) (Osteichthyes: Pleuronectiformes: Paralichthyidae) in San Quintin Bay, Baja California, Mexico. *Journal of Parasitology*, v. 85, p. 1160-1164, 1999.

PETROCHENKO, V.I. *Acanthocephala of domestic and wild animals*. Vol. I. Ed Skrjabin KI, Academy of Science of URSS, Moscow. Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem, 1971a. 465 p.

PETROCHENKO, V.I. *Acanthocephala of domestic and wild animals*. Vol. II. Ed Skrjabin KI, Academy of Science of URSS, Moscow. Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem, 1971b. 4758 p.

PHILIPPI, S.T. *Nutrição e Técnica Dietética*. 1ª edição. São Paulo: Manole. 2003, 129 p.

PICCOLO, G.; MANFREDI, M.T.; HOSTE, L.; VERCRUYSSSE, J. Anisakidae larval infection in fish fillets sold in Belgium. *Veterinary Quaternaly*, v. 21, n. 6, p. 66-67, 1999.

PIENIAK, Z.; VERBEKE, W.; SCHOLDERER, J. Health-related beliefs and consumer knowledge as determinants of fish consumption. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, v. 23, n. 5, p. 480-488, 2010.

PRADO, S.P.T.; CAPUANO, D.M. Relato de nematóides da família Anisakidae em bacalhau comercializado em Ribeirão Preto, SP. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 39, n. 6, p. 580-581, 2006.

PURELLO-D'AMBRÓSIO, F.; PASTORELLO, E.; GANGEMI, S.; LOMBARDO, G.; RICCIARDI, L.; FOGLIANI, O.; MERENDINO, R. A. Incidence of sensitivity to *Anisakis simplex* in a risk population of fishermen/fishmongers. *Annales of Allergy Asthma and Immunology*, v. 84, n. 4, p. 439-444, 2000.

RAMELLA, M.S.; KROTH, M.A.; TAGLIARI, C.; ARISI, A.N.M. Optimization of random amplified polymorph DNA protocol for molecular identification of *Lophius gastrophysus*. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 4, p. 733-735, 2005.

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

RIBEIRO, J.; SÃO CLEMENTE, S.C.; LOPES, L.M.S.; KNOFF, M. Nematode larvae of hygienic importance infecting *Chaetodipterus faber* (Broussonet, 1782) and *Trachinotus carolinus* (Linnaeus, 1766) (Pisces: Teleostei) in Brazil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 36, p. 121-124, 2014.

RIFFO, R.L. La fauna de parasitos metazoos del lenguado de ojo grande *Hippoglossina macrops* Steindachner, 1876 (Pisces: Bothidae): Una aproximación ecológica. *Medio Ambiente*, v. 11, p. 54-60, 1991.

ROBALDO, R.; PEREIRA JR., J.; SAMPAIO, L.A.; KÜTTER, V.; BIANCHINI, A. Ovoposição e desenvolvimento inicial de *Caligus* sp. (Copepoda: Caligidae) parasita de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) em cativeiro. *Atlântica, Rio Grande*, v. 24, p. 85-88, 2002.

ROBERTS, L.S.; JANOVY JR, J. In: SCHMIDT, G.D.; ROBERTS, L.S. *Foundations of Parasitology*. 7 ed. NY: Mc Graw Hill, New York, 2000.

RODRÍGUEZ, M. C. V.; TENA, E. V.; CALVILLO, M. C.; VILLACAMPA, M. M. Dolor abdominal recidivante: afectación gástrica e ileal por *Anisakis*. *Annales de Medicina Interna*, v. 23, n. 11, p. 556-557, 2006.

RUBIO, C.; LASA, E.; ARROABARREN, E.; GARRIDO, S.; GARCÍA, B. E.; TABAR, A. I. Anafilaxia. *Annales del Sistema Sanitario de Navarra*, v. 26, supl. 2, p. 103-110, 2003.

RUCKET, S.; KLIMPEL, S.; AL-QURAI SHY, S.; MEHLHORN, H.; PALM, H.W. Transmission of fish parasites into grouper mariculture (Serranidae: *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822)) in Lanjung Bay, Indonesia. *Parasitology Research*, v. 104, p. 523-532, 2009.

SAAD, C.D.R.; LUQUE, J.L. Larvas de Anisakidae na musculatura do pargo, *Pagrus pagrus* no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 18, supl. 1, p. 71-73, 2009.

SAAD, C.D.R.; VIEIRA, F.M.; LUQUE, J.L. Larvae of Anisakidae Skrjabin & Karokhin, 1945 (Nematoda, Ascaridoidea) in *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 (Actinopterygii, Lophiidae) from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Neotropical Helminthology*, v. 6, n. 2, p. 159-177, 2012.

SABAS, C.S.S.; LUQUE, J.L. Metazoan parasites of weakfish, *Cynoscion guatucupa* and *Macrodon ancylodon* (Osteichthyes: Sciaenidae), from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 4, p. 171-178, 2003.

SABATER, E.I.L.; SABATER, C.J.L. Riesgos para la salud asociados al parasitismo del pescado por nematodos de los géneros *Anisakis* y *Pseudoterranova*. *Food Science and Technology Internacional*, v. 6, n. 3, p. 183-195, 2000.

SALGADO-MALDONADO, G. Acantocéfalos de peces v. Redescripción de quatro espécies de palaeacantocéfalos parasitos de peces de México. *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (Serie Zoología)*, v. 49, p. 49-70, 1978.

SALGADO, R.L.; FARIA, G.A.M.; LIMA, F.C. Ocorrência de parasitos da família Anisakidae em pescado comercializado no município de Niterói/RJ, e sua importância para a saúde pública. *Arquivo de Ciência Veterinária e Zoologia*, v. 7, sup. 2, p. 69, 2004.

SANTOS, C.P.; GIBSON, D.I.; TAVARES, L.E.R.; LUQUE, L.L. Checklist of Acanthocephala associated with the fishes of Brasil. *Zootaxa*, v. 1938, p. 1-22, 2008.

SÃO CLEMENTE, S.C.; UCHOA, C.M.A.; SERRA FREIRE, N.M. Larvas de anisakídeos em *Pagrus pagrus* (L.) e seu controle através de baixas temperaturas. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 1, n. 1, p. 21-24. 1994.



SÃO CLEMENTE, S.C.; MARQUES, M.C.; SERRA FREIRE, N.M.; LUCENA, F.P. 1995. Análise do parasitismo de peixe- espada, *Trichiurus lepturus* (L.) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitologia al Día*, v. 19, p. 146-149, 1995.

SÃO CLEMENTE, S.C.; KNOFF, M.; LIMA, F.C.; ANDRADA, C.D.G.; FELIZARDO, N.N.; PADOVANI, R.E.S.; GOMES, D.C. Cestóides Trypanorhyncha parasitos de peixe sapo-pescador, *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 comercializados no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 1, p. 37-42, 2007.

SÃO CLEMENTE, S.C.; SILVA, C.M.; LUCENA, F.P. Sobrevivência de larvas de anisakídeos de peixe- espada, *Trichiurus lepturus* (L.), submetidos ao processo de salmouragem e cocção. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 3, n. 3, p. 79-80. 1996.

SARDELLA, N.H.; MATTIUCCI, S.; TIMI, J.T.; BASTIDA, R.O.; RODRÍGUEZ, D.H.; NASCETTI, G. *Corynosoma australe* Johnston, 1937 and *C. cetaceum* Johnston & Best, 1942 (Acanthocephala: Polymorphidae) from marine mammals and fishes in Argentinian waters: allozyme markers and taxonomic status. *Systematic Parasitology*, v. 61, p. 143-156, 2005.

SARTORI, A.G.O.; AMÂNCIO, R.D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 19, p. 83-93, 2012.

SCHMIDT, G.; DAILEY, M.D. Zoogeographic and generic status of *Polymorphus* (*Polymorphus*) *cetaceum* (Johnston et Best, 1942) comb. n. (Acanthocephala). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, v. 38, p. 137, 1971.

SCHMIDT, G.D. Acanthocephalan infection of man, with two new records. *Journal of Parasitology*, v. 57, p. 582-584, 1971.

SHOSTAK, A.W.; DICK, T.A.; SZALAI, A.J.; BERNIER, L.M.J. Morphological variability in *Echinorhynchus gabi*, *E. leidy*, and *E. salmonis* (Acanthocephala: Echinorhynchidae) from fishes in northern Canadian waters. *Canadian Journal of Zoology*, v. 64, p. 985-995, 1986.

SILVA, C.M.; SÃO CLEMENTE, S.C. Nematóides da família Anisakidae e cestóides da ordem Trypanorhyncha em filés de dourado (*Coryphaena hippurus*) e ariocó (*Lutjanus synagris*) e sua importância na inspeção de pescado. *Higiene Alimentar*, v. 15, n. 80/81, p. 75-79, 2001.

SILVA, J.V.; CARDOSO, J.R.; SOUSA, M.M. Qualidade sensorial de peixes comercializados em mercados públicos de Teresina, PI. *Higiene Alimentar*, v. 27, p. 36-40, 2013.

SILVA, L.O.; LUQUE, J.L.; ALVES, D.R.; PARAGUASSÚ, A.R. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos do peixe-espada *Trichiurus lepturus* Linnaeus (Osteichthyes, Trichiuridae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zootecias*, v. 2, n. 2, p. 115-133, 2000.

SILVA, R.Z.; COUSIN, J.C.B. Anormalidade intestinal parasitária em *Pontoporia blainvillei* (Cetacea, Platanistoidea, Pontoporiidae) da região litorânea de Rio Grande, RS, Brasil. *Biociências*, v. 14, p. 37-46, 2006.

SMALES, L.R. Polymorphidae (Acanthocephala) from Australian mammals with descriptions of two new species. *Systematic Parasitology*, v. 8, p. 91-100, 1986.

SMITH, J.W.; WOOTTEN, R. *Anisakis* e Anisakiasis. *Advanced in Parasitology*, v. 16, p. 93-163, 1978.

