

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ



**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΠΡΩΤΟΤΥΠΩΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΑΓΩΓΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΞΩΠΑΡΑΣΙΤΩΣΕΩΝ ΟΠΩΣ
ΑΥΤΕΣ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΙΣ ΕΝΤΑΤΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΕΙΔΩΝ
ΨΑΡΙΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ**

ΚΟΛΥΓΑΣ Ν. ΜΑΡΚΟΣ

Τ. Ιχθυολόγος, MSc

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

που εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας, Ιχθυολογίας &
Υδατοκαλλιεργειών του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Καρδίτσα 2014

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διατριβή είναι χωρισμένη σε τέσσερις θεματικές ενότητες.

Στη πρώτη ενότητα μελετήθηκε ο βαθμός παρασίτωσης, η εποχικότητα και η παθολογία των εξωπαρασιτώσεων στα εκτρεφόμενα είδη. Παράλληλα διερευνήθηκε το ποιοτικό και ποσοτικό παρασιτικό προφίλ των άγριων πληθυσμών με σκοπό να τεκμηριωθεί εάν αυτοί ευθύνονται για τις παρασιτώσεις των εκτρεφόμενων και ποιά η ειδοειδική σχέση μεταξύ παρασίτων και ψαριών.

Από τα αποτελέσματα προέκυψαν σημαντικά συμπεράσματα ειδοειδικής ηθολογίας μεταξύ των παρασίτων και των ξενιστών τους. Δηλαδή συγκεκριμένα είδη παρασίτων εμφανίζονται σε συγκεκριμένα είδη ψαριών, με παρουσία επίμονη τόσο στους εκτρεφόμενους όσο και στους άγριους πληθυσμούς, αυτό φαίνεται να ισχύει περισσότερο στα μονογενή, διγενή και κωπήποδα παράσιτα και όχι στα κεστώδη που εμφανίζουν μικρή ειδικότητα ξενιστών.

Στη δεύτερη θεματική ενότητα διερευνήθηκε η τοξική δράση δύο αντιπαρασιτικών ουσιών, της νικλοσαμίδης που είναι ένα ταινιοκτόνο- μαλακιοκτόνο και της εμαμεκτίνης που έχει κωπηποδοκτόνες ιδιότητες. Μέσα από διάφορα δοσολογικά σχήματα *per os* χορήγησης διαπιστώθηκε πως η νικλοσαμίδα είναι ασφαλής σε υψηλή-βραχυχρόνια χορήγηση (60ppm/kg x 3d) όπως επίσης και σε χαμηλή-μακροχρόνια (20ppm/kg x 10d). Παρόλα αυτά, σε ημερήσια χορήγηση πάνω από 100ppm/kg βιομάζας η νικλοσαμίδα φάνηκε να είναι ελαφρά τοξική για τα ψάρια καθώς παρουσίασαν αλλαγή στο χρωματισμό, απάθεια, ληθαργικότητα, ανωμαλία πλεύσης και ασκίτη. Ιστοπαθολογικά ευρήματα υπέδειξαν νεφροτοξικότητα και ατροφία του εντερικού βλεννογόνου. Δοσολογικά σχήματα που ξεπερνούν τα 100ppm/ ημέρα είναι θανατηφόρα για τα ψάρια με τον επερχόμενο χρόνο θανάτου να είναι αντιστρόφως ανάλογος της δόσης εφαρμογής. Σε μεγάλες δόσεις ο θάνατος είναι βίαιος πιθανότατα εξαιτίας καρδιακής ανακοπής και για το λόγο αυτό τα ιστοπαθολογικά ευρήματα είναι ασαφή. Για να μειωθεί ο κίνδυνος τοξίκωσης από υπερδοσία εξαιτίας υπερβολικής κατανάλωσης φαρμακούχας τροφής από τα ψάρια, θα πρέπει σε επίπεδο εκτροφής η ουσία να εφαρμόζεται σε όλη τη ποσότητα του πρωινού γεύματος και όχι σε μέρος αυτού. Η εμαμεκτίνη ως καλά μελετημένο και αδειοδοτημένο φάρμακο στη Νορβηγία ενάντια στα θαλάσσια κωπήποδα παράσιτα

του σολομού δεν υπέδειξε τοξική δράση στα ψάρια ακόμα και σε δόσεις 100πλάσιες της προτεινόμενης.

Στη τρίτη θεματική ενότητα έγινε έλεγχος της αντιπαρασιτικής δράσης της εμαμεκτίνης και της νικλοσαμίδης μετά από χορήγηση σε ιχθύες φυσικά μολυσμένους με παράσιτα. Η αντιπαρασιτική δράση ελέγχθηκε τόσο εργαστηριακά όσο και στο πεδίο. Εργαστηριακά διαπιστώθηκε πως η νικλοσαμίδα δρα ενάντια στα μονογενή παράσιτα και δη σε γένη όπως *Lamellodiscus echeneis* (*Furnestinia*), *Diplectanum* και *Sparicotyle* που είναι γνωστοί παρασιτικοί αιτιολογικοί παράγοντες στις ιχθυοεκτροφές της Μεσογείου, ενώ η εμαμεκτίνη δρα ενάντια στα κωπήποδα και δη στα γένη *Caligus* και *Lernanthropus*. Η δράση και των δύο φαρμάκων ελέγχθηκε σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής με την εμαμεκτίνη να είναι δραστική στο σύνηθες δοσολογικό σχήμα (0,1μg/kg/d x 10d), μειώνοντας το συνολικό παρασιτικό φορτίο ανά ψάρι έως και 68% την 30 ημέρα. Η νικλοσαμίδα αν και εργαστηριακά κατάφερε πρακτικά να μηδενίσει το παρασιτικό φορτίο των ψαριών εντούτοις τα αποτελέσματα στο πεδίο ήταν λιγότερο εντυπωσιακά αλλά εξίσου σημαντικά καθώς το συνολικό παρασιτικό φορτίο ανά βράγχιο μειώθηκε σε ποσοστό 88,5% τη 17^η ημέρα στο δοσολογικό σχήμα των 60ppm/kg/d x 5 d. Το πραγματικό πλεονέκτημα των δύο αυτών αντιπαρασιτικών ουσιών δεν είναι η αντιπαρασιτική τους δράση αυτή καθαυτή, αλλά το γεγονός πως παραμένουν δραστικά ακόμη και με *per os* χορήγηση η οποία πλεονεκτεί των λοιπών τρόπων εφαρμογής (λουτρά).

Στη τέταρτη θεματική ενότητα έγινε έλεγχος των φαρμακοκινητικών παραμέτρων της νικλοσαμίδης. Ο χρόνος ημίσειας ζωής ($t_{1/2}$) στο δέρμα υπολογίστηκε στις 150h, οπότε πρακτικά ο χρόνος αναμονής ανέρχεται στις 787 βαθμοημέρες (χρειάζεται να παρέλθει 6 φορές ο χρόνος αναμονής της ουσίας για να είναι μη ανιχνεύσιμη στους ιστούς). Εκτός των παραπάνω υπολογίστηκαν και λοιπές φαρμακοκινητικές παράμετροι όπως κάθαρση πλάσματος (CL_{pl})(0,84 L/h/Kg), μέγιστες συγκεντρώσεις ιστών (C_{max} , σταθερά ρυθμού αποβολής (K_{el} =0,0138) καθώς επίσης και ο μέσος χρόνος αναμονής (MRT_{pl} = 44 h). Έλεγχος των φαρμακοκινητικών παραμέτρων της εμαμεκτίνης δεν έγινε στη παρούσα θεματική ενότητα καθώς έχει εκτενώς διερευνηθεί από πρόσφατες εργασίες.

Ανακοινώσεις και Δημοσιεύσεις σχετιζόμενες με την παρούσα διατριβή

- **Kolygas M.N.**, Gourzioti E., Vatsos I.N., Athanasopoulou F. (2012). Identification of *Tenacibaculum maritimum* strains from marine farmed fish in Greece. *Journal of Veterinary Record* 170(24): 623-625.
- **M.N. Κολύγας**, Ε. Γουρζιώτη, Φ. Αθανασοπούλου. Πρώτη εμφάνιση μυκητίασης σε εκτρεφόμενα θαλασσινά ψάρια του είδους *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758) (Φαγκρι) από *Exorhiala* sp. στην Ελλάδα. 10-13 Οκτωβρίου 2013. 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιχθυολόγων, Θεσσαλονίκη. Βιβλίο πρακτικών, σελ. 379-382.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Φ. Αθανασοπούλου, Καθηγήτρια, Επιβλέπουσα

Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας, Ιχθυολογίας & Υδατοκαλλιεργειών, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ι. Πάσχος, Ομότιμος Καθηγητής, Μέλος Συμβουλευτικής Επιτροπής

Τμήμα Ιχθυοκομίας & Αλιείας, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Ηπείρου

Ι. Παππάς, Αναπληρωτής Καθηγητής, Μέλος Συμβουλευτικής Επιτροπής

Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Τοξικολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Φ. Αθανασοπούλου, Καθηγήτρια, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ι. Πάσχος, Ομότιμος Καθηγητής, Τμήμα Ιχθυοκομίας & Αλιείας, ΤΕΙ Ηπείρου

Ι. Παππάς, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Α. Γκόβαρης, Καθηγητής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ι. Λεονάρδος, Καθηγητής, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών

Η. Παπαδόπουλος, Καθηγητής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Μ. Λευκαδίτης, Λέκτορας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

**IMPLEMENTATION OF INNOVATORY AND
EFFICACIOUS TREATMENTS AGAINST
ECTOPARASITES OF INTENSIVE CULTURED
MEDITERRANEAN FISH**

KOLYGAS N. MARKOS

T. Ichthyologist, MSc

**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY**

Work carried out at the Laboratory of Fish Diseases and Aquaculture of the Faculty
of Veterinary Medicine of the University of Thessaly

Karditsa. Greece 2014

ABSTRACT

Current thesis is divided into 4 thematic Chapters.

The 1st Chapter is dealing with the parasitic relatedness between cultured and wild fish populations and the role of the former as passive parasitic transmitters to the latter. In order to investigate the above hypotheses, a thorough research upon the quantitative- qualitative parasitic profile was conducted taking into account several parameters such as season, clinical manifestations and histopathological findings.

The results indicated strong behavioral patterns between parasites and fish species. That is, most of the monogenean and trematoda parasites infect specific fish species, showing high host specificity, but cestodes presented low host specificity infecting a wide range of marine teleosts.

In the 2nd Chapter two antiparasitic substances –niclosamide and emamectin - were concluded in fish toxicity tests through several *per os* administrative regimens. As far as niclosamide is concerned 60ppm/kg/d for 3days and 20ppm/kg/d for 10 days regimens were sublethal and safe demonstrating normal kidney and liver histological findings. Daily doses of 100ppm indicated slightly toxic manifestations such as pigmentation abnormalities, lethargy, apathy, and askitis. Histopathological findings focused mainly on the atrophy of the intestinal mucosa and glomeruli disorganization. Regimes that exceed daily intake of 100ppm niclosamide, are highly toxic. Toxicity immediately rapidly due to cardiac arrest and in most of the cases no histopathological signs were visible. In order to reduce overdose manifestations, niclosamide should be applied in the whole quantity of the first meal in cultured fish, and not on a part of it. Emamectin, as a well studied and registered antiparasitic drug in Norway, did not indicate any kind of toxicity, whatsoever.

In The 3rd Chapter optimum sublethal and subtoxic regimens of the previous (2nd) Chapter, were challenged against naturally infected fish with ectoparasites, on laboratory conditions. The final curative doses tested in field trials. Niclosamide regimen of 60ppm/kg biomass/d for 5 days is effective against *Sparicotyle*, *Diplectanum* and *Lamellodiscus*, capable of decreasing the total parasitic load up to 88,5% (17th day). Emamectin regimen of 0,1µg/kg/d for 10 days is effective against *Caligus* and *Lernanthropus* genera, by reducing the total parasitic load per fish up to 68% (30th day). As a conclusion, both compounds have an advantage over current

antiparasitic applications through immersion, for they can be effect via *per os* administration.

In the 4th Chapter, pharmacokinetics and bioavailability of niclosamide studied after single administration of niclosamide, via injection and *per os*, respectively. The distribution of the substance in target- tissues was also calculated through time. Half-time period in skin ($t_{1/2}(\text{skin})$) was approximately 150h in 21⁰C, which can be generally expressed as 787 degree-days (6 period half-time periods need to reduce niclosamide concentrations below minimum tracing levels. Other pharmacokinetic parameters in plasma were: AUC_{plasma} (2863 h*ng/L), Vd_{plasma} (60,8 L/kg), CL_{plasma} (0,84 L/h/kg), $K_{\text{el (plasma)}}$ (0.013 L/h) and MRT_{plasma} (44 h). Pharmacokinetic parameters of emamectin did not calculated for it has been extensively studied in previous studies.

Announcements and Publications associated with the present thesis

- **Kolygas M.N.**, Gourzioti E., Vatsos I.N., Athanasopoulou F. (2012). Identification of *Tenacibaculum maritimum* strains from marine farmed fish in Greece. *Journal of Veterinary Record* 170(24): 623-625.
- **M.N. Kolygas**, E. Gourzioti, F. Athanasopoulou (2013). First incident of mycosis in marine cultured red porgy (*Pagrus pagrus* Linnaeus, 1758) caused by *Exophiala* sp. in Greece. Publication in 15th Pan-Hellenic Conference of Ichthyologists, University of Thessaloniki, 10-13 October 2013. Book of proceedings, pp. 379-382.

ADVISOR COMMITTEE

F. Athanassopoulou, Professor, Supervisor
Laboratory of Fish Diseases and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine,
University of Thessaly

I. Paschos, Professor, Member of advisory committee
Department of Aquaculture and Fisheries, Technological Educational Institute of
Epirus

Associate Professor, I. Pappas, Member of advisory committee
Laboratory of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine,
University of Thessaly

EXAMINATION BOARD

Professor F. Athanassopoulou , Faculty of Veterinary Medicine, University of
Thessaly

Professor I. Paschos , Technological Educational Institute of Epirus

Associate Professor, I. Pappas, Faculty of Veterinary Medicine, University of
Thessaly

Professor, A. Govaris, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly

Professor, I. Leonardos, Department of Biological applications and Technology,
University of Ioannina

Professor, E. Papadopoulos, School of Veterinary Medicine, Aristotle University of
Thessaloniki

M. Leukaditis, Lecturer, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
Ανακοινώσεις και Δημοσιεύσεις σχετιζόμενες με την παρούσα διατριβή	4
ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ.....	5
ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ	5
ABSTRACT	7
EXAMINATION BOARD.....	10
Ευχαριστίες.....	15
Αναλυτική περιγραφή αντικειμένου της έρευνας	17
1 ^η Ενότητα: Μελέτη του βαθμού παρασίτωσης, της εποχικότητας και της παθολογίας των εξωπαρασιτώσεων	17
2 ^η Ενότητα: Τοξικότητα Εμαμεκτίνης, Νικλοσαμίδης	18
3 ^η Ενότητα: Αποτελεσματικότητα –πειραματικές δοκιμές	19
4 ^η Ενότητα: Φαρμακοκινητική, t αποδρομής	19
Καινοτομικότητα της έρευνας.....	20
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	22
Εξωπαρασιτώσεις στις Ελληνικές υδατοεκτροφές	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο	27
1.1 Υλικά και Μέθοδοι 1 ^{ης} Ενότητας	27
1.1.1 Περιοχές δειγματοληψιών εκτρεφόμενων πληθυσμών	27
1.1.2 Περιοχές δειγματοληψιών άγριων πληθυσμών και επιλογή ειδών	28
1.1.3 Παρασιτολογικές εξετάσεις.....	29
1.1.4 Χρωματισμός παρασίτων	32
1.2 Αποτελέσματα 1 ^{ης} Ενότητας.....	37
1.2.1 Είδη και αριθμός εξετασθέντων ιχθύων.....	37
1.2.2 Σύνολο παρασίτων που εντοπίστηκαν.....	39
1.2.3 Περιγραφή παρασίτων.....	43
1.2.3.1 Μονογενή	44

1.2.3.2 Διγενή Τρηματώδη	93
1.2.3.3 Κωπήποδα	121
1.2.3.4 Ισόποδα.....	148
1.2.3.5 Βδέλλες (Annelida)	155
1.2.3.6 Κεστώδη	159
1.2.4 Παθολογία εξωπαρασιτώσεων	163
1.3 Συζήτηση 1 ^{ης} ενότητας.....	167
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο	170
Τοξικότητα Εμαμεκτίνης, Νικλοσαμίδης.....	170
2.1 Εισαγωγή 2 ^{ης} ενότητας	170
2.1.1 Νικλοσαμίδα.....	170
2.1.1.1 Γενικά χαρακτηριστικά	170
2.1.1.2 Χημική σταθερότητα	171
2.1.1.3 Κτηνιατρική Χρήση	172
2.1.1.4 Αντιπαρασιτική δράση στους ιχθύες	172
2.1.1.5 Παρεντερική χορήγηση	173
2.1.1.6 Γαστρεντερική χορήγηση	174
2.1.2 Εμαμεκτίνη	175
2.1.2.1 Γενικά χαρακτηριστικά.....	175
2.2 Υλικά και Μέθοδοι 2 ^{ης} ενότητας	176
2.3 Αποτελέσματα 2ης Ενότητας	180
2.4 Συζήτηση 2ης Ενότητας.....	193
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο	196
Αποτελεσματικότητα –πειραματικές δοκιμές	196
3.1 Υλικά και Μέθοδοι 3 ^{ης} Ενότητας.....	196
3.2 Αποτελέσματα 3ης Ενότητας	197
3.2.1 Παρασιτικό φορτίο μαρτύρων (ενυδρεία).....	197
3.2.2 Νικλοσαμίδα -Αποτελέσματα πειραματικών χορηγήσεων (ενυδρεία)	199

3.2.3 Εμαμεκτίνη -Αποτελέσματα πειραματικών χορηγήσεων (ενυδρεία).....	202
3.2.4 Παρασιτικό φορτίο μαρτύρων (πεδίο).....	203
3.2.5 Νικλοσαμίδη -Αποτελέσματα πειραματικών χορηγήσεων (πεδίο).....	207
3.2.6 Εμαμεκτίνη -Αποτελέσματα πειραματικών χορηγήσεων (Πεδίο)	216
3.3 Συζήτηση 3ης Ενότητας	221
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο	224
4.1 Υλικά και Μέθοδοι 4 ^{ης} Ενότητας	224
4.1.1 Υπολογισμός φαρμακοκινητικής Νικλοσαμίδης.....	224
4.1.2 Εξαγωγή Νικλοσαμίδης από τους ιστούς.....	224
4.1.2.1 Προετοιμασία Δείγματος.....	224
4.1.2.2 Προετοιμασία φυσιγγίων C18	225
4.1.2.3 Φόρτωση Δειγμάτων στα φυσίγγια - έκλουση	226
4.1.2.4 Ανάλυση υγρού έκλουσης - Ποσοτικοποίηση.....	226
4.2 Αποτελέσματα 4 ^{ης} Ενότητας.....	227
4.3 Συζήτηση 4 ^{ης} Ενότητας	230
Τελικά Συμπεράσματα	235
Νικλοσαμίδη, Μελλοντική χρήση: ευκαιρία ή ουτοπία;	236
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	237

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Ιχθυολογίας – Ιχθυοπαθολογίας σε συνεργασία με το εργαστήριο Φαρμακολογίας του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

**Πηγή
χρηματοδότησης είναι το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) -
Ευρωπαϊκή Ένωση και
Εθνικοί Πόροι.**

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.



Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την κ. Φωτεινή Αθανασοπούλου, Καθηγήτρια του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, η οποία μου έδωσε τη δυνατότητα να εκπονήσω αυτή τη διατριβή και την επέβλεψε, υποστηρίζοντας και καθοδηγώντας με καθ' όλη τη διάρκειά της. Η εμπιστοσύνη της προς εμένα πάντοτε λειτουργούσε ως ώθηση για να συνεχίσω και να προσπαθήσω περισσότερο.

Ευχαριστώ, τον Κ. Πάσχο Ιωάννη, Καθηγητή του Τμήματος Ιχθυοκομίας – Αλιείας του ΤΕΙ Ηπείρου για τη συμβολή, την συνεχή καθοδήγηση του ως μέλος της τριμελούς επιτροπής και τις πολύτιμες συμβουλές του. Είναι ιδιαίτερη τιμή για εμένα το γεγονός πως δέχτηκε να είναι μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Επίσης, ευχαριστώ τον Κ. Ναθαναηλίδη Κοσμά, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Ιχθυοκομίας – Αλιείας του ΤΕΙ Ηπείρου, για τη βοήθειά του, την συνεχή υποστήριξή του και τις πολύτιμες συμβουλές του, που πάντοτε προσπαθώ να ακολουθώ και να μαθαίνω δίπλα του.

Ευχαριστώ επίσης, τον κ. Παππά Ιωάννη, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την συνεχή καθοδήγηση και την βοήθεια του η οποία ήταν καταλυτική για την ολοκλήρωση των τριών τελευταίων ενοτήτων. Η πόρτα του γραφείου του πάντοτε ανοικτή, και ο ίδιος πάντοτε πρόθυμος να δώσει λύσεις στα τόσα προβλήματα που ανέκυπταν κάθε φορά, τόσο στους πειραματισμούς όσο και στις φαρμακολογικές αναλύσεις.

Θερμές ευχαριστίες στην Κα Γουρζιώτη Ευγενία, διδάκτορα του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την βοήθειά της σε όλες τις φάσεις πραγματοποίησης της διπλωματικής εργασίας καθώς και για την ηθική συμπαράσταση της σε όλο αυτό το διάστημα συγγραφής της εργασίας.

Ευχαριστίες επίσης απευθύνω:

Στην κ. Μαντέ Μαρία, υπεύθυνη της μονάδας ιχθυοεκτροφής Αφοί ΔΗΜ. ΜΑΝΤΕ & ΣΙΑ Ο.Ε.", για την άριστη συνεργασία κατά την συλλογή των δειγμάτων.

Στον κ. Χατζόπουλο Αχιλλέα, Ιχθυολόγο καθώς και στους υπεύθυνους της Εταιρίας Ιχθυοεκτροφών «Νηρέας» για την βοήθεια τους στην συλλογή των δειγμάτων.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, για την υπομονή τους, τη βοήθεια τους και τη συμπαράσταση τους. Μαζί με αυτούς ευχαριστώ και την αδερφή μου, Παναγιώτα Κολύγα για την επιμέλεια των σχηματικών απεικονίσεων των παρασίτων, την υπομονή και το πολύ χρόνο που διέθεσε για να τα ολοκληρώσει με τόσο μεγάλη πιστότητα.

Αναλυτική περιγραφή αντικειμένου της έρευνας

Η παρούσα διατριβή είναι χωρισμένη σε τέσσερις θεματικές ενότητες, οι περιγραφές των οποίων αναλύονται παρακάτω. Οι ενότητες αυτές έγιναν με σειρά ιεράρχησης έτσι ώστε τα αποτελέσματα της πρώτης να αποτελούν φυσικής συνέχεια της επόμενης κ.ο.κ. Ωστόσο παρά τον χρονικό περιορισμό για τη περαίωση του κάθε πακέτου εργασιών ανά ενότητα, κάποιες ενότητες κρίναμε πως θα μπορούσαν να είναι περισσότερο ελαστικές χρονικά και να επικαλύπτονται. Κάτι τέτοιο έγινε με τη πρώτη και δεύτερη ενότητα, όπου οι δειγματοληψίες των άγριων πληθυσμών συνεχίστηκαν και για κάποιους παραπάνω μήνες.

1^η Ενότητα: Μελέτη του βαθμού παρασίτωσης, της εποχικότητας και της παθολογίας των εξωπαρασιτώσεων

Αυτή η ενότητα εργασίας αποσκοπούσε στην μελέτη του βαθμού παρασίτωσης, της εποχικότητας και της παθολογίας των εξωπαρασιτώσεων (μονογενών, ισόποδων και κωπήποδων) σε εκτρεφόμενα είδη όπως η τσιπούρα (*Sparus aurata*) το μυτάκι (*Diplodus puntazzo*) και το λυθρίνι (*Pagellus erythrinus*) και σε άγρια είδη, καθόσον λίγες πληροφορίες υπάρχουν σήμερα για τα νέα εκτρεφόμενα είδη και τα άγρια ψάρια της Μεσογείου (Athanassopoulou et al., 1999; Ragias et al., 2004; 2005a,b). Η μελέτη πραγματοποιήθηκε για ένα χρόνο και 3 μήνες σε άγριους καθώς επίσης και σε εκτρεφόμενους πληθυσμούς ψαριών συγκεκριμένων περιοχών και η φάση αυτή αποσκοπούσε στην μελέτη της εποχικότητας και της παθολογίας των εξωπαρασιτώσεων.

Κατά το πρώτο έτος του έργου δόθηκε ιδιαίτερη σημασία στην ακριβή ταυτοποίηση των εμπλεκόμενων παρασιτικών ειδών και την κατάταξή τους αναλόγως της σημασίας τους με κριτήρια τη παρουσία, την θνησιμότητα των ξενιστών και την ένταση τους, καθώς επίσης και την φύση των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων που προκαλούν υπό συνθήκες εκτροφής σε κλωβούς.

Η διάγνωση και ταυτοποίηση των μονογενών, ισόποδων και κωπήποδων έγινε με κλασσικές παρασιτολογικές μεθόδους (Yamaguti, 1963). Η νεκροσκοπική και παρασιτολογική εξέταση έγινε με μεθόδους που έχουν περιγράψει οι Αθανασοπούλου (1990) και Roberts (1989) για να προσδιοριστεί η ακριβής θέση των

παρασίτων, η έντασή τους καθώς και η ασφαλής καταμέτρηση των ατόμων των διαφόρων παρασίτων. Το ποσοστό θνητότητας για κάθε είδος ψαριού συσχετίστηκε με την περιοχή εκτροφής, τα είδη των ταυτοποιηθέντων παρασίτων και την εποχή της δειγματοληψίας σε προγράμματα στατιστικής ανάλυσης.

2^η Ενότητα: Τοξικότητα Εμαμεκτίνης, Νικλοσαμίδης

Σε αυτήν την ενότητα εργασίας έγιναν διάφοροι πειραματικοί έλεγχοι ως προς τα όρια τοξικότητας της Νικλοσαμίδης και της Εμαμεκτίνης ανά είδος και μέγεθος. Η τοξικότητα της εμαμεκτίνης ερευνήθηκε παρά το γεγονός ότι είναι ένα καταχωρημένο φάρμακο στη Βόρεια Αμερική και στην Ευρώπη (με εκτενείς πληροφορίες τοξικότητας για διάφορα είδη ψαριών), καθώς κρίναμε απαραίτητη τη μελέτη της συμπεριφοράς του φαρμάκου και τη πιθανή τοξική δράση σε ευρύαλα είδη όπως η τσιπούρα και το λαβράκι.

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε υγιή ψάρια ιχθυοτροφείων στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου Ιχθυολογίας & Ιχθυοπαθολογίας του Τμήματος Κτηνιατρικής του Παν/μίου Θεσσαλίας.

Η τοξικότητα των φαρμάκων διερευνήθηκε με τη χορήγηση διάφορων δοσολογικών σχημάτων (οι δοσολογίες καθώς και η διάρκεια θεραπείας καθορίστηκαν βάση έτερων νόμιμων θεραπειών σε άλλα είδη ψαριών και ζώων καθώς και προηγούμενης εμπειρίας).

Μετά από την θεραπεία, τα ψάρια ελέγχθηκαν για πιθανές παρενέργειες για χρονικό διάστημα 30 ημερών. Η αξιολόγηση των παρενεργειών βασίστηκε στη μέτρηση των πιθανών απωλειών καθώς και από τις μακροσκοπικές και ιστοπαθολογικές εξετάσεις στα εξεταζόμενα ψάρια σε συγκεκριμένα χρονικά σημεία καθώς και η συμπεριφορά, η όρεξη και οι αλλαγές του χρωματισμού.

Επιπλέον, εξετάστηκαν οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις στα βασικά όργανα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό και απομάκρυνση των φαρμάκων όπως το ήπαρ και οι νεφροί. Υιοθετήθηκαν πρότυπες χρώσεις για τους εξεταζομένους ιστούς.

Τέλος, βασιζόμενοι στις πληροφορίες τοξικότητας που προέκυψαν από αυτή την ενότητα εργασίας, επιλέχθηκαν τα όρια βέλτιστων συγκεντρώσεων των φαρμάκων.

3^η Ενότητα: Αποτελεσματικότητα -πειραματικές δοκιμές

Η δραστηριότητα των δύο αντιπαρασιτικών φαρμάκων (νικλοσαμίδα και εμαμεκτίνη) εξετάστηκε σε φυσικά μολυσμένα ψάρια από συγκεκριμένες ή μεικτές ομάδες παρασίτων (μονογενή, ισόποδα, κωπήποδα) στις δεξαμενές των εγκαταστάσεων του εργαστηρίου μας. Οι δοκιμές πεδίου πραγματοποιήθηκαν σε ειδικά διαμορφωμένους ιχθυοκλωβούς ιδιωτικής εταιρείας. Τα φάρμακα ενσωματώθηκαν στην τροφή, σε δόσεις που προέκυψαν από τη δεύτερη ενότητα. Τα ψάρια εισάγονταν στις πειραματικές εγκαταστάσεις 30 ημέρες πριν την έναρξη των πειραμάτων για βέβαιο εγκλιματισμό.

Πριν την έναρξη χορήγησης των δοσολογικών σχημάτων, μέρος του πληθυσμού (ο ακριβής αριθμός αναφέρεται στα υλικά-μεθοδολογία) θανατώθηκε για να προσδιοριστεί ποιοτικά και ποσοτικά το προφίλ του παρασιτικού φορτίου. Ο προσδιορισμός των μονογενών, ισόποδων και κωπήποδων παρασίτων έγινε σύμφωνα με τους Lom & Dykova (1991) και Roberts (1989).

Η δραστηριότητα κάθε φαρμάκου καθορίστηκε με τη μέτρηση των θνησιμοτήτων και του συνολικού παρασιτικού φορτίου των ψαριών στα οποία χορηγήθηκε η θεραπευτική δόση, μετά από σύγκριση με τα ψάρια μάρτυρες. Η διάρκεια αυτών των πειραμάτων ήταν 6 μήνες. Τα πιο αποτελεσματικά δοσολογικά σχήματα αυτής της ενότητας επιλέχθηκαν για περαιτέρω διερεύνηση, στην ακόλουθη, ενότητα εργασίας.

4^η Ενότητα: Φαρμακοκινητική, t αποδρομής

Στη 4^η θεματική ενότητα πραγματοποιήθηκε μία εκτενής διερεύνηση της κατανομής της νικλοσαμίδης στους ιστούς των ψαριών. Η φαρμακοκινητική της νικλοσαμίδης υπολογίστηκε από τα δεδομένα που λήφθηκαν μετά από ενδομυϊκή έγχυση 6mg/kg βιομάζας στη βάση του ραχιαίου πτερυγίου σε λαβράκια (μέσου βάρους 120g.). Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν μετά από ½, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 32, 48 και 216 ώρες μετά τη χορήγηση. Οι αναλύσεις των αντιπαρασιτικών φαρμάκων που έγιναν στο πλάσμα του αίματος και τους ιστούς αποτέλεσε τροποποιημένη μέθοδο που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο μας.

Για ημι-λογαριθμική εξέταση τα δεδομένα τοποθετήθηκαν σε ειδικό πρόγραμμα (curve EXPERT 1997, D. Hyams). Το μοντέλο στο οποίο τα δεδομένα έδωσαν την καλύτερη προσέγγιση (least square fitting) είναι αυτό που τελικώς επιλεγόταν κάθε φορά για την εύρεση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων (Ritschel & Banersbee, 1986).

Καινοτομικότητα της έρευνας

Από όσο γνωρίζουμε δεν πραγματοποιείται παρόμοιο έργο στην Ελλάδα ή σε διεθνές επίπεδο.

Προηγούμενες έρευνες έδειξαν ότι η ιβερμεκτίνη έχει πολύ καλά αποτελέσματα στη θεραπεία των εξωπαρασιτώσεων τόσο των μονογενών όσο και των Αρθροπόδων. Όμως η ιβερμεκτίνη έχει μικρό περιθώριο ασφάλειας και παραμένει πολύ στους ιστούς και το περιβάλλον. (Athanassopoulou et al. 2001b; Athanassopoulou et al., 2002). Έτσι σήμερα διεθνώς χρησιμοποιούνται νέα παράγωγά της (όπως η εμαμεκτίνη) που όμως δεν έχουν δοκιμαστεί ακόμη στην Μεσόγειο (Lees et al., 2008). Για τα Αρθρόποδα έχει δοκιμαστεί και η δελταμεθρίνη με καλά αποτελέσματα όμως, η θεραπεία γίνεται με μπάνιο που δεν είναι εύχρηστη (Athanassopoulou et al., 2001a; 2004c). Τα καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν σε δόση 10g/L όπου η συχνότητα μειώθηκε από 100% σε 0% σε διάστημα 24 ωρών σε μικρά και μεγάλα ψάρια (λαβράκι). Εξ' άλλου το φάρμακο δεν έχει ερευνηθεί σε *Sparidae* και δεν είναι ακόμη εγκεκριμένο για τα μεσογειακά είδη λόγω έλλειψης μελέτης περιβαλλοντικών επιπτώσεων που είναι πολύ δαπανηρή και ασύμφορη. Επίσης, φαρμακούχα σύμπηκτα που περιείχαν 3mg/Kg ΣΒ diflubenzuron αντιμετώπισαν πλήρως τα προ ενήλικα και τα ενήλικα στάδια των ισόποδων για μια περίοδο 14 ημερών και δεν παρατηρήθηκαν παρενέργειες σε λαβράκια υπό θεραπεία κατά τη διάρκεια των πειραμάτων και δεν παρατηρήθηκε επαναμόλυνση για 15 ημέρες μετά το τέλος της θεραπείας Athanassopoulou et al., 2004c). Και το φάρμακο αυτό δεν έχει ερευνηθεί σε *Sparidae* και δεν είναι ακόμη εγκεκριμένο για τα μεσογειακά είδη

Αναμένεται ότι τελικά μέσω της έρευνας αυτής θα κατοχυρωθεί μία αποτελεσματική αντιπαρασιτική ουσία για τη κάθε ομάδα παρασίτων (μονογενή, ισόποδα, κωπήποδα). Αυτό θα προσδώσει τη δυνατότητα σχεδιασμού

πρωτοποριακών και δραστικών θεραπειών, που θα μειώσουν σημαντικά τις θνησιμότητες και συνεπώς το κόστος του τελικού προϊόντος

Το όφελος θα είναι πολλαπλό, διότι θα δοθεί η δυνατότητα εκτροφής των καινούργιων ειδών σε ανταγωνιστικό επίπεδο. Οι θεραπείες αυτές θα καλύψουν το μεγάλο κενό γνώσης που υπάρχει σήμερα σχετικά με τις αντιπαρασιτικές θεραπείες σε εξωπαράσιτα γενικότερα αλλά και τις θεραπείες των εκτρεφόμενων μεσογειακών ειδών ειδικότερα. Ελπίζουμε ότι αυτές θα είναι ευκολότερες, οικονομικότερες, πιο φιλικές προς το περιβάλλον και ασφαλείς για τον καταναλωτή.

Έτσι, η παρούσα μελέτη θα μας δώσει τη δυνατότητα να δημιουργήσουμε νέα συστήματα μελέτης της παρασίτωσης των μεσογειακών ειδών ιχθύων τα οποία μπορεί να λειτουργήσουν ως πρότυπα σημαντικής καινοτομίας στον Ευρωπαϊκό χώρο αλλά και διεθνώς.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής μπορούν κάλλιστα να βρουν εφαρμογή στη εμπορική ιχθυοεκτροφική παραγωγή της χώρας μας κατά τη θεραπεία διαφόρων νοσημάτων των ψαριών και στις βιομηχανίες παραγωγής και εισαγωγής φαρμακευτικών σκευασμάτων.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Ελλάδα ως χώρα με μεγάλη αλιευτική ιστορία ανασυστάθηκε στο πρώτο τρίτο του περασμένου αιώνα και απέκτησε ένα περισσότερο βιομηχανικό χαρακτήρα ανταποκρινόμενη στις καταναλωτικές απαιτήσεις (Moutopoulos & Stergiou, 2012).

Στις αρχές της δεκαετίας του 80' αρκετοί αλιευτικοί συνεταιρισμοί παράλληλα με την αλιευτική τους δραστηριότητα ξεκίνησαν την πολυεκτροφή ειδών σε κλωβούς βελτιώνοντας το εισόδημα τους καθώς μπορούσαν να εμπορευθούν μεγάλα ψάρια σε καλύτερες τιμές μιας και πωλούνταν πλέον κατά απαίτηση του καταναλωτή και όχι από προσφορά των ιδίων. Τα ψάρια της πολυεκτροφής προέρχονταν από αλιευμένους πληθυσμούς και η εκτροφή τους ήταν πολυειδική. Έτσι ο κανιβαλισμός ήταν έντονος με μεγάλες θνησιμότητες, και με την εκτροφή να κρίνεται σαφώς προβληματική, χωρίς ζωοτεχνική μέριμνα.

Στα μέσα της δεκαετίας του 80' ο Ελληνικός υδατοεκτροφικός κλάδος προσπάθησε να μιμηθεί τις επιτυχημένες απόπειρες εκτροφής μπακαλιάρου και σολομού των Βόρειων χωρών, προσαρμοσμένη στις περιβαλλοντικές απαιτήσεις της Μεσογείου, επιλέγοντας τοπικά εμπορικά είδη, όπως τσιπούρα και λαβράκι. Από αρκετούς Ιχθυολόγους εκείνη η εποχή θεωρείται πως έθεσε τα θεμέλια της έρευνας και καινοτομίας και της εκτόξευσης της δυναμικής των ελληνικών υδατοεκτροφών. Ο λόγος απλός, τα ψάρια προμηθεύονταν σε τιμές ισάξιες με εκείνες των αλιευμένων άγριων πληθυσμών στους χονδρέμπορους των ιχθυοσκάλων της χώρας. Με αυτό το τρόπο οι εταιρίες απέκτησαν γρήγορα οικονομική αυτονομία για επενδύσεις, εξαγορές και πειραματισμό. Έτσι μπορούσαν να καλύψουν τις ζημιές που προέκυπταν από βλαπτικά, παθολογικά αίτια και λανθασμένες ζωοτεχνικές προσεγγίσεις. Χαρακτηριστικό παράδειγμα η έλλειψη νηκτικής κύστης στα πρώτα ιχθύδια λαυρακιών των πρώτων ιχθυογεννητικών σταθμών. Θεωρούνταν τρομερή επιτυχία όταν τα ιχθύδια είχαν άρτια νηκτική κύστη σε ποσοστό 30% (στο υπόλοιπο 70% του πληθυσμού απουσίαζε εξολοκλήρου) ενώ στις μέρες μας η προδιαγραφές πώλησης ψαριών με νηκτική κύστη είναι 100%.

Στις αρχές της δεκαετίας του 90 εδραιώθηκαν αρκετές ιδιωτικές μονάδες αμιγούς εκτροφής ψαριών και όχι μικτής (αλιεία- εκτροφή) που ήταν και περισσότερο σύνηθες έως τότε, από ιχθύδια που προέρχονταν από οικείους ιχθυογεννητικούς σταθμούς. Παράλληλα με αυτές τις μονάδες ξεκίνησε και η πιλοτική λειτουργία κρατικών ιχθυογεννητικών σταθμών.

Σήμερα οι ελληνικές υδατοεκτροφές πρωτοστατούν στην Ευρώπη καθώς έχουν την πρωτιά σε παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού, ενώ τα προϊόντα τους αποτελούν τη μεγαλύτερη εξαγωγική δύναμη της Ελλάδας. Η κρίση του 2008 έχει αναπροσαρμόσει το προφίλ λειτουργίας και δαπανών των μονάδων, με τις τιμές των προϊόντων να μεταβάλλονται συνεχώς, πάραυτα η δυναμική των εξαγωγών συνεχίζει να αυξάνεται.

Η απότομη αύξηση των υδατοεκτροφών στην Ελλάδα δεν οφείλεται μόνο στο κλίμα και την ιδιαίτερη γεωμορφολογία της. Οφείλεται κυρίως στο ισχυρό επιστημονικό δυναμικό και το μεράκι και πείσμα όλων όσων ενεπλάκησαν και εμπλέκονται έως σήμερα στον κλάδο.

Εξωπαρασιτώσεις στις Ελληνικές υδατοεκτροφές

Με την άνθιση των υδατοεκτροφών και την εντατικοποίηση τους, αυξήθηκαν και οι νοσηρές καταστάσεις εξαιτίας παθογόνων οργανισμών. Η ιχθυοπαθολογία ως έννοια την περίοδο των δεκαετιών 80-90 ήταν ανύπαρκτη στην Ελλάδα και οι πρώτοι ιχθυοπαθολόγοι μπορούσαν να ειδικευθούν μόνο σε πανεπιστήμια του εξωτερικού. Στις περισσότερες περιπτώσεις υιοθετούσαν πρωτόκολλα εξωτικών ασθενειών τα οποία και προσάρμοζαν πειραματικά στους τοπικούς ασθενείς πληθυσμούς, άλλοτε με θετικά και άλλοτε με αρνητικά (κυρίως) αποτελέσματα. Μέσα όμως από αυτό τον πειραματισμό η ιχθυοπαθολογία στην Ελλάδα (και γενικά στη Μεσόγειο) έθεσε ισχυρές γνωστικές βάσεις για την αντιμετώπιση αρκετών ασθενειών.

Οι πρώτοι βλαπτικοί παράγοντες που αντιμετωπίστηκαν με επιτυχία ήταν τα βακτηρίδια όπως *Pasteurella sp.* και *Vibrio sp.* , ενώ στη συνέχεια ξεπεράστηκε και ο σκόπελος κάποιων εξωκυτταρικών πρωτόζωων (γένη *Trichodina*, *Cryptocaryon Oodinium*). Στις μέρες μας οι κύριοι βλαπτικοί αντιπρόσωποι οι οποίοι δεν μπορούν ακόμη να αντιμετωπιστούν με απόλυτη επιτυχία είναι οι εξωπαρασιτώσεις από Ισόποδα, κωπήποδα και πλατυέλμινθες και οι ενδοπαρασιτώσεις από μυξοσπορίδια.

Η παρούσα έρευνα έρχεται να υπερκεράσει το πρόβλημα των εξωπαρασιτώσεων μέσα από τα δοσολογικά σχήματα των φαρμάκων που προτείνει, βοηθώντας τους παραγωγούς να περιορίσουν τις οικονομικές απώλειες και να παράξουν εντέλει ένα ανταγωνιστικά οικονομικό προϊόν.

Η εντατική εκτροφή ψαριών στις ακτές της Μεσογείου είναι ένα ιδανικό περιβάλλον που ευνοεί την παρουσία των ισόποδων και μονογενών παρασίτων. Η προσβολή της εκτρεφόμενης τσιπούρας (*Sparus aurata*) από μονογενή -και ειδικά το *Sparicotyle (Microcotyle) chrysophrii* αλλά και του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) από Ισόποδα και κωπήποδα, αποτελεί ένα συχνό πρόβλημα στη Μεσόγειο (Papapanagiotou & Trilles, 2001; Athanassopoulou *et al.*, 2004a, 2009; Ragias *et al.*, 2004, 2005a, b; Vagianou *et al.*, 2006a,b).

Από τα ψάρια ελεύθερης διαβίωσης, τα πιο κοινά είδη που προσβάλλονται από ισόποδα παράσιτα είναι οι κέφαλοι (*Mugil sp, Lisa sp*) (Ragias *et al.*, 2005a), οι γόπες (*Boops boops*), οι σάλπες (*Sarpa salpa*), οι μουρμούρες (*Lithognathus mormyrus*) και οι σαργοί (*Diplodus sargus*) (Golomazou *et al.*, 2006). Αυτά τα είδη ψαριών βρίσκονται συνήθως σε αφθονία γύρω από τους κλωβούς εκτροφής τρέφονται από την τροφή που δεν καταναλώνεται από τα εκτρεφόμενα ψάρια και αποτελούν παθητικούς φορείς για τη μεταβίβαση των παρασίτων στα εκτρεφόμενα ψάρια. Φαίνεται ότι αυτά τα ισόποδα δεν είναι ειδικά παράσιτα, αλλά μεταφέρονται στα εκτρεφόμενα ψάρια, από τα γειτονικά μολυσμένα ψάρια ελεύθερης διαβίωσης, που διαβιούν γύρω από τους κλωβούς. Η αύξηση της ιχθυοπυκνότητας των εκτρεφόμενων λαβρακιών ίσως έχει δημιουργήσει μια καινούρια σχέση μεταξύ παρασίτων και ξενιστών ούτως ώστε το παράσιτο *Ceratothoa oestroides*, να είναι το πιο κοινό από όλα τα ισόποδα παράσιτα και προκαλεί σοβαρές καταστροφές στα εκτρεφόμενα ψάρια (Vagianou *et al.*, 2006b). Έρευνα στο Παν/μιο Θεσσαλίας έδειξε ότι με την αυξανόμενη παραγωγή και άλλα είδη παρασίτων όπως τα κωπήποδα προκαλούν προβλήματα σε εκτρεφόμενα ψάρια (Ragias *et al.*, 2004). Έτσι άρχισαν και προκαταρκτικές μελέτες για την εύρεση θεραπείας (Athanassopoulou *et al.*, 2001a, Athanassopoulou *et al.* 2001b, 2004c).

Η μόλυνση από το μονογενές *Sparicotyle (Microcotyle) chrysophrii* τα δύο τελευταία χρόνια προκαλεί αυξημένες θνησιμότητες σε ψάρια της οικογένειας *Sparidae*, και δεν υπάρχουν εκτεταμένες μελέτες για το παράσιτο αυτό, την παθολογία του, την θεραπεία και την πρόληψή του. Μάλιστα, πρόσφατη Ελληνο-Ιταλική ερευνητική συνεργασία έδειξε ότι η γειτονική εκτροφή διαφορετικών *Sparidae* μπορεί να επιφέρει μεταπήδηση ξενιστών στα μονογενή παράσιτα (Ragias *et al.*, 2005b).

Σε αντίθεση με τα άλλα ζώα, η χρήση των αντιπαρασιτικών φαρμάκων ήταν μέχρι σήμερα, περιορισμένη στα ψάρια. Ενώ τελευταία έχει γίνει αρκετή έρευνα στον

τομέα των αντιμικροβιακών θεραπειών πολύ λίγες πληροφορίες υπάρχουν για ανθελμινθικά και ότι λιγοστό υπάρχει, αφορά ψάρια κρύων νερών και ειδικότερα της οικογένειας *Salmonidae*. Η περισσότερη βιβλιογραφία και έρευνα αφορά την θεραπεία της θαλάσσιας ψείρας του σολομού. Υπάρχουν επίσης και ελάχιστες φαρμακοδυναμικές μελέτες για την Μεμπενταζόλη σε χέλια. Με την εντατικοποίηση όμως της Μεσογειακής θαλασσοεκτροφής τα παράσιτα τα τελευταία χρόνια αποκτούν πολύ μεγάλη σημασία αφού ορισμένες επιδημίες όπως το καλοκαίρι του 1997 από το πρωτόζωο *Enteromyxum leei* αποδεκάτισε την παραγωγή της χιόνας μέχρι σημείου που να θεωρείται σήμερα ανασταλτικός παράγοντας εμπορικής ανάπτυξης ορισμένων νέων ειδών. Επιπλέον δε κατέδειξε την ανυπαρξία θεραπείας και έρευνας σε φάρμακα ιδιαίτερα για τα Μεσογειακά είδη. Κανένα από τα συνήθη αντιπαρασιτικά που χρησιμοποιούνται στις θαλάσσιες εκτροφές σήμερα δεν είναι εγκεκριμένα για τα Μεσογειακά είδη και δεν υπάρχουν νομοθετημένα MRL. Έτσι η δοσολογία αντιγράφεται από τα *Salmonidae*, πράγμα πολύ επικίνδυνο αφού και οι περιβαλλοντικές συνθήκες αλλά και οι βιολογικές συνθήκες των Μεσογειακών ειδών είναι πολύ διαφορετικές. Διεθνώς, από τη χρήση των κτηνιατρικών φαρμάκων [VMPs] στην καταπολέμηση των ασθενειών των ψαριών της εντατικής εκτροφής διαφαίνεται, ότι το θέμα πρέπει να επιλυθεί με την κατάρτιση ειδικών ερευνητικών προγραμμάτων μελέτης της κατανομής και της αποδρομής τους στα ψάρια των διαφόρων γεωγραφικών περιοχών [Βορά-Νότου] και πιο ειδικά σε κάθε είδος ψαριού χωριστά για την κάθε περιοχή. Παρά το μεγάλο αριθμό αντιμικροβιακών ουσιών που παράγονται και εγκρίνονται για χρήση στην ζωική παραγωγή μόνο ελάχιστες είναι εκείνες οι οποίες τελικά εγκρίνονται για τα ψάρια των ιχθυοεκτροφών. Ειδικότερα εγκρίνονται για τα ψάρια των ψυχρών-βόρειων περιοχών π.χ. σολομός. Για το λόγο αυτό και σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της EMEA επιβάλλεται η μελέτη των φαρμάκων και στα είδη ψαριών των θερμότερων-νότιων περιοχών, όπως και η Ελλάδα.

Η παραδοσιακή αντιμετώπιση των εξωπαρασιτώσεων στην Ελλάδα έως τώρα γινόταν με φορμόλη. Η φορμόλη δεν δίδεται *per os* αλλά εφαρμόζεται άμεσα στο νερό της εκτροφής σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις. Στις μέρες μας χρησιμοποιούνται παρόμοιας φιλοσοφίας αντιπαρασιτικά διαλύματα τα οποία δρουν μέσω της εμβάπτισης του οργανισμού σε αυτά.

Έως και το στάδιο της προπαχυνόμενης εκτροφής ψαριών (έως 20-25g), σε χερσαίες δεξαμενές η χρήση αντιπαρασιτικών με λουτρά είναι λειτουργική και

αξιόπιστη καθώς ο σταθερός όγκος των δεξαμενών διευκολύνει τους σωστούς υπολογισμούς των δόσεων, και παρέχουν αμεσότητα επέμβασης και παρατήρησης από τους χειριστές. Οι δεξαμενές μπορούν να παρέχουν άφθονο νερό σε περιπτώσεις υπερδοσίας ενώ υπάρχουν και αρκετές δικλείδες ασφαλείας για να μην κινδυνέψει το ζωικό κεφάλαιο, επιπρόσθετα οι ποσότητες των ουσιών που χρησιμοποιούνται είναι ελάχιστες καθώς υπάρχει η δυνατότητα μείωσης του όγκου νερού στις δεξαμενές.

Σε επίπεδο όμως εντατικής εκτροφής σε ιχθυοκλωβούς θαλάσσης η πραγματικότητα είναι εντελώς διαφορετική. Ακόμη και οι μικροί ιχθυοκλωβοί (≈ 6m) έχουν βάθος περί τα 12 m. Για να μειωθεί ο χρόνος εφαρμογής και η ποσότητα της αντιπαρασιτικής ουσίας στο λουτρό, μειώνεται ο όγκος, ρηχαίνοντας το δίχτυ του κλωβού. Στη συνέχεια ο κλωβός καλύπτεται περιμετρικά με μουσαμά, ο οποίος εκτείνεται στα 4 με 5 μέτρα βάθος, για να περιορίσει την απώλεια του φαρμάκου και να εξασφαλίσει τη σωστή δράση. Αυτός ο χειρισμός δρα ως παράγοντας καταπόνησης για τα ήδη άρρωστα ψάρια, γιατί αυξάνεται γρήγορα η ιχθυοπυκνότητα. Εκείνη τη στιγμή το μόνο διαθέσιμο οξυγόνο είναι αυτό που υπάρχει διαλυμένο στο νερό και η ανανέωση του εξαρτάται από τη ροή των υδάτινων ρευμάτων (η οποία έχει περιοριστεί από τον μουσαμά. Η παροχή οξυγόνου με φιάλες είναι επικουρική και τις περισσότερες φορές υπολείπεται στο να καλύψει τις πραγματικές ανάγκες του ζωικού κεφαλαίου σε οξυγόνο.

Συνολικά σε έναν τέτοιο ζωοτεχνικό χειρισμό απαιτείται προεργασία μιας περίπου ώρας για τον κάθε κλωβό πριν από την εφαρμογή, ενώ το προσωπικό παραμένει κοντά στο κλωβό σε περίπτωση που χρειαστεί να επέμβει. Υπολογίζονται περί τις 6- 8 εργατοώρες ανάλογα με το μέγεθος του κλωβού για να εφαρμοστεί το αντιπαρασιτικό με εμβάπτιση.

Τα αποτελέσματα εξαρτώνται κάθε φορά από την ισχύροτητα των θαλάσσιων ρευμάτων, την εμπειρία του χειριστή και τον βαθμό παρασίτωσης, και είναι συνήθως μεικτά με την επαναμόλυνση να κυμαίνεται στις 5 με 7 ημέρες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

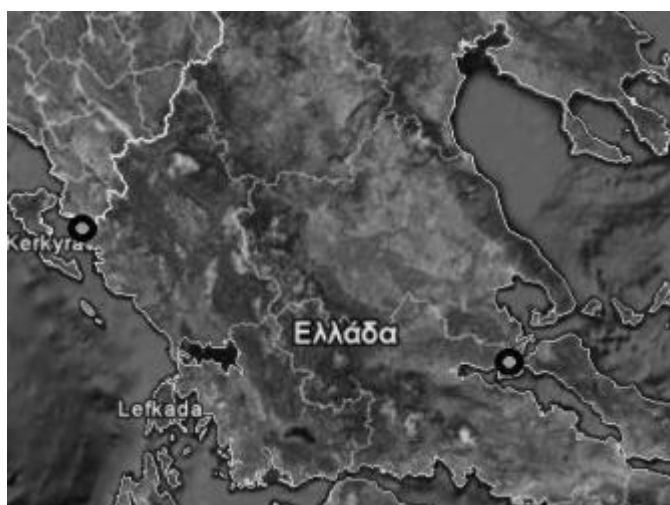
Μελέτη του βαθμού παρασίτωσης, της εποχικότητας και της παθολογίας των εξωπαρασιτώσεων

1.1 Υλικά και Μέθοδοι 1^{ης} Ενότητας

1.1.1 Περιοχές δειγματοληψιών εκτρεφόμενων πληθυσμών

Συνολικά επιλέχθηκαν 3 μονάδες εκτροφής ευρύαλων μεσογειακών θαλάσσιων ιχθύων. Οι δύο πρώτες μονάδες εκτροφής εντοπίζονται στη περιοχή της λωρίδας Σαγιάδας Θεσπρωτίας (Ιόνιο Πέλαγος) και η τρίτη στην περιοχή του Μαλιακού Κόλπου περίξ του διαύλου Ωρεών-Τρίκερι (Αιγαίο Πέλαγος).

Ο βασικότερος λόγος επιλογής των συγκεκριμένων μονάδων εκτροφής ήταν για να εξασφαλιστεί κατά το δυνατότερο μια σαφέστερη εικόνα του παρασιτικού προφίλ των ψαριών και από τα δύο πελάγη της Ελλάδος. Η επιλογή της λωρίδας Σαγιάδας θεωρήθηκε ευθύς εξαρχής δεδομένη καθώς στη συγκεκριμένη περιοχή παράγονται σε ετήσια βάση πάνω από 3000 τόνοι ευρύαλων ψαριών από 12 μονάδες εκτροφής. Στη περιοχή του Διαύλου Ωρεών-Τρικεριού βρίσκονται 5 μονάδες εκτροφής με σαφώς μικρότερη ετήσια δυναμικότητα παραγωγής αλλά με όμοια χαρακτηριστικά εντατικής εκτροφής και ιχθυοφόρτισης με εκείνες της λωρίδας Σαγιάδας.



Χαρτογράφημα 1. Απεικόνιση των περιοχών όπου έγιναν οι δειγματοληψίες (κόκκινοι κύκλοι). Δυτικά η περιοχή της λωρίδας Σαγιάδας και ανατολικά η περιοχή του Διαύλου Ωρεών-Τρικεριού.

1.1.2 Περιοχές δειγματοληψιών άγριων πληθυσμών και επιλογή ειδών

Η αρχική σκέψη για την ορθότερη προσεγγιστική μεθοδολογία διερεύνησης της επιδημιολογίας των εξωπαρασίτων και της σχέσης μεταφοράς αυτών μεταξύ των άγριων και των εκτρεφόμενων πληθυσμών, ήταν όλα τα άγρια ψάρια της έρευνας να αλιεύονταν περίξ των κλωβών εκτροφής. Έτσι παρατηρώντας το παρασιτικό προφίλ των άγριων ψαριών θα μπορούσε να εκτιμηθεί εάν τελικά αυτά λειτουργούν ως φορείς παρασίτων για τα εκτρεφόμενα.

Η μεθοδολογία αυτή γρήγορα απορρίφθηκε καθώς μειονεκτούσε στο γεγονός πως δεν μπορούσε να ελεγχθεί η σχέση αιτίου-αιτιατού δηλαδή εάν τελικώς τα παράσιτα των άγριων πληθυσμών ήταν αυτά που μόλυναν τα εκτρεφόμενα ή το αντίστροφο.

Για να έχει αυτή η μεθοδολογία διερευνητική αξία, θα πρέπει να πληρείται ένα σύνολο προϋποθέσεων όπου σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής είναι αδύνατο να υπάρχουν ή να συνυπάρχουν, έτσι: Α) Θα πρέπει το σύνολο του ζωικού κεφαλαίου της υπό παρακολούθηση μονάδας εκτροφής να είναι ελεύθερο παρασίτων. Έτσι ώστε να μπορεί να ελεγχθεί εάν οι άγριοι πληθυσμοί είναι αυτοί οι οποίοι μολύνουν τους εκτρεφόμενους, π.χ. Σε θεωρητική μόλυνση εκτρεφόμενης σε κλωβό τσιπούρας με *Lamellodiscus echeneis* δεν θα μπορούμε ποτέ να εκτιμήσουμε εάν ο κύριος φορέας μετάδοσης είναι τα άγρια ψάρια εάν στο διπλανό κλωβό εκτρέφεται τσιπούρα στην οποία είχε εμφανιστεί όμοια παρασίτωση. Β) Η υπό παρακολούθηση μονάδα εκτροφής θα πρέπει να είναι απομονωμένη. Δηλαδή δε θα πρέπει να υπάρχει κοντά άλλη μονάδα εκτροφής η οποία μπορούσε δυνητικά να αποτελέσει δεξαμενή μόλυνσης των άγριων ψαριών με παράσιτα. Γ) Τα αλιευμένα άγρια ψάρια να μην αποτελούν διαφυγόντα άτομα εκτροφής. Πολλές φορές είναι πιθανό να διαφύγουν ψάρια εκτροφής για διάφορους λόγους (κακοκαιρία, σχισίματα διχτύων, ζωοτεχνικά λάθη). Τα ψάρια αυτά συνηθίζουν να μην απομακρύνονται από το σημείο και συνεχίζουν να μεγαλώνουν παραμένοντας κοντά στους κλωβούς εκτροφής. Έτσι υπάρχει ο κίνδυνος σε μια δειγματοληψία να αλιευθούν “άγρια” ψάρια τα οποία παλιά εκτρέφονταν. Φυσικά η παραπάνω προϋπόθεση έχει ισχύ μόνο για ψάρια (άγρια – εκτρεφόμενα) όμοιου είδους.

