

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
DOUTORADO EM MEDICINA VETERINÁRIA
HIGIENE VETERINÁRIA E PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE POA**

**ASPECTO SANITÁRIO E POTENCIAL ALERGÊNICO
DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES TELEÓSTEOS
MARINHOS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

DANUZA PINHEIRO BASTOS GARCIA DE MATTOS

**NITERÓI – RJ
2012**

DANUZA PINHEIRO BASTOS GARCIA DE MATTOS

**ASPECTO SANITÁRIO E POTENCIAL ALERGÊNICO 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.

Orientadores:

Prof. Dr. Sérgio Carmona de São Clemente

Prof. Dr. Maurício Afonso Verícimo

Niterói, RJ

2012

DANUZA PINHEIRO BASTOS GARCIA DE MATTOS

**ASPECTO SANITÁRIO E POTENCIAL ALERGÊNICO 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 14 de dezembro de 2012.

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Sérgio Carmona de São Clemente
Universidade Federal Fluminense

Professor Dr. Maurício Afonso Verícimo
Universidade Federal Fluminense

Dra. Delir Corrêa Gomes M. da Serra Freire
Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz)

Dr. Marcelo Knoff
Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz)

Prof. Dr. Luciano Antunes Barros
Universidade Federal Fluminense

Suplente: Dra. Leila Maria Silva Lopes
Universidade Federal Fluminense

Niterói
2012

A Milton (*in memoriam*), Izabel Crsitina e Camila,
com muito amor e gratidão.

AGRADECIMENTOS

Aos orientadores, Prof. Dr. Sérgio Carmona de São Clemente e Prof. Dr. Mauricio Afonso Verícimo, pela amizade, exemplo profissional e valiosa orientação durante a realização deste trabalho.

À Dra. Leila Maria Silva Lopes, pelo fundamental auxílio na obtenção dos peixes e realização das necropsias.

Aos Drs Marcelo Knoff, Delir Corrêa Gomes M. da Serra Freire e Luciano A. Barros pela participação na banca de avaliação deste trabalho, por suas valiosas sugestões e correções.

À Dra. Micheli da Silva Ferreira, pelas ótimas sugestões durante sua participação na banca de qualificação deste trabalho.

A todos os professores vinculados à Pós-graduação em Higiene Veterinária, pelos valiosos ensinamentos durante os créditos do programa.

Aos funcionários da Pós-graduação em Higiene Veterinária, em especial ao Sr. Drausio de Paiva Ferreira, pela gentileza e atenção em tantas situações durante o doutorado.

A todos os amigos do Programa de Pós-graduação e do Departamento de Imunobiologia, por todo apoio ao longo desses quatro anos de trabalho.

A todos os colegas professores da Disciplina de Parasitologia e demais membros do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto Biomédico da UFF, pelo apoio, liberação parcial e compreensão em momentos de ausência para realização deste trabalho.

À Dra. Débora Regina Lopes dos Santos, pelo auxílio na obtenção de manuscritos da biblioteca da UFRRJ, pela revisão dos seguimentos em língua inglesa e acima de tudo, pelos anos de amizade e parceria para todos os momentos.

Ao querido amigo Eduardo Martins Barbosa, pela edição das imagens e gráficos.

Às maravilhosas amigas, Luciana Ferreira Barcellos, Mirna Aragão de Medeiros, Renata J. Medeiros e Sheine H. Santos, por toda a torcida favorável e por sempre me lembrarem de que há vida fora do trabalho.

Aos meus pais, Milton (*in memoriam*) e Izabel Cristina, por todo amor, incentivo e investimento em minha educação. Cada conquista profissional sempre terá a participação deles também.

À Camila, filha querida, pelo amor, compreensão e eterna motivação.

*“Dia dois de fevereiro
Dia de festa no mar
Eu quero ser o primeiro
A saudar lemanjá
Dia dois de fevereiro
Dia de festa no mar
Eu quero ser o primeiro
A saudar lemanjá
Escrevi um bilhete a ela
Pedindo pra ela me ajudar
Ela então me respondeu
Que eu tivesse paciência de esperar
O presente que eu mandei pra ela
De cravos e rosas vingou
Chegou, chegou, chegou
Afiml que o dia dela chegou
Chegou, chegou, chegou
Afiml que o dia dela chegou”*

Dorival Caymmi

(Dois de Fevereiro)

RESUMO

O consumo de peixes parasitados pode representar um sério risco à Saúde Pública. Os cestóides *Pterobothrium crassicolle* e *Pterobothrium heteracanthum* (Trypanorhyncha: Pterobothriidae) são parasitos comumente encontrados em peixes teleósteos marinhos da América do Sul. Seu plerocercos pode se desenvolver nas vísceras e musculatura destes animais, conferindo aspecto repugnante quando em grande quantidade. Atualmente, algumas moléculas de parasitos de peixes têm sido implicadas no desenvolvimento de diversas manifestações clínicas em seres humanos, incluindo graus variados de alergias, que vão desde uma reação localizada até a anafilaxia. Entretanto, o potencial alergênico de extratos de Pterobotrídeos ainda não é conhecido, sendo assim, o objetivo deste estudo foi analisar o parasitismo em peixes teleósteos marinhos do Estado do Rio de Janeiro por helmintos zoonóticos e em seguida determinar o potencial alergênico de componentes presentes no extrato bruto (EB) de plerocercos e blastocistos de *P. crassicolle* e *P. heteracanthum*. Para este propósito, dois protocolos experimentais foram realizados. No primeiro, 18 camundongos fêmeas BALB/c foram separadas em 3 grupos que receberam 10 µg, 50 µg ou 100 µg de EB de *P. heteracanthum*, por via intraperitoneal (i.p.), nos dias 1 e 35. No segundo protocolo, 14 camundongos BALB/c do sexo feminino foram separados em dois grupos recebendo 50 µg de EB de plerocercos ou blastocistos de *P. crassicolle*, i.p., nos dias 1, 35 e 120. Em paralelo, grupos controle (animais não sensibilizados) foram instituídos para ambos os experimentos. Amostras de sangue foram coletadas pelo plexo retro-orbital antes da primeira imunização e repetidas nos dias 14, 35, 42, 49 e 56, para ambos os protocolos, e também dias nos 120, 127 e 135 no segundo experimento. Os níveis séricos de IgG e IgE específicas foram testados por ELISA. A atividade biológica da IgE específica produzida nos animais foi avaliada pelo ensaio de anafilaxia cutânea passiva (ACP) em 6 ratos Lou-M/Tor do sexo masculino, desafiados com os EB parasitários ou extrato de bruto de musculatura de *Micropogonias furnieri* como controle. O perfil proteico e a imunorreatividade dos extratos foram analisados por SDS-PAGE e Western blot, respectivamente. Os animais imunizados com EB de *P. heteracanthum* e *P. crassicolle* apresentaram produção de IgG e IgE específicas logo após a primeira imunização, e a partir da segunda semana a maior parte das titulações já era estatisticamente distinta do grupo controle. A elevada concentração de IgE específica em algumas amostras induziu fortes reações de ACP na pele de ratos desafiados com EB de *P. crassicolle*, mostrando biologicamente a atividade alergênica do extrato. Perfis proteicos distintos entre os extratos, assim como as áreas de reconhecimento específico, foram observados por SDS-PAGE e Western blot. Os resultados obtidos mostraram que os EBs de *P. crassicolle* e *P. heteracanthum* apresentam moléculas capazes de induzir a produção de IgG e IgE específicas, apresentando assim atividade alergênica em modelos murinos.

Palavras-chave: Parasitos de peixe. *Pterobothrium heteracanthum*. *Pterobothrium crassicolle*. Alergia.

ABSTRACT

Consumption of parasitized fish may represent a serious public-health hazard. The cestodes *Pterobothrium crassicolle* and *Pterobothrium heteracanthum* (Trypanorhyncha: Pterobothriidae) are parasites commonly found in marine teleost fish of South America. Their plerocerci can develop in organs and muscles of these animals, giving nasty looks when aplenty. Currently, few molecules of fish parasites have been involved in the development of various clinical manifestations in humans, including varying degrees of allergies, since a localized reaction to anaphylaxis. However, the allergenic potential of Pterobothriids' extracts is still unknown. The aim of this study was to analyze the parasitism in marine fish of Rio de Janeiro State by zoonotic helminths and then determine the allergenic potential of components present in the crude extract (CE) of *P. crassicolle* and *P. heteracanthum* plerocerci and blastocysts. For this purpose, two experimental protocols were carried out. At first, 18 female BALB/c mice were separated into three groups and received 10 µg, 50 µg or 100 µg of *P. heteracanthum*'s CE intraperitoneally (ip) on days 1 and 35. In the second protocol, 14 BALB/c females were separated into two groups receiving 50 µg of CE of plerocerci or blastocysts of *P. crassicolle*, i.p., on days 1, 35 and 120. In parallel, control groups (non-sensitized animals) were established for both experiments. Blood samples were collected by retro-orbital plexus prior to the first immunization and again on days 14, 35, 42, 49 and 56, for both protocols, and also on days 120, 127 and 135 in the second. Serum titers of IgG and IgE were assayed by ELISA. The biological activity of specific IgE produced in the experimental animals was tested by passive cutaneous anaphylaxis (PCA) in 6 male Lou-M/Tor rats challenged with CE of both parasites or by fish extract prepared with flesh of *Micropogonias furnieri* as control. The protein profile and sites of immunoreactivity were analyzed by SDS-PAGE and Western blot, respectively. Animals immunized with CE of *P. heteracanthum* and *P. crassicolle* showed production of specific IgE and IgG after the first immunization, and passed the second week, most titrations were statistically different from the control group. High concentration of specific IgE in some samples induced strong reactions by PCA assay in rats challenged with CE of *P. crassicolle*, showing biologically the allergenic activity of this extract. Protein profiles and specific recognition sites were different between extracts, as observed by SDS-PAGE and Western blot respectively. The results show that CE of *P. crassicolle* and *P. heteracanthum* present molecules capable of inducing the production of specific IgE and IgG, thus presenting allergenic activity in murine models.

Keywords: Fish parasites. *Pterobothrium heteracanthum*. *Pterobothrium crassicolle*. Allergy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO, p. 14

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS, p. 16

2.1 CONSUMO E PRODUÇÃO DA INDÚSTRIA DA PESCA, p. 16

2.1.1 PRODUÇÃO PESQUEIRA MUNDIAL, p.16

2.1.2 PRODUÇÃO PESQUEIRA NO BRASIL E NO RIO DE JANEIRO, p.18

2.2 PARASITOLOGIA DO PESCADO, p. 19

2.2.1 ANISAQUÍDEOS, p. 20

2.2.2 CESTÓIDES TRYPANORHYNCHA, p. 25

2.3 HIPERSENSIBILIDADE E ALERGIAS RELACIONADAS AO CONSUMO DE PESCADO, p. 42

2.4 LEGISLAÇÃO E MEDIDAS PREVENTIVAS CONTRA PARASITOSESS ASSOCIADAS AO CONSUMO DE PEIXES, p. 44

3 DESENVOLVIMENTO, p. 47

3.1 ARTIGO 1: NEMATODE LARVAE INFECTION IN FIVE COMMERCIALY IMPORTANTE FISH SPECIES FROM RIO DE JANEIRO STATE, BRAZIL, p. 48

3.2 ARTIGO 2: IMMUNOGENIC ACTIVITY OF THE FISH PARASITE *Pterobothrium heteracanthum* (TRYPANORHYNCHA: PTEROBOTHRIIDAE) IN BALB/c MICE, p.56

3.3 ARTIGO 3: ALLERGENIC RESPONSE INDUCED BY *Pterobothrium crassicolle* (CESTODA: TRYPANORHYNCHA) EXTRACTS IN MURINE MODEL, p. 66

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS, p. 82

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 83

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Larvas de terceiro estágio de *Anisakis* sp., *Contraecaecum* sp. e *Terranova* sp., p. 21
- Figura 2 *Pterobothrium heteracanthum*, p. 28
- Figura 3 Armadura metabasal de *Pterobothrium crassicolle* coletado de *Micropogonias furnieri* (CHIOC 31.926a), p. 29
- Figura 4 Armadura basal de *Pterobothrium crassicolle*, p. 30
- Figura 5 Escólice de *Pterobothrium crassicolle*, p. 31
- Figura 6 Escólices de Trypanorhyncha das subordens Acystidea (a) e Cystidea (b), p. 31

ARTIGO 2

- Figure 1 Kinetic of specific IgG (A) and IgE (B) serum levels of BALB/c mice immunized intraperitoneally on days 0 and 35 with 10 µg (◆) or 50 µg (▲) or 100 µg (■) of crude *Pterobothrium heteracanthum* extract and control group (●), p. 64
- Figure 2 Protein profile of *P. heteracanthum* crude parasite extract (CPE) in 12% SDS-PAGE visualized with Coomassie Blue (A) with molecular weight marker reference in kDa and Immunoblot showing IgG (B) recognizing immunogenic proteins of CPE in pooled sera from all sensitized mice seven days after second immunization (day 42), p. 65

ARTIGO 3

- Figure 1 Dynamics of specific IgG (A) and IgE (B) serum levels, p. 73
- Figure 2 Passive cutaneous anaphylaxis assay (PCA), p. 74
- Figure 3 SDS-PAGE and Immunoblot of *P. crassicolle* extracts, p. 75

LISTA DE QUADROS E TABELAS

- Quadro 1 Resumo dos caracteres morfológicos gerais de *Pterobothrium heteracanthum* e *Pterobothrium crassicolle*, p. 27
- Tabela 1 Tabela 1. Produção em toneladas (t) das principais espécies de peixes marinhos da pesca extrativista do Estado do Rio de Janeiro no ano de 2007, p. 19
- Tabela 2 Prevalência do parasitismo por larvas de anisquídeos em peixes marinhos provenientes do litoral do Estado do Rio de Janeiro, p. 23
- Tabela 3 Registros e prevalência do parasitismo por cestóides Trypanorhyncha em peixes teleósteos e elasmobrânquios do Brasil, p. 33

ARTIGO 1

- Table 1 Prevalence (P), intensity and mean intensity (I/MI), mean abundance (MA), infection range (IR) and infection site of *Anisakis* sp recovered from marine fish in the State of Rio de Janeiro from March/2009 to March/2012, p. 55
- Table 2 Prevalence (P), intensity and mean intensity (I/MI), mean abundance (MA), infection range (IR) and infection site of *Contracaecum* sp recovered from marine fish in the State of Rio de Janeiro from March/2009 to March/2012, p. 55
- Table 3 Prevalence (P), intensity and mean intensity (I/MI), mean abundance (MA), infection range (IR) of anisakid larvae according to host length classes in *Pomatomus saltatrix*, *Trichiurus lepturus*, *Pagrus pagrus* and *Genypterus brasiliensis* from fish markets and fishermen of Rio de Janeiro State, Brazil, between March/2009 to March/2012, p. 55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Anafilaxia Cutânea Passiva
Ag	Antígeno
AGA	Anisaquiose Gastro-Alérgica
BALB/c	Linhagem de camundongos isogênicos
e.g.	Por exemplo, do latim <i>exempli gratia</i>
EFSA	Do inglês <i>European Food Safety Authority</i>
ELISA	Do inglês <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
et al.	E outros, do latim <i>et alii</i>
FAO	Do inglês <i>Food and Agriculture Organization</i>
Fc ϵ RI	Receptor de alta afinidade de mastócitos
FDA	Do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IgA	Imunoglobulina isotipo A
IgE	Imunoglobulina isotipo E
IgG	Imunoglobulina isotipo G
IgM	Imunoglobulina isotipo M
IL	Interleucina
L3	Larva de terceiro estágio
Lou-M	Linhagem de ratos para experimentação
pH	Potencial Hidrogeniônico
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SDS-PAGE	Eletroforese em Gel de Poliacrilamida contendo Dodecil Sulfato de Sódio
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
sin.	Sinônimo(s)
Th2	Células T auxiliaadoras tipo 2 (do inglês <i>T helper 2</i>)

1 INTRODUÇÃO

A atividade da pesca e a utilização de peixes e outros animais aquáticos para alimentação acompanham a evolução da sociedade humana há milênios. O desenvolvimento das populações e o aumento na demanda de alimentos exigem uma constante evolução e desenvolvimento de novas técnicas de manejo, captura, armazenamento e distribuição do pescado. O aumento na procura do pescado deve-se principalmente a mudanças nos hábitos alimentares da população, buscando alimentos mais saudáveis, assim como, apreciando cada vez mais a culinária oriental e pratos considerados exóticos. A carne de peixe é um alimento de fácil digestibilidade, com altos níveis proteicos e rico em aminoácidos essenciais, sendo também uma ótima fonte de ácidos graxos insaturados como ômega 3 e ômega 6, e com baixo teor de colesterol.

A produção pesqueira do Rio de Janeiro apresenta-se crescente ao longo dos anos, chegando a mais de 82.000 toneladas em 2007 (IBAMA, 2007). O consumo *per capita* de pescado na região metropolitana Rio de Janeiro é superior à média nacional, sendo calculado em 18,5 kg de pescado inteiro/hab./ano (BARROSO; WIEFELS, 2010).

A parasitologia do pescado possui grande relevância para a segurança alimentar e o desenvolvimento da indústria pesqueira. A presença dos parasitos pode conferir aspecto repugnante à carne de peixe, sendo esta condenada pela fiscalização sanitária ou rejeitada pelo consumidor, ocasionando perdas econômicas na cadeia da pesca. Alguns parasitos possuem também um potencial zoonótico quando o peixe é consumido sob certas condições, sendo os nematóides da família Anisakidae os mais estudados e relacionados a riscos para a saúde humana. A infecção acidental causada pelos anisquídeos é denominada Anisakiose ou Anisakidose. No Japão, foram relatados mil casos de infecção por *A. simplex* somente no ano de 1990 (DASCHNER et al., 1997).

As larvas de anisquídeos 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.

Outro grupo de parasitos importantes corresponde aos cestóides Trypanorhyncha, que apresentam distribuição mundial, sendo especialmente encontrados em regiões tropicais e subtropicais. Tais cestóides são considerados como o taxa parasitário mais comum de tubarões e arraias, sendo estes seus hospedeiros definitivos. Como hospedeiros intermediários, inúmeros invertebrados e peixes teleósteos podem ser parasitados, albergando assim suas formas larvares (metacestóides). A família Pterobothriidae, e particularmente o gênero *Pterobothrium* sp., possui ampla distribuição geográfica, sendo seus plerocercos descritos no mesentério, serosa visceral e musculatura de animais marinhos e dulciaquícolas de diversas regiões como Austrália, Indonésia, Sri Lanca, Índia, Golfo Pérsico, Costa Oeste Africana, Golfo do México e Costa Atlântica da América do Sul.

A infecção humana acidental por metacestóides Trypanorhyncha é considerada rara e de curta duração. Entretanto, já foi observada resposta imune específica contra antígenos destes cestóides em humanos, mostrando assim que mesmo sem a infecção por larvas vivas, seus antígenos são capazes de sensibilizar o organismo humano.

As manifestações alérgicas a antígenos de parasitos de peixes são bastante frequentes, principalmente aquelas atribuídas aos anisacuídeos. Todavia, foram realizadas apenas algumas investigações a esse respeito envolvendo outros parasitos, tais como os cestóides Trypanorhyncha. Os relatos sobre a atividade alergênica de extratos de *Gymnorhynchus gigas* e *Molicola horridus* oriundos da costa europeia chamaram a atenção para a possibilidade de cestóides Trypanorhyncha como possíveis indutores de reações alérgicas (RODERO; CUÉLLAR, 1999; VAZQUEZ-LOPEZ et al., 2001 e 2002; GÓMEZ-MORALES et al., 2008).

Sendo assim, tendo em vista a ausência de dados na literatura mundial sobre o potencial alergênico de Pterobotrídeos, o presente estudo buscou trazer contribuições inéditas utilizando as espécies *Pterobothrium heteracanthum* Diesing, 1850 e *Pterobothrium crassicolle* Diesing, 1850 como modelos.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Segundo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, Artigo 438, o termo “pescado” compreende os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada usados na alimentação humana (BRASIL, 1997).

A parasitologia do pescado possui grande relevância para a segurança alimentar e o desenvolvimento da indústria pesqueira, podendo afetar diretamente a saúde dos consumidores e levar a perdas econômicas em diversos níveis do setor pesqueiro. A seguir, um breve levantamento sobre aspectos atuais da indústria da pesca, a parasitologia do pescado, os processos patológicos relacionados ao consumo de peixes parasitados e a legislação brasileira acerca da higiene do pescado.

2.1 CONSUMO E PRODUÇÃO DA INDÚSTRIA DA PESCA

A produção de pescado corresponde a uma grande variedade de espécies e formas de produtos. São inúmeras as opções disponíveis para o preparo do pescado, tanto diretamente pelo consumidor quanto pela indústria, o que o torna um produto alimentício muito versátil. Dentre as muitas maneiras como o pescado pode ser distribuído, as principais são: vivo, fresco, refrigerado, congelado, tratado termicamente, fermentado, seco, salgado, defumado, em salmoura, cozido, frito, liofilizado, picado, pulverizado ou enlatado, assim como a combinação de duas ou mais destas formas (FAO, 2010).

2.1.1 PRODUÇÃO PESQUEIRA MUNDIAL

Segundo dados calculados para o ano de 2008, foram consumidos mais de 142 milhões de toneladas de pescado em todo o mundo, com uma média *per capita* em torno de 17 kg. A pesca marinha de captura correspondeu à maior fração deste total, representando cerca de 79,9 milhões de toneladas no mesmo ano (FAO,

2010). Em 2010, o total de pescado comercializado no mundo chegou a 148 milhões de toneladas, atingindo a marca de 217,5 bilhões de dólares (FAO, 2012).

Nos últimos cinquenta anos, a produção pesqueira tem crescido continuamente em índices médios de 3,2% ao ano, tentando acompanhar o aumento da população mundial assim como o aumento no consumo de pescado, que passou de 9,9 kg por pessoa/ano na década de 1960 para 18,8 kg por pessoa/ano em 2011 (FAO, 2012).

Desde 1990 tem aumentado o percentual de pescado destinado ao consumo humano direto (fins alimentares), sendo quase a metade deste comercializada viva ou fresca (cerca de 46,7 milhões de toneladas em 2008). No ano de 2010, 40,5% da produção mundial de pescado, algo em torno de 60,2 milhões de toneladas, foi comercializada de forma fresca ou viva, 45,9% congelada ou processada e apenas 13,6% para fins não alimentares (FAO, 2012).

As formas principais de utilização do pescado variam bastante conforme o continente, país e região específica. A maior parte da farinha de pescado é produzida pelos países da América Latina. Já o pescado curado está mais relacionado a países Africanos. Na Europa e na América do Norte mais de dois terços do pescado comercializado encontra-se na forma congelada ou em conserva. Na África e na Ásia há um grande percentual de pescado comercializado vivo ou fresco, principalmente na China. As outras destinações para a produção pesqueira são: produção de farinha e óleo de peixe, manutenção como peixes ornamentais, iscas, produtos farmacêuticos, matéria prima para alimentação em aquicultura, assim como para alimentação de animais de produção, como o gado (FAO, 2010; 2012).

A indústria pesqueira possui natureza dinâmica e nas últimas décadas a utilização e preparo do pescado se diversificou significativamente conforme as mudanças na preferência dos consumidores e às tecnologias desenvolvidas e disponibilizadas, principalmente no que se refere aos produtos elaborados e frescos de grande valor.

Apesar de todas as inovações tecnológicas, muitos países, principalmente aqueles em desenvolvimento, ainda sofrem grandes perdas devido à precariedade de sua rede envolvida no processo após a pesca (transporte, estocagem, distribuição), o que associado às altas temperaturas durante a maior parte do ano leva a grandes perdas por deterioração na qualidade do alimento e confere risco à

saúde do consumidor. Cerca de 60% do pescado comercializado nos países em desenvolvimento encontra-se principalmente vivo ou fresco, enquanto nos países desenvolvidos o pescado é principalmente comercializado congelado, já preparado ou em conserva (FAO, 2010).

2.1.2 PRODUÇÃO PESQUEIRA NO BRASIL E NO RIO DE JANEIRO

No ano de 2007, a produção pesqueira no Brasil alcançou mais de 1 milhão de toneladas, ultrapassando o valor comercial de 3,6 bilhões de reais e mantendo o crescimento do setor nos últimos anos (IBAMA, 2007). Em 2010, a produção nacional chegou a mais de 1,24 milhões de toneladas, ficando o Brasil como 18º maior produtor de pescado no panorama mundial (MPA, 2012).

O Estado do Rio de Janeiro apresenta os maiores índices de produção de pescado da Região Sudeste, atingindo em 2007 a marca de 82.528,5 toneladas e registrando um aumento de 23,3%, em relação a 2006. Dentre as principais espécies responsáveis pelo aumento da produção neste intervalo encontram-se a corvina, com aumento no volume de pesca de 162,8%, a cavalinha com aumento de 98,0%, a sardinha-verdadeira com 74,6% e a tainha com 52,2% (IBAMA, 2007).

No que se refere ao consumo *per capita* de pescado, a região metropolitana do Rio de Janeiro apresenta uma média calculada muito superior à nacional. Enquanto a média brasileira para o ano de 2010 foi calculada em 9,75 Kg/hab/ano (MAPA, 2012), no Rio de Janeiro (região metropolitana) o valor calculado chega a 18,5Kg de pescado inteiro/hab/ano (BARROSO; WIEFELS, 2010).

A corvina, *Micropogonias furnieri*, é uma importante espécie no cenário da pesca nacional. Esta foi a segunda espécie de pescado mais capturada em 2010, correspondendo a cerca de 43 mil toneladas, ficando atrás apenas da sardinha verdadeira (MPA, 2012). As principais espécies marinhas comercialmente importantes na região podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1. Produção em toneladas (t) das principais espécies de peixes marinhos da pesca extrativista do Estado do Rio de Janeiro no ano de 2007.

Espécies	Produção/ t
<i>Sardinella brasiliensis</i> (sardinha-verdadeira)	18.737,5
<i>Micropogonias furnieri</i> (corvina)	10.064,5
<i>Scomber japonicus</i> (cavalinha)	5.066,5
<i>Katsuwonus pelamis</i> (bonito-listrado)	4.155,5
<i>Caranx latus</i> (xerelete)	3.131,0

Fonte: IBAMA, 2007

2.2 PARASITOLOGIA DO PESCADO

Muitos são os grupos de seres vivos que podem ser encontrados 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 (*Diphyllbothrium* sp. e *Diplogonoporus* sp.), os trematódeos das famílias Heterophyidae (*Heterophyes* sp. e *Metagonimus yokogawai*) e Opisthorchiidae (*Clonorchis sinensis* e *Opistorchis* sp.), e os nematóides dos gêneros *Anisakis* e *Pseudoterranova* (AUDICANA et al., 2002).

Alguns parasitos, mesmo sem potencial zoonótico, podem representar riscos à saúde humana por desencadearem respostas alérgicas em organismos previamente sensibilizados. A seguir, mais detalhes sobre os nematóides anisacídeos, cujo potencial alergênico e anafilático já foi amplamente relatado, e em seguida os cestóides Trypanornyncha, grupo muito encontrado em peixes, sem grande importância zoonótica, porém com potencial alergênico em modelos experimentais e ocorrência de reconhecimento sorológico em humanos.

2.2.1 ANISAQUÍDEOS

Dentre os mais importantes parasitos de peixes encontram-se os nematóides da superfamília Ascaridoidea Railliet & Henry, 1915, famílias Anisakidae Skrjabin e Karokhin, 1945 e Raphidascaridae Hartwich, 1954, devido a sua alta frequência de parasitismo, ao potencial zoonótico de alguns gêneros, e em alguns casos, alergênico também. Mesmo correspondendo a duas famílias distintas, seus elementos são comumente referidos como anisaquídeos. Na família Anisakidae, os gêneros *Anisakis* Dujardin, 1845 (Figura 1), *Pseudoterranova* Mosgovoy, 1950 e *Contracaecum* Railliet & Henry, 1912, são os principais envolvidos em casos de infecção acidental de humanos (ADAMS et al., 1997). Na família Raphidascaridae, o gênero *Hysterothylacium* já foi identificado como parasito acidental de humanos (YAGI et al., 1996).

O ciclo biológico dos anisaquídeos é heteroxeno, dependendo assim da participação de hospedeiros intermediários e por vezes paratênicos, para se completar. Devido à complexidade de papéis exercidos pelos possíveis animais hospedeiros, diversas espécies de anisaquídeos ainda permanecem com ciclo biológico parcialmente desconhecido. De um modo geral, os anisaquídeos apresentam como hospedeiros definitivos aves piscívoras e mamíferos marinhos. Os seus hospedeiros intermediários podem ser copépodes e peixes, podendo os últimos participar também como hospedeiros paratênicos (ADAMS et al., 1997; TAVARES; LUQUE, 2006).