SOCCOL, M.C.H.; OETTERER, M. Seafood as functional food. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 46, n. 3, p. 443-454, 2003.

SOLAS, M.T.; GARCÍA, M.L.; RODRIGUEZ-MAHILLO, A.I.; GONZALEZ-MUNOZ, M.; HERAS, C.; TEJADA, M. *Anisakis* antigens detected in fish muscle infested with *Anisakis simplex* L3. *Journal of Food Protection*, v.71, n.6, p.1273-1276, 2008.

SOUZA, P.H.M.; SOUZA NETO, M.H.; MAIA, G.A. Componentes funcionais nos alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

TACON, A.G.J.; METIAN, M. Fish matters: importance of aquatic foods in human nutrition and global food supply. *Reviews in Fisheries Science*, v. 21, n. 1, p. 22-38, 2013.

TADA, I.; OTSUJI, Y.; KAMIYA, H.; MIMORI, T.; SAKAGUCHI, Y.; MAKIZUMI, S. The first case of human infected with an acanthocephalan parasite, *Bolbosoma* sp. *Journal of Parasitology*, v. 69, p. 205-208, 1983.

TANTALEÁN, M.; SÁNCHEZ, L.; GÓMEZ, L.; HUIZA, A. Acantocéfalos del Peru. *Revista Peruana de Biología*, v. 12, p. 83-92, 2005.

TARASCHEWSKI, H. Acanthocephala. In: EIRAS, J.C.; SEGNER, H.; WAHLI, T.; KAPOOR, B.G. (Eds). *Fish Diseases*. Vol. 2. Science Publishers, Enfield. pp. 1023-1062, 2008.

TAVARES, G.C.; AQUINO, R.M.A.; PALHARES, M.M.; SANTOS, R.R.D.; BONFIM L.M.; TEIXEIRA, L.V. Perfil do consumo de pescado na cidade de Belo Horizonte, MG. *Boletim de Indústria Animal*, v. 70, p. 230-236, 2013.

TAVARES, L.E.R.; ALEJOS, J.L.F.L. Capítulo 15. *Sistemática, biologia e importância em saúde coletiva de larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas de peixes ósseos marinhos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*. In: SILVA-SOUZA A T. Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil. ABRAPOA, Maringá, 2006. 387 p.

TAVARES, L.E.R.; BICUDO, A.J.A.; LUQUE, J.L. Metazoan parasites of needlefish *Tylosurus acus* (Lacépède, 1803) (Osteichthyes: Belonidae) from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 1, p. 36-40, 2004.

TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L.; BOTELHO NETO, S.L. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos do olho-de-cão *Priacanthus arenatus* do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoociências*, v. 3, n.1, p. 45-59, 2001.

TORO, C.; CABALLERO, M.L.; BAQUERO, M.; GARCÍA-SAMANIEGO, J.; CASADO, I.; MARTÍNEZ, P.; ALARCÓN, MONEO I Seropositivity to a major allergen of *Anisakis simplex*, *Anisakis* 1 in dyspeptic patients with *Helicobacter pylori* infection: histological and laboratory findings and clinical significance. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 12, p. 453-458, 2006.

TORRES, M. Un caso de anisakiosis en un adulto. Santiago: Facultad de Medicina - Pontificia Universidad Católica de Chile. *Parasitología Día*, v. 24, p. 3-4, 2000.

TORRES, P.; MOYA, R.; LAMILLA, J. Anisakid nematodes of interest in public health in fishes commercialized in Valdivia, Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, v.32, p. 107-113, 2000.

TORRES, P.; OPORTO, J.A.; BRIEVA, L.M.; ESCARE, L. Gastrointestinal helminths of the cetaceans *Phocoena spinipinnis* (Burmeister, 1865) and *Cephalorhynchus eutropia* (Gray, 1856) from Southern Coast of Chile. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 28, p. 313-315, 1992.

TRAVASSOS, L. *Serrasentis sagittifer* (Linton, 1889) (Acanthocephala). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 64, p. 1-10, 1966.

TUU, H.H.; OLSEN, S.O.; THAO, D.T.; ANH, N.T.K. The role of norms in explaining attitudes, intention and consumption of a common food (fish) in Vietnam. *Appetite*, v. 51, n. 3, p. 546-551, 2008.

VALLS, A.; PASCUAL, C.Y.; MARTÍN ESTEBAN, M. *Anisakis* allergy: an update. *Revue Française D'allergologie et D'immunologie Clinique*, v. 45, p.108-113, 2005.

VAN THIEL, P.H.; KUIPERS, C.F.; ROSKAN, T.H. A nematoda parasitic to herring causing acute abdominal síndromes in man. *Tropical and Geographical Medicine*, v. 12, p. 97-113, 1960.

VERWEYEN, L.; KLIMPEL, S.; PALM, H.W. Molecular Phylogeny of the Acanthocephala (Class Palaeacanthocephala) with a paraphyletic assembled of the orders Polymorphida and Echinorhynchida. *PloS One*, v. 6, n. 12, e28285, 2011. doi:101371/journal.pone.0028285.

YAGI, K.; NAGASAWA, K.; ISHIKURA, H.; NAGAKAWA, A.; SATO, N.; KIKUCHI, K.; ISHIKURA, H. Female worm *Hysterothylacium aduncum* excreted from human: a case report. *Japanese Journal of Parasitology*, v. 45, p. 12-23, 1996.

YAMAGUTI, S. *Systema Helminthum*. Volume V. Acanthocephala. Interscience Publishers Inc, New York, 1963. 423 p.

ZDZITOWIECKI, K. Some antarctic acanthocephalans of the genus *Corynosoma* parasitizing Pinnipedia, with descriptions of three new species. *Acta Parasitologica Polonica*, v. 29, p. 359-377, 1984.

## 6 APÊNDICE

Durante o período do doutorado foi realizada uma revisão das espécies de *Diphyllobothrium* que ocorrem na América do Sul (*Diphyllobothrium latum*, *D. pacificum*, *D. dendriticum*) onde foram apresentados a posição sistemática atual, a determinação morfológica de ovos, larvas e formas adultas das espécies que já vem sendo identificadas, os estudos sobre a sua biologia, a importância em saúde pública, as suas implicações na epidemiologia e o conhecimento atual sobre a diagnose molecular de algumas espécies.

### 6.1. CAPITULO DE LIVRO: ZOONOSE: DIFILOBOTRIASE

Autores:

Marcelo Knoff & Michelle Cristie Gonçalves da Fonseca

Publicado: 09/ 2012

*In*: Patologia e Sanidade de Organismos Aquáticos. Silva-Souza A.T., Lizama M.A.P., Takemoto R.M. (Organizadores). Capítulo 7, Abrapoa Maringá, Massoni, 2012, p. 139-164

ORGANIZADORES

Ângela Teresa Silva-Souza  
Maria de los Angeles Perez Lizama  
Ricardo Massato Takemoto

# Patologia e Sanidade de Organismos Aquáticos



Maringá - 2012  
1ª Edição

©2012 Associação Brasileira de Patologistas de Organismos Aquáticos (Abrapoa)

Editoração / Diagramação Rogério Bernardino da Silva  
 Capa Rogério Bernardino da Silva  
 Imagem da Capa Oscar Akio Shibatta

Abrapoa [www.abrapoa.org.br](http://www.abrapoa.org.br)  
[secretaria@abrapoa.org.br](mailto:secretaria@abrapoa.org.br)

Exemplares deste livro podem ser adquiridos através do site da Livraria Abrapoa ([www.abrapoalivraria.com.br](http://www.abrapoalivraria.com.br)) ou na própria Abrapoa ([secretaria@abrapoa.org.br](mailto:secretaria@abrapoa.org.br))

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
 (Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

P312 Patologia e sanidade de organismos aquáticos / organizadores Ângela Tereza Silva-Souza, Maria de Los Angeles Perez Lizama, Ricardo Massato Takemoto ; Adolfo Jatobá ... [et al.]. -- Maringá : Massoni, 2012.  
 404 p. : il., color., figs., tabs., retrs., mapas

ISBN: 978-85-8017-035-1

O livro Patologia e sanidade de organismos aquáticos, é fruto do X ENBRAPOA, realizado em Búzios (RJ), em 2008.

1. Organismos aquáticos - Patologia. 2. Peixes - Parasitas. 3. Peixes - Parasitoses. 4. Organismos aquáticos - Zoonoses. I. Silva-Souza, Ângela Tereza, org. II. Lizama, Maria de Los Angeles Perez, org. III. Takemoto, Ricardo Massato, org. IV. Jatobá, Adolfo. V. ENBRAPOA. VI. Título.

CDD 21.ed. 639.8

## CAPÍTULO 7

**Zoonose: Difilobotríase**

Marcelo Knoff &amp; Michelle Cristie Gonçalves da Fonseca

**Resumo**

Foi realizada uma revisão das espécies de *Diphyllobothrium* que ocorrem na América do Sul (*Diphyllobothrium latum*, *D. pacificum*, *D. dendriticum*), onde são apresentados a posição sistemática atual, a determinação morfológica de ovos, larvas e formas adultas das espécies que já vêm sendo identificadas, os seus hospedeiros intermediários (peixes teleósteos), os estudos sobre sua biologia, a importância em saúde pública, as suas implicações na epidemiologia e o conhecimento atual sobre a diagnose molecular de algumas espécies.

**Abstract**

**Zoonosis: *Diphyllobothriasis*:** A review of species of the genus *Diphyllobothrium* that occur in South America (*Diphyllobothrium latum*, *D. pacificum*, *D. dendriticum*) is presented, covering their current systematic position, morphological determination of eggs, larvae and adult forms of species that have already been identified, their intermediate hosts (teleost fish), their biology, public health importance, their epidemiological implications, and the current knowledge about the molecular diagnosis of some species.