Τελικώς για να ξεπεραστούν οι παραπάνω περιορισμοί επιλέχθηκε μια προσεγγιστική δειγματοληψία κατά την οποία μπορούσε να διερευνηθεί το παρασιτικό προφίλ άγριων ψαριών χωρίς (ή ορθότερα με μειωμένο) το κίνδυνο

αλληλεπίδρασης των άγριων ψαριών με εκτρεφόμενα. Για το λόγο αυτό όλα τα άγρια ψάρια που μελετήθηκαν προέρχονταν από μηχανότρατες ανοικτής θάλασσας και μεγάλης αλιευτικής δυναμικότητας. Όλα τα ψάρια εκφορτώνονταν συσκευασμένα στην Ιχθυόσκαλα Κερατσινίου, όπου μετά από συνεννόηση με τους αλιείς μεταφέρονταν οδικώς την ίδια μέρα στο Εργαστήριο Ιχθυολογίας-Ιχθυοπαθολογίας του τμήματος Κτηνιατρικής Θεσσαλίας όπου και εξετάζονταν.

1.1.3 Παρασιτολογικές εξετάσεις

1.1.3.1 Παρασιτολογικές εξετάσεις δέρματος

Για τις παρασιτολογικές εξετάσεις του δέρματος απαιτείται ενδεδειγμένη παρατήρηση σε όλο το σώμα του ψαριού με μεγαλύτερη επιμονή στα σημεία των πτερυγίων και των βάσεων αυτών, καθώς επίσης και στη περιοχή της κεφαλής. Σε ψάρια ιδιαίτερης μορφολογίας (χριστόψαρο, καπόνι, σαλουβάρδος) και χρώματος (συκιάς, σκορπίνα, μυλοκόπι), είναι προτιμότερη η επισκόπηση του δέρματος με τη βοήθεια μεγεθυντικού φακού με επαγόμενο φωτισμό. Από τη στιγμή εντοπισμού κάποιου παρασίτου, ο τρόπος μεταφοράς του σε αντικειμενοφόρο για παρατήρηση θα εξαρτηθεί από το μέγεθος και το είδος αυτού. Παράσιτα μεγάλου μεγέθους μπορούν με προσοχή να αποκολληθούν από το δέρμα με τη βοήθεια νυστεριού. Τα ισόποδα εξαιτίας του χιτινώδους περιβλήματος τους είναι πολύ ανθεκτικά σε πιέσεις και έτσι μπορούν να απομακρυνθούν και με λαβίδα. Παράσιτα μικρού μεγέθους είναι προτιμότερο να απομακρύνονται με ξέσμα με τη βοήθεια νυστεριού από το σημείο εντοπισμού αφού πρώτα ενυδατώσουμε τη περιοχή με θαλασσινό νερό ή σε περίπτωση που δεν υπάρχει θαλασσινό νερό με φυσιολογικό ορό. Ενυδάτωση με γλυκό νερό (0% Sal.), γίνεται μόνο σε ψάρια εσωτερικών υδάτων. Ο λόγος που βρέχουμε τη περιοχή είναι για να ενεργοποιήσουμε το παράσιτο να κινηθεί και για να λιπάνουμε τα σημεία μεταξύ των εξαρτημάτων προσάρτησης του παρασίτου και του δέρματος διευκολύνοντας έτσι την αποκόλληση του (Roberts, 1989).

Από τη στιγμή που αποκολληθούν από το δέρμα, τα παράσιτα μεταφέρονται σε αντικειμενοφόρο πλάκα (διγενή Τρηματώδη, μονογενή, κεστώδη, κωπήποδα), ή σε τριβλίο (μεγάλα ισόποδα, μεγάλα κωπήποδα) για παρατήρηση και ταυτοποίηση.

1.1.3.2 Παρασιτολογικές εξετάσεις βραγχίων

Η εξέταση των βραγχίων έγινε με μεθόδους βασιζόμενες στην εργασία της Αθανασοπούλου (1990). Αρχικά αφαιρείται από τη μια πλευρά το βραγχιακό επικάλυμμα για να αποκαλυφθούν τα σύστοιχα βραγχιακά τόξα. Με ένα ψαλίδι αποκόπτεται εκατέρωθεν το 1^ο βραγχιακό τόξο και τοποθετείται σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Διαβρέχουμε το βραγχιακό τόξο με θαλασσινό νερό ή φυσιολογικό ορό και επισκοπούμε για τυχόν παρουσία μεγάλων παρασίτων. Εάν εντοπιστούν μεγάλα παράσιτα, τότε αυτά αφαιρούνται και μεταφέρονται σε τριβλίο για ταυτοποίηση.

Το βράγγιο συγκρατείται με λαβίδα από τον χόνδρο και με τη βοήθεια νυστεριού γίνεται ξέσμα ασκώντας τόση πίεση στα πρωτογενή βραγχιακά νημάτια όση απαιτείται έτσι ώστε να αποκολληθεί ο επιθηλιακός ιστός χωρίς αυτά να κοπούν. Το τελικό νωπό παρασκεύασμα θα πρέπει να έχει κατά το δυνατόν λιγότερα πρωτογενή νημάτια και περισσότερο επιθηλιακό βραγχιακό ιστό. Τα περισσότερα παράσιτα προσαρτώνται στο επιθήλιο και όχι στον χόνδρο, έτσι αποκολλώντας το επιθήλιο συμπαρασύρονται μαζί και τα παράσιτα (Noga, 2000).

Η ίδια διαδικασία συνεχίζεται και για τα υπόλοιπα βραγχιακά τόξα εκατέρωθεν των πλευρών. Τα παράσιτα καταγράφονται, καταμετρώνται και ταυτοποιούνται. Τα μεγάλα παράσιτα που βρίσκονται στα τριβλία παρατηρούνται κάτω από στερεοσκόπιο.

1.1.3.3 Παρασιτολογικές εξετάσεις στοματικής κοιλότητας

Αρκετά παράσιτα εντοπίζονται συχνότερα σε ιδιαίτερα σημεία του σώματος όπως στη στοματική κοιλότητα και στον εσωτερικό περιβραγχιακό χώρο. Για τον εντοπισμό αυτών των παρασίτων γίνεται αποκοπή του στόματος αμφίπλευρα και διάνοιξη της στοματικής κοιλότητας. Σε αρκετά βαθύβια ψάρια η στοματική κοιλότητα και ιδιαίτερα ο περιβραγχιακός χώρος φέρουν υπολείμματα άμμου και διάφορων βενθικών υλικών. Εξαιτίας αυτού το γεγονός στα συγκεκριμένα ψάρια πρώτα αφαιρούνται και εξετάζονται τα βράγγια ενώ στη συνέχεια ξεπλένεται η στοματική κοιλότητα αφαιρώντας κατά το δυνατόν αυτά τα υπολείμματα. Τα παράσιτα που εντοπίζονται συνήθως στη στοματική κοιλότητα είναι ισχυρά προσαρτημένα στο στοματικό επιθήλιο, έτσι δεν υπάρχει κίνδυνος να αποκολληθούν με το νερό. Ο λόγος που πρώτα αφαιρούνται τα βράγγια είναι γιατί σε αντίθεση με τα

παράσιτα του στόματος, εκείνα των βραγχίων είναι εύκολο να αποκολληθούν και για αυτό τον λόγο αφαιρούνται προ της πλύσης. Από τη στιγμή που θα εντοπιστεί κάποιο παράσιτο αφαιρείται είτε με νυστέρι (στη περίπτωση κωπήποδων), είτε με λαβίδα (στη περίπτωση ισόποδων)(Noga 2000, Roberts 1989, υπό τροποποίηση).

1.1.3.4 Παρασιτολογικές εξετάσεις πεπτικού συστήματος

Αν και τα παράσιτα του πεπτικού συστήματος δεν μπορούν να θεωρηθούν εξωπαράσιτα, είναι πολλές οι φορές εκείνες όπου σε μια εξέταση νωπών επιχρισμάτων βραγχίων εντοπίζονται αυγά διγενών προσαρτημένα στα πρωτογενή νημάτια, ή ακόμη και ανήλικα διγενή που μόλις έχουν εκκολαφθεί. Τα παράσιτα αυτά αν και στα βράγχια δεν προκαλούν παθολογικές καταστάσεις, εισχωρούν μέσω του πεπτικού και εγκαθίστανται σε διάφορα σημεία αυτού προκαλώντας ισχυρές αλλοιώσεις. Εκτός από τα αυγά των διγενών, συχνά παράσιτα αποτελούν και τα διγενή του γένους *Didymocystis* τα οποία είναι παράσιτα των βραγχίων όμως στα ανώριμα στάδια τους εντοπίζονται στο έντερο. Έτσι στη παρούσα έρευνα συμπεριλήφθηκαν και τα διγενή Τρηματώδη με παρασιτολογικό έλεγχο του πεπτικού συστήματος.

Η κοπρανολογικές εξετάσεις που χρησιμοποιούνται ευρέως στον άνθρωπο και στα ζώα έχουν μικρή εφαρμογή στα ψάρια καθώς οι περισσότερες από αυτές στοχεύουν στη παρατήρηση κυρίως αυγών νηματωδών, κεστωδών και λιγότερο τρηματωδών παρασίτων. Η μεθοδολογία τους βασίζεται κατά κύριο λόγο σε τεχνικές επίπλευσης κατά τις οποίες μόνο τα αυγά των μεταζώων και τα πρωτόζωα μπορούν να ανιχνευθούν (μέθοδος εμπλουτισμού, Faust, Ritchie, Teleman, McMaster, Wisconsin), οι οποίες όμως στη περίπτωση των παρασίτων ψαριών είναι μικρής διαγνωστικής αξίας, διότι τα αυγά των θαλάσσιων διγενών τρηματωδών έχουν ελάχιστες μορφολογικές διαφορές μεταξύ τους καθιστώντας τη ταυτοποίηση πρακτικά αδύνατη.

Για το λόγο αυτό η περισσότερο ασφαλής μέθοδος εντοπισμού παρασίτων είναι με απευθείας ξέσμα του εντέρου, του στομάχου και των πυλωρικών τυφλών, για την άμεση παρατήρηση των ώριμων παρασίτων. Πιο συγκεκριμένα, ακολουθώντας τις βασικές τεχνικές νεκροψίας (Noga, 2000), αποκαλύπτουμε το έντερο και αφού το αποπλέξουμε κόβουμε στο σημείο σύνδεσης του με την έδρα συγκρατώντας παράλληλα το άκρο με μια αιμοστατική λαβίδα. Αποκόπτουμε τη πρόσθια μοίρα του

εντέρου μετά το στόμαχο και το αφαιρούμε εξολοκλήρου. Στην συνέχεια κόβουμε ένα κομμάτι ξεκινώντας από όποια πλευρά του εντέρου προτιμάμε. Το μέγεθος του κομματιού καθορίζεται από τη διάμετρο του αυλού του εντέρου και το περιεχόμενο. Το κομμάτι αφήνεται σε αντικειμενοφόρο πλάκα και κρατώντας με λαβίδα τη μια άκρη, πιέζουμε ισχυρώς με ένα νυστέρι μετακινώντας το από τη μεριά της λαβίδας προς την ελεύθερη άκρη. Έτσι το περιεχόμενο του εντέρου αδειάζει εντελώς στην αντικειμενοφόρο πλάκα συμπαρασύροντας και όλα τα παράσιτα. Το άδειο έντερο που απομένει απορρίπτεται. Προσθέτουμε φυσιολογικό ορό και απλώνουμε το περιεχόμενο του εντέρου με το νυστέρι στην αντικειμενοφόρο. Τοποθετούμε μια επικαλυπτρίδα και σαρώνουμε το σύνολο επίχρισματος κάτω από οπτικό μικροσκόπιο. Επαναλαμβάνουμε την ίδια διαδικασία κόβοντας το έντερο, το στόμαχο και τα πυλωρικά τυφλά σε όσα κομμάτια χρειάζεται για να εξεταστούν συνολικά. Πρόκειται για επίπονη και χρονοβόρα διαδικασία η οποία όμως εξασφαλίζει ακριβή ποιοτική και ποσοτική καταμέτρηση του παρασιτικού φορτίου.

1.1.4 Χρωματισμός παρασίτων

1.1.4.1 Χρώση παρασίτων

Για τις χρώσεις των παρασίτων έχουν προταθεί αρκετά διαφορετικά πρωτόκολλα τα οποία διαφοροποιούνται ανάλογα με το είδος του παρασίτου. Η πιο άμεση και αποτελεσματική μέθοδος χρώσης είναι με χρήση διαλύματος ακετοκαρμίνης. Βιβλιογραφικά εντοπίζονται πάνω από 6 διαφορετικές τροποποιήσεις της κύριας χρωστικής (Καρμίνης) για τη χρώση μονογενών και διγενών παρασίτων. Στη παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν 2 παραλλαγές, α) διάλυμα ακετοκαρμίνης (1%) και β) διάλυμα ακετοκαρμίνης 1% παρουσία FeCl_2 . Η δεύτερη μέθοδος αν και προτιμάται σε πολλές εργασίες, στην παρούσα έρευνα θεωρούμε πως παρουσιάζει αρκετά μειονεκτήματα σε σύγκριση με τη πρώτη μέθοδο και αυτό γιατί ο χλωριούχος σίδηρος αντιδρά με το θαλασσινό νερό σχηματίζοντας σκουρόχρωμα σωματίδια τα οποία περιορίζουν σημαντικά τη διακριτικότητα.

Η εφαρμογή της χρώσης μπορεί να γίνει άμεσα στο νωπό επίχρισμα ή ακόμη και σε μονιμοποιημένο παράσιτο. Στο νωπό επίχρισμά το υπό εξέταση παράσιτο μεταφέρεται σε αντικειμενοφόρο πλάκα στην οποία έχει προηγουμένως προστεθεί

μια σταγόνα διαλύματος ακετοκαρμίνης, Τοποθετούμε την αντικειμενοφόρο και περιμένουμε περίπου 3min για να εισχωρήσει η χρώση μέσα στο σώμα του παρασίτου. Κατόπιν παρατηρούμε κάτω από οπτικό μικροσκόπιο.

Στη περίπτωση όπου η χρώση δεν γίνει άμεσα, το παράσιτο θα πρέπει να μονιμοποιείται σε 70% αιθυλική αλκοόλη. Για τη μετέπειτα χρώση το παράσιτο μεταφέρεται από την Et70% σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα πάνω στην οποία έχει προστεθεί διάλυμα ακετοκαρμίνης. Μετά τη παρατήρηση το παράσιτο μπορεί να μεταφερθεί ξανά στο αλκοολικό μονιμοποιητικό μέσο και να διατηρηθεί, χωρίς να αποχρωματιστεί. Στη περίπτωση που χρησιμοποιείται ρυθμιστικό διάλυμα φορμόλης η μετέπειτα χρώση του παρασίτου είναι υπολειμματική και αργή αποδίδοντας χαμηλά ποιοτικά αποτελέσματα και για το λόγο αυτό δεν προτείνεται.

Η χρώση στα διγενή τρηματώδη και μονογενή είναι εξαιρετικής ποιότητας βάφοντας τα διάφορα όργανα σε διαφορετικό τόνο με αποτέλεσμα να διευκολύνει τον εντοπισμό τους. Οι μυζητήρες βάφονται ελάχιστα έχοντας ένα απαλό ροζ χρώμα. Οι όρχεις επίσης βάφονται ελάχιστα όμως η περιορχική κάψα χρωματίζεται ισχυρά μωβ. Η ωοθήκη και οι λεκιθικοί αδένες χρωματίζονται σκουρόχρωμοι έως μαύροι. Ο φάρυγγας χρωματίζεται ελάχιστα ενώ το έντερο έχει καφεκόκκινο χρώμα.

Τα νηματώδη είναι αδύνατο να βαφτούν με ακετοκαρμίνη, ενώ γενικώς θεωρούνται προβληματικά, όντας αδύνατο σε οποιαδήποτε χρώση να διεισδύσει το ισχυρό τοίχωμα της εφυμενίδας τους. Οι μόνες περιπτώσεις όπου η ακετοκαρμίνη μπορεί να εισχωρήσει μέσα στο παράσιτο είναι μόνο σε τραυματισμένα παράσιτα που παρουσιάζουν λύσεις συνέχειας στην εφυμενίδα.

1.1.4.2 Αποχρωματισμός παρασπίτων (Διαύγαση)

Ο αποχρωματισμός των παρασπίτων επιδιώκεται όταν τα εσωτερικά όργανα τους είναι δυσδιάκριτα σε νωπό επίχρισμα. Γενικά στα διγενή τρηματώδη και στα μονογενή σπανίως κάνουμε αποχρωματισμό γιατί η αντίστροφη διαδικασία (χρώση), δίνει εξαιρετικά αποτελέσματα. Η μέθοδος έτσι περιορίζεται κυρίως στα νηματώδη όπου η χρώση είναι αδύνατη. Προϋπόθεση για αποχρωματισμό των νηματωδών με τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα, είναι η αρχική εμβάπτιση αυτών σε θερμό διάλυμα 70% αιθυλικής αλκοόλης. Μετά από αυτή τη γρήγορη μονιμοποίηση ακολουθεί η διαύγαση κατά την οποία το παράσιτο εμβαπτίζεται ολονύκτια σε διάλυμα λακτοφαινόλης (10g φαινόλης, 10ml λακτικού οξέος, 10ml γλυκερίνης, 10m H₂O).

Μετά τη διαύγαση το παράσιτο μπορεί να παρατηρηθεί για την ταυτοποίηση του, όπου μετά το τέλος αυτής μπορεί να επανατοποθετηθεί σε διάλυμα 70% αιθυλικής αλκοόλης (σε θερμοκρασία δωματίου), για φύλαξη (Papoutsoglou, 1976).

1.1.5 Μονιμοποίηση παρασίτων

Έχουν προταθεί διαφορετικά πρωτόκολλα για τη μονιμοποίηση των παρασίτων. Το ποιό από αυτά θα χρησιμοποιηθεί εξαρτάται από τον προϋπολογισμό του εργαστηρίου και για το λόγο για τον οποίο γίνεται η μονιμοποίηση.

Πολλές φορές σε μια δειγματοληψία όταν ο φόρτος εργασίας είναι μεγάλος ή υπάρχει έλλειψη χώρου και εξοπλισμού, επιλέγουμε τη ταχεία μονιμοποίηση όπου μας επιτρέπει τον έλεγχο των δειγμάτων αρκετές μέρες μετά, χωρίς αυτά να έχουν υποστεί αλλοιώσεις. Όμως σε περιπτώσεις νέων ειδών όπου θα πρέπει να κατατεθούν σε κάποιο μουσείο, η μονιμοποίηση θα πρέπει να είναι τόσο καλή ώστε το παράσιτο να μπορεί να διατηρείται αναλλοίωτο για αιώνες (κυριολεκτικά).

Ένα από τα μεγαλύτερα συνήθη σφάλματα είναι η τοποθέτηση των παρασίτων σε απόλυτη αλκοόλη. Δυστυχώς αναφέρεται σε πλειάδα εργασιών στις οποίες συνήθως προτείνεται διαδοχική εμβάπτιση των παρασίτων σε κλιμακούμενα ποσοστά διαλυμάτων αιθυλικής αλκοόλης (50%, 75%, 90% και τέλος 100%), για την πλήρη μονιμοποίηση τους. Πρακτικά η μονιμοποίηση είναι άριστη όμως η μορφολογία του παρασίτου διαταράσσεται από την ισχυρή αφυδάτωση ώστε τελικά να είναι ακατάλληλο για παρατήρηση και ταυτοποίηση βάση μορφολογικών χαρακτηριστικών (εικόνα 67).

Σε περιπτώσεις “πρόχειρης μονιμοποίησης” για μετέπειτα χρώση με ακετοκαρμίνη προτείνεται το παράσιτο να εμβάπτιζεται σε 75% αιθυλική αλκοόλη. Το “πρόχειρη” βρίσκεται εντός εισαγωγικών διότι στη πραγματικότητα διαρκεί αρκετά χρόνια όχι όμως αιώνες (όπως η μονιμοποιητική μέθοδος που θα αναφερθεί παρακάτω). Στη πραγματικότητα πρόκειται για την πιο απλή, φτηνή και ποιοτική μέθοδο μονιμοποίησης, καθώς επιτρέπει τη χρώση σε δεύτερο χρόνο και διατηρεί τη διαφάνεια του σώματος του παρασίτου επιτρέποντας ανά πάσα στιγμή τη παρατήρηση των εσωτερικών του οργάνων. Σε περίπτωση όπου η χρώση δεν είναι αναγκαία τότε το παράσιτο μπορεί να διατηρηθεί και σε ρυθμιστικό διάλυμα φορμόλης. Το μειονέκτημα της φορμόλης είναι πως “θολώνει” το σώμα των

παρασίτων κάνοντας πρακτικά αδύνατη τη παρατήρηση των εσωτερικών τους οργάνων.

Η καλύτερη μονιμοποίηση επιτυγχάνεται με εμφύπτιση του παρασίτου σε **85μέρη** αιθυλικής αλκοόλης 85%, **10 μέρη** ρυθμιστικού διαλύματος φορμόλης 40%, **5 μέρη** άνυδρου οξικού οξέος. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δοθεί στη προετοιμασία του διαλύματος αφού θα πρέπει να γίνει καλή ανάδευση. Σε αντίθετη περίπτωση η αιθυλική αλκοόλη θα αφυδατώσει ισχυρά το παράσιτο. Η μονιμοποίηση είναι ικανοποιητική εάν η εμφύπτιση διαρκέσει πάνω από 24h. Στη συνέχεια μπορεί να γίνει εμπέδωση και το παράσιτο να διατηρηθεί πρακτικά για αιώνες (Papoutsoglou 1976).

1.1.6 Εμπέδωση παρασίτων

Η εμπέδωση των παρασίτων δε θα πρέπει να συγγέεται με τη μονιμοποίηση. Η μονιμοποίηση των παρασίτων είναι η διαδικασία κατά την οποία αποτρέπουμε τις μεταθανάτιες αλλοιώσεις αυτών. Η εμπέδωση είναι η διαδικασία κατά την οποία ένα παράσιτο σταθεροποιείται σε συγκεκριμένη στάση όπου διευκολύνεται η παρατήρηση του ή αναδεικνύεται κάποιο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του. Γίνεται μέσα σε διαφανείς ρητίνες οι οποίες τα σταθεροποιούν και αποτελεί διαφορετικό στάδιο από τη μονιμοποίηση, η οποία πάντα προηγείται και ποτέ δεν ακολουθεί (Εάν γίνει εμπέδωση ενός παρασίτου χωρίς να έχει προηγηθεί μονιμοποίηση αυτού, τότε το παράσιτο θα σταθεροποιηθεί μεν αλλά μέσα σε λίγες ώρες θα αλλοιωθεί πλήρως).

Τα μεγάλα ισόποδα παράσιτα μπορούν να εμπέδωθούν σε ρητίνες δύο συστατικών και να παρουσιάζονται υπό μορφή κύβου. Τα μικρά παράσιτα (κυρίως διγενή, μονογενή και κωπήποδα) δεν εμπέδώνονται σε ρητίνες δύο συστατικών αλλά σε υγρά σταθεροποίησης μέσα σε αντικειμενοφόρο πλάκα και επικαλυπτρίδα (όπως η εμπέδωση των ιστολογικών τομών). Στη παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν ρητίνες εμπέδωσης που χρησιμοποιούνται σε ιστολογικές τομές (Edelan[®], Micromount[®]) με μεικτά αποτελέσματα. Το αποτέλεσμα εμπέδωσης των παρασίτων με αυτές τις ρητίνες δεν ήταν πάντα καλό καθώς σε πλήρη σταθεροποίηση μπορεί να προκληθούν ισχυρές μηχανικές τάσεις οι οποίες σε κάποιες περιπτώσεις είναι ικανές να σχίσουν το σώμα του παρασίτου. Οι κοινές ρητίνες εμπέδωσης λοιπόν είναι λειτουργικές αλλά για καλύτερα αποτελέσματα προτείνεται η χρήση ρητίνης Canada balsam που ενδείκνυται για μετάζωα παράσιτα (Papoutsoglou, 1976).

1.1.7 Υπολογισμός παρουσίας και έντασης παρασίτων

Ο υπολογισμός της παρουσίας και της έντασης έγινε σύμφωνα με την εργασία του Margolis et al.,1982. Ως **παρουσία** ορίστηκε ο αριθμός των ψαριών που έφεραν έστω ένα από το υπό διερεύνηση παράσιτο, προς τον συνολικό αριθμό των εξετασθέντων ψαριών. Διεθνώς έχει επικρατήσει ο όρος Prevalence, όμως σε αρκετές εργασίες Ρώσων και ανατολικοευρωπαίων μπορεί να συναντηθεί και υπό τον όρο extensity. Η παρουσία μπορεί να παρουσιάζεται ως αριθμός όμως συνήθως εκφράζεται με τη μορφή ποσοστού. Ως **ένταση** ορίστηκε ο συνολικός αριθμός του υπό διερεύνηση παρασίτου που ανευρέθηκε σε έναν ξενιστή. Στη παρούσα εργασία δεν εμφανίζονται αναλυτικά στοιχεία των εντάσεων για κάθε ψάρι ξεχωριστά, όμως παρουσιάζεται η **μέση ένταση** η οποία ορίστηκε ως ο συνολικός αριθμός των παρασίτων σε ένα δείγμα ξενιστών προς το συνολικό αριθμό των ξενιστών του δείγματος που έφεραν έστω ένα από το υπό διερεύνηση παράσιτο.

1.2 Αποτελέσματα 1^{ης} Ενότητας

1.2.1 Είδη και αριθμός εξετασθέντων ιχθύων

1.2.1.1 Εκτρεφόμενα

Για τη μελέτη του βαθμού παρασίτωσης, της εποχικότητας και της παθολογίας των εξωπαρασιτώσεων στα εκτρεφόμενα είδη, εξετάστηκαν συνολικά 681 ψάρια από 7 εκτρεφόμενα είδη (*D. labrax*, *D. puntazzo*, *P. erithrinus*, *P. pagrus*, *S. umbra*, *S. aurata* και *U. cirrosa*). Ο αριθμός ανά είδος και ανά εποχή παρουσιάζεται στον πίνακα 1.

1. Η επιλογή των εκτρεφόμενων ειδών έγινε βάση της παθολογικής εικόνας που παρουσίαζαν συνολικά στον κλωβό εκτροφής. Επιλέγονταν μόνο κλωβοστοιχίες οι οποίες είχαν εμφανίσει σημαντικές θνησιμότητες τις προηγούμενες ημέρες και μέσα από τις οποίες επιλέγονταν ψάρια αποκλειστικά με κλινική εκδήλωση νόσου (αταξία, ληθαργικότητα) ή ημιθανή. Με άλλα λόγια έγινε εντοπισμένη επιλογή ασθενούντων ψαριών με σκοπό να καταγραφεί το δυνατόν καλύτερα ο μέγιστος βαθμός παρασίτωσης και η παθολογία των εξωπαρασιτώσεων.

1.2.1.2 Άγρια

Για τη μελέτη του βαθμού παρασίτωσης, της εποχικότητας και της παθολογίας των εξωπαρασιτώσεων σε άγριους πληθυσμούς ψαριών εξετάστηκαν συνολικά 768 ψάρια από 32 είδη (πίνακας 2). **Σε ότι αφορά τους άγριους πληθυσμούς**, επιλέχθηκαν είδη τα οποία συναντώνται συνήθως κοντά στους ιχθυοκλωβούς όπως σαρδέλα, σαργός, σαργόπαππας, μουσμούλι, κέφαλος, σάλπες κ.α., αλλά και βαθύβια και πελάγια είδη όπως σαλουβάρδος, καπόνι, σκορπίνα και ζανπιέρος. Παρά το γεγονός πως έγινε προσπάθεια για εποχική δειγματοληψία και για τα 32 είδη, τελικώς αυτό δε κατέσται δυνατό γιατί σε κάθε δειγματοληψία τα είδη και ο αριθμός των δειγμάτων εξαρτιόταν κάθε φορά από τη ψαριά των μηχανότρατων. Έτσι σε κάποια είδη η δειγματοληψία ήταν εποχιακά άτακτη. Για το λόγο αυτό θα παρουσιαστεί ένα συνολικό παρασιτικό προφίλ για τους άγριους πληθυσμούς (Πίνακας 2).

Πίνακας 1. Παρουσιάζονται τα είδη και ο αριθμός των εξετασθέντων εκτρεφόμενων ψαριών

Είδος	Κοινή ονομασία	Οικογένεια	№/ Εποχή	Συνολικός Αριθμός
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Λαυράκι	Moronidae	A:(29) K:(33) Φ:(35) X:(27)	124
<i>Diplodus puntazzo</i>	Μυτάκι	Sparidae	A:(24) K:(30) Φ:(23) X:(29)	106
<i>Pagellus erithrinus</i>	Λυθρίνι	Sparidae	A:(18) K:(17) Φ:(14) X:(19)	68
<i>Pagrus pagrus</i>	Φαγκρί	Sparidae	A:(28) K:(30) Φ:(26) X:(28)	112
<i>Sciaena umbra</i>	Συκτός	Sciaenidae	A:(15) K:(15) Φ:(18) X:(15)	63
<i>Sparus aurata</i>	Τσιπούρα	Sparidae	A:(31) K:(30) Φ:(35) X:(33)	129
<i>Umbrina cirrosa</i>	Μυλοκόπι	Sciaenidae	A:(20) K:(20) Φ:(20) X:(19)	79
Σύνολο				681

A: Άνοιξη, K: Καλοκαίρι, Φ: Φθινόπωρο, X: Χειμώνας

Πίνακας 2. Παρουσιάζονται τα είδη και ο αριθμός των εξετασθέντων άγριων ψαριών

Είδος	Κοινή ονομασία	Οικογένεια	Συνολικός Αριθμός
<i>Boops boops</i>	Γόπα	Sparidae	27
<i>Coris julis</i>	Γύλος	Labridae	19
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Λαυράκι	Moronidae	31
<i>Diplodus annularis</i>	Σπάρος	Sparidae	25
<i>Diplodus puntazzo</i>	Μυτάκι	Sparidae	13
<i>Diplodus sargus</i>	Σαργός	Sparidae	23
<i>Diplodus vulgaris</i>	Σαργόπαππας	Sparidae	21
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Γαύρος	Engraulidae	37
<i>Helicolenus dactylopterus</i>	Σκορπιός	Sebastidae	23
<i>Lithognathus mormyrus</i>	Μουρμούρα	Sparidae	12
<i>Merluccius merluccius</i>	Μπακαλιάρος	Merlucciidae	20
<i>Mugil cephalus</i>	Κέφαλος	Mugilidae	25
<i>Mullus barbatus</i>	Κουτσομούρα	Mullidae	24
<i>Pagellus acarne</i>	Μουσμούλι	Sparidae	17
<i>Pagellus erithrinus</i>	Λυθρίνι	Sparidae	53
<i>Pagrus pagrus</i>	Φαγκρί	Sparidae	41
<i>Phycis phycis</i>	Σαλούβαρδος	Gadidae	20
<i>Sarpa salpa</i>	Σάλπα	Sparidae	26
<i>Sardina pilchardus</i>	Σαρδέλα	Clupeidae	34
<i>Sardinella aurita</i>	Φρύσσα	Clupeidae	23
<i>Sciaena umbra</i>	Συκίος	Sciaenidae	20
<i>Serranus cabrilla</i>	Χάνος	Serranidae	24
<i>Scomber colias</i>	Κολιός	Scombridae	30
<i>Scorpaena scrofa</i>	Σκορπίνα	Scorpaenidae	17
<i>Sparus aurata</i>	Τσιπούρα	Sparidae	48
<i>Spicara smaris</i>	Μαρίδα	Sparidae	33
<i>Thunnus thynnus</i>	Τόνος	Scombridae	11
<i>Trachurus trachurus</i>	Σαφρίδι	Carangidae	25
<i>Trachurus mediterraneus</i>	Γκριζοσάφριδο	Carangidae	15
<i>Trigla lyra</i>	Καπόνι-Λύρα	Triglidae	12
<i>Umbrina cirrosa</i>	Μυλοκόπι	Sciaenidae	17
<i>Zeus faber</i>	Χριστόψαρο	Zeidae	2
Σύνολο			768

1.2.2 Σύνολο παρασίτων που εντοπίστηκαν

Συνολικά εντοπίστηκαν 36 είδη παρασίτων, 24 εκ των οποίων μόνο σε άγρια ψάρια ενώ 12 τόσο σε άγρια όσο και σε εκτρεφόμενα. Στους πίνακες 3 & 4 εμφανίζονται οι παρουσίες και οι εντάσεις των παρασίτων των εκτρεφόμενων ειδών, ενώ ο πίνακας 5 αφορά τα παράσιτα των άγριων ψαριών.

Πίνακας 3. Παρουσία των ευρεθέντων παρασίτων συναρτήσει των ζενιστών (εκτρεφόμενων ψαριών)

Παράσιτο	Ξενιστής	Όργανο	Prev.% Καλ.	Prev.% Φθ.	Prev.% Χειμ.	Prev.% Αν.
Μονογενή						
<i>Microcotyle erythrini</i>	<i>Pagellus erythrinus</i>	Βράγχια	12/17 (70,58%)	12/14 (85,71%)	9/19 (47,36%)	4/18 (22,22%)
<i>Sparicotyle chrysophrui</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	10/30 (33,33%)	12/23 (52,17%)	19/29 (65,51%)	12/24 (50,00%)
	<i>Sparus aurata</i>	Βράγχια	21/30 (70,00%)	23/35 (65,71%)	16/33 (48,48%)	18/31 (58,06%)
<i>Atrispinum salpaea</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	17/30 (56,66%)	13/23 (56,52%)	9/29 (31,03%)	9/24 (37,50%)
<i>Pagellicotyle mormyri</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	9/30 (30,00%)	3/23 (13,04%)	3/29 (10,34%)	5/24 (20,83%)
<i>Diplectanum simile</i>	<i>Umbrina cirrosa</i>	Βράγχια	15/20 (75,00%)	12/20 (60,00%)	16/19 (84,21%)	13/20 (65,00%)
	<i>Sciaena umbra</i>	Βράγχια	11/15 (73,33%)	7/18 (38,88%)	11/15 (73,33%)	9/15 (60,00%)
<i>Diplectanum aequans</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Βράγχια	22/33 (66,66%)	27/35 (77,14%)	19/27 (70,37%)	20/29 (68,96%)
<i>Lamellodiscus echeneis</i>	<i>Sparus aurata</i>	Βράγχια	17/30 (56,66%)	26/35 (74,28%)	22/33 (66,66%)	13/31 (41,93%)
<i>Lamellodiscus spp.</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	8/30 (26,66%)	10/23 (43,47%)	20/29 (68,96%)	4/24 (16,66%)
	<i>Pagrus pagrus</i>	Βράγχια	11/30 (36,66%)	11/26 (42,30%)	14/28 (50,00%)	6/28 (21,42%)
Κωπήποδα						
<i>Caligus minimus</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Στόμα	19/33 (57,57%)	27/35 (77,14%)	4/27 (14,81%)	6/29 (20,68%)
<i>Lernanthropus kroyeri</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Βράγχια	12/33 (36,36%)	12/35 (34,28%)	8/27 (29,62%)	19/29 (65,51%)
Ισόποδα						
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Sparus aurata</i>	Στόμα	1/30 (3,33%)	0/35 (0,00%)	0/33 (0,00%)	1/31 (3,22%)
	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Στόμα	2/33 (6,06%)	2/35 (5,71%)	0/27 (0,00%)	3/29 (10,34%)
Κεστώδη						
<i>Scolex pleuronectis</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Έντερο	12/33 (36,36%)	4/35 (11,42%)	17/27 (62,96%)	9/29 (31,03%)
	<i>Diplodus puntazzo</i>	Έντερο	4/30 (13,33%)	7/23 (30,43%)	3/29 (10,34%)	7/24 (29,16%)
	<i>Pagellus erythrinus</i>	Έντερο	0/17 (0,00%)	0/14 (0,00%)	3/19 (15,78%)	0/18 (0,00%)
	<i>Pagrus pagrus</i>	Έντερο	2/30 (6,66%)	0/26 (0,00%)	5/28 (17,85%)	1/28 (3,57%)
	<i>Sciaena umbra</i>	Έντερο	10/15 (66,66%)	7/18 (38,88%)	4/15 (26,66%)	5/15 (33,33%)
	<i>Sparus aurata</i>	Έντερο	3/30 (10,00%)	7/35 (20,00%)	1/33 (3,22%)	1/31 (3,03%)
	<i>Umbrina cirrosa</i>	Έντερο	6/20 (30,00%)	4/20 (20,00%)	5/19 (26,31%)	9/20 (45,00%)

Παρουσία: **Prev.%**, Καλοκαίρι: **Καλ.**, Φθινόπωρο: **Φθ.**, Χειμώνας: **Χειμ.**, Άνοιξη: **Αν.**

Πίνακας 4. Ένταση των ανευρεθέντων παρασίτων συναρτήσει των ξενιστών (εκτρεφόμενων ψαριών)

Παράσιτο	Ξενιστής	Όργανο	Mean Int. Καλ.	Mean Int. Φθ.	Mean Int. Χειμ.	Mean Int. Av.
Μονογενή						
<i>Microcotyle erythrini</i>	<i>Pagellus erythrinus</i>	Βράγχια	3,28± 2,91	7,77± 4,52	2,40± 1,37	2,03± 0,98
<i>Sparicotyle chrysophrui</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	3,32±0,36	4,30± 1,12	6,31± 4,56	4,16± 1,99
	<i>Sparus aurata</i>	Βράγχια	11,35± 5,01	15,64±12,33	4,01± 1,28	3,46± 1,92
<i>Atrispinum salpaea</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	9,38± 2,66	7,27± 4,45	6,87± 3,32	6,42± 4,09
<i>Pagellicotyle mormyri</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	9,74± 3,30	8,21±6,66	2,28± 0,53	2,41± 0,75
<i>Diplectanum simile</i>	<i>Umbrina cirrosa</i>	Βράγχια	4,55± 2,78	11,28±3,43	5,99± 3,85	2,21± 0,54
	<i>Sciaena umbra</i>	Βράγχια	5,59± 3,64	8,11± 0,88	2,23± 0,64	3,38±2,29
<i>Diplectanum aequans</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Βράγχια	4,77± 1,11	9,11± 3,38	5,11± 2,45	3,89 ± 1,03
<i>Lamellodiscus echeneis</i>	<i>Sparus aurata</i>	Βράγχια	6,16± 2,59	13,47± 7,42	4,00± 1,47	4,67± 2,77
<i>Lamellodiscus spp.</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	4,40±0,18	3,71± 0,82	5,35± 2,11	2,48± 1,53
	<i>Pagrus pagrus</i>	Βράγχια	4,96± 2,30	5,15± 1,87	7,36± 4,60	3,74± 1,70
Κωπήποδα						
<i>Caligus minimus</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Στόμα	43,5± 25,81	29,87± 4,14	11,06± 2,99	12,38± 2,54
<i>Lernanthropus kroyeri</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Βράγχια	4,25± 2,62	4,38± 1,27	1,70±0,44	7,25± 2,01
Ισόποδα						
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Sparus aurata</i>	Στόμα	2	0	0	1
	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Στόμα	1	2± 0,00	0	2± 0,00
Κεστώδη						
<i>Scolex pleuronectis</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Έντερο	2,11± 0,35	9,28±2,14	31,02± 10,25	20,11± 12,60
	<i>Diplodus puntazzo</i>	Έντερο	77± 56,96	5,57± 3,20	5,66± 1,52	14,00± 6,33
	<i>Pagellus erithrinus</i>	Έντερο	0	0	3,33± 2,51	0
	<i>Pagrus pagrus</i>	Έντερο	7,5± 2,5	0	15,56± 4,40	6
	<i>Sciaena umbra</i>	Έντερο	9,88±8,43	1,66± 0,17	6,72± 3,26	21,66±15,96
	<i>Sparus aurata</i>	Έντερο	5,33± 2,08	5,86± 3,02	3	1
	<i>Umbrina cirrosa</i>	Έντερο	4,5± 1,87	8,25± 2,98	9,6± 3,97	6,88± 3,40

Μέση ένταση: **Mean Int.** (Μέση τιμή± Τυπική απόκλιση), Καλοκαίρι: **Καλ.**, Φθινόπωρο: **Φθ.**, Χειμώνας: **Χειμ.**, Άνοιξη: **Av.**

Πίνακας 5α. Παρουσία και ένταση των παρασίτων συναρτήσει των ξενιστών (άγριων ψαριών)

Παράσιτο	Ξενιστής	Όργανο	Prev.%	Μέση ένταση
Μονογενή				
<i>Gastrocotyle trachuri</i>	<i>Trachurus trachurus</i>	Βράγχια	5/25	1
<i>Pseudaxine trachuri</i>	<i>Trachurus trachurus</i>	Βράγχια	5/25	1,8 ± 0,83
<i>Macrouridophora nezumiae</i>	<i>Phycis phycis</i>	Βράγχια	1/20	1
<i>Kuhnia scomбри</i>	<i>Scomber colias</i>	Βράγχια	6/30	2,66 ± 1,63
<i>Pseudanthocotylodes heterocotyle</i>	<i>Engraulis encrasicolus</i>	Βράγχια	9/37	2,44 ± 1,59
<i>Microcotyle erythrini</i>	<i>Boops boops</i>	Βράγχια	8/27	3,37 ± 1,99
	<i>Pagellus acarne</i>	Βράγχια	6/17	3,2 ± 1,64
	<i>Pagellus erythrini</i>	Βράγχια	29/53	3,31 ± 1,6
<i>Kannaphalus trachuris n.sp.</i>	<i>Trachurus trachurus</i>	Βράγχια	3/25	3,66 ± 1,52
<i>Sparicotyle chrysoφρηii</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	7/13	5,42 ± 2,93
	<i>Sparus aurata</i>	Βράγχια	29/48	4,62 ± 3,15
<i>Crotalaxine sp.</i>	<i>Trachurus mediterraneus</i>	Βράγχια	1/25	1
<i>Atrispinum salpaea</i>	<i>Diplodus annularis</i>	Βράγχια	6/25	5,66 ± 2,87
	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	7/13	7,42 ± 3,04
	<i>Diplodus vulgaris</i>	Βράγχια	10/21	6,50 ± 3,80
	<i>Sarpa salpa</i>	Βράγχια	7/26	6,28 ± 2,92
<i>Pagellicotyle mormyri</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	3/13	6,66 ± 4,50
	<i>Lithognathus mormyrus</i>	Βράγχια	4/12	2,5 ± 0,57
<i>Diplectanum simile</i>	<i>Umbrina cirrosa</i>	Βράγχια	10/17	3,8 ± 2,44
	<i>Sciaena umbra</i>	Βράγχια	12/20	5,83 ± 2,24
	<i>Sarpa salpa</i>	Βράγχια	5/26	5,4 ± 4,27
<i>Diplectanum aequans</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Βράγχια	12/31	6,75 ± 3,62
<i>Lamellodiscus echeueis</i>	<i>Sparus aurata</i>	Βράγχια	19/48	4,84 ± 3,2
<i>Lamellodiscus spp.</i>	<i>Diplodus annularis</i>	Βράγχια	8/25	8,87 ± 2,64
	<i>Diplodus puntazzo</i>	Βράγχια	9/13	7,22 ± 2,86
	<i>Diplodus vulgaris</i>	Βράγχια	16/21	7,87 ± 2,79
	<i>Merluccius merluccius</i>	Βράγχια	4/20	9 ± 5,35
	<i>Pagrus pagrus</i>	Βράγχια	28/41	4,64 ± 3,14
	<i>Serranus cabrilla</i>	Βράγχια	14/24	5,5 ± 2,07
	<i>Spicara smarıs</i>	Βράγχια	6/33	13,83 ± 9,23
Διγενή Τρηματώδη				
<i>Hemiurus luehei</i>	<i>Engraulis encrasicolus</i>	Έντερο	14/37	9,92 ± 3,75
<i>Hemiurus communis</i>	<i>Trachurus trachurus</i>	Έντερο	11/25	6,36 ± 3,17
	<i>Boops boops</i>	Έντερο	7/27	5,63 ± 3,10
<i>Aponurus laguncula</i>	<i>Trachurus trachurus</i>	Έντερο	6/25	5,28 ± 1,17
	<i>Engraulis encrasicolus</i>	Έντερο	9/37	6,02 ± 2,32
<i>Genarchiopsis goppo</i>	<i>Serranus cabrilla</i>	Έντερο	6/24	2,41 ± 0,95
<i>Prosorhynchus sp.</i>	<i>Serranus cabrilla</i>	Έντερο	16/24	9,30 ± 5,24
<i>Phyllodistomum sp.</i>	<i>Scorpaena scrofa</i>	Έντερο	1/17	6
<i>Lepidapedon sp.</i>	<i>Phycis phycis</i>	Έντερο	13/20	16,39 ± 7,75
<i>Opechona bacillaris</i>	<i>Scomber colias</i>	Έντερο	12/30	19,7 ± 8,00
	<i>Thunnus thynnus</i>	Έντερο	2/11	2 ± 1,41
	<i>Trachurus mediterraneus</i>	Έντερο	6/25	4,66 ± 2,58
	<i>Trachurus trachurus</i>	Έντερο	4/25	5,25 ± 3,09
<i>Didymozoidae</i>	<i>Trachurus trachurus</i>	Έντερο	3/25	2,33 ± 2,31
	<i>Zeus faber</i>	Έντερο	2/2	1,5 ± 0,70
Κωπήποδα				
<i>Hatschekia sargi</i>	<i>Diplodus annularis</i>	Βράγχια	3/25	4 ± 1,73
<i>Hatschekia pagellibogneravei</i>	<i>Pagellus acarne</i>	Βράγχια	6/17	3,33 ± 1,03
<i>Protochondracanthus alatus</i>	<i>Pagellus erithrinus</i>	Βράγχια	1/53	1
<i>Caligus minimus</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Στόμα	12/31	11,33 ± 5,92
<i>Clavella sargi</i>	<i>Diplodus annularis</i>	Βράγχια	3/25	1,25 ± 0,5
<i>Clavellopsis sargi</i>	<i>Diplodus annularis</i>	Βράγχια	1/25	2
<i>Parabrachiella exigua</i>	<i>Umbrina cirrosa</i>	Βράγχια	1/17	1

<i>Lernanthropus kroyeri</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Βράγχια	7/31	2,71 ± 1,97
	<i>Merluccius merluccius</i>	Βράγχια	5/20	4 ± 1,87
	<i>Trachurus trachurus</i>	Βράγχια	3/25	3,33 ± 2,51
Ισόποδα				
<i>Gnathiid</i> (praniza)♀	<i>Serranus cabrilla</i>	Βράγχια	21/24	1,42 ± 0,67
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Boops boops</i>	Στόμα	3/27	1
	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Στόμα	2/31	1
	<i>Diplodus sargus</i>	Στόμα	1/23	1
	<i>Phycis phycis</i>	Στόμα	1/20	1
	<i>Serranus cabrilla</i>	Στόμα	4/24	1
	<i>Sparus aurata</i>	Στόμα	1/48	1
	<i>Zeus faber</i>	Δέρμα	1/2	1
Βδέλλες				
<i>Calliobdella vivida</i>	<i>Zeus faber</i>	Δέρμα	1/2	3
Κεστώδη				
<i>Scolex pleuronectis</i>	<i>Boops boops</i>	Έντερο	5/27	5,8 ± 2,28
	<i>Coris julis</i>	Έντερο	2/19	6 ± 1,41
	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Έντερο	4/31	7,25 ± 3,09
	<i>Diplodus annularis</i>	Έντερο	4/25	9,5 ± 8,06
	<i>Diplodus puntazzo</i>	Έντερο	2/13	12 ± 9,89
	<i>Diplodus vulgaris</i>	Έντερο	7/21	10 ± 5,32
	<i>Engraulis encrasicolus</i>	Έντερο	19/37	9,73 ± 5,64
	<i>Helicolenus dactylopterus</i>	Έντερο	3/23	10,66 ± 4,72
	<i>Merluccius merluccius</i>	Έντερο	6/20	8,50 ± 3,88
	<i>Mugil cephalus</i>	Έντερο	2/25	5 ± 2,82
	<i>Mullus barbatus</i>	Έντερο	4/24	5 ± 3,65
	<i>Pagellus acarne</i>	Έντερο	1/17	7
	<i>Pagellus erithrinus</i>	Έντερο	3/53	3,33 ± 1,52
	<i>Pagrus pagrus</i>	Έντερο	5/41	8,4 ± 4,56
	<i>Phycis phycis</i>	Έντερο	13/20	9,15 ± 3,67
	<i>Sarpa salpa</i>	Έντερο	5/26	5,2 ± 2,68
	<i>Sardina pilchardus</i>	Έντερο	18/34	8,66 ± 3,27
	<i>Sardinella aurita</i>	Έντερο	10/23	8,9 ± 3,95
	<i>Sciaena umbra</i>	Έντερο	8/20	9 ± 3,77
	<i>Serranus cabrilla</i>	Έντερο	4/24	7,5 ± 3,10
	<i>Scomber colias</i>	Έντερο	2/30	4 ± 1,41
	<i>Scorpaena scrofa</i>	Έντερο	8/17	11,12 ± 5,74
	<i>Sparus aurata</i>	Έντερο	6/48	10,33 ± 6,25
	<i>Spicara smaris</i>	Έντερο	21/33	7,76 ± 3,23
	<i>Thunnus thynnus</i>	Έντερο	2/11	13,5 ± 9,19
	<i>Trachurus trachurus</i>	Έντερο	8/25	7,12 ± 3,6
	<i>Trachurus mediterraneus</i>	Έντερο	6/15	5 ± 3,22
	<i>Trigla lyra</i>	Έντερο	6/12	2,33 ± 1,96
	<i>Umbrina cirrosa</i>	Έντερο	12/17	4,08 ± 3,55
	<i>Zeus faber</i>	Έντερο	2/2	76,5 ± 24,74

1.2.3 Περιγραφή παρασίτων

Όλα τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των παρασίτων καταμετρήθηκαν μετά από χρώση σε νωπά επιχρίσματα. Με αυτό τον τρόπο τα μετρικά αποτελέσματα και οι αντιστοιχίες των οργάνων αναφέρονται σε πραγματικά μεγέθη. Η σχηματική απεικόνιση των παρασίτων έγινε βάσει των ευρημάτων συγκεντρωτικά. Σε περιπτώσεις οργάνων όπου δεν ήταν δυνατή η παρατήρηση τους τότε η σχηματική αποτύπωση έγινε βάσει παλαιότερων βιβλιογραφικών σχηματικών απεικονίσεων.

1.2.3.1 Μονογενή

Class: Monogenea

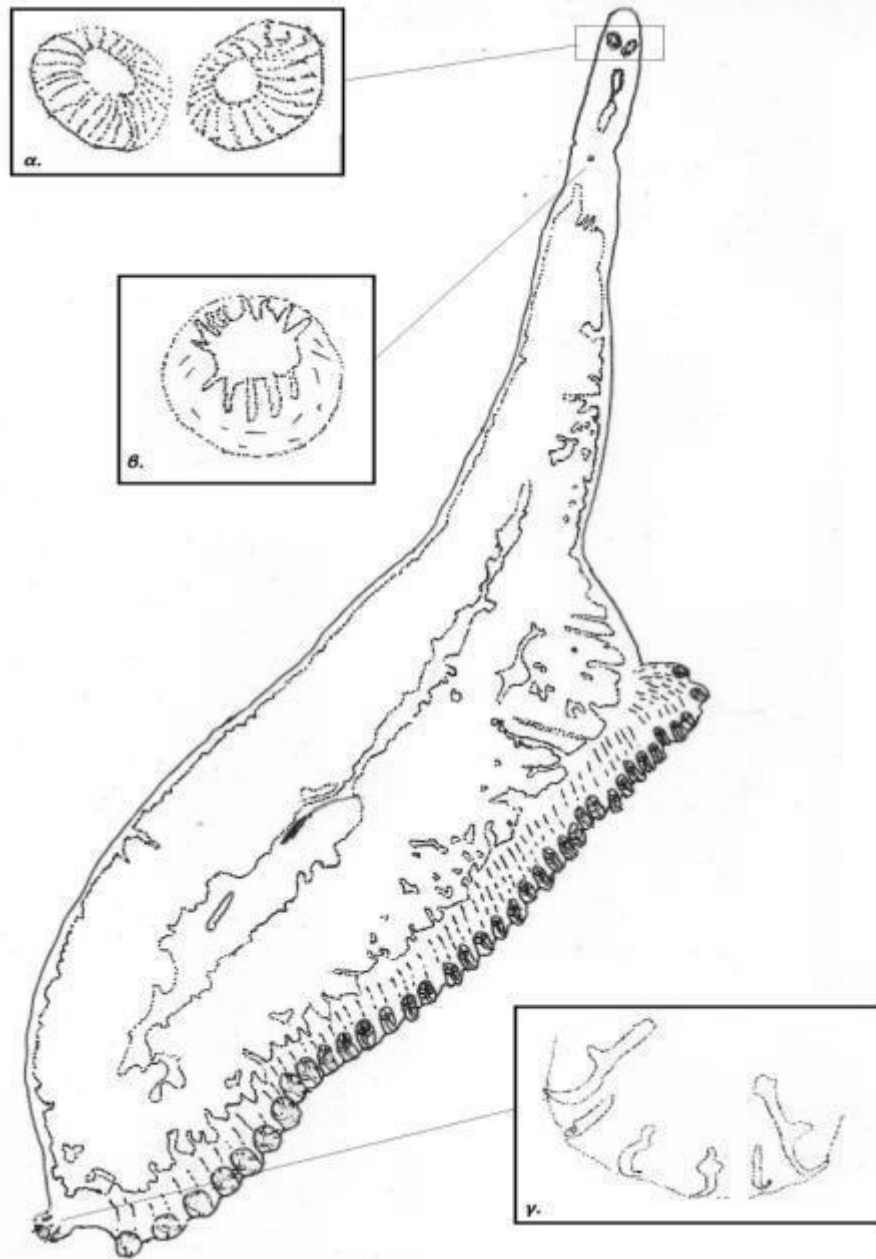
Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family Gastrocotylidae (Price,1943)

Genus : *Gastrocotyle* (Beneden & Hesse, 1863)

Gastrocotyle trachuri (van Beneden & Hesse, 1863)



Εικόνα 1. *Gastrocotyle trachuri*, α. μυζητικές θηλές προάπτορα, β. γεννητικός κοιλικός βολβός, γ. ζεύγη αγκίστρων οπισθάπτορα.

Τα κύρια μορφολογικά χαρακτηριστικά της οικογενείας είναι το μικρό πλάτος του πρόσθιου μισού του σώματος σε αντίθεση με το ευρύ οπίσθιο στο σύνολο του ακροτελεύτιου ορίου του οποίου εντοπίζονται μικρού μεγέθους λαβίδες. Επίσης ιδιαίτερο μορφολογικό χαρακτηριστικό της οικογενείας αποτελεί και η ανατομική μορφολογία των λαβίδων οι οποίες αν και ομοιάζουν με εκείνες των δισκοκοτύλων εντούτοις φέρουν επιπρόσθετους σκληρίτες εκ των οποίων το ένα ζεύγος είναι πάντοτε συνδεδεμένο με το εν τω μέσω εξάρτημα της λαβίδας (ως δύο ελαφρώς κυρτωμένες μπάρες οι οποίες τελικώς ενώνονται σχηματίζοντας ευρέως το λατινικό γράμμα "V", ραχιαίως του ελατηρίου της λαβίδας). Επιπρόσθετοι σκληρίτες



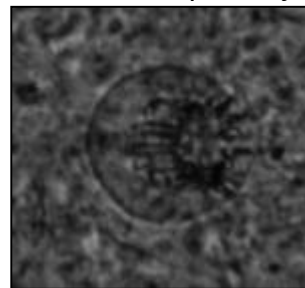
Εικόνα 2. Ανατομική μορφολογία λαβίδας γαστροκοτύλης (τροποποίηση από Jones, 1933), με γκρι παρουσιάζονται οι επικουρικοί σκληρίτες χαρακτηριστικοί για το είδος.

υποστηρίζουν κοιλιακώς τη λαβίδα ενώνοντας τη βάση της με το ελατήριο αυξάνοντας τη σταθερότητα της (Εικόνα 2). Όλες οι λαβίδες παρουσιάζουν παρόμοιο ανατομικό μοτίβο στον οπισθάπτορα, και γένη της οικογένειας τα οποία χαρακτηρίζονται από

ασυμμετρία (π.χ. γένος *Gastrocotyle*), διαθέτουν μόνο μια σειρά λαβίδων. Επιπλέον ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της οικογενείας είναι τα 2 ή 3 ζεύγη άγκιστρων που επιπλέον διαθέτουν και τα οποία εντοπίζονται συγκεντρωμένα ακροσωματικά πλησίον των λαβίδων μετά το τέλος της συστοιχίας αυτών. Ο κόλπος είναι μονήρης και διανοίγεται μεσοραχιαίως.

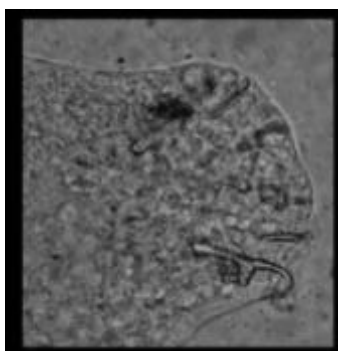
Το *Gastrocotyle trachuri* είναι παράσιτο το οποίο εντοπίζεται κατά κανόνα στα βράγχια του είδους *Trachurus trachurus* Linnaeus, 1758 με παγκόσμια εξάπλωση καθώς έχει αναφερθεί στον Βόρειο Ατλαντικό (Dawes), στη Μεσόγειο (Sproston, 1944), στην Ιαπωνία (Yamaguti) και στη Νέα Ζηλανδία (Gordon 2009). Συνώνυμο είδος *Gastrocotyle japonica*, το οποίο βρέθηκε στο είδος *Scomber japonicus* το 1938 από τους Ishi & Sakada. Από τους συγγραφείς αναφέρθηκε η ύπαρξη μόνο 16-20 λαβίδων (κατά πολύ λιγότερες από το *Gastrocotyle trachuri*). Επί της ουσίας το είδος αμφισβητείται ως ξεχωριστό και πιθανολογείται πως επρόκειτο για νεαρό ηλικιακά παράσιτο του είδους *G. Trachuri* (Sporston, 1944), το οποίο οι συγγραφείς λανθασμένα αναγνώρισαν ως νέο είδος.

Η μορφολογία του *G.trachuri* είναι ιδιαίτερη και χαρακτηριστική. Από τον προάπτορα έως και το πρώτο τέταρτο του σώματος το σώμα είναι στενό σωληνοειδές. Στον προάπτορα εντοπίζονται δύο μυζητικές θηλές οι οποίες ενώνονται με το φάρυγγα. Μέσα στο πρώτο τέταρτο του σώματος εκτός από τα προαναφερθέντα εντοπίζεται και ο γεννητικός κολπικός βολβός (Εικόνα 3) ο οποίος φέρει



Εικόνα 3. Γεννητικός κολπικός βολβός γαστροκοτύλης, με διάδημα και βελονίσκους. Νωπό επίχρισμα, βραγχίου. Μεγέθυνση 100x.

