

4. PROTOCOLO PARA AVALIAR A INFECÇÃO POR *ANGUILLICOLA CRASSUS* E O ÍNDICE DEGENERATIVO DA BEXIGA NATATÓRIA (SDI)

1. Evitar que a bexiga natatória se abra, ao removê-la da enguia;
2. A bexiga gasosa/natatória é constituída por 2 camadas, que devem ser analisadas conjuntamente.
3. Colocar a bexiga natatória numa **caixa de Petri**, com água salgada (8 g/l);
4. Numa primeira observação, verificar a transparência e opacidade da bexiga natatória, sem a abrir, (para posterior determinação do SDI);
5. Abrir a bexiga natatória, de uma extremidade à outra, ao longo do eixo longitudinal, utilizando uma pequena tesoura de pontas finas, o mais superficialmente possível para evitar danificar os parasitas. Deve ainda inspecionar-se a bexiga natatória em toda a sua extensão para garantir que os parasitas pequenos, alojados nas extremidades, são detetados. Abrir igualmente o canal entre as 2 glândulas gasosas, uma vez que as larvas podem ficar ocultas no seu interior;
6. Ao abrir a bexiga natatória inspecionar para detetar possíveis fugas de exsudados (consideram-se como exsudados pedaços de vermes mortos, eritrócitos, tecido da bexiga natatória em decomposição, ovos, e *A. crassus* no estágio L2);
7. Para determinar o Índice Degenerativo da Bexiga Natatória (SDI) necessitará de uma **lupa binocular** e um **paquímetro**.

4.1. Determinar o nível individual da infeção por *Anguillicola crassus*

Dispõe de 2 opções:

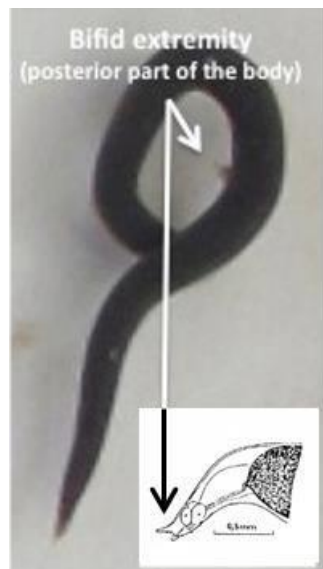
- 1) a primeira é a mais fácil e mais rápida: simplesmente remover e contar os parasitas (mas sem lupa binocular não será possível detetar os parasitas mais pequenos (larvas por exemplo).
- 2) a segunda opção, mais complexa e demorada que a primeira, é todavia melhor pois permite avaliar o possível impacto de *A. crassus*: identificar os estádios de desenvolvimento e, se possível, o sexo dos adultos (necessitará de esticar a parede da bexiga natatória e de uma lupa binocular com luz forte para poder observá-los).

Infeção por *Anguillicola crassus*

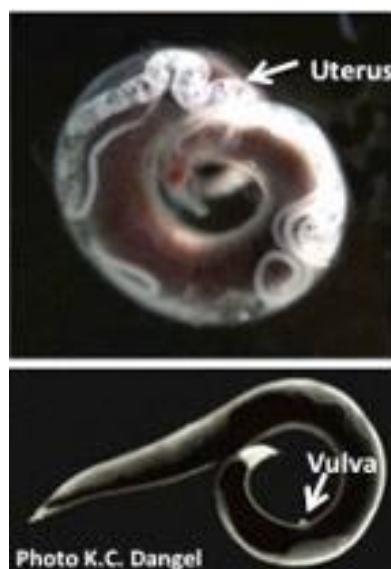
- 1) Remoção e contagem dos parasitas sem lupa binocular (subestima a infeção).



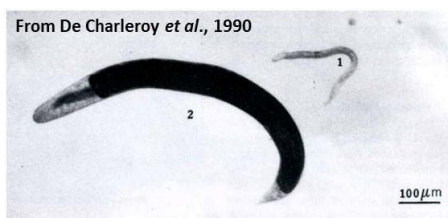
2) Remoção e contagem dos parasitas com lupa binocular (permite identificar todos os estádios do parasita).



Macho



Fêmea



Larva L3 (1) e larva L4 (2)



Larva L3



Larva L4

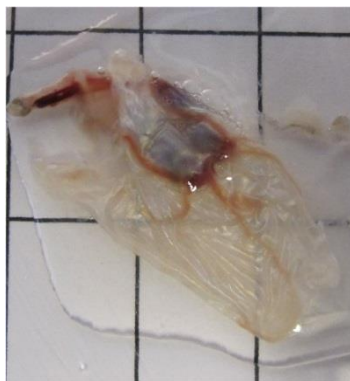
4.2. Determinar o Índice Degenerativo da Bexiga Natatória (SDI) (modificado de Lefebvre et al., 2002)

Com base nos 3 critérios a seguir indicados, codificados como 0, 1 ou 2 (degradação crescente).