A anisaquidose é a infecção acidental, principalmente de humanos, por larvas de terceiro estágio (L3) de anisaquídeos. Estas podem estar presentes na musculatura de peixes ou cefalópodes, ocorrendo geralmente pelo consumo do pescado cru ou insuficientemente cozido, defumado ou salgado (AUDICANA et al., 2002; TAVARES; LUQUE, 2006). Kassai et al. (1988) sugeriram a utilização do termo anisaquiose ou anisaquíase para a infecção por larvas do gênero *Anisakis*; anisaquidose quando por larvas de outros gêneros da família Anisakidae e pseudoterranovose quando por *Pseudoterranova* sp, entretanto os termos anisaquiose e anisaquidose têm sido amplamente utilizados quase como sinonímia por muitos grupos de pesquisa.

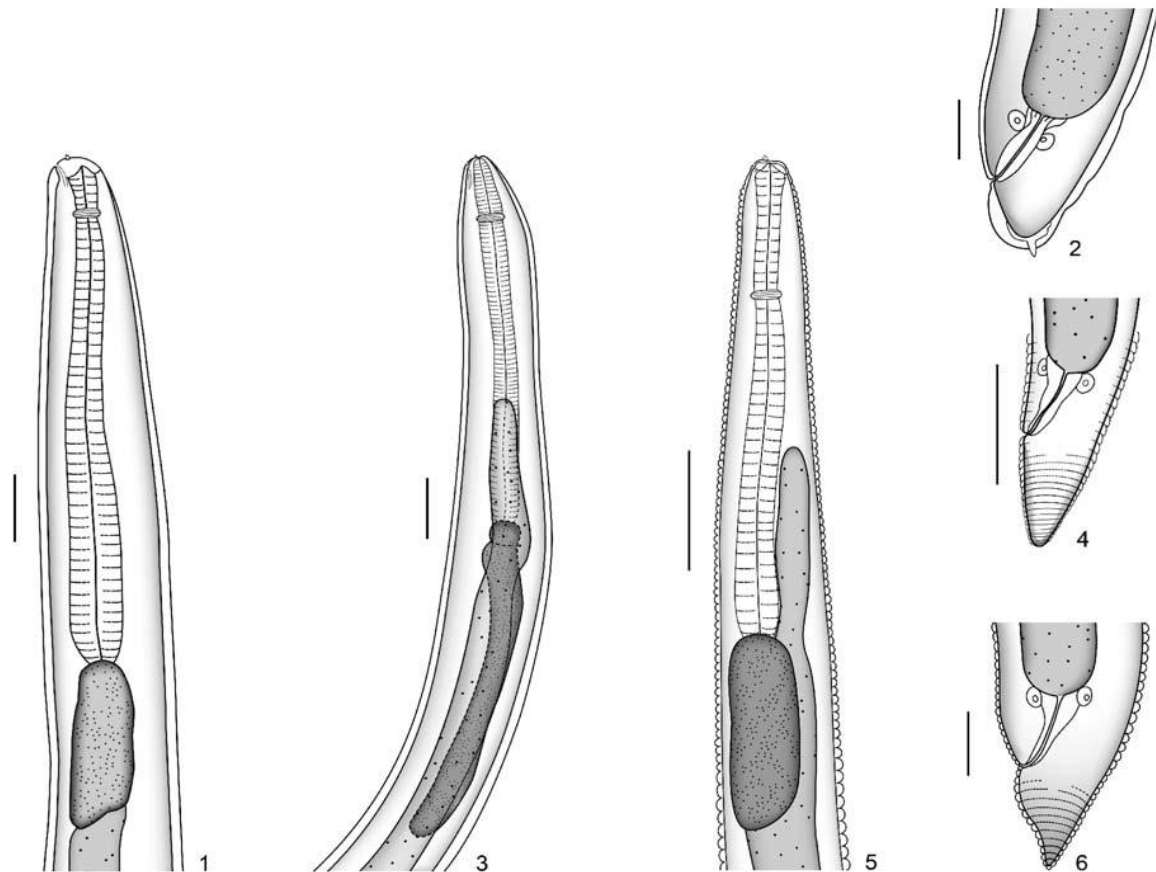


Figura 1. Desenhos de larvas de terceiro estágio de *Anisakis* sp., *Contracaecum* sp. e *Terranova* sp. (1) Região anterior de *Anisakis* sp.; (2) Região posterior de *Anisakis* sp.; (3) Região anterior de *Contracaecum* sp.; (4) Região posterior de *Contracaecum* sp.; (5) Região anterior de *Terranova* sp.; (6) Região posterior de *Terranova* sp. Escala: 0,2mm (imagens 1-4); 0,1mm (5 e 6). Fonte: Felizardo et al. (2009b).

O primeiro caso de anisakiase humana foi descrito por Leucckart em 1876, numa criança da Groelândia, entretanto, somente no século seguinte começou a ser estabelecida uma relação de causa-efeito do parasitismo com o relato de van Thiel et al. (1960) sobre um paciente com intensa dor abdominal, apresentando lesão intestinal eosinofílica (AUDICANA et al., 2002; VAN THIEL, 1962). Desde então, muitos casos foram descritos em vários continentes, sendo a maioria proveniente de países onde o consumo de peixes crus é muito difundido, tal como Japão, com cerca de mil a dois mil casos novos por ano (AUDICANA et al., 2002; DASCHNER et al., 1997).

O parasitismo por larvas de anisquídeos foi descrito nas formas: gastro-intestinal (ou arquetípica), compreendendo a maior parte dos relatos, e extra-

intestinal (hepática, esplênica e pulmonar). A anisaquidose deve ser sempre considerada quando há manifestação de dor abdominal e histórico de ingesta recente de peixes ou cefalópodes crus ou insuficientemente cozidos. A forma gastrointestinal pode ser subdividida em luminal, quando a larva apenas se adere à mucosa digestiva, ou ainda como gástrica ou intestinal, quando a larva penetra na mucosa das respectivas regiões. Na forma luminal, as larvas podem ser detectadas em vômitos ou fezes e os casos normalmente têm sintomatologia mais branda ou mesmo são assintomáticos. Quando há invasão da mucosa, frequentemente há manifestação de náusea, vômitos e dor epigástrica entre 24-48 horas após a refeição contaminada (NUNES et al., 2003). A associação com manifestações alérgicas mediadas por imunoglobulina E (IgE) é também bastante comum, principalmente em casos de ingesta de larvas vivas de *Anisakis* sp por pessoas previamente sensibilizadas (anisaquiose gastro-alérgica), podendo envolver urticária, angioedema e anafilaxia (AUDICANA et al., 2002; AUDICANA, KENNEDY, 2008).

As reações de hipersensibilidade podem estar associadas à ingestão de pescado com presença de larvas vivas ou mortas, e normalmente ocorrem em indivíduos previamente sensibilizados. Tal fato explica-se pela existência de um amplo número de moléculas com potencial alergênico nas larvas de anisaquídeos, em especial *Anisakis* sp., sendo algumas produto de excreção/secreção (Ani s 1; Ani s 7) e outras componentes somáticos (Ani s 2, Ani s 3). Algumas destas moléculas são resistentes aos processos digestivos (baixo pH) e ao aquecimento, mantendo sua capacidade alergênica mesmo em alimentos submetidos a cocção (AUDICANA et al., 1997; AUDICANA et al., 2002; AUDICANA; KENNEDY, 2008).

Até o momento, há apenas um relato de possível anisaquidose humana no Brasil (CRUZ et al., 2010). No entanto, devido às características de curto curso clínico, manifestações inespecíficas e a dificuldade em recuperar e identificar a larva, muitos casos poderiam não estar sendo devidamente diagnosticados e registrados no país.

Diversos estudos sobre a presença de larvas de anisaquídeos em peixes marinhos já foram realizados no Brasil. Na tabela 2 encontram-se alguns dados de literatura sobre a prevalência de larvas de anisaquídeos em diferentes espécies de peixes do litoral do Estado do Rio de Janeiro.

Tabela 2. Prevalência do parasitismo por larvas de anisacídeos em peixes marinhos provenientes do litoral do Estado do Rio de Janeiro

Peixe hospedeiro	(n)	Larvas de anisacídeos (prevalência %)	Autores
<i>Aluterus monoceros</i>	(100)	<i>Contracaecum</i> sp. (16,0); <i>Anisakis</i> sp. (1,0)	Dias et al. (2010)
<i>Anchoa tricolor</i>	(103)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (3,0); <i>Terranova</i> sp. (0,01)	Tavares et al. (2005)
<i>Archosargus rhomboidalis</i>	(29)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (1,1)	Cordeiro; Luque (2005a)
<i>Balistes caprisus</i>	(66)	<i>Contracaecum</i> sp. (44,0); <i>Raphidascaris</i> sp. (7,5); <i>Terranova</i> sp. (6,0)	Alves et al. (2005)
<i>Balistes vetula</i>	(50)	<i>Contracaecum</i> sp (56,0)	São Clemente et al. (1995a)
	(30)	<i>Contracaecum</i> sp. (76,7); <i>Anisakis</i> sp. (16,7); <i>Hysterothylacium</i> sp. (10,0);	Alves et al. (2005)
<i>Brevoortia aurea</i>	(42)	<i>Contracaecum</i> sp. (9,5); <i>Anisakis</i> sp (9,5); <i>Pseudoterranova</i> sp (9,5)	Tavares et al. (2004b)
<i>Caranx hippos</i>	(60)	<i>Pseudoterranova</i> sp. (6,7); <i>Raphidascaris</i> sp. (5,0); <i>Contracaecum</i> sp. (3,3)	Luque; Alves (2001)
<i>Caranx latus</i>	(55)	<i>Pseudoterranova</i> sp. (32,7); <i>Contracaecum</i> sp. (18,2); <i>Hysterothylacium</i> sp. (3,6); <i>Anisakis</i> sp. (1,8)	Luque; Alves (2001)
<i>Centropomus undecimalis</i>	(79)	<i>Contracaecum</i> sp. (12,7)	Tavares; Luque (2004a)
<i>Chaetodipterus faber</i>	(35)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (17,1)	Ribeiro (2012)
<i>Cynoscion guatucupa</i>	(74)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (83,8); <i>Terranova</i> sp. (14,8)	Sabas; Luque (2003)
	(41)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (70,7); <i>Terranova</i> sp. (2,4)	Timi et al. (2005)
	(33)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (100,0); <i>Terranova</i> sp. (21,2)	Timi et al. (2005)
<i>Dactylopterus volitans</i>	(78)	<i>Contracaecum</i> sp. (46,1); <i>Hysterothylacium</i> sp. (1,0); <i>Raphidascaris</i> sp. (1,0)	Cordeiro; Luque (2005b)
<i>Euthynnus alleteratus</i>	(46)	<i>Contracaecum</i> sp (32,6); <i>Anisakis</i> sp. (17,4); <i>Raphidascaris</i> sp. (8,7)	Alves; Luque (2006)
<i>Genypterus brasiliensis</i>	(55)	<i>Contracaecum</i> sp. (11); <i>Pseudoterranova</i> sp. (5,4); <i>Hysterothylacium</i> sp. (1,8)	Alves et al. (2002a)
	-	<i>Anisakis</i> sp	Knoff et al. (2004a)
	(74)	<i>Anisakis</i> sp. (13,5); <i>Anisakis simplex</i> (13,5); <i>Pseudoterranova</i> sp. (10,8); <i>Pseudoterranova decipiens</i> (5,4); <i>Raphidascaris</i> sp. (4,1); <i>Hysterothylacium</i> sp. (2,7); <i>Terranova</i> sp. (1,4); <i>Contracaecum</i> sp. (1,4); <i>Anisakis physeteris</i> (1,35)	Knoff et al. (2007a)
<i>Harengula clupeola</i>	(35)	<i>Raphidascaris atlanticus</i> (3,3)	Luque et al. (2000)
<i>Hoplias malabaricus</i>	(45)	<i>Contracaecum</i> sp. (64,4)	Fabio (1982)
<i>Katsuwonus pelamis</i>	(15)	<i>Anisakis</i> sp.1 (40,0); <i>Anisakis</i> sp.2 (13,3)	Alves; Luque (2006)
<i>Macrodon ancylodon</i>	(35)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (74,3); <i>Terranova</i> sp. (17,1)	Sabas; Luque (2003)
<i>Menticirrhus americanus</i>	(115)	<i>Contracaecum</i> sp. (39,1)	Chaves; Luque (1999)

Tabela 2. Continuação

Peixe hospedeiro	(n)	Larvas de anisacuídeos (prevalência %)	Autores
<i>Micropogonias furnieri</i>	(100)	<i>Contracaecum</i> sp. (8,0); <i>Pseudoterranova</i> sp. (2,0)	Alves; Luque (2001)
	(59)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (15,3); <i>Contracaecum</i> sp. (11,9); <i>Terranova</i> sp. (11,9)	Luque et al. (2010)
	(34)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (14,6); <i>Terranova</i> sp. (7,3)	Luque et al. (2010)
<i>Mullus argentinae</i>	(100)	<i>Anisakis</i> sp. (66,0); <i>Raphidascaris</i> sp. (52,0); <i>Contracaecum</i> sp. (20,0)	Luque et al. (2002)
<i>Netuma barba</i>	(63)	<i>Contracaecum</i> sp. (7,9)	Tavares; Luque (2004b)
<i>Pagrus pagrus</i>	(50)	<i>Contracaecum</i> sp. (78,0)	Barros (1994)
	(100)	Anisacuídeos (88,0)	São Clemente et al. (1994)
	(16)	<i>Contracaecum</i> sp. (100,0); <i>Raphidascaris</i> sp. (65,0); <i>Phocanema</i> sp. (44,0); <i>Terranova</i> sp. (44,0)	São Clemente et al. (1994)
	(90)	<i>Contracaecum</i> sp. (93,3); <i>Raphidascaris</i> sp. (8,8); <i>Anisakis</i> sp. (7,7); <i>Pseudoterranova</i> sp. (6,6)	Paraguassú et al. (2002)
	(36)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (13,89); <i>Contracaecum</i> sp. (8,33); <i>Anisakis</i> sp. (5,56); <i>Raphidascaris</i> sp. (5,56)	Saad; Luque (2009)
<i>Paralichthys isosceles</i>	(60)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (100,0); <i>Raphidascaris</i> sp. (36,7); <i>Anisakis simplex</i> (5,0); <i>Terranova</i> sp. (5,0); <i>Contracaecum</i> sp. (3,3)	Felizardo et al. (2009a,b)
<i>Paralonchurus brasiliensis</i>	(93)	<i>Contracaecum</i> sp. (63,5)	Ribeiro et al. (2002) e Luque et al. (2003)
<i>Peprilus paru</i>	(81)	<i>Raphidascaris</i> sp. (67,9); <i>Hysterothylacium</i> sp. (3,7)	Azevedo et al. (2007)
<i>Pinguipes brasilianus</i>	(50)	<i>Raphidascaris</i> sp. (66,0); <i>Hysterothylacium</i> sp. (18,0)	Timi et al. (2010)
<i>Pomatomus saltatrix</i>	(55)	<i>Contracaecum</i> sp. (21,8); <i>Anisakis</i> sp. (14,5)	Luque; Chaves (1999)
<i>Priacanthus arenatus</i>	(58)	<i>Raphidascaris</i> sp. (24,1); <i>Pseudoterranova</i> sp. (8,6); <i>Contracaecum</i> sp. (1,7)	Tavares et al. (2001)
<i>Prionotus punctatus</i>	(80)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (97,5); <i>Raphidascaris</i> sp. (23,8); <i>Anisakis</i> sp. (17,5)	Bicudo et al. (2005)
<i>Pseudopercis numida</i>	(62)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (43,6); <i>Raphidascaris</i> sp. (25,8); <i>Anisakis</i> sp. (4,8); <i>Terranova</i> sp. (4,8);	Luque et al. (2008)
<i>Pseudopercis semifasciata</i>	(66)	<i>Raphidascaris</i> sp. (24,2); <i>Hysterothylacium</i> sp. (22,7); <i>Terranova</i> sp. (1,5)	Luque et al. (2008)
<i>Sarda sarda</i>	(30)	<i>Contracaecum</i> sp. (30,0); <i>Terranova</i> sp. (13,3); <i>Raphidascaris</i> sp. (6,7)	Alves; Luque (2006)
<i>Selene setapinnis</i>	(89)	<i>Terranova</i> sp. (21,3); <i>Raphidascaris</i> sp. (12,3); <i>Anisakis</i> sp. (9,0); <i>Contracaecum</i> sp. (7,8); <i>Hysterothylacium</i> sp. (7,8)	Cordeiro; Luque (2004)

Tabela 2. *Continuação*

Peixe hospedeiro	(n)	Larvas de anisacuídeos (prevalência %)	Autores
<i>Scomber japonicus</i>	(50)	<i>Raphidascaris</i> sp. (36,0); <i>Contracaecum</i> sp. (12,0); <i>Anisakis</i> sp. (8,0); <i>Phocanema</i> sp. (10,0)	Rego; Santos (1983)
	(100)	<i>Raphidascaris</i> sp. (52,0); <i>Anisakis</i> sp. (4,0); <i>Contracaecum</i> sp. (2,0)	Alves et al. (2003) e Oliva et al. (2008)
<i>Scomber scombrus</i>	(43)	<i>Raphidascaris</i> sp. (44,2); <i>Anisakis</i> sp. (25,6); <i>Hysterothylacium</i> sp. (7,0)	Alves; Luque (2006)
<i>Scomberomorus cavalla</i>	(30)	<i>Contracaecum</i> sp. (16,0); <i>Anisakis</i> sp. (1,0)	Dias et al. (2011)
<i>Trachinotus carolinus</i>	(30)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (40,0)	Ribeiro (2012)
<i>Trichiurus lepturus</i>	(217)	<i>Contracaecum</i> sp. (97,23); <i>Anisakis</i> sp. (2,77)	Barros; Amato (1993)
	(70)	<i>Contracaecum</i> , sp. (97,9); <i>Phocanema</i> sp (1,8); <i>Anisakis</i> sp. (0,3)	Marques et al. (1995)
	(40)	<i>Contracaecum</i> sp. (95,5); <i>Phocanema</i> sp (3,8); <i>Anisakis</i> sp. (0,7)	São Clemente et al. (1995b; 1996)
	(55)	<i>Contracaecum</i> sp. (91,0); <i>Pseudoterranova</i> sp. (38,0); <i>Raphidascaris</i> sp. (23,6); <i>Anisakis</i> sp. (12,7); <i>Hysterothylacium</i> sp. (3,6);	Silva et al. (2000)
	(120)	Anisakidae (88,3)	Carvalho; Luque (2011)
<i>Tylosurus acus</i>	(31)	<i>Hysterothylacium</i> sp. (64,5); <i>Pseudoterranova</i> sp. (9,7)	Tavares et al. (2004a)
<i>Urophycis brasiliensis</i>	(75)	<i>Raphidascaris</i> sp. (38,6); <i>Contracaecum</i> sp. (12,0)	Alves et al. (2004)
<i>Urophycis mystaceus</i>	(55)	<i>Anisakis</i> sp. (11,0); <i>Contracaecum</i> sp. (7,3)	Alves et al. (2002b)
<i>Phocanema</i> sp. (sin. <i>Pseudoterranova</i> sp.)			

2.2.2 CESTÓIDES TRYPANORHYNCHA

Os primeiros trabalhos descrevendo cestóides da ordem Trypanorhyncha Diesing, 1863, em peixes do Brasil datam do século XIX, onde Rudolphi (1819) e Diesing (1850, 1855, 1856) estudaram parasitos provenientes de peixes do litoral brasileiro (CAMPBELL; BEVERIDGE, 1996; LIMA, 2004; REGO, 1987). Desde então, diversos estudos foram realizados em vários países, assim como no Brasil e em especial no Rio de Janeiro.

Os Trypanorhyncha apresentam distribuição mundial, ocorrendo principalmente em animais de regiões tropicais e subtropicais (PALM, 2004). Quando adultos, estes cestóides apresentam como habitat o trato gastro-intestinal

de elasmobrânquios (tubarões e arraias), sendo estes seus hospedeiros definitivos. As formas larvares (metacestóides) podem ser encontradas na cavidade geral do corpo, serosa visceral, mesentérios e musculatura de peixes teleósteos, cefalópodes e crustáceos, alguns de seus possíveis hospedeiros intermediários (CAMPBELL; BEVERIDGE, 1994; KNOFF et al., 2002; LIMA, 2004).

A cada ano são descritos novos gêneros e espécies de Trypanorhyncha. Até o segundo semestre de 2012 eram consideradas válidas 290 espécies de Trypanorhyncha. A família Pterobothriidae Pintner, 1931 foi recentemente revista e atualmente é composta por quatro gêneros: *Pterobothrium* Diesing, 1850 (com 12 espécies válidas), *Pterobothrioides* Campbell & Beveridge 1997, *Cavearhynchus* Schaeffner & Beveridge, 2012 and *Stragulorhynchus* Beveridge & Campbell, 1988, entretanto a localização taxonômica deste último ainda permanece controversa (SCHAEFFNER; BEVERIDGE, 2012). As espécies do gênero *Pterobothrium* são as mais abundantes da família e possuem descrições na Austrália (CAMPBELL; BEVERIDGE, 1996; PALM et al., 2009; ZISCHKE et al., 2009; CHARTERS et al., 2010; MOORE et al., 2011), na Indonésia (MOORE et al., 2003), no Sri Lanka, na Índia (CAMPBELL; BEVERIDGE, 1996), no Golfo Pérsico (HASELI et al., 2010, 2011), na costa oeste da África (PALM et al., 1994), no Golfo do México (OVERSTREET, 1977; CAMPBELL; BEVERIDGE, 1996) e na costa Atlântica da América do Sul (DIESING, 1850; REGO et al. 1974; REGO, 1987; PALM, 1997; SÃO CLEMENTE et al., 1991a, 1997; FELIZARDO et al., 2010; DIAS et al., 2011; FONSECA et al., 2012).

Pterobothrium heteracanthum Diesing, 1850 (Figura 2) é considerada a espécie tipo para o gênero, sendo bastante encontrada em peixes do Brasil. Um resumo dos principais caracteres morfológicos de metacestóides observados por São Clemente (1982) coletados de *Micropogonias furnieri* Desmarest (1823) e Campbell e Beveridge (1996) pode ser observado no Quadro 1. No mesmo local podem ser observados os caracteres gerais descritos para *Pterobothrium crassicolle* Diesing, 1850 (Figura 3-5) segundo observações de São Clemente (1982), Rego (1987), Campbell e Beveridge (1996) e Lima (2004) para metacestóides coletados de *Micropogonias furnieri* Desmarest (1823), *Epinephelus guaza* Linnaeus, 1758 e *Epinephelus niveatus* Valenciennes, 1828. Na Figura 6 observa-se a divisão geral esquemática de dois escólices típicos de Trypanorhyncha com suas respectivas *pars bulbosa*; *pars bothridialis* e *pars vaginalis*.

Quadro 1. Resumo dos caracteres morfológicos gerais de *Pterobothrium heteracanthum* e *Pterobothrium crassicolle*

<i>Pterobothrium heteracanthum</i>
<ul style="list-style-type: none"> ● Escólice alongado e acraspédoto ● <i>Pedunculus scolecis</i> mais largo na <i>pars bulbosa</i>, afinando anteriormente ● <i>Pars bothridialis</i> com quatro botrídios bem separados ● <i>Pars vaginalis</i> delgada, com bainha sinuosa próxima a sua inserção nos bulbos e depois retilínea ● <i>Pars bulbosa</i> com bulbos 8 a 10 vezes mais longos do que largos ● Armadura dos tentáculos pecilacanta com ganchos em forma e tamanho variáveis ● Fileiras alternadas em meia espiral com 5 ganchos principais em cada; fileira intercalar única com 3 ganchos; e banda de pequenos ganchos espaçadamente dispersos no meio da face externa ● Ganchos intercalares posteriores aos ganchos 3(3')-5(5') das fileiras principais ● Armadura basal presente e dilatação basal ausente ● Ganchos falciformes adicionais, de tamanho reduzido, adjacentes às primeiras fileiras principais; número variável de ganchos intercalares na armadura basal ● Face externa da armadura basal com grupo distinto de 6 fileiras dispersas próximas com 3 ganchos uncinados por fileira, em arranjo quincuncial nas fileiras principais 1 e 2; ápice do grupo continua como 6 fileiras adicionais de ganchos espiniformes menores, terminando ao nível da terceira fileira principal; depois há rápida transição formando uma banda mediana de pequenos ganchos espiniformes ao nível da quarta fileira de ganchos principais ● Banda de ganchos pequenos, finos, espiniformes, sem arranjo especial, tipicamente posicionados três a três ocupando a linha média da face externa ao longo da armadura metabasal ● Aproximadamente 4 grupos de 3 ganchos espiniformes por intervalo entre as sucessivas fileiras principais ● Ganchos principais na superfície botridial com formato semelhante àqueles da superfície antibotridial, porém 15-20% maiores
<i>Pterobothrium crassicolle</i>
<ul style="list-style-type: none"> ● Escólice robusto e acraspédoto ● <i>Pedunculus scolecis</i> imediatamente anterior aos bulbos ● <i>Pars bothridialis</i> com quatro botrídios distintos, não fusiformes, de contorno arredondado ● <i>Pars vaginalis</i> longa, com comprimento correspondendo $\pm 75\%$ do escólice, bainhas dos tentáculos retas na primeira metade, depois sinuosas (não entrelaçadas), e com bainhas retilíneas na altura dos botrídios e sinuosa posteriormente ● <i>Pars bulbosa</i> com bulbos 3-5 vezes mais longos do que largos, fortemente musculosos. ● Armadura pecilacanta, sem <i>chainette</i>, com pelo menos 4 tipos diferentes de ganchos principais ● Armadura basal característica e presença de dilatação basal ● Armadura metabasal consistindo de fileiras alternadas em meia espiral com 5 ganchos cada ● Fileiras começando na face interna ● Bandas de microganchos ocupando o espaço entre a terminação das fileiras principais na face externa ● Fileiras principais na região metabasal separadas por 2-4 fileiras de ganchos intercalares ● O número de fileiras intercalares, de ganchos por fileira intercalar e o tamanho dos ganchos reduz em direção à ponta do tentáculo ● Face externa do tentáculo armada com banda de microganchos espiniformes; fileiras intercalares misturadas à banda; ganchos dispostos simetricamente na banda

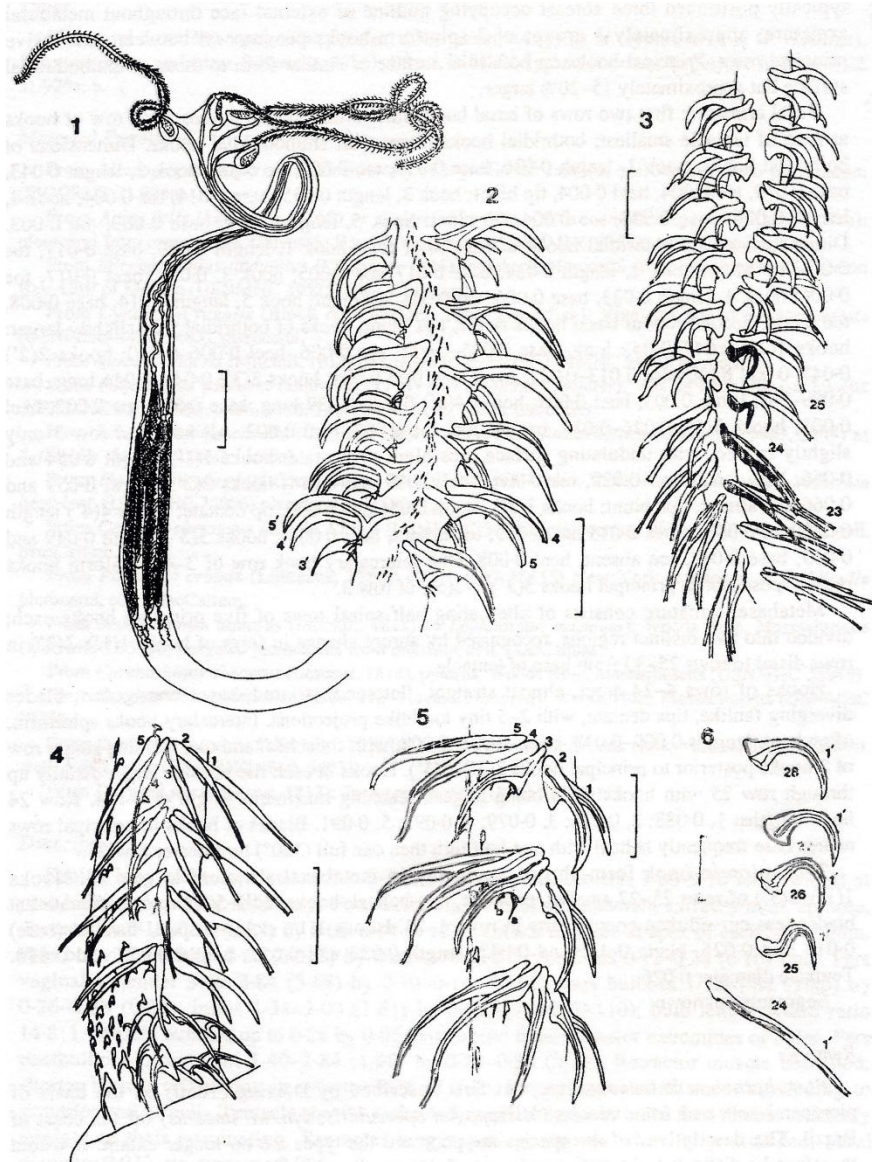


Figura 2. *Pterobothrium heteracanthum*. (1) Escólice; (2) Armadura metabasal, face externa; (3) Face interna da armadura metabasal apresentando a transição na forma dos principais espinhos (grifados em preto em 23-25'); (4) Armadura basal, face botridial; (5) Face botridial da porção distal da armadura metabasal para linha 25'; (6) Sequência dos principais espinhos, linhas 24-28'. Escala: (1) 0,5mm; (2-6) 0,05mm. Fonte: Campbell e Beveridge, 1996.