**Introdução**

Os cestóides da ordem Diphyllobothriidea, família Diphyllobothriidae, principalmente as espécies pertencentes ao gênero *Diphyllobothrium* Cobbold, 1858, são muito importantes em saúde pública, pois causam a zoonose conhecida como difilobotríase.



### Zoonose: Difilobotríase

No ciclo de vida deste parasito, estão envolvidos dois hospedeiros intermediários, onde o primeiro hospedeiro em todas as espécies está representado por espécies de crustáceos, o segundo hospedeiro está representado por um peixe teleósteo e o hospedeiro definitivo é representado por aves e mamíferos piscívoros e, inclusive, o homem (TORRES, 1982; RAHKONEN *et al.*, 1996; ACHA & SZYFRES, 2003; ROBERTS & JANOVY JR., 2005).

A difilobotríase é muito frequente nos países asiáticos, oriente médio, norte e leste europeu, norte da América do Norte e América do Sul (ACHA & SZYFRES, 2003). No continente sul americano ocorre com mais intensidade no Peru e no Chile (SEMENAS & UBEDA, 1997; SEMENAS *et al.*, 2001). As espécies de *Diphyllobothrium* mais registradas na América do Sul são *D. latum* (Linnaeus, 1758), *D. dendriticum* (Nitzsch, 1824) e *D. pacificum* (Nybelin, 1931).

No homem, a difilobotríase pode ser adquirida com o consumo de pescado cru, mal cozido, defumado, salgado, em conserva e resfriado, submetido a congelamento insuficiente, que contenham as larvas de *Diphyllobothrium* (SEMENAS & UBEDA, 1997; PÉREZ *et al.*, 1999; SLIFKO *et al.*, 2000; FERRE, 2001; FERNANDÉZ, 2006; UMAR, 2009).

A classificação das espécies de *Diphyllobothrium*, de origem marinha, é confusa e as descrições dos plerocercóides, onde eles existem, são vagas (ANDERSEN, 1977; ANDERSEN *et al.*, 1987), necessitando de estudos morfológicos e morfométricos destas formas. Em muitos casos, somente podendo ser confirmados com a coleta de plerocercóides vivos e a realização de infecções experimentais em cães e gatos, para obtenção dos adultos, para comparação das espécies (MAGATH, 1929; ANDERSEN & HALVORSEN, 1978; TORRES *et al.*, 1981; DICK & POOLE, 1985; ANDERSEN *et al.*, 1987; YAMANE *et al.*, 1988; REVENGA & SEMENAS, 1991; RAUSCH & ADAMS, 2000). Em adição, a diagnose molecular já se apresenta como uma ferramenta de grande valia das amostras clínicas das espécies de *Diphyllobothrium*, podendo ser utilizada para determinar estágios ontogênicos dos parasitos, como os segmentos dos vermes adultos e seus ovos, bem como, plerocercóides em peixes, para traçar as origens dos tipos de infecção humana (SCHOLZ *et al.*, 2009).

### Posição Sistemática do Gênero *Diphyllobothrium*

A classificação aqui utilizada está de acordo com KUCHTA *et al.* (2008) que suprimiram a ordem Pseudophyllidea e propuseram duas novas

ordens: Botriocephalidea e Diphyllbothriidea sendo, esta última, com a família Diphyllbothriidae Lühe, 1910 e o gênero *Diphyllbothrium*. Dados moleculares coletados dos trabalhos de BRABEC *et al.* (2006) e WAESCHENBACH *et al.* (2007) forneceram evidências de que ambas as ordens, previamente localizadas em Pseudophyllidea, seriam filogeneticamente distintas.

### **Registros da ocorrência de parasitos do gênero *Diphyllbothrium* na América do Sul**

Na América do Sul várias espécies de peixes teleósteos foram registradas sendo parasitadas por cestóides Diphyllbothriidae (KNOFF *et al.*, 2008). No Brasil, estes mesmos autores registraram larvas plerocercóides parasitando *Genypterus brasiliensis*, comercializados no estado do Rio de Janeiro. No momento, estão sendo realizados estudos com outros teleósteos marinhos no Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, em conjunto com o Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

A difilobotríase humana é conhecida por ocorrer amplamente no mundo inteiro. E, embora os ovos de *D. pacificum* já tivessem sido registrados em coprólitos de 2000 a 3000 anos (REINHARD & URBAN, 2003), somente no século XX é que foram registrados os primeiros casos na América do Sul. O primeiro registro na América do Sul foi realizado na Argentina por CORTELEZZI (1913). Desde então, vários casos têm sido registrados neste continente (BAER *et al.*, 1967; TANTALEÁN, 1975; FIGUEROA *et al.*, 1980; TORRES *et al.*, 1980, 1981, 2007; TORRES, 1982; SEMENAS & UBEDA, 1997; SAGUA *et al.*, 2000, 2001; CABRERA *et al.*, 2001; SEMENAS *et al.*, 2001; CAVALCANTI *et al.*, 2004; MENGHI *et al.*, 2006; KNOFF *et al.*, 2008).

No Brasil, os primeiros casos de parasitose humana por *Diphyllbothrium* sp. foram relatados por COUTINHO (1957) e, posteriormente, por CASTILHO *et al.* (2001) que registraram o primeiro caso não autóctone. SANTOS & FARO (2005), registraram primeiro caso autóctone. Outros registros foram realizados por EDUARDO *et al.*, 2005a, b; SAMPAIO *et al.*, 2005; TAVARES *et al.*, 2005; SANTOS & FARO, 2005; EMMEL *et al.*, 2006; CAPUANO *et al.*, 2007; LACERDA *et al.*, 2007; MEZZARI & WIEBBELLING (2008) e LLAGUNO *et al.* (2008). Registros da ocorrência

Zoonose: Difilobotríase

de *Diphyllbothrium* sp. em outros mamíferos também foram realizados no Brasil (CARNEIRO *et al.*, 1972; CARVALHO & VASCONCELLOS, 1995; SANTOS *et al.*, 2004; VIEIRA *et al.*, 2008).

### Determinação de espécies pertencentes ao gênero *Diphyllbothrium*

É sabido que existe uma grande dificuldade na identificação das espécies de *Diphyllbothrium* que parasitam peixes, devido a sua extrema variabilidade morfológica (VIK, 1964; MEYER, 1966; ANDERSEN *et al.*, 1987). Dados biológicos, bem como espécimes inteiros, são necessários para identificações. Se apenas fragmentos do estróbilo forem avaliados, a identificação torna-se muito mais difícil (ANDERSEN *et al.*, 1987).

É observado, por determinação das larvas plerocercóides, que estas apresentam diferenças morfológicas entre elas, que estão além do comprimento total máximo, devendo ser levado em consideração a observação do aspecto morfológico da superfície do tegumento, o comprimento das microtríquias, a forma do escólex, o estado de invaginação do escólex, o arranjo histológico dos feixes musculares e até mesmo o sítio de infecção (ANDERSEN, 1977; DICK & POOLE, 1985).

A identificação das formas adultas deve ser baseada em vários caracteres em conjunto: forma do escólex; comprimento do pescoço, morfologia externa e interna das proglótes, como largura máxima do estróbilo, tipo de limite entre os segmentos, forma do ovário, forma de enovelamento do útero, número de voltas do útero em proglótes grávidas completamente preenchidas de ovos, posição do átrio genital, morfologia do cirro, localização da bolsa do cirro e vesícula seminal, localização da vagina e do poro uterino, convergência ou não dos folículos vitelínicos e de testículos na região anterior a bolsa do cirro (TORRES *et al.*, 1989; ANDERSEN *et al.*, 1987; SEMENAS & UBEDA, 1997; CHUNG *et al.*, 1997).

O tamanho e a forma dos ovos das espécies pertencentes ao gênero *Diphyllbothrium* variam consideravelmente entre as espécies. Utilizar o tamanho dos ovos como critério único para a delimitação e determinação das espécies de *Diphyllbothrium* é considerado insuficiente e de pequeno ou nulo valor taxonômico. Embora, podendo ser utilizado como um dos muitos critérios (ANDERSEN & HALVORSEN, 1978), a espécie de hospedeiro, intensidade de infecção e idade dos parasitos influenciam nas dimensões dos ovos (TORRES, 1982).

Nas tabelas apresentadas (Tabelas 1, 2, 3) encontra-se um resumo das características descritas para as espécies pertencentes ao gênero *Diphyllbothrium* no continente Sul Americano, *D. latum*; *D. pacificum* e *D. dendriticum*, onde nem sempre se percebe como um guia prático para identificação dos ovos e larvas, sendo mais aplicável às formas adultas das espécies mais registradas.

Tabela 1. Formato e presença de estruturas dos ovos de *Diphyllbothrium* comumente registradas na América do Sul. C = comprimento; L = largura

	<i>D. dendriticum</i>	<i>D. pacificum</i>	<i>D. latum</i>
Forma ovos	Ovalado (THOMAS, 1946)	Ovalados (CABRERA <i>et al.</i> , 2001); Relativamente assimétrico ou oval (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981)	
Cor ovos	Ouro amarelo (MARKOWSKI, 1949); Âmbar (THOMAS, 1946)		Pardacentos (COUTINHO <i>et al.</i> , 1957)
Opérculo	Em uma das extremidades (MARKOWSKI, 1949; MEYER & ROBINSON, 1963); Com sutura opercular rasa tendo uma elevação linear no centro da "fenda" (YAMANE <i>et al.</i> , 1976); Ligeiramente na tangente (THOMAS, 1946)	Em uma das extremidades (STUNKARD, 1948; BAER <i>et al.</i> 1967; CATTAN <i>et al.</i> , 1977; CABRERA <i>et al.</i> , 2001); Relativamente profundo, no qual uma definida elevação é vista (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981)	Em uma das extremidades (CHUNG <i>et al.</i> , 1997)
Nódulo abopercular	Na extremidade oposta ao opérculo (MEYER & ROBINSON, 1963); As vezes com pequeno opérculo (MARKOWSKI, 1949); As vezes Incospícuo (THOMAS, 1946)	Na extremidade oposta ao opérculo (BAER <i>et al.</i> , 1967; CABRERA <i>et al.</i> , 2001)	Na extremidade oposta ao opérculo (CHUNG <i>et al.</i> , 1997)

continua...