διάδημα με 12 αγκιστροειδείς βελονίσκους. Το δεύτερο τέταρτο του σώματος σταδιακά διευρύνεται διπλασιάζοντας το αρχικό του πλάτος βρίθοντας λεκιθικών αδένων οι οποίοι συνεχίζουν έως και τον οπισθάπτορα. Έχουν πλευρική κατανομή με μικτή εικόνα συσσωμάτωσης και άναρχες τάσεις διακλάδωσης. Φθάνοντας στη μέση του σώματος παρατηρείται δραματική αύξηση του πλάτους του παρασίτου έως και έξι φορές επί του αρχικού.

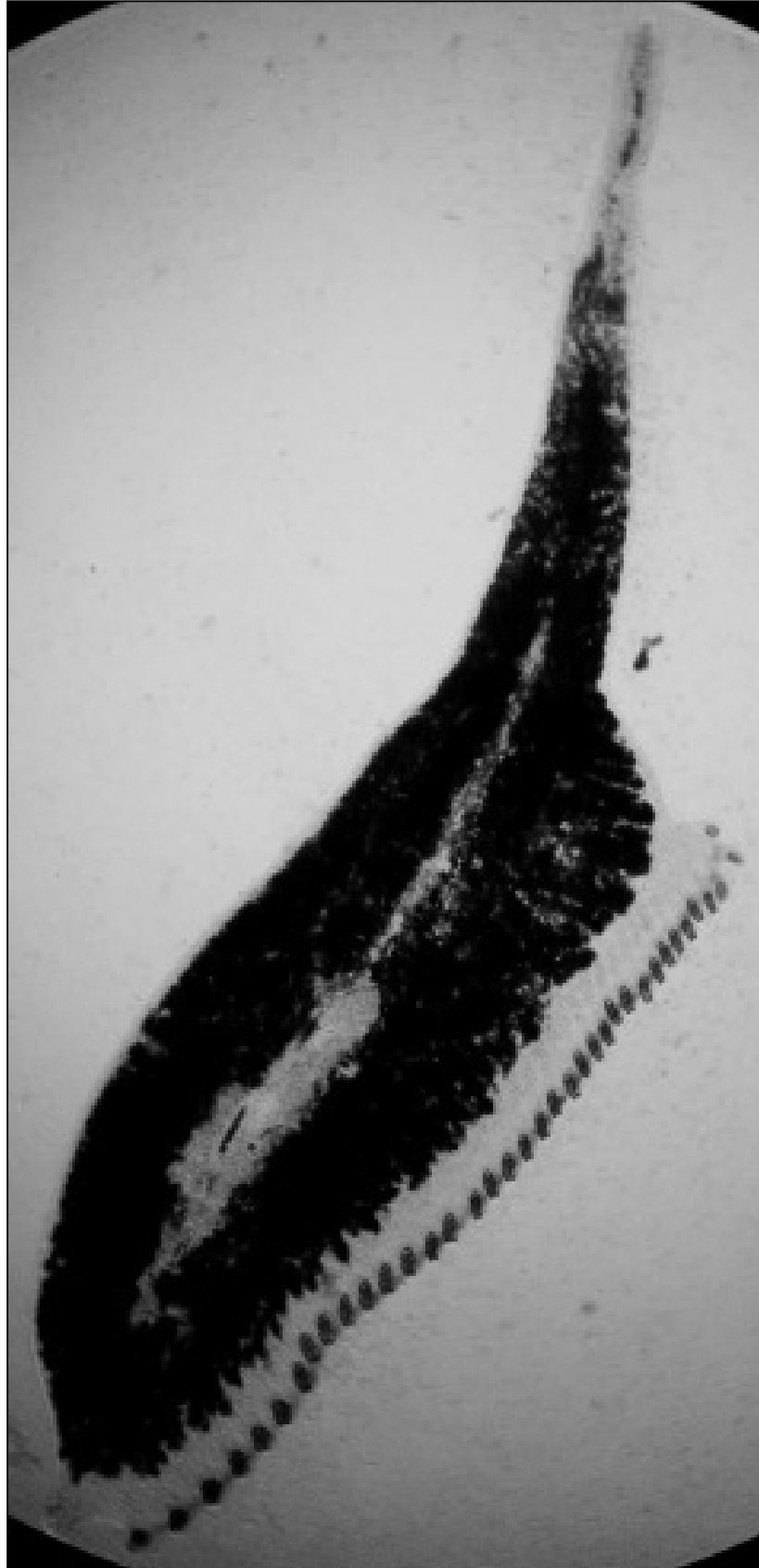


Εικόνα 4. Ζεύγη άγκιστρων οπισθάπτορα γαστροκοτύλης. Μεγέθυνση 100x.

Ο οπισθάπτορας φέρει μονήρη συστοιχία από λαβίδες οι οποίες κυμαίνονται από 32 έως 40 σε αριθμό. Η μορφολογία και το μέγεθος των λαβίδων παρουσιάζει ομοιογένεια σε όλο το μήκος του οπισθάπτορα. Οπισθίως της συστοιχίας των λαβίδων εντοπίζεται έπαρμα στο οποίο διατάσσονται ριπιδοειδώς τρία ζεύγη αγκίστρων (Εικόνα 4). Το περιφερικό και πρόσθιο ζεύγος αγκίστρων σε σχέση με τα υπόλοιπα ζεύγη είναι το μεγαλύτερο σε μέγεθος, ενώ το ζεύγος που διατάσσεται κεντρικά είναι το μικρότερο.

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκαν συνολικά 5 παράσιτα όλα σε βράγχια του είδους *Trachurus trachurus*. Σε κανένα από τα παράσιτα δεν εντοπίστηκαν αυγά. Ο συνολικός αριθμός των λαβίδων του οπισθάπτορα για τα 5 παράσιτα ήταν 37, 33, 34,32,33(ελλιπές), αντίστοιχα. Το πιο ενδιαφέρον εύρημα είναι πως μόνο ένα παράσιτο από αυτό το είδος εντοπιζόταν κάθε φορά ανά ψάρι και ποτέ δύο ή παραπάνω, όμως στον ίδιο ξενιστή βρίσκονταν παράσιτα του είδους *Pseudocaranx trachuri*, κάτι που αναφέρεται και από άλλο συγγραφέα (Sproston, 1944).



Εικόνα 5. *Gastrocotyle trachuri*, Νωπό επίχρισμα, βραγχίου. Μεγέθυνση 4x.

Class: Monogenea

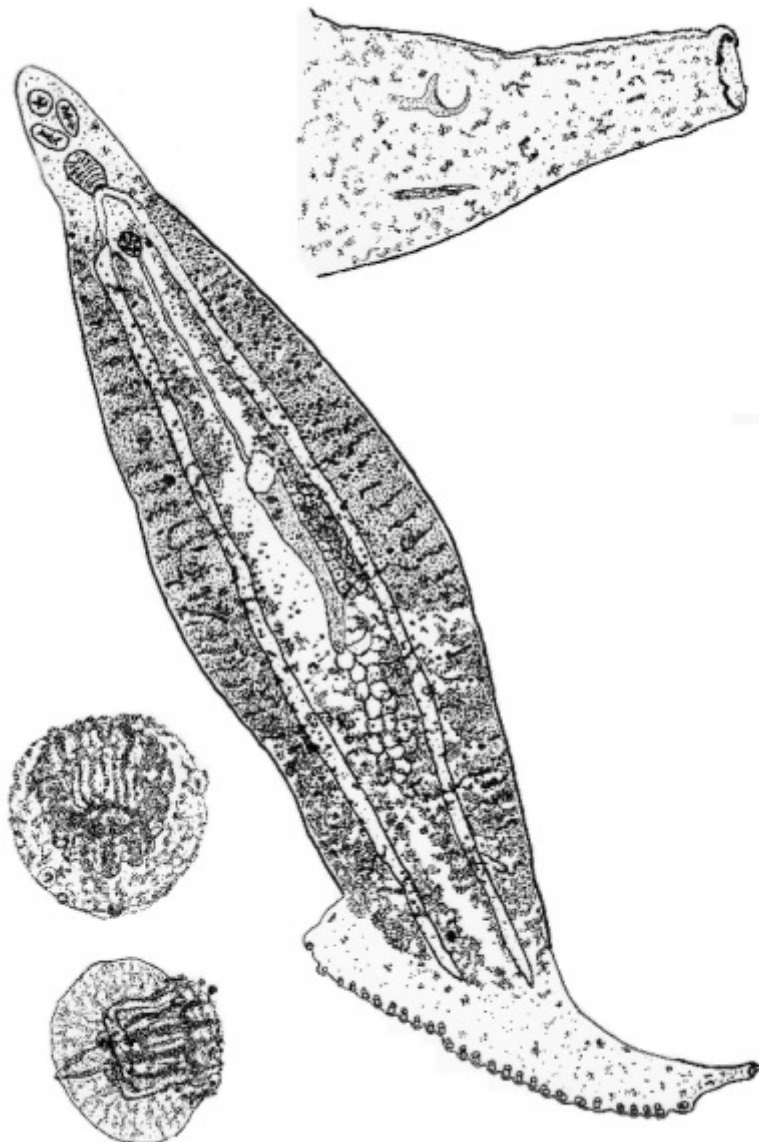
Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family Gastrocotylidae (Price,1943)

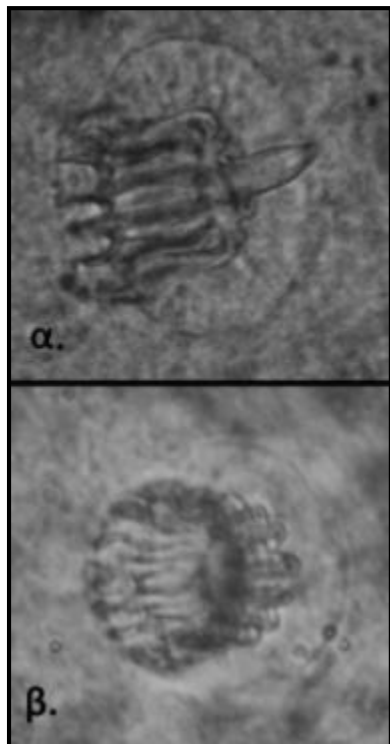
Genus : *Pseudaxine* (Parona & Perugia, 1890)

Pseudaxine trachuri Parona & Perugia, 1889



Εικόνα 6. *Pseudaxine trachuri*

Παράσιτο που πρωτοαναφέρθηκε από τους Paruna & Perugia το 1890 στο είδος *Caranx (Trachurus) trachurus*. Τα γενικά χαρακτηριστικά του παρασίτου είναι συναφή με εκείνα που χαρακτηρίζουν την οικογένεια. Στον προάπτορα εντοπίζεται ένα ζεύγος διαφραγματικών μυζητικών θηλών, κοιλιακά των οποίων και σε μικρή απόσταση από αυτούς συγκλίνει ο φάρυγγας. Προτού ξεκινήσουν να πληθαίνουν οι



Εικόνα 7. Γεννητικός κοιλικός βολβός *P. trachuri*, **α.** πλάγια όψη, **β.** κάτοψη υπό γωνία. Νωπό επίχρισμα, βραγχίου. Μεγέθυνση 100x.

λεκιθικοί αδένες, κάτω από τον χιασμό του εντέρου εμφανίζεται ο γεννητικός κοιλικός βολβός ο οποίος έχει ιδιαίτερο σχήμα (Εικόνα 7α,β.). Η βάση του διαδήματος διακλαδίζεται σε 17 μίσχους από τους οποίους προβάλλουν ισάριθμοι λεπτοί βελονίσκοι με αγκιστροειδές άκρο στραμμένο προς το κέντρο του.

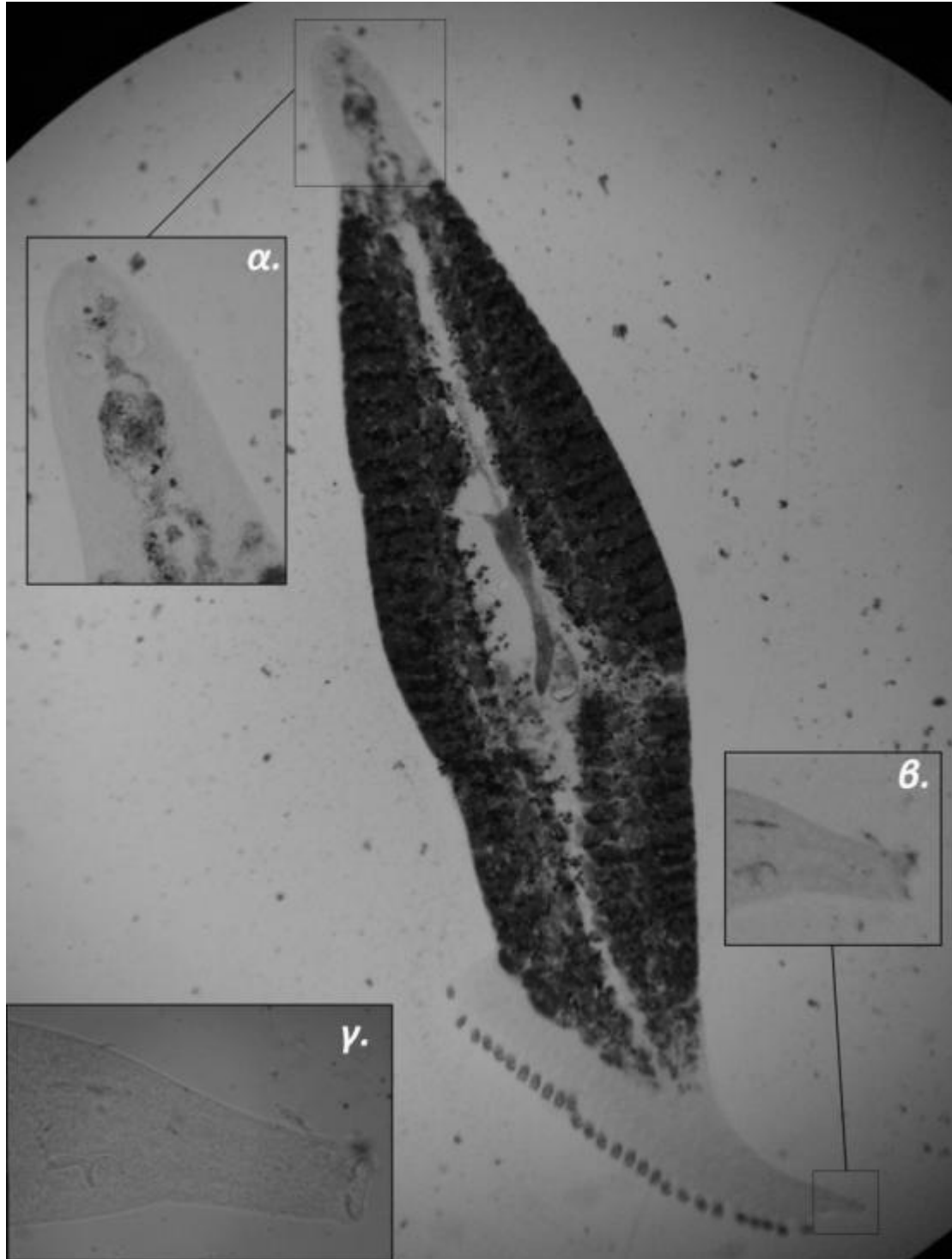
Στο ύψος του γεννητικού κοιλικού βολβού ξεκινούν να πληθαίνουν οι λεκιθικοί αδένες οι οποίοι δεν διακλαδίζονται αλλά διατάσσονται πλευρικά σε αλληπάλληλες γραμμές εκατέρωθεν των πλευρών. Αυτές πυκνώνουν ελαφρώς στο μέσο του σώματος του παρασίτου και αραιώνουν όσο προσεγγίζουν τον οπισθάπτορα.

Ο οπισθάπτορας φέρει στοίχο από 24-32 λαβίδες μεγέθους 60μm (οι οποίες φέρουν τους επικουρικούς σκληρίτες χαρακτηριστικούς της οικογενείας). Στο τέλος του στοίχου αυτού από τη μια πλευρά του οπισθάπτορα προβάλλει κάθετα προς το μήκος του σώματος επιμήκης λοβός στο ακροτελεύτιο άκρο του οποίου υπάρχουν 2 ζεύγη από άγκιστρα. Το εσωτερικό ζεύγος αγκίστρων έχει το μεγαλύτερο μέγεθος (26μm) με χαρακτηριστικό σχήμα δρεπάνου, ενώ το εξωτερικό, μικρότερο (10-12μm) ζεύγος αγκίστρων είναι μικρογραφία του πρώτου (Εικόνα 8β, 8γ).

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκαν συνολικά 9 παράσιτα, όλα σε βράγχια του είδους *Trachurus trachurus*. Ενδιαφέρον εύρημα ήταν πως μαζί με τα *P. Trachuri*, εντοπίζονταν και άλλα παράσιτα της ίδιας οικογενείας και πιο συγκεκριμένα του είδους *Gastrocotyle trachuri*.

Σε ότι αφορά τα εσωτερικά όργανα, σε όλα τα δείγματα ο συνολικός αριθμός των λαβίδων του οπισθάπτορα ήταν σταθερός (27 λαβίδες), ενώ ο συνολικός αριθμός των ορχικών θυλάκων μεταβαλλόταν από άτομο σε άτομο μεταξύ 10 και 40.



Εικόνα 8. *Pseudaxine trachuri*, προσωπικό αρχείο συγγραφέα, α) προάπτορας, β,γ) άγκιστρα οπισθάπτορα. Νωπό επίχρισμα, βραγχίου. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 4x.

Class: Monogenea

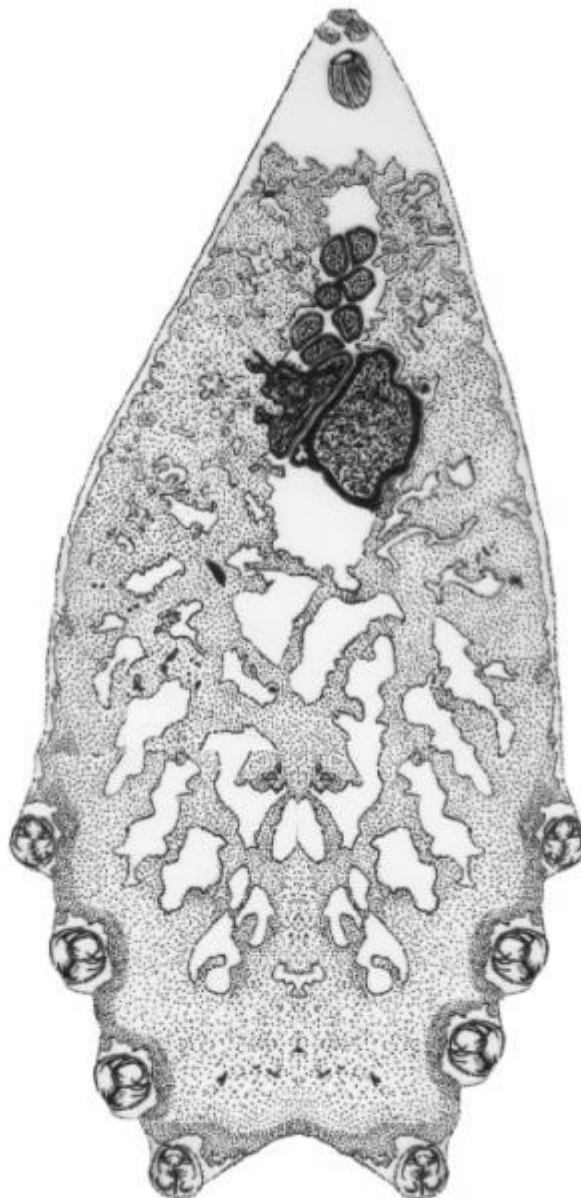
Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family Diclidophoridae (Fuhrmann, 1928)

Genus : *Macrouridophora* (Rub & Dron, 1994)

Macrouridophora nezumiae (Munroe, Campbell & Zwerner, 1981)



Εικόνα 9. *Macrouridophora nezumiae*

Συνώνυμο *Diclidophora nezumiae*. Το παράσιτο πήρε την ονομασία του από το βαθύβιο βενθοπελαγικό θαλάσσιο είδος *Nezumia bairdii* (Goode & Bean, 1877), το οποίο ήταν ο πρώτος ξενιστής στου οποίου τα βράγχια βρέθηκε. Είναι δυνατόν να βρεθούν παράσιτα ακόμα και σε ψάρια που αλιεύθηκαν σε 2500m βάθος, γενικά όμως σε βάθη αλίευσης κάτω των 1000m η αφθονία του παρασίτου στα βράγχια μειώνεται δραματικά (Munroe et al, 1981).

Ο προάπτορας φέρει ένα ζεύγος από μυζητικές θηλές κάτω από τις οποίες υπάρχει ο σχεδόν στρογγυλός φάρυγγας. Επάνω από τις μυζητικές θηλές στο ακροτελεύτιο τμήμα του οπισθάπτορα εντοπίζεται μια τρίτη μυζητική θηλή (μοναδικό γνώρισμα του είδους). Ο οπισθάπτορας δεν αναγνωρίζεται ως ξεχωριστή περιοχή, αλλά μάλλον διάχυτη στο κατώτερο τμήμα του σώματος. Τα όργανα στήριξης συγκροτούνται από 4 ζεύγη ισομεγέθων λαβίδων (50μm), με το πρώτο ζεύγος να ξεκινά μετά το δεύτερο μισό του σώματος. Οι λαβίδες προεκβάλλουν ελάχιστα από το σώμα ενώ το οπίσθιο ζεύγος λαβίδων είναι περισσότερο εκτατό από τα υπόλοιπα ζεύγη εξαιτίας των έμμισχων βάσεων από όπου κάθε μια λαβίδα στηρίζεται.

Αποτελέσματα

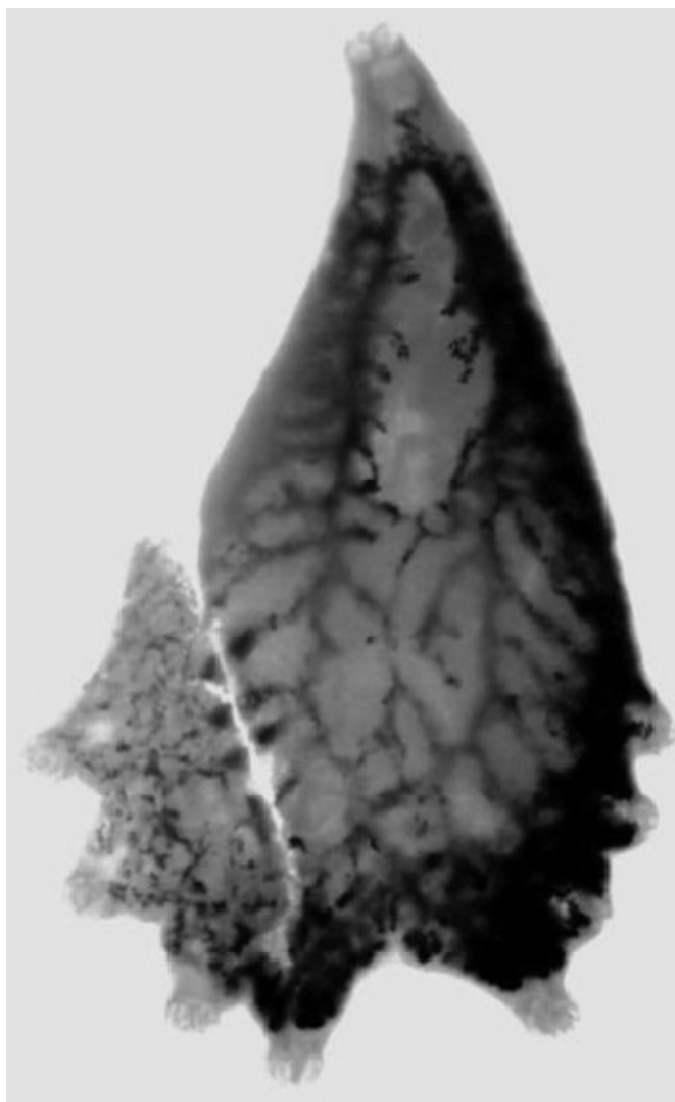
Ανευρέθηκε συνολικά 1 άτομο σε βράγχια του είδους *Phycis phycis* (Σαλουβάρδος). Πρόκειται για μεγάλο παράσιτο (0,6mm), με ταξινομικά χαρακτηριστικά της οικογενείας Diclidophoridae. Εξαιτίας του μεγάλου μεγέθους του (6 x 3 mm), ήταν αδύνατος ο προσδιορισμός των εσωτερικών του οργάνων (Εικόνα 10), όμως στηριζόμενοι στο μέγεθος, στο σχήμα του σώματος και των λαβίδων καθώς επίσης και στη απουσία άγκιστρων στον οπισθάπτορα, καταλήγουμε πως το παράσιτο ανήκει στο είδος *Macrouridophora nezumiae*.

Υπάρχει πιθανότητα το παράσιτο να ταυτίζεται με το είδος *Diclidophora (Dactylocotyle) phycidis*_{parona & Perugia 1889} το οποίο **έχει αναφερθεί μια μόνο φορά το 1889** από τους Parona & Perugia σε βράγχια σαλουβάρδου (*Phycis blennoides*) στην Ιταλία. Έκτοτε έχει χρησιμοποιηθεί στις λίστες αναφοράς παρασίτων σε διάφορα βιβλία ως παράσιτο των ψαριών της Μεσογείου (Costello et al, 2001), όμως η περιγραφή της ανατομίας του ήταν τόσο ατελής, όπου η προσθήκη στην οικογένεια Diclidophoridae έγινε με μεγάλη απροθυμία (Dawes, 1944). Πάραυτα θα πρέπει να ληφθεί υπόψη το γεγονός πως η μόνη φορά που εντοπίστηκε το *D. Phycidis* ήταν σε

βράγχια συγγενούς είδους και όμοιου γένους ιχθύος (*Phycis blennoides*) και μάλιστα σε όμορη γεωγραφική περιοχή (Γένοβα-Ιταλία).

Έτερο σημαντικό εύρημα που υποστηρίζει την παραπάνω υπόθεση, είναι ο συνολικός αριθμός των όρχεων και η τοπογραφική θέση αυτών στο σώμα του παρασίτου. Πιο αναλυτικά καταμετρήθηκαν περί τους 12 όρχεις οι οποίοι εντοπίστηκαν στο πρόσθιο τμήμα του σώματος, πολύ κοντά στο γεννητικό πόρο, με συνάφεια θέσης περίξ του θηλυκού γεννητικού συστήματος το οποίο επίσης εντοπίζεται πρόσθια. Τα ευρήματα αυτά βρίσκονται σε ασυμφωνία με την ανατομική περιγραφή του *M. nazumiae* όπου τα γεννητικά όργανα εντοπίζονται κοιλιακά (Munroe et al, 1981).

Εάν τελικώς πρόκειται για το είδος *Macrouridophora nezumiae*, τότε είναι η πρώτη φορά που το παράσιτο αυτό εντοπίζεται στο είδος *Phycis phycis*.



Εικόνα 10. *Macrouridophora nezumiae*, εικόνα από στερεοσκόπιο

Class: Monogenea

Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family Mazodreidae (Price, 1936)

Genus : *Kuhnia* (Sproston, 1945)

Kuhnia scombri (Kuhn,1829) Sproston, 1945



Εικόνα 11. *Kuhnia scombri*

Το παράσιτο αυτό ανακαλύφθηκε το 1829 από τον Kuhn ο οποίος το κατέταξε στο γένος *Octostoma* εξαιτίας των 8 λαβίδων (4 ζεύγη) που διαθέτει. Το 1945 η Sproston το μετέταξε στο γένος *Kuhnia* όπου και παραμένει έως και σήμερα. Πρόκειται για παράσιτο των σκομβροειδών και πιθανότατα εμφανίζεται αποκλειστικά σε ψάρια του γένους *Scomber* (Rodhe & Watson, 1986).

Το γένος *Kuhnia* περιλαμβάνει αρκετά είδη, όμως τα περισσότερα από αυτά έχουν ελλιπώς περιγραφεί. Τα είδη *Kuhnia scombri* και το *Kuhnia sprostonae* είναι τα πιο διαδεδομένα σε αφθονία παράσιτα. Η μορφολογική διαφορά ανάμεσα στα δύο είδη είναι μεγάλη, με ιδιαίτερα ανατομικά χαρακτηριστικά για το καθένα. Το *K. scombri* διαθέτει οπισθάπτορα ο οποίος είναι σαφώς διακριτός από το υπόλοιπο σώμα (Εικόνα 12), σε αντίθεση με το είδος *K. sprostonae* του οποίου ο οπισθάπτορας ταυτίζεται με αυτό (Sproston, 1945).

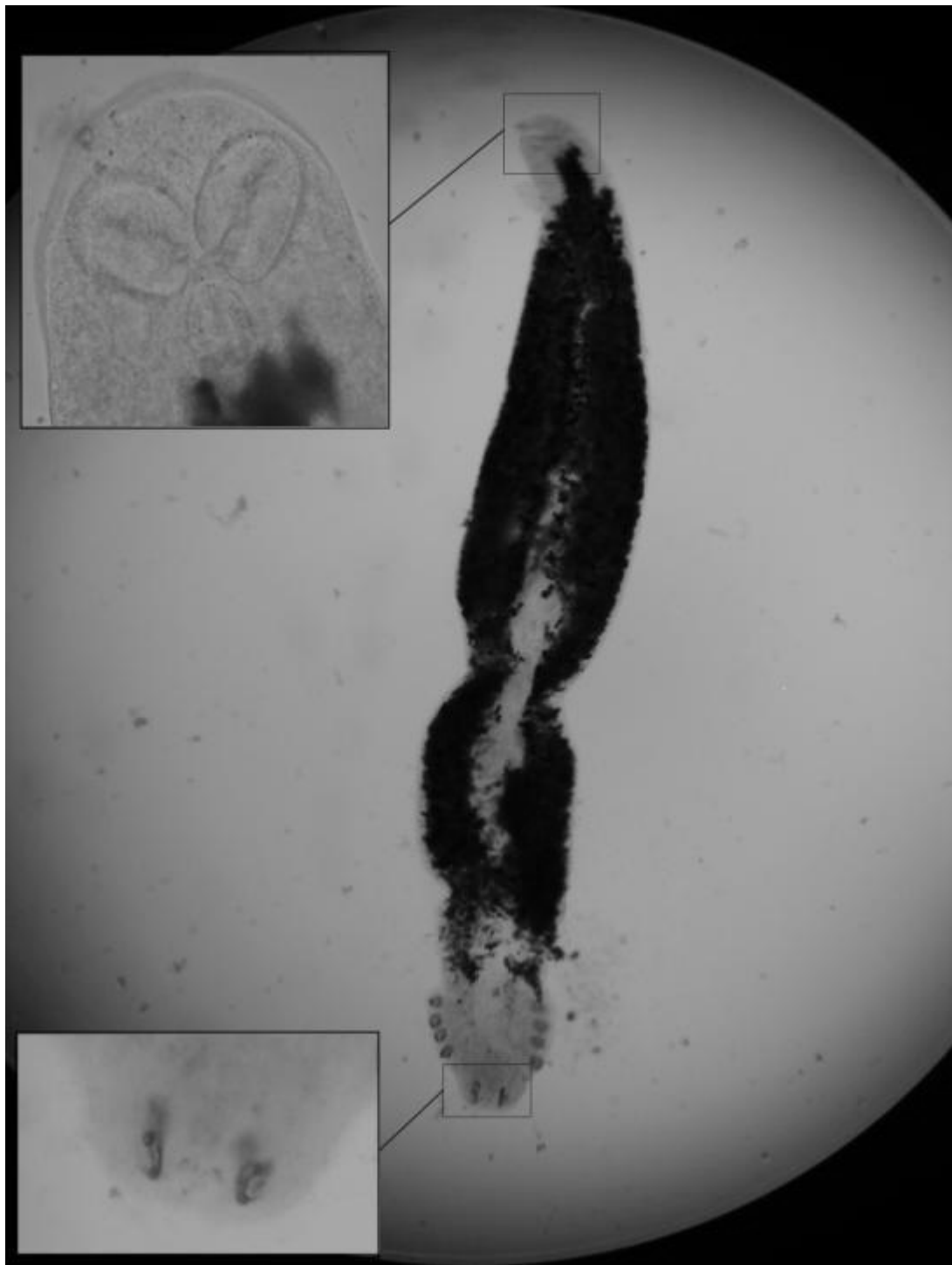
Στο *K. scombri* εντοπίζονται επάνω στον οπισθάπτορα 4 ζεύγη λαβίδων εκατέρωθεν των πλευρών αυτού (Εικόνα 12), ενώ στο ακροτελεύτιο κοιλιακό άκρο υπάρχουν 2 ισχυρά άγκιστρα (Το *K. sprostonae* διαθέτει μεν άγκιστρα αλλά σαφώς λιγότερο ισχυρά). Το μέγεθος των άγκιστρων του παρασίτου μπορεί να διαφέρει ανά γεωγραφική περιοχή και μέγεθος ξενιστή (Rohde, 1991).

Ο γεννητικός πόρος είναι χαρακτηριστικός με ανατομικές ιδιαιτερότητες καθώς 1) δε φέρει διακριτό διάδημα β) οι βελονίσκοι ομοιάζουν με άκανθες και γ) φέρει εξάρτιση από 3 ζεύγη ανόμοιων μεταξύ τους άγκιστρων που τον περιβάλουν (Δεν πρέπει να συγχέονται με τα άγκιστρα του οπισθάπτορα στα οποία έγινε λόγος παραπάνω).

Πιο συγκεκριμένα, φέρει 5 ζεύγη βελονίσκων σε σειρά οι οποίοι διατάσσονται πάνω στον γεννητικό πόρο με τέτοιο τρόπο ώστε οι άκρες τους, ανά ζεύγος, να ακουμπούν σχεδόν μεταξύ τους. Τα 3 ζεύγη άγκιστρων δεν βρίσκονται επάνω στον γεννητικό πόρο αλλά εκφύονται από το κυρίως σώμα σε εγγύτητα με αυτόν. Το κεφαλικό ζεύγος άγκιστρων το οποίο είναι και το μεγαλύτερο, προβάλλει έμμεσα από ξεχωριστά δερματικά επάρματα για το κάθε άγκιστρο κάτι που δεν συμβαίνει για το διάμηκες και το εγκάρσιο ζεύγος.

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκαν συνολικά 16 παράσιτα όλα σε βράγχια του είδους *Scomber colias* (6 άτομα). Κανένα από τα παράσιτα δεν εντοπίστηκε σε ψευδοβράγχιο.



Εικόνα 12. *Kihnia scombri*, επάνω: προάπτορας, κάτω: άγκιστρα παρασίτου. Νωπό επίχρισμα, βραγχίου.
Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 4x.

Class: Monogenea

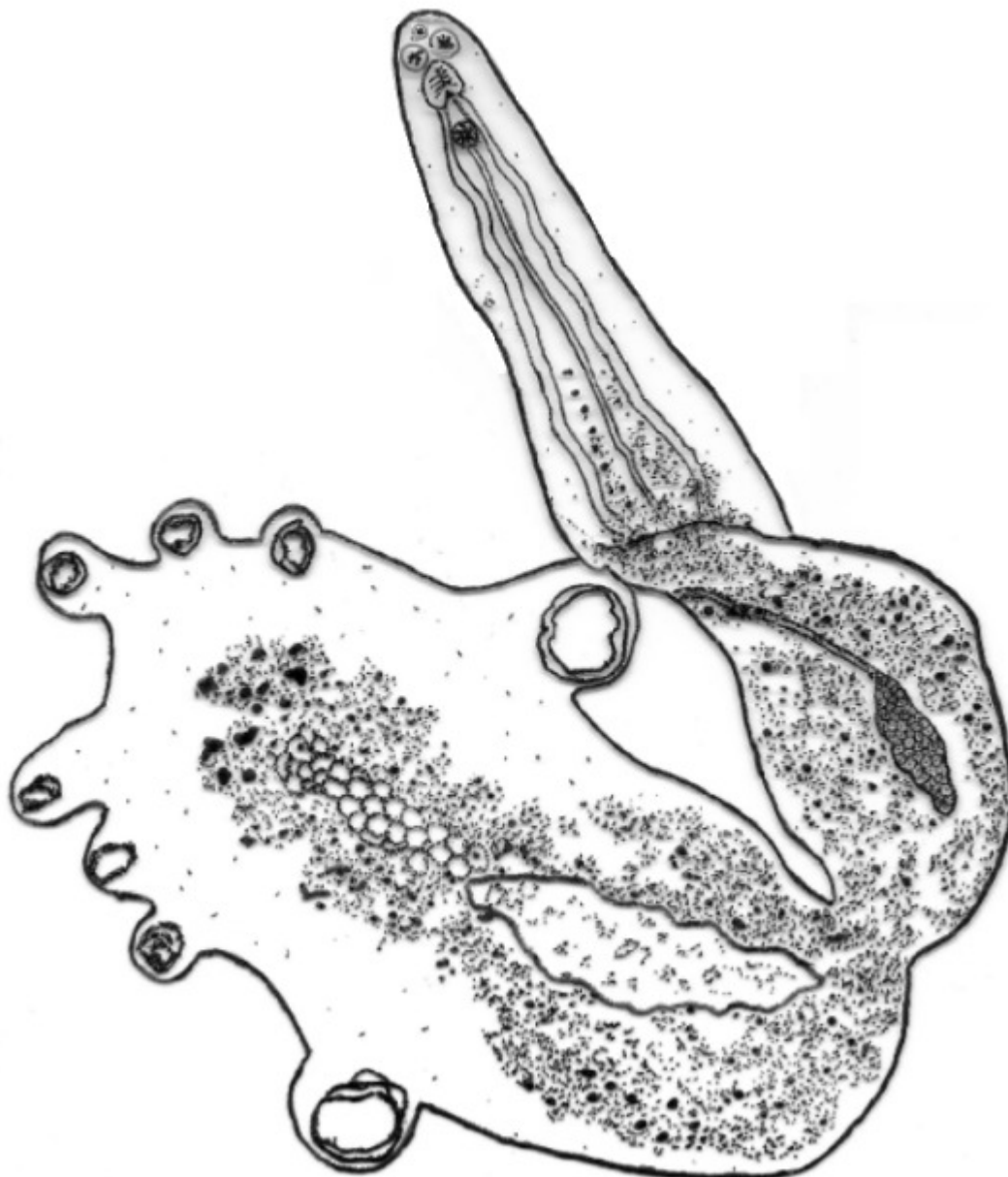
Subclass: Polyopisthocotylea

Family: Mazocraeidae (Price, 1936)

Subfamily: Mazocraeinae (Price, 1936) Price, 1961

Genus: *Pseudanthocotyloides* (Price, 1959) Williams, 1988

Pseudanthocotyloides heterocotyle (van Beneden, 1871) Euzet & Prost, 1969

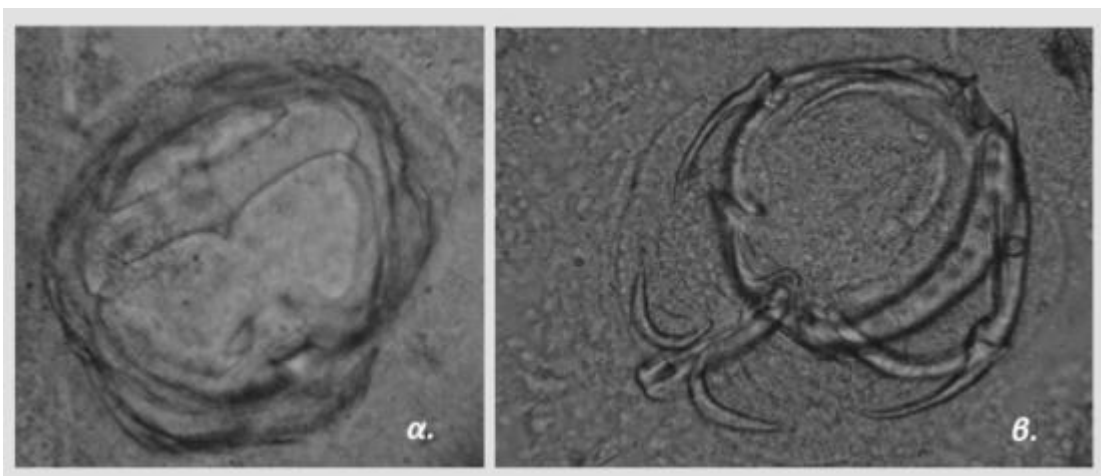


Εικόνα 13. *Pseudanthocotyloides heterocotyle*

Το παράσιτο αυτό ανακαλύφθηκε το 1871 από τον van Beneden, ο οποίος το κατέταξε στο γένος *Octostoma*, (*Octostoma heterocotyle*) εξαιτίας των 4 ζευγών λαβίδων που διαθέτει. Η Sproston το 1946 μετέταξε το παράσιτο στο γένος *Mazocraes*, ενώ τελικά το 1969 οι Euzet & Prost επαναπροσδιόρισαν κάποια ιδιαίτερα ανατομικά χαρακτηριστικά του παρασίτου και το μετονόμασαν σε *Pseudanthocotylodes heterocotyle*.

Το παράσιτο είναι ιδιαίτερα δύσκολο να ταυτοποιηθεί καθώς τα ιδιαίτερα ανατομικά χαρακτηριστικά του γένους προκύπτουν από τις μορφολογίες των λαβίδων και από τον αριθμό των άγκιστρων του οπισθάπτορα. Εξαιτίας του μεγάλου πλάτους του οπισθάπτορα το παράσιτο αυτό έχει την τάση σε νωπά ξέσματα από βράγχια να εμφανίζεται περιστρεμμένο ή διπλωμένο, δυσκολεύοντας τη ταυτοποίηση. Μπορεί εύκολα να συγχυστεί με παράσιτα του γένους *Diclidophora* κάποια από τα οποία έχουν παρόμοια μορφολογία. Όμως στο γένος *Pseudanthocotylodes* απουσιάζει ο ενδιάμεσος σκληρίτης στις λαβίδες (ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του γένους). Για τον ίδιο λόγο αποκλείονται και παράσιτα του γένους *Choricotyle* τα οποία έχουν χαρακτηριστική μορφολογία λαβίδας (Εικόνα 14β).

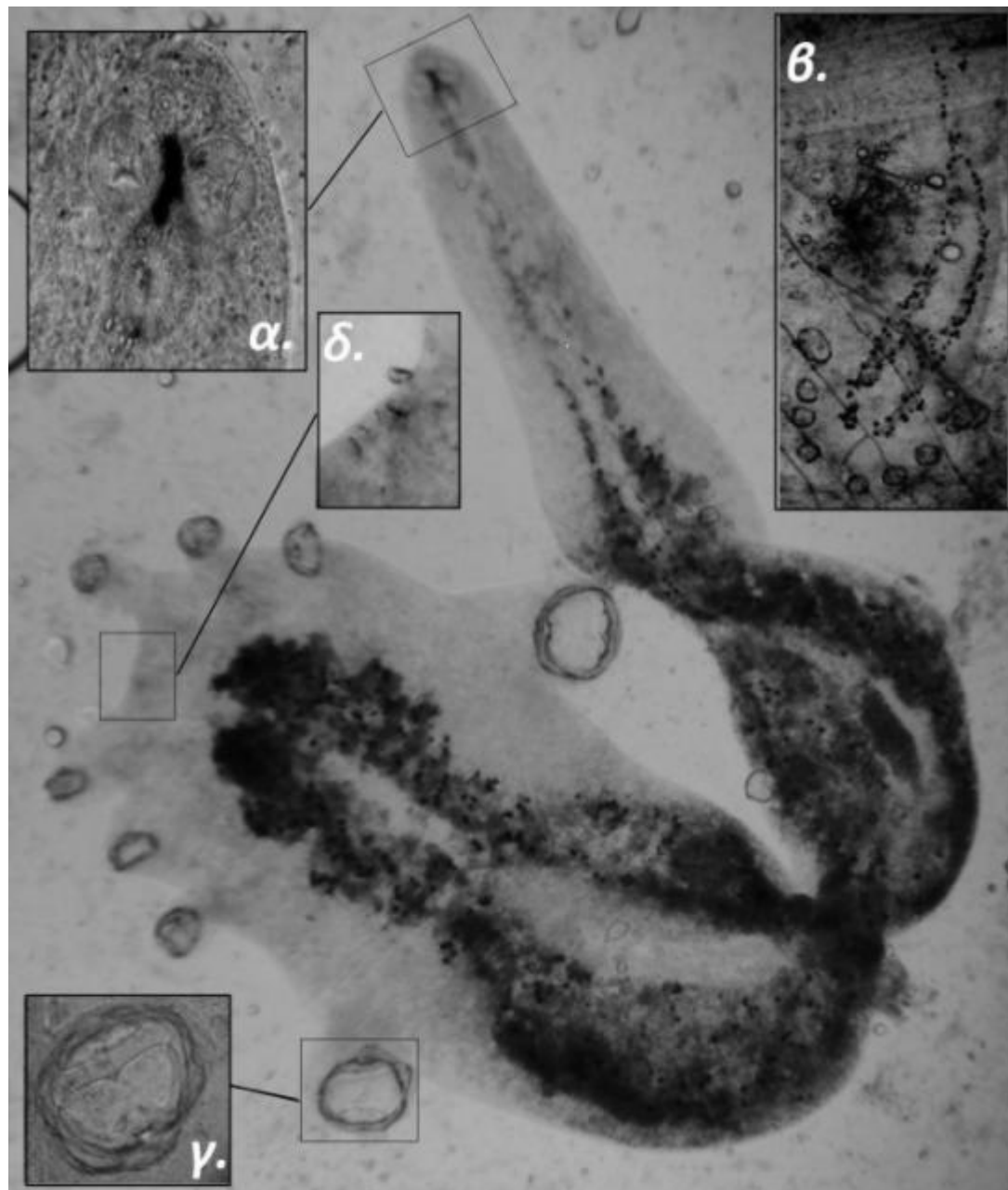
Επίσης φέρει άγκιστρα τα οποία δεν αίρονται προβαλλόμενα από σωματικό έπαρμα αλλά εντοπίζονται στο μέσο του διαστήματος μεταξύ των βάσεων των μίσχων του οπίσθιου ζεύγους λαβίδων (Εικόνα 15). Το εξώτερο ζεύγος λαβίδων μεγαλύτερο σε μέγεθος από τα υπόλοιπα (Εικόνα 15δ).



Εικόνα 14. α) Τύπος λαβίδας του γένους *Mazocraes*, β) Μορφολογία λαβίδας παρασίτων του γένους *Choricotyle*. Μεγέθυνση 100x

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκαν συνολικά 22 παράσιτα όλα σε βράγχια του είδους *Engraulis encrasicolus* (9 άτομα).



Εικόνα 15. *Pseudanthocotyloides heterocotyle*, α) μορφολογία προάστρ, β) ανώριμο άτομο, γ) λαβίδα συγκράτησης, δ) ζεύγη άγκιστρων. Νωπό επίχρισμα, βραγχίου. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x.

Class: Monogenea

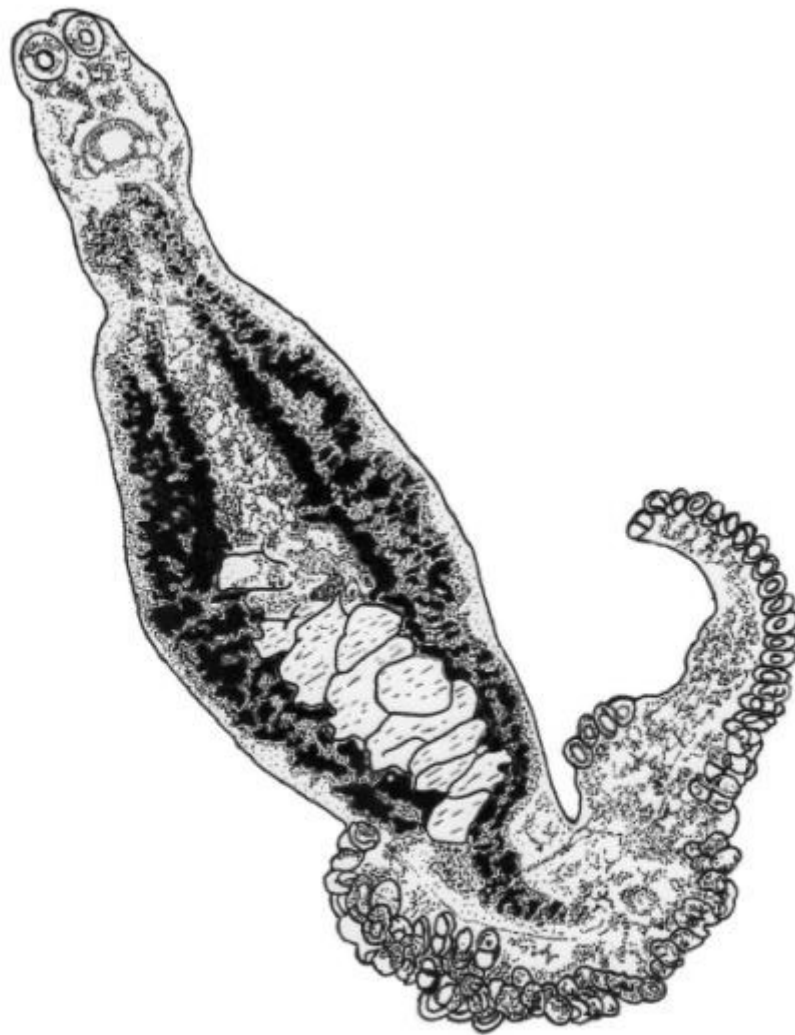
Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family Microcotylidae (Taschenberg, 1879)

Genus : *Microcotyle* (van Beneden & Hesse, 1863)

Microcotyle erythrini (van Beneden & Hesse, 1863)



Εικόνα 16. *Microcotyle erythrini*, ώριμο άτομο

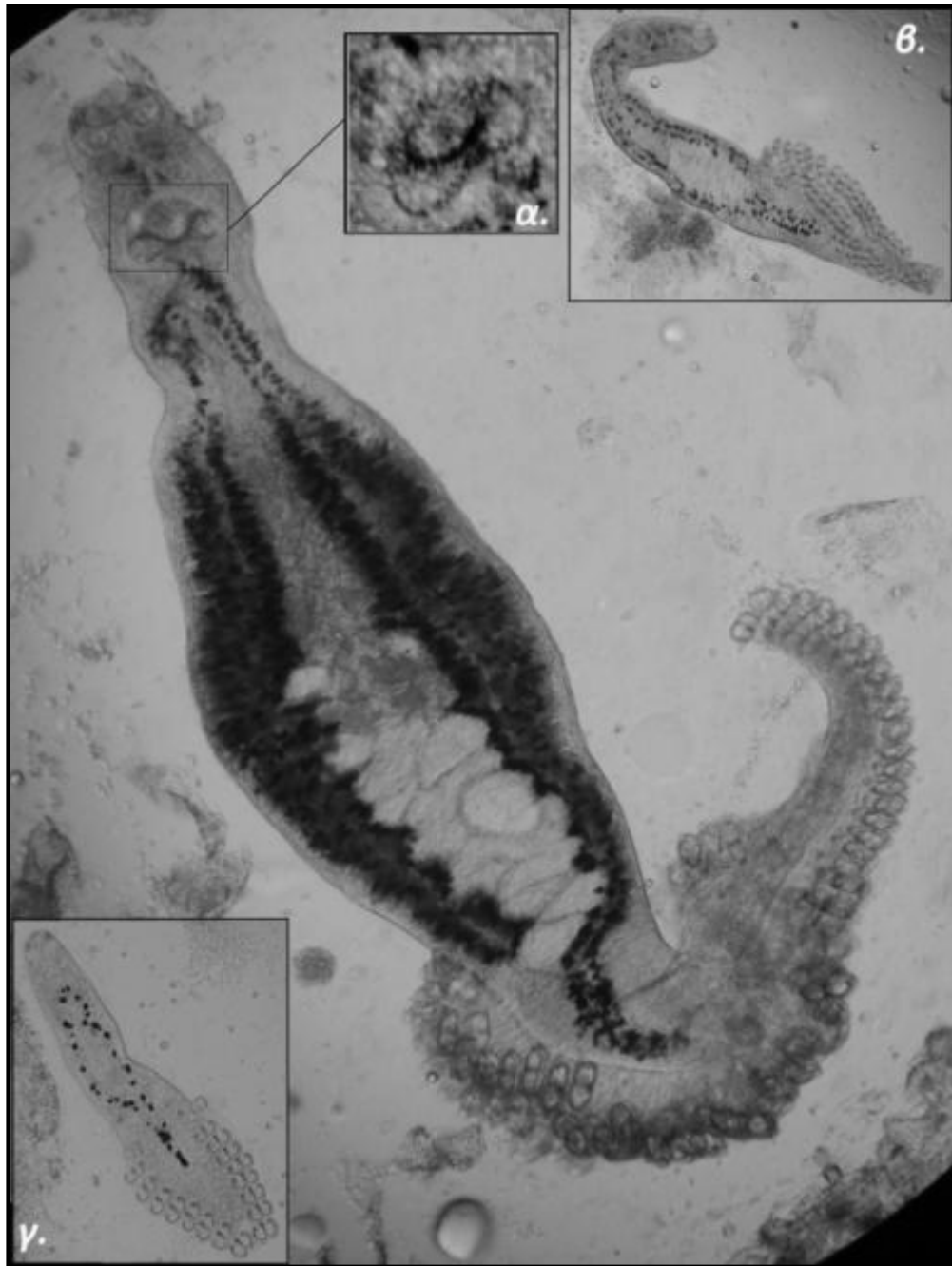
Πρόκειται για κοινό παράσιτο το οποίο πήρε την ονομασία του από το λυθρίνι (*Pagellus erythrinus*) του οποίου κυρίως τα βράγχια παρασιτεί. Η ονομασία του παραμένει ίδια από το 1863 όπου και περιγράφηκε για πρώτη φορά. Η γεωγραφική περιοχή όπου συναντάται είναι περιορισμένη με αναφορές κυρίως στη Μεσόγειο (Parona & Perugia, 1890, Euzet 1957, Lopez-Roman & Guevara-Pozo, 1973, Papoutsoglou, 1976, Chirivella-Martorelli, 1994, Perez-Del Olmo et al., 2007, Kaouachi et al., 2010).

Η μορφολογία του άπτορα είναι σύνθετη με πολυάριθμα ζεύγη λαβίδων γεγονός που δυσκολεύει την αναγνώριση του είδους (45 ζεύγη). Η ασφαλέστερη προσέγγιση είναι η παρατήρηση της σύνθετης μορφολογίας του γεννητικού αίθριου το οποίο καλύπτεται από αγκαθωτά επάρματα. Το γεννητικό αίθριο εμφανίζεται τριμερές με μία κύρια κυκλική σειρά βραχύσωμων αγκάθινων επαρμάτων και δύο δευτερεύουσες ημικυκλικές (ή υποκυκλικές) σειρές επαρμάτων, οι οποίες εντοπίζονται οπισθο-πλευρικά και σε άμεση σχέση με αυτό (Εικόνα 17α). Τα βραχύσωμα αγκαθωτά επάρματα δεν πρέπει να συγχέονται με τις μακριές ακανθοειδείς αποφύσεις που εμφανίζονται στα γεννητικά αίθρια άλλων πολυοπισθοκοτύλων (π.χ. *Sparicotyle chrysophrii*). Πρόσθια του γεννητικού αίθριου εντοπίζεται ο απεκκριτικός αγωγός του αρσενικού οργάνου.

Οι όρχεις είναι πολυάριθμοι όμως οι αναφορές για τον αριθμό τους διαφέρουν σημαντικά. Η Sproston (1944), αναφέρει πως οι όρχεις είναι 10 σε αριθμό και μάλιστα σε μονή στοίχιση, ο ένας κάτω από τον άλλον. Παρόλα αυτά στη παρούσα εργασία όλα τα παράσιτα του είδους έφεραν πάνω από 10 όρχεις (13-17), κοινό εύρημα λοιπών εργασιών (Akmirza 2013, Perez Del Olmo 2013).

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκαν πολυάριθμα παράσιτα σε βράγχια των ειδών *Pagellus erythrinus*, *Pagellus acarne* και *Boops boops*. Επί του συνολικού αριθμού των ευρεθέντων παρασίτων, αρκετά βρισκόνταν σε νεαρό στάδιο ωριμότητας (εικόνα 17 β & γ). Από όλα τα ευρεθέντα νεαρά άτομα καταμετρήθηκαν ως *M. erythrini* μόνο όσα εμφάνιζαν γεννητικό αίθριο σύμφωνο με τη μορφολογία που περιγράφεται παραπάνω. Όσα ανώριμα παράσιτα ήταν μικρά σε μέγεθος ή/και ήταν αδύνατη η επισκόπηση του γεννητικού αίθριου, δεν προσμετρήθηκαν στο συνολικό αριθμό.



Εικόνα 17. *Microcotyle erythrii*, α) γεννητικοα αίθριο, β-γ) ανώριμα παράσιτα. Νωπό επίχρισμα, βραγχίου. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 4x.

Class: Monogenea

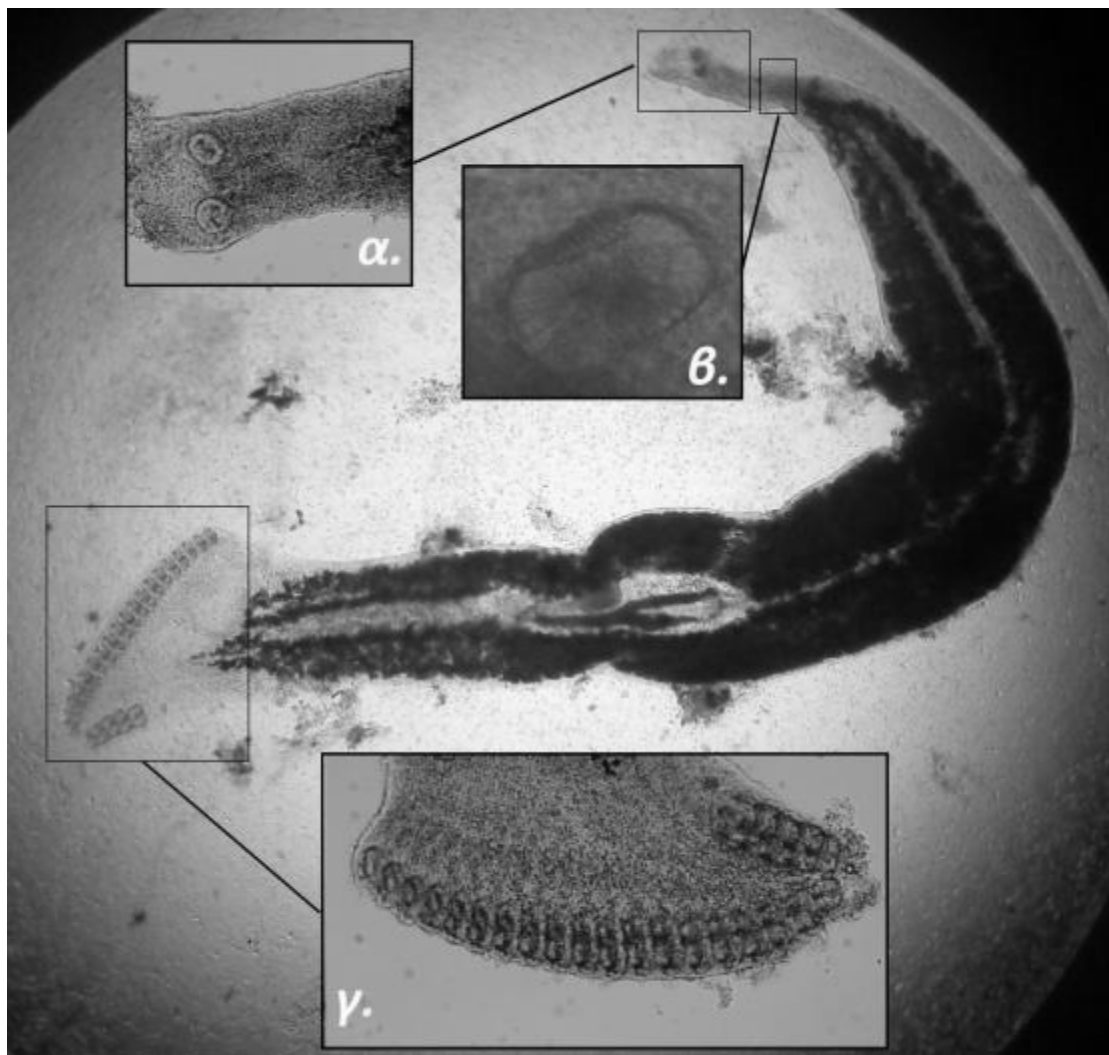
Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family Heteraxinidae (Unnithan, 1957)

Genus *Kannaphallus* (Yamaguti, 1938)

Kannaphallus trachuris sp. nov.