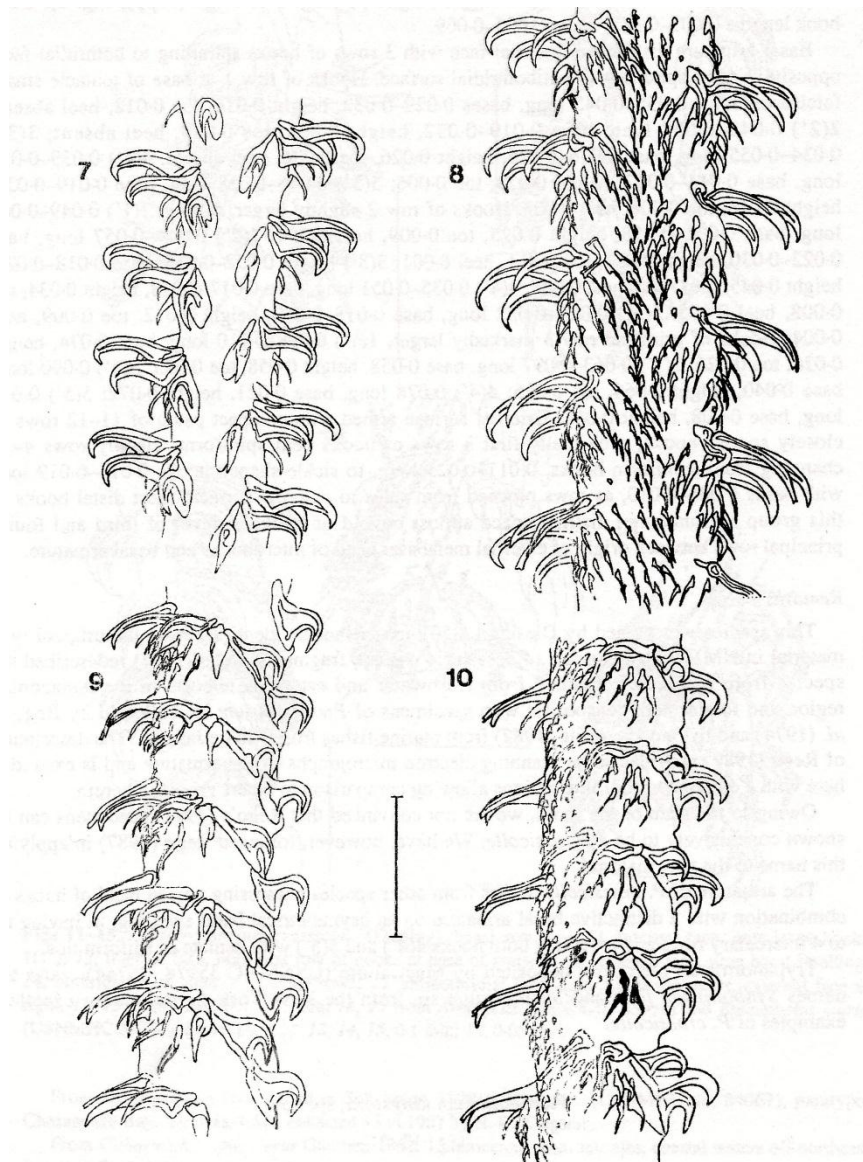


Figura 3. Armadura metabasal de *Pterobothrium crassicolle* coletado de *Micropogonias furnieri* (CHIOC 31.926a). (7) Face interna; (8) Face externa; (9) Face antitrochanteral, face interna à direita; (10) Face antitrochanteral com múltiplas linhas intercalares, face externa à esquerda. Escala: 0,1mm. Fonte: Campbell e Beveridge, 1996.

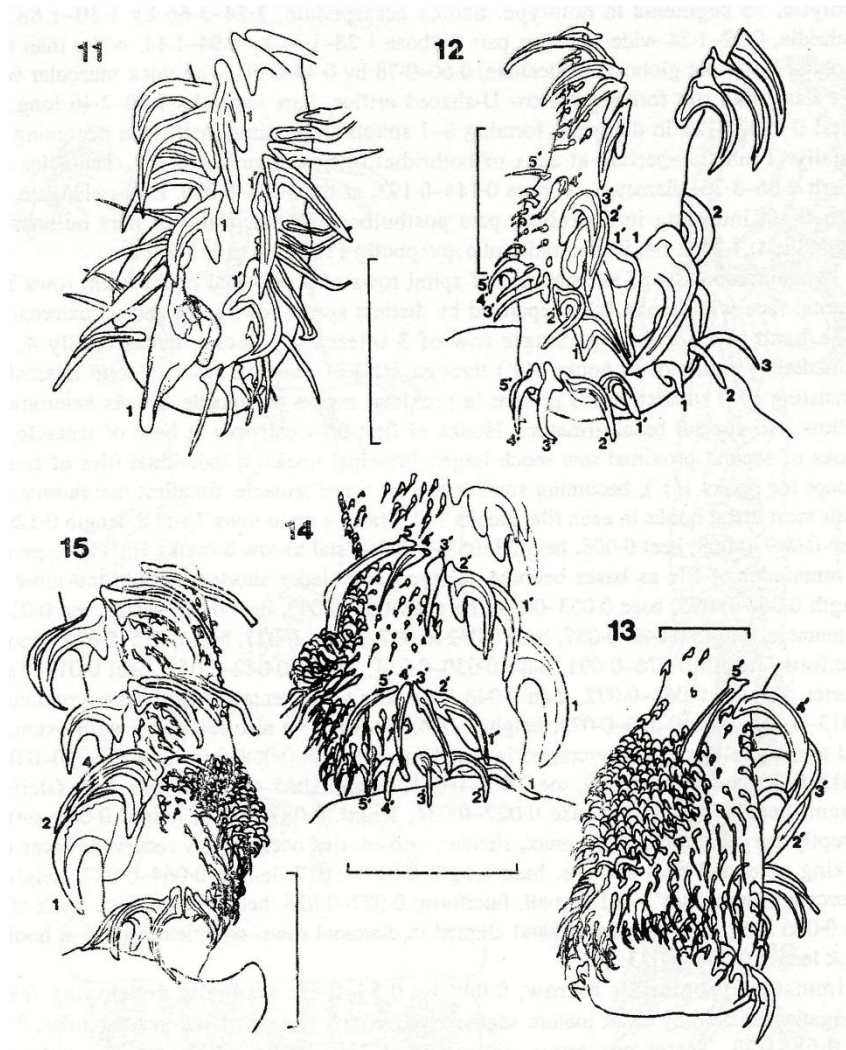


Figura 4. Armadura basal de *Pterobothrium crassicolle*. (11) Face interna com grandes espinhos, 1'; (12) Face interna com primeira linha de espinhos na base do tentáculo; (13) Face externa apresentando a dilatação basal; (14) Face botridial com as três linhas principais; (15) Face antibotridial com duas linhas principais, face externa à direita. Escala: 0,1mm; exceto para (13) 0,05mm. Fonte: Campbell e Beveridge, 1996.



Figura 5. Escólice de *Pterobothrium crassicolle*. (1) oncotaxia da região basal externa; (2) oncotaxia da região metabasal externa (barra= 100 μ m). Fonte: Porto et al.(2009)

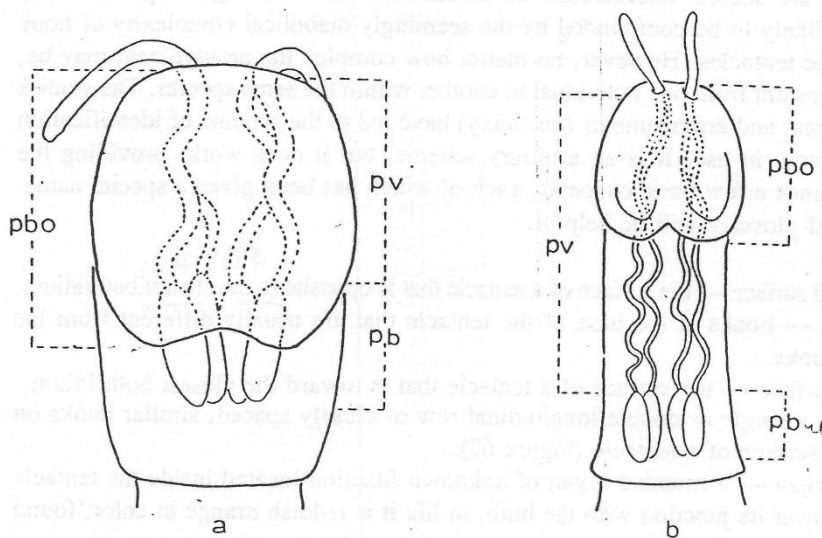


Figura 6. Escólices de Trypanorhyncha das subordens Acystidea (a) e Cystidea (b). pb- *pars bulbosa*; pbo- *pars bothridialis*; pv- *pars vaginalis*. Fonte: Schmidt (1986).

A maior parte dos relatos científicos sobre Trypanorhyncha corresponde a registros de metacestóides encontrados em hospedeiros intermediários, principalmente peixes teleósteos, uma vez que a detecção de exemplares adultos em elasmobrânquios exige a presença dos pesquisadores a bordo dos barcos de pesca para o rápido registro de dados dos hospedeiros e coleta de material, antes

da evisceração e retirada da cabeça dos peixes (KNOFF, 2001; KNOFF et al, 2004b).

Registros de Trypanorhyncha em peixes do Brasil são realizados há várias décadas. A Tabela 3 apresenta um levantamento sobre descrições e prevalência destes cestóides em peixes teleósteos e elasmobrânquios no Brasil.

A presença de larvas de Trypanorhyncha em peixes, principalmente na musculatura de maior valor comercial, leva a perdas econômicas pelo aspecto sanitário. Diversos relatos sobre Trypanorhyncha em peixes contribuíram de modo muito valioso para a inspeção do pescado no Brasil e América Latina. Faria e Silva (1934), ao realizarem um levantamento em vinte e uma espécies de peixes, encontraram larvas de Trypanorhyncha que descreveram como *Tettrhynchus* sp e em seu relato apontaram critérios para facilitar o trabalho de inspeção separando o pescado parasitado.

A utilização de dispositivos luminosos na inspeção do pescado foi recomendada por Bertullo (1965) ao analisar uma infecção maciça por plerocercos de *Tettrhynchus fragilis* em *M. opercularis* no Uruguai e também por Santos e Zogbi (1971) ao pesquisarem o mesmo tipo de parasitismo em mais de 23 mil filés de seis espécies distintas de peixes do litoral sul do Brasil.

O aumento da intensidade do parasitismo relacionado ao aumento do comprimento do pescado já foi observado em diversos estudos, ressaltando a importância das perdas com o acometimento mais intenso de peixes de maior valor comercial (SÃO CLEMENTE, 1982; LESTER et al., 1985; SÃO CLEMENTE et al., 1987; AMATO et al., 1990; SÃO CLEMENTE et al. 1991a; SÃO CLEMENTE et al., 1993; SÃO CLEMENTE et al., 1995a; PEREIRA JR, 1993; LIMA, 2004).

Tabela 3. Registros e prevalência do parasitismo por cestóides Trypanorhyncha em peixes teleósteos e elasmobrânquios do Brasil.

Hospedeiro	n	p (%) ^a	Trypanorhyncha (p%) ^b	Localidade	Autores
<i>Aluterus monoceros</i>	100	51,0	<i>Floriceps saccatus</i> (45,0); <i>Callitetrarhynchus speciosus</i> (6,0)	Rio de Janeiro	Dias et al. (2010)
<i>Arius proops</i>	27	77,78	<i>Callitetrarhynchus gracilis</i> (70,37); <i>Pterobothrium heteracanthum</i> (40,74); <i>Pterobothrium crassicolle</i> (11,11)	Pará	Oliveira (2005)
<i>Bagrus marinus</i>	-	-	<i>P. crassicolle</i>	Pará	Rego (1987); Rego et al. (1999)
<i>Balistes capriscus</i>	66	-	<i>Callitetrarhynchus</i> sp. (16,7); <i>Nybelinia</i> sp (3,0)	Rio de Janeiro	Alves et al. (2005)
	100	9,0	<i>C. gracilis</i> (9,0); <i>C. speciosus</i> (2,0)	Rio de Janeiro	Dias et al. (2009)
<i>Balistes vetula</i>	50	88,0	<i>C. speciosus</i> ; <i>C. gracilis</i> ; <i>Otobothrium</i> sp	Rio de Janeiro	São Clemente et al. (1995a)
	30	-	<i>Callitetrarhynchus</i> sp (36,7).; <i>Otobothrium</i> sp. (20,0)	Rio de Janeiro	Alves et al. (2005)
<i>Brachyplatystoma flavicans</i>	-	-	<i>P. crassicolle</i>	Pará	Rego (1987); Rego et al. (1999)
<i>Brachyplatystoma vaillanti</i>	-	-	<i>P. crassicolle</i>	Pará	Rego (1987); Rego et al. (1999)
<i>Caranx crysos</i>	8	25,0	<i>C. gracilis</i> (25,0)	Pernambuco	Palm (1997)
	30	-	<i>C. gracilis</i> (83,3)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
<i>Caranx hippos</i>	10	100,0	<i>Dasyrhynchus giganteus</i> (100,0)	Pará	São Clemente et al. (1993)
	60	-	<i>Nybelinia</i> sp (6,7); <i>C. gracilis</i> (1,6)	Rio de Janeiro	Alves; Luque (2001)
<i>Caranx latus</i>	55	-	<i>Nybelinia</i> sp (20,0); <i>C. gracilis</i> (5,4)	Rio de Janeiro	Alves; Luque (2001)
	30	33,3	<i>C. gracilis</i> (33,3)	Rio de Janeiro	Ferreira et al., (2006)
<i>Carcharhinus brachyurus</i>	4	25,0	<i>D. pacificus</i> (25,0)	Rio Grande do Sul	São Clemente; Gomes (1989a) e São Clemente et al. (1991b)
<i>Carcharhinus longimanus</i>	-	-	<i>Tentacularia coryphaenae</i>	Pernambuco	Rego, 1977
	2	50,0	<i>T. coryphaenae</i> (50,0)	Paraná e Santa Catarina	Knoff et al. (2002; 2004c)

Tabela 3. Continuação

Hospedeiro	n	p (%) ^a	Trypanporhyncha (p%) ^b	Localidade	Autores
<i>Carcharhinus obscurus</i>	1	100,0	<i>T. coryphaenae</i> (100,0)	Paraná e Santa Catarina	Knoff et al. (2002; 2004c)
<i>Carcharhinus signatus</i>	7	42,9	<i>Progrillotia dollfusi</i> (14,3); <i>Heteronybelinia yamagutii</i> (14,3); <i>Heteronybelinia nipponica</i> (14,3)	Paraná e Santa Catarina	Knoff et al. (2002)
	5	-	<i>H. yamaguti</i> ; <i>H. nipponica</i>	Paraná	Knoff et al. (2004b)
	7	-	<i>P. dollfusi</i>	Paraná	Knoff et al. (2004d)
<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	17	23,5	<i>C. gracilis</i> (23,5)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Citharichthys spilopterus</i>	13	7,7	<i>Pterobothrium kingstoni</i> (7,7)	Pernambuco	Palm (1997)
	20	5,0	<i>P. kingstoni</i> (5,0)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Coryphaena hippurus</i>	41	4,9	<i>Hepatoxylon trichiuri</i> (4,9)	Rio de Janeiro	São Clemente et al. (2001)
	41	-	<i>Tentacularia coryphaenae</i> ; <i>F. saccatus</i>	Rio de Janeiro	Silva; São Clemente (2001)
	68	-	Trypanorhyncha não identificado (1,4)	Rio de Janeiro	Marques; Alves (2011)
<i>Ctenosciaena gracilicirrus</i>	33	-	<i>P. dollfusi</i> (54,54); <i>Heteronybelinia annakohnae</i> (3,03)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)
<i>Cynoscion acoupa</i>	10	-	<i>C. gracilis</i> (70,0)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
	50	82,0	<i>C. gracilis</i> (70,0); <i>P. heteracanthum</i> (22,0); <i>Poecilancistrum caryophyllum</i> (26,0); <i>P. crassicolle</i> (4,0)	Pará	Oliveira (2005)
<i>Cynoscion guatucupa</i>	74	-	<i>P. dollfusi</i> (54,0); <i>Nybelinia</i> sp (10,8)	Rio de Janeiro	Sabas; Luque (2003)
	105	-	<i>P. dollfusi</i> (90,48); <i>C. gracilis</i> (14,29); <i>C. speciosus</i> (11,43); <i>Dasyrhynchus pacificus</i> (6,67); <i>H. annakohnae</i> (3,81); <i>P. heteracanthum</i> (0,95)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)
	41	-	<i>P. dollfusi</i> (26,8); <i>Nybelinia</i> sp. (9,8)		Timi et al. (2005)
	33	-	<i>P. dollfusi</i> (90,9); <i>Nybelinia</i> sp. (12,1)		Timi et al. (2005)
<i>Cynoscion jamaicensis</i>	60	-	<i>P. dollfusi</i> (81,67); <i>H. annakohnae</i> (3,33); <i>H. estigmene</i> (3,33); <i>D. pacificus</i> (5,0)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)

Tabela 3. Continuação

Hospedeiro	n	p (%) ^a	Trypanporhyncha (p%) ^b	Localidade	Autores
<i>Cynoscion leiarchus</i>	-	-	<i>Pterobothrium</i> sp.	Rio de Janeiro	Rego et al. (1974)
	-	-	<i>Nybelinia</i> sp; <i>Pterobothrium</i> sp.	Paraná	Saciloto (1980)
	-	-	<i>P. crassicolle</i>	Rio de Janeiro	Rego (1987)
<i>Cynoscion striatus</i>	-	-	Trypanorhyncha não identificado*	Rio de Janeiro	Rego et al. (1974)
<i>Cynoscion virescens</i>	48	79,17	<i>C. gracilis</i> (79,17); <i>P. heteracanthum</i> (4,17); <i>P. crassicolle</i> (2,08)	Pará	Oliveira, 2005
<i>Cynoscion</i> sp	-	-	<i>Nybelinia lingualis f.faucispinosa</i>	São Paulo	Mendes (1944)
	6	100,0	<i>P. dollfusi</i> (100,0)	Rio de Janeiro	Carvajal; Rego (1983)
	30	16,67	<i>P. crassicolle</i> (16,67)	Rio de Janeiro	Ferreira et al. (2006)
<i>Dactylopterus volitans</i>	76	-	<i>Nybelinia</i> sp. (18,0)	Rio de Janeiro	Cordeiro; Luque (2005b)
<i>Dipturus trachydermus</i>	8	12,5	<i>Mixonybelinia beveridgei</i> (12,5)	Paraná e Santa Catarina	Knoff et al. (2002; 2004b)
<i>Epinephelus flavolimbatus</i>	5	-	<i>C. gracilis</i> (40,0); <i>C. speciosus</i> (40,0)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
<i>Epinephelus guaza</i>	6	-	<i>C. gracilis</i> (83,3); <i>C. speciosus</i> (16,6); <i>P. crassicolle</i> (16,6)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
<i>Epinephelus morio</i>	17	94,1	<i>C. gracilis</i> (94,1); <i>C. speciosus</i> (5,8)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
<i>Epinephelus niveatus</i>	30	80,0	<i>C. gracilis</i> (70,0); <i>C. speciosus</i> (56,6); <i>P. dollfusi</i> (3,33); <i>P. crassicolle</i> (3,33)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
<i>Euthynnus alleteratus</i>	46	-	<i>C. gracilis</i> (21,7)	Rio de Janeiro	Alves; Luque (2006)
<i>Genypterus brasiliensis</i>	55	-	<i>Lacistorhynchus</i> sp.** (49,1); <i>Nybelinia</i> sp. (7,3)	Rio de Janeiro	Alves et al. (2002a)
	36	88,9	<i>C. gracilis</i> (75,0); <i>P. dollfusi</i> (38,8); <i>Nybelinia</i> sp (2,77); <i>N. lingualis</i> (2,77); <i>M. beveridgei</i> (2,77)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
	74	42,0	<i>P. dollfusi</i> (44,6); <i>C. gracilis</i> (20,2); <i>Otobothrium cysticum</i> (17,6); <i>Nybelinia</i> sp. (16,2); <i>M. beveridgei</i> (13,5); <i>Hepatoxylon trichiuri</i> (2,7); <i>T. coryphaenae</i> (1,35); <i>Heteronybelinia rougetcampanae</i> (1,35)	Rio de Janeiro	São Clemente et al. (2004)

Tabela 3 – Continuação

Hospedeiro	n	p (%) ^a	Trypanporhyncha (p%) ^b	Localidade	Autores
<i>Haemulon aurolineatum</i>	25	72,0	<i>C. gracilis</i> (72,0)	Pernambuco	Palm (1997)
	38	2,6	<i>C. gracilis</i> (2,6)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Haemulon plumieri</i>	18	-	<i>N. lingualis</i> (11,1); <i>Pseudotobothrium dipsacum</i> (11,1); <i>Nybelinia senegalensis</i> (5,6)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Harengula clupeola</i>	23	21,8	<i>C. gracilis</i> (21,8)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Heptranchias perlo</i>	7	14,3	<i>P. dollfusi</i> (14,3)	Paraná e Santa Catarina	Knoff et al. (2002, 2004d)
<i>Isurus oxyrinchus</i>	4	100,0	<i>N. ligualis</i> (100,0); <i>Gymnorhynchus isuri</i> (50,0)	Paraná e Santa Catarina	Knoff et al. (2002; 2007b)
<i>Katsuwonus pelamis</i>	-	-	<i>T. coryphaenae</i>	Rio de Janeiro	Amato et al. (1990)
	15	-	<i>T. coryphaenae</i> (66,7)	Rio de Janeiro	Alves; Luque (2006)
<i>Larimus breviceps</i>	13	7,7	<i>C. gracilis</i> (7,7)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Lophius gastrophysus</i>	30	100,0	<i>M. beveridgei</i> (100,0); <i>Tentacularia coryphaenae</i> (6,66); <i>Nybelina</i> sp (3,33)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
	87	47,0	<i>Mixonybelinia</i> sp. (42,5); <i>Nybelinia</i> sp.(4,6) ; <i>T. coryphaenae</i> (2,3); <i>P. dollfusi</i> (1,15)	Rio de Janeiro	São Clemente et al. (2007)
<i>Lutjanus analis</i>	10	10,0	<i>Grillotia</i> sp. (10,0)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Lutjanus synagris</i>	146	-	<i>C. gracilis</i>	Rio de Janeiro	Silva; São Clemente (2001)
<i>Macrodon ancylodon</i>	35	-	<i>P. dollfusi</i> (48,6); <i>Nybelinia</i> sp. (11,4); <i>C. gracilis</i> (3,0)	Rio de Janeiro	Sabas; Luque (2003)
	50	16,0	<i>P. caryophyllum</i> (16,0)	Pará	Oliveira, 2005
	60	-	<i>P. dollfusi</i> (96,67); <i>D. pacificus</i> (5,0); <i>C. gracilis</i> (1,67)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)

Tabela 3 – Continuação

Hospedeiro	n	p (%) ^a	Trypanporhyncha (p%) ^b	Localidade	Autores
<i>Menticirrhus americanus</i>	49	-	<i>H. annakohnae</i> (4,08); <i>P. dollfusi</i> (4,08); <i>D. pacificus</i> (2,04); <i>H. nipponica</i> (2,04)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)
<i>Menticirrhus littoralis</i>	59	-	<i>P. dollfusi</i> (3,39)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)
<i>Micropogonias furnieri</i>	1000	38,0	<i>P. heteracanthum</i> (27,9); <i>Pterobothrium</i> sp. (11,0); <i>C. gracilis</i> (7,5); <i>P.caryophyllum</i> (0,9)	Rio de Janeiro	São Clemente (1982; 1986a; 1986b, 1987)
	-	-	<i>P. crassicolle</i>	Rio de Janeiro	Rego (1987)
	179	55,3	<i>P. heteracanthum</i> (49,16); <i>C. gracilis</i> (41,82); <i>P. crassicolle</i> (32,96); <i>P. caryophyllum</i> (10,05); <i>C. speciosus</i> (1,67); larva plerocerca não identificada (16,20)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr (1993)
	40	-	<i>P. heteracanthum</i>	Rio de Janeiro	Alves; Luque (2000)
	100	-	<i>P. heteracanthum</i> (5,0); <i>C. gracilis</i> (4,0)	Rio de Janeiro	Alves; Luque (2001)
	180	-	<i>P. crassicolle</i> (66,67); <i>P. heteracanthum</i> (49,44); <i>C. gracilis</i> (42,22); <i>P. caryophyllum</i> (9,44); <i>C. speciosus</i> (3,33); <i>Dollfusiella</i> sp. (0,56); <i>P. dollfusi</i> (0,56)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)
	30	26,7	<i>P. crassicolle</i> (26,7)	Rio de Janeiro	Porto et al. (2009)
	59	-	<i>P. heteracanthum</i> (18,6); <i>C. gracilis</i> (5,8)	Rio de Janeiro	Luque et al. (2010)
	34	-	<i>P. heteracanthum</i> (22,0); <i>C. gracilis</i> (9,8)	Rio de Janeiro	Luque et al. (2010)
<i>Mullus argentinae</i>	100	-	<i>Nybelinia</i> sp. (27,0); <i>Heteronybelinia rougetcampanae</i> (2,0);	Rio de Janeiro	Luque et al. (2002)
<i>Mustelus canis</i>	37	54,0	<i>Eutetrarhynchus vooremi</i> (90,0); <i>Nybelinia lingualis</i> (20,0); <i>C. gracilis</i> (10,0)	Rio Grande do Sul	São Clemente; Gomes (1989b) e São Clemente et al. (1991b)

Tabela 3 – Continuação

Hospedeiro	n	p (%) ^a	Trypanporhyncha (p%) ^b	Localidade	Autores
<i>Mustelus schmitti</i>	35	31,4	<i>E. vooremi</i> (31,4); <i>Nybelinia lingualis</i> (5,7)	Rio Grande do Sul	São Clemente; Gomes (1989b) e São Clemente et al. (1991b)
<i>Netuma barba</i>	100	23,0	<i>P. crassicolle</i> (17,0); <i>C. gracilis</i> (6,0); <i>C. speciosus</i> (6,0)	Rio de Janeiro	São Clemente et al. (1991a)
<i>Notorhynchus pectorosus</i>	6	16,6	<i>Nybelinia bisulcata</i> (16,6)	Rio Grande do Sul	São Clemente et al. (1991b)
<i>Oligoplites palometa</i>	9	11,1	<i>C. gracilis</i> (11,1)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Opisthonema oglinum</i>	23	34,8	<i>C. gracilis</i> (34,8)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Paralichthys isosceles</i>	60	-	<i>Grillotia carvajalregorum</i> (73,0); <i>N. lingualis</i> (57,0); <i>H. nipponica</i> (35,0); <i>Otobothrium</i> sp. (15,0); <i>C. gracilis</i> (3,33); <i>P. heteracanthum</i> (1,7); <i>P. crassicolle</i> (1,7)	Rio de Janeiro	Felizardo et al. (2010)
<i>Paralichthys patagonicus</i>	27	70,3	<i>Nybelinia erythraea</i> (3,7); <i>N. lingualis</i> (33,3); <i>H. nipponica</i> (14,8); <i>P. crassicolle</i> (29,6); <i>G. carvajalregorum</i> (14,8); <i>C. gracilis</i> (18,5)	Rio de Janeiro	Fonseca et al. (2012)
<i>Paralonchurus brasiliensis</i>	93	-	<i>Nybelinia</i> sp. (13,9)	Rio de Janeiro	Ribeiro et al. (2002) e Luque et al. (2003)
	134	-	<i>P. dollfusi</i> (3,73)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)
<i>Paratrygon hystrix</i>			<i>Eutetrarhynchus araya</i>	Pará	Rego, 1978
<i>Paratrygon motoro</i>			<i>E. araya</i>	Mato Grosso	Rego, 1978
<i>Plagioscion squamosissimus</i>	80	78,8	<i>C. gracilis</i> (38,75); <i>P. heteracanthum</i> (28,75); <i>P. caryophyllum</i> (3,75); <i>P. crassicolle</i> (7,5)	Amapá	Silva Júnior (2010)
<i>Pogonias cromis</i>	33	-	<i>P. crassicolle</i> (3,03); <i>P. heteracanthum</i> (3,03)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)