## Zoonose: Difilobotríase

... continuação

Tamanho ovos (C x L)	52,06-76,72 x 38,36-52,06 $\mu\text{m}$ (ANDERSEN & HALVORSEN, 1978); 62 x 44 $\mu\text{m}$ (TORRES <i>et al.</i> , 1989); 48-62 x 35-43 $\mu\text{m}$ (MEYER & ROBINSON, 1963); 56-59,4 x 39,6 $\mu\text{m}$ (MARKOWSKI, 1949); 61 x 39 $\mu\text{m}$ (THOMAS, 1946)	50-60 x 36-40 $\mu\text{m}$ (BAER <i>et al.</i> , 1967); 54 x 37 $\mu\text{m}$ (CABRERA <i>et al.</i> , 2001); 56,7-67,5 x 40,5-45,9 $\mu\text{m}$ (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981); 050-56 x 38-43 $\mu\text{m}$ (CATTAN <i>et al.</i> , 1977); 5-62 x 37-44 $\mu\text{m}$ (STUNKARD, 1948)	54,80-76,72 x 35,36-57,54 $\mu\text{m}$ (ANDERSEN & HALVORSEN, 1978); 57-64 x 39-47 $\mu\text{m}$ (MAGATH, 1929); 62-76 x 42-51 $\mu\text{m}$ (RAUSH & HILLIARD, 1970); Média de 64-71 x 48-51 $\mu\text{m}$ (SAMPAIO <i>et al.</i> , 2005); 60 x 44 $\mu\text{m}$ (TORRES <i>et al.</i> , 1989)
Tipo da casca do ovo	Casca lisa (MEYER & ROBINSON, 1963)	Casca espessa (STUNKARD, 1948; BAER <i>et al.</i> , 1967; CATTAN <i>et al.</i> , 1977; MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981)	Irregular e esparsadamente papilada (YAMANE <i>et al.</i> , 1976); Casca fina (COUTINHO, 1957)
Forma das papilas		Papilas profundas densamente distribuídas na casca (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981)	Relativamente rasas com a superfície entre elas lisa (YAMANE <i>et al.</i> , 1976)

Tabela 2. Formato e presença das estruturas internas e externas de plerocercóides de *Diphyllbothrium* comumente registradas na América do Sul.

	<i>D. dendriticum</i>	<i>D. pacificum</i>	<i>D. latum</i>
Estado do escólex	Parcialmente retraído (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987; ANDERSEN & GIBSON, 1989); Sempre visível e com fissura transversal na extremidade anterior (TORRES <i>et al.</i> , 1989); Nunca retraído (MEYER & ROBINSON, 1963)	Ligeiramente retraído (ESCALANTE & MIRANDA, 1986)	Totalmente retraído (DICK & POOLE, 1985; ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987; ANDERSEN & GIBSON, 1989; TORRES <i>et al.</i> , 1989); Não visível em microscopia de campo claro e totalmente retraído (ANDERSEN, 1977)
Glândulas frontais	Presente só no escólex (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); Sem evidência na região anterior da larva (MEYER & ROBINSON, 1963)		No escólex, continua por 1/3 do corpo (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987; ANDERSEN & GIBSON, 1989)
Superfície do corpo	Enrugado (ANDERSEN, 1977; DICK & POOLE, 1985; ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); Com profundas rugas transversais (ANDERSEN & GIBSON, 1989); Achatado, com rugas transversais simulando estrobilização (MEYER & ROBINSON, 1963)	Com estriações transversais (ESCALANTE & MIRANDA, 1986)	Enrugado (ANDERSEN, 1977; DICK & POOLE, 1985; ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); Com rugas transversais (ANDERSEN & GIBSON, 1989)
Sinais de segmentação	Visível em espécimes grandes clarificados (ANDERSEN & GIBSON, 1989)		Ausente até em espécimes grandes (ANDERSEN & GIBSON, 1989)

continua...

## Zoonose: Difilobotríase

... continuação

Sinais de primórdios genitais	Presente nos grandes espécimes (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); Visível em espécimes clarificados (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1989)		Ausente (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); Ausente em espécimes grandes (ANDERSEN & GIBSON, 1989)
Tamanho	15-20 mm (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); 25 mm (espécimes pequenos) e 40 mm (espécimes grandes) (ANDERSEN, 1975); 20-45 mm (espécimes relaxados) e 9-12 mm (espécimes fixados) (TORRES <i>et al.</i> , 1981); 2-16 mm (DICK & POOLE, 1985); 5-26 mm (MEYER & ROBINSON, 1969)	5-10 x 1 mm (ESCALANTE & MIRANDA, 1986)	> 5 mm (ANDERSEN & GIBSON, 1987); 3-20 x 5-15 mm (MAGATH, 1929); 3-10 mm (ANDERSEN, 1975); 1,5-4 mm (DICK & POOLE, 1985); < 5 mm (ANDERSEN & GIBSON, 1989)
Microtríquias	7-12 $\mu\text{m}$ (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); 3-4 $\mu\text{m}$ (espécimes pequenos) e 7-10 $\mu\text{m}$ (espécimes grandes) (ANDERSEN, 1975); 9,2-13,8 $\mu\text{m}$ (TORRES <i>et al.</i> 1981); 8 $\mu\text{m}$ comp. presente na região posterior escólex (MEYER & ROBINSON, 1963)		= 2 $\mu\text{m}$ não visível em microscopia em campo claro (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); 2-3 $\mu\text{m}$ , pequenas, com leve diminuição no comprimento de larvas pequenas e grandes (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1975); 2 $\mu\text{m}$ não visível em microscopia de campo claro (ANDERSEN & GIBSON, 1989); < 3 $\mu\text{m}$ (TORRES <i>et al.</i> , 1989)
Número de camadas da musculatura longitudinal epidérmica	Uma ou duas camadas (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987; ANDERSEN & GIBSON, 1989)		Uma camada (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987; ANDERSEN, 1989)

continua...

... continuação

Número de camadas da musculatura longitudinal parenquimal	Bem desenvolvida, incompleta (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987)		Bem desenvolvida parte anterior e pouco desenvolvida parte posterior (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987)
---	--	--	--

Tabela 3. Formato e presença das estruturas internas e externas das formas adultas de *Diphyllbothrium* comumente registradas na América do Sul. C = comprimento; L = largura

	<i>D. dendriticum</i>	<i>D. pacificum</i>	<i>D. latum</i>
Forma escólex	Espatulado (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); Lanceolado (FIGUEROA <i>et al.</i> , 1980); Com ponta arredondada em direção anterior (vista lateral), uniformemente estreito (vista botrial) (MEYER & ROBINSON, 1963); Digitado (THOMAS, 1946);	Oval (MARKOWSKI, 1952); Oval ou com borda ampla (vista lateral), com três bordas foliadas (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981); Lanceolado (CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	Espatulado (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); Clavado (vista lateral, em espécimes relaxados) (Rausch & HILLIARD, 1970)
Tamanho escólex (C x L)	0,7-1,7 mm (DICK & POOLE, 1985); 11-13 x 4-5 mm (FIGUEROA <i>et al.</i> , 1980); 0,59-1,36 x 0,39-0,56 mm (MEYER & ROBINSON, 1963); 1,2-2 mm x 5-6 mm (MARKOWSKI, 1949); 1,75-0,44 mm (THOMAS, 1946)	1,4 x 0,9 mm (MARKOWSKI, 1952); 3 x 1 mm (BAER, 1967); 2,2-1,5 mm (CABRERA <i>et al.</i> , 2001); 1,8-2,2 x 1,9 mm (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981)	31-34 x 8-13 mm (CHUNG <i>et al.</i> , 1997); 1,5-1,8 x 0,6-0,8 mm (RAUSGH & HILLIARD, 1970); 0,4 x 0,12 mm (TORRES <i>et al.</i> , 1989)

continua...



## Zoonose: Difilobotríase

... continuação

Bótrios	Profundos sulcos; margens botriais ativas quando imergidos solução salina (MEYER & ROBINSON, 1963); Profundo, estende por todo comprimento, abre no ápice (THOMAS, 1946);	Profundo alongado em direção anterior (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981); Pseudobotrios se estende até a metade deste (CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	Profundo estende por todo comprimento do escolex (RAUSCH & HILLIARD, 1970)
Tamanho pescoço (C x L)	2 mm (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); 0,35 x 0,10 mm (TORRES <i>et al.</i> , 1989); 0,34-1,53 x 0,29-0,57 mm (MEYER & ROBINSON, 1963); 2-4 mm x 39 mm (MARKOWSKI, 1949); 1,09 x 0,7 mm (THOMAS, 1946);	0,45-0,53 x 0,55-0,6 mm (MARKOWSKI, 1952); 0,5-0,6 mm (CABRERA <i>et al.</i> , 2001); 0,75-1,25 x 0,63-0,88 mm (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981)	8,4-14,0 mm comprimento (RAUSCH & HILLIARD, 1970); 1,10 x 0,18 mm (TORRES <i>et al.</i> , 1989)
Tipo borda entre segmentos	Sem borda distinta (DICK & POOLE, 1985; Andersen <i>et al.</i> , 1987)	Craspedota (MARKOWSKI, 1952; MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981; CABRERA <i>et al.</i> , 2001)	Com constricção (DICK & POOLE, 1985; ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987; SAMPAIO <i>et al.</i> , 2005); Levemente convexo (RAUSCH & HILLIARD, 1970)
Margem dos segmentos	Côncava (MARKOWSKI, 1949)	Serrada (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981)	Serrada (RAUSCH & HILLIARD, 1970)

continua..