Εικόνα 18. *Kannaphallus trachuris sp. nov.*, α) προάπτορας, β) γεννητικό αίθριο παρασίτου, γ) άπτορας. Νωπό επίχρισμα, βραγχίου. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 4x.

Σώμα επίμηκες στο οποίο τόσο ο προάπτορας όσο και ο οπισθάπτορας διακρίνονται σαφώς. Ο προάπτορας φέρει ένα ζεύγος από μικρούς στρογγυλούς μυζητήρες (Εικόνα 18α) οι οποίοι εντοπίζονται κάτω από το στόμα ενώ δεν εμφανίζονται διαφραγματικοί (Εικόνα 19γ). Ο φάρυγγας βρίσκεται κάτω από τους μυζητήρες και σε μικρή απόσταση από αυτούς. Το γεννητικό αίθριο έχει ελλειπτικό σχήμα και είναι εξαρτημένο με πολυάριθμους βελονίσκους (Εικόνα 18β), εντοπίζεται πάνω από το διχασμό του τυφλού εντέρου μεσοκοιλιακά. Οι κοιλικοί πόροι, δύο σε αριθμό, φέρουν θωράκιση (Εικόνα 19α,δ (βέλη)), και εντοπίζονται πάνω από το γεννητικό αίθριο, εκατέρωθεν αυτού.

Ενδιαφέρον στοιχείο που παρατηρήθηκε σε όλα τα παράσιτα είναι πως οι κοιλικοί πόροι διατάσσονται αντίθετα, ένας με κατεύθυνση κοιλιακή και ο άλλος με ραχιαία (Εικόνα 19 α,δ, βέλη). Μήκος σώματος 7,6mm ($\pm 0,4$ mm) και μέγιστο πλάτος κύριου σώματος 0,52mm ($\pm 0,02$ mm). Ο οπισθάπτορας φέρει δύο στοιχείους λαβίδων με μορφολογία παρόμοια εκείνης του γένους *Microcotyle* (Εικόνα 18γ). Ο κατώτερος στοίχος τοποθετημένος εγκάρσια ως προς το μήκος του σώματος, είναι και ο μεγαλύτερος και αποτελείται από 19 λαβίδες αυστηρά. Ο μικρότερος στοίχος τοποθετημένος πλευρικά, ακολουθεί τη πορεία του σώματος και αποτελείται 5 έως 6 λαβίδες. Οι λαβίδες είναι ομοιόμορφες αλλά ανισομεγέθεις, με το μέγεθος τους να μειώνεται όσο προσεγγίζουν πλευρικά (Εικόνα 18γ). Μήκος μεγαλύτερων λαβίδων (\approx)0,13mm, πλάτος (\approx)0,07mm. Οι όρχεις είναι πολλαπλοί 11-14 σε αριθμό, υποσφαιρικοί και εντοπίζονται κάτω από την ωοθήκη. Η ωοθήκη είναι βραχύσωμη και δεν σχηματίζει βρόγχους, έχει σχήμα ωοειδές και η σύνδεση της με το εντερογεννητικό κανάλι γίνεται οπισθίως αυτής. Ο λεκιθικός ασκός είναι της μορφής 'Υ', με βραχύσωμο δίκρανο (Εικόνα 19β). Μορφολογία αυγών χωρίς στοιχεία καθώς σε κανένα από τα παράσιτα δεν εντοπίστηκαν. Το έντερο μετά τον διχασμό του επεκτείνεται κατά μήκος του σώματος. Τελικώς, τα δύο τυφλά συγκεντρώνονται στη πλευρά σύγκλισης των δύο στοιχείων λαβίδων χωρίς να αναστομώνονται.

Αποτελέσματα

Βάσει των προαναφερθέντων ευρημάτων, το παράσιτο ανήκει στην οικογένεια *Heteraxinidae* (Unnithan, 1957) καθώς εμφανίζει πλευρική ασυμμετρία στον άπτορα.

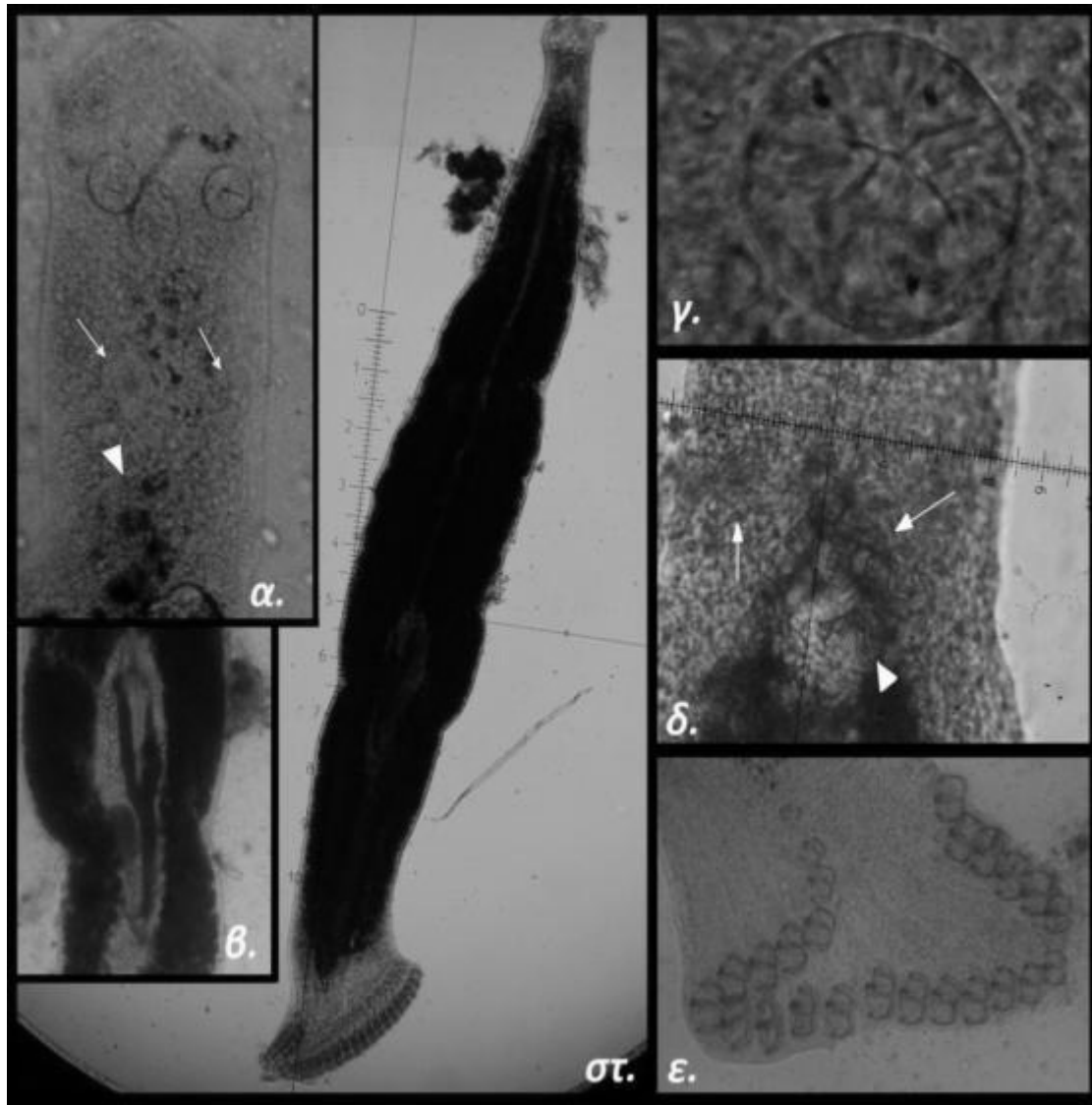
Διερευνώντας τη ταξινομική του υπόσταση σε επίπεδο γένους και λαμβάνοντας υπόψη το σύνολο των ανατομικών χαρακτηριστικών που εντοπίστηκαν

(έλλειψη άγκιστρων άπτορα, μορφολογία και αριθμών λαβίδων ανά στοίχο, θωράκιση γεννητικού αίθριου, αριθμός κολπικών πόρων και θωράκιση τους), καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως το παράσιτο ανήκει στο γένος *Kannaphallus* (Unnithan, 1957) .

Το γένος *Kannaphallus* αντιπροσωπεύεται επί της παρούσης από τρία είδη (*K. Lateriporis* (Mamaev 1988), *K. Mochimae* (Fuentes-Zambrano, 1998), *K. virillis* (Unnithan, 1957)). Ωστόσο κανένα εκ των παραπάνω ειδών δεν ομοιάζει με το ευρεθέν παράσιτο, ως εκ τούτου **το είδος δεν είναι καταγεγραμμένο** και προτείνουμε την ονομασία ***Kannaphallus trachuris*** από το είδος του ιχθύος στου οποίου τα βράγχια βρέθηκε (*Trachurus trachurus*(Linnaeus, 1758)).

Το ευρεθέν παράσιτο παρουσιάζει μορφολογικές ομοιότητες με κάποιους αντιπροσώπους των γενών *Axine*, *Probursata*, *Zeuxapta* και *Cemocotyle*. Στο τελευταίο, το είδος *Cemocotyle trachuri* (Dillon & Hargis, 1965) ομοιάζει αρκετά με το *K. trachuris*. Οι διαφορές εντοπίζονται κυρίως στον οπισθάπτορα καθώς στο *K. trachuri* απουσιάζει το διπλό ζεύγος άγκιστρων φέροντας μόνο λαβίδες, ενώ σε ότι αφορά τον προάπτορα το στόμα είναι λιγότερο διακριτό. Ο γεννητικός κόλπος διαφέρει ανάμεσα στα δύο είδη, τόσο σε μορφολογία όσο και σε αριθμό. Το *C. Trachuri* φέρει πολυάριθμες αιχμηρές, αγκαθωτές αποφύσεις (σύμφωνα με Sproston 1945, σελ 451, σχήμα 103(a-f) υπό την παλαιά ονομασία *Cemocotyle carangis*), ενώ το *K. trachuri*, όπως περιγράφηκε παραπάνω, έχει γεννητικό κόλπο εξαρτημένο με βελονίσκους. Μια ακόμη διαφορά είναι στη μορφολογία των μέσων λαβίδων του μεγάλου (οπίσθιου) στοίχου του οπισθάπτορα όπου στο *C. trachuri* παρουσιάζονται από την Sproston (1945) ως “φίμωτρο”, αντίθετα οι λαβίδες στο *H. trachuri* είναι ίδιας μορφολογίας σε όλους τους στοίχους με τις ακρότατες λαβίδες να είναι μικρότερες (Εικόνα 18γ). Έτερες σημαντικές διαφορές αποτελούν το μήκος του σώματος, ο αριθμός των όρχεων και η μορφολογία της ωοθήκης, όπου διαφέρουν σημαντικά από τα ευρήματα της Sproston για το *Cemocotyle trachuri*.

Ανευρέθηκαν συνολικά 11 παράσιτα σε 3 ψάρια, όλα σε βράγχια του είδους *Trachurus trachurus*.



Εικόνα 19. *Kannarhalls trachuris* sp. nov., α) γεννητικοί πόροι (βέλη), γεννητικό αίθριο (κεφαλή βέλους), β) λεκιθικός ασκός, γ) μυζητήρας, δ) όμοια με α, ε) λαβίδες οπισθάππορα. Κεντρική εικόνα (στ), μετά από χρώση ακετοκαρμίνης, μεγέθυνση 4x.

Class: Monogenea

Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family Microcotylidae (Taschenberg, 1879)

Genus : *Sparicotyle* (Mamaev, 1984)

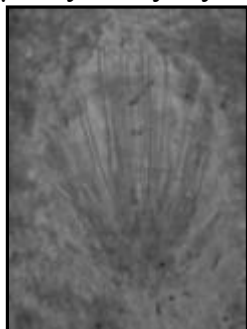
Sparicotyle chrysophrii (Van Beneden & Hesse, 1863)



Εικόνα 20. *Sparicotyle chrysophrii*. Νωπό επίχρισμα, βραγχίου. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 4x.

Συνώνυμο είδος *Microcotyle chrysophrii*. Πρόκειται για πολυοπισθοκοτύλη η οποία προκαλεί σοβαρά προβλήματα σε εκτρεφόμενους πληθυσμούς τσιπούρας στην Ελλάδα (Athanassopoulou et al., 2005), αλλά και γενικότερα στη Μεσόγειο (Antonelli et al., 2010, Sitjà-Bobadilla & Alvarez-Pellitero, 2009).

Οι πολυοπισθοκοτύλες είναι δύσκολο να διακριθούν τις περισσότερες φορές μεταξύ τους, εξαιτίας των παρόμοιων ανατομικών μορφολογικών χαρακτηριστικών



Εικόνα 21. Γεννητικό αίθριο παρασίτου Νωπό επίχρισμα, βραγχίου. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 100x.

τους. Για τη σαφή διάκριση του παρασίτου μοναδικό ανατομικό γνώρισμα αποτελεί η μορφολογία του γεννητικού αιθρίου (Εικόνα 21) η οποία φέρει περί τις 15-17 άνισομεγέθεις άκανθες. Ο αριθμός των λαβίδων του άπτορα θα μπορούσε να είναι ένα ακόμη ιδιαίτερο ανατομικό χαρακτηριστικό όμως μόνο

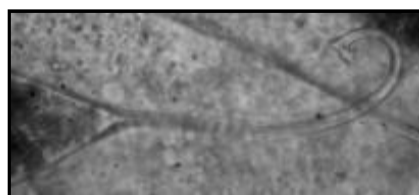
για ώριμα παράσιτα με ολοκληρωμένη οργανογέννεση. Οι λαβίδες αριθμούν συνολικά 100 (50 ζεύγη) με μικρές αποκλίσεις ως προς αυτό τον αριθμό.

Η Sproston (1945) στη σύνοψη της συνοψίζει τα ευρήματα των Parona & Perugia οι οποίοι ανέφεραν γεννητικό αίθριο με 50 άκανθες μήκους 108μm κατά προσέγγιση, και 78 ζεύγη λαβίδων στον άπτορα. Ωστόσο πρόσφατες μελέτες με παρατήρηση των παρασίτων μέσω ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης υπέδειξαν πως τα ζεύγη των λαβίδων είναι 50 (Antonelli et al., 2010). Θα πρέπει ωστόσο να αναφερθεί πως στην εργασία των Antonelli και λοιπών παρουσιάζονται αρκετά τμήματα του άπτορα σε φωτογραφίες χωρίς όμως καμία λήψη από τον προάπτορα πλησίον του οποίου εντοπίζεται το γεννητικό αίθριο γεγονός που γεννά αμφιβολίες για το εάν τελικά πρόκειται όντως για το *Sparicotyle chrysophrii*.



Εικόνα 22. Γεννητικός πόρος παρασίτου.

Οι όρχεις είναι πολλαπλοί, σφαιρικοί ή υποσφαιρικοί 12-15 σε αριθμό και εντοπίζονται κάτω από την ωοθήκη. Ο λεκιθικός ασκός είναι της μορφής 'Y', με βραχύσωμο δίκρανο και ισχυρή μακρύσωμη κεφαλή (Εικόνα 20), ενώ ο κολπικός πόρος δεν φέρει θωράκιση (Εικόνα 22) και εντοπίζεται σε απόσταση από το γεννητικό αίθριο οπισθίως αυτού.



Εικόνα 23. Αγκιστρείδες φύμα πολικού νηματίου

Μορφολογία αυγών τυπική ωοειδής με δυο νηματοειδείς απολήξεις. Το οπίσθιο νημάτιο είναι μακρύτερο σε σχέση με το πρόσθιο νημάτιο το οποίο φέρει αγκιστροειδές φύμα στο ακροτελεύτιο τμήμα του (Sproston, 1944)(Εικόνα 23). Τα αυγά που βρίσκονται μέσα στο σώμα του ενήλικου είναι διατεταγμένα στο μέσο περίπου του σώματος αυτού και οι οπίσθιες άκρες τους συνενώνονται κάτω από το γεννητικό αίθριο (Εικόνα 24). Το *S. chrysophrii* ομοιάζει με το *Atrispinum seminalis* σε ότι αφορά τη μορφολογία του γεννητικού αίθριου και είναι πολύ εύκολο να συγχυστεί με το είδος αυτό.

Αποτελέσματα

Το παράσιτο εντοπίστηκε σε εκτρεφόμενες και ελεύθερης διαβίωσης τσιπούρες και μυτάκια. Η παρουσία του παρασίτου ήταν επίμονη (>50%) σε όλες τις εποχές όμως η ένταση του παρασίτου παρουσίασε ισχυρή διαφοροποίηση ανάλογα με τη θερμοκρασία του νερού. Πιο συγκεκριμένα και σε ότι αφορά τη τσιπούρα, τη φθινοπωρινή, χειμερινή και καλοκαιρινή περίοδο το παράσιτο παρουσίασε μεγαλύτερη μέση ένταση συγκριτικά με την εαρινή περίοδο. Από τη μελέτη φαίνεται πως κύρια δεξαμενή του παρασίτου αποτελούν οι άγριες τσιπούρες και μυτάκια τα οποία με τη σειρά τους προσβάλλουν τους εκτρεφόμενους πληθυσμούς.



Εικόνα 24. Διάταξη αυγών μέσα στο παράσιτο

Class: Monogenea

Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family: Heteraxinidae (Unnithan, 1957)

Genus : *Crotalaxine* (Unnithan, 1957)

Crotalaxine sp.



Εικόνα 25. *Crotalaxine* sp.

Σώμα επίμηκες με ιδιαίτερη μορφολογία που χαρακτηρίζει το είδος. Ο προάπτορας ξεχωρίζει από το υπόλοιπο σώμα παρουσιάζοντας διαφάνεια καθώς στο σημείο απουσιάζουν οι λεκιθικοί αδένες, οι οποίοι εκτείνονται σε όλο το υπόλοιπο σώμα κάτω από αυτόν. Ο άπτορας φέρει έναν μονό στοίχο με 22 λαβίδες οι οποίες καθώς απομακρύνονται από το σώμα καταλήγουν σε ένα απομονωμένη διακριτή και διάφανη απόληξη.

Αποτελέσματα

Εντοπίστηκε μόνο ένα παράσιτο στο είδος *Trachurus mediterraneus*. Εξαιτίας της βλέννης που το περικάλυπτε ήταν αδύνατη η περιγραφή των ανατομικών στοιχείων του προάπτορα. Από τα στοιχεία ωστόσο που προέκυψαν από τη γενική μορφολογία του παρασίτου πιθανολογήθηκε πως πρόκειται για το είδος *Crotalaxine serpentina*.

Παρατηρώντας ωστόσο περισσότερο προσεκτικά και εστιάζοντας αποκλειστικά στα ανατομικά στοιχεία του άπτορα εμφανίζονται κάποιες ιδιαιτερότητες οι οποίες αφήνουν κάποια ερωτηματικά για το εάν τελικά πρόκειται για το είδος.

Στις αναφορές που γίνονται στο βιβλίο του Yamaguti (1956) για το *C. serpentina*, περιγράφεται διπλάσιος αριθμός λαβίδων οι οποίες περιελίσσονται ελικοειδώς γύρω από το κατώτερο μέρος του σώματος του άπτορα, κάτι που σαφώς δεν προέκυψε στο ευρεθέν παράσιτο, και όπου φυσικά αφήνει υπόνοιες για πιθανώς νέο είδος. Το είδος *Oligapta oligapta* που ομοιάζει μορφολογικά με το παράσιτο αποκλείστηκε κατά τη διαδικασία της διαφορικής επιλογής καθώς φέρει οπισθάπτορα με 8 λαβίδες, αυστηρά.

Class: Monogenea

Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family: Microcotylidae (Taschenberg, 1879)

Genus : *Atrispinum* (Euzet & Maillard, 1974)

Atrispinum salpaea (Parona & Perugia, 1890)



Εικόνα 26. *Atrispinum salpaea*. Νωπό επίχρισμα βραγχίου. Μεγέθυνση 10x.

Συναντάται βιβλιογραφικά και υπό τις ονομασίες *Microcotyle sargi* (Parona & Perugia, 1899) και *Vulvostella sargi* (Parona & Perugia, 1899). Πρόκειται για κοινό παράσιτο σε πληθυσμούς του είδους *Diplodus puntazzo* και *Sarpa salpa* (Pellicer et al., 1993, Papoutsoglou 1976). Ο οπισθάπτορας σαφώς τριγωνικός, φέρει 48 με 50 ζεύγη λαβίδων σε δύο στοίχους εκατέρωθεν των πλευρών. Το γεννητικό αίθριο βρίσκεται σε μικρή απόσταση από το φάρυγγα, και είναι ανατομικά σύνθετο αποτελούμενο από δύο μέρη. Το ένα μέρος είναι επίμηκες με διεύθυνση παράλληλη με τον κάθετο άξονα του παρασίτου και αποτελείται από 5 μακριές άκανθες σε κυκλική διάταξη μεταξύ τους. Οι άκανθες αυτές στο κατώτερο τμήμα τους συγκλίνουν και προσαρμύζονται σε μια σκληρωτική πλάκα η οποία συνοδεύεται από 18-20 μικρότερες άκανθες οι οποίες και αποτελούν το 2^ο εγκάρσιο τμήμα. Οι όρχεις πολυπληθείς (20- 25 σε αριθμό) σφαιρικοί. Οι λεκιθικοί αδένες βρίσκονται περιμετρικά των οργάνων στα πλευρικά μέρη του παρασίτου και στοιχίζονται ομοιόμορφα.

Το παράσιτο ομοιάζει με το *Microcotyle mormyri* και είναι πολύ εύκολο να υπάρξει σύγχυση καθώς το μέγεθος και οι μορφολογία του σώματος τους είναι παρεμφερής, ιδιαίτερα του οπισθάπτορα ο οποίος και στις δύο περιπτώσεις είναι τριγωνικός. Το γεννητικό αίθριο επίσης είναι όμοιο για τα δύο παράσιτα με σύνθετη κατασκευή. Η κυριότερη διαφορά μεταξύ των δύο ειδών είναι η μορφολογία του λεκιθικού ασκού ο οποίος στο *A.salpaeae* είναι της μορφής ‘Y’, με βραχύσωμο δίκρανο και ισχυρή μακρύσωμη κεφαλή ενώ στο *M. mormyri* είναι βραχύσωμη υποστρόγγυλη. (εικόνα 26,27).

Αποτελέσματα

Τα παράσιτα αυτά ήταν κοινά στα είδη *Diplodus vulgaris*, *Diplodus annularis*, *Diplodus puntazzo* και *Sarpa Salpa*, με μεγάλη ένταση και παρουσία. Φυσική δεξαμενή του παρασίτου για το εκτρεφόμενο μυτάκι αποτελούν οι άγριοι πληθυσμοί των παραπάνω ειδών, οι οποίοι διαβιούν συνήθως πέριξ των κλωβών εκτροφής.

Class: Monogenea

Subclass: Polyopisthocotylea

Order : Mazocraeidea

Family: Microcotylidae (Taschenberg, 1879)

Genus : *Pagellicotyle* (Mamaev, 1984)

Pagellicotyle mormyri (Lorenz, 1878)



Εικόνα 27. *Pagellicotyle mormyri*. Νωπό επίχρισμα βραγχίου. Μεγέθυνση 10x.

Παλαιότερα χρησιμοποιούνταν οι λατινικές ονομασίες *Microcotyle mormyri* και *Atrisinum mormyri* για να χαρακτηρίσουν το είδος. Οι μυζητήρες του προάπτορα είναι δύο σε αριθμό, διαφραγματικοί. Το σώμα επίμηκες με τους λεκιθικούς αδένες να διατάσσονται πλευρικά κατά στοίχους και όχι άναρχα. Οι όρχεις υποοσθηκικοί 28-30 σε αριθμό. Ο οπισθάπτορας τριγωνικός φέρει δύο στοίχους λαβίδων, έναν σε κάθε πλευρά με συνολικά 70-80 ζεύγη λαβίδων. Ο λεκιθικός ασκός έχει ισχυρή κεφαλή η οποία χιάζεται βραχέως και αναστομώνεται πάλι προτού καταλήξει στο κόλπο. Πλησίον αυτού παρέρχεται και συνεχίζει προσθίως ο εκσπερματιστικός πόρος.

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, το *P. mormyri* μπορεί εύκολα να μπερδευτεί με το *A. Salpaea* εξαιτίας της μορφολογίας του οπισθάπτορα ο οποίος και στις δύο περιπτώσεις εμφανίζεται τριγωνικός. Τα αυγά λεμονοειδή με δυνηματοειδείς απολήξεις. Το οπίσθιο νημάτιο είναι μακρύτερο σε σχέση με το πρόσθιο νημάτιο το οποίο διχάζεται στο ακροτελεύτιο τμήμα του θυμίζοντας γλώσσα φιδιού. Οι οπίσθιες άκρες των αυγών, συνενώνονται κάτω από το γεννητικό αίθριο.

Αποτελέσματα

Τα παράσιτα εντοπίστηκαν αποκλειστικά σε μουρμούρες και μυτάκια. Η ένταση και η παρουσία του παρασίτου στα εκτρεφόμενα μυτάκια παρουσίασε εποχιακή διακύμανση ενώ στις μουρμούρες η ένταση και παρουσία ήταν εποχιακά σταθερή.

Οι μουρμούρες είναι ψάρια που συναντώνται συχνά γύρω από τα κλουβιά εκτροφής και συνηθίζουν να σπάζουν και να τρώνε τα μύδια που μεγαλώνουν στα αγκυροβόλια των κλωβών. Πιθανότατα οι μουρμούρες λειτουργούν ως φυσικές δεξαμενές του παρασίτου, οι οποίες με τη σειρά τους μολύνουν τα εκτρεφόμενα μυτάκια. Οι παρατηρούμενες εξάρσεις στην ένταση και τον αριθμό κατά τη καλοκαιρινή περίοδο οφείλονται στη καταπόνηση του πληθυσμού από τους χειρισμούς που είναι αυξημένοι τη συγκεκριμένη περίοδο καθώς επίσης και στις αυξημένες θερμοκρασίες που ευνοούν την ανάπτυξη και εγκατάσταση του παρασίτου.

Class: Monogenea

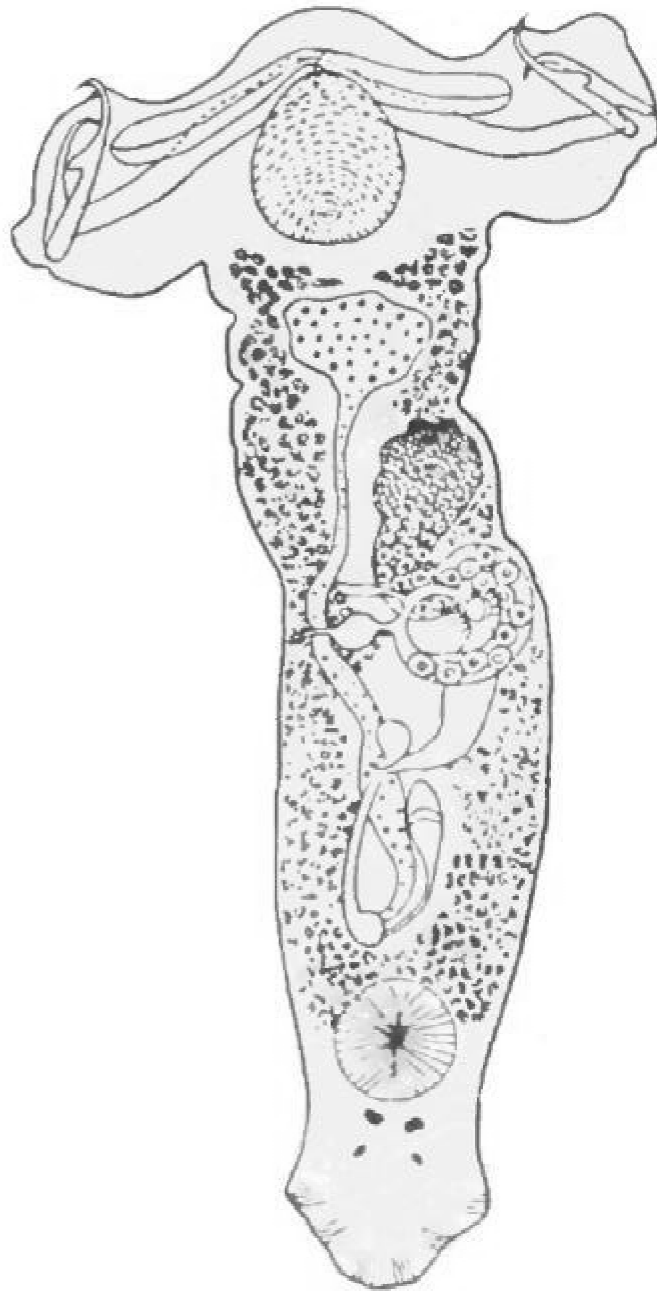
Subclass: Monopisthocotylea

Order : Dactylogyridea

Family: Diplectanidae (Monticelli, 1903)

Genus : *Diplectanum* (Diesing, 1858)

Diplectanum simile (Bychowsky, 1957)



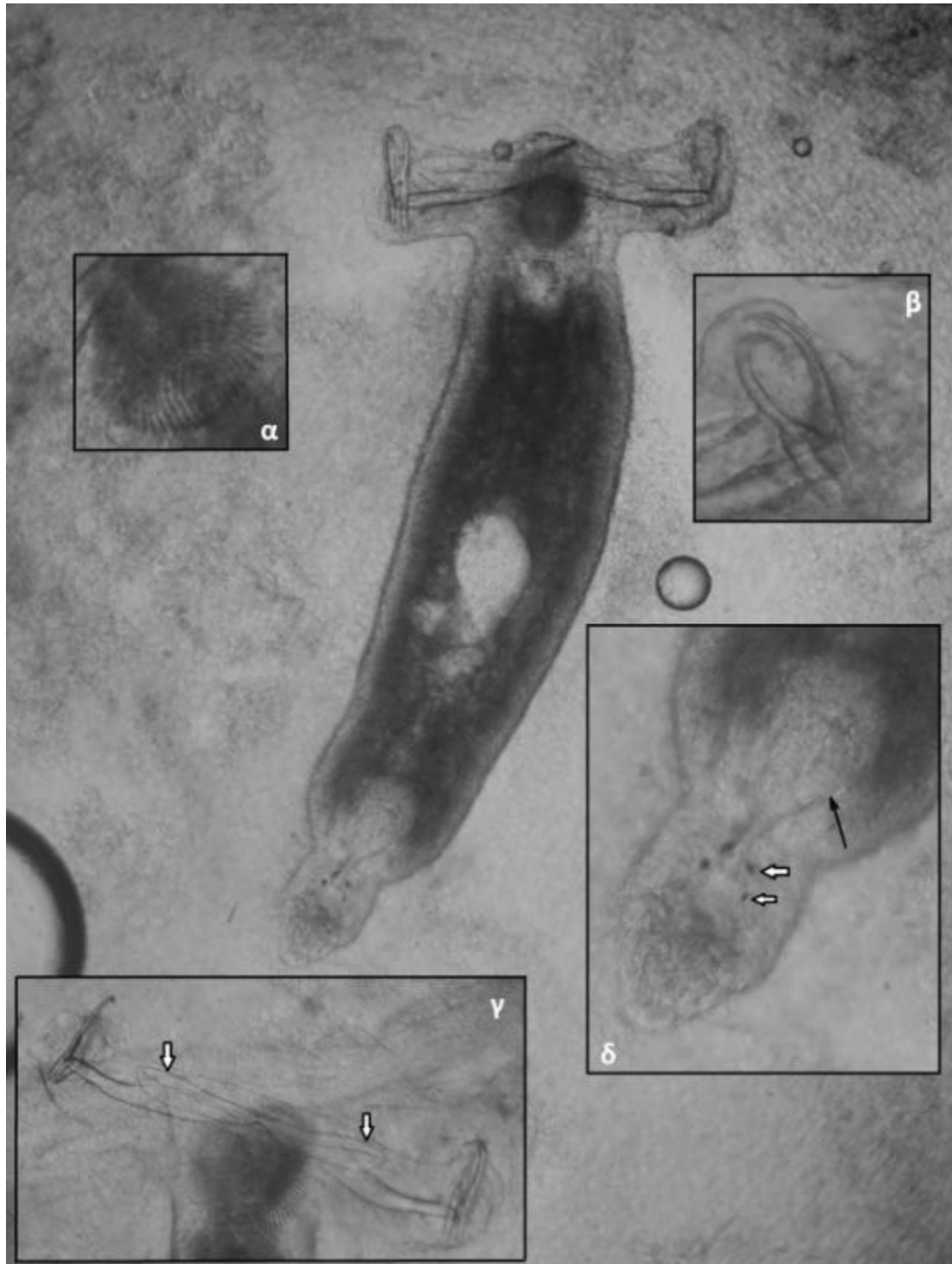
Εικόνα 28. *Diplectanum simile* σύμφωνα με μονογραφία Bychowsky (1957)

Η επίσημη δεκτή ονομασία του παρασίτου σύμφωνα με το WORMS (World Register of Marine Species) είναι *Diplectanum simile*, όμως σε πρόσφατη εργασία των Radujkovic & Sundic (2014) το παράσιτο χαρακτηρίζεται και ως *Diplectanum nagibinae* (Oliver & Parema, 1984) ως συνώνυμο είδος. Σε παλαιότερες βιβλιογραφικές πηγές ωστόσο αναφέρεται υπό την ονομασία *D. similis*. Το παράσιτο αναγνωρίστηκε από τον Bychowsky το 1957 και η ιδιαιτερότητα του είδους εντοπίζεται στη μορφολογία της εγκάρσιας δοκού του άπτορα η οποία συγκρατεί τις πλευρικές δοκούς που υποστηρίζουν τα άγκιστρα κράτησης. Η εγκάρσια δοκός μεγάλη σε μέγεθος εμφανίζεται διπλή και εκτείνεται πέραν το αρθρώσεων σύνδεσης εκατέρωθεν των πλευρικών δοκών (Εικόνα 29γ). Ο προάπτορας τυπικός για το γένος φέρει δύο ζεύγη οπτικών οπών ενώ οπίσθια και σε μικρή απόσταση από αυτές βρίσκεται ένας ανεπτυγμένος μυζητήρας. Οι λεκιθικοί αδένες εκτείνονται σχεδόν σε όλο το σώμα και οριοθετούνται μεταξύ του μυζητήρα και του λεπιδοειδούς δίσκου. Ο λεπιδοειδής δίσκος κυκλικός φέρει πολυάριθμα ακανθώδη λεπίδια.

Οι κεφαλικοί αδένες εμφανείς, χωρισμένοι πλευρικά. Το παράσιτο έχει νημάτιο εκσπερμάτισης (Cirrus) με εκσπερματιστικό βολβό. Το έντερο διφυές αποσχίζεται σε μικρή απόσταση από τον μυζητήρα. Τόσο ο Bychowsky (1957), όσο και η Sproston (1945) αλλά και ο Yamaguti (1959), αναφέρουν πως τα ώριμα παράσιτα του γένους φέρουν σχεδόν πάντα 7 ζεύγη επιχείλιων επικουρικών αγκιστριδίων περίξ του άπτορα (14 συνολικά). Πάραυτα σε νωπά επιχρίσματα κατά την εξέταση βραγχιών τα αγκιστριδία αυτά σπανίως γίνονται αντιληπτά, αφενός εξαιτίας του μικρού τους μεγέθους και αφετέρου εξαιτίας της βλέννας που περιορίζει συνήθως την εστίαση σε μεγαλύτερες μεγεθύνσεις.

Αποτελέσματα

Το είδος αυτό εντοπίστηκε σε εκτρεφόμενα είδη της οικογένειας Sciaenidae και δη στα είδη *Sciaena umbra* και *Umbrina cirrosa*. Η σάλπα ήταν το μόνο είδος ψαριού ελεύθερης διαβίωσης όπου εντοπίστηκε το παράσιτο και πιθανότατα αποτελεί φορέα μόλυνσης για τα εκτρεφόμενα είδη. Η παρουσία των παρασίτων στα εκτρεφόμενα είδη, ήταν επίμονη σε όλη τη διάρκεια του έτους, ανεξάρτητα της εποχής. Η ένταση των παρασίτων αυξήθηκε και στα δύο είδη ψαριών προς το τέλος της φθινοπωρινής περιόδου, χωρίς όμως να προκαλεί ιδιαίτερα προβλήματα στη εκτροφή τους.



Εικόνα 29. *Diplectanum simile*, α) λεπιδοειδής δίσκος, β) άγκιστρα συγκράτησης, γ) εγκάρσια δοκός προάπτορα (βέλη), δ) οπτικά κομβία παρασίτου (βέλη). Νωπό επίχρισμα βραγχίου. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x.

Class: Monogenea

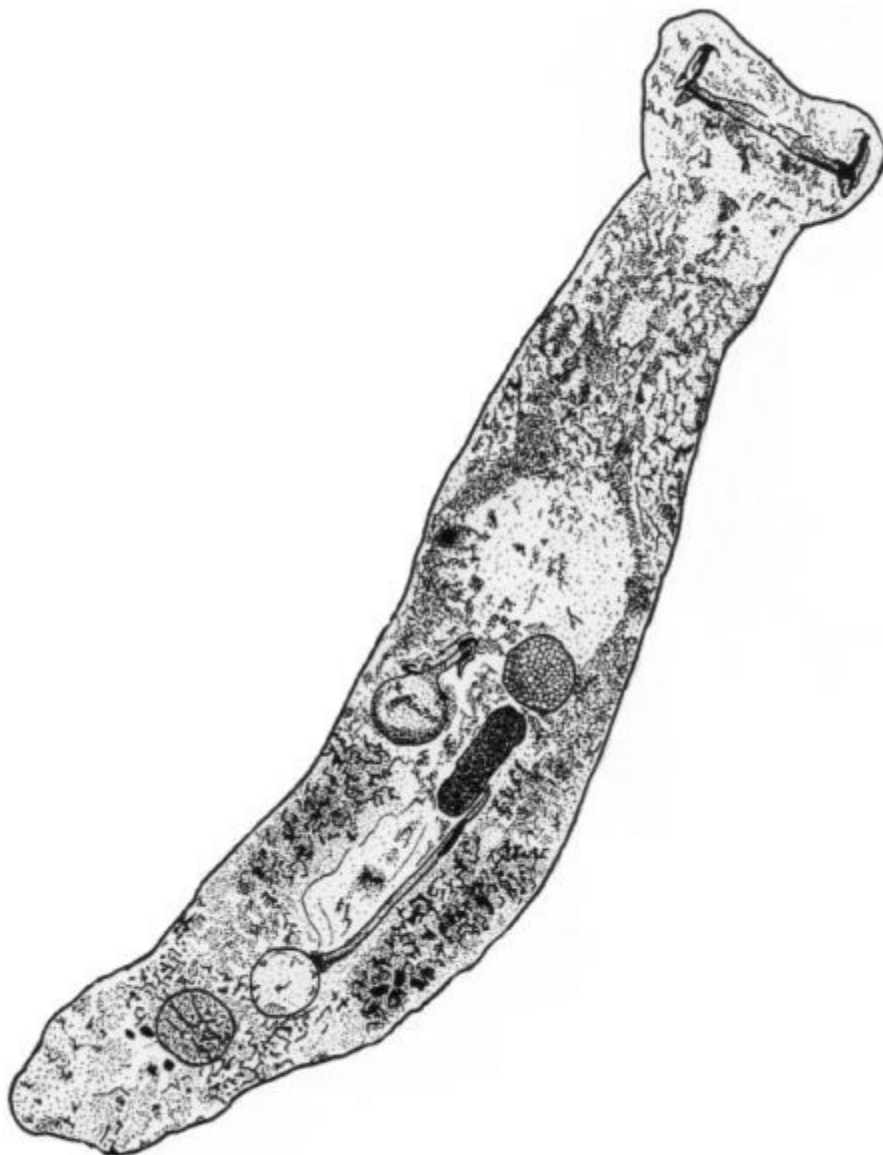
Subclass: Monopisthocotylea

Order : Dactylogyridea

Family: Diplectanidae (Monticelli, 1903)

Genus : *Diplectanum* (Diesing, 1858)

Diplectanum aequans (Wagener,1857)



Εικόνα 30. *Diplectanum aequans*



Εικόνα 31. *Diplectanum aequans*

Ίσως ένα από τα πιο κοινά παράσιτα των εκτρεφόμενων ψαριών. Ιδιαίτερα στην Ελληνικές υδατοεκτροφές θαλάσσιων ειδών προκαλεί σημαντικά προβλήματα κυρίως σε λαβράκια 30-130g. Η ένταση του παρασίτου μπορεί να είναι τόσο μεγάλη ώστε τα βράγχια των ψαριών εκτελούν ανεπαρκώς το ρόλο τους εξαιτίας των αλλοιώσεων από τους μυζητήρες και τα άγκιστρα των παρασίτων.

Τα βράγχια εμφανίζονται αποχρωματισμένα και οι αναπνευστικοί ρυθμοί αυξάνονται δραματικά. Τα ψάρια ληθαργικά είτε ανεβαίνουν προς την επιφάνεια του νερού είτε καταβυθίζονται ακουμπώντας στο δίχτυ εκτροφής, λόγω της γενικευμένης αναιμίας και υποξείας.

Η μορφολογία του παρασίτου είναι χαρακτηριστική, με τα κύρια ανατομικά γνωρίσματα του παρασίτου να είναι αφενός το ιδιαίτερα εμφανές όργανο σύζευξης του άρρενος γεννητικού συστήματος, η σπερματική κύστη και ο εκσπερματικός βολβός σε ότι αφορά το αρσενικό γεννητικό σύστημα και αφετέρου ο ωοθηκικός σάκος και ο κόλπος σε ότι αφορά το θηλυκό γεννητικό σύστημα.

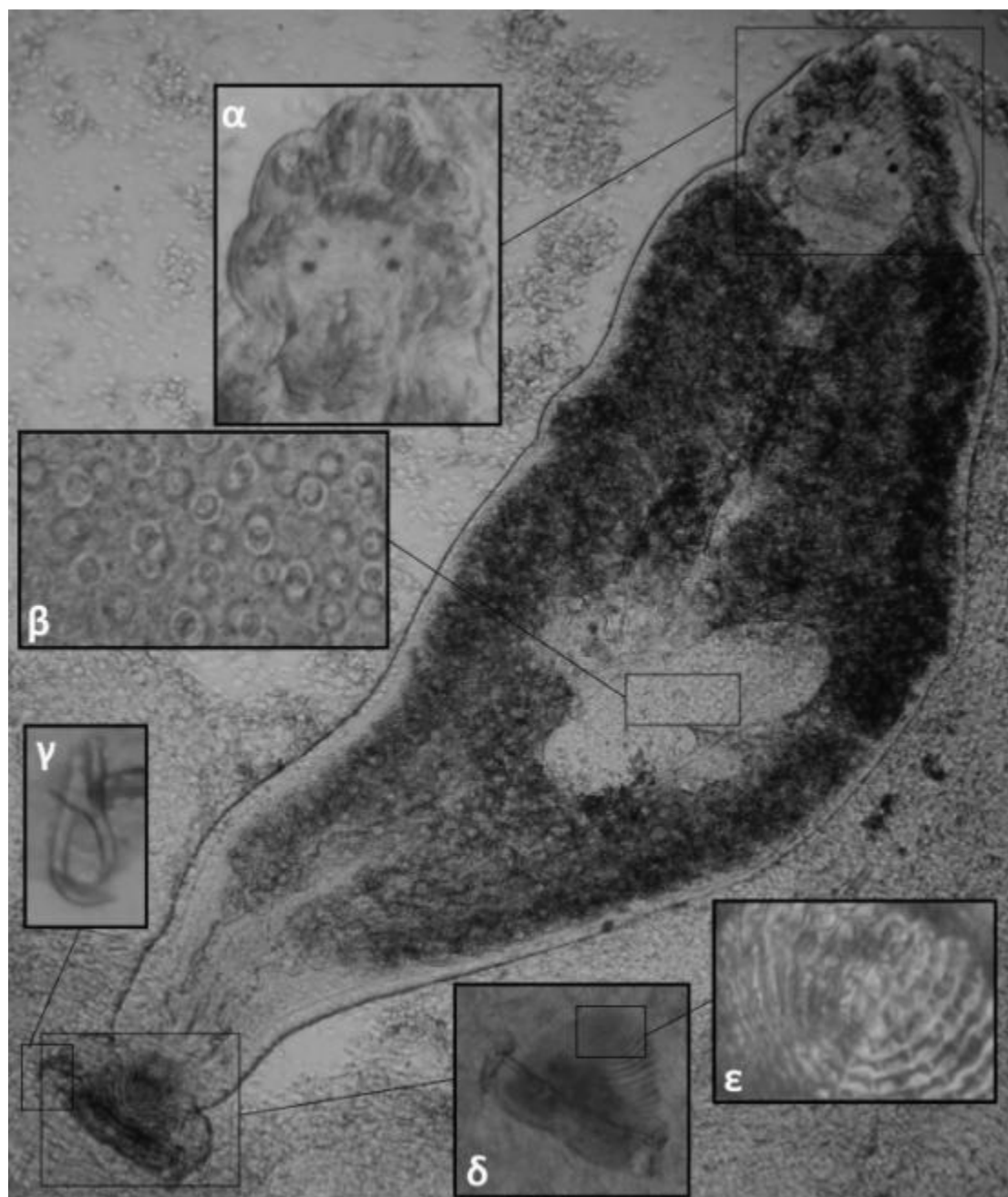
Ο άπτορας φέρει λεπιδοειδή δίσκο ο οποίος μπορεί να εμφανίζει δύο εγκάρσιες τομές στη κατώτερη του πλευρά. Ο λεπιδοειδής δίσκος πληρείται με ακανθώδη λεπίδια. Εκατέρωθεν του λεπιδοειδή δίσκου ως ανεξάρτητο όργανο αναπτύσσονται τα άγκιστρα τα οποία είναι προσαρμοσμένα στις άκρες των πλευρικών δοκών. Οι δύο πλευρικές δοκοί αρθρώνονται σε μια κύρια βραχύσωμη, εγκάρσια ως προς το μήκος του σώματος, δοκό.

Τα ώριμα παράσιτα έχουν πυκνό πλέγμα από λεκιθικούς αδένες οι οποίοι περιορίζουν την ευκρίνεια των εσωτερικών οργάνων αναπαραγωγής. Συνήθως παράσιτα τέτοιας ωριμότητας είναι παχύτερα στο μέσο τους σώματος τους και έχουν διογκωμένο ωοθηκικό σάκο (Εικόνα 32). Λιγότερο ώριμα ή νεαρά παράσιτα φέρουν ελάχιστους, μη ανεπτυγμένους πλήρως, λεκιθικούς αδένες και μπορεί εύκολα κάποιος να μπερδευτεί ως προς το είδος εξαιτίας της εικόνας που έχει το παράσιτο (Εικόνα 33). Τέτοιας νεαρής ηλικίας παράσιτα δεν έχουν ανεπτυγμένο τον ωοθηκικό σάκο όμως τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά όργανα αναπαραγωγής είναι ευδιάκριτα και τυπικά για το είδος (Εικόνα 33).

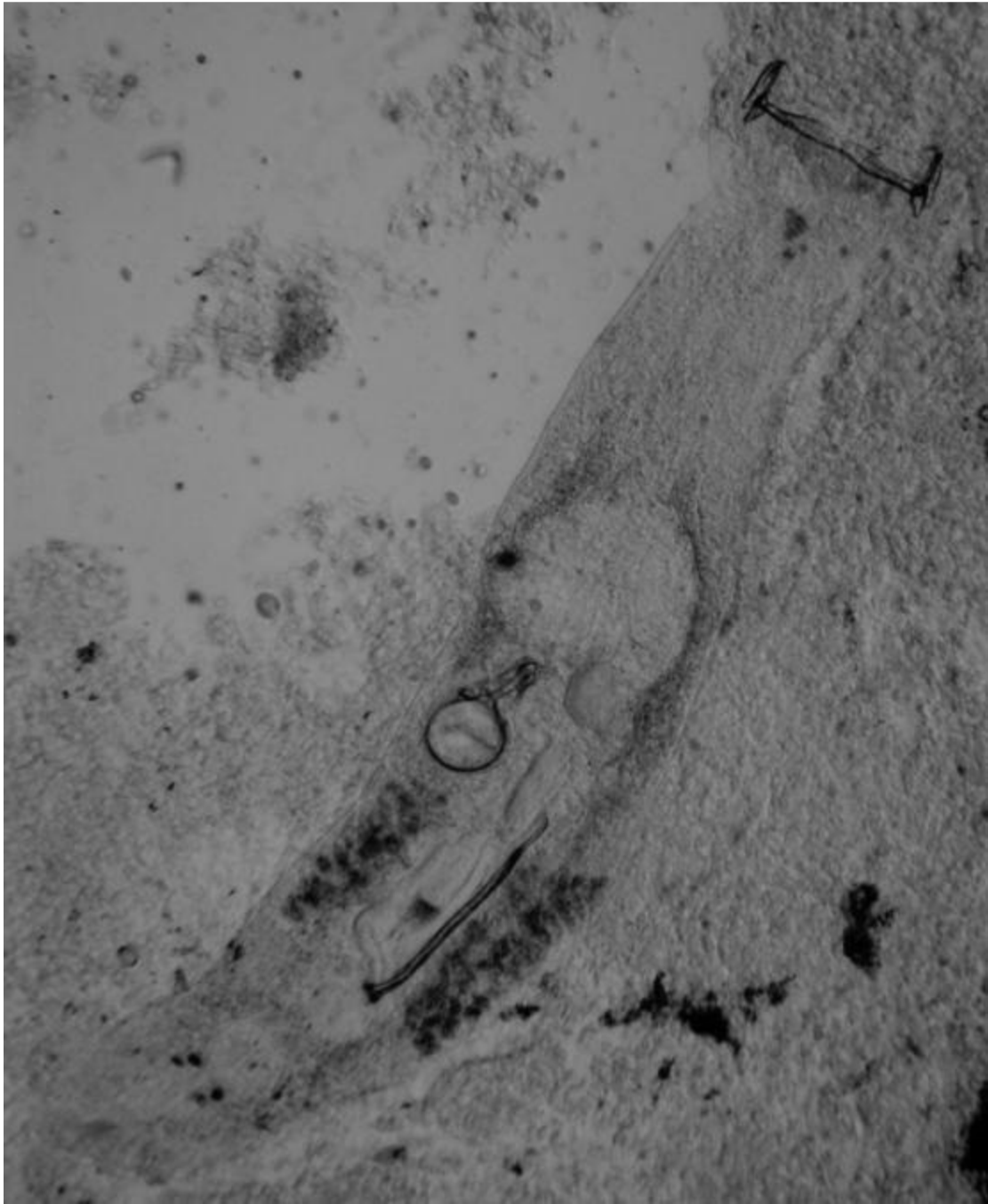
Ο προάπτορας φέρει δύο ζεύγη οφθαλμικών οπών και οι κεφαλικοί αδένες κατανέμονται στο ακροτελεύτιο άκρο αυτού και πλευρικά. Οπίσθια των οπτικών οπών εντοπίζεται μονήρης μυζητήρας κάτω από τον οποίο και σε μικρή απόσταση από αυτόν διαιρείται το έντερο το οποίο δισχιδές κατευθύνεται προς τον άπτορα χωρίς να αναστομώνεται.

Αποτελέσματα

Το είδος αυτό εντοπίστηκε σε εκτρεφόμενα και ελεύθερης διαβίωσης λαβράκια. Η παρουσία του παρασίτου ήταν επίμονη ανεξάρτητα της εποχής. Η ένταση του παρασίτου εμφάνισε εποχικές διακυμάνσεις με τη μέγιστη μέση ένταση στα εκτρεφόμενα λαβράκια να εμφανίζεται τη φθινοπωρινή περίοδο ($9,11 \pm 3,38$), ενώ μικρότερη μέση ένταση παρουσιάστηκε την εαρινή περίοδο ($3,89 \pm 1,03$).



Εικόνα 32. *Diplectanum aequans*, α) προάπτωρας παρασίτου, β) ωάρια, γ) αγκιστροειδή εξαρτήματα άπτορα, δ) λεπιδοειδής δίσκος, ε)λεπίδια. Νωπό επίχρισμα βραγχίου. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x.



Εικόνα 33. *Diplectanum aequans*. Νωπό επίχρισμα βραγχίου. (μεγέθυνση 10x).

Class: Monogenea

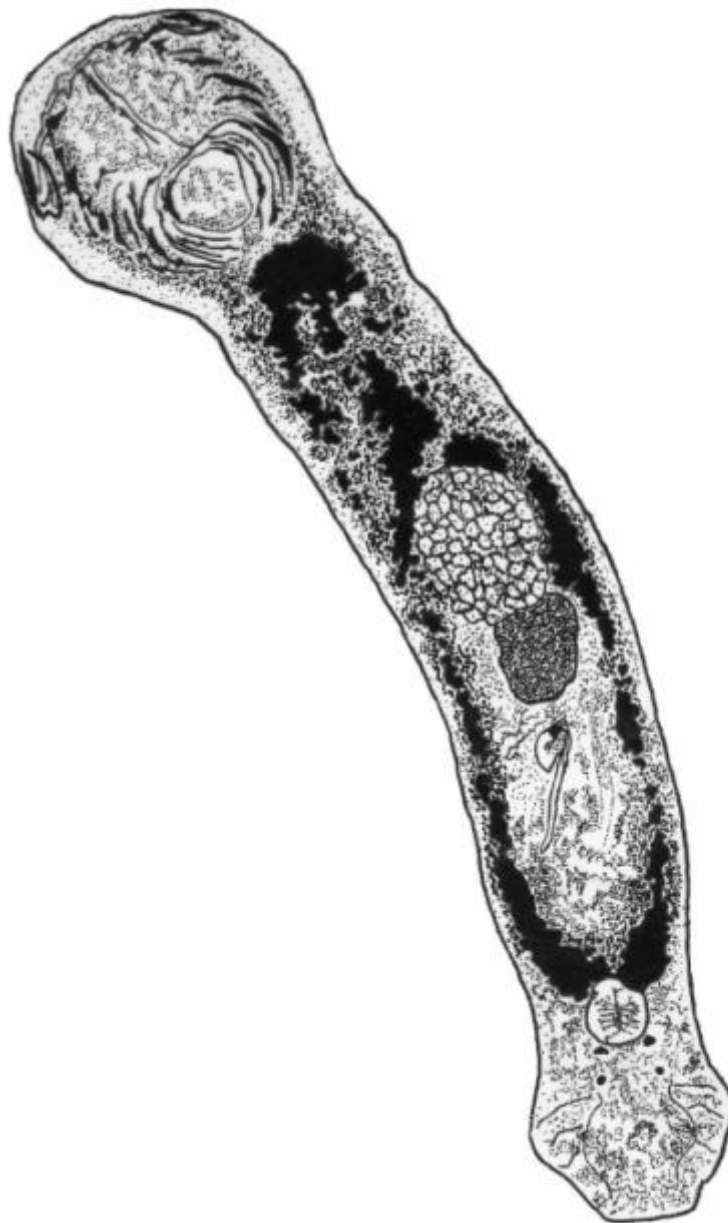
Subclass: Monopisthocotylea

Order : Dactylogyridea

Family: Diplectanidae (Monticelli, 1903)

Genus : *Lamellodiscus* (Johnston & Tiegs, 1922)

Lamellodiscus (Furnestinia) echeneis (Wagener, 1857)



Εικόνα 34. *Lamellodiscus echeneis*

Το παράσιτο είναι γνωστό στην Ελλάδα ως **Furnestinia**. Πράγματι για αρκετά χρόνια το συγκεκριμένο είδος ήταν ο μοναδικός εκπρόσωπος του έως πρότινος γένους *Furnestinia*. Είναι κοινό παράσιτο στα εκτρεφόμενα είδη της οικογένειας Sparidae. Αν και έχουν αναφερθεί πολλά περιστατικά βαριάς παρασίτωσης με μεγάλες θνητότητες (Reversat et al., 1992; Silan et al., 1985; Paperna et al., 1977), από μόνο του το παράσιτο συνήθως δεν προκαλεί ιδιαίτερα προβλήματα στις εκτροφές. Όμως κατά συνθήκη συνεντοπίζεται με πολυοπισθοκοτύλες (*Sparicotyle*, *Atrispinum*, *Microcotyle*) οι οποίες προκαλούν βαριές ιστικές βλάβες στα βράγχια. Έχει λοιπόν μια προσθετική διαβρωτική δράση στους βραγχιακούς ιστούς και έτσι πάντα αντιμετωπίζεται φαρμακευτικά, συλλήβδην.

Ο δίσκος προσάρτησης είναι όμοιος με εκείνους των παρασίτων του γένους *Lamellodiscus* και εδώ και αρκετά χρόνια προτεινόταν η μεταφορά του στο γένος αυτό. Η πεποίθηση αυτή ενισχύθηκε και με εργασίες που υποδείκνυαν τη στενή φυλογεννητική σχέση με το γένος *Lamellodiscus* (Desdevises, 2001). Τελικά το γένος *Furnestinia* διαγράφηκε και το παράσιτο μεταφέρθηκε τελικώς στο γένος *Lamellodiscus*.