Tabela 3 – Continuação

Hospedeiro	n	p (%) ^a	Trypanporhyncha (p%) ^b	Localidade	Autores
<i>Pomatomus saltatrix</i>	-	-	Trypanorhyncha	Rio de Janeiro	Gomes et al. (1972)
	80	55,7	<i>C. gracilis</i> (48,75); <i>C. speciosus</i> (40,0); <i>P. crassicolle</i> (7,5)	Rio de Janeiro	São Clemente et al. (1997)
	55	-	Trypanorhyncha (52,7); <i>Nybelinia</i> sp. (1,8)	Rio de Janeiro	Luque; Chaves (1999)
	30	36,6	<i>C. gracilis</i> (36,6); <i>C. speciosus</i> (3,3)	Rio de Janeiro	Ferreira et al. (2006)
<i>Priacanthus arenatus</i>	8	-	<i>C. gracilis</i> (12,5); <i>C. speciosus</i> (12,5)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
<i>Prionace glauca</i>	44	86,4	<i>Hepatoxylon trichiuri</i> (86,4)	Rio Grande do Sul	São Clemente et al.(2001)
	30	25	<i>F. saccatus</i> (20,0); <i>T. coryphaenae</i> (16,7); <i>Hepatoxylon trichiuri</i> (13,3); <i>Molicola horridus</i> (3,3); <i>Callitetrarhynchus</i> sp. (3,3)	Paraná e Santa Catarina	Knoff et al. (2002)
	30	-	<i>T. coryphaenae</i> ; <i>H. trichiuri</i>	Santa Catarina	Knoff et al. (2004c)
	30	-	<i>M. horridus</i>	Santa Catarina	Knoff et al. (2004d)
	30	-	<i>F. saccatus</i> (20,0); <i>C. gracilis</i> (3,3); <i>C. speciosus</i> (3,3)	Santa Catarina	Pinto et al. (2006)
	80	-	<i>P. dollfusi</i> (32,5); <i>Nybelinia</i> sp. (5,0)	Rio de Janeiro	Bicudo et al. (2005)
<i>Pristis perotteti</i>	-	-	<i>Pterobothrium fragile</i>	-	Rego, 1973
<i>Pseudopeneus maculatus</i>	23	-	<i>Pseudolacistorhynchus noodti</i> (87,0); <i>Nybelinia edwinlintoni</i> (52,2); <i>P. dipsacum</i> (21,7); <i>N. lingualis</i> (13,0); <i>N. indica</i> (8,7);	Pernambuco	Palm (1997)
	17	-	<i>Nybelinia</i> sp (17,64)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
	62	-	<i>P. dollfusi</i> (71,0); <i>Nybelinia</i> sp. (3,2); <i>C. gracilis</i> (1,6)	Rio de Janeiro	Luque et al. (2008)
<i>Pseudopercis semifasciata</i>	66	-	<i>P. dollfusi</i> (65,2)	Rio de Janeiro	Luque et al. (2008)
<i>Selene setapinnis</i>	89	-	<i>Nybelinia</i> sp. (11,2); <i>C. gracilis</i> (1,1)	Rio de Janeiro	Cordeiro; Luque (2004)
	15	-	<i>C. gracilis</i> (20,0)	Rio de Janeiro	Lima (2004)

Tabela 3 – Continuação

Hospedeiro	n	p (%) ^a	Trypanorhyncha (p%) ^b	Localidade	Autores
<i>Selene vomer</i>	10	-	<i>C. gracilis</i> (50,0); <i>N. lingualis</i> (10,0)	Pernambuco	Palm (1997)
	10	-	<i>C. gracilis</i> (60,0)	Rio de Janeiro	Lima (2004)
<i>Scomber japonicus</i>	50	-	Trypanorhyncha (14,0)	Rio de Janeiro	Rego; Santos (1983)
<i>Scomberomorus cavalla</i>	30	53,0	<i>C. gracilis</i> (26,0); <i>P. crassicolle</i> (20,0); <i>C. speciosus</i> (6,0); <i>T. coriphaenae</i> (3,0)	Rio de Janeiro	Dias et al. (2011)
<i>Scomberomorus maculatus</i>	16	-	<i>O. cysticum</i> (18,8); <i>C. gracilis</i> (12,5); <i>P. noodti</i> (6,3)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Sphyræna guachancho</i>	4	-	<i>C. gracilis</i> (25,0); <i>N. senegalensis</i> (25,0); <i>O. cysticum</i> (25,0)	Pernambuco	Palm (1997)
<i>Sphyrna leweni</i>	5	20,0	<i>Nybelinia rougetcampanae</i> (20,0)	Rio Grande do Sul	São Clemente et al. (1991b)
<i>Sphyrna zygaena</i>	5	40,0	<i>Heteronybelinia rougetcampanae</i> (20,0); <i>C. speciosus</i> (20,0)	Paraná e Santa Catarina	Knoff et al. (2002)
<i>Squalus</i> sp.	16	6,25	<i>P. dollfusi</i> (6,25)	Paraná e Santa Catarina	Knoff et al. (2002, 2004d)
<i>Trichiurus lepturus</i>	55	-	<i>C. gracilis</i> (14,5)	Rio de Janeiro	Silva et al. (2000)
<i>Umbrina canosai</i>	116	-	<i>P. dollfusi</i> (50,0); <i>Nybelinia bisulcata</i> (3,45); <i>H. nipponica</i> (0,86); <i>P. heteracanthum</i> (0,86)	Rio Grande do Sul	Pereira Jr; Boeger (2005)
<i>Urophycis brasiliensis</i>	75	-	<i>Nybelinia</i> sp. 1 (18,6); <i>Nybelinia</i> sp. 2 (52,0)	Rio de Janeiro	Alves et al. (2004)
<i>Urophycis mystaceus</i>	55	-	<i>Lacistorhynchus</i> sp. (11,0)	Rio de Janeiro	Alves et al. (2002b)
<i>Xystreureys rasile</i>	30	56,6	<i>Nybelinia erythraea</i> (10,0); <i>N. lingualis</i> (43,3); <i>H. nipponica</i> (33,3); <i>G. carvajalregorum</i> (16,6)	Rio de Janeiro	Fonseca et al. (2012)

^a Prevalência do parasitismo por cestóides Trypanorhyncha

^b Prevalência do parasitismo por cada gênero e/ou espécie

*Espécimes reavaliados por Carvajal e Rego (1983) e redescritos como *P. dollfusi*

**Espécimes reavaliados por São Clemente et al, 2004 e redescritos como *P. dollfusi*

O potencial de infecção zoonótica dos Trypanorhyncha parece ser muito limitado, sendo o parasitismo um fato considerado raro e de breve duração. Poucos casos foram registrados em literatura, e estes foram relacionados ao consumo de peixe cru (BATES, 1990). Dois casos ocorreram por *Hepatoxylon trichuri* (Holten, 1802) Dollfus, 1942, sendo um na África do Sul e outro em Moçambique. Em ambos os casos, os cestóides foram encontrados ainda vivos nas fezes dos pacientes (HEINZ, 1954; FRIPP; MASON, 1983). Há ainda outro registro, por *Nybelinia surmenicola* Okada, 1929, onde o parasito encontrava-se aderido ao palato mole de um homem no Japão (KIKUCHI et al., 1981).

Ao final da década de 1990, alguns trabalhos começaram a apontar a possibilidade de reações alérgicas e de hipersensibilidades provocadas por algumas espécies de Trypanorhyncha em modelo murino (RODERO; CUÉLLAR, 1999; VÁSQUEZ-LOPEZ et al., 2001, 2002; GOMEZ-MORALES et al., 2008). Recentemente, Pelayo et al. (2009) estudaram a soroprevalência de anticorpos anti-*Gymnorhynchus gigas* numa população da Espanha, sendo este o primeiro trabalho apontando a existência de resposta específica para Trypanorhyncha em seres humanos naturalmente expostos.

Todos estes relatos tendem a aumentar a atenção para a presença de Trypanorhyncha no pescado, tendo em vista não somente o aspecto repugnante conferido, mas também o potencial alergênico de algumas espécies já estudadas, como *G. gigas* e *Molicola horridus*. (RODERO; CUÉLLAR, 1999; VÁSQUEZ-LÓPEZ et al., 2001; GOMEZ-MORALES et al., 2008). As formas de processamento do pescado, principalmente pelas indústrias, necessitam de constante reavaliação levando-se em consideração que mesmo o pescado congelado (PELAYO et al., 2009) pode conter moléculas com potencial alergênico de cestóides Trypanorhyncha. Novas pesquisas sobre resistência antigênica (de diferentes parasitos de pescado) e metodologias de processamento industrial voltadas para a segurança alimentar são importantes e sempre necessárias.

2.3 HIPERSENSIBILIDADE E ALERGIAS RELACIONADAS AO CONSUMO DE PESCADO

Alergias e outras reações imunológicas representam um problema de Saúde Pública com ampla dispersão na população humana de vários continentes. A alergia alimentar é definida como uma resposta imunológica adversa (ou hipersensibilidade) relacionada a algum tipo de alimento. Muitos relatos a respeito de manifestações alérgicas associadas ao consumo de peixes e mariscos têm sido publicados ao longo de décadas, sendo estes dois importantes elementos dentre o grupo dos oito tipos principais de alimentos responsáveis por reações alérgicas (SICHERER, 2002). Dentre as moléculas indutoras de hipersensibilidade, as isoformas de tropomiosina e de parvalbumina são consideradas como os principais alérgenos associados ao consumo de crustáceos e peixes, respectivamente (HAJEB; SELAMAT, 2012).

As reações adversas podem ser provocadas tanto pelo pescado como também por substâncias contaminantes como histamina, toxinas e parasitos, sendo muito difícil para o consumidor comum diferenciá-los (NIEUWENHUIZEN et al., 2006).

Os parasitos de peixes, principalmente as larvas de anisquídeos, podem desencadear diversas manifestações alérgicas em humanos (AUDICANA et al., 1995; DASCHNER et al., 2000; DOMINGUEZ-ORTEGA et al., 2001; NIEUWENHUIZEN et al., 2006; PICHLER, 1999).

A anisquiase gastro-alérgica (AGA) envolve uma estimulação policlonal dinâmica (IgA, IgM, IgG e IgE) posterior ao contato com o parasito. Cerca de um mês após a sensibilização primária, há um aumento da IgE (específica e não específica), assim como de IgG, IgG4, IgA e IgM anti-*Anisakis* no soro de pacientes com AGA. No entanto, este perfil é similar ao observado contra outros helmintos parasitos, sendo este um tipo de resposta imunológica evolutivamente conservada contra helmintos invasores (ANTHONY et al., 2007; DASCHNER et al., 2012).

Tanto as alergias quanto as reações contra helmintos são típicas respostas Th2 com a produção de interleucinas (IL) 4, 13 e 9. A IL-9 é responsável pela mastocitose intestinal e sensibiliza os mastócitos à ação de outras citocinas, assim como estimula a degranulação específica e liberação de mediadores. A IL-4 é responsável pela mudança de isotipo de anticorpos, levando assim à produção de

IgE. A IL-13, por sua vez, possui efeitos na musculatura lisa, nas células epiteliais e nas células caliciformes do trato gastro-intestinal (DASCHNER et al., 2012).

Após a penetração da larva de *Anisakis* sp. tem início uma resposta Th2, que resulta na presença de IgE circulante, assim como IgE ligada ao receptor de alta afinidade (FcεRI) de mastócitos na submucosa e em outros locais, como a pele. Após o primeiro episódio (sensibilização), se houver a penetração de nova larva no epitélio gástrico, pode ocorrer o quadro de AGA. Neste caso, a migração larvária e a chegada de moléculas (Ag) secretadas/excretadas na submucosa, na circulação e em outros órgãos, ocorrem após a transposição dos fatores protetores de mucosa, dentre eles, IgA secretória. Algumas dessas moléculas (Ag) se ligam a IgE de mastócitos e por ligação cruzada ao receptor FcεRI desencadeiam a degranulação e liberação de histamina. Outros mediadores também são liberados durante o processo e iniciam os eventos que levam aos sintomas alérgicos em pessoas susceptíveis, tais como urticária ou anafilaxia (DASCHNER et al., 2012).

Os mecanismos de tolerância antigênica relacionados à anisakiase não são completamente conhecidos. Pacientes com histórico de sensibilização prévia, ou mesmo AGA, permanecem ingerindo peixes (cozidos) frequentemente parasitados por anisquídeos, sem novos relatos de manifestações alérgicas. A explicação pode ter relação com alguns fatores protetores, como IgA secretória, IgA circulante e IgG4, que competem pelos alérgenos fazendo com que seja possível a presença de baixos níveis de alérgenos na submucosa sem desencadear sintomas clínicos (mesmo se tratando de pessoa previamente sensibilizada) (DASCHNER et al., 2012). Todavia, casos de reações agudas contra larvas mortas de *Anisakis* sp. são conhecidos, havendo a necessidade de mais estudos para elucidar os mecanismos envolvidos e com que frequência ocorrem (AUDICANA; KENNEDY, 2008).

Outro quadro distinto envolvendo sensibilização por *Anisakis simplex* é a urticária crônica. Seus mecanismos não estão claros, mas níveis mais baixos de IgG4 ou IgA específicas, assim como a descontinuidade da mucosa intestinal podem permitir que baixas quantidades de antígenos alérgicos tenham contato com mastócitos da submucosa, desencadeando o quadro de urticária crônica ou prolongada (DASCHNER et al., 2012).

Diversos estudos têm indicado as tropomiosinas de invertebrados (em suas isoformas) como possíveis pan-alérgenos, devido a intensa reatividade cruzada observada em indivíduos sensibilizados por diferentes fontes. As tropomiosinas são

altamente conservadas entre espécies diferentes, o que permite o reconhecimento cruzado. Como exemplo, num levantamento realizado em judeus ortodoxos que nunca tiveram contato com crustáceos, foi encontrada forte resposta de IgE anti-tropomiosina de camarão. Tal evento pode ser explicado pela reação cruzada com tropomiosina de baratas ou ácaros de poeira doméstica (FERNANDES et al., 2003; SANTIAGO et al., 2011)

A presença de larvas de cestóides Trypanorhyncha na musculatura de peixes também é considerada um fator preocupante no que se refere ao risco de manifestações alérgicas. A soropositividade encontrada por Pelayo et al. (2009) em soros de humanos testados contra antígenos de *Gymnorhynchus gigas* mostrou que o consumo de larvas vivas não é necessário para desenvolver a soropositividade e que o risco de reações alérgicas devido a antígenos parasitários permanece mesmo após congelamento do pescado. Sendo assim, a absorção de antígenos do parasito acontece após o processo de digestão, pela mucosa intestinal, assim como ocorre para outros alérgenos alimentares.

2.4 LEGISLAÇÃO E MEDIDAS PREVENTIVAS CONTRA PARASITOSESS ASSOCIADAS AO CONSUMO DE PEIXES

A legislação brasileira prevê a ocorrência de parasitismo no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), Capítulo VII, Pescado e Derivados, Seção I, Pescado; Artigo 445, onde dispõe sobre elementos que tornam o pescado impróprio para consumo, tais como: pescado com aspecto repugnante e a presença maciça de parasitos na musculatura de modo que possam prejudicar ou não a saúde do consumidor. Todo pescado considerado impróprio deve ser condenado e transformado em subprodutos não comestíveis (BRASIL, 1997).

Algumas medidas preventivas podem reduzir o risco à saúde do consumidor. A evisceração do pescado logo após a sua captura reduz o risco de migração das larvas de anisquídeos da cavidade peritoneal (ou parede das vísceras) até a musculatura do hospedeiro (KNOFF et al., 2007a). A remoção da musculatura abdominal é um procedimento também recomendado por alguns autores (AMATO et al., 1990), pois trata-se de um local onde podem ser encontrados parasitos com

maior frequência. Entretanto, São Clemente et al. (2007) observaram que tal procedimento não seria de fato preventivo para todos os peixes, uma vez que observaram uma dispersão generalizada de metacestóides nas fâscias da musculatura abdominal e dorso-lateral de *Lophius gastrophysus*.

A inspeção do pescado com remoção dos parasitos e das partes parasitadas é uma medida recomendada por diversos órgãos reguladores, de modo a impedir que o pescado com parasitismo evidente seja comercializado para consumo humano (FDA, 2011; THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, 2004; BRASIL, 1997).

Os processos de salga e salmoura podem reduzir o risco parasitológico, mas não eliminam e não minimizam o problema a níveis de segurança aceitáveis (FDA, 2011). Os resultados obtidos em diversos estudos são divergentes quanto ao tempo e à concentração de sal necessários para matar as formas parasitárias.

Segundo o FDA (2011), larvas de nematóides podem sobreviver até 28 dias em salmouras com 21% de sal por peso. Grabda (1991)¹ apud São Clemente et al. (1996) relatou que 10 dias foram suficientes para matar larvas de *Anisakis* sp. de arenques mantidos em salmoura a 20° Bé (Baumé), enquanto São Clemente et al. (1996) observaram que 3 dias foram suficientes para matar todas as larvas de anisquídeos de *Trichiurus lepturus* em mesma condição de salmoura.

Para a salga direta do pescado, Karl e Leineman (1981)² apud São Clemente et al. (1996) observaram a necessidade de 21 dias para matar todas as larvas de anisquídeos presentes em arenques utilizando uma concentração de 20% de sal. O padrão estabelecido pelo CODEX (2004)³ apud EFSA (2010) indica que a viabilidade de larvas de nematóides em arenque salgado deve ser avaliada por processo de digestão artificial. Caso sejam detectadas larvas vivas, o produto não deve ser liberado para consumo humano a menos que seja submetido ao congelamento a -20°C em toda a sua extensão por pelo menos 24 horas.

Apesar da resistência observada em larvas de diferentes gêneros de anisquídeos frente a certas condições de frio, o congelamento é recomendado

¹GRABDA, J. *Marine fish parasitology: an outline*. PWN-Polish Scientific Publishers, Warszawa. 1991. 306p.

²KARL, H.; LEINEMANN, M. Überlebensfähigkeit von nematodenlarven bei der herstellung von gesalzenen heringserzeugnissen. *Archiv. Für Lebensmittelhyg.* v.40, p.107-106, 1989.

³CODEX. *Standard for salted atlantic herring and salted sprat*. CODEX STAN, 244-2004, 2004.

como uma conduta padrão para todo pescado destinado ao consumo cru ou a ser preparado (por cocção ou defumação) em temperaturas inferiores a 60°. Segundo recomendação do FDA, e do Ministério da Saúde do Brasil o pescado deve ser submetido a temperaturas de -30°C a -35°C por pelo menos 15 horas ou a -20°C por sete dias (SVS, 2005; FDA, 2011; SAKANARI; McHERROW, 1989). Já a regulamentação 853/2004 da Comunidade Européia estipula o congelamento a temperatura de -20°C, em todas as partes do pescado, por no mínimo 24 horas (THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, 2004).

Segundo Margolis (1977)⁴ apud Cabrera et al. (2003) o cozimento a 70°C por 7 minutos e a 60°C por 10 minutos seriam suficientes para matar larvas de *Pseudoterranova* sp. presentes em filés de peixe com 3cm de espessura. Já Sakanari e McHarrow (1989) relataram que o cozimento do pescado a temperatura igual ou superior a 60°C por 10 minutos, ou 70°C por pelo menos 1 minuto seriam suficientes para impedir a infecção por larvas de anisacídeos.

Apesar do emprego do frio, assim como do calor, seguindo corretamente as indicações dos órgãos reguladores e dos relatos científicos, alguns antígenos de parasitos (e.g. *Anisakis simplex*) são termoestáveis, resistindo tanto ao congelamento quanto à cocção, e mesmo com a morte das larvas seu potencial alergênico, e até mesmo anafilático, permanece (AUDICANA et al., 1997; AUDICANA et al., 2002; AUDICANA; KENNEDY, 2008).

⁴ MARGOLIS, L. Public health aspects of "codworm" infection: a review. *J. Fish. Res. Board. Can.* v.34, p. 887-898, 1977.

3 DESENVOLVIMENTO

O estudo foi iniciado com a análise dos principais parasitos com potencial zoonótico encontrados em peixes teleósteos marinhos comercializados no estado do Rio de Janeiro, o que gerou o primeiro artigo. Em seguida, foram realizados dois estudos experimentais sobre a atividade imunogênica de extratos de cestóides Trypanorhyncha, sendo elaborados dois artigos com os resultados. Estes são os primeiros relatos acerca da capacidade alergênica de cestóides Trypanorhyncha Pterobotrídeos.

Os resultados encontram-se a seguir na forma de manuscritos submetidos para publicação em periódicos científicos. A formatação dos textos segue a norma de cada periódico.

3.1 ARTIGO 1: NEMATODE LARVAE INFECTION IN FIVE COMMERCIALY IMPORTANT FISH SPECIES FROM RIO DE JANEIRO STATE, BRAZIL

3.2 ARTIGO 2: IMMUNOGENIC ACTIVITY OF THE FISH PARASITE *Pterobothrium heteracanthum* (TRYPANORHYNCHA: PTEROBOTHRIIDAE) IN BALB/c MICE

3.3 ARTIGO 3: ALLERGENIC RESPONSE INDUCED BY *Pterobothrium crassicolle* (CESTODA: TRYPANORHYNCHA) EXTRACTS IN MURINE MODEL

3.1 ARTIGO 1: NEMATODE LARVAE INFECTION IN FIVE COMMERCIALY IMPORTANT FISH SPECIES FROM RIO DE JANEIRO STATE, BRAZIL

NEMATODE LARVAE INFECTION IN FIVE COMMERCIALY IMPORTANT FISH SPECIES FROM RIO DE JANEIRO STATE, BRAZIL

INFECÇÃO POR LARVAS DE NEMATÓIDES EM CINCO ESPÉCIES DE PEIXES COMERCIALMENTE IMPORTANTES DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL
 Mattos, Danuza Pinheiro Bastos Garcia¹; Lopes, Leila Maria Silva²; Verícimo, Maurício Afonso³; Alvares, Thiago Silveira⁴; São Clemente, Sérgio Carmona⁵

ABSTRACT. Mattos D.P.B.G., Lopes L.M.S. & São Clemente S.C. **Nematode larvae infection in five commercially important fish species from Rio de Janeiro State, Brazil.** [Infecção por larvas de nematóides em cinco espécies de peixes comercialmente importantes do Rio de Janeiro, Brasil.] *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, xx(x):xx-xx, 2013. Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Pescado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brazil, 64, Santa Rosa, Niterói, RJ, Brasil, 24.230-340. E-mail: scsc@vm.uff.br

From March 2009 to March 2012, 207 teleostei fish were obtained from fish markets and fishermen from Niteroi and Cabo Frio municipalities, Rio de Janeiro State, Brazil. The fish belonged to the species *Micropogonias furnieri* (107), *Trichiurus lepturus* (35), *Centropomus undecimalis* (22), *Genypterus brasiliensis* (18), *Pagrus pagrus* (18) and *Pomatomus saltatrix* (7). Larvae of Anisakidae family were found in five of the six host species analyzed, with prevalence rates of 85.71% in *P. saltatrix*; 71.42% in *T. lepturus*, 55.55% in *P. pagrus*, 50.00% in *G. brasiliensis* and 0.93% in *M. furnieri*. The anisakid larvae were identified as *Contracaecum* sp (20.28%) and *Anisakis* sp (10.14%). The sites of infection were only mesenteries, hepatic capsule and gastric serosa. No larvae were found in flesh, however, the high prevalence and intensity observed in some species, could represent a risk to human health by the larvae migration to flesh.

KEY WORDS: Anisakidae, Prevalence, Teleostei

* Recebido em 16 de novembro de 2012.

Aceito em xx de xxxxxxxxxxxx de 2012

¹ Veterinarian (*MSc*), Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Hernani de Mello, 101, São Domingos, Niterói, RJ. CEP:24210-130. E-mail: danuzamattos@vm.uff.br

² Veterinarian (*Dr*), Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Pescado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Vital Brazil, 64, Santa Rosa, Niterói, RJ. CEP: 24230-340. E-mail: leilamsl@ig.com.br

³ Veterinarian (*Dr*), Departamento de Imunobiologia, Instituto de Biologia, Valonguinho, Universidade Federal Fluminense (UFF), Outeiro São João Batista, Centro, Niterói, RJ. CEP:24210-150. E-mail: vericimo@vm.uff.br

⁴ Nutricionist (*Dr*), Laboratório de Análises Avançadas em Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Química, UFRJ – Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ. CEP: 21941-909. E-mail: alvares@iq.ufrj.br

⁵ Médico veterinário (*Dr*), Programa de Pós-graduação em Higiene e Processamento Tecnológico de P.O.A., Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Vital Brazil, 64, Santa Rosa, Niterói, Rio de Janeiro. CEP: 24230-340. E-mail: scsc@vm.uff.br

RESUMO. [Infecção por larvas de nematóides em cinco espécies de peixes comercialmente importantes do Estado do Rio de Janeiro, Brasil]

Entre março de 2009 e março de 2012 foram obtidos 207 peixes teleósteos de mercados de peixe e de pescadores dos municípios de Niterói e Cabo Frio, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Os peixes pertenciam às espécies *Micropogonias furnieri* (107), *Trichiurus lepturus* (35), *Centropomus undecimalis* (22), *Genypterus brasiliensis* (18), *Pagrus pagrus* (18) e *Pomatomus saltatrix* (7). Larvas da família Anisakidae foram encontradas em cinco das seis espécies hospedeiras analisadas, com taxas de prevalência de 85,71% em *P. saltatrix*, 71,42% em *T. lepturus*, 55,55% em *P. pagrus*, 50,00% em *G. brasiliensis* e 0,93% em *M. furnieri*. As larvas de anisquídeos foram identificadas como *Contracaecum* sp. (20,28%) e *Anisakis* sp. (10,14%). As taxas de prevalência se elevaram conforme o aumento do comprimento dos peixes. Os locais de parasitismo foram apenas mesentério, cápsula hepática e serosa gástrica. Nenhuma larva foi encontrada na musculatura, entretanto a alta prevalência e intensidade de parasitismo observadas em algumas espécies poderiam representar um risco à saúde humana pela migração das larvas para o músculo.

PALAVRAS-CHAVE: Anisakidae, Prevalência, Teleósteos

INTRODUCTION

The fish production of Rio de Janeiro State has been increasing over the years, reaching more than 82,000 tons in 2007 (IBAMA, 2007). The per capita consumption of fish in the metropolitan area exceeds the national average and is calculated at 18.5 kg of whole fish / inhab. / year. Some Teleostei species like *Micropogonias furnieri*, *Trichiurus lepturus*, *Centropomus undecimalis*, *Genypterus brasiliensis*, *Pagrus pagrus* and *Pomatomus saltatrix* are widely commercialized in Rio de Janeiro State. Together they represented more than 12% of the total marine fish locally caught in 2005, among more than 80 varieties of local fish (Barroso & Wiefels 2010).

Micropogonias furnieri (Desmarest, 1823), also known as whitemouth croaker, is found in coastal waters up to 60m depth of the Atlantic Ocean from the Gulf of Mexico to Argentina (Figueiredo & Menezes 2000). It feeds on components of the demersal and benthic communities. It is one of the main species marketed in Rio de Janeiro, with their representation increasing over the years and responding to 70% of the volume of fish sold in the main warehouses in the region (Barroso & Wiefels 2010). Also is an important resource at Southern Brazil, and according to Vasconcellos et al. (2007), it corresponds to 28.1% of local catch and 16.7% of the industrial landings in the marine coast of the region.

Pomatomus saltatrix (Linnaeus, 1766) and *Trichiurus lepturus* (Linnaeus, 1758), the bluefish and the atlantic cutlassfish respectively, are pelagic carnivorous fish with wide geographic distribution and great commercial importance in Rio de Janeiro (Meyer & Smale 1991, Martins & Haimovici 1997, Figueiredo & Menezes 2000, Barroso & Wiefels 2010).

Centropomus undecimalis Bloch, 1792, the common snook, lives in coastal waters of western Atlantic Ocean from Florida (USA) to Rio de Janeiro (Brazil), inhabiting also estuaries and lagoons, penetrating into freshwater. They feed mainly on fish but also eat crustaceans, molluscs and insects (Rojas 1975).