## Patologia e Sanidade de Organismos Aquáticos

... continuação

Tipo proglotes	Mais comprida que largas (proglotes primárias e espécimes relaxados), mais largas que compridas (proglotes secundárias) (MEYER & ROBINSON, 1963); Trapezional, quadrado ou muitas vezes mais compridas que largas (MARKOWSKI, 1949);	Quadradas, com segmento terminal oval (MARKOWSKI, 1952); Retangular, mais largo que comprido (CABRERA <i>et al.</i> , 2001); Muito mais largo que comprido (CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	Mais largas que longas (Coutinho, 1957) Muito mais largas que longas, com largura média aumentando em direção posterior (RAUSCH & HILLIARD, 1970); Proglotes distais mais compridas que largas (TORRES <i>et al.</i> , 1989)
Tamanho proglotes (C x L)	0,36-0,57 x 0,27-0,31 mm (TORRES <i>et al.</i> , 1981); 0,4 x 0,7 mm (maduras com ovos) e 0,8 x 0,5 mm (distal) (TORRES <i>et al.</i> , 1989); 0,7-0,18 x 0,24-0,40 mm (FIGUEROA <i>et al.</i> , 1980); 3-6 x 5-2 mm (MARKOWSKI <i>et al.</i> , 1949)	1,68 x 4,92 mm (maduras) e 3,80 x 5,34 mm (grávidas) (CABRERA <i>et al.</i> , 2001); 1,25-2,0 mm comprimento (grávidas) (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981); Largura máxima de 11,0 mm (CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	± 0,3 x 0,5 e ± 0,5 x 3,5 (grávidas) (RAUSCH & HILLIARD, 1970)

continua...

## Zoonose: Difilobotríase

... continuação

Forma útero	Não é em forma de roseta, com muitas alças anteriores se estendendo para frente variando em relação a bolsa do cirro, normalmente não alcança a margem anterior da bolsa do cirro, mas raramente se estendendo além (MEYER & ROBINSON, 1963); Com alças uterinas alcançando a região média ou superior do átrio, se sobrepondo em alguns casos, nunca o envolvendo (FIGUEROA <i>et al.</i> , 1980)	Nunca em forma de roseta como <i>D. latum</i> (BAER <i>et al.</i> , 1967; CATTAN <i>et al.</i> , 1987); Forma de roseta (CABRERA <i>et al.</i> , 1977); Alças normalmente de forma paralela, alguns casos em forma de roseta (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981)	Forma de roseta (CHUNG <i>et al.</i> , 1997; SAMPAIO <i>et al.</i> , 2005)
Número de alças uterinas	4-7 (TORRES <i>et al.</i> , 1981); 2-6 (FIGUEROA <i>et al.</i> , 1980); 5-10 (MEYER & ROBINSON, 1963); 9-11 (MARKOWSKI, 1949); 7-8 (alças anteriores) e 3-4 (alças posteriores) (THOMAS, 1946)	4-5 alças de cada lado (MARKOWSKI, 1952); 4-7 alças de cada lado (BAER <i>et al.</i> , 1967) 3-8 alças (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981); ao menos 4 alças de cada lado (CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	4-6 voltas (MAGATH, 1929); 4-5 voltas (SAMPALIO <i>et al.</i> , 2005)

continua...

... continuação

Posição poro uterino	Mediano, posterior ao poro genital, separado por uma distância média de 166 $\mu$ m (THOMAS, 1946)	Abre atrás do átrio genital, ligeiramente a esquerda do mesmo (BAER <i>et al.</i> , 1967); Termina abaixo e a esquerda do átrio genital (CABRERA <i>et al.</i> , 2001); Está a 0,13-0,25 mm de distância atrás do poro do cirro (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981); Mais abaixo da desembocadura da vagina (CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	Na linha média, com 0,260-1,240 mm posterior ao poro genital próximo a borda posterior da área distendida (RAUSCH & HILLIARD, 1970)
Posição átrio genital	Região media anterior (FIGUEROA <i>et al.</i> , 1980); Abre ventral 1/3 anterior proglote por poro genital envolvido por papila proeminente (MEYER & ROBINSON, 1963); Mediano (THOMAS, 1946)	Próximo centro segmento (MARKOWSKI, 1952); Quase no meio da proglote (BAER <i>et al.</i> , 1967); Parte média da face ventral (CABRERA <i>et al.</i> , 2001); Face ventral, quase sempre no centro da proglote ou ligeiramente desviado para a borda anterior (CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	Ventral no 1/5 para 1/4 da região anterior (RAUSCH & HILLIARD, 1970); No centro das proglotes maduras e grávidas, envolvido por papilas de vários tamanhos (YAMANE <i>et al.</i> , 1976)
Formato átrio genital	Circular, com área papilosa (THOMAS, 1946)	Átrio raso que parece ser mais profundo devido a uma estrutura curiosa presente entre a proplote anterior e o poro genital (BAER <i>et al.</i> , 1967)	Com 0.150 mm profund., lineado por papilas (RAUSCH & HILLIARD, 1970); Fechado como "cauliflower" (YAMANE <i>et al.</i> , 1976)

continua...

## Zoonose: Difilobotríase

... continuação

Posição da vagina	Ligeiramente sinuosa, estende posterior do genital ventral ao útero, no nível estímus ovariano quando curva ventralmente para entrar oviduto (MEYER & ROBINSON, 1963); Mediana, leve espiral, irregular alterna direita e esquerda do poro uterino e oviduto (THOMAS, 1946)	Abre posterior a bolsa do cirro através de um seguimento estreito lineado (BAER <i>et al.</i> , 1967); Abre atrás, da bolsa cirro a uma distancia de 0,04 - 0,06 mm, separadamente hemisférica (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981); Abre em baixo desembacadura bolsa do cirro através de um estreito canal (CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	Se abre posterior dentro do átrito genital e estende-se em direção a região dorsal como um tubo de parade fina (RAUSCH & HILLIARD, 1970)
Posição testículos	Campos laterias (THOMAS, 1946; MARKOWSKI, 1949; MEYER & ROBINSON, 1963)	Campos laterias complexo genital (BAER, 1967; CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	Campos laterais do útero (MAGATH, 1929; TORRES <i>et al.</i> , 1989); Campos laterais, ligeiramente sobrepondo dorsalmente lobos ovarianos (RAUSCH & HILLIARD, 1970)
Tamanho dos testículos (C x L)	87 x 131 $\mu\text{m}$ (THOMAS, 1946); 99-165 x 62-148 $\mu\text{m}$ (MARKOWSKI, 1949); 75 $\mu\text{m}$ diâmetro (MEYER & ROBINSON, 1963); 17 $\mu\text{m}$ comprimento (FIGUEROA <i>et al.</i> , 1980)	50 x 43 $\mu\text{m}$ (MARKOWSKI, 1952); 60-100 x 30- 70 $\mu\text{m}$ diâmetro (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981)	0,50-1 x 0,58-13 $\mu\text{m}$ (MAGATH, 1929); 1,76-2,60 x 0,78-1,43 $\mu\text{m}$ (RAUSCH & HILLIARD, 1970)
Número total de testículos	264-318 (THOMAS, 1946); 168-408 (MARKOWSKI, 1949)	500-650 (BAER <i>et al.</i> , 1967)	1200 (RAUSCH & HILLIARD, 1970)

continua...

... continuação

Arranjo dos testículos	1 camada (MARKOWSKI, 1949; MEYER & ROBINSON, 1963)	1 única camada (MARKOWSKI, 1952; MAEJIMA <i>et al</i> , 1981; CABRERA <i>et al</i> , 2001); 1 única camada num eixo longitudinal num plano dorso ventral (BAER, 1967)	1 camada (RAUSCH & HILLIARD, 1970)
Posição folículos vitelínicos	Arranjados no córtex, no dorsal e no ventral campos laterais (MEYER & ROBINSON, 1963); Região ventral e dorsal no parenquima cortical (MARKOWSKI, 1949); 1 camada, na porção anterior e posterior do segmento, nos campos laterais (THOMAS, 1946)	No parenquima dorsal e ventral (MARKOWSKI, 1952); Forma uma faixa entre subcutícula e a musculatura longitudinal (MARKOWSKI <i>et al</i> , 1981)	Ao longo da margem dos seguimentos exceto na borda onde há os ductos genitais (MAGATH, 1929); Campos laterais dorsal e ventral se sobrepondo aos lobos ovarianos e as voltas do útero grávido (RAUSCH & HILLIARD, 1970); Campos laterais (TORRES <i>et al</i> , 1989)
Tamanho dos folículos vitelínicos	0,015 mm comprimento (FIGUEROA <i>et al</i> , 1980); 0,066 x 0,085 mm (MARKOWSKI, 1949); 0,015 x 0,016 mm diâmetro (THOMAS, 1946)	0,030-0,037 mm diâmetro (MARKOWSKI, 1952)	0,020-0,035 mm diâmetro (MAGATH, 1929)

continua...

## Zoonose: Difilobotríase

... continuação

Convergência dos testículos e folículos	Confluentes (MARKOWSKI <i>et al.</i> , 1949; MEYER & ROBINSON, 1963; ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987; TORRES <i>et al.</i> , 1989; FIGUEROA <i>et al.</i> , 1980)	Testículos confluentes na região anterior (MARKOWSKI, 1952; CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	Testículos e folículos não convergentes (SEMENAS & UBEDA, 1977; ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987; TORRES <i>et al.</i> , 1989) Testículos confluentes na margem anterior e/ ou posterior (RAUSCH & HILLIARD, 1970)
Posição da bolsa cirro	Obliqua (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); Mediano, a 1,14-1,0 mm da margem anterior do segmento (THOMAS, 1946); Obliqua vista lateralmente (DICK & POOLE, 1985); Abre-se no átrito genital anterior a vagina (MEYER & ROBINSON, 1963); Próximo do centro em seguimentos maduros e próximo a borda situado anterior ao útero e ao primeiro par das alças úterinas, podendo extender-se até o meio, mas raramente envolvido nestas alças (MARKOWSKI, 1949)	Estende-se dorsalmente e um pouco anterior e está a uma distância de $\pm 1/3$ a $2/5$ do comprimento do seguimento pela margem anterior (MAEJIMA <i>et al.</i> , 1981); Abre-se no átrito genital (CATTAN <i>et al.</i> , 1977)	Horizontal (ANDERSEN <i>et al.</i> , 1987); Alinhada horizontalmente no segmento em vista lateral, com a vesícula seminal alinhada dorso caudal a ele (DICK & POOLE, 1985); Horizontal (SAMPAIO <i>et al.</i> , 2005)

continua...