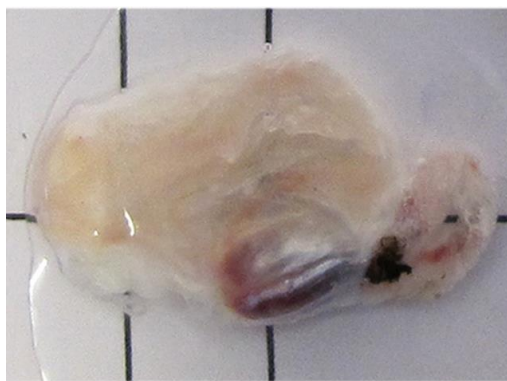
1) Transparência e opacidade da parede da bexiga natatória

Usar um papel com linhas impressa em negrito (“bold”). Esticar a bexiga natatória sobre as linhas e se:

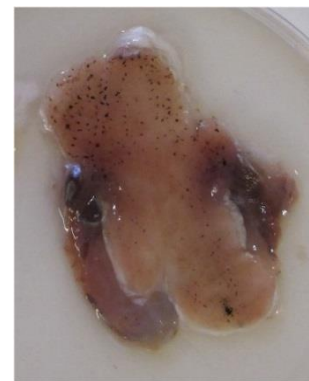
- Puder observar as linhas através da bexiga natatória sem qualquer tipo de ampliação (luz natural): pontuação 0
- As linhas não forem visíveis através da luz transmitida da lupa binocular: pontuação 2
- Não for possível ver as linhas à luz natural e sem ampliação mas sim com luz transmitida: pontuação 1.



Linhas claramente visíveis
Luz natural
PONTUAÇÃO 0



Linhas pouco visíveis
Luz transmitida
PONTUAÇÃO 1



Linhas não visíveis
Luz transmitida
PONTUAÇÃO 2

2) Presença de pigmentação e/ou exsudados

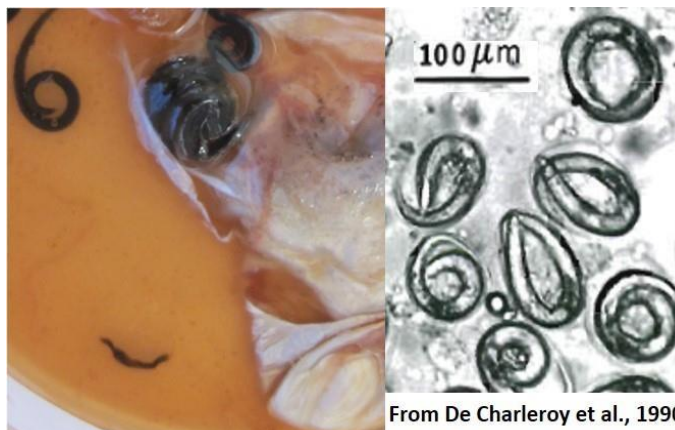
Pedaços de vermes mortos, eritrócitos, tecido da bexiga natatória em decomposição, ovos e estágio L2 de *A. crassus*, devem ser considerados como exsudado.

A pigmentação que acompanha os vasos sanguíneos e/ou no canal neumático não é considerada como pigmentação (como se fosse uma estrada -----).

- Quando a bexiga natatória é congelada, ocorrem pequenos pedaços de pele soltos no lúmen, que resultam de descamação, mas estes não são exsudados.
- Não havendo pigmentação nem exsudados: pontuação 0
- Havendo apenas pigmentação ou somente exsudados: pontuação 1
- Havendo pigmentação e exsudados: pontuação 2



Pigmentação (externa ou interna)
PONTUAÇÃO 1



Somente exsudados (L2 nos ovos na imagem da direita)
PONTUAÇÃO 1

PONTUAÇÃO 0
PONTUAÇÃO 1
PONTUAÇÃO 2

Se não houver pigmentação NEM exsudados:
Pigmentação OU exsudados
Pigmentação E exsudados

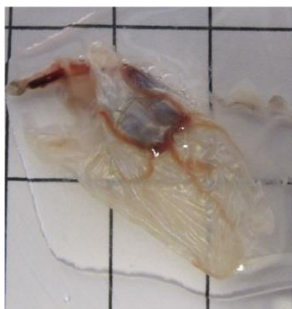
3) Espessura da parede da bexiga natatória

Usar um paquímetro eletrónico (eletrónico é melhor)

Evitar apertar demasiado a parede da bexiga natatória. Deve-se apenas apertar o suficiente para que a bexiga natatória não caia, quando na posição vertical.

Caso a bexiga natatória tenha diferentes espessuras em diferentes pontos, deve-se registar o valor médio.

- Pontuação 0 : <1mm
- Pontuação 1 : $\geq 1\text{mm}$ e $\leq 3\text{mm}$
- Pontuação 2 : > 3mm



Menos de 1 mm
PONTUAÇÃO 0



Entre 1 e 3 mm
PONTUAÇÃO 1



Mais de 3 mm
PONTUAÇÃO 2

Se a análise não for feita em material fresco, a bexiga natatória deve ser removida e conservada a uma temperatura de -20 °C. Para tal, cada bexiga natatória deve ser guardada num pequeno recipiente (o tamanho de cada recipiente deve ser adequado ao tamanho da bexiga), que contenha a codificação apropriada para subsequente identificação da enguia.

Referências

Lefebvre F., P. Contournet and A.J. Crivelli. 2002. The health state of the eel swimbladder as a measure of parasite pressure by *Anguillicola crassus*. *Parasitology*, 124: 457-463.

[illegible]