Genypterus brasiliensis (Regan, 1903), the pink cusk-eel, is a demersal animal found at South Atlantic Ocean from Rio de Janeiro until Uruguay, living between 60 and 200 meters deep (Figueiredo & Menezes 2000).

Pagrus pagrus (Linnaeus, 1758), the red porgy, is a benthopelagic demersal teleost which feeds on other fish, crustaceans and molluscs. It has a wide geographical distribution, being found in the east and west coasts of the Atlantic and Mediterranean Sea (Figueiredo & Menezes 2000).

Parasitism is a frequent phenomenon in marine and freshwater fish, particularly by nematodes belonging to the Anisakidae family (Martins et al. 2005, Olivero-Verbel et al. 2011). Among anisakids genera, *Anisakis* sp. and *Contracaecum* sp. stand out and are often found in marine fish of the coast of Rio de Janeiro State, Brazil. Both have fish-eating birds as definitive hosts, parasitizing their gastric and gut lumen. Fish and copepods participate as intermediate or paratenic hosts. Fish hosts present the larvae (L2 or L3) in the abdominal cavity, visceral serosa or abdominal and somatic muscles (Martins et al. 2005, Tavares & Luque 2006).

The presence of parasites in fish products indicates a harmful sanitary problem since some species can be associated to several diseases in humans, such as zoonosis, allergy and anaphylactic reactions (Audicana et al. 1995, Del Pozo et al. 1999, Lopez-Serrano et al. 2000, Antón et al. 2008, Hoshino & Narita 2011). Even products undergoing physical processing as refrigeration and freezing, or brine may represent a risk to consumer health since nematode larvae are very resistant to such processes (São Clemente et al. 1994, Marques et al. 1995, São Clemente et al. 1996). It is also known that *Anisakis* sp. larvae can cause damages to the human health, even when ingested dead (Audicana et al. 2002, Caballero & Moneo 2004, Audicana & Kennedy 2008). The risk of several pathological conditions is most accentuated for populations whose main diet is composed by regular fish ingestion (Olivero-Verbel et al. 2006).

The present study aimed to evaluate the parasitism by nematode larvae in different commercially important fish from Rio de Janeiro State, Brazil.

MATERIAL AND METHODS

Specimens of marine fish were obtained from fish markets and fishermen from Niterói and Cabo Frio municipalities, Rio de Janeiro State, at early hours between March/2009 and March/2012. A total of 207 specimens belonging to six different commercially important fish species, with varied food habits, were collected and transported inside isothermic bags with ice for examination at the Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Pescado at the Veterinary School of Universidade Federal Fluminense. Fish specimens belonged to: *Micropogonias furnieri* (n=107; 24.0-65.0 cm); *Trichiurus lepturus* (n=35; 94.0-138.0 cm); *Centropomus undecimalis* (n=22; 27.0-56.0 cm); *Genypterus brasiliensis* (n=18; 39.0-88.1 cm); *Pagrus pagrus* (n=18; 29.0-67.0 cm) and *Pomatomus saltatrix* (n=7; 57.0-76.1 cm).

The fish specimens were measured, identified according to Figueiredo & Menezes (2000) and submitted to necropsy at the laboratory. Parasite recovery was performed following the methodology proposed by Eiras et al. (2006).

Taxonomic identification of nematode larvae was based on Rego et al. (1983) and Petter & Maillard (1988). The collected larvae were also compared with those recovered from *Micropogonias furnieri* (CHIOC 33841), *Trichiurus lepturus* (CHIOC 33901, 34400), *Genypterus brasiliensis* (CHIOC 34650, 35535) and *Pagrus pagrus* (CHIOC 34436, 33437) deposited in the helminthological collection of the Instituto Oswaldo Cruz, confirming the identification.

Descriptive statistics are used to describe the parasite prevalence, intensity, mean intensity, mean abundance and infection range of the samples according to Bush et al. (1997).

RESULTS

A total of 1257 larvae were recovered at five of the six fish species analyzed. From 207 fish specimens, 24.63% were parasitized by anisakid larvae. According to fish species the prevalence rate was: *P. saltatrix* (85.71%); *T. lepturus* (71.42%), *P. pagrus* (55.55%), *G. brasiliensis* (50.00%), and *M. furnieri* (0.93%). No nematode larva was found in specimens of *C. undecimalis*. The anisakid nematodes were identified as *Contracaecum* sp (20.28%) and *Anisakis* sp (10.14%). Prevalence, intensity/mean intensity, mean abundance and infection range of *Anisakis* sp. and *Contracaecum* sp., for each fish species, are presented in Table 1 and 2. Larvae were located in intestinal mesenteries, hepatic capsule and gastric serosa. Morphometric and parasitic parameters of *P. saltatrix*, *T. lepturus*, *P. pagrus* and *G. brasiliensis* are presented in Table 3.

DISCUSSION

Barros & Amato (1993), São Clemente et al. (1995), Silva et al. (2000) and Carvalho & Luque (2011) observed higher prevalence rates of anisakid larvae in *T. lepturus* from Rio de Janeiro coast. The predominance of *Contracaecum* sp larvae in comparison to other anisakid genera in this fish species was a finding similar to those reported by São Clemente et al. (1995) and Silva et al. (2000). Shih (2004), Jakob & Palm (2006) also observed the parasitism of *T. lepturus* by anisakid larvae in other regions of the world such as Taiwanese coast and Southern Java coast, respectively. However, at both investigations *Anisakis* sp was the anisakid most prevalent and none *Contracaecum* sp larva was observed. The high prevalence and intensity of parasitism observed now and previously in *T. lepturus* may be related to its carnivorous feeding habits (Meyer & Smale 1991, Martins & Himovici 1997). The high frequency of anisakidae larvae may indicate the involvement of *T. lepturus* in the food chain of the region serving as prey for birds and marine mammals, natural definitive hosts of anisakid nematodes (Silva et al. 2000).

Lower prevalence rates of anisakids in *G. brasiliensis* was previously observed by Alves et al. (2002) and Knoff et al. (2007) in Rio de Janeiro State, but the differences may be due to the diverse sample size.

Anisakids have been described in *Micropogonias furnieri* of South America, however, a low prevalence rate was detected at the present study. Other parasites with sanitary importance, including Trypanorhyncha cestodes, had been commonly described for this fish species (São Clemente 1986, Alves & Luque 2001) and also showed to be more frequent in a previous study (Luque et al. 2010).

The present results for prevalence of *Contracaecum* sp (50.00%) and *Anisakis* sp (22.22%) in *P. pagrus* were lower than observed by São Clemente et al. (1994), Paraguassú et al. (2002) and higher than reported by Saad & Luque (2009), although in the last, only flesh samples were analyzed.

Rego et al. (1983) and Luque & Chaves (1999) described a greater diversity of anisakidae in *P. saltatrix*, and despite our prevalence rate was higher, it may be due to the different sample size. Therefore, the small sample size may have influenced the absence of parasites.

Despite the absence of nematode larvae in *C. undecimalis* at the present study, previous reports of Tavares & Luque (2004) and Tavares & Luque (2006) described nematode larvae parasitizing these fish genus in the same geographical region. According to Fujimoto et al. (2009) the parasites most frequently found in *Centropomus* sp. are digeneans and monogeneans.

It was observed higher prevalence rates and mean intensity in larger specimens of *T. lepturus* and *G. brasiliensis*. Positive correlations between parasite index and host length for nematode larvae were observed by Sardella & Timi (1996) in *Merluccius hubbsi*, Cremonte &

Sardella (1997) in *Scomber japonicus*, Olivero-Verbel et al. (2006) in *Hoplias malabaricus*, and Lacerda et al. (2009) in freshwater fish from Pantanal, Brazil. These results may be due to cumulative effect by eating habits and consequent continuous reinfections. However, Olivero-Verbel et al. (2011) observed that fish condition factor correlated negatively with parasitic intensity, suggesting that parasites should be somehow impacting the physiological functions related to growth and development of the hosts.

The presence of anisakid larvae mostly in the mesentery and viscera serosa might limit their zoonotic potential. However, it is important to consider the high prevalence and intensity observed in some species, as well as the commercial importance of the fish. According to Smith & Wootten (1975), Marques et al. (1995) and Wharton et al. (1999), there is an important risk to human health in case of larvae migration to flesh, if the fish were not frozen, eviscerated or filleted just after capture.

REFERENCES

- Audicana M.T., Fernandez de Corres L., Munoz D. et al. Recurrent anaphylaxis caused by *Anisakis simplex* parasitizing fish. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 96:558-560, 1995.
- Audicana M.T., Ansotegui L.J., Fernández, L. et al. *Anisakis simplex*: dangerous dead and alive? *Parasitol. Res.*, 18:20-24, 2002.
- Audicana M.T. & Kennedy M.V., *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clin. Microbiol. Rev.*, 21:360-379, 2008.
- Alves D.R. & Luque J.L. Community Ecology of the Metazoan Parasites of White Croaker, *Micropogonias furnieri* (Osteichthyes: Sciaenidae), from the Coastal Zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 96(2):145-153, 2001.
- Alves D.R., Luque J.L. & Paraguassú A.R. Community Ecology of the Metazoan Parasites of Pink Cuskeel, *Genypterus brasiliensis* (Osteichthyes: Ophidiidae), from the Coastal Zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 97(5):683-689, 2002.
- Antón J., Escudero R. & Fernández-Benítez M. Anaphylaxis induced by *Anisakis*. *Allergol. Immunopathol.*, 36:53-55, 2008.
- Barros G.C. & Amato J.F.R. Larvas de anisakídeos de peixe-espada, *Trichiurus lepturus* L., da costa do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Brasil. Biol.*, 53:241-245, 1993.
- Barroso R.M. & Wiefels A.C. *Mercado de Pescado da Região Metropolitana do Rio de Janeiro*. CFC/FAO/INFOPECA, 2010.114p.
- Bush A.O., Lafferty K.D., Lotz J.M. et al. Parasitology meets Ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.*, 83:575-583, 1997.
- Caballero M.L. & Moneo I. Several allergens from *Anisakis simplex* are highly resistant to heat and pepsin treatments. *Parasitol. Res.*, 93:248-251, 2004.
- Carvalho A.R. & Luque J.L. Seasonal variation in metazoan parasites of *Trichiurus lepturus* (Perciformes: Trichiuridae) of Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.*, 71(3):771-782, 2011.
- Cremonte F. & Sardella N.H. The parasite Fauna of *Scomber japonicus* Houttuyn, 1782 (Pisces: Scombridae) in two zones of the Argentine Sea. *Fisheries Research*, 31:1-9, 1997.
- Del Pozo V., Arrieta I., Tuñón T. et al. Immunopathogenesis of human gastrointestinal infection by *Anisakis simplex*. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 104(3):637-643, 1999.
- Eiras J.C., Pavanelli G.C. & Takemoto, R.M. *Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes*. 2ed. Maringá: EDUEM, 2006. 199p.
- Figueiredo J.L. & Menezes N.A. *Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil, vol. VI Teleostei (5)*. São Paulo, Museu de Zoologia - USP, 2000.116p.

- Fujimoto R.Y., Santana C.A., Carvalho W.L.C. et al. Hematologia e parasitas metazoários de camurim (*Centropomus undecimalis*, Bloch, 1792) na Região Bragantina, Bragança-Pará. *B. Inst. Pesca*, 35(3):441-450, 2009.
- Hoshino C. & Narita M. Anisakis simplex-induced anaphylaxis. *J. Infect. Chemother.*, 17(4):544-6, 2011.
- IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. *Estatística da pesca 2007- Brasil: grandes regiões e unidades da federação*. Brasília, DF. 2007. 151p.
- Jakob E. & Palm H.W. Parasites of commercially important fish species from the southern Java coast, Indonésia, including the distribution pattern of trypanorhynch cestodes. *Verhandlungen der Gesellschaft für Ichthyologie*, 5:165-191, 2006.
- Knoff M., São Clemente S.C., Fonseca, M.C.G. et al. Anisakidae parasitos de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil de interesse na saúde pública. *Parasitol. Latinoam.*, 62:127-133, 2007.
- Lacerda A.C.F., Santin M., Takemoto R.M. et al. Helminths parasitizing larval fish from Pantanal, Brazil. *J. Helminthol.*, 83:51-55, 2009.
- López-Serrano M.C., Alonso Gómez A., Daschner A. et al. Gastroallergic anisakiasis: Findings in 22 patients. *J. Gastroent. Hepatol.*, 15:503-506, 2000.
- Luque J.L. & Chaves N.D. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos da anchova *Pomatomus saltator* (Linnaeus) (Osteichthyes, Pomatomidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revta bras. Zool.*, 16(3):711-723, 1999.
- Luque J.L., Cordeiro A.S. & Oliva M.E. Metazoan parasites as biological tags for stock discrimination of whitemouth croaker *Micropogonias furnieri*. *Journal of Fish Biology*, 76; 591-600, 2010.
- Marques M.C., São Clemente S.C., Barros G.C. et al. Utilizando o frio (resfriamento e congelamento) na sobrevivência de larvas de nematoides anisakídeos em *Trichiurus lepturus* (L.). *Hig. Alim.*, 9:23-28, 1995.
- Martins A.S. & Haimovici M. Distribution, abundance and biological interactions of the cutlassfish *Trichiurus lepturus* in the southern Brazil subtropical convergence ecosystem. *Fish. Res.*, 30:217-227, 1997.
- Martins M.L., Onaka E.M. & Fenerick Jr. J. Larval *Contracaecum* sp. (Nematoda: Anisakidae) in *Hoplias malabaricus* and *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Osteichthyes: Erythrinidae) of economic importance in occidental marshlands of Maranhão, Brazil. *Vet. Parasitol.*, 127:51-59, 2005.
- Meyer M. & Smale M.J. Predation patterns of demersal teleosts from the Cape south and west coasts of South Africa. 1. Pelagic predators. *S. Afr. Jour. Mar. Sci.* 11: 173-191, 1991.
- Olivero-Verbel J., Baldiris-Ávila R., Güette-Fernández J. et al. *Contracaecum* sp. infection in *Hoplias malabaricus* (moncholo) from rivers and marshes of Colombia. *Vet. Parasitol.*, 140:90-97, 2006.
- Olivero Verbel J., Caballero-Gallardo K. & Arroyo-Salgado B. Nematode infection in fish from Cartagena Bay, North Colombia. *Vet. Parasitol.*, 177:119-126, 2011.
- Paraguassú A.R., Luque J.L. & Alves D.R. Community ecology of the metazoan parasites of red porgy, *Pagrus pagrus* (L., 1758) (Osteichthyes, Sparidae), from the coastal zone, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Scientiarum*, 24(2):461-467, 2002.
- Petter A.J. & Maillard C. Larves d'ascarides parasites de poissons en Méditerranée occidentale. *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.*, 10:347-369, 1988.
- Rego A.A., Vicente J.J., Santos C.P. et al. Parasitas de anchovas *Pomatomus saltatrix* (L.) do Rio de Janeiro. *Cienc. Cult.*, 35:1329-1336, 1983.

- Rojas J.C. Contribuición al conocimiento de la biología de los robalos *Centropomus undecimalis* e *C. poeyi* en la Laguna de Términos, Campeche, México. *Boletim do Instituto Oceanográfico Universidad de Oriente*, 14(1):51-70, 1975.
- Saad C.D.R. & Luque J.L. Larvas de Anisakidae na musculatura do pargo, *Pagrus pagrus*, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 18(S1):71-73, 2009.
- São Clemente S.C. Plerocercos da Ordem Trypanorhyncha, parasitos de corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest) no litoral do Estado do Rio de Janeiro. *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro.*, 26:29-36, 1986.
- 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. *Rev. Bras. Cienc. Vet.*, 1:21-24, 1994.
- São Clemente S.C., Marques M.C., Serra Freire N.M. et al. Análise do parasitismo de peixe espada *Trichiurus lepturus* (L.) do litoral do Rio de Janeiro. *Parasitol. Al Día*, 19:146-149, 1995.
- São Clemente S.C., Silva C.M. & Lucena F.P. Sobrevivência de larvas de anisakídeos de peixe espada *Trichiurus lepturus* (L.), submetidos aos processos de salmouragem e cocção. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, 3:79-80, 1996.
- Sardella N.H. & Timi J.T. Parasite communities of *Merluccius hubbsi* from the Argentinian-Urugayan common fishing zone. *Fisheries Research*, 27 (96):81-88, 1996.
- Shih H.H. Parasitic helminth fauna of the cutlass fish, *Trichiurus lepturus* L., and the differentiation of four anisakid nematode third-stage larvae by nuclear ribosomal DNA sequences. *Parasitol. Res.*, 93:188-195, 2004.
- Silva L.O., Luque J.L. & Alves D.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 Zootecnia*, 2(2):115-133, 2000.
- Smith J.W. & Wootten R. Experimental studies on migration of *Anisakis* sp. larvae (Nematoda: Ascaridata) into the flesh of herring, *Clupea harengus* L. *International J. Parasitol.*, 5: 133-136, 1975.
- Tavares L.E.R. & Luque Alejos J.L.R. Community ecology of metazoan parasites of the later juvenile common snook *Centropomus undecimalis* (Osteichthyes: Centropomidae) from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.*, 64(3A):523-529, 2004.
- Tavares L.E.R. & Luque Alejos J.L.R. Sistemática, biologia e importância em saúde coletiva das larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas de peixes ósseos marinhos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, p.297-328. In: *Sanidade de Organismos aquáticos no Brasil*. ABRAPOA, Maringá, PR, 2006.
- Vasconcellos M., Kalikoski D.C., Haimovici M. et al. Capacidad excesiva del esfuerzo pesquero en el sistema estuarino-costero del sur de Brasil: efectos y perspectivas para su gestión, p. 275-311. In: *Capacidad de pesca y manejo pesquero en América Latina y el Caribe*. Agüero, M Ed. FAO Documento Técnico de Pesca, 2007.
- Wharton D., Hassall M. & Alders O. *Anisakis* (Nematoda) in some New Zealand inshore fish. *New Zealand J. Mar. Freshwater Res.*, 33:643-648, 1999.

Table 1 - Prevalence (P), intensity and mean intensity (I/MI), mean abundance (MA), infection range (IR) and infection site of *Anisakis* sp recovered from marine fish in the State of Rio de Janeiro from March/2009 to March/2012.

Host	N	P (%)	I/MI	MA	IR	Site
<i>Pomatomus saltatrix</i>	7	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Trichiurus lepturus</i>	35	28.57	8.60	2.45	1-54	M
<i>Pagrus pagrus</i>	18	22.22	8.25	1.83	2-13	M, Hc
<i>Genypterus brasiliensis</i>	18	38.88	9.85	3.83	1-22	M
<i>Micropogonias furnieri</i>	107	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Centropomus undecimalis</i>	22	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.

M (Mesenteries); H (Hepatic capsule); n.i. (not infected)

Table 2 - Prevalence (P), intensity and mean intensity (I/MI), mean abundance (MA), infection range (IR) and infection site of *Contracaecum* sp recovered from marine fish in the State of Rio de Janeiro from March/2009 to March/2012.

Host	N	P (%)	I/MI	MA	IR	Site
<i>Pomatomus saltatrix</i>	7	85.71	8.66	7.42	2-20	M, Hc, Gs
<i>Trichiurus lepturus</i>	35	68.57	30.50	20.91	1-120	M, Hc
<i>Pagrus pagrus</i>	18	50.00	28.00	14.00	1-85	M, Hc
<i>Genypterus brasiliensis</i>	18	11.11	15.50	1.72	15-16	M
<i>Micropogonias furnieri</i>	107	0.93	2.00*	0.018	2	M
<i>Centropomus undecimalis</i>	22	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.

M (Mesenteries); Hc (Hepatic capsule); Gs (Gastric serosa); n.i. (not infected)

*Intensity (only one fish parasitized)

Table 3 - Prevalence (P), intensity and mean intensity (I/MI), mean abundance (MA), infection range (IR) of anisakid larvae according to host length classes in *Pomatomus saltatrix*, *Trichiurus lepturus*, *Pagrus pagrus* and *Genypterus brasiliensis* from fish markets and fishermen of Rio de Janeiro State, Brazil, between March/2009 to March/2012.

Host/Length classes (cm)	N	P (%)	I/MI	MA	IR
<i>Pomatomus saltatrix</i>					
57.0-66.5	3	66.66	9.00	6.00	2-16
66.6-76.1	4	100.00	8.50	8.50	3-20
<i>Trichiurus lepturus</i>					
94.0-108.6	10	60.00	3.33	2.00	1-12
108.7-123.3	13	61.53	27.25	16.76	1-157
123.4-138.0	12	91.66	52.72	48.33	1-121
<i>Pagrus pagrus</i>					
29.0-41.6	11	54.54	10.50	5.72	1-25
41.7-54.3	6	50.00	56.66	28.33	27-98
54.4-67.0	1	100.0	52.00*	52.00*	52*
<i>Genypterus brasiliensis</i>					
39.0-51.2	4	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
51.3-63.5	5	40.00	10.00	4.00	5-15
63.6-75.8	5	80.00	16.00	6.40	1-16
75.9-88.1	4	75.00	16.00	12.00	8-22

*Only 1 fish in the class and parasitized; n.i. (not infected)

4.2 ARTIGO 2: IMMUNOGENIC ACTIVITY OF THE FISH PARASITE *Pterobothrium heteracanthum* (TRYPANORHYNCHA: PTEROBOTHRIIDAE) IN BALB/c MICE

Immunogenic activity of the fish parasite *Pterobothrium heteracanthum* (Trypanorhyncha: Pterobothriidae) in BALB/c mice

Danuza Pinheiro Bastos Garcia de Mattos^{a*}, Maurício Afonso Verícimo^b; Leila Maria Silva Lopes^c; Sérgio Carmona de São Clemente^c

^aDepartamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense. Hernani de Mello 101, São Domingos, Niterói - RJ 24210-130 Brazil. E-mail: danuzamattos@vm.uff.br

^bDepartamento de Imunobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense. Outeiro São João Batista, Centro, Niterói - RJ 24210-150, Brazil. E-mail: vericimo@vm.uff.br

^cLaboratório de Inspeção e Tecnologia de Pescado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense. Vital Brazil 64, Santa Rosa, Niterói - RJ 24230-340, Brazil E-mail: leilamsl@ig.com.br

*Corresponding author. Tel. +55 21 26292424

E-mail address: danuzamattos@vm.uff.br (DPBG Mattos)

Abstract

The aim of the study was to verify the immunogenic activity of the crude parasite extract (CPE) of *Pterobothrium heteracanthum* obtained from *Micropogonias furnieri* in BALB/c mice. Three groups of six animals each received 10 µg, 50 µg, or 100 µg of CPE of *P. heteracanthum*, respectively, at days 0 and 35. Serum samples were tested for specific IgG and IgE levels by ELISA, showing specific humoral response both for primary and secondary immunizations. The *P. heteracanthum* CPE showed specific recognition region by immunoblot assay between 60-75 kDa and 30-40 kDa. This is the first report about the immunogenic activity of Pterobothriidae metacestodes indicating that CPE of *P. heteracanthum* has allergic potential in exposed animals.

Keywords: Allergy; plerocercus; cestode; *Micropogonias furnieri*

Trypanorhynch cestodes present worldwide distribution, especially in the tropical and subtropical regions, and are among the most habitual parasite taxa of sharks and stingrays (final hosts). Numerous teleost fish can be parasitized by their larval stages (plerocerci),

which compromises the commercial value of the stock when present in flesh [1-7]. The increasing worldwide consumption of raw, undercooked or poorly processed fish has increased the medical concern in several countries about human infections by fish parasites and some allergic related reactions [8-10]. The human accidental parasitism by Trypanorhynch cestodes is extremely rare and brief, however Pelayo et al. (2009) showed the seroprevalence of immune response against the trypanorhyncha cestode *Gymnorhynchus gigas* in a Spanish population, and highlighted the hazard of allergic reactions to humans, even after freezing the fish [9].

Allergic manifestations to fish parasite antigens are well known and frequently related to Anisakidae family. Only a few investigations were developed to study the allergic potential of others fish parasites like Trypanorhyncha cestodes (*Gymnorhynchus gigas* and *Molicola horridus*), using different immunization protocols and administration pathways [11-14].

Pterobothriidae Trypanorhynchs, specifically *Pterobothrium* sp., have been described in mesenteries, viscera serosa and flesh of marine and freshwater animals of Australia, Indonesia, Sri Lanka, India, Persian Gulf, West African coast, Gulf of Mexico and Atlantic coast of South America [2,3,5,6]. Considering the lack of data about the allergenic potential of Pterobothriidae trypanorhynchs, the aim of the present study was to determine if the crude extract of *Pterobothrium heteracanthum* (Diesing, 1850), the species considered by taxonomists as type for the genus, has antigenic compounds able to induce specific immune responses in murine experimental model.

Plerocerci of *P. heteracanthum* and its blastocysts were manually collected, with the aid of scissors and forceps, from naturally infected whitemouth croackers, *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) sold in fish markets of Rio de Janeiro, Brazil. *M. furnieri* is an important market fish which inhabits Atlantic Ocean from the Gulf of Mexico to Argentina, and frequently parasitized by *Pterobothrium* sp. [1,15].

The crude parasite extract (CPE) was obtained after extensive washing of the plerocerci and blastocysts using sterile 0.1M phosphate buffered saline (PBS) pH 7.3 supplemented with 5% penicillin and 5% streptomycin and finally with sterile PBS. The larvae were homogenized in Potter-Elvehjem homogenizer (Thomas Scientific, PA, USA) and Tissue Ruptor (Qiagen) for six cycles of 30 seconds each. The suspension was centrifuged at 60,000 g at 4°C for 30 minutes. The supernatant was filtered in 0.22 µm filter (MillexGV, Millipore, France). Same protocol was used to prepare the crude fish extract (CFE) of *M. furnieri* used as control antigen for serological assays. The protein dosage of CPE and CFE were estimated according to Lowry et al.(1951) [16].

Ten week old female BALB/c mice were separated in three experimental groups with six animals each and immunized intraperitoneally (i.p.) at days 0 and 35 with 200µl of 10 or 50 or 100 µg/mouse of CPE suspensions with 2.0 mg of commercial aluminum hydroxide suspension (Al(OH)₃). Furthermore, a separate control group (n=5) received at the same times and pathway only the suspension with sterile saline and aluminum hydroxide. Blood samples were collected from each animal by the retro-orbital plexus before the prime immunization (as a second experimental control), and at 14, 21, 35, 42, 49 and 56 days post prime immunization. Samples were centrifuged to obtain sera, which was stored at -20°C until proceedings. The study was developed according to the norms of ethics committee on animal research of the institute (Universidade Federal Fluminense, protocol 038/2009).

Specific IgG and IgE serum levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with similar methodology described by Antunes et al. (2009) [17]. Briefly, 96-well microtiter plates (Nunc MaxiSorp) were coated with 20µg/mL (1µg/well) of CPE. Samples were measured in serial dilutions for IgG (1:100, 1:300, 1:900, 1:2700) and IgE (1:100; 1:200; 1:400, 1:800), incubated with peroxidase conjugated rabbit polyclonal anti-mouse IgG (H+L, Sigma-Aldrich) or rat anti-mouse IgE ε (Invitrogen) antibodies (50µL/well)

diluted 1:10000 and 1: 500, respectively. Reactions were developed with 50 μ L/well of substrate (O-phenylene-diamine; Sigma-Aldrich) at 0.04% in phosphate-citrate buffer (pH 5.0) with 0.04% hydrogen peroxide. Chromogenic reaction was stopped with 50 μ L/well of 3N sulphuric acid. The optical density (O.D.) was determined by spectrophotometry (Anthos 2010, Krefeld, Germany) at 492 nm. ELISA scores were computed by running sums of ODs between 1:100 and 1:2700 (IgG) or 1:100 and 1:800 (IgE) of serum dilutions. Each score represents a mean \pm standard error of the mean (SEM) for groups of five to six animals, as indicated in the figure legend. As control for cross reactivity with fish tissues, ELISA was performed for IgG using CFE as antigen following the same protocol.

Amounts of CPE (0.1 mg) were denatured and electrophoresed through SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) using 4-12% gradient gel during 2h at 140v per 100 x 100 mm gel (Vertical System Bio-Rad Headquarters, California, USA). For the immunoblot, 0.3 mg of CPE was applied to the same SDS-PAGE conditions and transferred from the separating gel to nitrocellulose membrane in a “sandwich” system between 4 sheets of blotting paper (extra thick, Sigma-Aldrich or Whatman 3MM) soaked in transfer buffer in a Semi-dry blotter (Bio-Rad, CA, USA). Subsequently, the membranes were blocked with 5% free fat milk (Nestle) in PBS solution overnight. After blocking, the membranes were washed with 0.05% PBS-Tween and dried for a few minutes at room conditions. The membrane strips were incubated overnight with the serum samples diluted 1:100 in blocking buffer at room temperature (RT) with rocking. Pre-immune and control group sera were also tested as control. After washing four times with TBS-Tween (TTBS), the membranes were exposed to 1:1000 peroxidase labeled goat anti-mouse IgG (Bio-Rad, CA, USA) at RT with rocking for 2h. After four final washes, the peroxidase substrate (3,3'-diaminobenzidine, Sigma-Aldrich, USA) was added to reveal the Ag/IgG interaction.