... continuação

Posição vesícula seminal em relação à bolsa do cirro	Dorsal (ANDERSEN <i>et al</i> , 1987); Não visto dorsal em relação a bolsa do cirro (DICK & POOLE, 1985); Dorsal em relação ao cirro (TORRES <i>et al</i> , 1989); Atrás da bolsa cirro (FIGUEROA <i>et al</i> , 1980)	Dorsal posterior a bolsa do cirro (MARKOWSKI, 1952)	Dorsal posterior na vista ventral (ANDERSEN <i>et al</i> , 1987); Dorso caudal em relação bolsa cirro (DICK & POOLE, 1985; SEMMENAS & UBEDA, 1977; TORRES <i>et al</i> , 1989; SAMPAIO <i>et al</i> , 2005)
Vesícula seminal (C x L)	0,18 mm comprimento máximo (FIGUEROA <i>et al</i> , 1980); 0,15 x 0,13 mm vista ventral (MEYER & ROBINSON, 1963)	0,11-0,25 mm diâmetro (BAER, 1967); 0,15-0,19 x 0,11 mm (MAEJIMA <i>et al</i> , 1981); 0,14 x 0,11-0,13 mm (CATTAN <i>et al</i> , 1977)	0,16-0,20 x 0,13-0,14 mm (MAGATH, 1929)

O diagnóstico baseado na morfologia é barato e relativamente fácil, mas em muitos casos não é capacitado para a identificação em níveis específicos. Alguns táxons são diferenciados de outros apenas com base na forma e tamanho do escólex, o qual está normalmente ausente em amostras clínicas. Em adição, após o tratamento clínico, muitas amostras não estão adequadas para avaliação morfológica e identificação por causa dos danos dos tecidos dos helmintos. Obviamente, em muitos casos de difilobotríase o gênero tem sido identificado corretamente, porém, em muitas amostras, são identificadas automaticamente como sendo *D. latum*, o que nem sempre é verdade, pois espécies podem estar sendo confundidas, como salientado por SCHOLZ *et al.* (2009).

## Biologia

Os cestóides Diphyllbothriiidea são parasitos heteroxenos e que, na fase adulta, habitam o intestino de seus hospedeiros definitivos, aves e mamíferos.

Os ciclos de vida são conhecidos apenas para poucas espécies de *Diphyllbothrium*, mas aquelas que já foram descritas são complexas, exigindo três hospedeiros para conclusão (RAUSH & ADAMS, 2000), onde hospedeiros adicionais e paratênicos podem ser envolvidos (CHAI *et*



*al.*, 2005). Os ovos expelidos nas fezes não são embrionados e possuem um opérculo estreito. O primeiro estágio larval (oncosfera) é coberto por um envelope ciliado formando um coracídio, o qual incuba na água. O coracídio (embrião hexacanto) móvel nada e atrai o primeiro hospedeiro intermediário potencial, copépodes. O coracídio penetra a parede intestinal do copépode e se desenvolve em um procercóide, o qual carece de extremidade anterior como órgãos de fixação (escólex), mas possui um apêndice posterior, o cercômero que contém os seis ganchos embrionários. Através da ingestão de copépodes infectados, o procercóide entra no tecido do segundo hospedeiro intermediário, peixes de água doce, anádromos e marinhos, e se desenvolve no estágio plerocercóide. Os plerocercóides se desenvolvem rapidamente em adultos no hospedeiro definitivo (SCHOLZ *et al.*, 2009), possuem na extremidade anterior órgãos de fixação como bótrios e microtríquias no tegumento, utilizados para diferenciação das espécies por alguns autores (ANDERSEN & GIBSON, 1989; KNOFF *et al.*, 2008).

### **Epidemiologia e importância em saúde pública**

Nos peixes que atuam como hospedeiros intermediários, a difilobotríase pode causar enfermidade e morte em condições naturais e de cultivo (RAHKONEN *et al.*, 1996). Do ponto de vista epidemiológico, a presença de larvas na musculatura, fígado e gônadas do pescado são de particular importância, onde os plerocercóides das vísceras podem migrar para os músculos após a morte do hospedeiro (SCHOLZ *et al.*, 2009). Atualmente algumas larvas plerocercóides coletadas vivas têm sido observadas em nossas pesquisas e confirmando um grande poder de mobilidade.

A parasitose por *Diphyllobothrium*, na maioria dos casos, é assintomática, porém, quando ocorrem as manifestações clínicas, esses sintomas podem variar de leve até quadros mais severos. Geralmente, esses sintomas consistem de fadiga; desconforto abdominal, diarreia; obstrução intestinal, flatulência, vômito, anorexia, fraqueza, perda de peso, dor de cabeça, reações alérgicas e anemia megaloblástica (RUTTENBER *et al.*, 1984; ACHA & SZYFRES, 2003; EDUARDO *et al.*, 2005b; SCHOLZ *et al.*, 2009).

A presença de plerocercóides de *Diphyllobothrium* sp. em pescados enfatiza a importância do Serviço de Inspeção Sanitária adotar normas e procedimentos específicos para detectar a presença e estabelecer o controle destes parasitos, devido à zoonose que causa, levando em consideração que

o consumo de pescado cru (*sushi* e *sashimi*) ou defumado, de água doce e marinhos, nacionais e importados, está cada vez mais frequente nos grandes centros urbanos. CHAI *et al.* (2005) citam culinárias de diversos países que utilizam pescados crus, onde se pode adquirir a difilobotríase, pois permitem a ingestão de plerocercóides vivos. De acordo com McCARTHY & MOORE (2000) a mudança no hábito alimentar é um importante fator que facilita o aparecimento de infecções zoonóticas por helmintos, o que tem conduzido ao aumento de exposição aos fatores de risco. Portanto, as larvas de *Diphyllobothrium* sp. nestes pescados oferecem risco à população, salientando a importância de se realizar estudos desta natureza.

A Organização Mundial de Saúde – OMS (ACHA & SZYFRES, 2003) e o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 1997), informam que a difilobotríase pode ser prevenida pela não ingestão da carne crua ou mal cozida do pescado (KNOFF *et al.*, 2008) ou pelo congelamento ou cozimento deste. Salientando que o cozimento do pescado deve ser a 56°C por cinco minutos e o congelamento feito a -10 °C por 48 horas ou -18 °C por 24 horas, para inativar os plerocercóides (ACHA & SZYFRES, 2003).

A United States Food and Drug Administration - FDA (2001) recomenda que o congelamento seja abaixo de -20 °C por sete dias ou abaixo de -35 °C por 15 horas. No Brasil, o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, no capítulo VII, Pescado derivado, Seção I, Pescado, Artigo 445, assinala que é considerado impróprio para o consumo, o pescado: 1 - de aspecto repugnante...; 4 - que apresente infestação muscular massiva por parasitos, que possam prejudicar ou não a saúde do consumidor;...Parágrafo único - o pescado nas condições deste artigo deve ser condenado e transformado em subprodutos não comestíveis (BRASIL, 1997). É essencial, portanto, que o peixe cru contendo parasitos viáveis seja congelado e mantido neste estado por um período de tempo que assegure a inviabilidade destes plerocercóides.

Segundo CHOMEL (2008) o controle e a prevenção das zoonoses parasitárias são tarefas complexas que requerem uma abordagem integrativa e multidisciplinar, onde a redução da carga parasitária é certamente o maior objetivo, mas não podendo ser implementado sozinho. Em conclusão, são necessárias mudanças educacionais e ambientais para o controle e a prevenção dessa parasitose. Portanto, medidas educacionais preventivas e de conscientização da biologia dos vermes e epidemiologia da doença devem ser

Zoonose: Difilobotríase

veiculados à população em geral e estudantes de escolas de nível fundamental, médio e superior.

### Sequenciamento molecular das espécies de *Diphyllbothrium*

Nos últimos cinco anos a diagnose molecular tem sido muito utilizada para a determinação das formas adultas de espécies pertencentes ao gênero *Diphyllbothrium*, onde já se conhece o sequenciamento molecular de *D. latum*, *D. dendriticum*, *D. pacificum*, *D. nihonkaiense*, devido a sua especificidade e a possibilidade de avaliação de um grande número de amostras em pouco tempo, sendo especialmente necessária para espécies difíceis de identificar morfológicamente (BRABEC *et al.*, 2006; YERA *et al.*, 2006; MYADAGSUREN *et al.*, 2007; NAKAO *et al.*, 2007; WAESCHENBACH *et al.*, 2007; SCHOLZ *et al.*, 2009). Porém, ainda consiste de um método dispendioso, mas que deve ser adotado futuramente nas rotinas dos laboratórios de análises clínicas.

### Referências Bibliográficas

- ACHA, P.N. & SZYFRES, B. 2003. *Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals*. 3<sup>th</sup> ed. Scientific and Technical Publication n° 580, Parasitoses. Washington, PAHO, v. III, 395 p.
- ANDERSEN, K. 1975. Comparison of surface topography of three species of *Diphyllbothrium* (Cestoda, Pseudophyllidea) by scanning electron microscopy. *Int. J. Parasitol.*, 5: 293-300.
- ANDERSEN, K. 1977. A marine *Diphyllbothrium* plerocercoid (Cestoda, Pseudophyllidea) from Blue Whiting (*Micromestius poutasson*). *Z. Parasitenk.*, 52: 289-296.
- ANDERSEN, K.I. & GIBSON, D.I. 1989. A key to three species of larval *Diphyllbothrium* Cobbold, 1858 (Cestoda: Pseudophyllidea) occurring in European and North American freshwater fishes. *Syst. Parasitol.*, 13: 3-9.
- ANDERSEN, K. & HALVORSEN, O. 1978. Egg size and forms taxonomic criteria in *Diphyllbothrium* (Cestoda, Pseudophyllidea). *Parasitol.*, 76: 229-240.
- ANDERSEN, K.; CHING, H.; VIK, R. 1987. A review of freshwater species of *Diphyllbothrium* with redescriptions and the distribution of *D. dendriticum* (Nitzsch, 1824) and *D. ditremum* (Creplin, 1825) from North America. *Can. J. Zool.*, 65: 2216-2228.