Η μοναδικότητα του παρασίτου αυτού είναι ο ιδιαίτερα ευμεγέθης δίσκος προσάρτησης του άπτορα στο πρόσθιο ακροτελεύτιο άκρο του οποίου αναπτύσσονται οι 3 δοκοί στήριξης των άγκιστρων (Εικόνα 35β). Η μορφολογία του δίσκου προσάρτησης είναι τυπική για το γένος καθώς φέρει 9 ζεύγη οστεόμορφων πετάλων τα οποία δίνουν την εντύπωση πως εκφύονται από ένα κεντρικό οστάριο. (Εικόνα 35), το οποίο και προσδίδει συμμετρία σε αυτόν. Στη πραγματικότητα όμως δεν πρόκειται για ένα οστάριο αλλά για μια βαθύνουσα αυλάκωση, στην οποία συνδέονται (ή όχι) τα ζεύγη των πετάλων μεταξύ τους. Για τον λόγο αυτό η ορολογία που χρησιμοποιείται για το δίσκο προσάρτησης των ειδών του γένους *Lamellodiscus* είναι **πεταλοειδής δίσκος και όχι λεπιδοειδής δίσκος** που συνήθως χρησιμοποιείται για κάποια από τα λοιπά γένη των μονοοπισθοκοτυλών. Η διαφοροποίηση στη μορφολογία της αυλάκωσης αποτελεί ταξινομικό χαρακτηριστικό διαχωρισμού μεταξύ των ειδών του γένους. Μετά το τέλος έκφυσης του μικρότερου σε μέγεθος πετάλου, εμφανίζεται ένα δέκατο κυκλικό πέταλο στη βάση του πεταλοειδούς δίσκου. Η ύπαρξη πετάλων στο πεταλοειδή δίσκο διαφοροποιεί το γένος *Lamellodiscus* από το *Diplectanum* το οποίο αντί για πέταλλα φέρει πολυπληθή ακανθώδη λεπίδια.

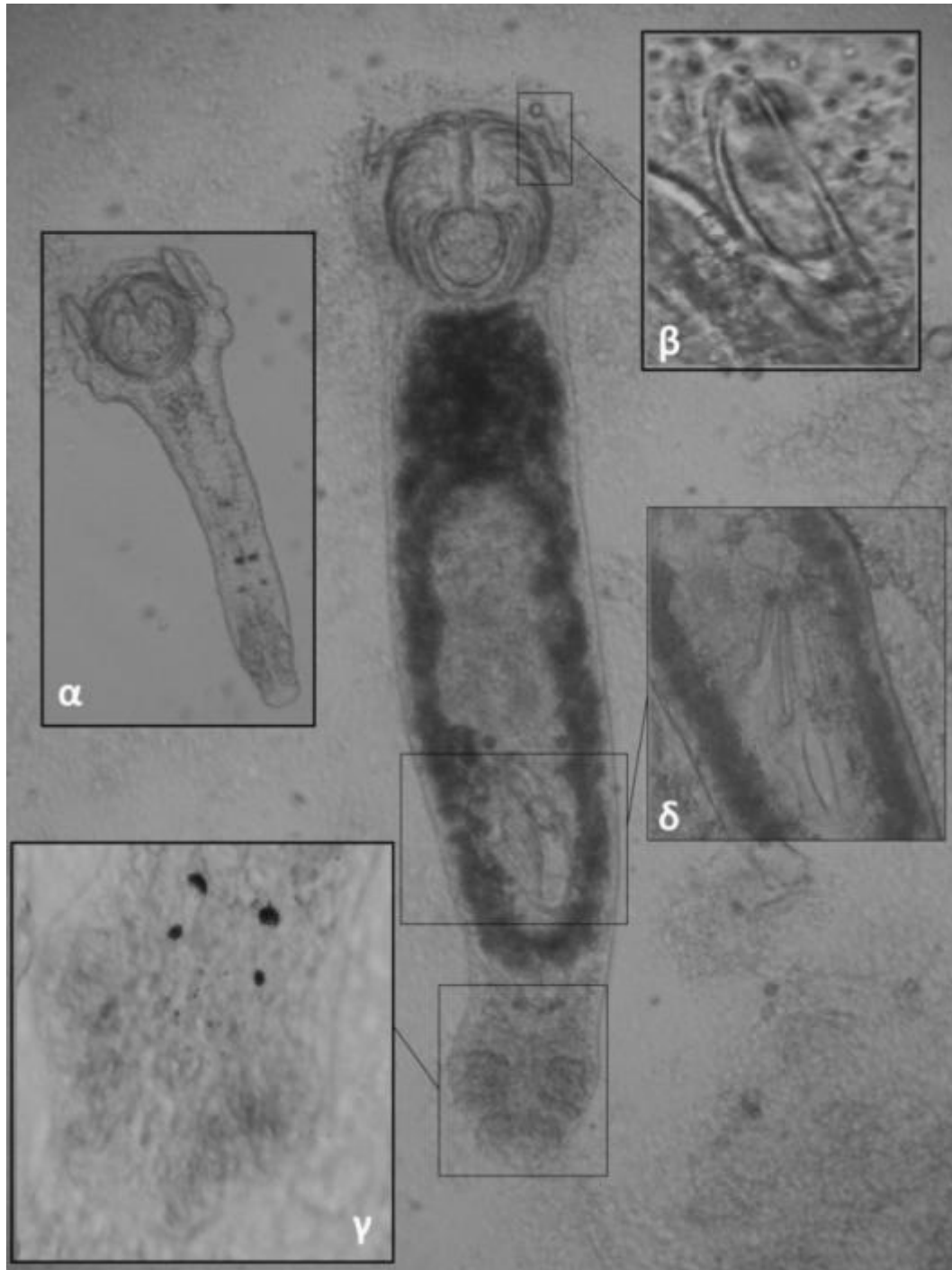
Οι λεκιθικοί αδένες οριοθετούνται μεταξύ του άπτορα και του προάπτορα, χωρίς ωστόσο να καταλαμβάνουν πλήρως το χώρο μεταξύ των ορίων αυτών. Πιο

συγκεκριμένα φαίνεται πως στα σημεία που εντοπίζονται τα αναπαραγωγικά όργανα οι λεκιθικοί αδένες αναπτύσσονται μόνο πλευρικά αυτών, ενώ στο τελευταίο τρίτο του κυρίου σώματος οι λεκιθικοί αδένες καταλαμβάνουν πλήρως το χώρο. Σε ότι αφορά τα όργανα αναπαραγωγής το όργανο σύζευξης του άρρενος γεννητικού συστήματος είναι πάντοτε εμφανές (Εικόνα 35δ). Ο ωθητικός σάκος και ο κόλπος δεν είναι πάντοτε ευκρινείς και σαφείς.

Τα όρια του άπτορα όπως και του προάπτορα είναι σαφή. Ο προάπτορας φέρει δύο ζεύγη οφθαλμικών οπών οπίσθια των οποίων εντοπίζεται ευμεγέθης μυζητήρας. Πρόσθια των οπτικών οπών ο προαπτορικός χώρος βρίθει κεφαλικών αδένων.

Αποτελέσματα

Το είδος αυτό εντοπίστηκε σε εκτρεφόμενες και ελεύθερης διαβίωσης τσιπούρες. Η παρουσία του παρασίτου φάνηκε να είναι εποχιακά κλιμακούμενη, με την ένταση να παρουσιάζει ανάλογες εποχικές αυξομειώσεις. Η μεγαλύτερη ένταση σημειώθηκε τη φθινοπωρινή περίοδο.



Εικόνα 35. *Lamellogadus echeneis* α) ανώριμο άτομο, β) αγκιστροειδές εξάρτημα άππορα, γ) οπισθάππορα, δ) συζευκτικό σύστημα (πέος). Νωπό επίχρισμα θραγγίου. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x.

Class: Monogenea

Subclass: Monopisthocotylea

Order : Dactylogyridea

Family: Diplectanidae (Monticelli, 1903)

Genus : *Lamellodiscus* (Johnston & Tiegs, 1922)

Lamellodiscus spp.

Το γένος *Lamellodiscus* αποτελεί ίσως ένα από τα δύσκολα γένη προς αναγνώριση. Μέχρι πρότινος αποτελούνταν από 66 είδη ενώ μετά τις αλλαγές που προτάθηκαν αριθμούνται στα 58. Η δυσκολία στην αναγνώριση έγκειται στις μικρές μορφολογικές και ανατομικές διαφορές που χαρακτηρίζει το γένος καθώς επίσης και στο μεγάλο αριθμό ειδών που αποτελείται.

Ιδιαίτερα μέσα στη Μεσόγειο έχουν αναφερθεί τα μισά και πλέον είδη του γένους, ενώ πάνω από 25 παράσιτα έχουν ανακαλυφθεί από τον ίδιο ερευνητή (L. Euzet, *Station Me'diterrane'enne de l'Environnement Littoral*).

Η προσεγγιστική μεθοδολογία για την ασφαλή ταυτοποίηση των παρασίτων του γένους πρέπει να είναι αθροιστική για τουλάχιστον 4 ανατομικά χαρακτηριστικά ανά παράσιτο. Αυτά είναι:

1^{ov}) **Ο μορφολογικός τύπος του πεταλοειδούς δίσκου**, όπου στο γένος διαχωρίζεται σε τρεις κύριους τύπους α) Με 9 πεταλικά ζεύγη που συνδέονται σαφώς μεταξύ τους στη κεντρική αυλάκωση, β) Με 9 πεταλικά ζεύγη όπου 5 από αυτά συνδέονται μερικώς στη κεντρική αυλάκωση και γ) Με 9 πεταλικά ζεύγη που δεν συνδέονται στη κεντρική αυλάκωση (επί της ουσίας 18 ξεχωριστά πέταλα) (Domingues & Boeger, 2008).

2^{ov}) **Ο μορφολογικός τύπος των αποφύσεων των κοιλιακών άγκιστρων**, όπου στο γένος διαιρείται σε δύο τύπους α) σφενδόνης και β) άνισες. Στις αποφύσεις τύπου σφενδόνης οι αποφύσεις ισαπέχουν από το σημείο έκφυσης τους ενώ στις άνισες, η μια απόφυση διαθέτει διπλάσιο μήκος από τη πρώτη (Amine et al., 2005; Domingues & Boeger, 2008).

3^{ov}) **Ο μορφολογικός τύπος των αποφύσεων των ραχιαίων άγκιστρων**, όπου στο γένος διαιρείται σε δύο τύπους α) με ανεπτυγμένη έσω απόφυση και β) με εκφυλισμένη έσω απόφυση (Amine et al., 2007; Domingues & Boeger, 2008).

4^{ov}) Την ανατομική θέση και τη μορφολογία του προστάτη αδένου και του οργάνου εκσπερμάτισης. (Amine et al., 2006; Domingues & Boeger, 2008).

Ιδιαίτερη αναφορά θα πρέπει να γίνει στο γεγονός πως σε αρκετές δημοσιεύσεις μετά το 1981 επικρατεί μια σύγχυση σε ότι αφορά την ακριβή ταυτοποίηση των ειδών του γένους, ακόμη και από συγγραφείς οι οποίοι τα είχαν προηγουμένως ανακαλύψει (Amine & Euzet, 2005; Amine et al., 2006a; Amine et al., 2007). Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν τα είδη *L. elegans*, *L. theroni* και *L. ergensi* (Amine et al., 2007). Με άλλα λόγια οι ανατομικές διαφορές μεταξύ των ειδών είναι τόσο μικρές όπου ακόμα και έμπειροι ερευνητές εκ των υστέρων δημοσιεύουν εργασίες κατά τις οποίες διορθώνουν παλαιότερα λάθη τους είτε με επαναπροσδιορισμό του ίδιου είδους, είτε δημιουργώντας ένα νέο (Amine et al., 2007). Σε πολλές μάλιστα περιπτώσεις αρκετοί ερευνητές αδυνατούν ή δεν μπαίνουν στον κόπο να ταυτοποιήσουν καν το γένος, αναφέροντας το απλά ως *Lamellodiscus sp.* (Ulmer & James 1981; D'amico et al., 2006; Quaglio et al., 2007).

Βάσει των παραπάνω καταλαβαίνουμε πως για την ακριβή ταυτοποίηση των παρασίτων του γένους θα πρέπει κάποιος να ανατρέξει στη πλήρη βιβλιογραφία για να μπορέσει με σχετική ασφάλεια να καθορίσει το είδος, καθώς μπορεί να υποπέσει άθελα του σε σοβαρά λάθη. Χαρακτηριστικά αναφέρεται η εργασία των Pellicer et al. (1993) όπου στη σχεδιαστική παρουσίαση του *L. Ignoratus* ο πεταλικός δίσκος εμφανίζεται επιμήκης, ελλειπτικός ενώ σε αντίστοιχη σχεδιαστική παρουσίαση των Amine et al. (2006) ο πεταλικός δίσκος εμφανίζεται στρογγυλός.

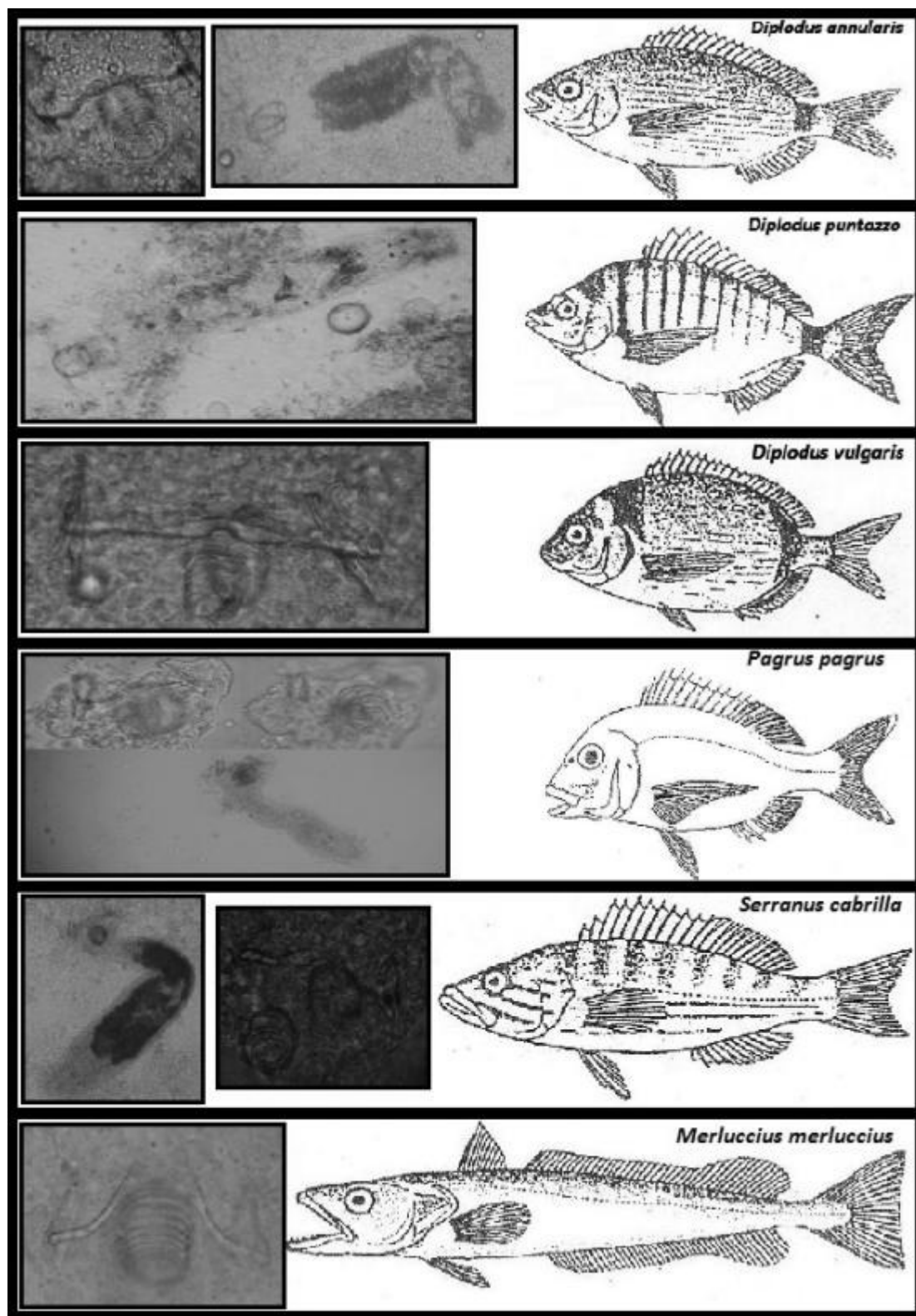
Επιπρόσθετα, σε αρκετές περιπτώσεις ο εντοπισμός και η σαφής αναγνώριση αυτών των ανατομικών διαφοροποιήσεων είναι δύσκολη εξαιτίας της βραγχιακής βλέννας που συνήθως συμπαρασύρουν τα άγκιστρα και ο πεταλοειδής δίσκος. Σε μια τέτοια περίπτωση θα πρέπει πάντοτε να λαμβάνουμε υπόψη την ειδοειδικότητα του ξενιστή όπου αυτά τα παράσιτα συνήθως χαρακτηρίζει, και να καταλήγουμε στο είδος με διαφορική διάγνωση (Amine et al., 2007; Strona et al., 2010).

Αποτελέσματα

Εκπρόσωποι του γένους εντοπίστηκαν σε εκτρεφόμενα και ελεύθερης διαβίωσης μυτάκια (*Diplodus puntazzo*) και φαγκριά (*Pagrus pagrus*), ενώ σε αμιγώς ελεύθερης διαβίωσης ψάρια εντοπίστηκαν σε σπάρους (*Diplodus annularis*) μαρίδες (*Spicara smaris*), χάνους (*Serranus cabrilla*), μπακαλιάρους (*Merluccius merluccius*)

και σαργόπαππα (*Diplodus vulgaris*). Η ταυτοποίηση περιορίστηκε σε επίπεδο γένους για κάθε ένα από τα ανευρεθέντα παράσιτα. Στη φωτογραφία που ακολουθεί (Εικόνα 36) παραθέτονται εικόνες των απτόρων των παρασίτων και συνδυάζονται με τα είδη των ψαριών στα βράγνια των οποίων ανευρέθηκαν.

Γενικά η παρουσία των παρασίτων ανεξάρτητα από το είδος υπέδειξε εποχικότητα και η παρουσία τους στα βράγνια των εκτρεφόμενων ειδών συνέπιπτε με αντίστοιχες παρουσίες στα βράγνια ψαριών ελεύθερης διαβίωσης. Αυτό πρακτικά μεταφράζει το πιθανό ρόλο των άγριων ψαριών στη μεταφορά παρασίτων και μόλυνση των εκτρεφόμενων πληθυσμών. Το χειμώνα η παρουσία των παρασίτων αλλά και η ένταση μεγιστοποιήθηκαν ενώ την άνοιξη παρατηρήθηκαν οι μικρότερες εντάσεις και παρουσίες.



Εικόνα 36. Διάφορα είδη απτόρων παρασίτων του γένους *Lamellodiscus* συναρτήσει των ξενιστών τους.

1.2.3.2 Διγενή Τρηματώδη

Class: Trematoda

Subclass: Digenea

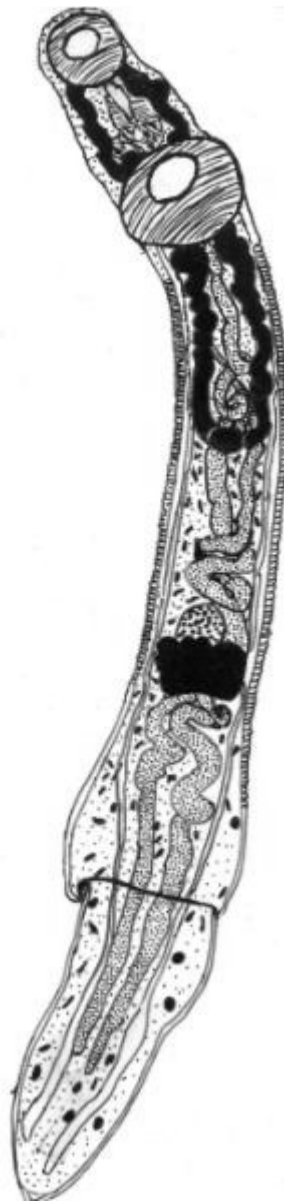
Order : Plagiorchiida

Family: Hemiuridae (Looss, 1899)

Subfamily: Hemiurinae (Looss, 1899)

Genus : *Hemiurus* (Rudolphi, 1809)

Hemiurus luehei (Odhner, 1901)



Εικόνα 37. *Hemiurus luehei*

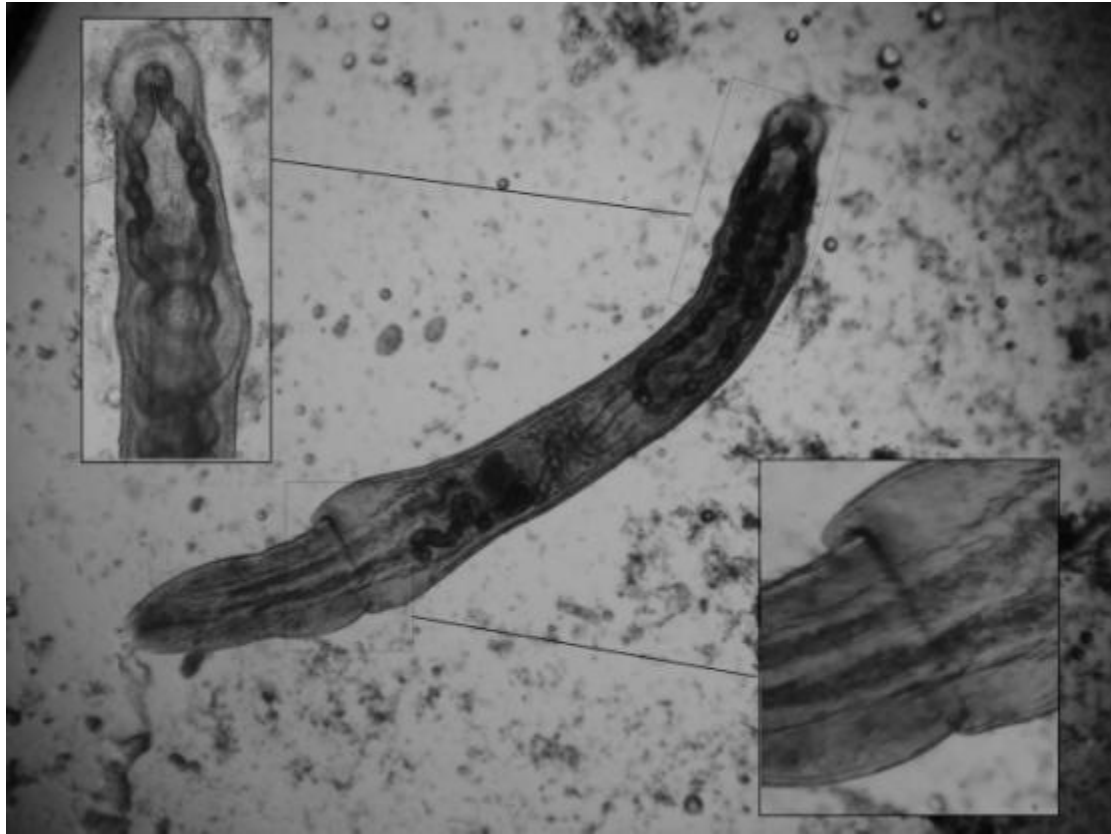
Το είδος μπορεί να συναντηθεί σε παλαιότερη βιβλιογραφία υπό διάφορες ονομασίες όπως *Hemiurus ocreatus* (Rudolphi, 1802), *Hemiurus raabei* (Slusarski, 1958), *Hemiurus rugosus* (Looss, 1907), *Hemiurus stossichi* (Lühe, 1901) και *Pronopyge ocreata* ((Rudolphi, 1802) Looss, 1899).

Σώμα επίμηκες κυλινδρικό με τις άκρες εκατέρωθεν να λεπτύνονται σταδιακά. Χαρακτηριστικό γνώρισμα του γένους (και της οικογένειας) είναι το **έκσωμα**, μια προέκταση οπισθίως του σώματος που ομοιάζει με κέρκο. Η κέρκος δύναται να συστρέφεται αναδιπλούμενη εντός του **σώματος**. Φέρει δύο μυζητήρες με διάμετρο σχεδόν όση και το πλάτος του σώματος. Ο πρόσθιος μυζητήρας εντοπίζεται στο κεφαλικό άκρο, με τον φάρυγγα να ακολουθεί βραχέως αυτού. Ο κοιλιακός μυζητήρας βρίσκεται σε μικρή απόσταση από τον στοματικό. Το έντερο δισχιδές προεκτείνεται κατά μήκος του σώματος και εισέρχεται του εκσώματος διατρέχοντας το. Το επιδερμίδιο του παρασίτου δεν φέρει ακανθίδια.

Η ωοθήκη σφαιρική εντοπίζεται υποορχικά, και διαχωρίζεται από τους όρχεις με πτύχωση της μήτρας. Ο γεννητικός πόρος εντοπίζεται κεντρικά πλησίον του κοιλιακού μυζητήρα. Το γεννητικό αίθριο είναι σφαιρικό και μυώδες λειτουργώντας ως εκσπερματικός βολβός. Η προστατική μοίρα και η σπερματοκύστη χωρίς σταθερή ανατομική θέση. Τα αυγά μικρά σε μέγεθος, ήταν πολυάριθμα σε κάποια παράσιτα

Αποτελέσματα

Τα παράσιτα εντοπίστηκαν σε έντερο γαύρων (*Engraulis encrasicolus*). Η παρουσία και η ένταση του παρασίτου δεν παρουσίασε εποχικότητα, όμως φάνηκε πως εξαρτιόταν κάθε φορά από το κοπάδι αλίευσης. Με άλλα λόγια κάποια κοπάδια γαύρων στερούσαν το παράσιτο ενώ κάποια άλλα το εμφάνιζαν σε μεγάλους αριθμούς, ανεξάρτητα την εποχή. Δυστυχώς, δεν υπάρχουν στοιχεία για το σημείο αλίευσης των δειγμάτων, για να διερευνηθεί εάν κοπάδια που αλιεύτηκαν σε διαφορετικά σημεία διαφέρουν σε εντερικό παρασιτικό φορτίο ποιοτικά και ποσοτικά.



Εικόνα 38. *Heteriurus luehei*, επάνω αριστερά: μορφολογία πρόσθιου τμήματος, κάτω δεξιά: έκσωμα. Νωπό επίχρισμα εντέρου Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x.

Class: Trematoda

Subclass: Digenea

Order : Plagiorchiida

Family: Hemiuridae (Looss, 1899)

Subfamily: Hemiurinae (Looss, 1899)

Genus : *Hemiurus* (Rudolphi, 1809)

Hemiurus communis (Odhner, 1905)



Εικόνα 39. *Hemiurus communis*

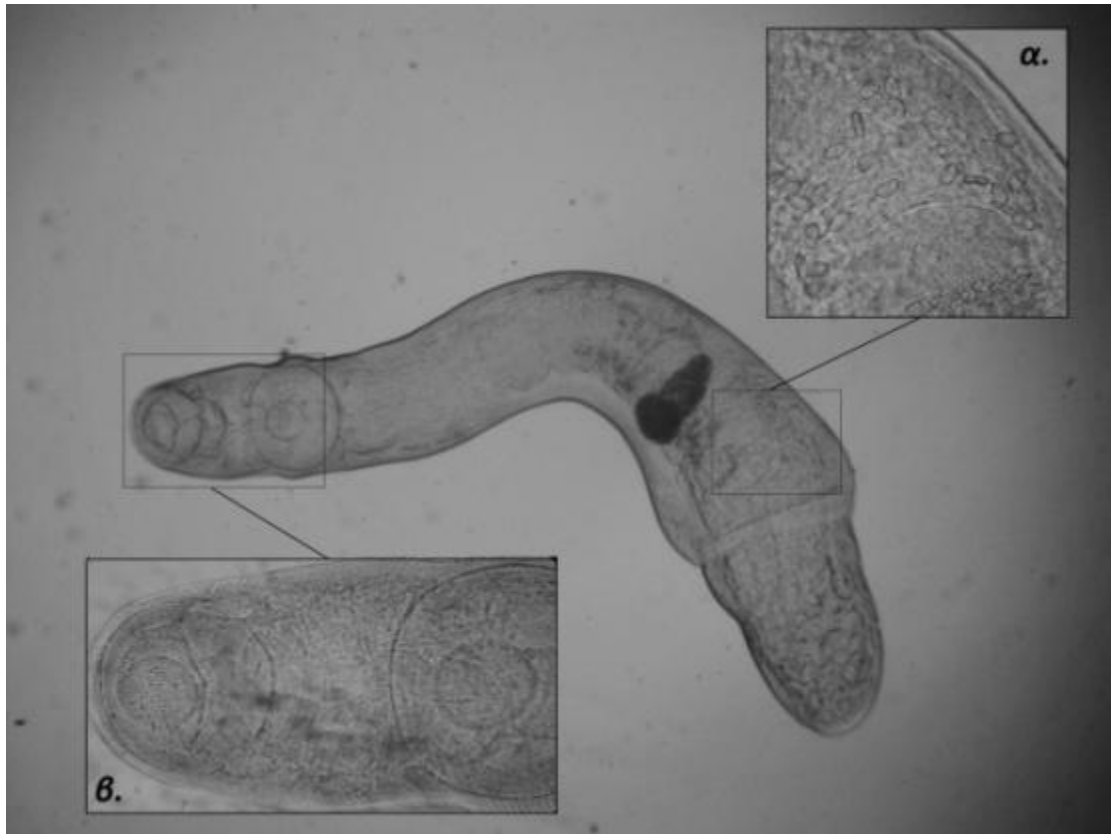
Παράσιτο που φέρει έκσωμα που ομοιάζει με κέρκο στο οπίσθιο άκρο. Οι δύο μυζητήρες εντοπίζονται πρόσθια και σε μικρή απόσταση μεταξύ τους χωρίς ωστόσο ο κοιλιακός μυζητήρας να απέχει περισσότερο από το ένα τρίτο του σώματος. Ο στοματικός μυζητήρας βρίσκεται στο πρόσθιο άκρο πλησίον του οποίου εντοπίζεται ο φάρυγγας, μετά από τον οποίο το έντερο διαιρείται. Ο κοιλιακός μυζητήρας σχεδόν διπλάσιος σε μέγεθος από τον στοματικό. Το έκσωμα σε πλήρη έκταση έχει μήκος σχεδόν το μισό μήκος του σώματος, ενώ σε ήρεμη στάση δεν ξεπερνά το ένα τέταρτο. Όταν το έκσωμα συστρέφεται το παράσιτο εμφανίζεται πεπλατυσμένο κοιλιακά ενώ όταν βρίσκεται έξω από το σώμα το παράσιτο είναι επίμηκες και κυλινδρικό. Τα αυγά πολυπληθή, μικρά σε μέγεθος, συγκεντρώνονται οπίσθια σε μικρή απόσταση από τη κέρκο.

Ο γεννητικός πόρος στρέφεται πλευρικά και εντοπίζεται οπίσθια του στοματικού μυζητήρα σε μικρή απόσταση από το φάρυγγα. Η προστατική μοίρα είναι μακρύσωμη με τα μεγάλα αδενοκύτταρα να συνδέονται άμεσα με τον ερμαφροδιτικό αγωγό ενώ διαχωρίζονται από τη σπερματοκύστη μέσω ενός σφιγκτήρα. Οι όρχεις σφαιρικοί με τον πρόσθιο λίγο μικρότερο σε μέγεθος. Η ωοθήκη επίσης σφαιρική σαφώς μεγαλύτερη από τους όρχεις εντοπίζεται κοντά στη κέρκο. Η μήτρα καθώς επίσης και το δισχιδές τυφλικό έντερο συνεκτείνονται αρμονικά με τις κινήσεις έκτασης της κέρκου.

Αποτελέσματα

Τα παράσιτα εντοπίστηκαν στο έντερο σαφριδιών (*Trachurus trachurus*) και γόπας (*Boops boops*). Σε καμία δειγματοληψία δεν προέκυψε κάποιο πρότυπο εποχικότητας, αντίθετα, όπως και στη περίπτωση του *H. Luehei* η παρουσία και η ένταση του παρασίτου εξαρτιόταν κάθε φορά από το κοπάδι αλίευσης, με κάποιες δειγματοληπτικές ομάδες να έχουν το παράσιτο και κάποιες όχι, ανεξάρτητα της εποχής.

Το παράσιτο αυτό δεν εντοπίστηκε σε κανένα εκτρεφόμενο είδος, αν και υπάρχει βιβλιογραφική αναφορά εντοπισμού του σε τσιπούρες στη Βρετανία (Dawes, 1947). Γενικά είναι παράσιτο που εντοπίζεται σε αρκετά είδη παρουσιάζοντας μικρή ειδικότητα ξενιστών.



Εικόνα 40. *Hemiurus communis*, α) αυγά παρασίτου, β) πρόσθιο τμήμα όπου φαίνεται ο κεφαλικός και ο κοιλιακός μυζητήρας. Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x μετά από χρώση ακετοκαρμίνης.

Class: Trematoda

Subclass: Digenea

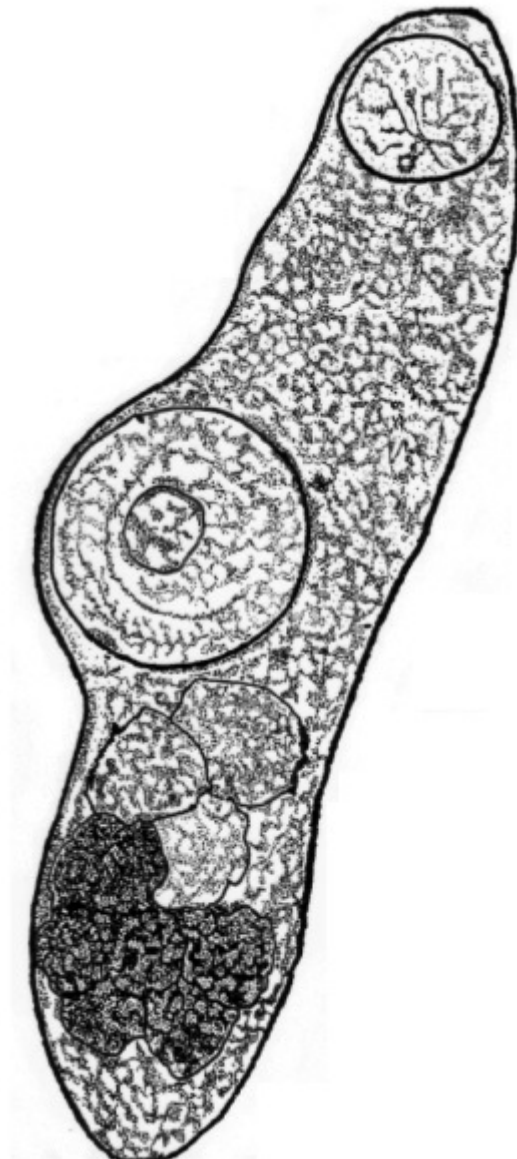
Order : Plagiorchiida

Family: Lecithasteridae (Odhner, 1905)

Subfamily: Lecithasterinae (Odhner, 1905)

Genus : *Aponurus* (Looss, 1907)

Aponurus laguncula (Looss, 1907)



Εικόνα 41. *Aponurus laguncula*

Μπορεί να συναντηθεί σε παλαιότερες εργασίες ως *Aponurus elongatus* (Siddiqi & Cable, 1960), *Aponurus trachinoti* (Manter, 1940), *Aponurus waltirensis* (Hussain, Rao & Shyamasundari, 1984) και *Lecithophyllum trachinoti* (Manter, 1940).

Παράσιτο που εντοπίζεται στο έντερο, στο στόμαχο αλλά και στον οισοφάγο των ξενιστών του. Η ένταση του παρασίτου σε ορισμένους πληθυσμούς μπορεί να είναι τόσο μεγάλη ώστε να είναι δυνατόν να αναγνωρίζονται όλα τα στάδια ενηλικίωσης. Τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά μπορεί να διαφέρουν σημαντικά σε παράσιτα διαφορετικής ηλικίας όμως οι αναλογίες παραμένουν πάντα ίδιες. Το μέγεθος του παρασίτου είναι μικρό με τα ενήλικα να μην ξεπερνούν το 1mm. Η κέρκος απουσιάζει.

Ο στοματικός μυζητήρας σφαιρικός βρίσκεται στο πρόσθιο άκρο του σώματος. Σε μικρή απόσταση εντοπίζεται και ο φάρυγγας όπου είναι ευδιάκριτος ακόμη και σε ανώριμα άτομα. Εξαιτίας της μικρής απόστασης μεταξύ του μυζητήρα και του φάρυγγα είναι σχεδόν αδύνατο να παρατηρηθεί ο προφάρυγγας ο οποίος είναι εξαιρετικά βραχύς. Μετά τον φάρυγγα ακολουθεί ο επίσης βραχύς οισοφάγος ο οποίος διχάζεται σε δύο τυφλικά μέρη τα οποία εκτείνονται. Ο κοιλιακός μυζητήρας εντοπίζεται ακριβώς στο μέσο του σώματος και ανεξάρτητα από την ηλικία, στο σημείο εντοπισμού του παρατηρείται μια κοίλανση εξαιτίας του μεγάλου μεγέθους του. Η διάμετρος του κοιλιακού μυζητήρα είναι σταθερά διπλάσια της διαμέτρου του στοματικού μυζητήρα. Σε γωνία παρατήρησης προφίλ ο κοιλιακός μυζητήρας μπορεί να δίνει την εντύπωση ανοικτού στομίου. Οπισθίως αυτού βρίσκεται η ωθήκη η οποία έχει κεντρικό ή υποκεντρικό εντοπισμό. Στα ώριμα άτομα ο λεκιθικός σάκος αποτελείται από επτά επιμέρους λεκιθικά σακίδια., στα ανώριμα άτομα δεν εμφανίζεται λεκιθικός σάκος. Στην ακρότατη οπίσθια μοίρα βρίσκεται το εκκριτικό κυστίδιο που αποβάλλει τα προϊόντα του έξω από το σώμα του παρασίτου μέσω του εκκριτικού πόρου.

Αποτελέσματα

Τα παράσιτα εντοπίστηκαν στο έντερο σαφριδιών (*Trachurus trachurus*) και γαύρων (*Engraulis encrasicolus*). Η παρουσία του ήταν χαμηλή όπως και η ένταση του, χωρίς να υποδεικνύει εποχικότητα. Έχει αναφερθεί σε γαύρο, (Yamaguti, 1953) όμως είναι η πρώτη φορά που αναφέρεται στο έντερο του *Trachurus trachurus*.



Εικόνα 42. *Aporurus laguncula* (χρώση ακετοκαρμίνης, μεγέθυνση 10x.)

Class: Trematoda

Subclass: Digenea

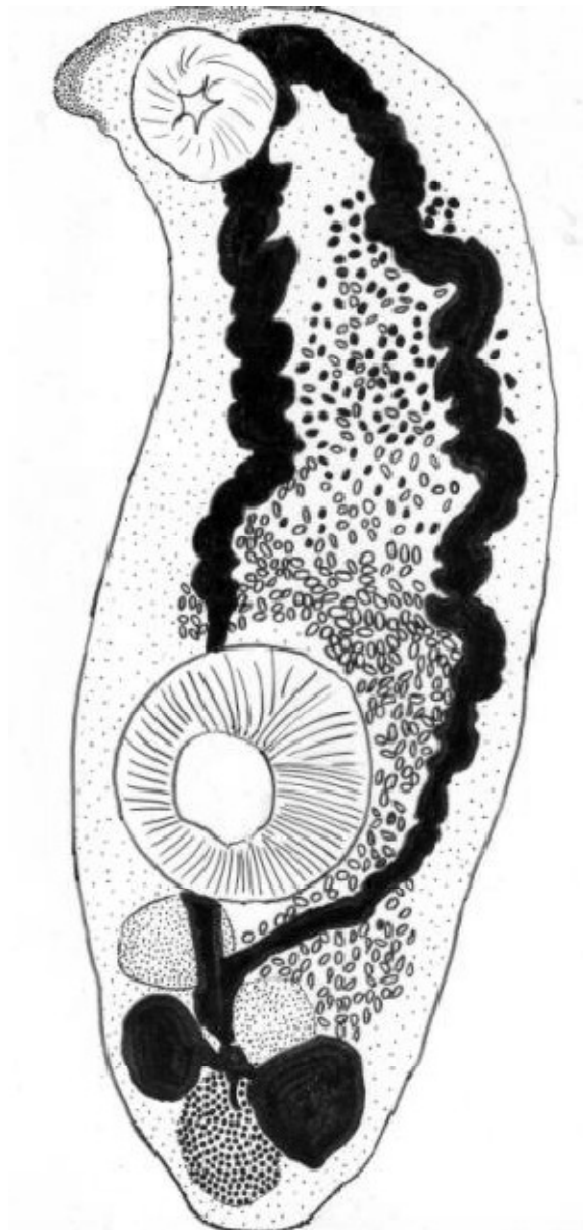
Order : Plagiorchiida

Family: Derogenidae (Nicol, 1910)

Subfamily: Halipeginae (Poche, 1926)

Genus : *Genarchiopsis* (Ozaki, 1925)

Genarchiopsis goppo



Εικόνα 43. *Genarchiopsis goppo*

Συνώνυμη ονομασία *Genarches* (Looss, 1902). Παράσιτο της Οικογένειας Derogenidae (Nicolle, 1910), που εμφανίζεται συχνά στο στομάχι και έντερο θαλάσσιων τελεόστεων. Η συστηματική διαφοροποίηση του γένους μεταξύ των υπολοίπων γενών της οικογένειας είναι πρωτίστως η αναστόμωση του εντέρου στο οπίσθιο τμήμα του σώματος (κυκλόκοιλο) καθώς επίσης και ο τοπογραφικός εντοπισμός των λεκιθικών αδένων σε συνάρτηση με τους όρχεις και την ωοθήκη.

Πιο συγκεκριμένα, το παράσιτο φέρει λεκιθικούς αδένες (λεκιθίδια) στο οπίσθιο κατώτερο τμήμα οι οποίοι συνδέονται μεταξύ τους εμφανώς. Οι λεκιθικοί αδένες είναι αυστηρά δύο σε αριθμό στρογγυλοί έως υποστρογγυλοί χωρίς όμως ποτέ να εμφανίζουν πτυχώσεις ή λοβούς (όπως π.χ. κάποια γένη της Υποοικογένειας Halipreginae (Poche, 1926)). Αυστηρά **πρόσθια** των λεκιθιδίων εντοπίζονται οι όρχεις οι οποίοι είναι δύο σε αριθμό. Ο ανατομικός εντοπισμός των όρχεων είναι μείζονος σημασίας για την ασφαλή ταξινόμηση του γένους καθώς ως ταξινομικό στοιχείο από μόνο του, διαφοροποιεί το γένος από εκείνα της υποοικογένειας Gonocercinae (Skrjabin & Guschanskaja, 1955), στα οποία οι όρχεις εμφανίζονται αυστηρά οπισθίως των λεκιθιδίων και της ωοθήκης.

Οι μυζητήρες του παρασίτου είναι δύο. Ο πρώτος, πρόσθιος στοματικός μυζητήρας σαφώς μικρότερος σε μέγεθος από τον δεύτερο κοιλιακό. Το έντερο διχάζεται σε μικρή απόσταση μετά τον φάρυγγα και εκτείνεται έως και την οπίσθια μοίρα στην οποία αναστομώνεται. Ο κοιλιακός μυζητήρας εντοπίζεται στο δεύτερο μισό του σώματος κοντά στην οπίσθια μοίρα. Το δερματίδιο δε φέρει πτυχώσεις.

Τα αυγά πολυάριθμα στα ώριμα άτομα πληρούν το χώρο από την ωοθήκη έως το μέσο του παρασίτου. Η μορφολογία τους τυπική ωοειδής χωρίς μυτερές απολήξεις σε κανένα από τα δύο άκρα (Εικόνα 43). Στο πρώτο μισό κάτω από το διχασμό του εντέρου εντοπίζεται η προστατική μοίρα οπισθίως της οποίας συνδράμει το σπερματικό κυστίδιο.

Αποτελέσματα

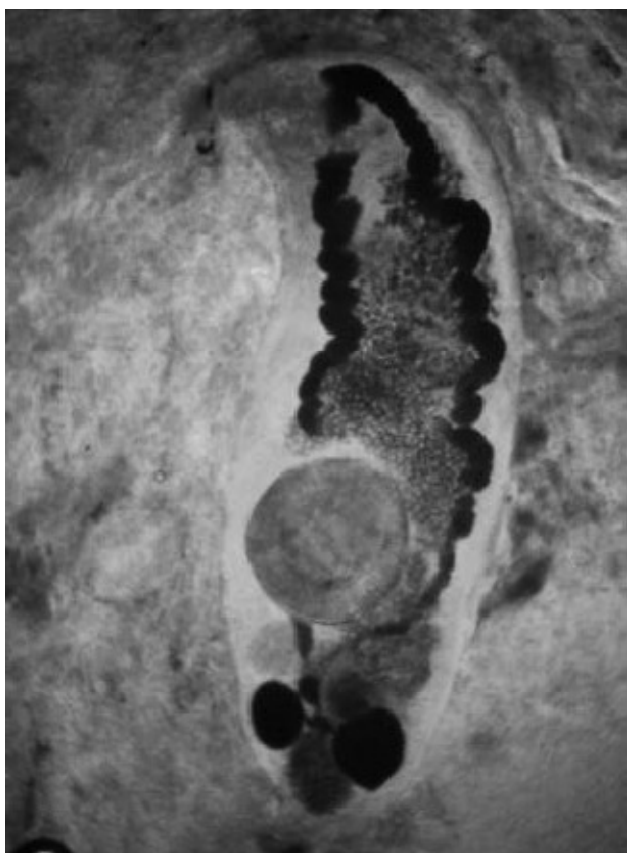
Τα ώριμα παράσιτα που ανευρέθηκαν ήταν όμοια μεταξύ τους με μικρές τοπογραφικές μετατοπίσεις στους όρχεις και τα λεκιθίδια, οι οποίες όμως δεν στοιχειοθετούσαν ευρήματα για διαφορετικό είδος. Το έντερο πάντα εμφάνιζε αναστόμωση με το αριθμό των αυγών να μεταβάλλεται μεταξύ των παρασίτων.

Ενδιαφέροντα ευρήματα ο σταθερός εντοπισμός της ωοθήκης οπισθίως των λεκιθιδίων όπως επίσης και η εκτεταμένη σε μήκος πολυκυστική προστατική μοίρα η

οποία καταλάμβανε μεγάλο μέρος κεντρικά του πρώτου μισού του σώματος του παρασίτου (Εικόνα 44). Επίσης η μήτρα δεν προεκτείνονταν επαρκώς οπισθίως των λεκιθιδίων.

Τα ιδιαίτερα αυτά ευρήματα θα μπορούσαν ενδεχομένως να στοιχειοθετούν χαρακτηριστικά νέου είδους (και ίσως νέου γένους), η επαλήθευση όμως αυτού προϋποθέτει τη χρήση μοριακών τεχνικών ανίχνευσης και σύγκρισης μεταξύ κάποιων αντιπροσώπων της υποοικογένειας. Παράσιτα του γένους *Genarchopsis* (Ozaki, 1925) και δη του είδους *G. gorro* είχαν πρωτοαναφερθεί αυστηρά σε ψάρια των γλυκών νερών, σε αμφίβια αλλά και σε φίδια. Όμως τα τελευταία χρόνια, δύο είδη του γένους *Progonus* (Looss, 1899) (*P. ovocaudatus* & *P. piscicola* (Srivastava, 1933)), θεωρήθηκαν συνώνυμα του *G. gorro* και ως εκ τούτου μεταφέρθηκαν στο γένος αυτό.

Όλα τα παράσιτα του είδους ανευρέθηκαν σε χάνους (*Serranus cabrilla*) και πιο συγκεκριμένα στην οπίσθια μοίρα του εντέρου. Η παρουσία του παρασίτου δεν εμφάνισε καμία εποχικότητα ενώ η παρουσία και η ένταση διατηρούνταν σε κάθε εποχή σταθερά χαμηλές.



Εικόνα 44. *Genarchiopsis gorro* Νωπό επίχρισμα εντέρου (μεγέθυνση 10x).

Class: Trematoda

Subclass: Digenea

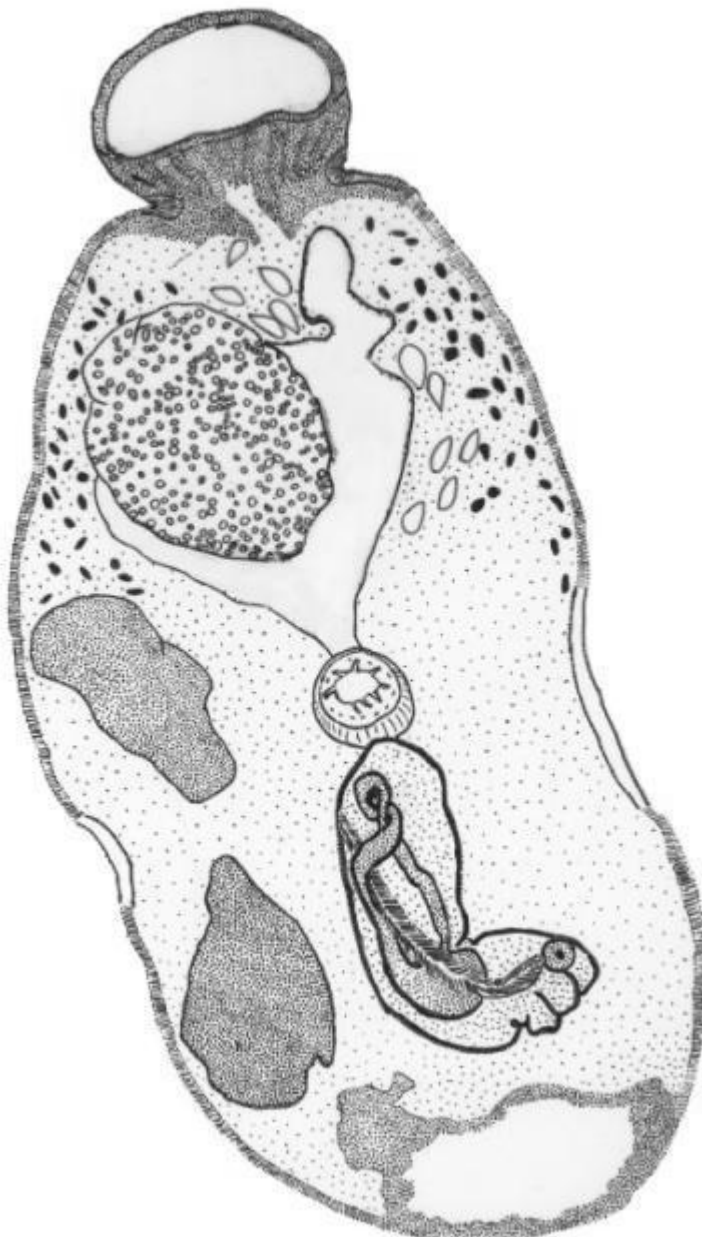
Order : Plagiorchiida

Family: Bucephalidae (Poche, 1907)

Subfamily: Prosorhynchinae (Nicoll, 1914)

Genus : *Prosorhynchus* (Odhner, 1905)

Prosorhynchus sp.



Εικόνα 45. *Prosorhynchus sp.*

Το γένος σε παλαιότερες πηγές αναφέρεται και υπό την ονομασία *Mordvilkovia* (Pigulewsky, 1931); *Gotonius* (Ozaki, 1924); *Skrjabiniella* (Issaitschikow, 1928); *Paraprosorhynchus* (Kohn, 1967); *Chabaudtrema* (Kohn, 1970); *Rudolphinus* (Stunkard, 1974).

Ιδιαίτερης μορφολογίας παράσιτα τα οποία συνήθως συναντώνται σε ψάρια της οικογένειας Serranidae (Bray & Justine, 2013), ωστόσο έχουν αναφερθεί σε γλώσσες (Laffargue et al., 2004) όπως και σε λοιπά είδη ψαριών άλλων οικογενειών (Yamaguti, 1953). Η επί της ουσίας ταξινόμηση των ευρεθέντων παρασίτων σε επίπεδο είδους είναι αδύνατη καθώς το γένος έως σήμερα αποτελείται από 89 αντιπρόσωπα είδη. Οι διαφορές μεταξύ των ειδών που καθορίζουν τη μοναδικότητα τους είναι πολύ μικρές και οι περισσότεροι ερευνητές οδηγούνται ακόμη και σε τεχνικές που απαιτούν μικρομετρικές αναλύσεις της προστατικής μοίρας των όρχεων, της ωοθήκης και των λεκιθιδίων.

Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του γένους είναι πως στο πρόσθιο τμήμα του παρασίτου **δεν** εντοπίζεται κεφαλικός μυζητήρας αλλά ρύγχος. Το ρύγχος αποτελείται από ένα χωνοειδές στόμιο το οποίο είναι εξοπλισμένο από μύες κάνοντας το έτσι ικανό να συσπάται. Θεωρείται κοσμοπολίτικό γένος.

Ο κοιλιακός μυζητήρας επί της ουσίας δεν υφίσταται. Στη θέση του υπάρχει ο στοματικός μυζητήρας ο οποίος κατέχει κεντρική θέση και συνήθως εντοπίζεται προσθίως της μοίρας του προστάτη. Το μέγεθος του κοιλιακού μυζητήρα είναι συνήθως μικρό και γύρω από αυτόν ή πλησίον αυτού εμφανίζεται ένας διαφανής ασκός. Ο διαφανής αυτός ευδιάκριτος ασκός μπορεί να παρουσιάζεται επιμήκης ή σφαιροειδής και αποτελεί το έντερο του παρασίτου. Με άλλα λόγια το στόμα δεν βρίσκεται στη πρόσθια πλευρά του σώματος όπως στη συντριπτική πλειονότητα των τριηματοδών αλλά κεντρικά. Έτσι σε μικρή απόσταση από αυτόν υπάρχει ο φάρυγγας μετά τον οποίο ξεκινά να διαμορφώνεται το ασκόμορφο έντερο το οποίο δεν διχάζεται.

Η ωοθήκη βρίσκεται **αυστηρά** προσθίως των όρχεων. Τα λεκιθίδια σε νωπά επιχρίσματα δεν είναι σκουρόχρωμα αλλά μάλλον διάφανα, δυσδιάκριτα, συγκεντρωμένα ομαδικά στη πρόσθια μοίρα του σώματος και σε μικρή απόσταση από το ρύγχος.

Αποτελέσματα

Το παράσιτο εμφανίστηκε αποκλειστικά στο έντερο του είδους *Serranus cabrilla* και όχι σε άλλο είδος. Η μεγαλύτερη ένταση παρατηρήθηκε τον Ιούλιο όμως χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές. Η παρουσία ήταν επίμονη ανεξάρτητα της εποχής.

Παρά τις προσπάθειες για τη συστηματική ταυτοποίηση του είδους κάποια ανατομικά ευρήματα δεν κατέστησαν δυνατή την ασφαλή διάκριση του παρασίτου σε επίπεδο είδους σύμφωνα με τις επικαιροποιημένες κλείδες προσδιορισμού.

Σημαντικό εύρημα οι δύο ετερόπλευρες περισφίξεις του δέρματος οι οποίες δεν αναφέρονται σε καμία περιγραφή στα ήδη υπάρχοντα είδη του γένους κάτι που ίσως να πιθανολογεί την ύπαρξη νέου είδους. Η περισφίγιξη αυτή δεν είναι πάντοτε σαφής καθώς το παράσιτο είναι ικανό να μεταβάλλει το ολικό του μήκος και σχήμα και να γίνεται άλλοτε κωνοειδές και άλλοτε επίμηκες (Εικόνα 46γ).

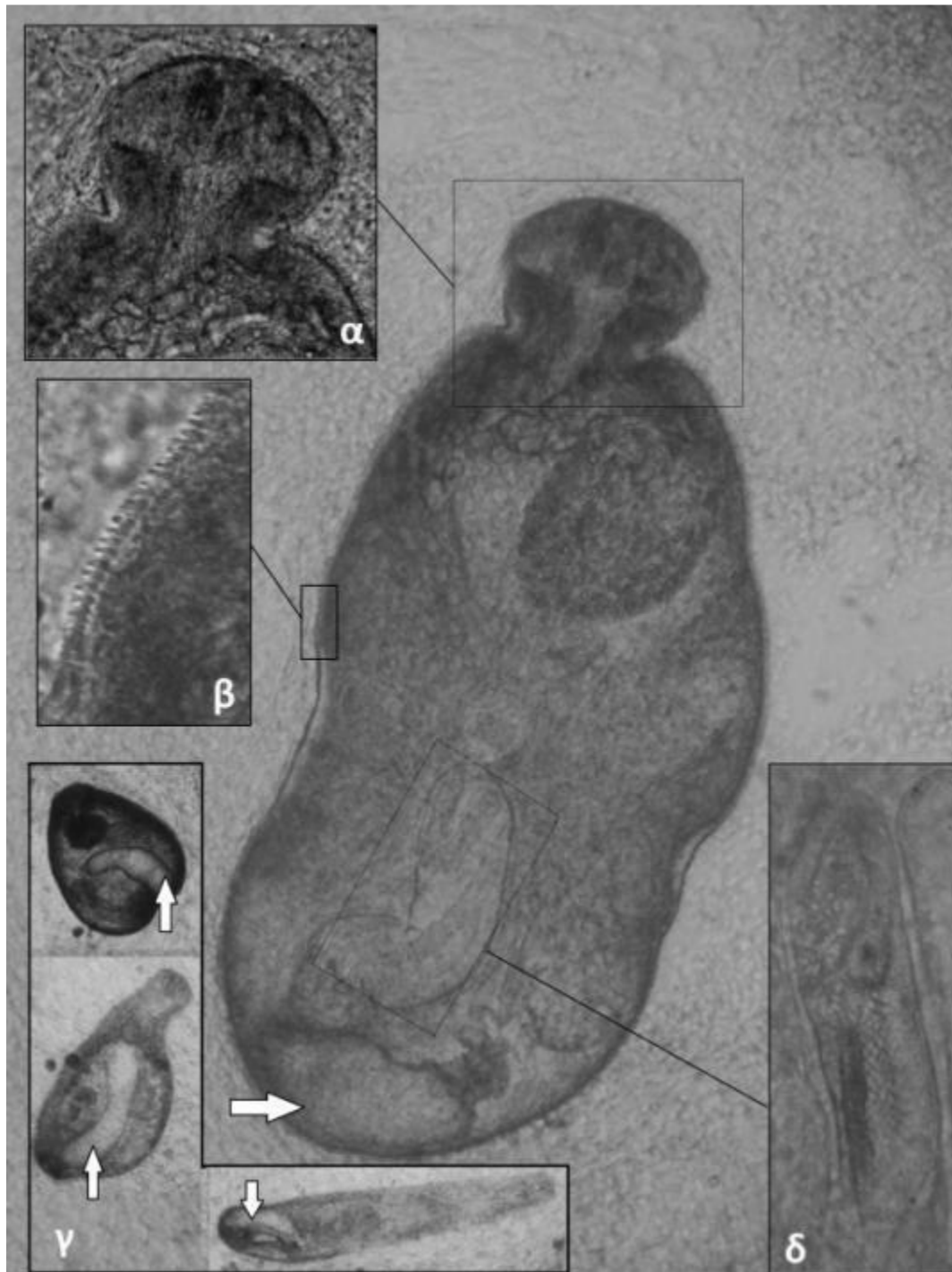
Κάτω από τον κοιλιακό μυζητήρα όπως προαναφέρθηκε περιορίζεται τοπογραφικά η προστατική μοίρα η οποία είναι σε συναρμογή με το σπερματικό κυστίδιο (Εικόνα 46δ). Η εφυμενίδα φέρει πολυάριθμες γραμμώσεις (εικόνα 46β) ενώ στο μέσο περίπου του σώματος εκατέρωθεν των πλευρών οι γραμμώσεις ανακόπτονται και το σώμα περισφίγγεται. Στα νεαρά άτομα η περισφίγιξη δεν είναι ορατή ακόμα και όταν αυτά βρίσκονται σε μήκος ηρέμησης, ενώ το ρύγχος ομοιάζει λιγότερο κωνοειδές. Ο απεκκριτικός ασκός πορεύεται παράλληλα με τον προστάτη έως και το 1/3 του σώματος όμως η τοπογραφική αυτή θέση δεν είναι σταθερή και τις περισσότερες φορές μεταβάλλεται ανάλογα με το εύρος σύσπασης που έχει κάθε στιγμή το παράσιτο, καθώς επίσης και το βαθμό ωριμότητας (Εικόνα 46γ, βέλη). Ως εκ τούτου η μορφολογία του απεκκριτικού ασκού σε καμία περίπτωση δεν μπορεί να θεωρηθεί ως ανατομικό χαρακτηριστικό ταξινόμησης του είδους. Ο απεκκριτικός ασκός συσσωρεύει τα προϊόντα του μέσα από τον απεκκριτικό πόρο όπου και ακολούθως αποβάλλονται.