Tukey test was performed for statistical analyses using GraphPad InStat software <www.graphpad.com> (GraphPad Software, CA, USA). Differences were considered statistically significant at P value < 0.05 .

Specific IgG and IgE were detected in serum samples of experimental groups from day 14 with significant increased levels when compared to control group sera (Fig.1). The highest IgG level was observed for the samples collected on the last experimental day from animals immunized with 50 μ g of CPE. After second immunization, it was observed an increase in both IgG and IgE levels means of all experimental groups until the end of the study.

Cross-reactions between CPE and CFE antigens were not observed by ELISA assay and there was no specific humoral response detectable in serum of animals before the prime immunization or in control group.

SDS-PAGE revealed a protein profile with the sharpest band near to 75 kDa. Specific IgG recognized proteins between 75 kDa and 60 kDa and between 40 kDa and 30 kDa (Fig. 3). No reactivity was observed when the pre-immune or control group sera were incubated with the CPE membrane.

The present results corroborates previous data that indicates BALB/c mice as murine model for identifying and characterizing allergens with protein nature after challenging by i.p. antigenic administration [14,18,19]. Oral administration could better mimetize the actual human exposure to fish parasites by feeding. However, due to the mechanism of oral tolerance, the capacity of IgE response in murine model by this same route may not be sensible or reliable enough with conflictant results already observed [12-14,18].

The difference of induced response between the three antigen concentrations evaluated was statistically significant at days 49 (IgG; groups 10 vs 50 μ g, $p<0.05$), 42 (IgE; groups 10 vs 50 μ g, $p<0.05$) and 56 (IgG; 10 vs 50 μ g, and 50 vs 100 μ g, both $p<0.001$; and IgE for

same groups, $p < 0.01$) after prime immunization. Nevertheless, all concentrations were statistically different from the control group after 14 days post prime immunization for IgE response ($p < 0.001$).

Previous studies evaluated doses of trypanorhynch extract equal or greater than $50\mu\text{g}/\text{mouse}$ to obtain an specific response [11,12,14]. Our results show that even a lower dose ($10\mu\text{g}/\text{mouse}$) of *P. heteracanthum* CPE is already capable to induce specific response in BALB/c mice.

The evaluation of immunogenic capacity of *P. heteracanthum* CPE after both primary and secondary i.p. inoculation was showed by ELISA with detectable and increasing levels of specific IgG and IgE until end of the experiment, which suggests the allergenic potential of *P. heteracanthum* CPE since the high IgE and IgG (mainly IgG1) levels are previously known to be related to the regulation of hypersensitivity reactions [11,12,20].

The SDS-PAGE and Western blot profile of *P. heteracanthum* CPE presented mostly high weight proteins (sharpest band near to 75 kDa). Previous experimental studies had shown that 26 and 75 kDa proteins and a molecular complex below 100 kDa of *Molicola horridus* were recognized by specific IgG, likewise *Gymnorhynchus gigas* extract that presented a 24 kDa IgG binding protein [13,14].

Further studies about cross reactivity between different trypanorhynchs would be relevant. Moreover, complementary clinical trials are required to elucidate if the immunogenic activity of *P. heteracanthum* CPE could represent a risk to human health since the present results indicate that *P. heteracanthum* antigens have allergic potential in exposed animals.

Acknowledgements

The authors thank Eduardo Martins Barbosa for processing the figures.

References

- [1] Overstreet RM. Trypanorhynch Infections in the Flesh of Sciaenid Fishes. *Mar Fish Rev.* 1978; 40(10):37-8.
- [2] Palm H, Möller H, Petersen F. *Otobothrium penetrans* (Cestoda; Trypanorhyncha) in the flesh of belonid fish from Philippine waters. *Int J Parasitol.* 1993; 23(6):749-55. [3] Campbell RA, Beveridge I. Revision of the Family Pterobothriidae Pintner, 1931 (Cestoda:Trypanorhyncha). *Invertebr Taxon.* 1996; 10:617-62.
- [4] Palm HW. Trypanorhynch Cestodes of Commercial Fishes from Northeast Brazilian Coastal Waters. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1997; 92(1):69-79.
- [5] Al-Zubaidyl AB, Mhaisen FT. Larval tapeworms (Cestoda: Trypanorhyncha) from some Red Sea fishes, Yemen. *Mesopot J Mar Sci.* 2011; 26(1):1-14.
- [6] Fonseca MCG, São Clemente SC, Felizardo NN, Gomes DC, Knoff M. Trypanorhyncha cestodes of hygienic-sanitary importance infecting flounders *Paralichthys patagonicus* Jordan, 1889 and *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891) of the Neotropical region, Brazil. *Parasitol Res.* 2012; 111:865-74.
- [7] Haseli M, Malek M, Valinasab T, Palm HW. Trypanorhynch cestodes of teleost fish from the Persian Gulf, Iran. *J Helminthol.* 2011; 85(2):215-24.
- [8] Puente P, Anadón AM, Rodero M, Romarís F, Ubeira FM, Cuéllar C. *Anisakis simplex*: The high prevalence in Madri (Spain) and its relation with fish consumption. *Exp Parasitol.* 2008; 118:271-4.
- [9] Pelayo V, García-Hernández P, Puente P, Rodero M, Cuéllar C. Seroprevalence of Anti-*Gymnorhynchus gigas* (Trypanorhyncha, Gymnorhynchidae) Antibodies in a Spanish Population. *J Parasitol.* 2009; 95(3):778-80.
- [10] Broglia A, Kapel C. Changing dietary habits in a changing world: Emerging drivers for the transmission of foodborne parasitic zoonoses. *Vet Parasitol.* 2011; 182 (1):2-13.

- [11] Rodero M, Cuéllar C. Humoral immune responses induced by *Gymnorhynchus gigas* extracts in BALB/c mice. *J Helminthol.* 1999; 73:239-43.
- [12] Vazquez-Lopez C, De Armas-Serra C, Bernardina W, Rodriguez-Caabeir F. Oral inoculation with *Gymnorhynchus gigas* induces anti-parasite anaphylactic antibody production in both mice and rats and adverse reactions in challenge mice. *Int J Food Microbiol.* 2001; 64:307-315.
- [13] Vazquez-Lopez C, De Armas-Serra C, Bernardina W, Rodriguez-Caabeir F. A 24-kDa collagenase from *Gymnorhynchus gigas* elicits rat ileum hyperreactivity and is a target of humoral responses in mice previously given a single oral dose of parasite extract. *Dig Dis Sci.* 2002; 47:935-942.
- [14] Gòmez-Morales MA, Ludovisi A, Giuffra E, Manfredi MT, Piccolo G, Pozio E. Allergenic activity of *Molicola horridus* (Cestoda, Trypanorhyncha), a cosmopolitan fish parasite, in a mouse model. *Vet Parasitol.* 2008; 157:314-320.
- [15] Alves DR, Luque JL. Community Ecology of the Metazoan Parasites of White Croaker, *Micropogonias furnieri* (Osteichthyes: Sciaenidae), from the Coastal Zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001; 96(2):145-53.
- [16] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall R J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193: 265-275.
- [17] Antunes DMF, Costa JP, Campos SMN, Paschoal PO, Garrido V, Siqueira M, et al. The serum D-xylose test as a useful tool to identify malabsorption in rats with antigen specific gut inflammatory reaction. *Int J Exp Path.* 2009; 90:141–147.
- [18] Dearman RJ, Kimber I. Determination of protein allergenicity: studies in mice. *Toxicol Lett.* 2001; 120:181-6.

[19] Van der Ventel ML, Nieuwenhuizen NE, Kirstein F, Hikvam C, Jeebhay MF, Swoboda I, et al. Differential responses to natural and recombinant allergens in a murine model of fish allergy. *Mol Immunol.* 2011; 48:637-46.

[20] Martínez de Velasco G, Rodero M, Zapatero L, Cuéllar C. Humoral Immune Responses Induced by *Kudoa* sp. (Myxosporea: Multivalvulida) Antigens in BALB/c Mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002; 97(8):1091-5.

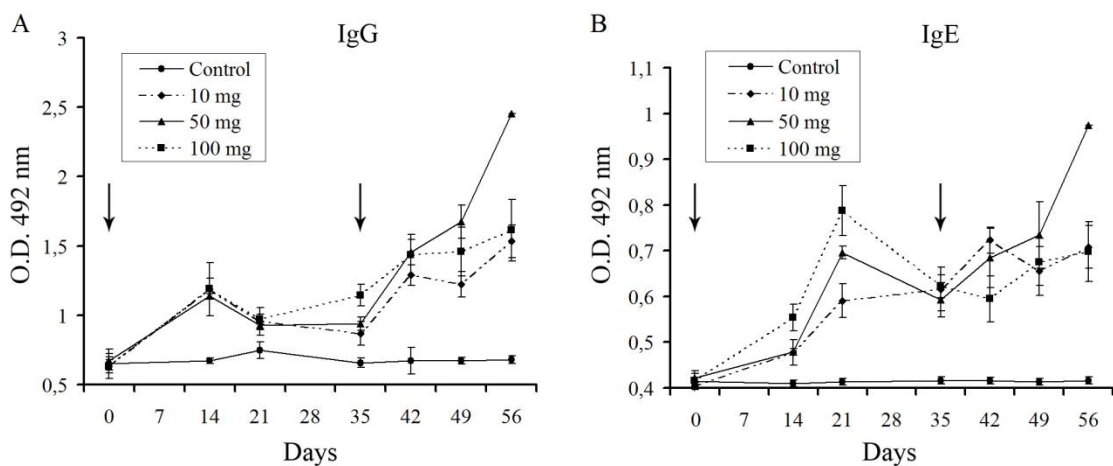


Figure 1 - Kinetic of specific IgG (A) and IgE (B) serum levels of BALB/c mice immunized intraperitoneally on days 0 and 35 with 10 µg (◆) or 50 µg (▲) or 100 µg (■) of crude *Pterobothrium heteracanthum* extract and control group (●). Values indicate the means of the somatory of optical densities (OD) of individual mouse sera in each experimental group (n=6) and control (n=5). Standard error of the mean (\pm S.E.M.) of each group is include.

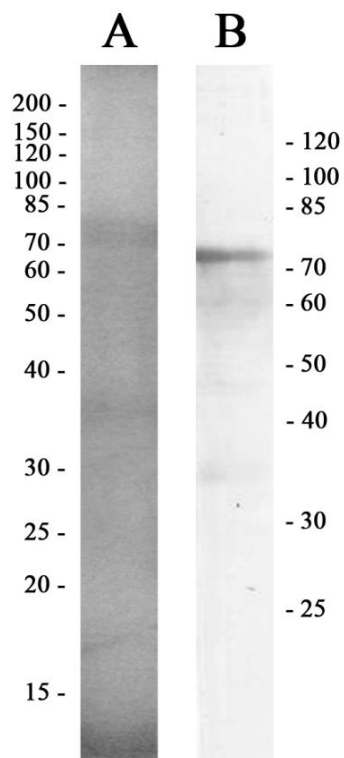


Figure 2 - Protein profile of *P. heteracanthum* crude parasite extract (CPE) in 12% SDS-PAGE visualized with Coomassie Blue (A) with molecular weight marker reference in kDa and Immunoblot (B) showing IgG recognizing immunogenic proteins of CPE in pooled sera from all sensitized mice seven days after second immunization.

4.3 ARTIGO 3: ALLERGENIC RESPONSE INDUCED BY *Pterobothrium crassicolle* (CESTODA: TRYPANORHYNCHA) EXTRACTS IN MURINE MODEL

Allergenic response induced by *Pterobothrium crassicolle* (Cestoda: Trypanorhyncha) extracts in murine model

MATTOS, Danuza Pinheiro Bastos Garcia^{1,4*}; VERÍCIMO, Maurício Afonso²; LOPES, Leila Maria Silva³; SÃO CLEMENTE, Sérgio Carmona^{3,4}

¹Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense. Rua Hernani de Mello, 101, São Domingos, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. Zip Code: 24210-130 E-mail: danuzamattos@vm.uff.br

²Departamento de Imunobiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense. Outeiro São João Batista, Centro, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. ZIP Code: 24210-150 E-mail: vericimo@vm.uff.br

³Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Pescado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense. Rua Vital Brazil, 64, Santa Rosa, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. ZIP Code: 24230-340 E-mail: leilamsl@ig.com.br

⁴Programa de Pós-graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense. Rua Vital Brazil, 64, Santa Rosa, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. ZIP Code: 24230-340 E-mail: scsc@vm.uff.br

*Corresponding author. Tel. 55 21 26292424.

E-mail address: danuzamattos@vm.uff.br (Mattos, DPBG)

Abstract

The aim of the study was to determine the allergenic activity of components present in the crude extract of *Pterobothrium crassicolle* plerocerci (CPE) and blastocysts (CBE) obtained from *Micropogonias furnieri* in murine model. Two groups of seven animals each received 50 µg of CPE or CBE of *P. heteracanthum* at days 1, 35 and 120. Serum samples were tested for specific IgG and IgE levels by ELISA, showing specific humoral response since primary immunization for both immunoglobulins and continuously growing titers for IgE. PCA positive tests in rats sensitized with sera anti-CBE and challenged by CBE, showed biologically the allergenic activity of this extract. The *P. crassicolle* CPE and CBE showed some different recognition regions but both experimental groups recognized all regions of the

extracts when tests for cross reactions, showing that CPE and CBE could share antigenic recognition sites.

Keywords: Fish parasite; Pterobothriidae; Plerocerci; Blastocysts; Anaphylaxis.

1. Introduction

Trypanorhynch cestodes present worldwide distribution, especially in the tropical and subtropical regions. They are amongst the most common metazoan parasites of marine fish (Palm, 2004), although freshwater organisms have also been reported as hosts (Rego, 1982, 1987; Campbell et al., 1999). Adult cestodes are found in the stomach and intestine of sharks and stingrays and metacestodes parasitize a wide variety of invertebrates and teleosts (Campbell and Beveridge, 1994; Palm et al., 2009). Their presence at body cavity, mesenteries, viscera serosa, and mostly flesh of teleost fish may compromise the commercial value of the stock, causing significant economic losses (Palm et al., 1993, 1994; Petersen et al., 1993; Palm, 1997; Al-Zubaidyl and Mhaisen, 2011; Dias et al., 2011; Fonseca et al., 2012).

The family Pterobothriidae Pintner, 1931 was recently reviewed and is composed by *Pterobothrium* Diesing, 1850 (with 12 valid species), *Pterobothrioides* Campbell & Beveridge 1997, *Cavearhynchus* Schaeffner & Beveridge, 2012 and *Stragulorhynchus* Beveridge & Campbell, 1988, despite the taxonomic placement still controversial for the last (Schaeffner and Beveridge, 2012). *Pterobothrium* species are the most abundant group of the family and have been described in Australia (Campbell and Beveridge, 1996; Palm et al., 2009; Zischke et al., 2009; Charters et al., 2010; Moore et al., 2011), Indonesia (Moore et al., 2003), Sri Lanka, India (Campbell and Beveridge, 1996), Persian Gulf (Haseli et al., 2010, 2011), West African coast (Palm et al., 1994), Gulf of Mexico (Overstreet, 1977; Campbell and Beveridge, 1996) and Atlantic coast of South America (Diesing, 1850; Rego et al. 1974;

Rego, 1987; Palm, 1997; São Clemente et al., 1991; Felizardo et al., 2010; Dias et al., 2011; Fonseca et al., 2012). *Pterobothrium heteracanthum* (Diesing, 1850), *Pterobothrium crassicolle* Diesing, 1850 and *Pterobothrium kingstoni* Campbell & Beveridge, 1989 have been reported invading the flesh of various teleost fish species (Overstreet, 1977; São Clemente et al., 1991; Palm, 1997; Felizardo et al., 2010).

Micropogonias furnieri (Desmarest, 1823), also known as whitemouth croaker, is an important commercially exploited fish which inhabits Atlantic Ocean from the Gulf of Mexico to Argentina and is frequently parasitized by trypanorhynch, specially *Pterobothrium* sp (Overstreet, 1978; Pereira Junior, 1993; Alves and Luque, 2001).

Due to the increasing worldwide consumption of raw, undercooked or poorly processed fish, the human accidental infections with fish parasites and some allergic related reactions have represented a serious public health hazard, enhancing the medical concern in several countries (Chai et al., 2005; Audicana and Kennedy, 2008; Dorny et al., 2009; Broglia and Kapel, 2011). The human parasitism by Trypanorhynch cestodes is extremely rare (Kikuchi et al., 1981; Fripp and Mason, 1983), however Pelayo et al. (2009) showed the seroprevalence of immune response against the trypanorhynch *Gymnorhynchus gigas* in a Spanish population. According to Deardorff et al. (1984), metacestode's toxins gradually released to fish tissues, mostly flesh, could represent a hazard for human health, as well as experimental studies had already highlighted the hazard of allergic reactions by trypanorhynchs (Rodero and Cuéllar, 1999; Vasquez-Lopez et al., 2001, 2002; Gómez-Morales et al., 2008).

Considering the lack of data about the allergenic potential of Pterobothriidae trypanorhynchs, the aim of the present study was to determine if the crude extract of *Pterobothrium crassicolle* (Diesing, 1850) plerocerci and blastocysts have antigenic compounds able to induce specific allergic responses in murine experimental model.

2. Material and methods

2.1 Parasites, crude extracts and protein determinations

The plerocerci of *P. heteracanthum* and its blastocysts were manually collected with the aid of scissors and forceps from *Micropogonias furnieri* sold in fish markets of Rio de Janeiro, Brazil.

The crude plerocerci extract (CPE) and the crude blastocysts extract (CBE) were obtained after separation of the metacestode parts at different containers followed by extensive washing using sterile 0.1M phosphate buffered saline (PBS) pH 7.3 supplemented with 5% penicillin and 5% streptomycin and finally with sterile PBS. The metacestode parts were singly homogenized in Potter-Elvehjem homogenizer (Thomas Scientific, PA, USA) and Tissue Ruptor (Qiagen) for six cycles of 30 seconds each. The suspension was centrifuged at 60.000 g at 4°C for 30 minutes. The supernatant was filtered in 0.22 µm filter (MillexGV, Millipore, France).

The same protocol was used to prepare the crude fish extract (CFE) of *M. furnieri* used as control antigen for serological assays. The protein dosage of CPE and CFE were estimated according to Lowry et al. (1951).

2.2 Animal model, immunization protocol and serum sample

Ten week old female BALB/c mice were maintained in separate cages according to their experimental group, receiving distilled water and food (Nuvilab CR-1, Nuvital Nutrientes S/A, Brazil) *ad libitum*. All animals received intramuscularly xylazine (200µg/kg body weight) associated with ketamine (10mg/kg body weight) before invasive procedures. Euthanasia was performed by overdose of anesthetic drugs. The study was developed according to the norms of ethics committee on animal research of the institute (Universidade Federal Fluminense, protocol 038/2009).

Two experimental groups (n=7) were separated and received CPE or CBE suspensions intraperitoneally (i.p.), at days 1, 35 and 120, each dose corresponding to 200µl of suspension with 50 µg of CPE or CBE with 2.0 mg of commercial aluminum hydroxide (Al(OH)₃). Besides, a separate control group (n=5) received at the same times only the suspension with sterile saline and aluminum hydroxide i.p.

Blood samples were collected from each animal by the retro-orbital plexus before the prime immunization (as a second experimental control), and at 14, 21, 35, 42, 49, 56, 120, 127 and 135 days post prime immunization. Samples were centrifuged and the sera stored at -20°C until proceedings.

2.3 Detection of specific antibody levels in serum

Serum levels of specific IgG and IgE to *P. crassicolle* CPE and CBE were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with similar methodology described by Antunes et al. (2009). Briefly, 96-well microtiter plates (Nunc MaxiSorp) were coated with 20 µg/mL (1µg/well) of CPE or CBE or CFE eluted in 0.1M carbonate buffer, pH 9.6, overnight. Serum samples from experimental and control mice were serially diluted and incubated for 2 hours at 37°C for IgG (1:100, 1:300, 1:900 and 1:2700) and IgE (1:100; 1:200; 1:400 and 1:800) detection. Peroxidase conjugated rabbit polyclonal anti-mouse IgG (H+L, Sigma-Aldrich) or rat anti-mouse IgE ε (Invitrogen) (50µL/well), diluted 1:10000 and 1: 500 respectively, were incubated for 1 hour at 37°C. Reactions were developed with 50 µL/well of substrate (O-phenylene-diamine; Sigma-Aldrich) at 0.04% in phosphate-citrate buffer (pH 5.0) with 0.04% hydrogen peroxide. Chromogenic reaction was stopped with 50 µL/well of 3N sulphuric acid. The optical density (O.D.) was determined by spectrophotometry (Anthos 2010, Krefeld, Germany) at 492 nm. ELISA scores were computed by running sums of ODs between 1:100 and 1:2700 (IgG) or 1:100 and 1:800 (IgE) of serum dilutions. Each score

represents a mean \pm standard error of the mean (SEM) for groups of five to seven animals, as indicated in the figure legend. As control for cross reactivity with fish tissues, ELISA was performed for IgG using CFE as antigen following the same protocol.

2.4 Evaluation of the allergenic properties by Passive Cutaneous Anaphylaxis (PCA)

Six Female Lou-M adult rats weighting 150g were reared at the animal house of Universidade Federal Fluminense and tested for PCA assay. The technique described by Braga and Mota (1976) use a 72h sensitization period for IgE antibody. Briefly, a shaved dorsal area was injected intradermally with 30 μ l of mice sera from CPE, CBE and control groups (days 56, 120, 127 and 135) diluted 1:40. After sensitization period, PCA reactions attributable to IgE class were elucidated by challenging the rats by intravenous administration of 500 μ g of CPE, CBE or CFE in 0.5 mL saline mixed with 1% Evans blue dye. Saline (0.5 mL) was used as a negative control. Thirty minutes after challenge, the rats were euthanized by overdose of anesthetic drugs. The dorsal skin was removed and inverted to observe and measure any pigment area. Reactions were considered positive for spots larger than 5 mm in diameter.

2.5 Recognition of immunogenic proteins by Immunoblot (Western Blot)

Amounts of CPE and CBE (0.1 mg each) were denatured and electrophoresed through SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) using 4-12% gradient gel during 2h at 140v per 100 x 100 mm gel (Vertical System Bio-Rad Headquarters, California, USA). For the western blot, 0.3 mg of CPE and CBE were applied to the same SDS-PAGE conditions and transferred from the separating gel to nitrocellulose membranes in a “sandwich” system between 4 sheets of blotting paper (extra thick, Sigma-Aldrich or Whatman 3MM) soaked in transfer buffer in a Semi-dry blotter (Bio-Rad, CA,

USA). To block the non-specific binding of antibodies, the membranes were incubated in blocking solution with 5% free fat milk (Nestle) in PBS overnight. After blocking, the membranes were washed with 0.05% PBS-Tween and dried for a few minutes at room conditions. The membrane strips were incubated overnight with the serum samples diluted 1:100 in blocking buffer at room temperature (RT) with rocking. After washing four times with TBS-Tween (TTBS), the membranes were exposed to 1:1000 peroxidase labeled goat anti-mouse IgG (Bio-Rad, CA, USA) at RT with rocking for 2h. After four final washes, the peroxidase substrate (3,3'-diaminobenzidine, Sigma-Aldrich, USA) was added to reveal the Ag/IgG interaction. Pre-immune and control group sera were also tested at same conditions as control.

2.5 Statistical analysis

Tukey test was performed for statistical analyses using GraphPad InStat software <www.graphpad.com> (GraphPad Software, CA, USA). Differences were considered statistically significant at P value < 0.05 .

3. Results

3.1 Dynamics of specific humoral responses to different extracts concentration of *P. crassicolle*

Specific IgG and IgE were detected in serum samples of experimental groups from day 14 with statistically significant increased levels ($p < 0.001$ for all, except for IgE of CBE group, $p < 0.01$ at day 14) versus control group sera. The highest IgG level was observed for the samples collected on day 42 from animals immunized with 50 μ g of CBE. Titers of specific IgE presented increased continuously at both CPE and CBE groups during experimental period.

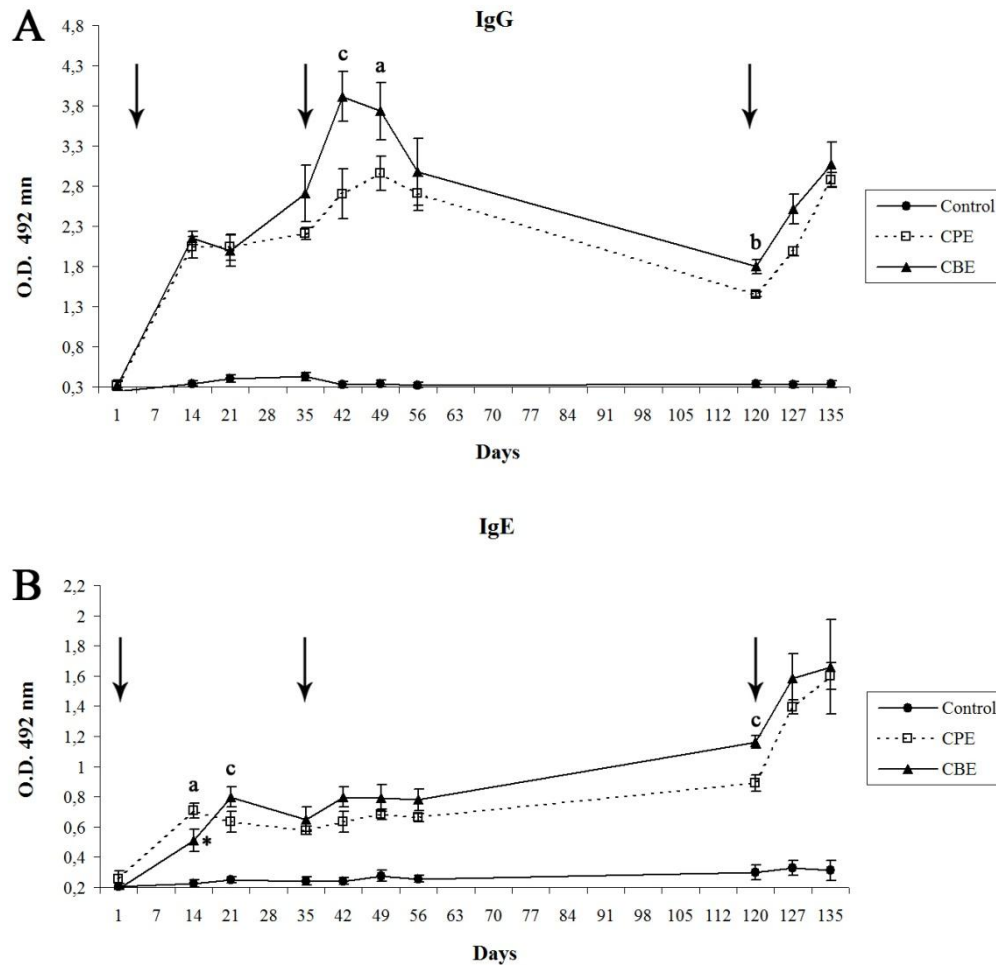


Figure 1 - Dynamics of specific IgG (A) and IgE (B) serum levels. Two groups, formed by 7 mice each, received intraperitoneally on days 1, 35 and 120 (\downarrow) 50 μ g of crude parasite extract of *Pterobothrium crassicolle* plerocerci (CPE:□) or blastocyst (CBE:▲) associated with 2 mg Al(OH)₃. A third control group (●) formed by 5 animals received saline solution with 2 mg Al(OH)₃ at the same days and pathway. Values indicate the means of the somatory of optical densities (OD). +/- standard error of the mean of each group. From day 14, IgG and IgE levels of both experimental groups with $p < 0.001$ (exception * $p < 0.01$) compared to control. ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ between groups.

Cross-reactions between immunized groups (CPE and CBE) versus CFE antigens were not observed by ELISA assay and there was no specific humoral response detectable in serum of animals before the prime immunization or in control group. However, the serum

samples of both experimental groups showed statistically equal recognize for both parasite extracts.

3.2 Evaluation of the allergenic properties by Passive Cutaneous Anaphylaxis (PCA)

PCA assay allowed the visualization of profound localized allergic reactions triggered by allergen-induced cross-linking of Fc ϵ RI by the binding of allergen-specific IgE located just beneath the skin. The extravasation of Evans blue dye reflected the increase of local vascular permeability, process that depends of histamine and serotonin release during mast cell degranulation. PCA tests challenged by CBE in rats sensitized with sera anti-CBE indicated the allergenic property of this parasite extract (Figure 2). No reactions were observed in control sera area or in CFE challenged rat.