- BAER, J.G.; MIRANDA, H.C.; FERNANDEZ, W.R.; MEDINA, J.T. 1967. Human Diphyllbothriasis in Peru. *Z. Parasitenk.*, 28: 277-289.
- BRABEC, J.; KUČHTA, R.; SCHOLZ, T. 2006. Paraphyly of the Pseudophyllidea (Platyelminthes: Cestoda): Circumscription of monophyletic clades based on phylogenetic analysis of ribosomal RNA. *Int. J. Parasitol.*, 36: 1535-1541.
- BRASIL 1997. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de Origem Animal (RIISPOA). Decreto 30.691/52. Brasília, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Diário Oficial da União de 7/7/1952, Seção 1, p. 10785.
- CABRERA, R.; TANTALEÁN, M.; ROJAS, R. 2001. *Diphyllbothrium pacificum* (Nybelin, 1931) Margolis, 1956 em *Canis familiaris* de la ciudad de Chincha, Perú. *Bol. Chil. Parasitol.*, 56: 26-28.
- CAPUANO, D.M.; OKINO, M.H.T.; MATTOS, H.R.M.; TORRES, D.M.A.G.V. 2007. Difilobotríase: Relato de caso no município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, 39: 163-164.
- CARNEIRO, J.R.; KOMMA, M.D.; PEREIRA, E.; SANTOS, C.R. 1972. Nota sobre resultados coproscópicos de felinos do Jardim Zoológico de Goiânia. *Rev. Pat. Trop.*, 1: 87-91.
- CARVALHO, C.T. & VASCONCELLOS, L.E.M. 1995. Disease, food and reproduction of the maned wolf – *Chrysocyon brachyurus* (Illiger) (Carnivora, Canidae) in Southeast Brazil. *Rev. Bras. Zool.*, 12: 627-640.
- CASTILHO, V.L.P.C.; GONÇALVES, E.M.N.; UEMURA, I.H.; BURATINI, M.N. 2001. *Diphyllbothrium latum*: descrição de um caso no Hospital das Clínicas-FMUSP. *J. Bras. Patol.*, 37: 89.
- CATTAN, P.E.; ATIAS, A.; BABERO, B.B.; TORRES, D. 1977. Helmintofauna de Chile: V. Primer hallazgo de *Diphyllbothrium pacificum* (Nybelin, 1931) Margolis, 1956, em lobos marinos de la Costa Chilena. *Rev. Ibérica Parasitol.*, 37: 285-290.
- CAVALCANTI, P.; FILIA, M.A.; CROTTI, D. 2004. Infestazione da botriocefalo: descrizione di um caso e problematiche diagnostiche. *Infez. Med.*, 4: 266-269.
- CHAI, J.; MURREL, K.D.; LYMBERY, A.J. 2005. Fish-borne parasitic zoonoses: Status and issues. *Int. J. Parasitol.*, 35: 1233-1254.
- CHOMEL, B.B. 2008. Control and prevention of emerging parasitic zoonoses. *Int. J. Parasitol.*, 38: 1211-1217.
- CHUNG, P.R.; SOHN, W.M.; JUNG, Y.; PAI, S.H.; NAM, M.S. 1997. Five cases of *Diphyllbothrium latum* infection through eating raw flesh of redlip mullet, *Liza haematocheila*. *Korean J. Parasitol.*, 35: 283-289.
- CORTELEZZI, E. 1913. Los protozoos y vermes parásitos: apuntes de parasitología. La Plata, Talleres Gráficos Sese.
- COUTINHO, E. 1957. *Tratado de Clínica de Doenças Parasitárias e Infecciosas*. 6ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 693 p.

## Zoonose: Difilobotríase

- DICK, T.A. & POOLE, B.C. 1985. Identification of *Diphyllobothrium dendriticum* and *Diphyllobothrium latum* from some freshwater fishes of central Canada. *Can. J. Zool.*, 63: 196-201.
- EDUARDO, M.B.P.; SAMPAIO, J.L.M.; GONÇALVES, E.M.N.; CASTILHO, V.L.P.; RANDI, A.P.; THIAGO, C.; PIMENTEL, E.P.; PAVANELLO, E.I.; COLLEONE, R.P.; VIGILATO, M.A.N.; MARSIGLIA, D.A.P.; ATUI, M.B.; TORRES, D.M.A.G.V. 2005a. *Diphyllobothrium* spp.: um parasita emergente em São Paulo, associado ao consumo de peixe cru-sushis e sashimis. *Bol. Epidemiol. Paulista*, 15: 1-5.
- EDUARDO, M.B.P.; SAMPAIO, J.L.M.; SUZUKI, E.; CÉSAR, M.L.V.S.; GONÇALVES, E.M.N.; CASTILHO, V.L.P.; ALBUQUERQUE, S.M.S.R.; PAVANELLO, E.I.; VIGILATO, M.A.N.; LÍRIO, V.S.; MANTESSO, I.S.; ZENEBON, O.; MARSIGLIA, D.A.P.; ATUI, M.B.; RODRIGUES, R.S.M.; RODRIGUES, R.M.M.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; LATORRE, W.C.; FORTALEZA, C.M.C.B. 2005b. Investigação epidemiológica do surto de difilobotríase. *Bol. Epidemiol. Paulista*, 17: 1-12.
- EMMEL, V.E.; INAMINE, E.; SECCHI, C.; BRODT, T.C.Z.; AMARO, M.C.O.; CANTARELLI, V.V.; SPALDING, S. 2006. *Diphyllobothrium latum*: relato de caso no Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 39: 82-84.
- ESCALANTE, H. & MIRANDA, H. 1986. *Diphyllobothrium pacificum*: Hallazgo de larvas plerocercoides em peces marinos del Perú y desarrollo de formas adultas del parasito em *Canis familiaris*. *Bol. Chil. Parasitol.*, 41: 7-13.
- FERNANDÉZ, A.W. 2006. Parasitismo em peces de interés comercial y su repercusión en la salud pública. *Revista Digital Ceniap Hoy*, n. 10. Disponível em <[http://www.ceniap.gov.ve/caniaphoy/articulos/n10/arti/aragort\\_w/arti/aragort\\_w.htm](http://www.ceniap.gov.ve/caniaphoy/articulos/n10/arti/aragort_w/arti/aragort_w.htm)>. Acesso: 08 jul. 2009.
- FERRE, I. 2001. Anisakiosis y otras zoonosis parasitárias transmitidas por consumo de pescado. *Aqua. Tec.*, 14: 1-2.
- FIGUEROA, L.; TORRES, P.; FRANJOLA, R.; SCHLATTER, R. 1980. Investigaciones sobre Pseudophyllidea (Carus, 1813) en el sur de Chile. VI. Infección por *Diphyllobothrium* (Cobbold) en *Larus maculipennis* Lichtenstein en el Lago Calafquén. *Bol. Chile Parasit.*, 35: 71-73.
- KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; ANDRADA, C.G.; LIMA, F.C.; PADOVANI, R.E.S.; FONSECA, M.C.G.; NEVES, R.C.F.; GOMES, D.C. 2008. Cestóides Pseudophyllidea parasitos de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Cienc. Vet.*, 15: 28-32.
- KUCHTA, R.; SCHOLZ, T.; BRABEC, J.; BRAY, R.A. 2008. Suppression of the tapeworm order Pseudophyllidea (Platyelminthes: Eucestoda) and the proposal of two new orders, Bothriocephalidea and Diphyllobothriidea. *Int. J. Parasitol.*, 38: 49-55.

- LACERDA, J.U.V.; ALMEIDA FILHO, G.G.; COUTINHO, H.D.M. 2007. Ocorrência de difilobotríase na Paraíba não relacionada a viajantes. *Rev. Med. Ana Costa*, 12: 1-4.
- LLAGUNO, M.M.; CORTEZ-ESCALANTE, J.; WAIKAGUL, J.; FALEIROS, A.C.G.; CHAGAS, F.; CASTRO, C. 2008. *Diphyllobothrium latum* infection in a non-endemic country: case report. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 41: 301-303.
- MAEJIMA, J.; YASAKI, S.; FUKUMOTO, M.; HIRAGA, M.; KAMO, H. 1981. Morphological obseravtion of *Diphyllobothrium pacificum* (Nybelin, 1931) Margolis, 1956 from fur seals, *Callorhinus ursinus* in Japan. *Yonago Acta Med.*, 25: 69-79.
- MAGATH, T.B. 1929. Experimental studies on *Diphyllobothrium latum*. *Am. J. Trop. Med.*, 9: 17-48.
- MARKOWSKI, S. 1949. On the species of *Diphyllobothrium* occurring in birds, and their relation to man and other hosts. *J. Helminthol.*, XXIII: 107-126.
- MARKOWSKI, S. 1952. The cestodes of Pinnipeds in the Artic and other regions. *J. Helminthol.*, XXVI: 171-214.
- McCARTHY, J. & MOORE, T.A. 2000. Emerging helminth zoonosis. *Int. J. Parasit.*, 30: 12-13.
- MENGHI, C.R.; GATTA, C.L.; VALASCO, A.; MÉNDEZ, O.C. 2006. Difyllobotriosis humana: primer caso por consumo de sushi em Buenos Aires, Argentina. *Parasitol. Latinoam.*, 61: 165-167.
- MEYER, M.C. & ROBINSON, E.S. 1963. Description and occurrence of *Diphyllobothrium sabago* (Ward, 1910). *J. Parasitol.*, 46: 969-973.
- MEYER, M. 1966. Evaluation of criteria for the recognition of *Diphyllobothrium* species. *Trans. Amer. Micros. Soc.*, 85: 89.
- MEZZARI, A. & WIEBBELLING, A.M.P. 2008. Diphyllobothriasis in Southern Brazil. *Clin. Microbiol. Newsl.*, 30: 28-29.
- MYADAGSUREN, N.; DAVAAJAV, A.; WANDRA, T.; SANDAR, T.; ICHINKHORLOO, P.; YAMASAKI, H.; SAKO, Y.; NAKAO, M.; SATO, M.O.; NAKAYA, K.; ITO, A. 2007. Taeniasis in Mongolia, 2002-2006. *Am. J. Trop. Med. Hig.*, 77: 342-346.
- NAKAO, M.; ABMED, D.; YAMASAKI, H.; ITO, A. 2007. Mitochondrial genomes of the human broad tapeworms *Diphyllobothrium nihonkaiense* (Cestoda: Diphyllobothriidae). *Parasitol. Res.*, 101: 233-236.
- PÉREZ, I.; CHÁVEZ, A.; CASAS, E. 1999. Presencia de formas parasitárias em peces comerciales del mar Peruano. *Rev. Invest. Vet. Perú*, 10: 1-5.
- RAHKONEN, R.; AALTO, J.; KOSKI, P.; SÄRKKÄ, J.; JUNTUNEN, K. 1996. Cestode larvae *Diphyllobothrium dendriticum* as a cause of a heart disease leading to mortality in hatcheryreared sea trout and brown trout. *Dis. Aquatic Organisms*, 25: 15-22, 1996.