Ακόμα σημαντικό εύρημα ήταν η απουσία ευρέων πτυχώσεων της μήτρας η οποία μάλλον στο συγκεκριμένο είδος εμφανίζεται υπολειμματικά συγκριτικά με τα υπόλοιπα είδη του γένους.

Παρά την μεγάλη πιθανότητα να πρόκειται για νέο είδος, τα περιγραφικά στοιχεία και οι εργασίες παρουσίασης για κάποια από τα είδη του γένους δεν είναι δυνατό να βρεθούν σε έντυπη μορφή εξαιτίας της παλαιότητας των αναφορών. Έτσι

η πλήρης σύγκριση των ευρημάτων με όλα τα υπάρχοντα είδη είναι εξαιρετικά δύσκολη.

Στη γεωγραφική περιοχή της Μεσογείου οι πιο κοινές αναφορές για αυτό το γένος αφορούν τα αντιπρόσωπα γένη *P. Aculeatus*, *P. Crucibulum* και *P. Squamatus*, τα οποία όμως διαφοροποιούνται σημαντικά σε σύγκριση με το ευρεθέν παράσιτο.



Εικόνα 46. *Prosorhynchus* sp., α) ρύγχος, β) γραμμώσεις εφυμενίδας, γ) μορφολογία εντέρου ανάλογα με τη θέση του παρασίτου, δ) άρρενα αναπαραγωγικά όργανα. Νωπό επίχρισμα εντέρου.

Class: Trematoda

Subclass: Digenea

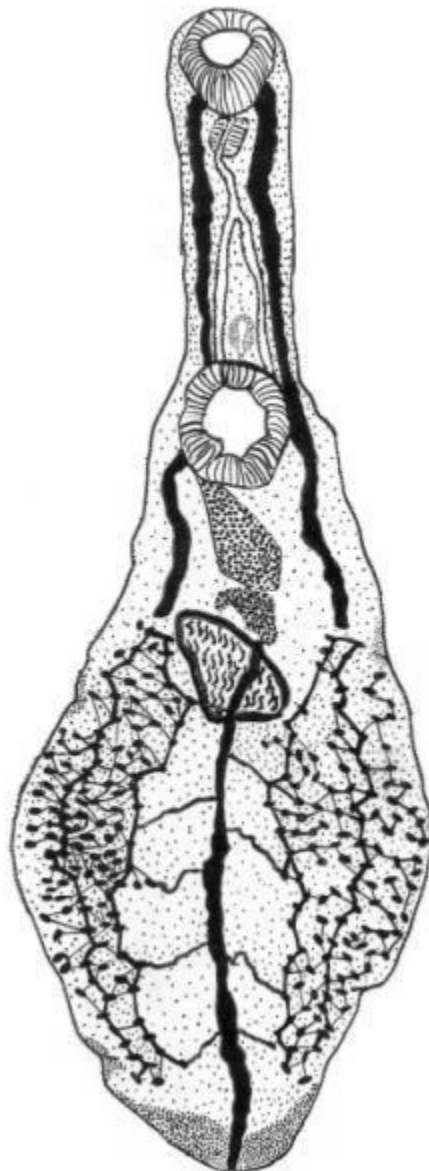
Order : Plagiorchiida

Family: Gorgoderidae (Looss, 1899)

Subfamily: Gorgoderinae (Looss, 1899)

Genus : *Phyllodistomum* (Braun, 1899)

Phyllodistomum sp.



Εικόνα 47. *Phyllodistomum sp.*

Το γένος *Phyllodistomum* είναι ένα από τα μεγαλύτερα γένη της τάξης των τρηματωδών. Τα παράσιτα της υποοικογένειας Gorgoderinae (Looss, 1899) προσβάλλουν ιχθύες θαλασσινού και γλυκού νερού καθώς επίσης και αμφίβια.

Το σώμα των παρασίτων του γένους είναι χαρακτηριστικά απιοειδές μικρού μεγέθους. Φέρει δύο μυζητήρες, έναν στοματικό και έναν κοιλιακό. Ο στοματικός μυζητήρας βρίσκεται στο ακροτελεύτιο άκρο του πρόσθιου σώματος οπισθίως του οποίου ακολουθεί βραχέως ο ευμεγέθης φάρυγγας. Στη πορεία του πεπτικού μετά τον φάρυγγα παρατηρείται διχασμός του εντέρου το οποίο καταλήγει σε δύο τυφλές απολήξεις εκατέρωθεν των πλευρών του σώματος στην οπίσθια μοίρα αυτού. Το εκκριτικό κυστίδιο είναι στη πλειονότητα των ειδών καλοσχηματισμένο και εντοπίζεται κεντρικά.

Ο κοιλιακός μυζητήρας είναι ελάχιστα μεγαλύτερος σε μέγεθος από τον στοματικό και η θέση του είναι σε μικρή σχετικά απόσταση από αυτόν. Οπισθίως αυτού εντοπίζονται οι όρχεις και η ωοθήκη ενώ προσθίως αυτού και μεταξύ του διχασμού του εντέρου βρίσκεται ο γεννητικός πόρος. Στη πλησίον περιοχή πέριξ του γεννητικού πόρου είναι προσαρμοσμένη η προστατική μοίρα η οποία έχει μικρό μέγεθος και αποτελείται από ολιγάριθμα προστατικά κυστίδια. Τα λεκιθίδια (λεκιθικοί αδένες) είναι πολλά σε μέγεθος και τοπογραφικά εντοπίζονται στην οπίσθια μοίρα του σώματος. Τα περισσότερα παράσιτα έχουν εξαιρετικά κινητή πρόσθια μοίρα η οποία μπορεί να συσπάται αυξάνοντας η μειώνοντας αντίστοιχα κατά πολύ το μέγιστο μήκος του παρασίτου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το απιοειδές σχήμα που το παράσιτο παρουσιάζει σε στιγμές ηρέμησης να μεταβάλλεται από επίμηκες κυλινδρικό σε ωοειδές έως υποστρόγγυλο.

Η μήτρα εκτεταμένη σε μέγεθος και μήκος, περιορίζεται στην οπίσθια μοίρα και διαπλέκεται με τα λοιπά όργανα της περιοχής. Τα αυγά είναι πολλά σε αριθμό στα ώριμα παράσιτα όμως σε αρκετά μπορούν να μην εντοπίζονται και καθόλου. Το δερματίδιο δεν εμφανίζει πτυχώσεις στην ηρέμηση ενώ φυσιολογικά είναι λείο χωρίς γραμμώσεις.

Αποτελέσματα

Το παράσιτο βρέθηκε στο είδος *Scorpaena scrofa* (Σκορπίνα). Το όργανο εντόπισης του παρασίτου ήταν η τελική μοίρα του εντέρου και το μεσεντέριο. Τα ευρήματα μάλλον τυχαία, βρέθηκαν 6 παράσιτα τη Φθινοπωρινή περίοδο σε ένα μόνο ψάρι.

Class: Trematoda

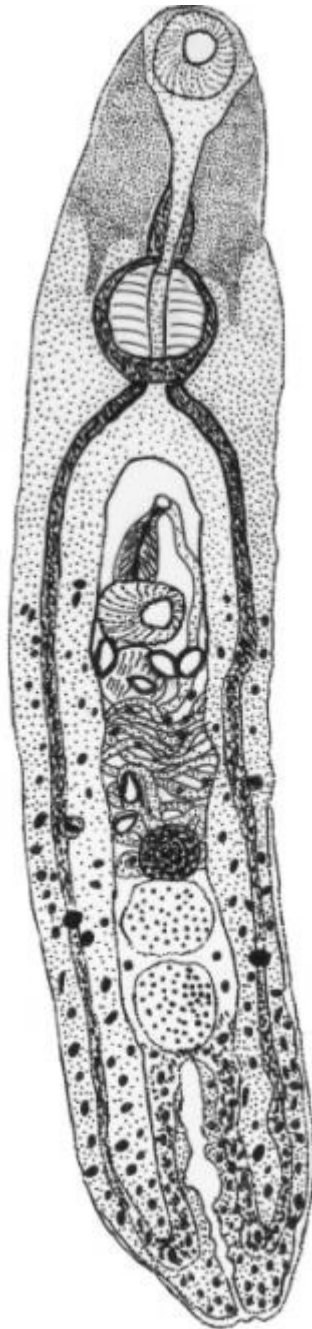
Subclass: Digenea

Order : Plagiorchiida

Family: Lepidapedidae (Yamaguti, 1958)

Genus : *Lepidapedon* (Stafford, 1904)

Lepidapedon sp.



Εικόνα 48. *Lepidapedon* sp.

Το γένος σε παλαιές βιβλιογραφικές αναφορές μπορεί να συναντηθεί υπό την ονομασία *Lepodora* (Odhner, 1905), η οποία και θεωρείται συνώνυμη. Πρόκειται για γένος του οποίου τα είδη είναι κοινά εντερικά παράσιτα σε πληθυσμούς ψαριών εντός της Μεσογείου. Το 1945 ο Dawes στη μονογραφία του περί παρασίτων αναφέρει πως έως τότε οι δύο μόνοι αντιπρόσωποι του γένους ήταν το *L. rachion* και το *L. Elongatum*, με διακριτά χαρακτηριστικά σώματος. Σήμερα το γένος αποτελείται με πάνω από 55 είδη χωρίς να υπολογίζονται σε αυτά τα 28 είδη που βρίσκονται σε μετάταξη γένους ή άλλα που είναι υπό αμφισβήτηση (Wo.R.M.S).

Το σώμα των παρασίτων επίμηκες, κυλινδρικό. Το κυριότερο ανατομικό χαρακτηριστικό του γένους είναι ο επιμήκης προφάρυγγας και ο ισχυρός ευμεγέθης φάρυγγας. Σε αρκετά είδη ο φάρυγγας είναι μεγαλύτερος σε μέγεθος και περισσότερος διακριτός τόσο από τον στοματικό μυζητήρα όσο και από τον κοιλιακό.

Το έντερο διχάζεται αμέσως μετά τον φάρυγγα σε δύο τυφλικές απολήξεις οι οποίες προεκτείνονται έως το οπίσθιο άκρο του σώματος. Σε ορισμένα είδη ο οισοφάγος είναι παρών αλλά βραχύς, ενώ σε άλλα είδη απών. Τα παράσιτα εμφανίζουν επικουρικό εκκριτικό σύστημα το οποίο παρατηρείται κεντρικά με ευδιάκριτο επίμηκες εκκριτικό κυστίδιο και εκκριτικό πόρο.

Οι όρχεις δύο σε αριθμό εμφανίζουν μεταξύ τους εγγύτητα και βρίσκονται πάντα στην οπίσθια μοίρα του σώματος, πρόσθια του εκκριτικού κυστιδίου. Η ωοθήκη έχει προορχικό εντοπισμό, όμως και αυτή περιορίζεται στο οπίσθιο μισό του σώματος του παρασίτου. Τα λεκιθίδια (λεκιθικοί αδένες) διαχέονται πολυάριθμα από το οπίσθιο τμήμα του σώματος και πορεύονται στη πρόσθια μοίρα έχοντας ως τελικό όριο τον γεννητικό πόρο (Περίπου στο ύψος του κοιλιακού μυζητήρα). Τα αυγά πολυάριθμα, ωοειδή χωρίς πολικά νημάτια βρίσκονται στη πλειονότητα τους κεντρικά ή υποκεντρικά.

Γενικά το παράσιτο δεν εμφανίζει έντονη σωματική πλαστικότητα και οι κινήσεις του είναι περιορισμένες, έτσι σχεδόν πάντα διατηρούνται οι αναλογίες και οι ανατομικές θέσεις των οργάνων καθιστώντας έτσι εύκολη την αναγνώριση του. Ακόμη και η μήτρα που στη πλειονότητα των τρηματωδών δεν παραμένει ποτέ σταθερή και μεταβάλλεται ενδοειδικά, στη περίπτωση του *Lepidapedon* είναι σταθερή. Η σωληνοειδής μήτρα διαπλέκεται στα όρια μεταξύ της ωοθήκης και του εντερικού διχασμού ή ακόμη λιγότερο έως και το όριο του γεννητικού πόρου. Η εφυμενίδα (δερματίδιο) δε φέρει μικροπτυχώσεις ή γραμμοειδείς κυματισμούς και είναι λείο.

Το πέος του παρασίτου είναι σύνθετο και περιέχει τόσο τη προστατική μοίρα όσο και το σπερματικό κυστίδιο.

Αποτελέσματα

Γενικά το γένος *Lepidapedon* εμφανίζεται συχνότερα σε ψάρια της οικογένειας Gadidae, όμως όσο περισσότερο μελετάται διαπιστώνεται όλο και μικρότερη ειδοειδικότητα ξενιστών, αυξάνοντας ολοένα τον αριθμό τους. Το παράσιτο βρέθηκε στο είδος *Phycis Phycis* και είναι η πρώτη φορά που εντοπίζεται σε αυτό το είδος. Η παρουσία του ήταν μόνιμη χωρίς να παρουσιάζει εποχικότητα.

Το σπερματικό κυστίδιο αν και ιδιαίτερα δυσδιάκριτο στα περισσότερα τρηματώδη, είναι ευμέγεθες στο παράσιτο αυτό, τόσο, ώστε το μέγεθος του είναι σχεδόν ίσο ή ελάχιστα μικρότερο από τον κοιλιακό μυζητήρα γεγονός που περιορίζει το συνολικό αριθμό των πιθανών υποψήφιων ειδών.



Εικόνα 49. *Lepidapedon* sp., αριστερά: αυγά παρασίτου, δεξιά: πρόσθιος μυζητήρας. Νωπό επίχρισμα (10x).

Class: Trematoda

Subclass: Digenea

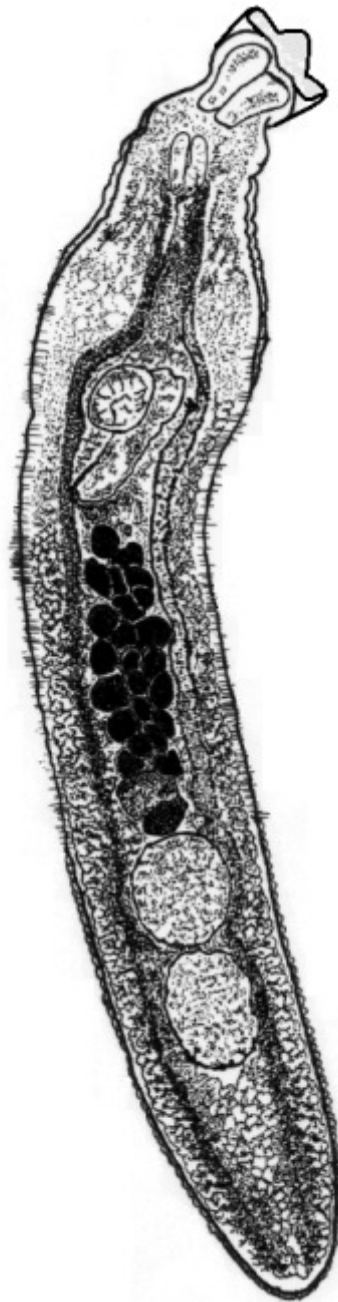
Order: Plagiorchiida

Superfamily: Lepocreadioidea (Odhner, 1905)

Family: Lepocreadiidae (Odhner, 1905)

Genus: *Opechona* (Looss, 1907)

Opechona bacillaris (Molin, 1859)



Εικόνα 50. *Opechona bacillaris*

Συνώνυμα είδη *Pharyngora bacillaris* (Molin, 1859), *Pharyngora retractilis* (Lebour, 1908), *Pharyngora olssoni* (Yamaguti, 1934), *Distomum (Dicrocoelium) bacillare* (Barbgsillo & Drago, 1903), *Distomum bacillare* (Molin, 1859), *Distomum increscens* (Olsson, 1868), *Lepidapedon elongatum* (Chernyshenko, 1949), *Lepocreadium guptai* (Gupta & Gupta, 1987).

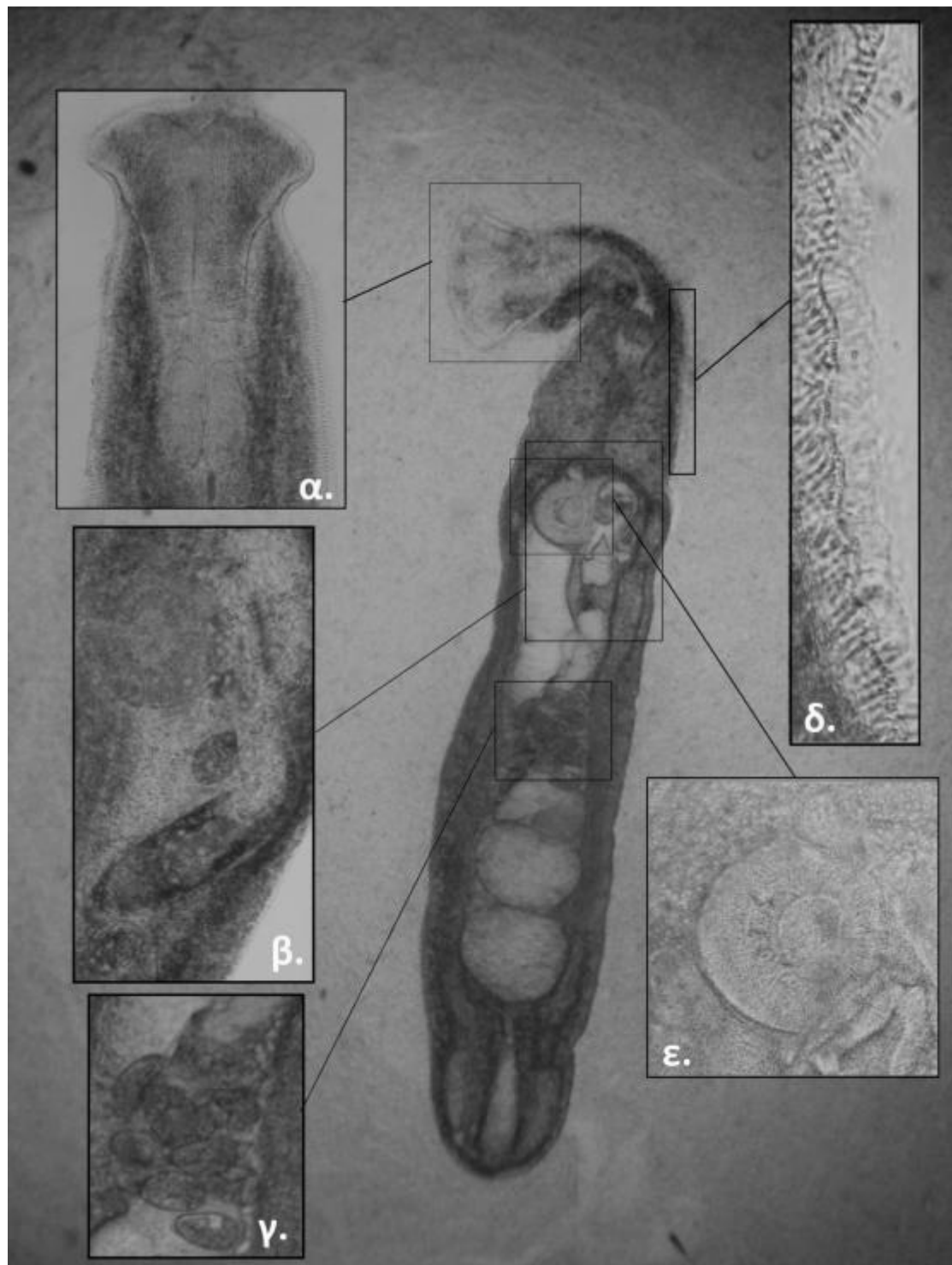
Σώμα επίμηκες με εφυμενίδα η οποία φέρει ακανθίδια. Ο στοματικός μυζητήρας έχει ιδιαίτερη μορφολογία τύπου χοάνης η οποία ομοιάζει με φάρυγγα για το λόγο αυτό προέκυψε και το συνώνυμο γένος *Pharyngora*. Ο προφάρυγγας σχετικά βραχύς οπισθίως του οποίου αναπτύσσεται ο φάρυγγας. Ο οισοφάγος μακρύς σε μήκος εκτείνεται έως τον διχασμό του εντέρου, με τις δύο τυφλικές μοίρες να απομακρύνονται οπισθίως και να καταλήγουν περίξ της απεκκριτικής κύστης.

Οι όρχεις πρόσθια της απεκκριτικής κύστης, δύο σε αριθμό, ευμεγέθεις, διατάσσονται σε σειρά ενώ βραχέως ακολουθεί η ωοθήκη, προορχικά. Η κοτύλη (Acetabulum)(κοιλιακός μυζητήρας), εντοπίζεται στο πρόσθιο μισό του σώματος. Το κόλπωμα του πέους ροπαλοειδές, προεκτείνεται οπισθίως του κοιλιακού μυζητήρα, εσωκλείοντας το σπερματικό κυστίδιο, τη προστατική μοίρα και το σπερματικό πόρο. Τα λεκιθίδια (λεκιθικοί αδένες) διατάσσονται ομαδικώς πλευρικά στο χώρο γύρω από τα δύο τυφλά με τον μεγαλύτερο αριθμό να εντοπίζεται στο πλευρικό χώρο των όρχεων και της ωοθήκης. Το εκκριτικό κυστίδιο είναι ευμέγεθες ωοειδές το οποίο καταλήγει σε έναν απεκκριτικό πόρο οπισθίως του σώματος.

Τα αυγά δεν έχουν οξύληκτα άκρα αλλά τη κλασική ωοειδή μορφή. Περιορίζονται στον προωθητικό χώρο, κεντρικά ανάμεσα στα τυφλά. Μπορεί να αριθμούν από λίγα (5-6) έως περίπου 35 αφού σε κανένα παράσιτο από το σύνολο εκείνων που μελετήθηκαν, δεν εντοπίστηκαν παραπάνω.

Αποτελέσματα

Γενικά η παρουσία του παρασίτου περιορίστηκε σε είδη των οικογενειών Scombridae και Carangidae. Πιο συγκεκριμένα εντοπίστηκε στα είδη *Scomber collias*, *Thunnus thunnus*, *Trachurus trachurus* και *Trachurus mediterraneus*. Η παρουσία και η ένταση ήταν μεγαλύτερη στο είδος *Scomber collias* (40,0%, 19,7 ± 8,0). Ενώ τη μικρότερη παρουσία και ένταση εμφάνισε ο τόνος (*Thunnus thynnus*)(18,2%, 2 ± 1,41).



Εικόνα 51. *Orechona bacillaris*, α) φάρυγγας τύπου χοάνης, β) αναπαραγωγικό σύστημα αρσενικού, γ) μορφολογία αυγών, δ) εφυμενίδα, ε) κοιλιακός μυζητήρας. Νωπό επίχρισμα εντέρου Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x.

Class: Trematoda

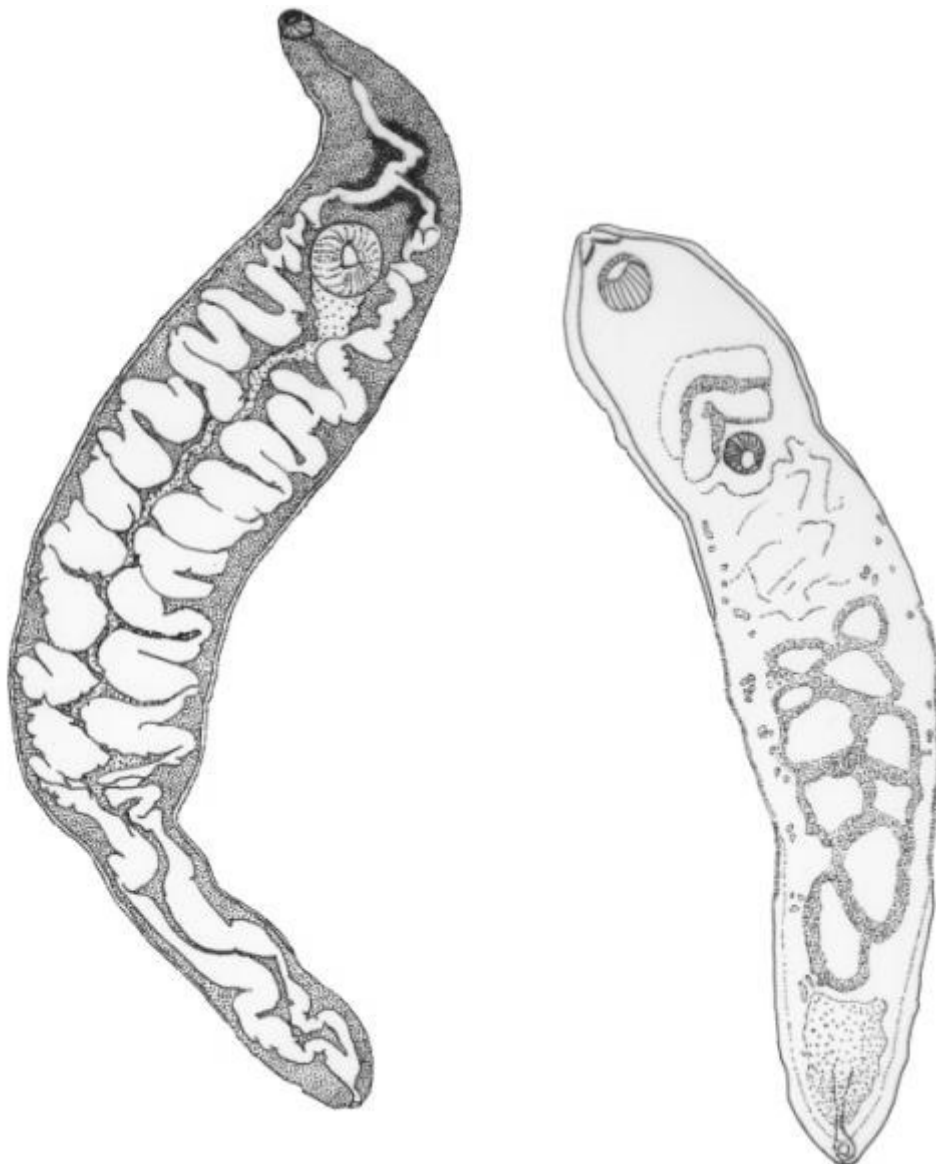
Subclass: Digenea

Order: plagiurchiida

Superfamily : Hemiuroidea (Looss, 1899)

Family: Didymozoidae (Monticelli, 1888)

Didymozoidae



Εικόνα 52. *Didymozoides sp.*, Αριστερά: μετακερκάρειο τύπου *Neotorticaecum*, Δεξιά: τύπου *Allomonicaecum*

Η οικογένεια Didimozoidae είναι ίσως η λιγότερο μελετημένη οικογένεια των διγενών παρασίτων. Στα περισσότερα βιβλία παρασιτολογίας ιχθύων η οικογένεια αναφέρεται ελάχιστα (σε μερικές περιπτώσεις καθόλου), παραθέτοντας ελάχιστες πληροφορίες για τον κύκλο ζωής των αντιπροσώπων γενών της οικογένειας. Παρά τις λίγες διαθέσιμες πληροφορίες γύρω από το κύκλο ζωής τους αλλά και την ευπάθεια των ξενιστών τους είναι παράσιτα κοινά στην οικογένεια ιχθύων Scombridae, παρασιτώντας στις σπλαχνικές επιφάνειες των οργάνων, τους μυικούς ιστούς και εν γένει την ενδοπεριτοναϊκή κοιλότητα.

Τα ανώριμα στάδια και δη τα μετακερκάρια συναντώνται κυρίως στο έντερο των ξενιστών τους. Η αναγνώριση του είναι σχετικά εύκολη καθώς ως ανώριμα άτομα δε φέρουν όργανα σύζευξης και φυσικά άρρενα και θήλεα γεννητικά όργανα. Ως εκ τούτου περιορίζονται μόνο σε ένα ισχυρό καλά διαμορφωμένο έντερο καθώς επίσης και δύο κεφαλικούς μυζητήρες, έναν πρόσθιο κεφαλικό και έναν οπίσθιο κοιλιακό. Οι Ibarra και λοιποί (2011) παρουσιάζουν κάποια κύρια μορφολογικά χαρακτηριστικά (κυρίως του εντέρου) στα οποία είναι δυνατός ένας ταξινομικός διαχωρισμός των μετακερκάρων.

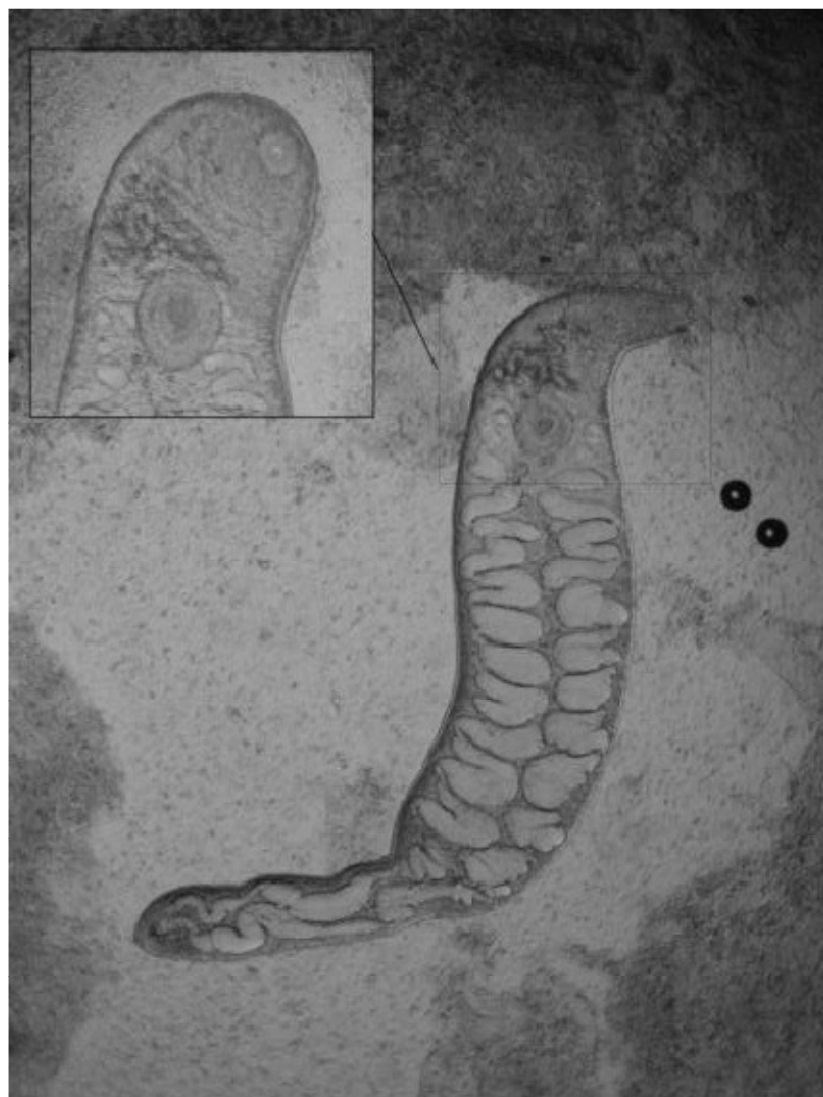
Οι ώριμες μορφές των παρασίτων είναι εξαιρετικά σύνθετες και είναι ένας από του κυριότερους λόγους που έχουν ελάχιστα μελετηθεί. Έως τώρα είναι γνωστά περί τα 200 είδη με τον ρυθμό αναγνώρισης νέων ειδών να παρουσιάζει αύξηση. Στην ώριμη μορφή τους τα παράσιτα συνθέτουν ζεύγη τα οποία άπαξ και προσκολληθούν μεταξύ τους, παραμένουν για το υπόλοιπο της ζωής τους συνδεδεμένα (Για το λόγο αυτό τα παράσιτα ονομάζονται και “Διδυμόζωα”). Το ζεύγος αφού έχει μετακινηθεί ενεργά μέσω του εντέρου στα εσωτερικά όργανα εγκυστεύεται και αρχίζει να αναπαράγεται. Η κύστης μπορούν να περιέχουν εκατοντάδες ανώριμα παράσιτα και να είναι ευμεγέθεις. Χρησιμοποιώντας τον όρο “κύστη” θα πρέπει να καταστήσουμε σαφές πως δεν εννοούμε μια κύστη η οποία παράγεται από τα ίδια τα παράσιτα αλλά για μια ιστική αντίδραση του ξενιστή στη προσπάθεια του να απομονώσει το παθογόνο αίτιο. Στην πραγματικότητα πρόκειται για λεπτό συνδετικό ιστό ο οποίος παράγεται από τον ξενιστή. Σε περιπτώσεις πρόσφατης προσάρτησης του ζεύγους στα εσωτερικά όργανα δεν παρατηρείται κύστη.

Η παρουσία της κύστης αυτής καθαυτής περιορίζει σημαντικά την παρατήρηση των παρασίτων καθώς η απομόνωση τους και η παρατήρηση τους δίχως να τραυματιστεί το ζεύγος είναι δύσκολη. Η κύστη είναι τις περισσότερες φορές τόσο ισχυρή ώστε είναι αδύνατο να διαχωριστεί το παράσιτο από τους ιστούς του ξενιστή.

Τα ανώριμα μετακερκάρια όπως αναφέρθηκε παραπάνω, μπορούν να διαχωριστούν βάσει της μορφολογίας του εντέρου τους σε 3 διαφορετικούς τύπους :
α) Paramonilicaecum, β) Neotorticaecum, γ) Allomonicaecum.

Αποτελέσματα

Συναντήθηκαν αρκετά μετακερκάρια στο έντερο των ειδών *Trachurus trachurus* και *Zeus faber* τα οποία όμως διατηρούσαν σταθερή τυπολογία για κάθε είδος. Έτσι τα μετακερκάρια που συναντήθηκαν στο έντερο των Χριστόψαρων ήταν τύπου Neotorticaecum ενώ εκείνα των σαφριδιών αντιστοιχούσαν στον τύπο Allomonicaecum. Η παρουσία στα σαφρίδια ήταν χαμηλή όπως και η ένταση. Στα Χριστόψαρα η παρουσία και η ένταση δεν αξιολογήθηκαν στατιστικά καθώς το δείγμα των ιχθύων ήταν μικρό.

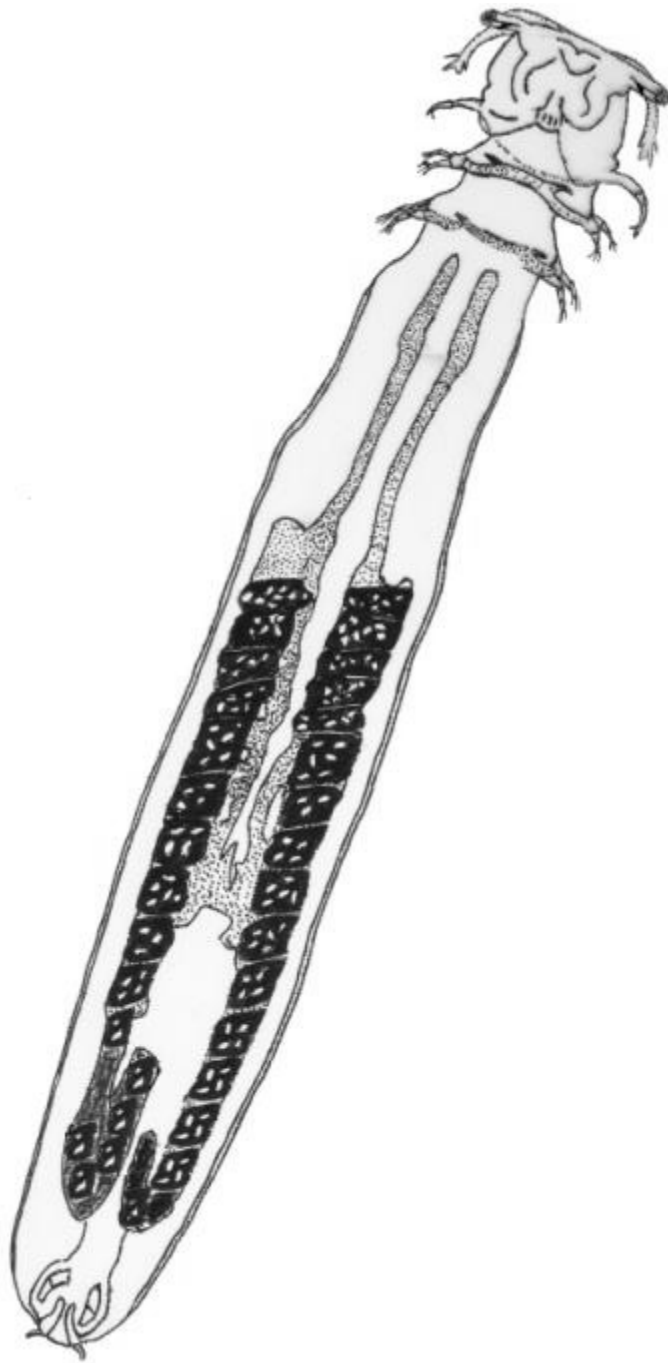


Εικόνα 53. *Didymozoides* sp., μετακερκάρειο τύπου *Neotorticaecum*, μεγέθυνση (40x) του πρόσθιου τμήματος όπου είναι διακριτοί οι δύο μυζητήρες.

1.2.3.3 Κωπήποδα

Subclass: Copepoda
Infraclass: Neocopepoda
Superorder: Podoplea
Order: Siphonostomatoida
Family: Hatschekiidae (Kabata, 1979)
Genus: *Hatschekia* (Poche, 1902)

Hatschekia sargi (Valle, 1882)



Εικόνα 54. *Hatschekia sargi*

Η οικογένεια Hatschekiidae αποτελείται από 5 γένη. Το γένος *Hatschekia* είναι το περισσότερο πολυπληθές της τάξης Siphonostomatoida. Αποτελείται από 80 περίπου είδη η πλειονότητα των οποίων παρασιτεί σε βράγχια ιχθύων που διαβιούν σε θερμά νερά. Το είδος *Hatschekia sargi* είναι κωπήποδο παράσιτο που συναντάται συχνά σε ψάρια της Μεσογείου. Σε μεγαλύτερα γεωγραφικά η εμφάνιση των παρασίτων ελαττώνεται, στον Καναδά για παράδειγμα έχουν αναφερθεί μόνο δύο είδη (Margolis & Zabata 1988).

Σώμα επίμηκες ατρακτοειδές, υποκυλινδρικό. Ο κεφαλοθώρακας στα θηλυκά άτομα διαχωρίζεται από το κύριο σώμα με περίσφιξη. Η γαστέρα δεν είναι ανεξάρτητη από το κυρίως σώμα αλλά μέρος αυτού (κατώτερο τμήμα).

Αποτελέσματα

Στη μονογραφία του Brian (1906) αναφέρονται περιληπτικά κάποια κύρια ταξινομικά χαρακτηριστικά του είδους (Brian σελ68,1906) με την εικονογραφημένη σχεδίαση του παρασίτου να είναι φτωχή σε λεπτομέρειες. Το 1963 ο Yamaguti στη μονογραφία του αναπαριστά το είδος με περισσότερες ανατομικές λεπτομέρειες (plate 179, σχήματα 2a, 2b, 2c). Τα ανατομικά ευρήματα των παρασίτων της παρούσας εργασίας ταυτίζονται με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και των δύο παραπάνω εργασιών.

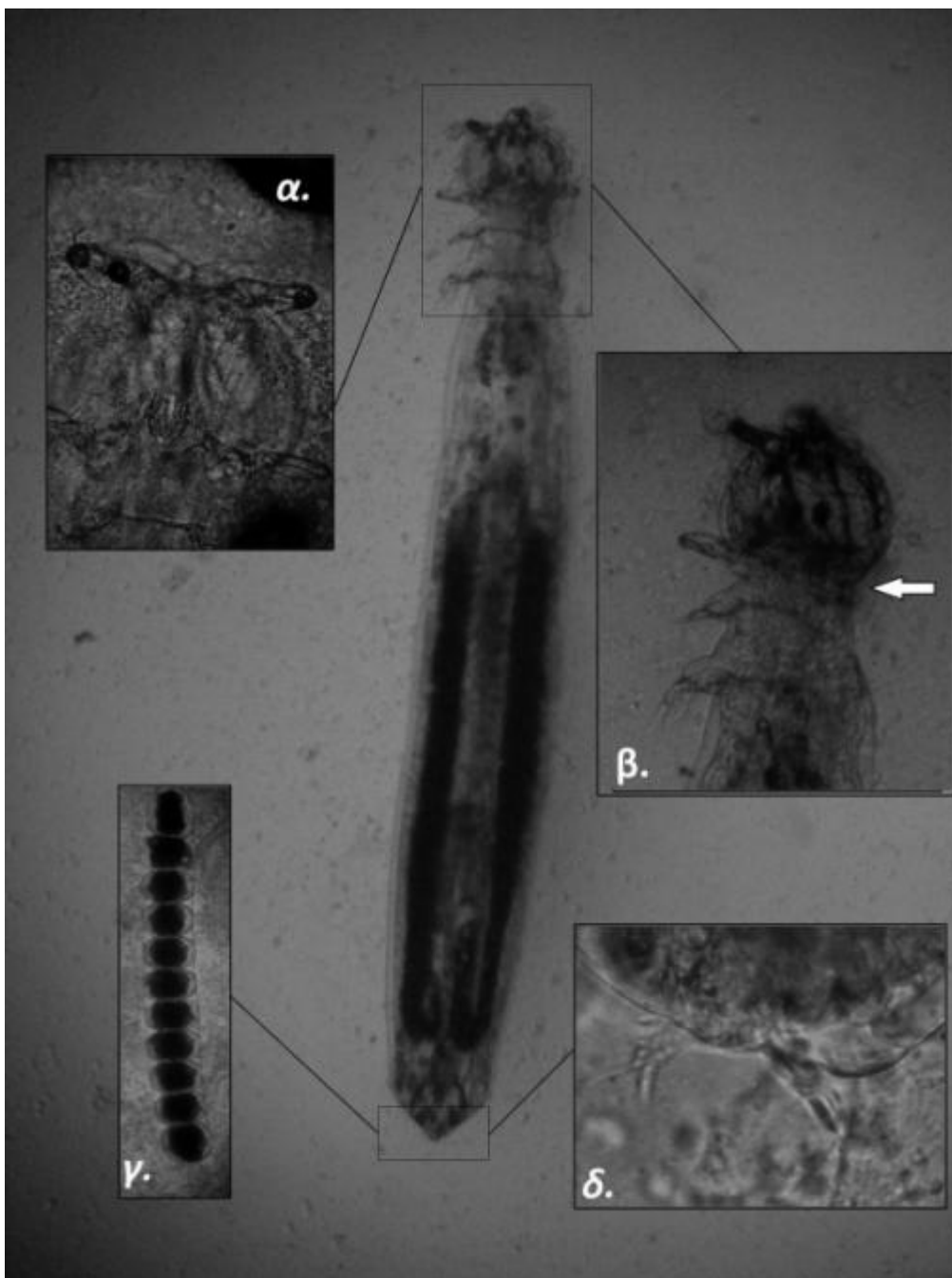
Ο Jones (2014) αμφισβητεί την ταξινομική υπόσταση του είδους *H. sargi*, υποστηρίζοντας ότι το είδος ταυτίζεται με το *H. pagellibogneravei*. Τα δύο είδη διαφέρουν μεταξύ τους, από το έπαρμα που εμφανίζεται στη κατώτερη ραχιαία μοίρα του κεφαλοθώρακα του τελευταίου (*H. pagellibogneravei*). Ο ισχυρισμός του βασίζεται σε σχόλια του Kabata (1979) καθώς επίσης και σε εικονογραφημένη σχεδίαση ενός κωπήποδου παρασίτου σε μονογραφία του Παπουτσόγλου (1976) που αναφέρεται υπό την ονομασία *Hatschekia cornigera*. Η ονομασία αυτή είναι συνώνυμη του *H. pagellibogneravei* και πιθανώς ο συγγραφέας θεωρεί πως περιλαμβάνει ανατομικά χαρακτηριστικά και από τα δύο είδη. Ωστόσο η εικονογραφημένη απόδοση του παπουτσόγλου για το *H. cornigera* είναι υποτυπώδης καθώς εμφανίζεται μόνο η μια πλευρά του παρασίτου (χωρίς να προκύπτουν στοιχεία για τα κεφαλοθωρακικά εξαρτήματα).

Στη παρούσα εργασία, ανεβρέθηκαν παράσιτα και από τα δύο είδη (*H. sargi*, *H. pagellibogneravei*). Τα μορφομετρικά στοιχεία και για τα δύο παράσιτα είναι σχεδόν ίδια και αντιστοιχούν στις μετρήσεις του Jones για το *H. pagellibogneravei*.

Τα παράσιτα του είδους *Hatschekia sargi* δεν έφεραν ραχιαίο έπαρμα, με τα λοιπά ανατομικά χαρακτηριστικά, όπως προαναφέρθηκε παραπάνω, να ταυτίζονται με παλαιότερες εργασίες (Yamaguti 1963, Brian 1906).

Βάση των ανωτέρω θεωρούμε πως το είδος *Hatschekia sargi* διαθέτει χαρακτηριστικά με σημαντικές ανατομικές διαφορές και δεν πρέπει σε καμία περίπτωση να ταυτίζεται με το είδος *H. pagellibogneravei*.

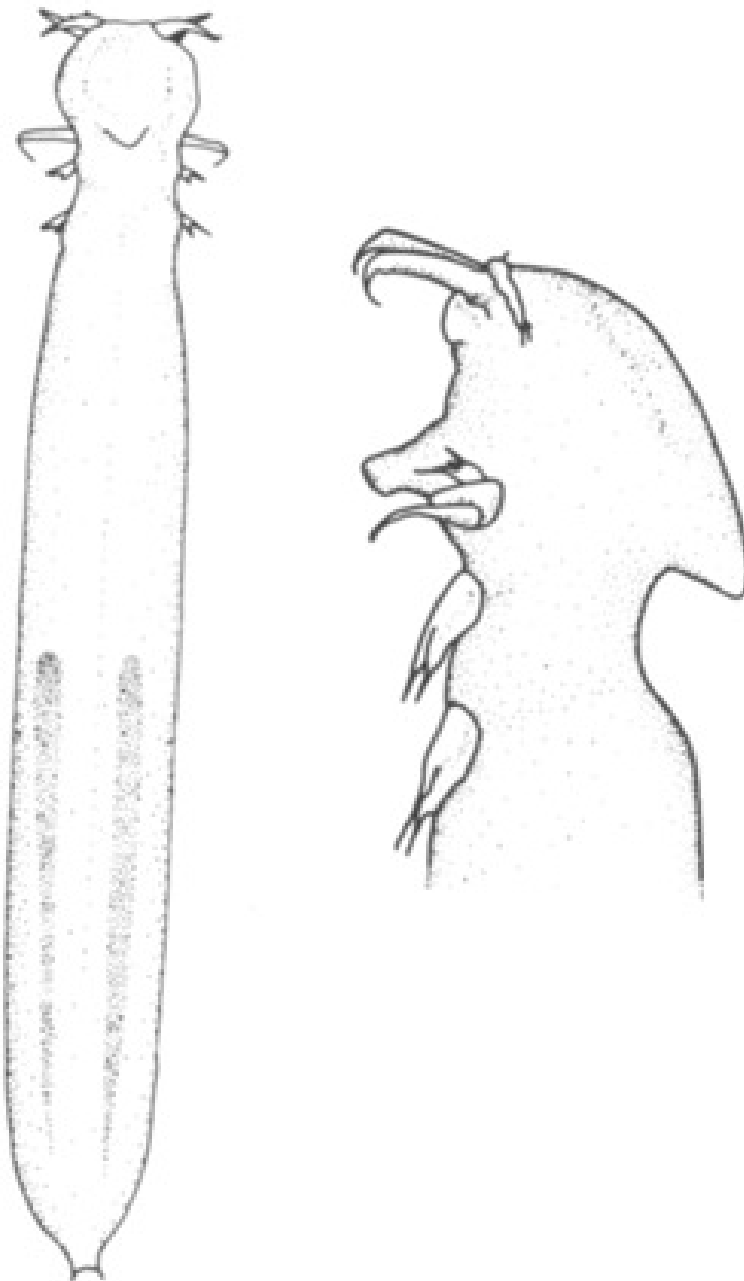
Ανευρέθηκαν συνολικά 12 παράσιτα, σε βράγχια του είδους *Diplodus annularis*.



Εικόνα 55. *Hatschekia sargi*, α) κεφαλοθώρακας, β) απουσία επάρματος (βέλος), γ) αυγά, δ) ουροπόδια

Subclass: Copepoda
Infraclass: Neocopepoda
Superorder: Podoplea
Order: Siphonostomatoida
Family: Hatschekiidae (Kabata, 1979)
Genus: *Hatschekia* (Poche, 1902)

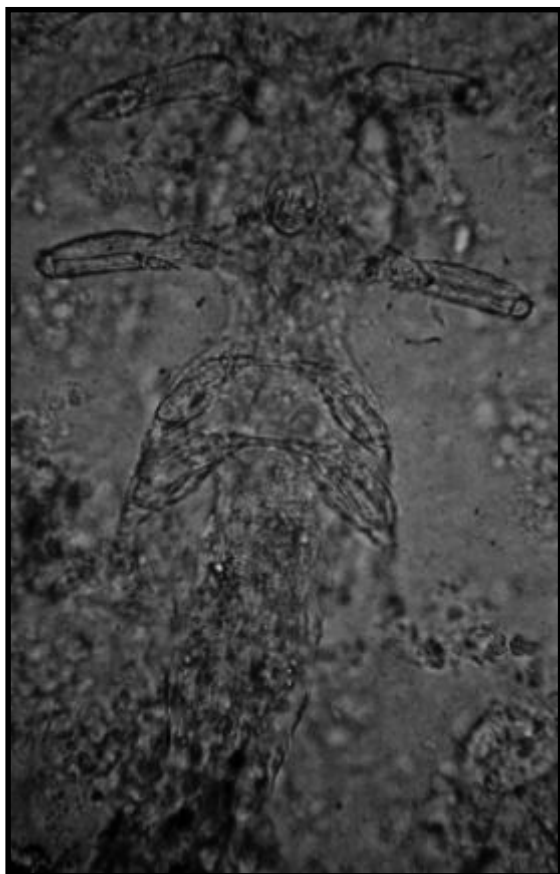
Hatschekia pagellibogneravei (Hesse, 1878)



Εικόνα 56. *Hatschekia pagellibogneravei* (από Kabata 1979)

Η ονομασία του είδους είναι σταθερή από τότε που ανακαλύφθηκε (Valle, 1880). Ο Alessandro Brian το 1906 στη μονογραφία του “*Pesci di Italia*” (Tavole III) κάνει τη πρώτη απόπειρα σχεδιαστικής παρουσίασης του παρασίτου η οποία όμως περιορίζεται στην εξωτερική μορφολογία στην οποία διακρίνονται ελάχιστα ανατομικά χαρακτηριστικά ιδιαίτερα σε ότι αφορά τα εξαρτήματα του κεφαλοθώρακα αλλά και τη ραχιαία πλευρά. Ο Brian εντόπισε το παράσιτο σε αντιπρόσωπα είδη του γένους *Sargus* (Σημερινή ονομασία *Diplodus*), μεταξύ των οποίων και το *Diplodus annularis*, στη γεωγραφική περιοχή της Τριέστης και της Νάπολης. Στη περιγραφή του (σελ 68-69), αναφέρει κάποια γενικά εξωτερικά χαρακτηριστικά χωρίς να υπεισέρχεται σε ανατομικές λεπτομέρειες.

Ο Παπουτσόγλου το 1974 στη μονογραφία του με τίτλο “*Μελέτη μετάζωων παρασίτων ιχθύων του Σαρωνικού κόλπου*”, παρουσιάζει σε σχηματική απεικόνιση μεταξύ έτερων αντιπροσώπων του γένους και το *H. cornigera* (σημερινή ονομασία



Εικόνα 57. *Hatschekia pagellibogneravei*, άρρεν άτομο. Νωπό επίχρισμα εντέρου Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 40x.

η οποία και τα διαφοροποιεί είναι το έπαρμα που εντοπίζεται στη ραχιαία ακροτελεύτια οπίσθια μοίρα του κεφαλοθώρακα στο είδος *H. Pagellibogneravei* (Εικόνα 58α,β, λευκά βέλη).

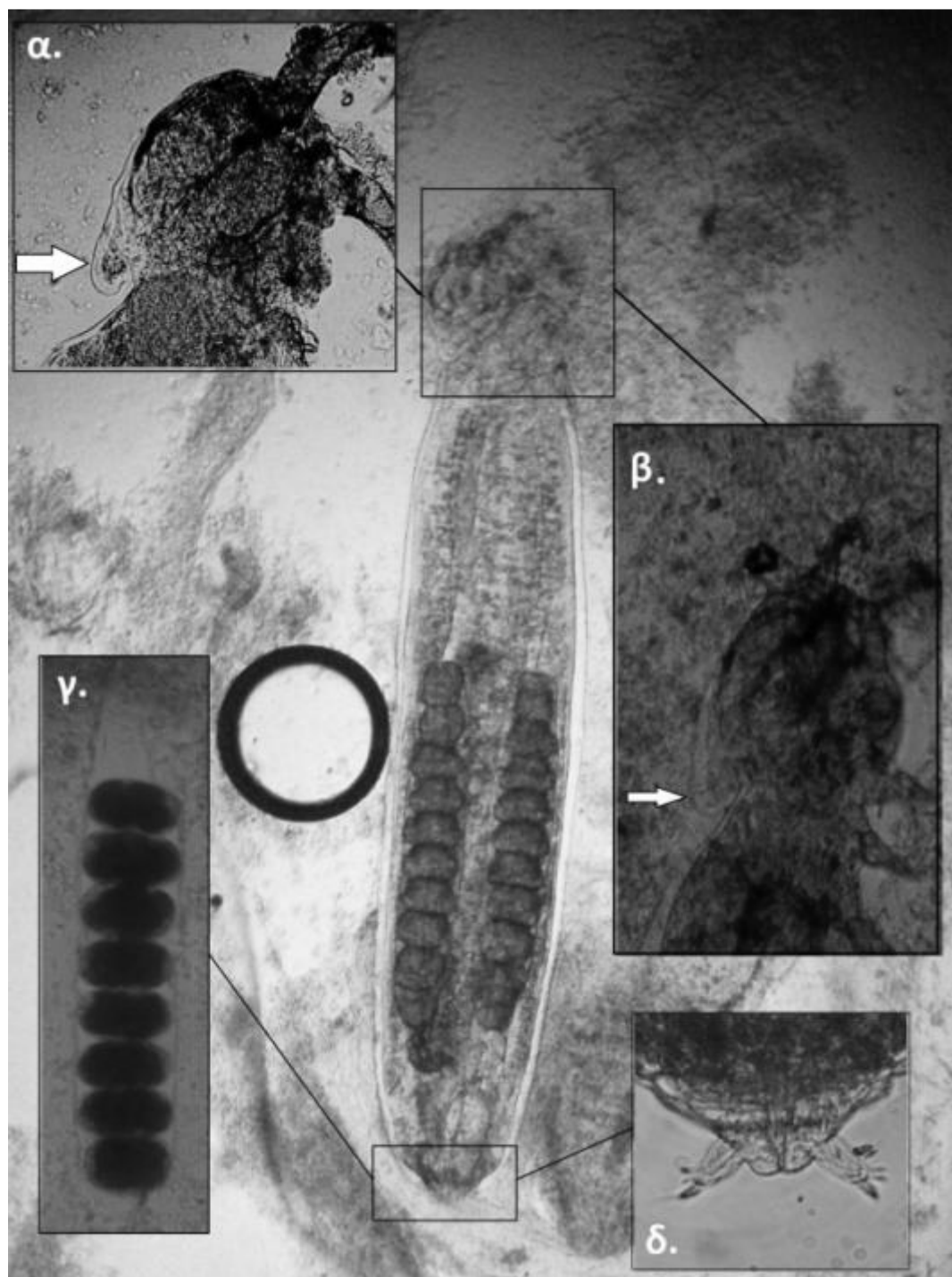
H. pagellibogneravei) (εικόνα 33, σχήμα 122), το οποίο και εντόπισε σε ψάρια του είδους *Diplodus annularis*. Στη περιγραφή του για το είδος (σελ 96), αναφέρει την ύπαρξη “κερατοειδούς προεξοχής” στην “οπίσθια” (ραχιαία) πλευρά.

Ο Jones (1985) έχοντας συγκρίνει τις δύο παραπάνω εργασίες εκτιμά πως το είδος *H. sargi* και το *H. pagellibogneravei* ταυτίζονται καθώς αφενός εντοπίστηκαν στο ίδιο είδος (*D. annularis*) και αφετέρου σε όμορες εγγύς περιοχές.

Συγκριτικά τα δύο είδη δεν διαφέρουν σημαντικά σε μήκος ενώ και τα κεφαλοθωρακικά εξαρτήματα ομοιάζουν. Η μόνη ανατομική διαφορά

Αποτελέσματα

Όλα τα παράσιτα ανευρέθηκαν στα βράγχια του είδους *Pagellus acarne* (Μουσμούλι). Η παρουσία ήταν μέση ενώ η ένταση μικρή. Τα περισσότερα παράσιτα βρέθηκαν την άνοιξη χωρίς όμως να προκύπτουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε αυτή την εποχικότητα. Επίσης είναι η πρώτη φορά που παρατηρήθηκε αρσενικό άτομο (Εικόνα 57).