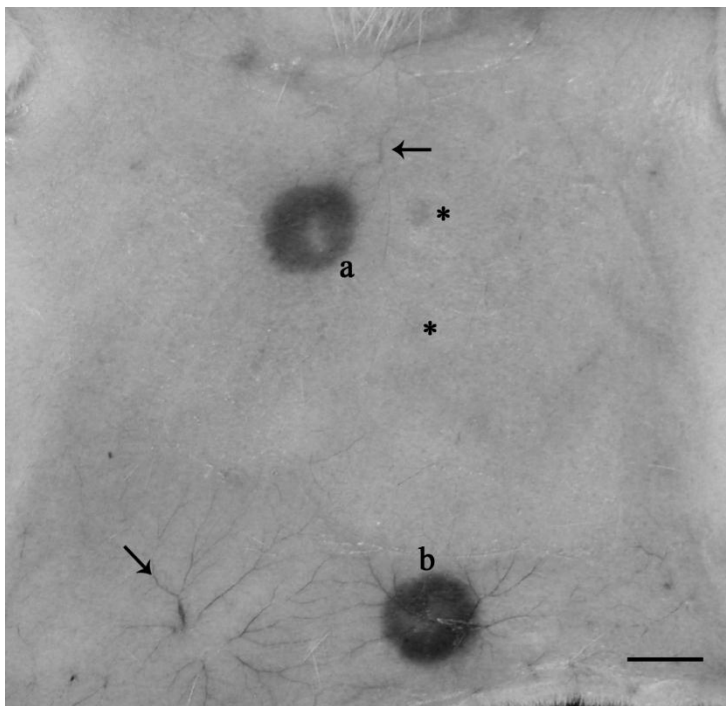


Figure 2 - Passive cutaneous anaphylaxis assay (PCA). Scale: 10 mm. PCA reaction using Lou-H rat as receptor of anti-CBE sera from BALB/c mice. Positive PCA reactions for mice

sera of days 127 (a) and 135 (b) induced by CBE of *Pterobothrium crassicolle*. (→) increased blood influx; (*) Sera without reaction.

3.3 Recognition of immunogenic proteins by immunoblot

Most bands were observed between 80 and 15 kDa (CPE) or 70 and 10 kDa (CBE) in SDS-PAGE. The sharpest CPE band was near to 80 kDa. However, specific IgG recognized CPE proteins with 120 kDa and over, near to 80kDa (sharpest band), 60 kDa, 50 kDa, near 32k, 30 kDa and 25 kDa (Fig. 3). Whereas, CBE showed different specific IgG recognized bands from 120 kDa to 24 kDa with sharpest bands with 85 kDa, near to 57 kDa, 35kDa and 24kDa. No reactivity was observed in control sera.

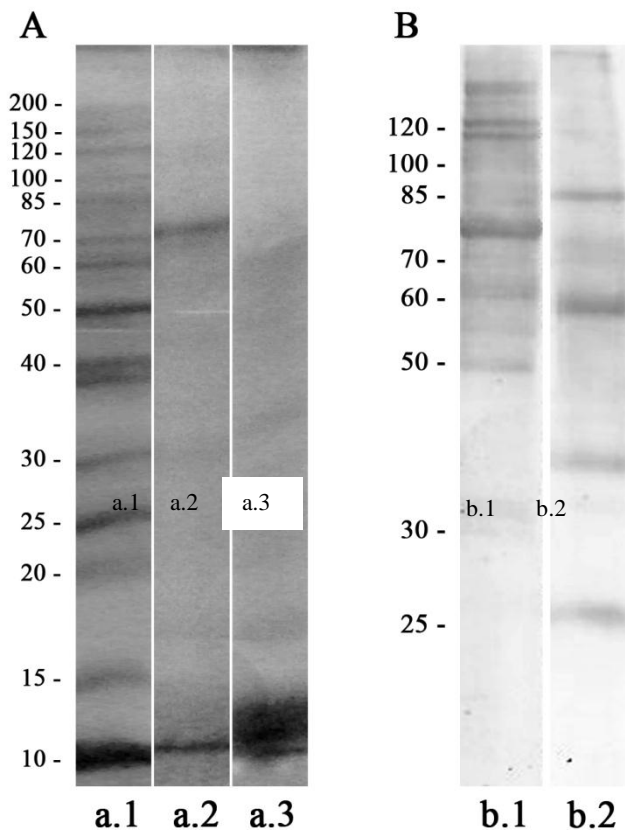


Figure 3 - SDS-PAGE and Immunoblot of *P. crassicolle* extracts. A- SDS-PAGE (12%) staining by Commassie blue showing molecular weight (kDa) (a.1) and protein profile of *P.*

crassicolle crude plerocerci (a.2) and blastocysts (a.3) extracts; B- Immunoblot showing IgG recognizing immunogenic proteins of CPE (b.1) and CBE (b.2) in pooled sera from all sensitized mice seven days after second immunization (42th experimental day).

4. Discussion

Allergic manifestations to fish parasite antigens are well known and frequently related to Anisakidae family, like *Anisakis simplex* (Audicana and Kennedy, 2008). So far, only a few investigations were developed to study the allergic potential of others fish parasites like Trypanorhyncha cestodes (*Gymnorhynchus gigas* and *Molicola horridus*), using different immunization protocols and administration pathways (Rodero and Cuéllar, 1999; Vasquez-Lopez et al., 2001, 2002; Gómez-Morales et al., 2008).

The immunogenic capacity of *P. crassicolle* CPE and CBE after prime, second and third i.p. inoculation was showed by ELISA with detectable high levels of specific IgG and continuously increasing IgE until the end of the experiment. Our results corroborate previous data that indicate murine model with BALB/c mice, challenged by i.p. antigenic administration, as appropriate for identifying and characterizing allergens with protein nature (Rodero and Cuéllar, 1999; Dearman et al., 2001; Vasquez-Lopez et al., 2001; Martínez de Velasco et al., 2002; Gómez-Morales et al., 2008; Van der Ventel et al., 2011).

The cross-reactions observed for both CPE and CBE antigens by ELISA suggest that the both extracts share antigenic recognition sites. Previous studies had discarded the blastocysts and only used the plerocerci, however, natural expose may involve both portions of metacestodes. The difference of induced response between the CPE and CBE antigens was statistically significant only at days 14, 21 (IgE), 42, 49 (IgG) and 120 (IgG and IgE) after prime immunization. Most of time, CBE induced the highest titers of IgG and IgE.

Nevertheless, all immunized groups were extremely statistically different to control group from 14 days post prime immunization ($p < 0.001$) for both immunoglobulins.

ELISA and PCA results indicated the allergenic nature of *P. crassicolle* CPE and CBE since the high IgE and IgG (mainly IgG1) levels are previously known to be related to the regulation of hypersensitivity reactions (Rodero and Cuéllar, 1999; Vázquez-López et al., 2001; Martínez de Velasco et al., 2002).

The SDS-PAGE and Western blot profile of *P. crassicolle* showed similar aspects when compared with others Trypanorhyncha cestodes as *Gymnorhynchus gigas* and *Mollicola horridus*, which also presented IgG binding proteins with similar weight. Vázquez-López et al. (2002) observed a 24 kDa collagenase of *G. gigas* recognized by the humoral response of the experimental animals, as well as Gómez-Morales et al. (2008) reported IgG binding proteins of *M. horridus* with 26 and 75 kDa. These proteins could be closely related to the IgG binding proteins of *P. crassicolle*.

Since our results indicated the allergenic activity of *P. crassicolle* antigens in murine models, complementary clinical trials are required to elucidate its implications to human health.

Acknowledgements

The authors thank Eduardo Martins Barbosa for processing the figures.

References

- Al-Zubaidy, A.B., Mhaisen, F.T., 2011. Larval tapeworms (Cestoda: Trypanorhyncha) from some Red Sea fishes, Yemen. *Mesopot J Mar Sci.* 26 (1), 1-14.
- Alves, D.R., Luque, J.L., 2001. Community Ecology of the Metazoan Parasites of White Croaker, *Micropogonias furnieri* (Osteichthyes: Sciaenidae), from the Coastal Zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96(2), 145-153.

- Antunes, D.M.F., Costa, J.P., Campos, S.M.N., et al., 2009. The serum D-xylose test as a useful tool to identify malabsorption in rats with antigen specific gut inflammatory reaction. *Int J Exp Path.* 90, 141–147.
- Audicana, M.T., Kennedy, M.W., 2008. *Anisakis simplex*: from Obscure Infectious Worm to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clin Microbiol Rev.* 21 (2), 360-379.
- Braga, F., Mota, I., 1976. Homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA) in mice and heterologous PCA induced in rats with mouse IgE. *Immunology* 30, 655-669.
- Brogia, A., Kapel, C., 2011. Changing dietary habits in a changing world: Emerging drivers for the transmission of foodborne parasitic zoonoses. *Vet Parasitol.* 182 (1), 2-13.
- Campbell, R.A., Beveridge, I., 1994. Order Trypanorhyncha Diesing, 1863, in: Khalil, L.F., Jones, A., Bray, R.A. (Eds.), *Keys to the cestode parasites of vertebrates*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 51-148.
- Campbell, R.A., Beveridge, I., 1996. Revision of the Family Pterobothriidae Pintner, 1931 (Cestoda:Trypanorhyncha). *Invertebr Taxon.* 10, 617-662.
- Campbell, R.A., Marques, F., Ivanov, V.A., 1999. *Paroncomegas araya* (Woodland, 1934) n. gen. et comb. (Cestoda: Trypanorhyncha: Eutetrarhynchidae) from the freshwater stingray *Potamotrygon motoro* in South America. *J Parasitol.* 85 (2), 313-320.
- Chai, J.Y., Murrell, D.K., Lymbery, A.J., 2005. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. *Int J Parasitol.* 35, 1233-1254.
- Charters, R.A., Lester, R.J.G., Buckworth, R.C., et al., 2010. The stock structure of grey mackerel *Scomberomorus semifasciatus* in Australia as inferred from its parasite fauna. *Fish Res.* 101, 94-9.
- Deardoff, T.L., Raybourne, R.B., Mattis, T.E., 1984. Infections with *Trypanorhyncha plerocerci* (Cestoda) in Hawaiian fishes of commercial importance. *Q Univ Haw Sea Grant Coll Prog.* 6, 1-6.
- Dearman, R.J., Kimber, I., 2001. Determination of protein allergenicity: studies in mice. *Toxicol Lett.* 120, 181-186.
- 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. *Vet Parasitol.* 175, 351-355.
- Diesing, K.M., 1850. *Systema Helminthum*, 2: IV, Vindobonae, Italy. Latin.
- Dorny, P., Praet, N., Deckers, N., Gabriel, S., 2009. Emerging food-borne parasites. *Vet Parasitol.* 163 (3), 196-206.

- Felizardo, N.N., Torres, E.J.L., Fonseca, G.M.C., et al., 2010. Cestodes of the flounder *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Osteichthyes-Paralichthyidae) from the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Neotrop Helminthol.* 4 (2), 113-125.
- Fonseca, M.C.G., São Clemente, S.C., Felizardo, N.N., et al., 2012. Trypanorhyncha cestodes of hygienic-sanitary importance infecting flounders *Paralichthys patagonicus* Jordan, 1889 and *Xystreurys rasile* (Jordan, 1891) of the Neotropical region, Brazil. *Parasitol Res.* 111, 865-874.
- Fripp, P.J., Mason, P.R., 1983. Spurious human infection with a Trypanorhynchiid tapeworm. *South African Journal of Science* 79, 473.
- Gòmez-Morales, M.A., Ludovisi, A., Giuffra, et al., 2008. Allergenic activity of *Molicola horridus* (Cestoda, Trypanorhyncha), a cosmopolitan fish parasite, in a mouse model. *Vet Parasitol.* 157, 314-320.
- Haseli, M., Malek, M., Palm, H.W., 2010. Trypanorhynch cestodes of elasmobranchs from the Persian Gulf. *Zootaxa* 2492, 28-48.
- Haseli, M., Malek, M., Valinasab, T., Palm, H.W., 2011. Trypanorhynch cestodes of teleost fish from the Persian Gulf, Iran. *J Helminthol.* 85 (2), 215-224.
- Kikuchi, Y., Takenouchi, T., Kamiya, M., Ozaki, H., 1981. Trypanorhynchid cestode larva found on the human palatine tonsil. *Jpn J Parasitol.* 30, 497-499.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R. J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193, 265-275.
- Martínez de Velasco, G., Rodero, M., Zapatero, L., Cuéllar, C., 2002. Humoral Immune Responses Induced by *Kudoa* sp. (Myxosporea: Multivalvulida) Antigens in BALB/c Mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97 (8), 1091-1095.
- Moore, B.R., Buckworth, R.C., Moss, H., Lester, R.J.G., 2003. Stock discrimination and movements of narrow-barred Spanish mackerel across northern Australia as indicated by parasites. *J Fish Biol.* 63,765-779.
- Moore, B.R., Stapley, J., Allsop, Q., et al., 2011. Stock structure of blue threadfin *Eleutheronema tetradactylum* across northern Australia, as indicated by parasites. *J Fish Biol.* 78, 923-936.
- Overstreet, R.M., 1977. *Poecilancistrum caryophyllum* and other trypanorhynch cestode plerocercoids from the musculature of *Cynoscion nebulosus* and other Sciaenid fishes in the Gulf of Mexico. *J Parasitol.* 63,780-789.
- Overstreet, R.M., 1978. Trypanorhynch Infections in the Flesh of Sciaenid Fishes. *Mar Fish Rev.* 40 (10), 37-38.

- Palm, H.W., 1997. Trypanorhynch Cestodes of Commercial Fishes from Northeast Brazilian Coastal Waters. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92 (1), 69-79.
- Palm, H.W., 2004. The Trypanorhyncha Diesing, 1863. PKSPL-IPB Press, Bogor.
- Palm, H., Möller, H., Petersen, F., 1993. *Otobothrium penetrans* (Cestoda; Trypanorhyncha) in the flesh of belonid fish from Philippine waters. *Int J Parasitol.* 23 (6), 749-755.
- Palm, H., Obiekezie, A., Moller, H., 1994. Trypanorhynchid cestodes of commercial inshore fishes of the West African coast. *Aquat Living Resour.* 7, 153-164.
- Palm, H.W., Waeschenbach, A., Olson, P.D., Littlewood, T.J., 2009. Molecular phylogeny and evolution of the Trypanorhyncha Diesing, 1863 (Platyhelminthes: Cestoda). *Mol Phylogenet Evol.* 52, 351-367.
- Pelayo, V., García-Hernández, P., Puente, M., Cuéllar, C., 2009. Seroprevalence of Anti-*Gymnorhynchus gigas* (Trypanorhyncha, Gymnorhynchidae) Antibodies in a Spanish Population. *J Parasitol.* 95 (3), 778-780.
- Pereira Junior, J., 1993. O complexo de espécies de Trypanorhyncha (Cestoda), em corvinas *Micropogonias furnieri* do Rio Grande do Sul. *Arquivos da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS* 21, 58-70. Portuguese.
- Petersen, F., Palm, H., Möller, H., Cuzi, M.A., 1993. Flesh parasites of fish from central Philippine waters. *Dis Aquat Org.* 15, 81-86.
- Rego, A.A., 1982. Expedições e coletas helmintológicas no Brasil. *Ciência e Cultura* 34 (4), 507-509. Portuguese.
- Rego, A.A., 1987. Redescrição de *Pterobothrium crassicolle* Diesing, 1850 (Cestoda:Trypanorhyncha) e revalidação da espécie. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 82 (1), 51-53. Portuguese.
- Rego, A.A., Santos, J.C., Silva, P.P., 1974. Estudos de cestóides de peixes do Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 72 (3/4), 187-204. Portuguese.
- Rodero, M., Cuéllar, C., 1999. Humoral immune responses induced by *Gymnorhynchus gigas* extracts in BALB/c mice. *J Helminthol.* 73, 239-243.
- São Clemente, S.C., Coelho, M.R.T., Serra Freire, N.M., 1991. Cestóides parasitos de bagre *Netuma barba* (Lacepede, 1803) pescados no litoral do Rio de Janeiro e comercializados para consumo humano. *Arquivos da Universidade Federal Rural Rio de Janeiro* 14 (1), 27-34. Portuguese.
- Schaeffner, B.C., Beveridge, I., 2012. *Cavearhynchus*, a new genus of tapeworm (Cestoda: Trypanorhyncha: Pterobothriidae) from *Himantura lobistoma* Manjaji-Matsumoto & Last,

- 2006 (Rajiformes) off Borneo, including redescriptions and new records of species of *Pterobothrium* Diesing, 1850. *Syst Parasitol.* 82, 147-165.
- Van der Ventel, M.L., Nieuwenhuizen, N.E., Kirstein, F., et al., 2011. Differential responses to natural and recombinant allergens in a murine model of fish allergy. *Mol Immunol.* 48, 637-646.
- Vázquez-López, C., De Armas-Serra, C., Bernardina, W., Rodríguez-Caabeiro, F., 2001. Oral inoculation with *Gymnorhynchus gigas* induces anti-parasite anaphylatic antibody production in both mice and rats and adverse reactions in challenge mice. *Int J Food Microbiol.* 64, 307-315.
- Vázquez-López, C., De Armas-Serra, C., Bernardina, W., Rodríguez-Caabeiro, F., 2002. A 24-kDa collagenase from *Gymnorhynchus gigas* elicits rat ileum hyperreactivity and is a target of humoral responses in mice previously given a single oral dose of parasite extract. *Dig Dis Sci.* 47, 935-942.
- Zischke, M.T., Cribb, T.H., Welch, D.J., et al., 2009. Stock structure of blue threadfin *Eleutheronema tetradactylum* on the Queensland east coast, as determined by parasites and conventional tagging. *J Fish Biol.* 75,156-171.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de parasitos em peixes comercializados para consumo humano é muito comum e pode oferecer riscos à saúde, conforme visto anteriormente. A análise de 207 exemplares de peixes teleósteos marinhos do Rio de Janeiro mostrou a alta prevalência e intensidade de infecção por larvas de nematóides com potencial zoonótico em algumas categorias de peixes. Este fato corrobora relatos anteriores sobre o parasitismo peixes da mesma região e chama a atenção para necessidade da adoção de medidas preventivas para minimizar os riscos ao consumidor.

A ocorrência de larvas de Trypanorhyncha nas mesmas espécies de peixes analisadas no primeiro artigo foi bastante expressiva, principalmente em *Micropogonias furnieri*, onde atingiu 56,07% (dado não publicado). A partir dos metacestóides coletados em *M. furnieri* foi possível a obtenção dos extratos para a realização dos estudos experimentais, onde se observou a indução de resposta específica nos modelos murinos.

Este foi o primeiro estudo sobre a atividade alergênica de extratos de Pterobotrídeos, mostrando assim a presença de antígenos indutores da produção de IgE específica nos modelos experimentais. Novos estudos sobre a reatividade cruzada entre diferentes espécies de Trypanorhyncha, assim como outros grupos de invertebrados, podem contribuir para a caracterização de moléculas em comum e com perfil alergênico. Tendo em vista os resultados obtidos, são também necessárias pesquisas clínicas para elucidar as implicações da atividade alergênica dos Pterobotrídeos para a saúde humana.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, A.M.; MURRELL, K.O.; CROSS, J.K. Parasites of fish and risk to public health. *Revue Scientifique et Technique: Office International des Epizooties*, Paris, France, v. 16, p. 652-660, 1997.
- ALVES, D.R.; LUQUE, J.L. Metazoários parasitos de *Micropogonias furnieri* (Osteichthyes: Sciaenidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitol. al Día*, Santiago, Chile, v. 24, p. 40-45, 2000.
- ALVES, D.R.; LUQUE, J.L. Community ecology of the metazoan parasites of the white croaker *Micropogonias furnieri* (Osteichthyes: Sciaenidae) from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 96, p. 145-153, 2001.
- ALVES, D.R.; LUQUE, J.L. Ecologia das comunidades parasitárias de cinco espécies de escombrídeos (Perciformes: Scombridae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 15, p. 167-181, 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, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 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* (Osteichthyes: Phycidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Zootecias*, UFJF, Juiz de Fora, v. 4, p. 19-30, 2002b.
- ALVES, D.R.; LUQUE, J.L.; ABDALLAH, V.D. Metazoan parasites of chub mackerel, *Scomber japonicus* (Osteichthyes: Scombridae), from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 12, p. 164-170, 2003.
- 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. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 13, p. 49-55, 2004.
- ALVES, D.R.; LUQUE, J.L.; PARAGUASSÚ, A.R. Community ecology of the metazoan parasites of the grey triggerfish, *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 and queen triggerfish *B. vetula* Linnaeus, 1758 (Osteichthyes: Balistidae) from Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 71-77, 2005.
- AMATO, J.F.R.; SÃO CLEMENTE, S.C.; OLIVEIRA, G.A. *Tentacularia coryphaenae* Bosc, 1801 (Eucestoda: Trypanorhyncha) in the inspection and technology of the Skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis* (L.) (Pisces: Scombridae). *Atlântica*, Rio Grande, v. 12, p. 73-77, 1990.

ANTHONY, R.M.; RUTITZKY, L.I.; URBAN, J.F.Jr; STADECKER, M.J.; GAUSE, W.C. Protective immune mechanisms in helminth infection. *Nat. Rev. Immunol.*, London, UK, v.7, p. 975–987, 2007.

AUDICANA, L.; AUDICANA, M.T.; FERNANDEZ DE CORRES, L.; KENNEDY, M.W. Cooking and freezing may not protect against allergic reactions to ingested *Anisakis simplex* antigens in humans. *Vet. Rec.*, London, UK, v. 140, p. 235, 1997.

AUDICANA, M.T.; FERNANDEZ DE CORRES, L.; MUNOZ, D. et al. Recurrent anaphylaxis caused by *Anisakis simplex* parasitizing fish. *J. Allergy Clin. Immunol.*, St. Louis, USA, v. 96, p. 558-560, 1995.

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

AUDICANA, M.T.; KENNEDY, M. W. *Anisakis simplex*: from Obscure Infections Worm to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clin. Microbiol. Rev.*, Washington, USA, v. 21, n. 2, p. 360-379, 2008.

AZEVEDO, R.K.; ABDALLAH, V.D.; LUQUE, J.L. Aspectos quantitativos dos metazoários parasitos do gordinho, *Peprilus paru* (Linnaeus, 1758) (Stromateidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 16, p. 10-14, 2007.

BARROS, G.C. Larvas de anisakídeos de peixes economicamente importantes da costa do Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Med. Vet.*, Rio de Janeiro, v.16, n.5, 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, Brasil. *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v. 53, n. 2, p. 241-245, 1993.

BARROSO, R.M.; WIEFELS, A.C. *O Mercado de pescado da região metropolitana do Rio de Janeiro 2010*. Série: O mercado do pescado nas grandes cidades latino-americanas. Infopesca, Montevideo, Uruguay, 2010. Disponível em: <<http://www.infopesca.org/sites/default/files/complemento/publilibreacceso/287/mercado-rio-de-janeiro-final.pdf>>. Acesso em: 25 abr. 2012.

BATES, R.M. *A checklist of the Trypanorhyncha (Platyhelminthes: Cestoda) of the world (1935-1985)*. National Museum of Wales, Zoological series, UK, v.1, 1990. 218 p.

BERTULLO, H.V. Infestación masiva de musculos de corvina *Micropogon opercularis* (L.) por *Tetrarhynchus fragilis* (Diesing). *Revista del Instituto de Investigaciones Pesqueras*, Montevideo, Uruguay, v. 1, n. 4, p. 345-348, 1965.

BICUDO, A.J.A.; TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L. Metazoários parasitos da cabrinha *Prionotus punctatus* Bloch, 1797 (Osteichthyes: Triglidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 27-33, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA. Aprovado pelo Decreto nº30.691 de 29/03/1952, alterado pelos Decretos nºs 1.255 de 25/06/1962, 1.236 de 02/09/1994, 1.812 de 08/02/1996 e 2.244 de 04/06/1997. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 1997.

CABRERA, R.; LUNA-PINEDA, M.A.; SUÁREZ-OGNIO, L. Nuevo caso de infección humana por una larva de *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae) en el Perú. *Rev. Gastroenterol. Perú*, Lima, Peru, v. 23, p. 217-220, 2003.

CAMPBELL, R.A.; BEVERIDGE, I. Order Trypanorhyncha Diesing, 1863. In: KHALIL, L.F.; JONES, A.; BRAY, R.A. (Eds) *Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates*. CAB International, Wallingford, UK, Cap.7, p. 51-148, 1994.

CAMPBELL, R.A.; BEVERIDGE, I. Revision of the family Pterobothriidae Pintner, 1931 (Cestoda: Trypanorhyncha). *Invert. Taxon.*, v. 10, p. 617-662, 1996.

CARVAJAL, J.; REGO, A.A. *Progrillotia dollfusi* sp. N. (Cestoda: Trypanorhyncha) parasito de pescada do litoral brasileiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 78, n. 2, p. 231-234, 1983.

CARVALHO, A.R.; LUQUE, J.L. Seasonal variation in metazoan parasites of *Trichiurus lepturus* (Perciformes: Trichiuridae) of Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.*, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 771-782, 2011.

CHARTERS, R.A.; LESTER, R.J.G.; BUCKWORTH, R.C.; NEWMAN, S.J.; OVENDEN, J.R.; BRODERICK, D.; KRAVCHUK, O.; BALLAGAH, A.; WELCHF, D.J. The stock structure of grey mackerel *Scomberomorus semifasciatus* in Australia as inferred from its parasite fauna. *Fisheries Research*, v. 101, p. 94-99, 2010.

CHAVES, N.D.; LUQUE, J.L. Ecology of metazoan parasites of *Menticirrhus americanus* (Osteichthyes: Sciaenidae), coastal area from Rio de Janeiro State, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 8, p. 137-144, 1999.

CORDEIRO, A.S.; LUQUE, J.L. Community ecology of the metazoan parasites of Atlantic moonfish, *Selene setapinnis* (Osteichthyes: Carangidae) from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.*, São Paulo, v. 64, n. 3A, p. 399-406, 2004.

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*, UFJF, Juiz de Fora, v. 7, p. 7-14, 2005a.

CORDEIRO, A.S.; LUQUE, J.L. Metazoários parasitos do coió *Dactylopterus volitans* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes: Dactylopteridae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Sci. Biol. Sci.*, Maringá, v. 27, p. 119-123, 2005b.

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. *Sci. Parasitol.*, Cluj-Napoca, Romania, v. 11, n. 2, p. 97-100, 2010.

DASCHNER, A.; ALONSO-GÓMEZ, A.; MORA, C. MORENO-ANCILLO, A.; VILLNUEVA, R. Anisakiasis gastro-alérgica con parasitación masiva. *Rev. Esp. Alergol Immunol. Clin.*, Madrid, España, v. 12, n. 6, p. 370-372, 1997.

DASCHNER, A.; ALONSO-GÓMEZ, A.; CABAÑAS, R. et al. Gastroallergic anisakiasis: borderline between food allergy and parasitic disease: clinical and allergologic evaluation of 20 patients with confirmed acute parasitism by *Anisakis simplex*. *J. Allergy Clin. Immunol.*, St. Louis, USA, v. 105, p. 176-181, 2000.

DASCHNER, A.; CUÉLLAR, C.; RODERO, M. The Anisakis allergy debate: does an evolutionary approach help? *Trends Parasitol.*, Oxford, UK, v. 28, n. 1, p. 9-15, 2012.

DIAS, F.J.E.; SÃO CLEMENTE, S.C.; KNOFF, M. Cestóides Trypanorhyncha parasitos de peroá, *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 comercializados no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, UFF, Niterói, v. 16, p. 19-21, 2009.

DIAS, F.J.E.; SÃO CLEMENTE, S.C.; KNOFF, M. Nematoides anisquídeos e cestoides Trypanorhyncha de importância em saúde pública em *Aluterus monoceros* (Linnaeus, 1758) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 94-99, 2010.

DIAS, F.J.; 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. *Vet. Parasitol.*, Amsterdam, Netherlands, v. 175, n. 3-4, p. 351-355, 2011.

DIESING, K.M. *Systema Helminthum*. Vindobonae, v. 1, 1850. 679p.

DIESING, K.M. Sechzehn Gattungen von Binnenwürmern und ihre Arten. *Denkschriften der Schweizerischen Akademie der Naturwissenschaften*, v. 9, n. 1, p.171-185, 1855.

DIESING, K.M. Zwanzig Arten von Cephalocotyleen. *Denkschriften der Schweizerischen Akademie der Naturwissenschaften*, v.12, n. 1, p. 23-38, 1856.