## Zoonose: Difilobotriase

- RAUSH, R.L. & ADAMS, A.M. 2000. Natural transfer of helminths of marine origin to freshwater fishes, with observations on the development of *Diphyllobothrium alascense*. *J. Parasitol.*, 86: 319-327.
- RAUSH, R.L. & HILLIARD, D.K. 1970. Studies on the helminth fauna of Alaska. XLIX. The occurrence of *Diphyllobothrium latum* (Linnaeus, 1758) (Cestoda: Diphyllobothriidae) in Alaska, with notes on other species. *Can. J. Zool.*, 48: 1201-1219.
- REINHARD, K. & URBAN, O. 2003. Diagnosing ancient Diphyllobothriids from Chinchorro mummies. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 98: 191-193.
- REVENGA, J. & SEMENAS, L. 1991. Difilobotriasis em salmónidos introducidos em el Parque y Reserva Nacional Nahuel Huapi, Argentina: morfología de Plerocercoides. *Arch. Med. Vet.*, XXIII: 157-164.
- ROBERTS, L.S. & JANOBY JR., J. 2005. Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' *Foundations of Parasitology*. 7<sup>th</sup> ed. New York, NY, Mc. Graw Hill, 702 p.
- RUTTENBER, A.J.; BRUCE, G.W.; SORVILLO, F.; MURRAY, R.A.; FORD, S.L. 1984. Diphyllobothriasis associated with salmon consumption in pacific coast states. *Am. J. Trop. Med. Hig.*, 33: 455-459.
- SAGUA, H.F.; ALIAGA, P.R.; NEIRA, I.C.; ARAYA, J.R.; GONZÁLEZ, J.C. 2000. Diphyllobothriosis humana por infección por *Diphyllobothrium pacificum* em um niño de 3 años en Antofagasta, Chile. *Rev. Chil. Pediatr.*, 71: 427-429.
- SAGUA, H.; NEIRA, I.; ARAYA, J.; GONZÁLEZ, J. 2001. Nuevos casos de infección humana por *Diphyllobothrium pacificum* (Nybelin, 1931) Margolis, 1956 em Chile y su probable relación con el fenómeno de El Niño, 1975-2000. *Bol. Chil. Parasitol.*, 56: 22-25.
- SAMPAIO, J. L. M.; ANDRADE, V. P.; LUCAS, M. C.; FUNG, L.; GAGLIARDI, S. M. B.; SANTOS, S. R. P.; MENDES, C. M. F.; EDUARDO, M. B. P.; DICK, T. 2005. Diphyllobothriasis, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.*, 11: 1598-1600.
- SANTOS, K.R.; CATENACCI, L.S.; PESTELLI, M.M.; TAKAHIRA, R.K.; SILVA, R.J. 2004. First report of *Diphyllobothrium mansonii* (Cestoda, Diphyllobothriidae) infecting *Cerdocyon thous* (Mammalia, Canidae) in Brazil. *Arg. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 56: 796-798.
- SANTOS, F.L.N. & FARO, L.B. 2005. The first confirmed case of *Diphyllobothrium latum* in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 100: 685-686.
- SCHOLZ, T.; GARCIA, H.H.; KUCHTA, R.; WICHT, B. 2009. Update on the Human Broad Tapeworm (Genus *Diphyllobothrium*), Including Clinical Relevance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 22: 146-160.
- SEMENAS, L.; UBEDA, C. 1997. Difilobotriasis humana en la Patagonia, Argentina. *Rev. Saúde Pública*, 31: 302-307.
- SEMENAS, L.; KREITER A.; URBANSKI, J.; 2001. New cases of human diphyllobothriasis in Patagonia, Argentina. *Rev. Saúde Pública*, 35: 214-216.

- SLIFKO, T.R.; SMITH, H.V.; ROSE, J.B. 2000. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *Int. J. Parasitol.*, 30: 1379-1393.
- STUNKARD, H.W. 1948. Pseudophyllidean cestodes from Alaskan Pinnipeds. *J. Parasit.*, 34: 211-228.
- TANTALEÁN, M. 1975. Hallazgo de larvas plerocercoides de Diphyllbothriidae Lühe, 1910 (Cestoda) em peces del mar peruano. *Bol. Chile Parasit.*, 30: 18-20.
- TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L.; BONFIM, T.C.B. 2005. Humam diphyllbothriasis: reports from Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 14: 85-87.
- THOMAS, L.J. 1946. New Pseudophyllidean cestodes from the great lakes region. I. *Diphyllbothrium oblongatum* n. sp. from gulls. *J. Parasit.*, 32: 1-6.
- TORRES, P. 1982. Estado actual de la investigacion sobre cestodos del genero *Diphyllbothrium* Cobbold en Chile. *Rev. Med. Chile*, 110: 463-470.
- TORRES, P.; ROMAN, C.; FIGUEROA, L.; FRANJOLA, R. 1980. Plerocercoids of *Diphyllbothrium* (Cobbold) in fishes and identification of Copepods in plankton from Calafquen lake, Chile. *Indian J. Parasitol.*, 4: 207- 20.
- TORRES, P.; FRANJOLA, R.; FIGUEROA, L.; SCHLATTER, R.; GONZÁLEZ, H.; CONTRERAS, B.; MARTIN, R. 1981. Researches on Pseudophyllidea (Carus, 1813) in the south of Chile. IV occurrence of *Diphyllbothrium dendriticum* (Nitzsch). *J. Helminthol.*, 55: 173- 187.
- TORRES, P.; TORRES, J.; GARRIDO, O.; THIBAUT, J. 1989. Investigaciones sobre Pseudophyllidea (Carus, 1813) en el sur de Chile. X. Observaciones sobre la coexistência de plerocercóides de *Diphyllbothrium latum* (L.) y *D. dendriticum* (Nitzsch) en salmónidos de la cuenca del río Valdivia. *Arch. Med. Vet.*, XXI: 51-57.
- TORRES, P.; VILLALOBOS, L.; WELFL, S. 2007. Experimental infection of copepods from four lakes in southern Chile with *Diphyllbothrium latum* (Linnaeus, 1758) Coracidia. *Comp. Parasitol.*, 74: 167-170.
- UMAR, Y.A. 2009. Intestinal helminthoses in dogs in Kaduna Metropolis, Kaduna State, Nigeria. *Iranian J. Parasitol.*, 4: 34-39.
- UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). 2001. Center for Food Safety and Applied Nutrition – CFSAN, Department of Health and Human Services. Chapter 05, *Potencial Hazards in Cold-Smoked Fish: Parasites*. Disponível em <<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap26.htm>>. Acesso: 16 jan. 2008.
- VIEIRA, F.M.; LUQUE, J.L.; MUNIZ-PEREIRA, L.C. 2008. Cheklist of helminths in wild carnivore mammals from Brazil. *Zootaxa*, 1721: 1-23.
- VIK, R. 1964. The genus *Diphyllbothrium*. An example of the interdependence of systematics and experimental biology. *Exp. Parasitol.*, 15: 361-380.



## Zoonose: Difilobotriase

- YAMANE, Y.; SEKI, R.; OKADA, N. 1976. Comparative observation on surface topography of teguments and eggshells of Diphyllobothriid cestodes by scanning electron microscopy. *Yonago Acta Med.*, 20: 55-65.
- YAMANE, Y.; BYLUND, G.; ABE, K.; FUKUMOTO, S.; YAZAKI, S. 1988. Early development of four *Diphyllobothrium* species in the final host. *Parasitol. Res.*, 74: 463-468.
- YERA, H.; ESTRAN, C.; DELAUNAY, P.; GARI-TOUSSAINT, M.; DUPOUY-CAMET, J.; MARTY, P. 2006. Putative *Diphyllobothrium nihonkaiense* acquired from a pacific salmon (*Oncorhynchus keta*) eaten in France; genomic identification and case report. *Parasitol. Int.*, 55: 45-49.
- WASCHENBACH, A.; WEBSTER, B.L.; BRAY, R.A.; LITTLEWOOD, D.T.J. 2007. Added resolution among ordinal level relationships of tapeworms (Platyelminths: Cestoda) with complete small and large subunit nuclear ribosomal RNA genes. *Mol. Phylogenet Evol.*, 45: 311-325.