Εικόνα 58. *Hatschekia ragellibognerae* α,β) έπαρμα κεφαλοθώρακα (βέλος), γ) αυγά, δ) ουροπόδια

Subclass: Copepoda

Infraclass: Neocopepoda

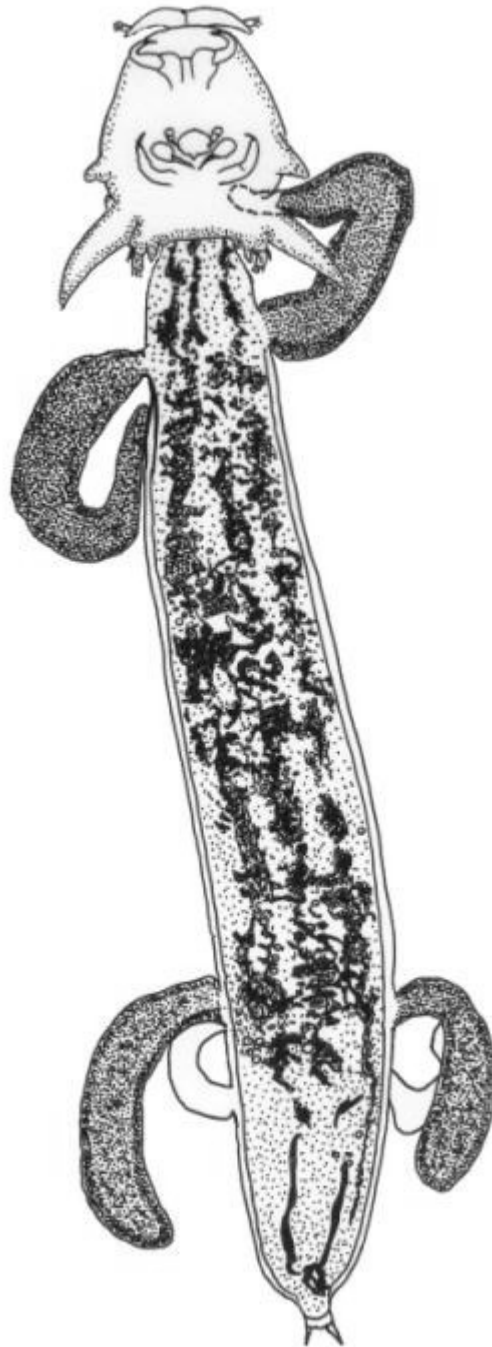
Superorder: Podoplea

Order: Poecilostomatoida

Family: Chondracanthidae (Milne Edwards, 1840)

Genus: *Protochondracanthus* (Kirtisinghe, 1950)

Protochondracanthus alatus (Heller, 1865)



Εικόνα 59. *Protochondracanthus alatus*

Συνώνυμα είδη τα *Chondracanthus alatus* Heller, 1865, *Chondracanthus angustatus* Heller, 1865 *Chondracanthus bifurcatus* Capart, 1959, *Protochondracanthoide sangustatus* Heller, 1865 και *Protochondracanthus psettodis* Kirtisinghe, 1950.

Το θηλυκό γένος διαθέτει επίμηκες ατρακτοειδές σώμα. Το πλάτος του σώματος είναι μικρότερο ή ίσο αλλά όχι μεγαλύτερο από το πλάτος της κεφαλής. Το κεφάλι υποστρόγγυλο διαχωρίζεται από το υπόλοιπο σώμα με μια περίσφιξη. Στη βάση της κεφαλής στο σημείο της περίσφιξης εντοπίζεται πλευρικά ένα ζεύγος ακίδων το οποίο ανήκει τοπογραφικά στα εξαρτήματα της κεφαλής. Η κεφαλή διαθέτει 2 ζεύγη κεραιών. Το 1^ο ζεύγος κεραιών βρίσκεται στο ανώτερο τμήμα της κεφαλής και χωρίζεται σε δύο μεταμερίδια. Το μεταμερίδιο έκφυσης ή βασικό μεταμερίδιο είναι σαφώς το μεγαλύτερο και εξαντλείται λεπυνόμενο σε αμβλεία άκρη με κατεύθυνση οπισθοπλευρική. Το δεύτερο μεταμερίδιο, αγκαθοφόρο, εκφύεται στην άκρη σχεδόν του πρώτου μεταμεριδίου. Το 2^ο ζεύγος κεραιών είναι επίσης διμερές με το δεύτερο μεταμερίδιο (ακρότατο) να είναι γαμψόμορφο. Στη περιοχή της κεφαλής, εκτός από τις κεραιές, εντοπίζονται 2 ζεύγη γνάθων, ένα ζεύγος γναθοπόδιων και δύο ζεύγη ποδιών. Τόσο το πρώτο όσο και το δεύτερο ζεύγος γνάθων διαθέτουν ακρότατα ακανθόμορφα μεταμερίδια και εντοπίζονται στη κοιλιακή πλευρά της κεφαλής. Τα γναθικά πόδια δεν είναι ομοιομεγέθη αλλά άνισα. Το κατώτερο πόδι είναι το μεγαλύτερο και είναι διφυές με την δεύτερη ποδική έκφυση να είναι υποτυπώδης, ενώ και τα δύο ζεύγη ποδιών εκφύονται πλευρικά.

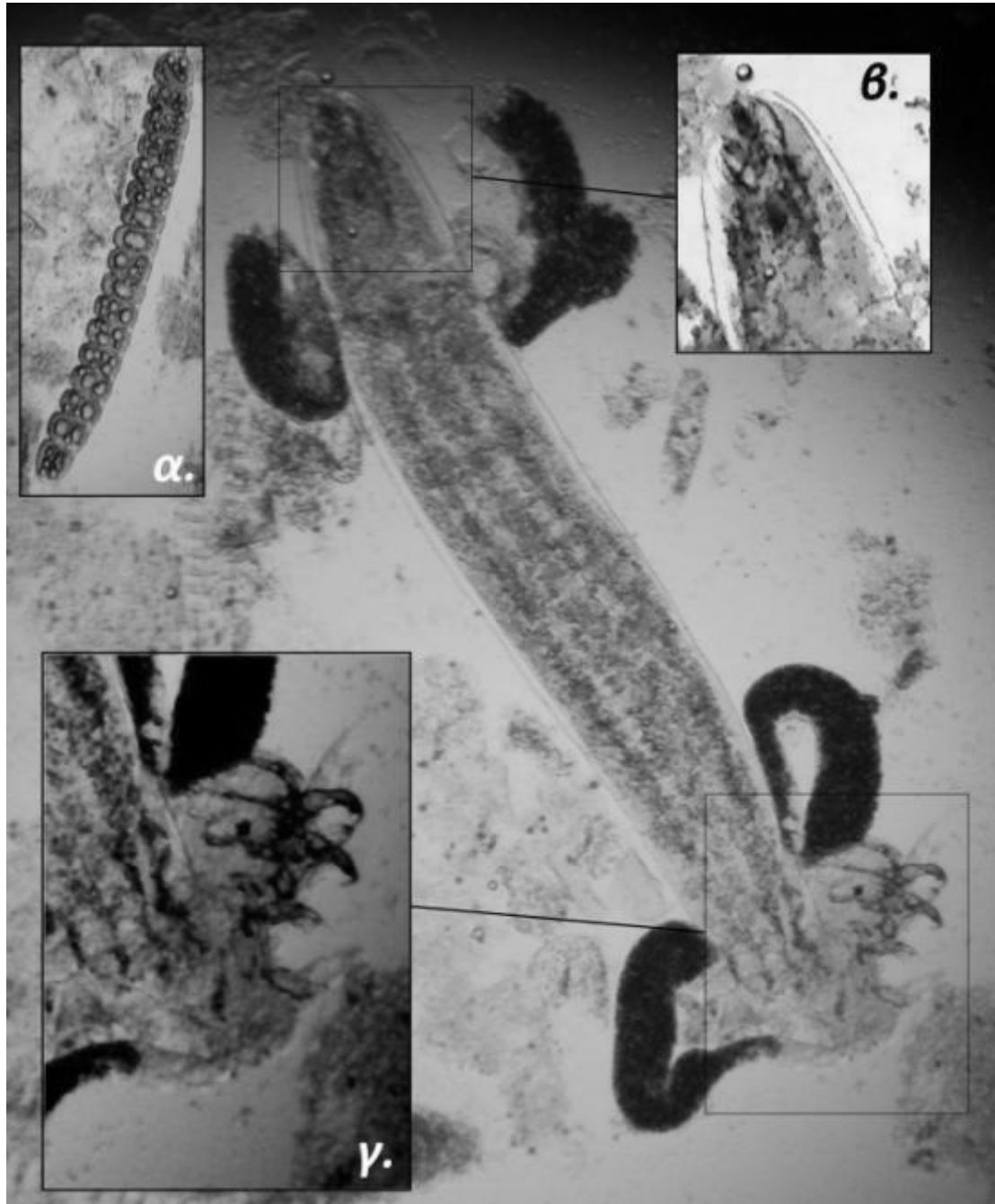
Το κύριο σώμα, επίμηκες, φέρει δύο ζεύγη πλευρικά προεξεχόντων μακροσκελών προσαρτημάτων. Το ζεύγος που εκφύεται από το ανώτερο τμήμα του θώρακα είναι μακρύτερο από το κατώτερο (σχεδόν διπλάσιο σε μέγεθος). Αυτές οι προσαρτήσεις του γεννητικού τμήματος απομακρύνονται από το σώμα, λεπυνόμενες με κατεύθυνση οπισθοπλευρική.

Η γαστέρα είναι μικρή μονομερής από όπου εκφύονται δύο ουραίοι κλάδοι κωνικού σχήματος. Το θηλυκό φέρει δύο μονόστοιχους ωοφόρους σάκους (εικόνα 60α). Πρόκειται για παράσιτο που εντοπίζεται στην Μεσόγειο θάλασσα.

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκε συνολικά 1 παράσιτο, σε βράγχια του είδους *Pagellus erithrinus*. Πολύ ενδιαφέρον ανατομικό εύρημα η τοπογραφική εντόπιση του δεύτερου ζεύγους γεννητικών προσαρτημάτων όπου δεν εκφύονται κοντά στη γαστέρα (όπως παρουσιάζεται στη μονογραφία του Yamaguti (1985), αλλά σε απόσταση από αυτή.

Εκτός από αυτή την απόκλιση στο σημείο της έκφυσης παρουσιάζεται και ένα επιπρόσθετο ζεύγος κοιλιακών ποδιών σε ελάχιστη απόσταση από το σημείο έκφυσης του δεύτερου ζεύγους γεννητικών προσαρτημάτων.



Εικόνα 60. *Protochondracanthus alatus*, α) αυγά, β) οπίσθια μούρα παρασίτου, γ) κεφλοθώρακας (διπλωμένος). Νωπό επίχρισμα βραγχίου Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x.

Subclass: Copepoda
Infraclass: Neocopepoda
Superorder: Podoplea
Order: Siphonostomatoida
Family: Caligidae (Burmeister, 1835)
Genus: *Caligus* (O.F. Müller, 1785)

Caligus sp.



Εικόνα 61. *Caligus sp.*

Πολυπληθές γένος που αποτελείται με πάνω από 250 είδη και υποείδη (257 σύμφωνα με W.O.R.M.S.). Έχουν παγκόσμια εξάπλωση και όλα παρασιτούν στα βράγχια, το δέρμα και τη στοματική κοιλότητα θαλάσσιων ιχθύων. Ο κύκλος ζωής τους είναι κατά κανόνα άμεσος (ένας ξενιστής) και περιλαμβάνει αρκετά στάδια. Τα τελευταία χρόνια έχει καταβληθεί προσπάθεια για την αναγνώριση αυτών των σταδίων με σκοπό να αντιμετωπιστούν έγκαιρα οι σοβαρές θνητότητες που αυτά τα παράσιτα προκαλούν στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς ιχθύων.

Τα ώριμα θηλυκά άτομα φέρουν δύο μονόστοιχους ωοφόρους σάκους στους οποίους ο αριθμός και το μέγεθος των αυγών διαφέρει ανά είδος. Τα αυγά αποβάλλονται από το θηλυκό και από αυτά εκκολάπτονται οι ναύπλιοι. Οι πλαγκτονικές αρχικές μορφές αδυνατούν να κινηθούν ενεργά και έτσι παρασύρονται από τα θαλάσσια ρεύματα, παρόλα αυτά ακόμη και σε αυτό το στάδιο έχουν την δυνατότητα με ειδικούς μηχανισμούς να διατηρούνται σε ένα επιθυμητό βάθος στη στήλη του νερού.

Το σώμα του παρασίτου διαχωρίζεται σε 3 τμήματα, τον κεφαλοθώρακα, τη γαστέρα και το γεννητικό σύμπλεγμα. Χαρακτηριστικό ταξινομικό γνώρισμα των παρασίτων του γένους *Caligus* είναι η ύπαρξη ενός ζεύγους μηνίσκων στη μετωπιαία πλάκα της κοιλιακής πλευράς του κεφαλοθώρακα. Παλαιότερα αυτό το χαρακτηριστικό το μοιραζόταν και το γένος *Pseudocaligus* το οποίο όμως δεν υφίσταται πλέον καθώς συγχωνεύτηκε στο γένος *Caligus*. Οι μηνίσκοι είναι εξαρτήματα προσάρτησης και το μέγεθος τους διαφέρει ανά είδος. Στο κέντρο της μετωπιαίας πλάκας ενδιάμεσα των μηνίσκων παρουσιάζεται ή όχι εγκόλπωμα το οποίο και αποτελεί ταξινομικό ανατομικό χαρακτηριστικό διαφοροποίησης ανάμεσα στα είδη του γένους *Caligus*.

Όλα τα εξαρτήματα ενεργούς κίνησης και συγκράτησης εντοπίζονται στη κοιλιακή πλευρά του κεφαλοθώρακα. Η ραχιαία πλευρά δε φέρει εξαρτήματα κίνησης και ομοιάζει με ασπίδα, επίπεδη σχεδόν στο σύνολο της επιφάνειας της. Η ραχιαία επιφάνεια φέρει ραφές οι οποίες διαφοροποιούνται ανά είδος και αποτελούν ταξινομικό χαρακτηριστικό. Στη περιφέρεια του κεφαλοθώρακα, οπισθίως της κεφαλικής ραφής εντοπίζεται η επιχείλια μεμβράνη τα όρια της οποίας είναι διακριτά τόσο από τη κοιλιακή όσο και από τη ραχιαία πλευρά.

Ξεκινώντας από τον κεφαλοθώρακα, εκατέρωθεν των μηνίσκων εκφύεται το πρώτο ζεύγος κεραιών το οποίο είναι αρθρωτό. Το δεύτερο ζεύγος κεραιών εκφύεται κοιλιακά σε μικρή απόσταση από τους μηνίσκους. Οι κεραιές αυτές είναι επίσης

αρθρωτές με την τελευταία ακρότατη άρθρωση να έχει αγκιστροειδή μορφή. Πλευρικά, εκατέρωθεν και οπισθίως του κεραιϊκού ζεύγους εντοπίζονται οι μετακεραιϊκές αγκιστροειδείς προβολές, μια σε κάθε πλευρά, οι οποίες είναι μη αρθρωτές. Ακριβώς κάτω από το δεύτερο ζεύγος κεραιών εκφύεται το 1^ο ζεύγος γναθιδίων τα οποία είναι διφυή και αγκιστρόμορφα. Ο στοματικός σωλήνας βρίσκεται κεντρικά, ανάμεσα σχεδόν του 2^{ου} ζεύγους κεραιών και των 1^{ων} γναθιδίων.

Οπισθίως των 1^{ων} γναθιδίων εκφύονται τα 2^{ης} τάξης γναθίδια τα οποία είναι αρθρωτά, με την τελικά άρθρωση να παρουσιάζει διφυείς απολήξεις. Τα 1^{ης} τάξεως γναθίδια είναι εγγύς τοπογραφικά από τα 2^{ης} τάξης, τόσο, ώστε τις περισσότερες φορές να θεωρούνται ως μια κατασκευή.

Περίπου στο μέσο του κεφαλοθώρακα κάτω από τα 2^{ης} τάξης γναθίδια εκφύονται υποκεντρο-κοιλιακά γναθοπόδια, δύο σε αριθμό συνολικά (1 ζεύγος). Ανάμεσα στα γναθοπόδια, κεντρικά, ανευρίσκεται το στερνικό εφίππιο, το οποίο αποτελεί μια ιδιαίτερη κατασκευή η μορφολογία της οποίας αποτελεί και ταξινομικό χαρακτηριστικό διάκρισης ανάμεσα στα είδη του γένους *Caligus*.

Τα υπόλοιπα ανατομικά εξαρτήματα του κεφαλοθώρακα είναι τα 4 ζεύγη ποδιών. Τα πόδια εκφύονται ανά ζεύγος από ζευκτήρες. Ο ζευκτήρας του 3^{ου} ζεύγους ποδιών είναι εκτεταμένος και αποτελεί το κατώτερο σημείο του κεφαλοθώρακα. Κάθε πόδι είναι αρθρωτό και εκφύονται δευτερεύοντα εξωπόδια με πολυάριθμα τριχίδια.

Μετά το κεφαλοθώρακα ακολουθεί το γεννητικό τμήμα και συνέχεια αυτού αποτελεί η γαστέρα. Το γεννητικό τμήμα στο θηλυκό φέρει υποτυπώδεις δομές του 5^{ου} ζεύγους ποδιών ενώ το γεννητικό τμήμα του αρσενικού φέρει άρτια σχηματισμένα εξαρτήματα του 5^{ου} ζεύγους ποδιών και ενός 6^{ου}.

Αποτελέσματα

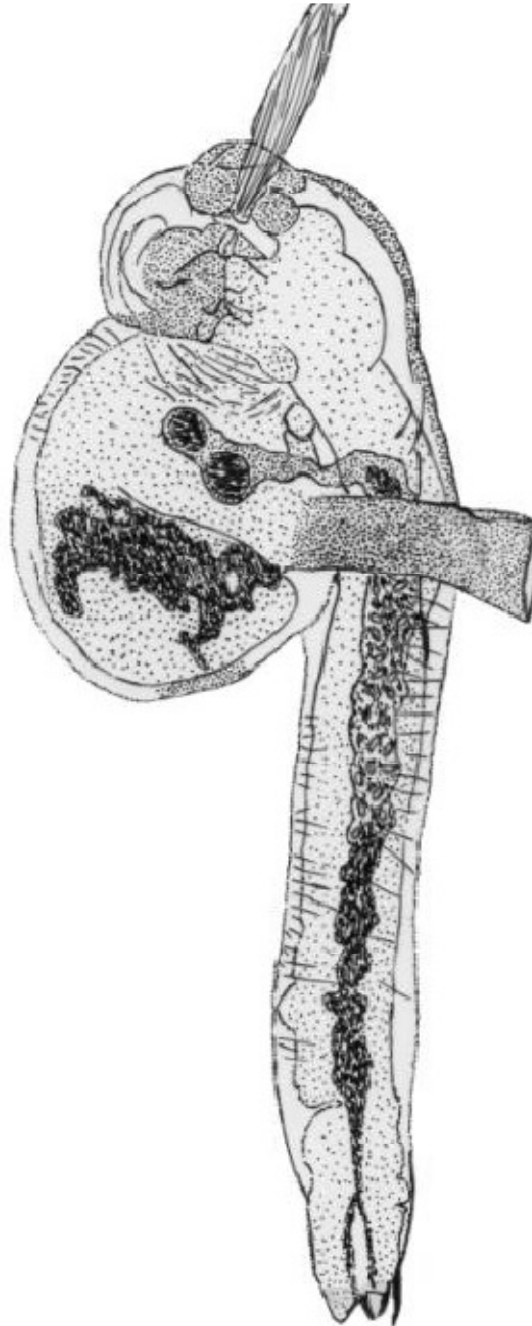
Ανευρέθηκαν πολυάριθμα παράσιτα, στη στοματική και περιβραγχιακή κοιλότητα καθώς επίσης και στα βραγχιακά επικαλύμματα σε λαβράκια. Ως κοινό παράσιτο στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς λαβρακιών, η εμφάνιση του ήταν συχνή με μεγάλη ένταση (έως και >70 παράσιτα/ άτομο). Η παρουσία του παρασίτου ήταν σαφώς εντονότερη τη περίοδο του καλοκαιριού και του φθινοπώρου ενώ άτονη τη χειμερινή και εαρινή περίοδο.



Εικόνα 62. *Caligus* sp. Νωπό επίχρισμα, μεγέθυνση 4x.

Subclass: Copepoda
Infraclass: Neocopepoda
Superorder: Podoplea
Order: Siphonostomatoida
Family: Lernaeopodidae (Milne Edwards, 1840)
Genus: *Clavella* (Oken, 1815)

Clavella sargi (Valle, 1882)



Εικόνα 63. *Clavella sargi*

Παράσιτο των βραγχίων των ιχθύων του γένους *Diplodus*. Κυρίως εντοπίζεται στα είδη *Diplodus vulgaris* και *Diplodus annularis* κατά βάση στην Αδριατική θάλασσα, στις Ιταλικές και στις Ελληνικές ακτές. Σε βιβλιογραφικές αναφορές πριν το 1900 μπορεί να συναντηθεί και υπό την ονομασία *Anchorella sargi* (Kurz, 1877).

Το ιδιαίτερης μορφολογίας σώμα του διευκολύνει την ταυτοποίηση του μεταξύ των υπολοίπων ειδών του γένους. Για τη περιγραφή του είδους που θα ακολουθήσει, υιοθετήθηκε η ονοματολογία των οργάνων και των εξαρτημάτων σύμφωνα με τους Brusca & Brusca (2003, 2^η Έκδοση).

Η κεφαλική μοίρα σαφώς μικρότερη σε μέγεθος από τη θωρακική είναι εξοπλισμένη με ένα επίμηκες όργανο προσκολλησεως (Εικόνα 64α). Ο θώρακας είναι ωοειδής έως σφαιρικός στην οπίσθια μοίρα του οποίου εντοπίζεται το γεννητικό τμήμα το οποίο εμφανίζεται ως μια επιμήκης σωληνοειδής έκφυση (Εικόνα 64, λευκό βέλος). Στο σημείο σύνδεσης μεταξύ της κεφαλικής και θωρακικής μοίρας εντοπίζεται ένα θηλοειδές έπαρμα (εικόνα 64ε) το οποίο είναι χαρακτηριστικό για το είδος και το οποίο παρουσιάστηκε για πρώτη φορά στη μονογραφία του Brian (1906) στη σχεδιαστική αναπαράσταση του είδους (Tavole IX, Σχήμα 2). Από τη κεφαλική μοίρα εκφύεται μια ισχυρή ευκίνητη γνάθος η οποία εκτείνεται μακριά από το κεφαλοθώρακα, και η οποία στο ακροτελεύτιο άκρο της φέρει εξαρτήματα (Εικόνα 64β,γ).

Το αρσενικό αρκετές φορές μικρότερο σε μέγεθος του θηλυκού, δεν διαθέτει στην ενήλικη του μορφή όργανα πλεύσης. Στην ανώριμη του μορφή διαθέτει μηχανισμούς ενεργούς μετακίνησης τους οποίους χρησιμοποιεί για να εντοπίσει το θηλυκό άτομο. Το αρσενικό προσαρτάται στο θηλυκό όντας ακόμη ανώριμο. Στη συνέχεια ενηλικιώνεται και παραμένει προσαρτημένο στο σώμα του θηλυκού ανίκανο πλέον να μετακινηθεί.

Μέσα από αυτή τη εργασία εντοπίστηκε για πρώτη φορά αρσενικό άτομο του είδους *Clavella sargi* να παρασιτεί πάνω στο σώμα θηλυκού. Το σημείο προσάρτησης είναι κοντά στα εξαρτήματα της γνάθου (Εικόνα 64δ,μαύρο βέλος) με το σώμα του αρσενικού να εμφανίζεται υποστρόγγυλο. Θεωρούμε πως το σημείο εντοπισμού του δεν είναι τυχαίο καθώς η προσάρτηση έγινε πλησίον των οργάνων θρέψης.

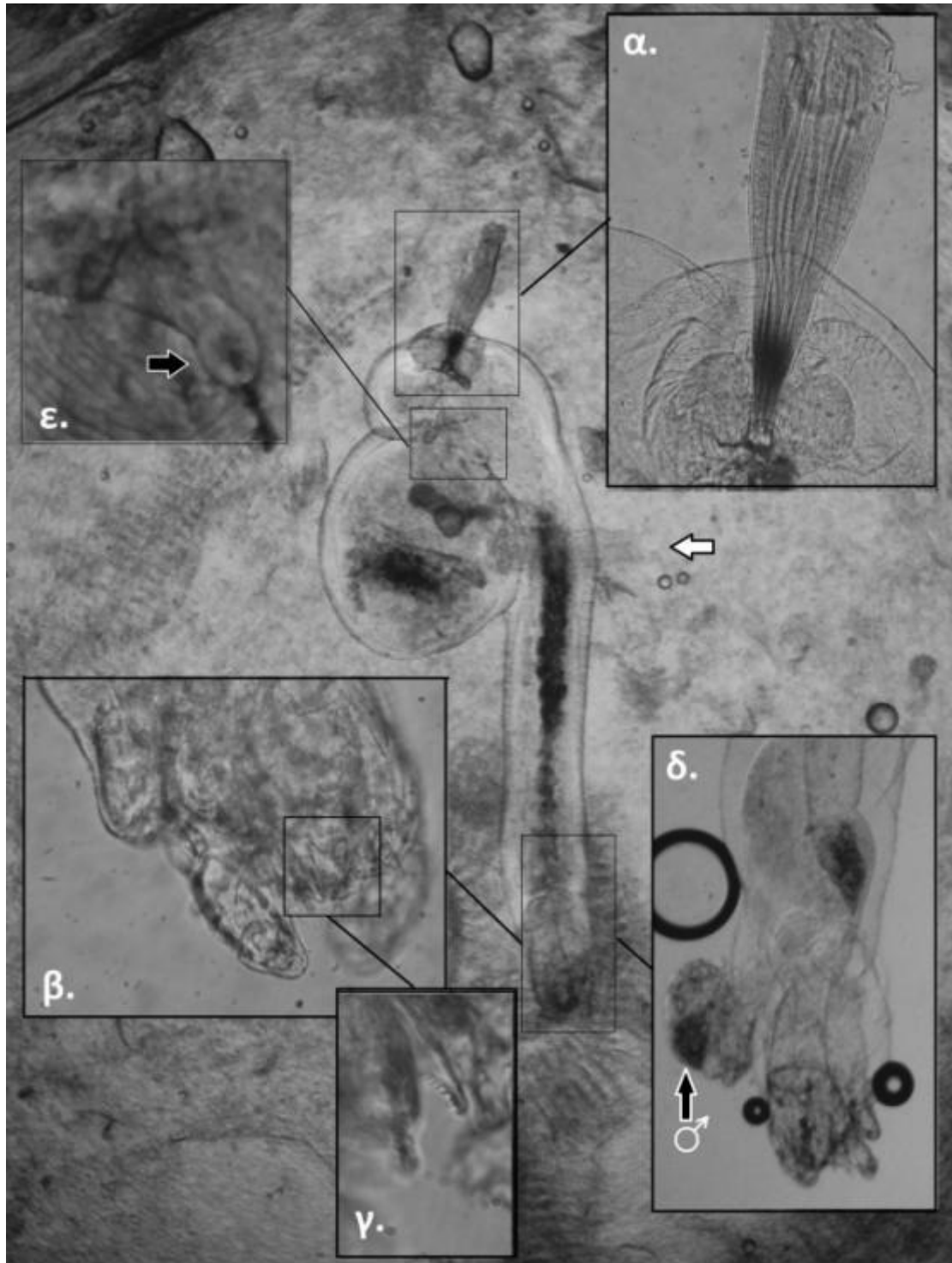
Το 1975 ο Παπουτσόγλου παρουσίασε μια σχηματική απεικόνιση ενός θηλυκού παρασίτου το οποίο σαφώς φέρει όλα εκείνα τα χαρακτηριστικά για το είδος *C. sargi* με μικρές διαφοροποιήσεις κυρίως ως προς τη θέση του οργάνου προσκολλησεως το οποίο παρουσιάζεται σε μεγαλύτερη απόσταση από τη κεφαλική

μοίρα από την πραγματική (Παπ.,1975, Εικόνα 33, σχήμα 123). Ο Jones (1985) θεωρεί κατηγορηματικά πως δεν πρόκειται για το *C. sargi* αλλά για το *Clavellopsis sargi* (Kurtz, 1877), πιθανότατα εξαιτίας αυτών των μικρών αποκλίσεων στη σχηματική απεικόνιση του Παπουτσόγλου για το είδος.

Θεωρούμε πως βάσει των παραπάνω ευρημάτων αποκλείεται η πιθανότητα τα ευρεθέντα παράσιτα να ανήκουν στο είδος *Clavellopsis sargi* καθώς η μορφολογία και το μήκος του συστήματος προσκόλλησης (Εικόνα 64α) δεν συνάδουν με τα ανατομικά χαρακτηριστικά του είδους. Πολύ δε περισσότερο τόσο η μορφολογία όσο και το σημείο εντόπισης του αρσενικού ατόμου δεν συμφωνούν με τα ευρήματα του Yamaguti για το *Clavellopsis sargi* (*Par. Cop. & Bran. Of Fishes*, 1985 Indian reprint, part II, pp 957, plate 283, fig. 1).

Αποτελέσματα

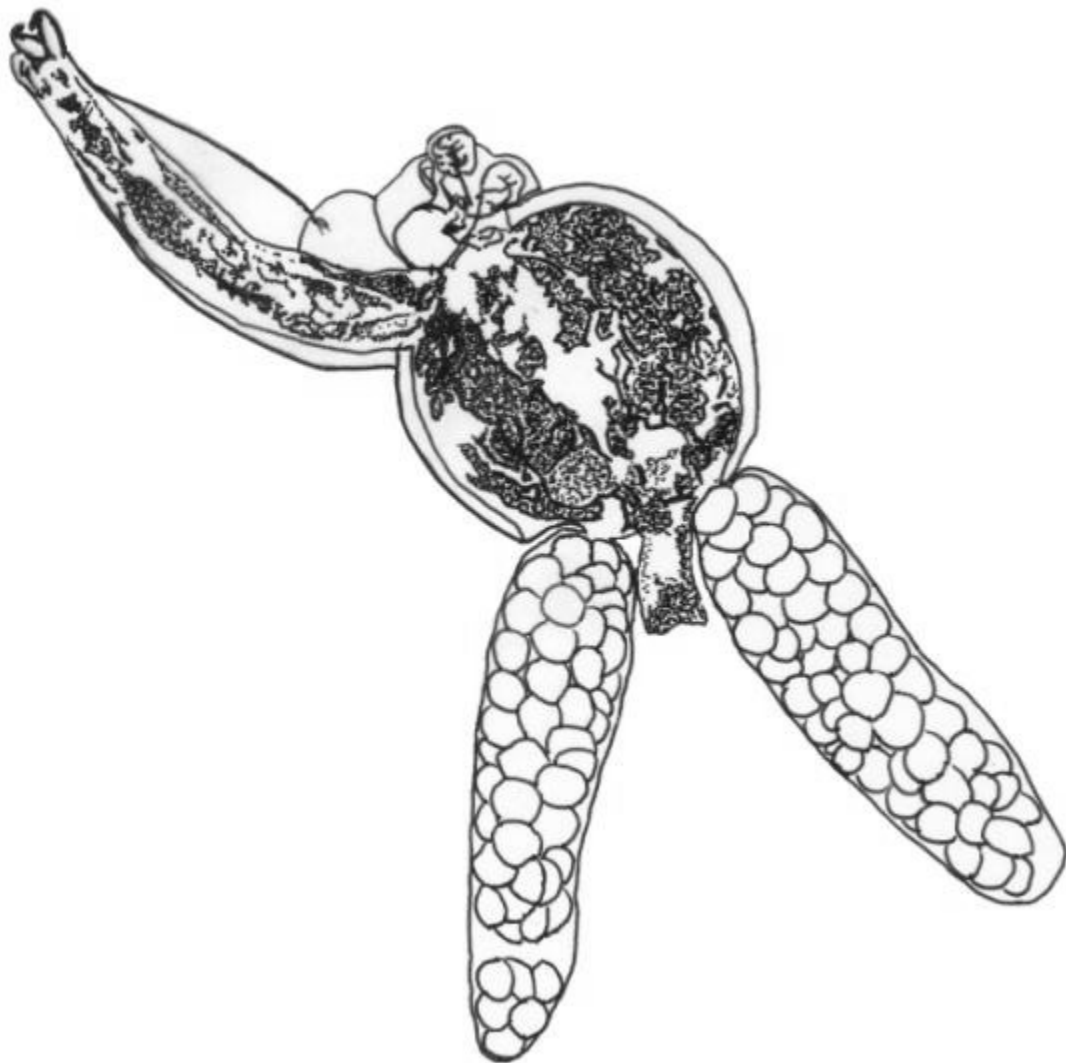
Ανευρέθηκαν συνολικά 4 παράσιτα σε 3 από τους 25 συνολικά ιχθείς του είδους *D. annularis*. Τα παράσιτα εμφάνισαν εποχική εμφάνιση καθώς και τα 4 εντοπίστηκαν την άνοιξη. Όπως προκύπτει από τα παραπάνω η παρουσία και η ένταση για το Φθινόπωρο, το Χειμώνα και το Καλοκαίρι ήταν μηδενική.



Εικόνα 64. *Clavella sargi*, λευκό βέλος: γεννητικό τμήμα, α) όργανο προσκολλήσεως, β) γνάθος, γ) εξαρτήματα γνάθου δ) αρσενικό άτομο (βέλος) προσκολλημένο περιγναθικά (υπερπαρασιτισμός), ε) θηλοειδές έπαρμα. Νωπό επίχρισμα βραγχίου Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 4x.

Subclass: Copepoda
Infraclass: Neocopepoda
Superorder: Podoplea
Order: Siphonostomatoida
Family: Lernaeopodidae (Milne Edwards, 1840)
Genus: *Clavellopsi* (Wilson, 1915)

Clavellopsi sargi (Kurz, 1877)



Εικόνα 65. *Clavellopsi sargi*

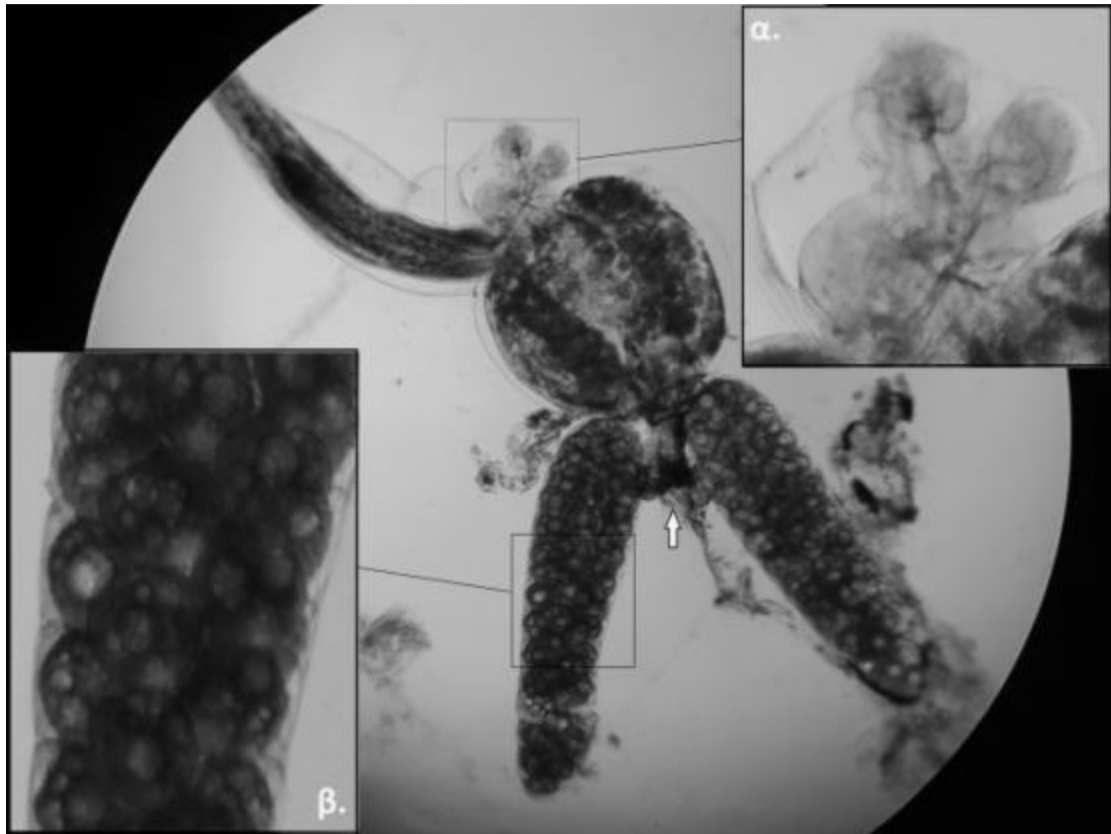
Συνώνυμο είδος *Anchorella sargi*, κοινό παράσιτο των ιχθύων του γένους *Diplodus* και δη του είδους *D. annularis*. Συναντάται κυρίως στην Αδριατική και στη Μεσόγειο.

Η κεφαλική μοίρα φέρει δύο χαρακτηριστικά για το είδος λοβιόμορφα εξαρτήματα που εκφύονται αμφίπλευρα, ο λειτουργικός ρόλος των οποίων πιθανότατα εξυπηρετεί τη προσκόλληση στο ξενιστή. Η γνάθος μυώδης, ευκίνητη προεκτείνεται σε κάποια απόσταση από το υπόλοιπο σώμα, στο ακροτελεύτιο άκρο της οποίας εντοπίζονται τα γναθοπόδια. Χαρακτηριστικό ανατομικό χαρακτηριστικό είναι μια σακοειδής άχρωμη διαφανής μεμβράνη η οποία περιβάλλει χαλαρά τόσο τη γνάθο όσο και τον κεφαλοθώρακα. Χαρακτηριστικό το οποίο παρουσιάζεται και στη σχηματική απεικόνιση του Yamaguti για το είδος (*Par. Cop. & Bran. Of Fishes*, 1985 Indian reprint, part II, pp 957, plate 283, fig. 1). Η θωρακική μοίρα αυστηρά ωοειδείς- σφαιρική σαφώς μεγαλύτερη από τη κεφαλική μοίρα.

Το γεννητικό τμήμα το οποίο εμφανίζεται ως μια επιμήκης σωληνοειδής έκφυση, έχει θέση οπισθίως της θωρακικής μοίρας ανάμεσα από τους ωοφόρους σάκους (Εικόνα 66, βέλος). Οι ωοφόροι σάκοι ανεπτυγμένοι φέρουν πολυάριθμα αυγά (Εικόνα 66β).

Αποτελέσματα

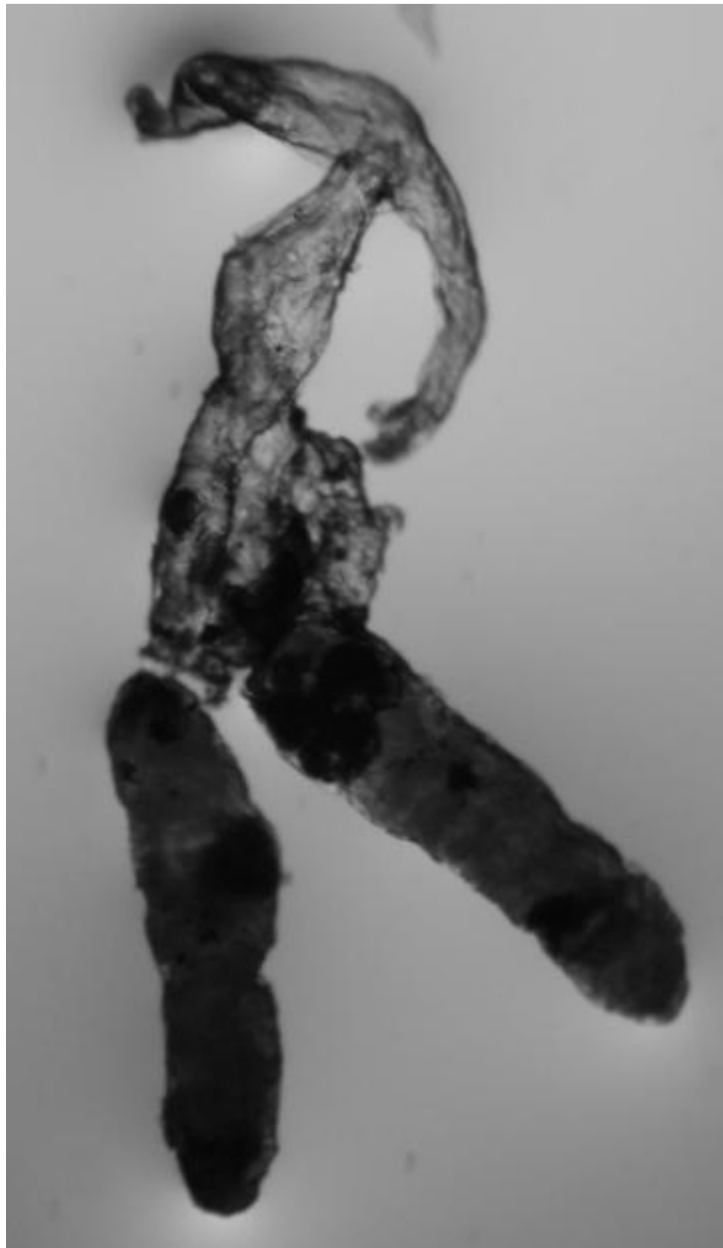
Ανευρέθηκαν συνολικά 2 θηλυκά παράσιτα στα βράγχια ενός από τους 25 συνολικά ιχθείς του είδους *D. annularis* που εξετάστηκαν. Σε κανένα από τα δύο παράσιτα δεν παρατηρήθηκε αρσενικό άτομο να υπερπαρασιτεί, ενώ έφεραν ανεπτυγμένους ωοφόρους σάκους.



Εικόνα 66. *Clavellopsis sargi*, γεννητικό τμήμα (λευκό βέλος), α) λοβιόμορφα εξαρτήματα κεφαλικής μοίρας,, β) αυγά ωοφόρου σάκου. Νωπό επίχρισμα βραγχίου Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x.

Subclass: Copepoda
Infraclass: Neocopepoda
Superorder: Podoplea
Order: Siphonostomatoida
Family: Lernaeopodidae (Milne Edwards, 1840)
Genus: *Parabrachiella* (Wilson C.B., 1915)

***Parabrachiella exigua* (Brian, 1906)**



Εικόνα 67. *Parabrachiella exigua*, παραμορφωμένο παρασκεύασμα εξαιτίας βίαιης αφυδάτωσης. Μεγέθυνση 10x.

Συνώνυμα είδη *Brachiella exigua* (Brian, 1906), *Eubrachiella exiqua* (Brian, 1906) και *Neobrachiella exiqua* (Brian, 1906). Κοινό παράσιτο των βραγχίων σε ψάρια του είδους *Pagellus erythrinus* στο γεωγραφικό χώρο της Μεσογείου και δη της Ιταλίας και Ελλάδας.

Το παράσιτο στη σχηματική απεικόνιση της μονογραφίας του Brian (1906), εμφανίζεται να έχει σαφώς διαμορφωμένο γεννητικό τμήμα στην οπίσθια μοίρα του θώρακα. Ο Yamaguti (1985) στη γενική περιγραφή του γένους υποστηρίζει την ύπαρξη ενός ή δύο ζευγών προεκβολών στην οπίσθια μοίρα του θώρακα καθώς και την ύπαρξη μικρού μεγέθους γεννητικού τμήματος. Ο θώρακας επιμήκης κυλινδρικός στη πρόσθια μοίρα του οποίου προσαρτάται η κεφαλική μοίρα. Η κεφαλική μοίρα διαχωρίζεται σαφώς από τη θωρακική μέσω μίας διακριτής αύλακας.

Η μορφολογική ιδιαιτερότητα του παρασίτου έγκειται στο γεγονός πως η κεφαλική μοίρα εκτείνεται αμφίπλευρα σε σχέση με τον επιμήκη άξονα του θώρακα, χωρίς ωστόσο να παρουσιάζει συμμετρία ως προς αυτόν. Από τη μια πλευρά της κεφαλής εκτείνεται η γνάθος το ακροτελεύτιο τμήμα της οποίας είναι εξοπλισμένο με εξαρτήματα προσάρτησης και θρέψης.

Στην αντίθετη πλευρά εκτείνονται τα γναθοπόδια 1^{ης} τάξεως τα οποία εκφύονται χωριστά και απομακρύνονται παράλληλα μεταξύ τους στη μια πλευρά του σώματος. Στο τέλος των γναθοπόδιων παρατηρείται συνένωση αυτών. Στο σημείο της συνένωσης εμφανίζεται ένα όγκωμα η μορφολογία του οποίου αποτελεί ταξινομικό χαρακτηριστικό, για τα γένη της οικογένειας.

Οι ωοφόροι σάκοι δύο σε αριθμό, έχουν κυλινδρικό σχήμα και είναι επιμήκεις. Περιέχουν πολυάριθμα αυγά και κάθε ωοφόρος σάκος είναι ευμεγέθης.

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκε μόνο **ένα** παράσιτο στα βράγχια του είδους *Umbrina cirrosa* από το σύνολο των ιχθύων που εξετάστηκαν. Στο σώμα του θηλυκού αυτού παρασίτου δεν παρατηρήθηκε αρσενικό άτομο να υπερπαρασιτεί, ενώ έφερε ανεπτυγμένους ωοφόρους σάκους. Δυστυχώς κατά την επεξεργασία μονιμοποίησης του παρασίτου χρησιμοποιήθηκε λανθασμένα μικρότερης αραιώσης αλκοόλη και τελικώς το παράσιτο αφυδατώθηκε (Εικόνα 67).

Subclass: Copepoda
Infraclass: Neocopepoda
Superorder: Podoplea
Order: Siphonostomatoida
Family: Lernanthropidae (Kabata, 1979)
Genus: *Lernanthropus* (de Blainville, 1822)

Lernanthropus kroyeri (Van Beneden, 1851)



Εικόνα 68. *Lernanthropus kroyeri*. Μεγεθυμένο κάτω από στερεοσκόπιο.

Ένα από τα πιο κοινά κωπήποδα παράσιτα των εκτρεφόμενων πληθυσμών λαβρακιού. Εντοπίζεται στα βράγγια και προκαλεί σοβαρές θνησιμότητες, με το κωπήποδο να τρέφεται με αίμα και ιστούς του ξενιστή. Η ιστικές αλλοιώσεις είναι σε μερικές περιπτώσεις τόσο εκτεταμένες ώστε εντέλει ο ξενιστής αδυνατεί να εκτελέσει τις φυσιολογικές αναπνευστικές και ωσμωρυθμιστικές λειτουργίες του. Συνήθως σε τέτοιες καταστάσεις εντοπίζονται και δευτερεύουσες μολύνσεις οι οποίες επιπλέκουν περαιτέρω τη παθολογική εικόνα των ξενιστών (Athanasopoulou, 2001).

Το γένος *Lernanthropus* αποτελείται με πάνω από 100 είδη (σύμφωνα με WORMS). Στην Ευρώπη και δη στη Μεσόγειο τα πιο κοινά είδη είναι τα *L. gisleri* (Van Beneden, 1832), *L. Krøyeri* (Van Beneden, 1851), *L. microplerygis* (Richiardi, 1885), *L. mugilis* (Brian, 1898), *L. scribae* (Krøyer, 1863), *L. trachuri* (Brian, 1903), *L. tylosuri* (Richiardi, 1880), *L. vorax* (Richiardi, 1879) (Costello et al., 2003).

Το σώμα επίμηκες, εύσωμο και ευμέγεθες, ικανό να διακρίνεται ακόμη και με γυμνό μάτι σε εξέταση βραγχιών. Η περιοχή της κεφαλής προστατεύεται από κεφαλική ασπίδα η οποία εντοπίζεται ραχιαίως. Το υπόλοιπο σώμα προστατεύεται επίσης από έναν ραχιαίο μανδύα το μήκος του οποίου αποτελεί ταξινομικό χαρακτηριστικό για τα διάφορα είδη του γένους.

Τα θηλυκά άτομα διαθέτουν 5 ζεύγη ποδών, 1 ζεύγος γναθοπόδιων, 2 ζεύγη γνάθων και 2 ζεύγη κεραιών. Το πρώτο ζεύγος κεραιών βρίσκεται στο απώτερο πρόσθιο άκρο. Οι κεραιές αυτές μικρές σε μέγεθος και επιμήκεις, φέρουν περισφίξεις, οι οποίες όμως δεν διατηρούν μορφολογικά χαρακτηριστικά άρθρωσης. Στις περιοχές ανάμεσα στις περισφίξεις βρίσκονται αισθητικές αποφύσεις των οποίων το μήκος δεν είναι σταθερό στο σύνολο τους. Το δεύτερο ζεύγος κεραιών βρίσκεται σε εγγύτητα με το πρώτο ζεύγος η μορφολογία τους όμως διαφοροποιείται από αυτό καθώς ομοιάζουν με ισχυρά άγκιστρα.

Οπισθίως του δεύτερου ζεύγους κεραιών βρίσκονται τα γναθοπόδια τα οποία και διατάσσονται κεντρικά της κεφαλής. Η μορφολογία τους επίσης ομοιάζει με άγκιστρα (όπως και το δεύτερο ζεύγος κεραιών) τα οποία όμως είναι σαφώς μικρότερα.

Στη περιοχή της κεφαλής βρίσκονται επίσης και δύο ζεύγη γνάθων. Η γνάθος του 1^{ου} ζεύγους (γναθίδια) είναι σύνθετη. Το γναθίδιο φέρει δύο τμήματα μια εσωτερική και μια εξωτερική μοίρα. Το 2^ο γναθικό ζεύγος φέρει μια ισχυρή βάση από την οποία προεκτείνεται η κάλαμος (κυλινδρική, αποπλατυσμένη). Η κάλαμος φέρει άρθρωση με το μετέπειτα τμήμα να περιορίζεται ολοένα σε διάμετρο όσο

απομακρύνεται από αυτή. Στο τέλος η κάλαμος μεταπίπτει σε τρόπιδα η οποία φέρει πολυάριθμα ακανθίδια.

Το δύο πρώτα ζεύγη ποδιών είναι σύνθετα και μικρά σε μέγεθος. Διαμορφώνονται από δύο τμήματα ένα εξωπόδιο και ένα ενδοπόδιο, τα οποία είναι αποπλατυσμένα το εξωπόδιο φέρει λίγα ακανθίδια ενώ το ενδοπόδιο φέρει συνήθως ένα. Το τρίτο ζεύγος ποδιών είναι ισχυρό, ευμέγεθες και η μορφολογία του χαρακτηριστική για το είδος. Αποτελείται από δύο μοίρες με το ενδοπόδιο να είναι υποτυπώδες. Το τρίτο ζεύγος ποδιών βρίσκεται περίπου στο οπισθοκεντρικό τμήμα του σώματος και προεκτείνεται πλευροκοιλιακά. Το τέταρτο ζεύγος ποδιών επίσης διφυές αποτελείται από δύο ίσα περίπου σε ότι αφορά το μήκος πόδια. Όπως και το 3^ο ζεύγος ποδιών έτσι και το 4^ο εκφύεται κοιλιακά και προεκτείνεται οπισθίως και ελάχιστα πλευρικά.

Ανάμεσα στο 4^ο ζεύγος ποδιών και στο οπίσθιο τμήμα του σώματος εντοπίζεται το ουροσώμιο το οποίο αποτελείται από το 5^ο ζεύγος ποδιών το οποίο είναι υποτυπώδες και από ένα ζεύγος ουροπόδιων το οποίο εντοπίζεται στο χώρο ανάμεσα στο 5^ο ζεύγος ποδιών. Ανάμεσα στο 5^ο ζεύγος ποδιών εκφύονται οι δύο ωοφόροι σάκοι οι οποίοι προεκτείνονται σε μεγάλη απόσταση από το σώμα. Κάθε ωοφόρος σάκος φέρει στοίχους αυγών τα οποία είναι στρογγυλά και αποπλατυσμένα.

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκαν πολυάριθμα άτομα σε βράγχια εκτρεφόμενων λαβρακιών. Η παρουσία και η ένταση του παρασίτου παρουσίασε εποχικότητα με τις μεγαλύτερες τιμές να εμφανίζονται την άνοιξη. Εκτός από τα λαυράκια, συναντήθηκαν *L. kroyeri* σε μπακαλιάρους (*Merluccius merluccius*) και σε σαφρίδια (*Trachurus trachurus*).

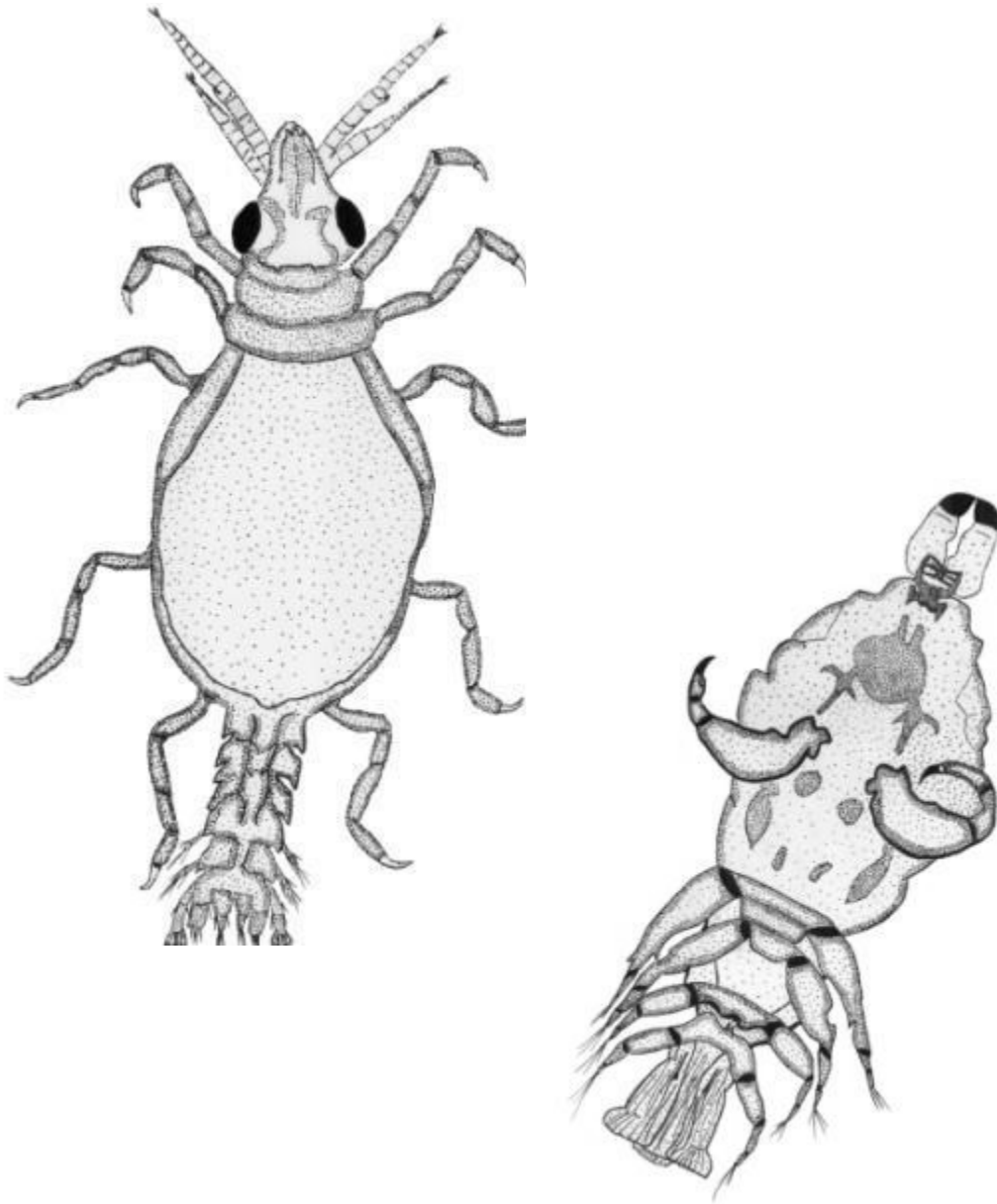


Εικόνα 69. *Lernanthropus krogeri*, δύο θηλυκά και ένα αρσενικό άτομο, δεξιά εικόνα) ουροσώμιο, αριστερή εικόνα) ωοφόρος σάκος με αυγά στοιβαγμένα σε στήλη. Κεντρική εικόνα, παράσιτα μεγεθυμένα κάτω από στερεοσκόπιο.

1.2.3.4 Ισόποδα

Subphylum: Crustacea
Class: Malacostraca
Order: Isopoda
Family: Gnathiidae (Leach, 1814)
Genus: *Gnathia* (Leach, 1814)

Gnathia sp.



Εικόνα 70. *Gnathia* sp., αριστερά) στάδιο *Praniza*, δεξιά) πιθανώς άρρεν άτομο

Πολύ κοινό παράσιτο που εντοπίζεται τυχαία κυρίως σε βράγχια αλλά και στη στοματική και βραγχιακή κοιλότητα πολλών ψαριών της Μεσογείου. Αν και στις ώριμες μορφές τους τα ισόποδα είναι εγκατεστημένα στο πυθμένα της θάλασσας, στα λαρβικά στάδια εμφανίζονται ως παράσιτα τα οποία τρέφονται με ιστικά υγρά από τον ξενιστή σε αντίθεση με τα ώριμα παράσιτα τα οποία δεν τρέφονται αλλά μετακινούνται στον πυθμένα για να αναπαραχθούν.

Ο κύκλος ζωής των ειδών του γένους περιλαμβάνει 3 λαρβικά στάδια κατά τα οποία εντοπίζονται ως παράσιτα, με διαφορετική μορφολογία για το κάθε στάδιο. Οι νεοεκκολαφθείσες λάρβες διατηρούν για ελάχιστο χρονικό διάστημα τα εξαρτήματα πλεύσης τους έως ότου εγκατασταθούν στον ξενιστή. Αμέσως μετά την εγκατάσταση τους μεταμορφώνονται στο πρώτο λαρβικό στάδιο (στάδιο Praniza), όπου και ξεκινούν να απομυζούν υγρά μέσω των κεφαλικών τους εξαρτημάτων. Σε πολλές περιπτώσεις βαριάς παρασιτικής έντασης, προκαλούνται αιμορραγίες τόσο μεγάλης έκτασης ώστε οι ξενιστές τελικώς να καταλήγουν (Paperna & Por, 1977).

Τα ώριμα ενήλικα άτομα διατηρούν ελάχιστα μορφολογικά χαρακτηριστικά από τα λαρβικά τους στάδια και για τον λόγο αυτόν θεωρούνταν διαφορετικά είδη. Τα αρσενικά δε άτομα παρουσιάζουν τόσο ιδιαίτερες μορφολογικές διαφορές ώστε ήταν καταταγμένο στο γένος *Anceus*. Αν και το γένος έχει καταργηθεί εντούτοις ακόμη χρησιμοποιείται ως όρος για να περιγράψει το ώριμο ενήλικο στάδιο των αρσενικών.