DOMINGUEZ-ORTEGA, J. ALONSO-LLAMAZARES, A.; RODRIGUEZ, L. et al. Anaphylaxis due to hypersensitivity to *Anisakis simplex*. *Int Arch Allergy Immunol.*, Basel, Switzerland, v. 125, p. 86-88, 2001.

EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal* v. 8, n. 4, p.1543. [91p.], 2010. Disponível em: <www.efsa.europa.eu>. Acesso em 13 out. 2012.

FAO. *The state of the world fisheries an aquiculture*. Roma, Italia, 2010. 197p.

FAO. *The state of the world fisheries and aquaculture*. Roma, Italia, 2012. 230p.

FABIO, S.P. Sobre alguns nematoda parasitos de *Hoplias malabaricus*. *Arq. Univ. Fed. Rur. RJ*. v.5, n. 2, p.179-186, 1982.

FARIA, A.; SILVA, A.D. Garoupa vermelha de Abrolhos e São Tomé “Garoupa Bichada” *Tetrarhynchus* (Primeira nota). *Primeiro Congresso Nacional de Pesca*. Rio de Janeiro, v.1, p. 237-250, 1934.

FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance*. 4th ed. Florida, USA, 2011. 476p.

FELIZARDO, N.N.; KNOFF, M.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C. Larval anisakid nematodes of the flounder *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from the littoral of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Vet. Parasitol.*, Amsterdam, Netherlands, v. 166; p. 175-177, 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 Brazil. *Neotrop. Helminthol.*, APHIA, Lima, Perú, v. 3, n. 2, p. 57-64, 2009b.

FELIZARDO, N.N., TORRES, E.J.L., FONSECA, G.M.C., et al. Cestodes of the flounder *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Osteichthyes-Paralichthyidae) from the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Neotrop Helminthol.*, APHIA, Lima, Perú, v. 4, n. 2, p. 113-125, 2010.

FERNANDES, J.; RESHEF, A.; PATTON, L.; AYUSO, R.; REESE, G.; LEHRER, S.B. Immunoglobulin E antibody reactivity to the major shrimp allergen, tropomyosin, in unexposed Orthodox Jews. *Clin. Exp. Allergy*, Oxford, UK, v. 33, p. 956-961, 2003.

FERREIRA, M.F.; SÃO CLEMENTE, S.C.; TORTELLY, R.; LIMA, F.C.; NASCIMENTO, E.R.; OLIVEIRA, G.A.; LIMA, A.R. Prasaitas da ordem Trypanorhyncha: sua importância na inspeção sanitária do pescado. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, UFF, Niterói, v. 3, p. 190-193, 2006.

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. *Parasitol. Res.*, Berlin, Deutschland, v. 111, p. 865-874, 2012.

FRIPP, P.J.; MASON, P.R. Spurious human infection with a Trypanorhynchiid tapeworm. *South African Journal of Science*, Tygervalley, South Africa, v. 79, p. 473, 1983.

GOMES, D.C.; FABIO, S.P.; ROLAS, F.J.T. Contribuição para o conhecimento dos parasitos de peixes do litoral do Estado da Guanabara –Parte I. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 70, n. 4, p. 541-553, 1972.

GOMEZ-MORALES, M.A.; LUDOVISI, A.; GIUFFRA, E.; MANFREDI, M.T.; PICCOLO, G.; POZIO, E. Allergenic activity of *Molicola horridus* (Cestoda, Trypanorhyncha), a cosmopolitan fish parasite, in a mouse model. *Vet. Parasitol.*, Amsterdam, Netherlands, v. 157, n. 3-4, p. 314-320, 2008.

HAJEB, P.; SELAMAT, J. A contemporary review of seafood allergy. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, Totowa, USA, v. 42, n. 3, p. 365-385, 2012

HASELI, M.; MALEK, M.; PALM, H.W. Trypanorhynch cestodes of elasmobranchs from the Persian Gulf. *Zootaxa*, Auckland, New Zealand, v. 2492, p. 28-48, 2010.

HASELI, M.; MALEK, M.; VALINASAB, T.; PALM, H.W. Trypanorhynch cestodes of teleost fish from the Persian Gulf, Iran. *J. Helminthol.*, London, UK, v. 85, n. 2, p. 215-24, 2011.

HEINZ, H.J. A case of tetrahyinchid (cestode) infection in man. *Revista Ecuatoriana de Entomología y Parasitología*, Guayaquil, Ecuador, v. 2, p. 227-230, 1954.

IBAMA (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS). *Estatística da pesca 2007 Brasil Grandes Regiões e Unidades da Federação*. Brasília, 2007. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/documentos-recursos-pesqueiros/estatistica-pesqueira>>. Acesso em: 25 abr. 2012.

KASSAI, T.M.; CORDERO DEL CAMPILLO, M.; EUZEBY, J.; GAAFAR, S.; HIEPE, T.; HIMONAS, C.A. Standardized nomenclature of animal parasite diseases (SNOAPAD). *Vet. Parasitol.*, Amsterdam, Netherlands, v. 29, p. 299–326, 1988.

KIKUCHI, Y.; TAKENOUCI, T., KAMIYA, M.; OZAKI, H. Trypanorhynchid cestode larva found on the human palatine tonsil. *Jpn. J. Parasitol.*, Tokyo, Japan, v. 30, p. 497-499, 1981.

KNOFF, M. *Taxonomia, prevalência e intensidade de infecção de cestóides Trypanorhyncha (Platyhelminthes), parasitos de elasmobrânquios do litoral dos Estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil*. Rio de Janeiro, 2001. 67f. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C. Prevalência e intensidade de infecção de cestóides Trypanorhyncha de elasmobrânquios nos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil. *Parasitol. Latinoam.*, Santiago, Chile, v. 57, p. 149-157, 2002.

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. *Rev. Bras. Cienc. Vet.*, UFF, Niterói, v. 11, p. 119-120, 2004a.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C. Registros taxonômicos de cestóides Trypanorhyncha/ Homeacanthoidea em elasmobrânquios coletados na costa do Estado do Paraná, Brasil. *Parasitol. Latinoam.*, Santiago, Chile, v. 59, p. 31-36, 2004b.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; PINTO, R.M.; LANFREDI, R.M.; GOMES, D.C. New records and expanded descriptions of *Tentacularia coryphaenae* and *Hepatoxylon trichiuri* homeacanth trypanorhynchs (Eucestoda) from carcharhinid sharks from the state of Santa Catarina off-shore, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 13, p. 73–80, 2004c.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; PINTO, R.M.; LANFREDI, R.M.; GOMES, D.C. Taxonomic Reports of Obothrioidea (Eucestoda, Trypanorhyncha) from Elasmobranch Fishes of the Southern Coast off Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 99, n. 1, p. 31-36, 2004d.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; FONSECA, M.C.G.; ANDRADA, C.D.G.; PADOVANI, R.E.S.; GOMES, D.C. Anisakidae parasitos de congrio-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil de interesse na saúde pública. *Parasitol. Latinoam.*, Santiago, Chile, v. 67, p. 127-133, 2007a.

KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; PINTO, R.M.; LANFREDI, R.M.; GOMES, D.C. Redescription of *Gymnorhynchus isuri* (Cestoda: Trypanorhyncha) from *Isurus oxyrinchus* (Elasmobranchii: Lamnidae). *Folia Parasitol.*, Praha, Czech Republic, v. 54, p. 208-214, 2007b.

LESTER, R.J.G.; BARNES, A.; HABIS, G. Parasites of Skipjack Tuna *Katsuwonus pelamis*. Fishery Implications. *Fish. Bull.* Seattle, USA, v. 83, p. 343-356, 1985.

LIMA, F.C. *Cestóides da Ordem Trypanorhyncha em peixes comercializados no Estado do Rio de Janeiro*. Niterói, 2004. 86f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.

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

LUQUE, J.L.; CHAVES, N.D. Ecologia das comunidades de metazoários parasitos da anchova *Pomatomus saltator* (Linnaeus) (Osteichthyes, Pomatomidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Brasil. Zool.*, Curitiba, v. 16, n. 3, p. 711-723, 1999.

LUQUE, J.L.; VIÑAS, R.A.; PARAGUASSÚ, A.R.; ALVES, D.R. Metazoários parasitos das sardinhas *Sardinella brasiliensis* e *Harengula clupeola* (Osteichthyes: Clupeidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista da Universidade Rural – Série Ciências da Vida*, Seropédica, v. 22, p. 71-76, 2000.

LUQUE, J.L.; PORROZZI, F.; ALVES, D.R. Community ecology of the metazoan parasites of Argentine goatfish *Mullus argentinae* (Osteichthyes: Mullidae) from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 11, p. 33-38, 2002.

LUQUE, J.L.; ALVES, D.R.; RIBEIRO, R.S. Community ecology of the metazoan parasites of Banded Croaker, *Paralanchurus brasiliensis* (Osteichthyes: Sciaenidae), from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Sci.*, Maringá, v. 25, n. 2, p. 273-278, 2003.

LUQUE, J.L.; FELIZARDO, N.N.; 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. *Braz. J. Biol.*, São Paulo, v. 68, p. 262-278, 2008.

LUQUE, J.L.; CORDEIRO, A.S.; OLIVA, M.E. Metazoan parasites as biological tags for stock discrimination of whitemouth croaker *Micropogonias furnieri*. *J. Fish Biol.*, v. 76, p. 591-600, 2010.

MPA (MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA). *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%ADstico%20MPA%202010.pdf>. Acesso em: 20 Jun. 2012.

MARQUES, C.M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; BARROS, G.C.; LUCENA, F.P. Utilização do frio (resfriamento e congelamento) na sobrevivência de larvas de nematoides anisakídeos em *Trichiurus lepturus* (L.). *Hig. Aliment.*, São Paulo, v. 9, p. 23-2, 1995.

MARQUES, L.C.; ALVES, D.R. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos do dourado, *Coryphaena hippurus* Linnaeus, 1758, (Osteichthyes: Coryphaenidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos UniFOA*, Volta Redonda, v. 16, p. 111-122, 2011.

MENDES, M.V. Sobre cestoda de teleósteos marinhos. *Bol.Fac.Fil.Ciências e Letras Univ.S. Paulo, Zool.*, USP, São Paulo, v. 43, n. 8, p. 173-184, 1944.

MOORE, B.R.; BUCKWORTH, R.C.; MOSS, H.; LESTER, R.J.G. Stock discrimination and movements of narrow-barred Spanish mackerel across northern Australia as indicated by parasites. *J. Fish Biol.*, v. 63, p. 765-779, 2003.

MOORE, B.R.; STAPLEY, J., ALLSOP, Q., NEWMAN, S.J.; BALLAGH, A.; WELCH, D.J.; LESTER, R.J.G. Stock structure of blue threadfin *Eleutheronema tetradactylum* across northern Australia, as indicated by parasites. *J. Fish Biol.*, v. 78, p. 923-936, 2011.

NIEUWENHUIZEN, N.; LOPATA, A.L.; JEEBHAY, F.; HERBERT, B.R.; ROBINS, T.G.; BROMBACHER, F. Exposure to the fish parasite *Anisakis* causes allergic airway hyperreactivity and dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, St. Louis, USA, v.117, p.1098-1105, 2006.

NUNES, C.; LADEIRA, S.; MERGULHÃO, A. Alergia ao *Anisakis simplex* na população portuguesa. *Rev. Port. Imunoalergol.*, Porto, Portugal, v. XI, p. 30-40, 2003.

OLIVA, M.E.; VALDIVIA, I.M.; COSTA, G.; FREITAS, N.; CARVALHO, M.A.P.; SANCHEZ, 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? *J. Fish Biol.*, v. 72, p. 545-554, 2008.

OLIVEIRA, S.A.L. *Pesquisa de helmintos em musculatura e serosa abdominal de peixes de importância comercial capturados no litoral norte do Brasil*. Belém, 2005. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2005.

OVERSTREET, R.M. *Poecilancistrum caryophyllum* and other trypanorhynch cestode plerocercoids from the musculature of *Cynoscion nebulosus* and other Sciaenid fishes in the Gulf of Mexico. *J. Parasitol.*, Lawrence, UK, v. 63, p.780-789, 1977.

PALM, H.W. Trypanorhynch Cestodes of Commercial Fishes from Northeast Brazilian Coastal Waters. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 92, n. 1, p. 69-79, 1997.

PALM, H.W. *The Trypanorhyncha Diesing, 1863*. PKSPL-IPB Press, Bogor, Indonesia, 2004. 710p.

PALM, H.; OBIEKEZIE, A.; MOLLER, H. Trypanorhynchid cestodes of commercial inshore fishes of the West African coast. *Aquat Living Resour.*, Cambridge, UK, v.7, p. 153-164, 1994.

PALM, H.W.; WAESCHENBACH, A.; OLSON, P.D.; TIMOTHY, D.; LITTLEWOOD, J. Molecular phylogeny and evolution of the Trypanorhyncha Diesing, 1863 (Platyhelminthes: Cestoda). *Mol. Phylogenet. Evol.*, San Diego, USA, v. 52, p. 351-367, 2009.

PARAGUASSÚ, A.R.; LUQUE, J.L.; ALVES, D.R. Community ecology of metazoan parasites of red porgy *Pagrus pagrus* (Osteichthyes: Sparidae) from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Sci.*, Maringá, v. 24, p. 461-467, 2002.

PELAYO, V.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, P.; PUENTE, P.; RODERO, M.; CUÉLLAR, C. Seroprevalence of Anti-*Gymnorhynchus gigas* (Trypanorhyncha, Gymnorhynchidae) Antibodies in a Spanish Population. *J. Parasitol.*, Lawrence, USA, v. 95, n. 3, 2009.

PEREIRA JR, J. O complexo de espécies de Trypanorhyncha (Cestoda), em corvinas *Micropogonias furnieri* do Rio Grande do Sul. Arquivos da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS, UFRGS, Porto Alegre, v. 21, p. 58-70, 1993

PEREIRA JR, J.; BOEGER, W.A. Larval tapeworms (Platyhelminthes, Cestoda) from sciaenid fishes of the southern coast of Brazil. *Zoosystema*, Paris, France, v. 27, n. 1, p. 5-25, 2005.

PICHLER, W.L. Anisakiasis: immunity, allergy or both? Lessons on natural role of immunoglobulin E from a nematode infestation. *Clin. Exp. Allergy*, Oxford, UK, v. 29, p. 1161-1163, 1999.

PINTO, R.M.; KNOFF, M.; SÃO CLEMENTE, S.C.; LANFREDI, R.M.; GOMES, D.C. The taxonomy of some Poecilacanthoidea (Eucestoda: Trypanorhyncha) from elasmobranchs off the southern coast of Brazil. *J. Helminthol.* London, UK, v. 80, p. 291-298, 2006.

PORTO, C.J.S. SÃO CLEMENTE, S.C.; FREITAS, M.Q.; SÃO CLEMENTE, R.R.B.; KNOFF, M.; MATOS, E. *Pterobothrium crassicolle* (Eucestoda: Trypanorhyncha) em corvinas, *Micropogonias furnieri*, comercializadas no município de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, UFF, Niterói, v. 16, p. 133-135, 2009.

REGO, A.A. Contribuição ao conhecimento dos cestóides do Brasil I – Cestóides de peixes, anfíbios e répteis. *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, v. 16, p. 97-129, 1973.

REGO, A.A. Cestóides parasitas de *Carcharinus longimanus* (Poey, 1861). *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v. 37, p. 847-852, 1977.

REGO, A.A. Contribuição ao conhecimento da Helmintologia de raias fluviais (Paratrygonidae: Chondricthyes). Itaguaí, 1978. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1978.

REGO, A.A. Redescrição de *Pterobothrium crassicolle* Diesing, 1850 (Cestoda: Trypanorhyncha). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 82, p. 51-53, 1987.

REGO, A.A.; SANTOS, C.P. Helmintofauna de cavalas, *Scomber japonicus* Houtt, do Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 443-448, 1983.

RÊGO, A. A.; SANTOS, J. C.; SILVA, P. P. Estudo de cestóides de peixes do Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 72, n. 3/4, p. 187-204, 1974.

REGO, A.A.; CHUBB, J.C.; PAVANELLI, G.C. Cestodes in South American freshwater teleost fishes: keys to genera and brief description of species. *Rev. Bras. Zool.*, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 299-367, 1999.

RIBEIRO, J. *Pesquisa de nematóides de importância sanitária em enxada Chaetodipterus faber (Broussonet, 1782) e pampo Trachinotus carolinus (Linnaeus, 1766)*. Niterói, 2012. 40f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.

RIBEIRO, R.S.; LUQUE, J.L.; ALVES, D.R. Aspectos quantitativos dos parasitos da Maria-luiza, *Paralanchurus brasiliensis* (Osteichthyes: Sciaenidae), do litoral do estado do Rio de Janeiro. *Revista da Universidade Rural – Série Ciências da Vida*, UFRRJ, Seropédica, v. 22, p. 151-154, 2002.

RODERO, M.; CUÉLLAR, C. Humoral immune responses induced by

Gymnorhynchus gigas extracts in BALB/c mice. *J. Helminthol.*, London, UK, v. 73, p. 239-243, 1999.

RUDOLPHI, C.A. *Entozoorum synopsis, cui accedunt mantissa duplex et indices locupletissimi. Sumptibus Augusti Rücker*. Berolini, 1819. 811p.

SAAD, C.D.R.; LUQUE, J.L. Larvas de Anisakidae na musculatura do pargo, *Pagrus pagrus*, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 18, supl. 1, p. 71-73, 2009.

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. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 12, n. 4, p. 171-178, 2003.

SACILOTO, M.P. *Helmintofauna de Cynoscion leiarchus (Cuvier, 1830) (Pisces, Sciaenidae) de Matinhos, Paraná*. Paraná, 1980. 143f. Tese - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 1980.

SAKANARI, J.A.; MCKERROW, J.H. Anisakiasis. *Clin. Microbiol. Rev.*, Washington, USA, v. 2, n. 3, p. 278-284, 1989.

SANTIAGO, H.C.; BENNURU, S.; BOYD, A.; EBERHARD, M.; NUTMAN, T.B. Structural and immunologic cross-reactivity among filarial and mite tropomyosin: implications for the hygiene hypothesis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, St. Louis, USA, v. 127, p. 479-486, 2011.

SANTOS, C.A.M.L.; ZOGBI, P.V. La infestation de peces em Brasil com larvas de *Tetrarhynchus fragilis*. Roma, Itália. In: FAO. *Fish Inspection and Quality Control*. Roma, p. 262-264, 1971.

SÃO CLEMENTE, S.C. *Cestóides importantes na industrialização e comercialização da corvina Micropogonias furnieri (Desmarest) no litoral do Estado do Rio de Janeiro*. Itaguaí, 1982. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1982.

SÃO CLEMENTE, S.C. Plerocercos da Ordem Trypanorhyncha, parasitos de corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest) no litoral do Estado do Rio de Janeiro. *Atas da Sociedade de Biologia Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, v. 26, p. 29-36, 1986a.

SÃO CLEMENTE, S.C. Prevalência e intensidade média de infecção de plerocercos de Trypanorhyncha, parasitando corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest) no litoral do Rio de Janeiro. *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, v. 26, p. 37-44, 1986b.

SÃO CLEMENTE, S.C. Plerocercos de cestóides da ordem Trypanorhyncha, em corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest) e sua importância na inspeção sanitária do pescado. *Arquivos Fluminenses de Medicina Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 2, p. 82-83, 1987.

SÃO CLEMENTE, S.C.; GOMES, D.C. *Dasyrhynchus pacificus* Robinson, 1965 (Trypanorhyncha: Dasyrhynchidae) description of the adult form. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 84, p. 113-116, 1989a.

SÃO CLEMENTE, S.C.; GOMES, D.C. Trypanorhyncha from sharks of southern brazilian coast: *Eutetrarhynchus vooremi* sp. n. and two other species parasites of *Mustelus* (Pisces, Triakidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 84, p. 475-481, 1989b.

SÃO CLEMENTE, S. C.; COELHO, M. R. T.; SERRA FREIRE, N. M. Cestóides parasitos de bagre *Netuma barba* (Lacépède, 1803) pescados no litoral do Rio de Janeiro e comercializados para consumo humano. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, Seropédica, v. 14, p. 27-34, 1991a.

SÃO CLEMENTE S. C., GOMES D. C. & FREIRE N. M. S. Prevalência e intensidade de infecção de worms da ordem Trypanorhyncha em elasmobrânquios no litoral do Sul do Brasil. *Parasitol. al Día*, Santiago, Chile, v. 15, p. 9-14, 1991b.

SÃO CLEMENTE, S.C.; MATOS, E.; UCHOA, C.M.A.; MATOS, P. Trypanorhyncha plerocerci in fish of comercial importance in Brazil. *Parasitol al Día*, Santiago, Chile, v. 17, n. 1-2, p. 52-53, 1993.

SÃO CLEMENTE, S.C.; UCHOA, C.M.A.; SERRA-FREIRE, N.M. Larvas de anisakídeos em *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758) e seu controle através de baixas temperaturas. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, UFF, Niterói, v. 1, n. 1, p. 21-24, 1994.

SÃO CLEMENTE, S.C.; LIMA, F.C.; UCHOA, C.M. Parasitos de *Balistes vetula* (L.) e sua importância na inspeção do pescado. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, UFF, Niterói, v. 2, n. 2, p. 39-41, 1995a.

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

SÃO CLEMENTE, S.C., SILVA, C.M.; LUCENA, F.P. Sobrevivência de larvas de anisakídeos de peixe espada *Trichiurus lepturus* (L.), submetidos aos processos de salmouragem e cocção. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, UFF, Niterói, v. 3, p. 79-80, 1996.

SÃO CLEMENTE, S.C.; SILVA, C.M.; GOTTSCHALK, S. Prevalência e intensidade de infecção de cestóides Trypanorhyncha em anchovas, *Pomatomus saltatrix* (L.) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitol. al Día*, Santiago, Chile, v. 21, p. 54-57, 1997.

SÃO CLEMENTE, S.C.; PEREIRA JR, J.; KNOFF, M.; SILVA, C.M.; FERNANDEZ, J.G.; COUSIN, J.C. *Hepatoxylon trichiuri* (Holten, 1802) Dollfus, 1942, Hepatoxylidae Dollfus, 1940 (Eucestoda: Trypanorhyncha) em *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), do litoral do estado do Rio Grande do Sul e em *Coryphaena hippurus* Linnaeus,

1758, do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitol. al Día*, Santiago, Chile, v. 25, p. 135-137, 2001.

SÃO CLEMENTE, S.C.; KNOFF, M.; PADOVANI, R.E.S.; LIMA, F.C.; GOMES, D.C. Cestóides parasitos de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados nos municípios de Niterói e Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 13, p. 97-102, 2004.

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. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 16, p. 37-42, 2007.

SCHAEFFNER, B.C.; BEVERIDGE, I. *Cavearhynchus*, a new genus of tapeworm (Cestoda: Trypanorhyncha: Pterobothriidae) from *Himantura lobistoma* Manjaji-Matsumoto & Last, 2006 (Rajiformes) off Borneo, including redescription and new records of species of *Pterobothrium* Diesing, 1850. *Syst. Parasitol.*, The Hague, Netherlands, v. 82, n. 2, p. 147-165, 2012.

SCHMIDT, G.D. *CRC Handbook of tapeworm identification*. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, USA, 1986. 675p.

SICHERER, S. H. Food allergy. *Lancet*, London, UK, v. 360, p. 701-710, 2002.

SILVA Jr, A.C.S. Parasitismo por cestóides da ordem Trypanorhyncha na musculatura de *Plagioscion squamosissimus* – pescada branca (Perciforme: Sciaenidae), comercializados em Macapá, AP. *Ci. Anim. Bras.*, UFG, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 737-742, 2010.

SILVA, L.G.O.; LUQUE, J.L.; ALVES, D.R.; PARAGUASSÚ, A.R. Ecologia da comunidade parasitária do peixe-espada *Trichiurus lepturus* (Osteichthyes: Trichuridae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoociências*, UFJF, Juiz de Fora, v. 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 ariocó (*Lutjanus synagris*) e sua importância na inspeção de pescado. *Hig. Aliment.*, São Paulo, v. 15, n. 80/81, p. 75-79, 2001.

SVS (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE – MINISTÉRIO DA SAÚDE). Difilobotríase: alerta e recomendações. 2005. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21312>. Acesso em: 13 out. 2012.

TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L.; BOTELHO NETO, S.L. Ecologia da comunidade de metazoários parasitos do olho-de-cão *Priacanthus arenatus* (Cuvier, 1829) (Osteichthyes, Priacanthidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Zoociências*, UFJF, Juiz de Fora, v. 3, n. 1, p. 45-59, 2001.

TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L. Community ecology of the metazoan parasites of common snook *Centropomus undecimalis* (Osteichthyes: Centropomidae) from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.*, São Paulo, v. 64, p. 523-529, 2004a.

TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L. Community ecology of the metazoan parasites of white sea catfish, *Netuma barba* (Osteichthyes: Ariidae), from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.*, São Paulo, v.64, p.169-176, 2004b.

TAVARES L.E.R.; LUQUE J.L.R. Sistemática, biologia e importância em saúde coletiva das larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas de peixes ósseos marinhos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, p.297-328. In: *Sanidade de Organismos aquáticos no Brasil*. ABRAPOA, Maringá, Paraná, 2006.

TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L.; BOTELHO, A.J.A. Ecologia da comunidade parasitária do olho-de-cão, *Priacanthus arenatus* (Osteichthyes: Priacanthidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Zoociências*, UFJF, Juiz de Fora, v. 3, p. 45-59, 2001.

TAVARES, L.E.R.; BICUDO, A.J.A.; LUQUE, J.L. Metazoan parasites of the needlefish *Tylosurus acus* (Lacépède, 1803) (Osteichthyes: Belonidae) from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, São Paulo, v. 13, p. 36-40, 2004a.

TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L.; BICUDO, A.J.A. Metazoan parasites of the Brazilian menhaden, *Brevoortia aurea* (Osteichthyes, Clupeidae) from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.*, São Paulo, v. 64, p. 553-554, 2004b.

TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L.; BICUDO, A.J.A. Community ecology of the metazoan parasites of anchovy *Anchoa tricolor* (Osteichthyes: Engraulidae) from the coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.*, São Paulo, v. 65, p. 533-540, 2005.

THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for on the hygiene of foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 2004. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:139:0055:0205:EN:PDF>>. Acesso em: 13 out. 2012.

TIMI, J.T.; LUQUE, J.L.; SARDELLA, N. Parasites of *Cynoscion guatucupa* long South American Atlantic coasts: evidence for stock discrimination. *J. Fish Biol.*, v. 67, p. 1603-1618, 2005.

TIMI, J.T.; LANFRANCHI, A.L.; LUQUE, J.L. Similarity in parasite communities of teleost fish *Pinguipes brasilianus* in the southwestern Atlantic: Infracommunities as a tool to detect geographical patterns. *Int.J. Parasitol.*, New York, USA, v. 40, p. 243-254, 2010.

VAN THIEL, P.H. Anisakiasis. *Parasitology*, London, UK, v. 52, p. 16-17, 1962.

VAN THIEL, P. H.; HIPPER, C. F.; ROSKAM, R. T. A Nematode Parasitic to Herring causing Acute Abdominal Syndromes in Man. *Trop. Geogr. Med.*, Amsterdam, Netherlands, n. 2, p. 97-113, 1960.

VAZQUEZ-LOPEZ, C.; DE ARMAS-SERRA, C.; BERNARDINA, W.; RODRIGUEZ-CAABEIR, F. Oral inoculation with *Gymnorhynchus gigas* induces anti-parasite anaphylactic antibody production in both mice and rats and adverse reactions in challenge mice. *Int. J. Food Microbiol.*, Amsterdam, Netherlands, v. 64, p. 307-315, 2001.

VAZQUEZ-LOPEZ, C.; DE ARMAS-SERRA, C.; BERNARDINA, W.; RODRIGUEZ-CAABEIR, F. A 24-kDa collagenase from *Gymnorhynchus gigas* elicits rat ileum hyperreactivity and is a target of humoral responses in mice previously given a single oral dose of parasite extract. *Dig. Dis. Sci.*, New York, USA, v. 47, p. 935-942, 2002.

YAGI, K.; NAGASAWA, K.; ISHIKURA, H.; NAGAKAWA, A.; SATO, N.; KIKUCHI, K.; ISHIKURA, H. Female worm *Hysterothylacium aduncum* excreted from human: a case report. *Jpn. J. Parasitol.*, Tokyo, Japan, v. 45, p. 12-23, 1996.

ZISCHKE, M.T.; CRIBB, T.H.; WELCH, D.J.; SAWYNOK, W.; LESTER, R.J.G. Stock structure of blue threadfin *Eleutheronema tetradactylum* on the Queensland east coast, as determined by parasites and conventional tagging. *J. Fish Biol.*, v. 75, p. 156-171, 2009.