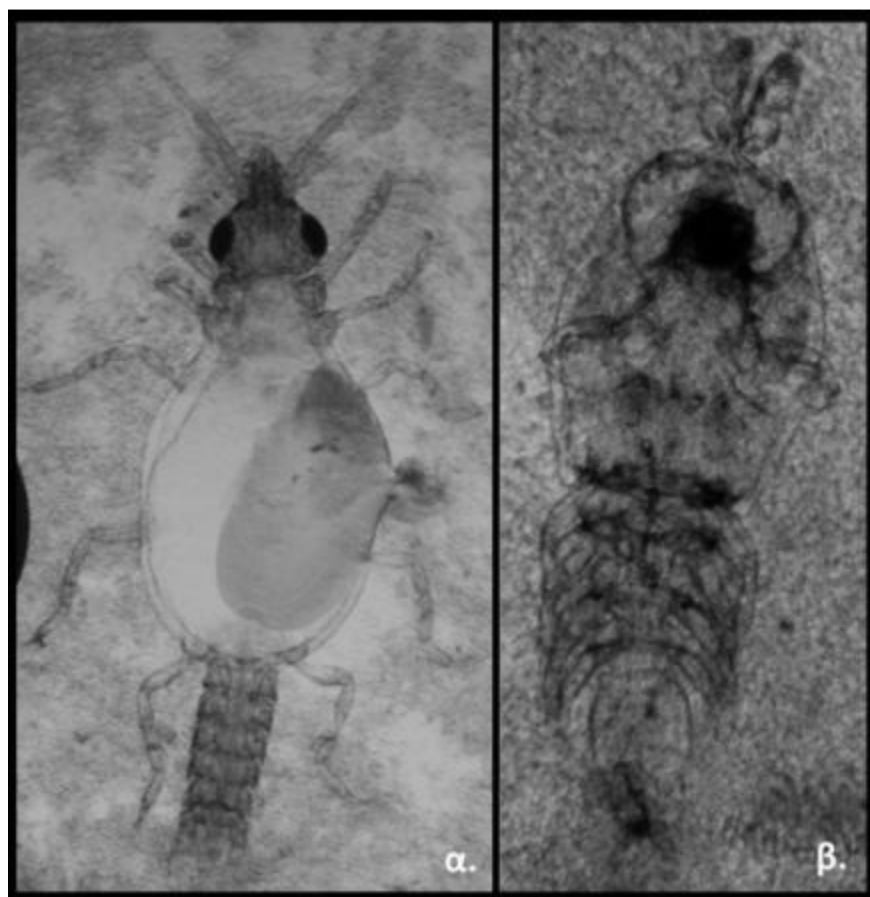
Η μορφολογία των λαρβών στα 3 στάδια Praniza διαφοροποιείται ελάχιστα είναι όμως διακριτή καθώς διαφέρουν σε μέγεθος. Εάν το παράσιτο δεν έχει τραφεί επαρκώς είναι εμφανή τα διαμερίσματα του εξωσκελετού, εάν όμως έχει τραφεί αρκετά αυτή η διαμερισματοποίηση παύει να υφίσταται και όλο το κυρίως σώμα του παρασίτου εμφανίζεται τεταμένο.

Το λαρβικά στάδια φέρουν δύο ζεύγη κεραιών πρόσθια των οφθαλμών. Οι κεραιές εμφανίζονται με περισφίξεις και φέρουν αισθητικά τριχίδια. Μεταξύ των δύο κεραιών πρόσθια των οφθαλμών εντοπίζονται οξύληκτοι κοπτήρες ή μυζητήρες. Το κυρίως σώμα (μεσόσωμα) επίμηκες, ατρακτοειδές φέρει 5 ζεύγη αρθρωτών περαιοπόδων. Το μετάσωμα φέρει εξωσκελετό με πολλαπλά αρθρωτά μέρη στη κοιλιακή μοίρα του οποίου εντοπίζονται τα πλεοπόδια.

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκαν λαρβικά στάδια σε όλα σχεδόν (21/24) τα υπό εξέταση ψάρια του είδους *Serranus cabrilla* (χάνος). Παρά την επίμονη παρουσία του παρασίτου όλο το έτος, δεν παρατηρήθηκε επόχικότητα ως προς την ένταση η οποία παρέμενε σε χαμηλά επίπεδα.

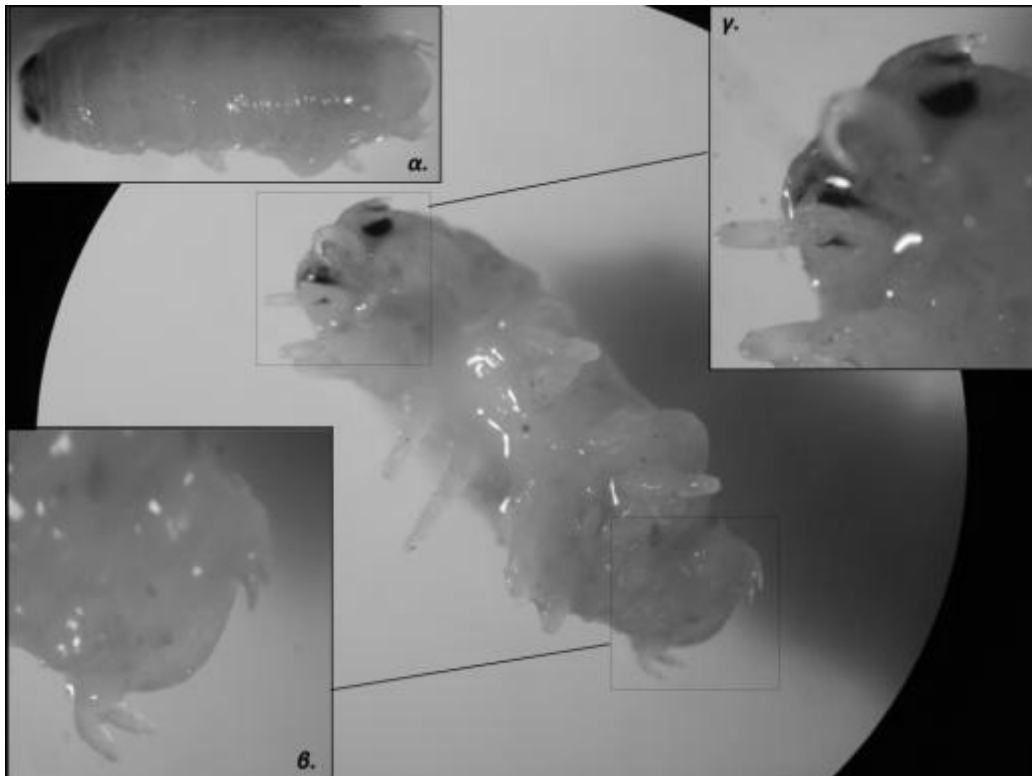
Ενδιαφέρον εύρημα μια λαρβική μορφή η οποία συνεντοπιζόταν **πάντα** μαζί με τις *Praniza* μορφές στα βράγχια των χάνων. Πιθανολογούμε πως τα δύο λαρβικά στάδια συσχετίζονται με κάποιο τρόπο όμως από τη παρούσα βιβλιογραφία δεν προέκυψαν στοιχεία. Παρόλα αυτά το λαρβικό αυτό στάδιο φέρει στο πρόσθιο τμήμα της κεφαλής εξαρτήματα όμοια με εκείνα του ώριμου αρσενικού. Βιβλιογραφικά, έχει υιοθετηθεί η άποψη πως η τελική μεταμόρφωση λαμβάνει χώρα μετά το 3^ο λαρβικό στάδιο και πως είναι δραματική, αλλάζοντας τελείως η μορφολογική κατάσταση του αρσενικού παρασίτου. Μετά όμως και τα παραπάνω ευρήματα ίσως τελικά η διαφοροποίηση για το αρσενικό να συμβαίνει περισσότερο ομαλά με επιπλέον λαρβικά στάδια τα οποία έως τώρα δεν είχαν εντοπιστεί. Η άποψη αυτή ωστόσο απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση.



Εικόνα 71. *Gnathia* sp., α) στάδιο *Praniza*, (μεγέθυνση 4x) β) πιθανώς άρρεν άτομο (40x.)

Subphylum: Crustacea
Class: Malacostraca
Order: Isopoda
Family: Cymothoidae (Leach, 1818)
Genus: *Ceratothoa* (Dana, 1852)

Ceratothoa oestroides (Risso, 1816)



Εικόνα 72. *Ceratothoa oestroides*., α) ραχιαία όψη β) τέλοιο και ουροπόδια, γ) κεφαλική μοίρα παρασίτου.

Ίσως το πιο κοινό ισόποδο που παρασιτεί στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς τσιπούρας και λαυρακιού στη Μεσόγειο και δη στην Ελλάδα προκαλώντας σημαντικές θνησιμότητες (Athanassopoulou et al., 2001, Athanassopoulou et al., 2004). Τα παλαιότερα χρόνια οι θνησιμότητες ήταν συχνές και εμφανίζοντας κυρίως την εαρινή και τη καλοκαιρινή περίοδο τόσο σε μονάδες εκτροφής του Ιονίου όσο και του Αιγαίου. Τα τελευταία όμως χρόνια η εμφάνιση του παρασίτου αν και παραμένει επίμονη στον Αμβρακικό και στις πέριξ αυτού ακτές, εντούτοις στη περιοχή της Θεσπρωτίας από το 2009 έως και σήμερα (2014) η εμφάνιση του θεωρείται αμελητέα (*testimonium auctor*). Ο λόγος σε αυτή την αλλαγή της επιδημιολογίας του παρασίτου είναι άγνωστος και παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον δεδομένης της μικρής αποστάσεως ανάμεσα στους δύο νομούς. Σε κάθε περίπτωση φαίνεται πως οι άγριοι πληθυσμοί ψαριών λειτουργούν ως παθητικοί φορείς του παρασίτου μεταδίδοντας το στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς (Vagianou et al., 2009a).

Σε ότι αφορά το βιολογικό κύκλο του *C. oestroides*, αυτός είναι αρκετά σύνθετος. Σε αντίθεση με τα είδη της οικογένειας Gnathiidae, πρόκειται για υποχρεωτικά παράσιτα τα οποία παραμένουν στον ξενιστή για όλη τους της ζωή. Τα θηλυκά διατηρούν τα γονιμοποιημένα αυγά στην κοιλιακή χώρα ανάμεσα στα περαιόποδια. Μετά την ωρίμανση των αυγών, και λίγο πριν την εκκόλαση λαμβάνει χώρα η πρώτη μεταμόρφωση των προνυμφών (Pulli I, *pullus primus*) (Vagianou et al., 2009b). Στη συνέχεια αφού λάβει χώρα η προεκκολάσιμη μεταμόρφωση των προνυμφών, αυτές εκκολάπτονται. Στις νεοεκκολαφθείσες προνύμφες δε παρατηρείται διαχωρισμός φύλου, καθώς αυτές παρουσιάζουν πρώτανδρο ερμαφροδιτισμό. Το επόμενο στάδιο μεταμόρφωσης είναι το pulli II (manca larvae), το οποίο είναι και το πλέον μολυσματικό. Σε αυτό το στάδιο οι προνύμφες έχουν αναπτύξει ισχυρά εξαρτήματα πλέυσης τα οποία τους επιτρέπουν την ενεργή μετακίνηση στη στήλη του νερού με σκοπό τον εντοπισμό του ξενιστή τους. Το σημείο της πρώτης προσκόλλησης στο ξενιστή είναι τυχαίο. Αφού τα περαιόποδια προσαρτηθούν ισχυρώς στο σώμα του ξενιστή, τότε το παράσιτο μετακινείται προοριζόμενο στη στοματική και περιβραγχιακή κοιλότητα όπου και τελικώς θα εγκατασταθεί. Μετά το στάδιο pulli II, το παράσιτο μεταμορφώνεται σε νεαρό ανήλικο. Στο χρονικό σημείο αυτό γίνεται και η αλλαγή σε θηλυκό γένος, κάτι που θα εξαρτηθεί από το συνολικό παρασιτικό φορτίο που σε εκείνη τη χρονική στιγμή

υπάρχει στο ξενιστή. Μετά το νεαρό ανήλικο στάδιο λαμβάνει χώρα η τελική μεταμόρφωση όπου το παράσιτο πλέον θεωρείται ενήλικο.

Οι αλλοιώσεις είναι εκτεταμένες κυρίως στα βράγχια όπου οι ιστοί φλεγμαίνονται και νεκρώνονται από την συνεχή αιματοφαγία και τις λύσεις συνέχειας εξαιτίας των τραυματισμών από τα οξύληκτα άκρα των ζευγών προσκόλλησης. Σε μαζικές μολύνσεις ο ενδοβραγχιακός και ενδοστοματικός χώρος είναι τόσο συνωστισμένος από παράσιτα ώστε τα υπόλοιπα περιορίζονται στον έξω περιστοματικό και περιοφθαλμικό χώρο. Η εικόνα αυτή της περισσότερες φορές είναι και ενδεικτική της έντασης της μόλυνσης σε μια εκτροφή.

Σε ότι αφορά την ανατομική μορφολογία των ενήλικων ατόμων, αυτά φέρουν ένα ζεύγος κεραιών στο πρόσθιο άκρο των οφθαλμών. Οι κεραιές παρουσιάζουν περισφίξεις οι οποίες είναι ικανές κάμψης. Οι δύο οφθαλμοί είναι ευμεγέθεις, ευδιάκριτοι και ως επί το πλείστον σφαιρικοί, τοποθετημένοι στη πρόσθια μοίρα με ικανότητα παρατήρησης τους τόσο από τη ραχιαία όσο και από τη κοιλιακή επιφάνεια. Ο εξωσκελετός επιμήκης δεν παρουσιάζεται ενιαίος αλλά αρθρωτός επιτρέποντας τη κάμψη του παρασίτου κατά το δοκούν. Στην οπίσθια μοίρα του σώματος εντοπίζεται το ευδιάκριτο τέλος το οποίο φιλοξενεί τα ουροπόδια. Το τέλος εμφανίζεται χωρίς αρθρώσεις αποτελούμενο από μια ενιαία επιφάνεια.

Αποτελέσματα

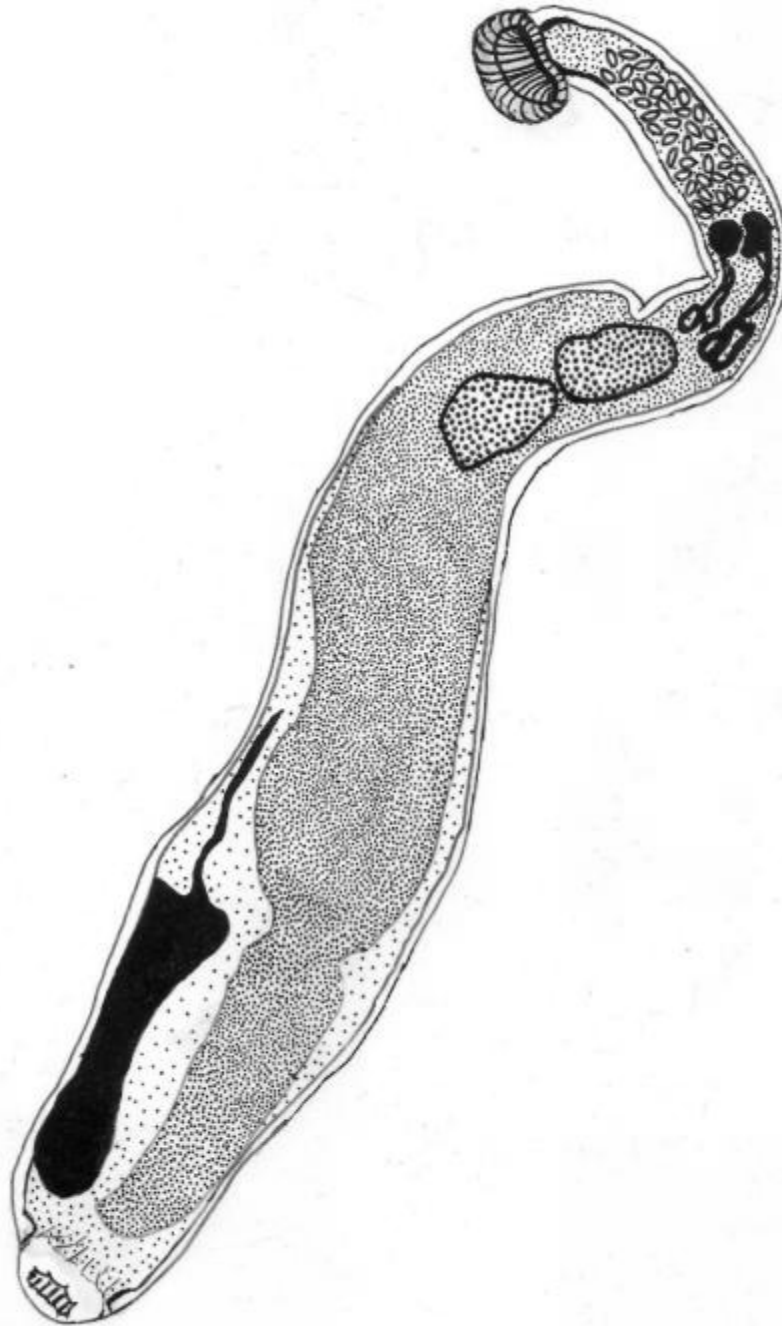
Ανευρέθηκαν μόνο ενήλικα στάδια παρασίτων σε εκτρεφόμενα λαβράκια και τσιπούρες. Σε ότι αφορά τα ψάρια άγριας διαβίωσης εντοπίστηκαν σε γόπες (*Boops boops*), σαργούς (*Diplodus sargus*), σαλουβάρδους (*Phycis phycis*), Χάνους (*Serranus cabrilla*) και σε Χριστόψαρο (*Zeus faber*). Με εξαίρεση το χριστόψαρο για το οποίο δεν μπορούν να προκύψουν στοιχεία εξαιτίας του μικρού αριθμού δείγματος, στα υπόλοιπα είδη εμφάνισαν η παρουσία και η ένταση ήταν ιδιαίτερα χαμηλή.

Συγκρίνοντας τη παρουσία και την ένταση μεταξύ των ειδών διαπιστώθηκε ότι το λαβράκι είναι περισσότερο ευπαθές καθώς εμφάνισε μεγαλύτερες τιμές σε όλες σχεδόν τις εποχές του χρόνου. Σε όλα τα ψάρια τα παράσιτα εντοπίστηκαν στη στοματική κοιλότητα με εξαίρεση το είδος *Zeus faber* στο οποίο εντοπίστηκε μόνο ένα παράσιτο στη βάση του ραχιαίου πτερυγίου.

1.2.3.5 Βδέλλες (Annelida)

Phylum: Annelida
Class: Clitellata
Order: Rhynchobdellida
Family: Piscicolidae (Johnston, 1865. υπό αναθεώρηση)
Genus: *Calliobdella* (Van Beneden & Hesse, 1863)

Calliobdella lophii (Van Beneden & Hesse, 1863)



Εικόνα 73. *Calliobdella lophii*

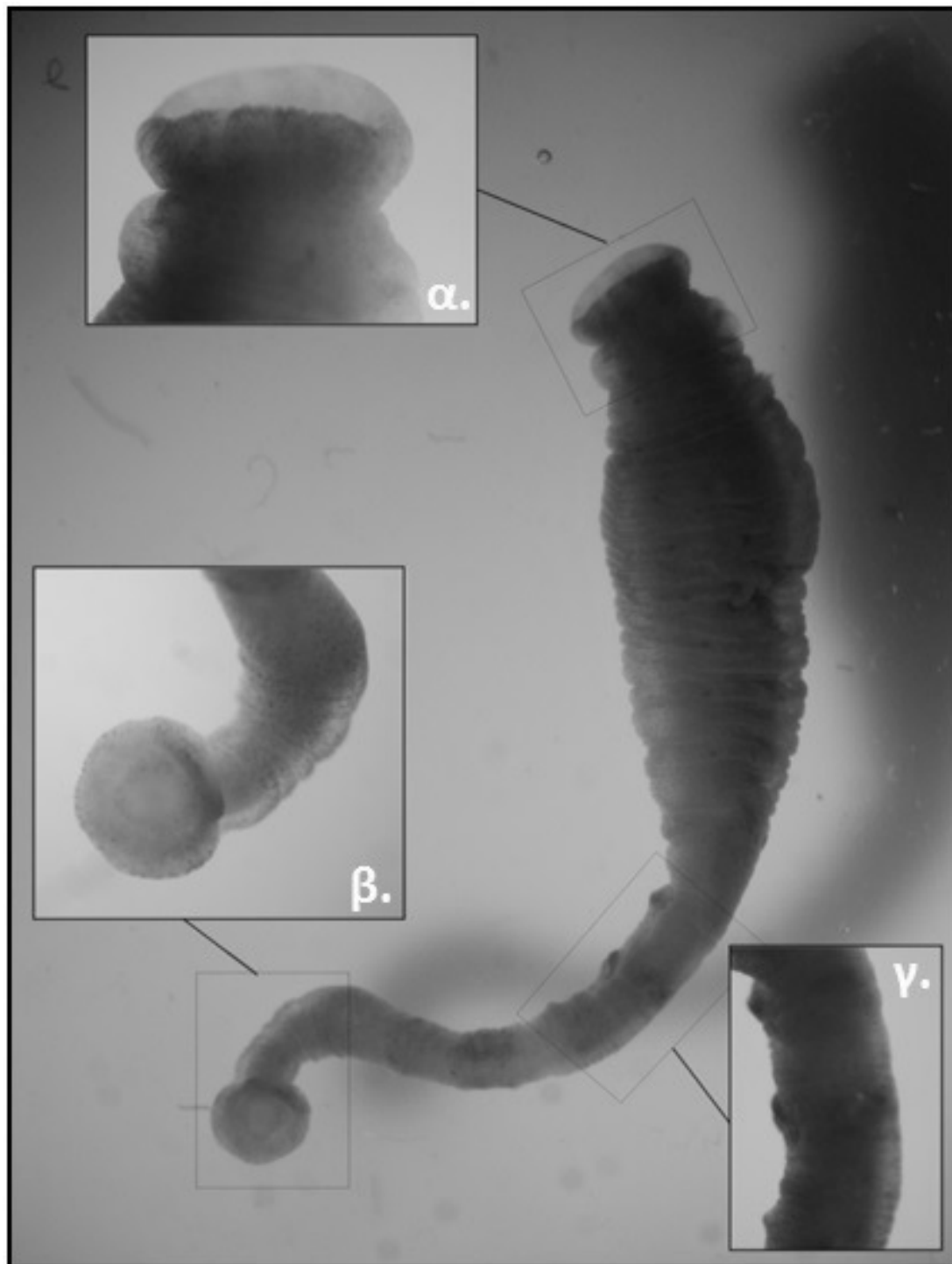
Συνώνυμα είδη *Calliobdella striata* (Van Beneden & Hesse, 1863) και *Ichthyobdella punctata* (Verrill, 1871). Γενικά οι βδέλλες σπανίως προκαλούν θνητότητες στους ξενιστές τους, και οι αλλοιώσεις συνήθως περιορίζονται στο σημείο προσκόλλησης των μυζητήρων. Οι βδέλλες απομυζούν αίμα και η σοβαρότητα του παθολογικού αποτελέσματος εξαρτάται αφενός από το μέγεθος του παρασίτου και αφετέρου από το μέγεθος του ξενιστή. Γενικά οι βδέλλες παρασιτώντας των ξενιστών τους μειώνουν τον ρυθμό ανάπτυξης τους όμως άμεσα δεν αποτελούν απειλή.

Μία ακόμη σημαντική παράμετρος που θα πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι πως οι βδέλλες αποτελούν φορείς παθογόνων οργανισμών οι οποίοι μπορούν να μολύνουν μέσω της αιματοφαγίας τους ξενιστές τους. Η ικανότητα μετάδοσης ιών μέσω των βδελλών είναι περισσότερο μελετημένη σε ψάρια γλυκού νερού και έχει αναφερθεί μετάδοση SVCV σε κυπρίνους και ΙHN σε σολομούς. Σε ότι αφορά την ικανότητα τους ως φορείς βακτηρίων έχει αναφερθεί ικανότητα μετάδοσης ψευδομονάδων και στρεπτόκοκκων, όμως αυτά τα βακτήρια ενδεχομένως να αποτελούν φυσική μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου των βδελλών η οποία βοηθά στη πέψη του αίματος. Καλύτερα μελετημένα είναι δυνατότητα των βδελλών να λειτουργούν ως φορείς πρωτοζώων καθώς έχει βρεθεί πως μπορούν να μολύνουν τους ξενιστές τους με *Trypanosoma* (Lainson, 1981), *Cryptobia* (Burrison, 1979; Putz, 1970) και *Haemogregarina* (Davies & Johnston, 1976)

Το σώμα του παρασίτου είναι μεγάλο και ορατό με γυμνό μάτι. Τα σημεία εντοπισμού ποικίλουν όμως συνήθως συναντώνται στη βάση του ραχιαίου πτερυγίου, στο ουραίο πτερύγιο (τόσο στη βάση όσο και στις κέρκους), στη βάση του θωρακικού πτερυγίου καθώς επίσης και κατά μήκος της πλευρικής γραμμής. Ιδιαίτερο ανατομικό χαρακτηριστικό του είδους είναι τα ογκώματα που φέρει κατά μήκος του σώματος (Εικόνα 74).

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκαν συνολικά 3 παράσιτα όλα στο ίδιο ψάρι (*Zeus faber*) στη περιοχή της βάσης του ραχιαίου πτερυγίου. Η ταξινόμηση των παρασίτων έγινε βάσει των ογκωμάτων που παρουσιάζονταν στη εφυμενίδα καθώς επίσης και της μορφολογίας των δύο μυζητήρων. Ο ένας εκ των δύο μυζητήρων είναι καλά ανεπτυγμένος με διάμετρο ίση περίπου με τη διάμετρο του σώματος του παρασίτου.



Εικόνα 74. *Calliobdella lophii*, α,β) μυζητήρες, γ) ογκώματα εφυμενίδας. Κεντρική εικόνα παράσιτο μεγεθυμένο κάτω από στερεοσκόπιο.

1.2.3.6 Κεστώδη

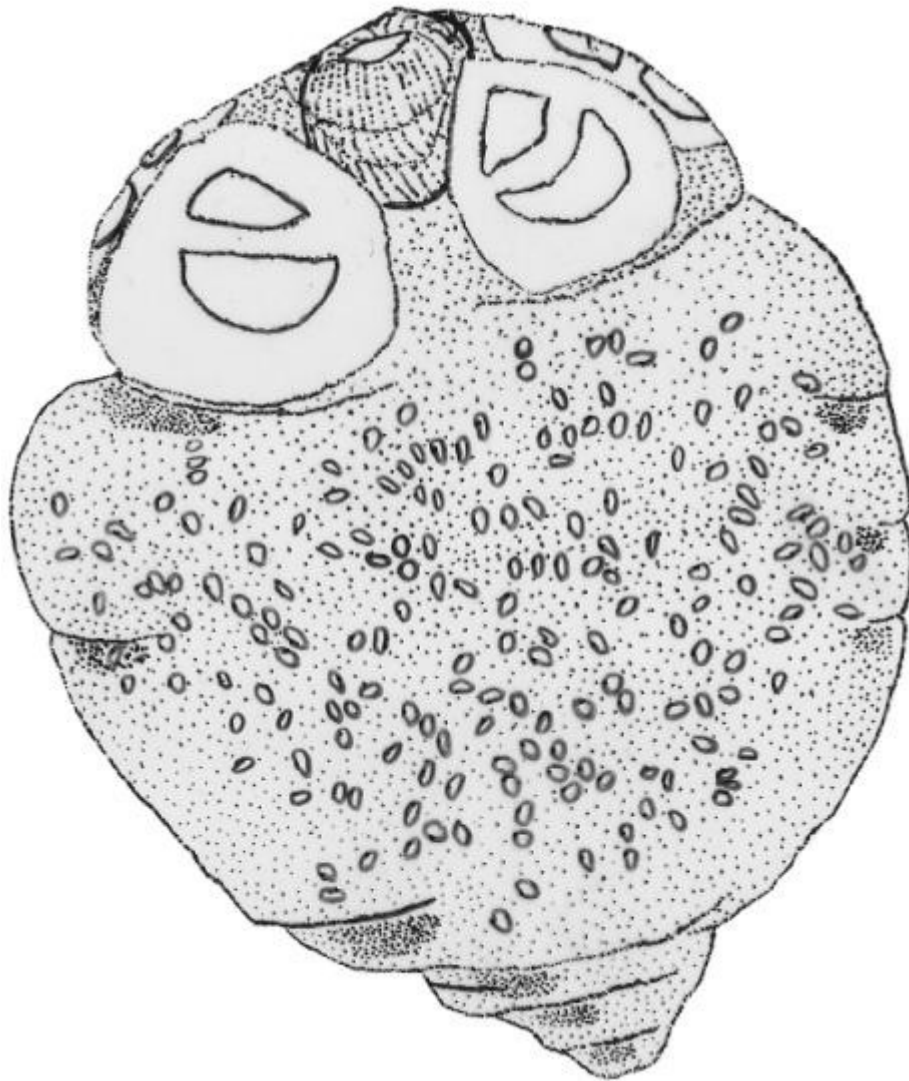
Class: Cestoda

Order: **Tetraphyllidea**

Family: Tetraphyllidea (ανιεράρχητη βαθμίδα)

Genus: *Scolex* (Müller, 1787) (δεν αποτελεί επίσημο γένος- στάδιο λάρβας)

Scolex pleuronectis (Müller, 1788) (δεν αποτελεί επίσημο είδος- στάδιο λάρβας)



Εικόνα 75. *Scolex pleuronectis*

Η αρχική θεώρηση ήταν πως πρόκειται για πλήρως σχηματισμένο παράσιτο, έτσι είχε δημιουργηθεί το γένος *Scolex* μέσα στο οποίο είχαν ενταχθεί όλα εκείνα τα παράσιτα των ψαριών με παρεμφερή μορφολογία. Αργότερα διαπιστώθηκε πως δεν πρόκειται για ώριμα παράσιτα αλλά για αδιαφοροποίητους σκόληκες. Έτσι άτυπα χρησιμοποιείται ο όρος *Scolex pleuronectis* για να χαρακτηρίσει το αδιαφοροποίητο αυτό στάδιο το οποίο φέρει έναν ακραίο μυζήτηρα και 4 περιφερικά βοθρίδια. Τα πληροκερκοειδή μπορούν επίσης να συναντηθούν και υπό τις ονομασίες *Scolex polymorphus* (Rudolphi) και *Scolex dolphin* (Stossich).

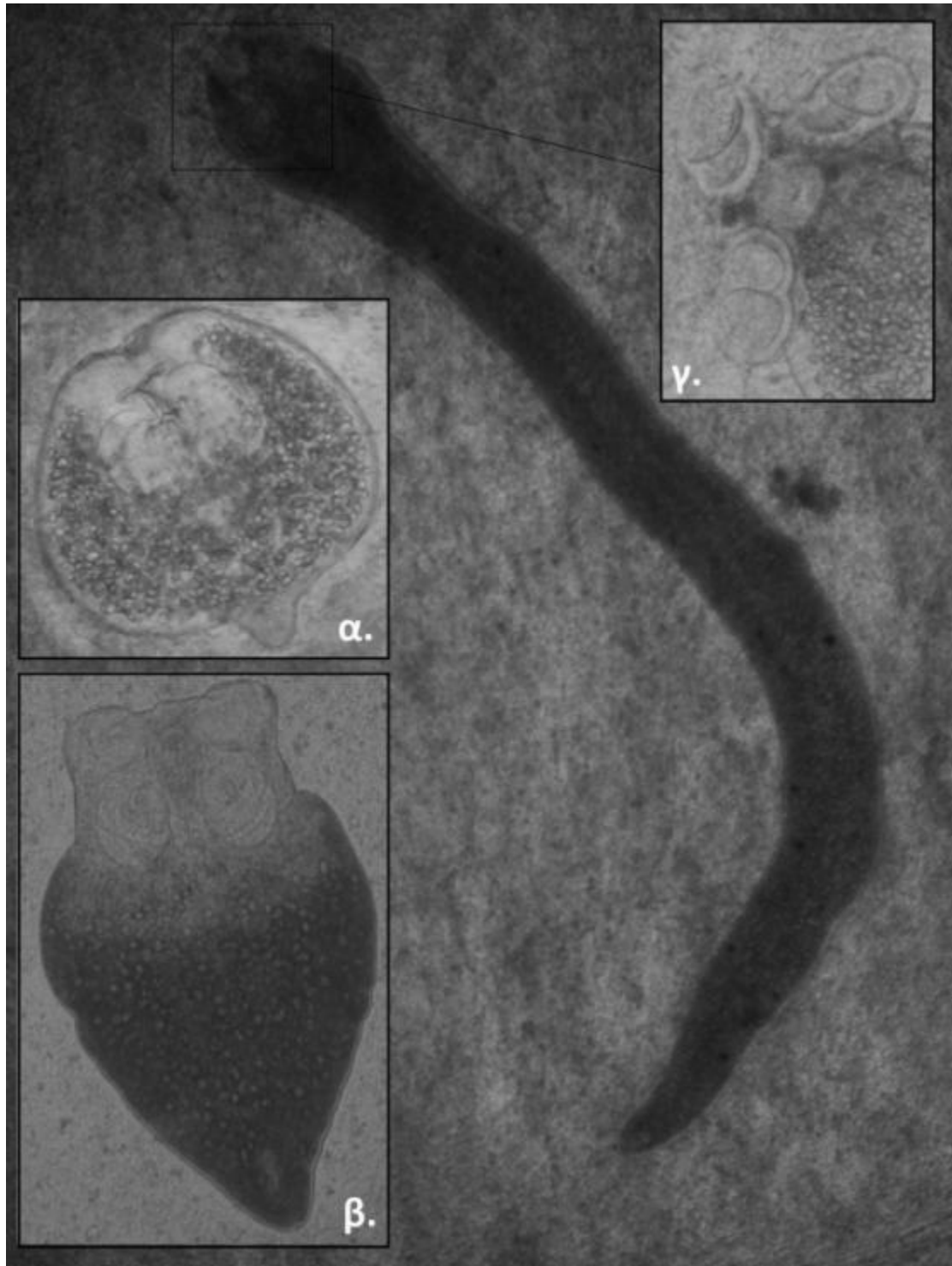
Οι μυζήτηρες σε κάθε βοθρίδιο είναι εκατοί και ευκίνητοι, όπως και όλο γενικά το πληροκερκοειδές το οποίο μπορεί να μεταβάλει σημαντικά τόσο το μήκος του όσο και το σχήμα του. Η κεφαλή του σκόληκα είναι ικανή να παρουσιάζει εγκολεασμό σε τέτοια έκταση ώστε τα βοθρίδια να παρουσιάζονται στην οπίσθια μοίρα του παρασίτου.

Παρασιτούν το έντερο, τα πυλωρικά τυφλά, το στομάχι και τα χολαγγεία στα ψάρια. Η εξάπλωση τους είναι παγκόσμια και οι ενδιάμεσοι ξενιστές τους αναρίθμητοι. Τα καρκινοειδή και κάποιοι πολύχαιτοι θαλάσσιοι οργανισμοί αποτελούν τους πρώτους ενδιάμεσους ξενιστές, ενώ οι ιχθύες και τα δίθυρα είναι οι κυριότεροι δεύτεροι ενδιάμεσοι ξενιστές. Τελικοί ξενιστές είναι κάποιοι ευσελάχιοι χονδριχθύες, ολοκέφαλοι ιχθύες, θαλάσσια θηλαστικά και κυρίως υδρόβια πτηνά τα οποία τρέφονται με ψάρια.

Αποτελέσματα

Ανευρέθηκαν σε όλα τα υπό εξέταση είδη πλην του Σαργού (*Diplodus sargus*) και της μουρμούρας (*Lithognathus mormyrus*). Η παρουσία τους στο έντερο ήταν επίμονη ανεξάρτητα από την εποχή της δειγματοληψίας. Η ένταση των παρασίτων σταθερά μεγάλη κατά μέσο όρο αν και σε κάποια ψάρια η διακύμανση του συνολικού αριθμού ήταν σημαντική, κυμαινόμενη από λίγα παράσιτα (<10), έως και μερικές εκατοντάδες.

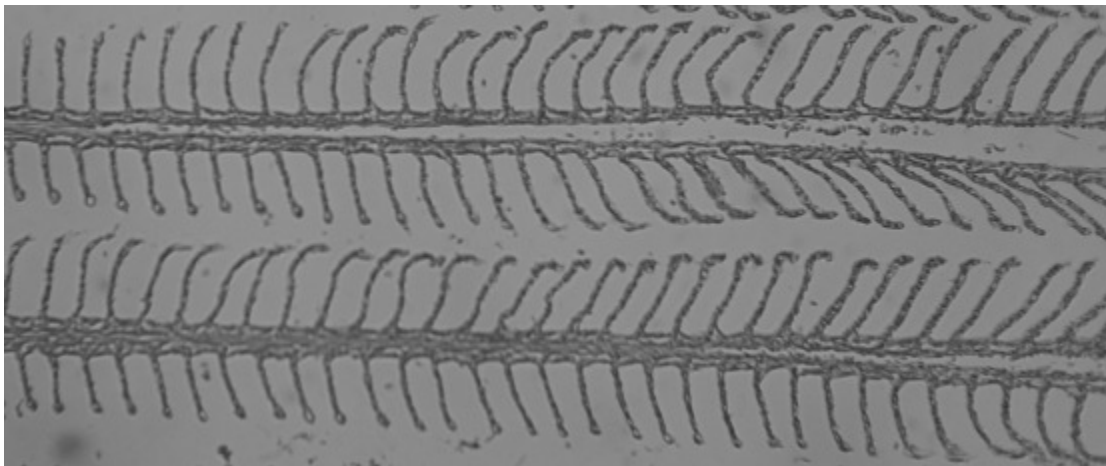
Όλα τα παράσιτα δεν παρουσίασαν την ίδια μορφολογία, όμως οποιαδήποτε απόπειρα ταυτοποίησης θα ήταν μάταιη καθώς όπως αναλύεται παραπάνω πρόκειται για ανώριμα στάδια.



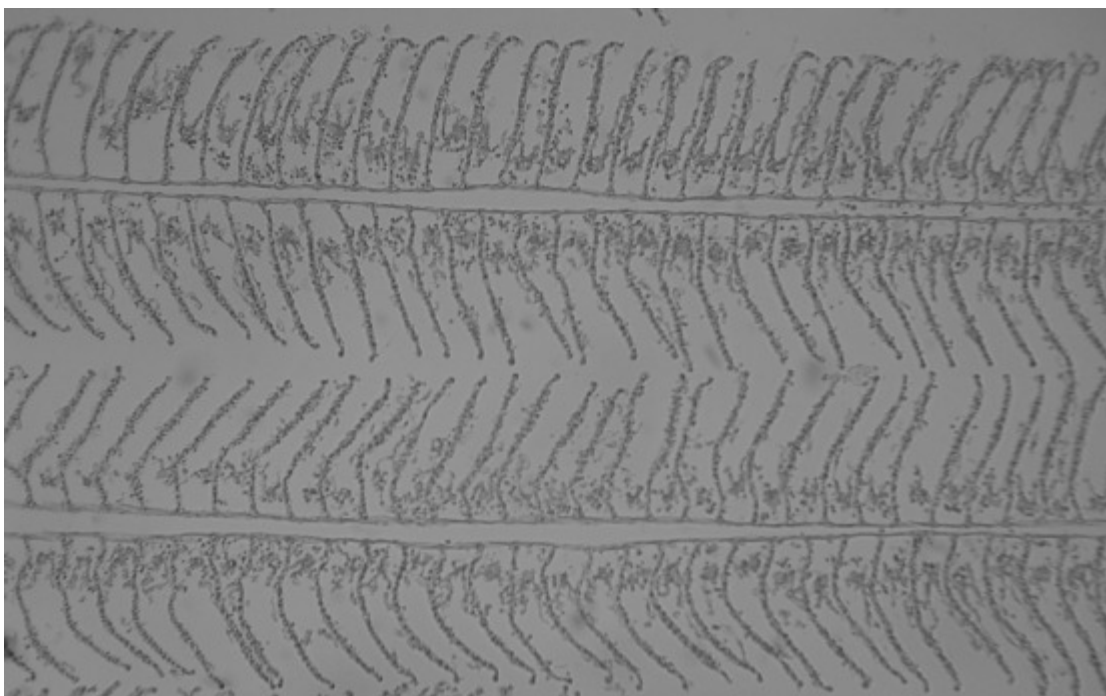
Εικόνα 76. *Scolex pleuronectis*, α) παράσιτο σε εγκολεασμό, β) στάση χαλάρης, γ) κεντρικός μυζητήρας και βοθρίδια, κεντρική εικόνα: παράσιτο σε στάση πλήρους έκτασης. Νωπό επίχρισμα εντέρου Κεντρική εικόνα υπό μεγέθυνση 10x.

1.2.4 Παθολογία εξωπαρασιτώσεων

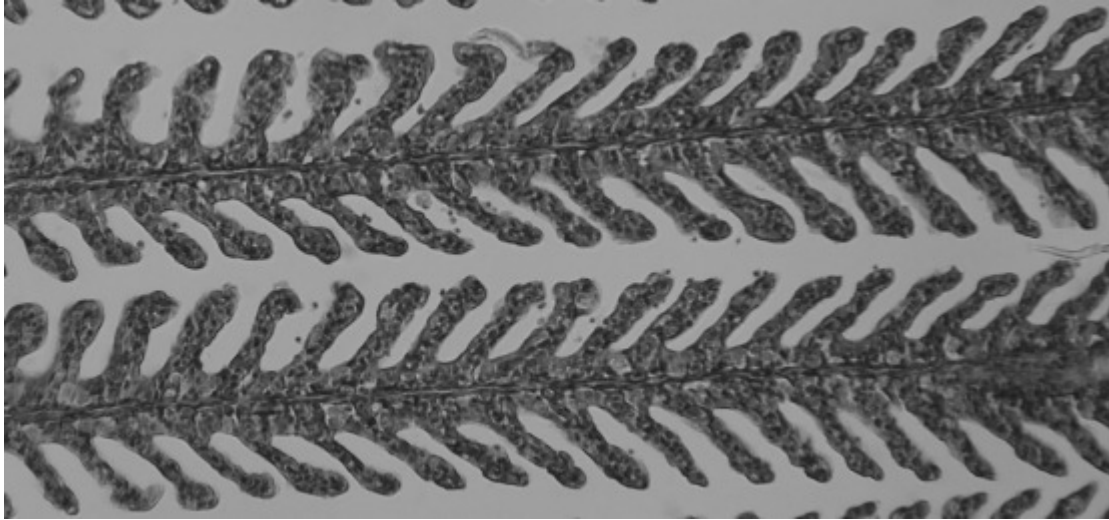
Τα συνήθη ευρήματα των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων αφορούσαν κυρίως τα βράγχια, όπου και εντοπίστηκε η πλειονότητα των παρασίτων. Πιο συγκεκριμένα παρατηρήθηκε συγκόλληση των δευτερογενών νηματίων, εστιακές φλεγμονές και υδρωπική εκφύλιση, υπερτροφία καλυκοειδών κυττάρων με υπερέκκριση βλέννας και γενικά διαταραχή της φυσιολογικής ανατομικής τους δομής. Σε παρασιτώσεις με μεγάλη ένταση εντοπίστηκαν τοπικές νεκρώσεις του βραγχιακού επιθηλίου.



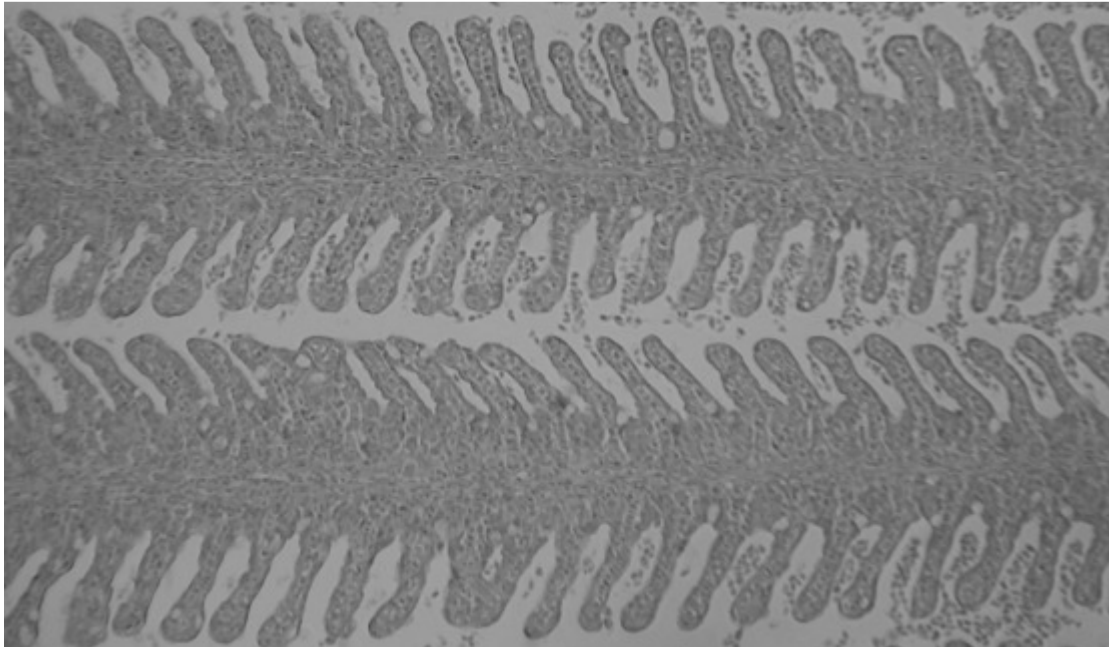
Εικόνα 77. Φυσιολογική ανατομική δομή βραγχίων. Χρώση E&H, μεγέθυνση 10x.



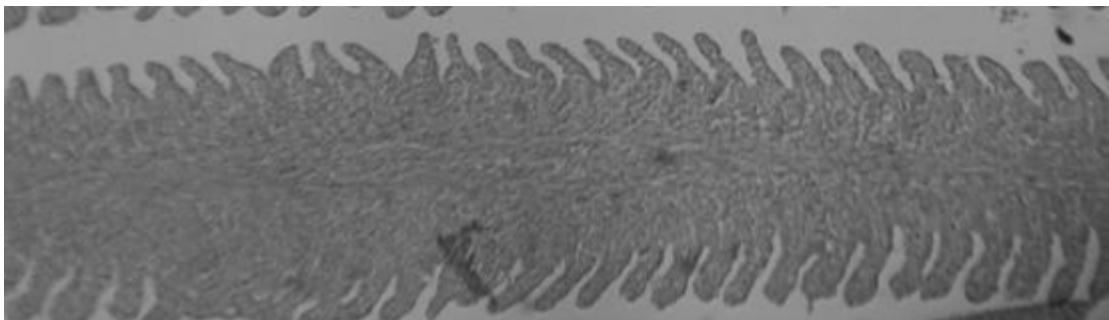
Εικόνα 78. Φυσιολογική ανατομική δομή βραγχίων, με εναπόθεση εωσινοφίλου υλικού μεταξύ των δευτερογενών βραγχιακών νηματίων εξαιτίας μικρής ποσότητας βλέννας. Χρώση E&H, μεγέθυνση 10x.



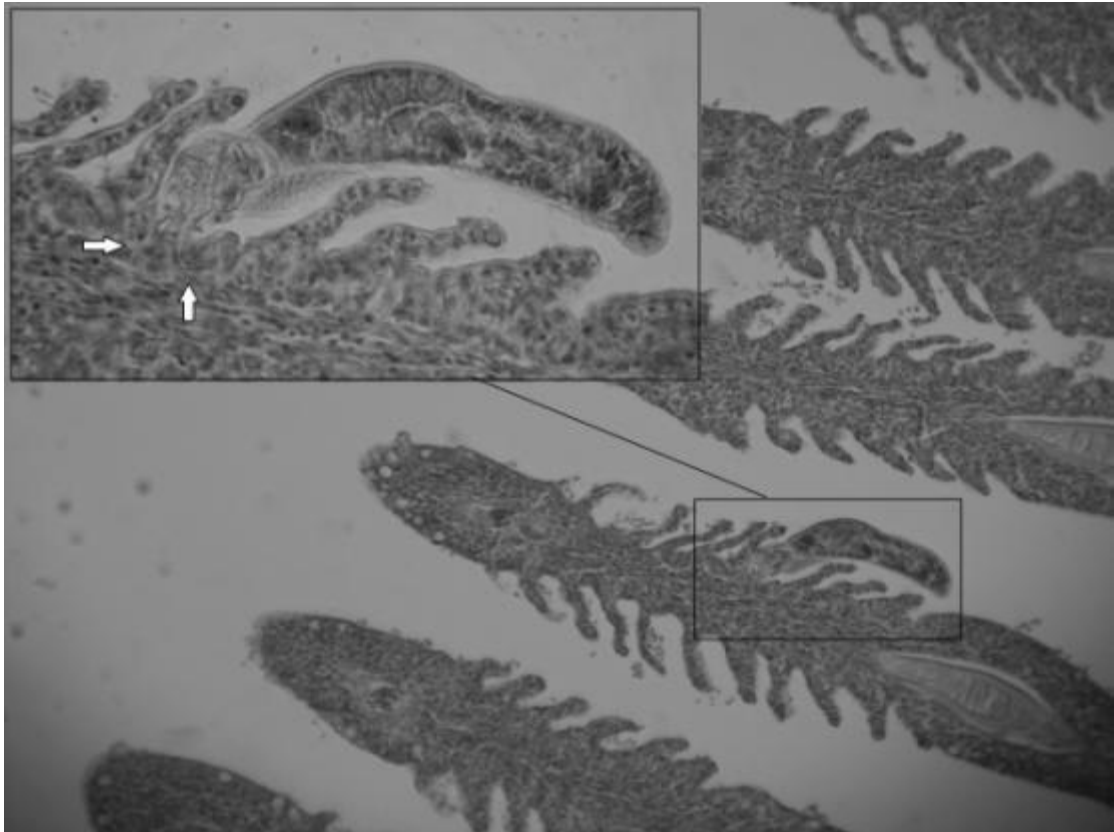
Εικόνα 79. Δομή βραγχίων με υδρωπική εκφύλιση των επιθηλιακών κυττάρων των δευτερογενών νηματίων. Αυτή η εικόνα των βραγχίων είναι χαρακτηριστική σε οξείες παρασιτώσεις. Χρώση E&H, μεγέθυνση 10x.



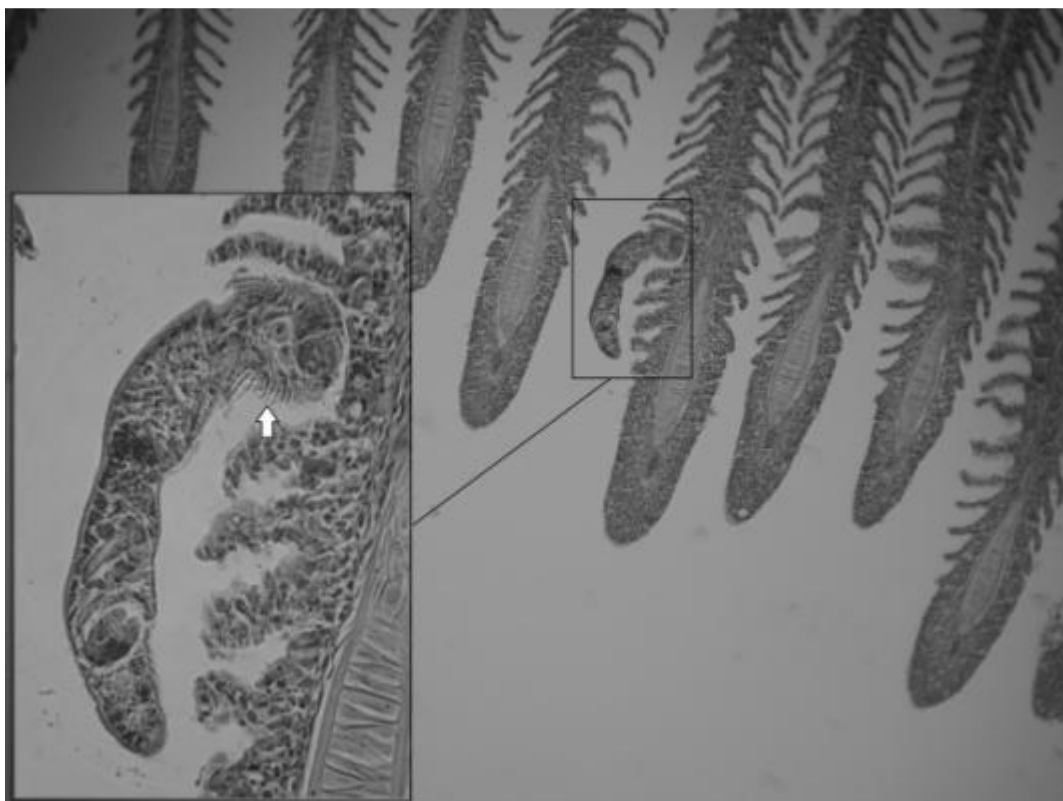
Εικόνα 80. Δομή βραγχίων σε μεταβατικό στάδιο από οξεία σε χρόνια παρασίτωση. Η υπερτροφία των δευτερογενών νηματίων συνοδεύεται από υπερπλασία του επιθηλίου του πρωτογενούς νηματίου. Χρώση E&H, μεγέθυνση 10x.



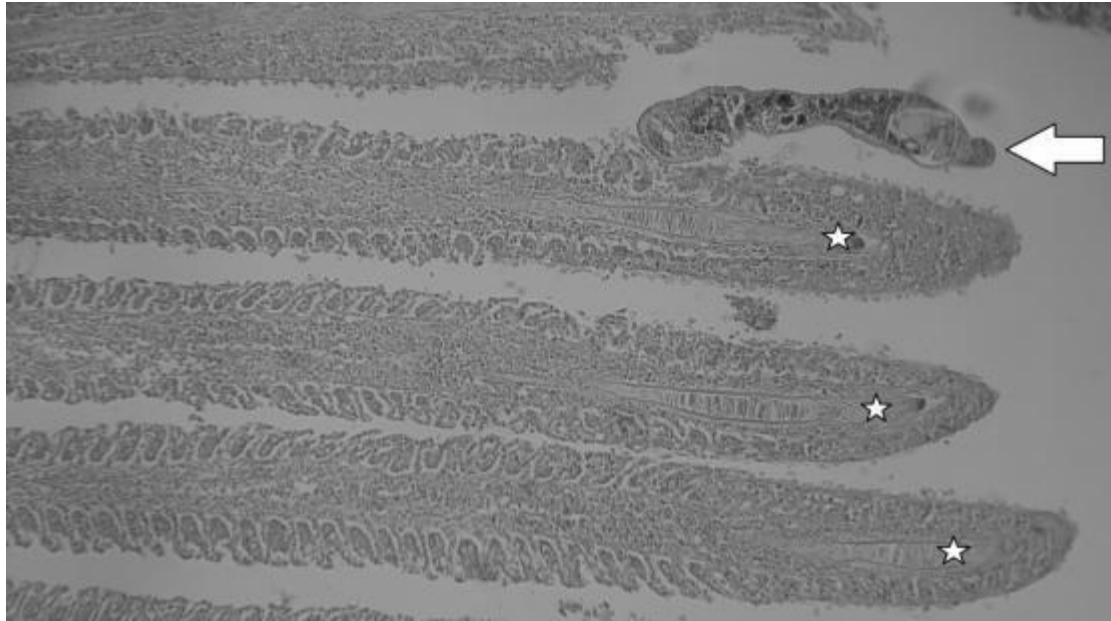
Εικόνα 81. Δομή βραγχίων σε χρόνια παρασίτωση με υπερπλασία του επιθηλίου του πρωτογενούς νηματίου. Χρώση E&H, μεγέθυνση 10x.



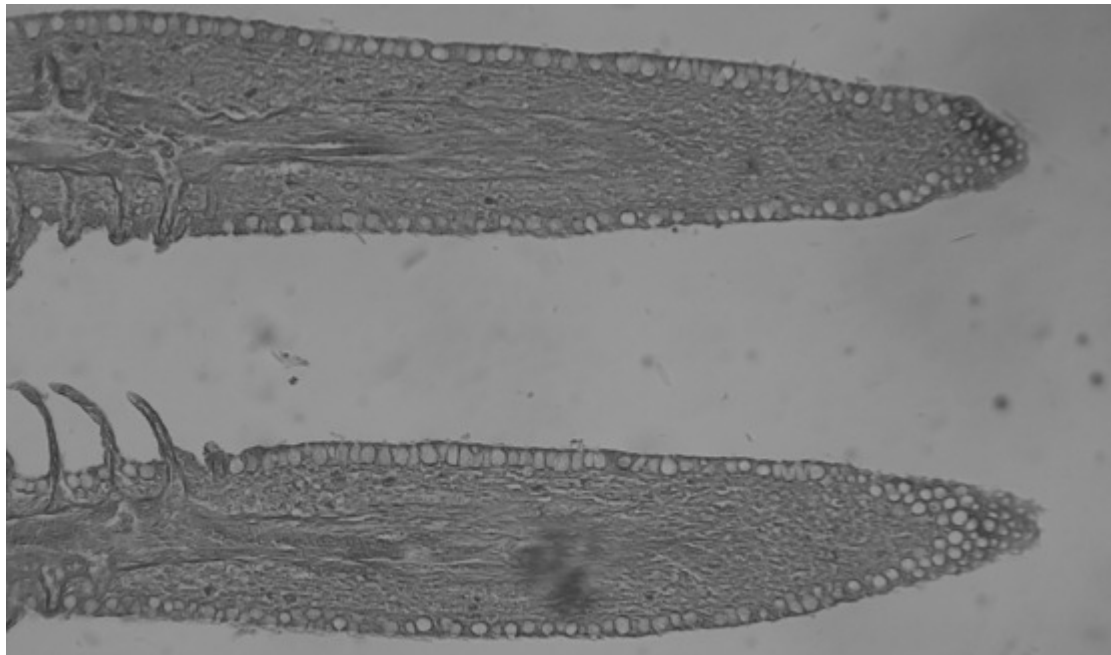
Εικόνα 82. Ιστολογική τομή βραγχίων όπου εμφανίζεται να παρασιτεί *Diplectanum aequans*. Τα λευκά βέλη υποδεικνύουν τα άγκιστρα προσάρτησης. (χρώση H&E, 10x).



Εικόνα 83. Ιστολογική τομή βραγχίων όπου εμφανίζεται να παρασιτεί *Lamellodiscus echepeis*. Το λευκό βέλος δείχνει τον πεταλικό δίσκο του παρασίτου (χρώση H&E, 10x).



Εικόνα 84. Ιστολογική τομή βραγχίων όπου εμφανίζεται να παρασιτεί *Diplectanum aequans* (λευκό βέλος). Στο τελευταίο τρίτο των βραγχίων παρατηρείται συγκόλληση των δευτερογενών νηματίων (χρώση H&E, 10x).



Εικόνα 85. Ιστολογική τομή βραγχίων με υπερπλασία του επιθηλίου των άκρων τους. Παράλληλα παρατηρείται υπερπλασία των βλεννογόνων κυττάρων (καλυκοειδή κύτταρα) (χρώση H&E, 10x).

1.3 Συζήτηση 1^{ης} ενότητας

Μετά τη σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ του παρασιτικού φορτίου των εκτρεφόμενων και των άγριων πληθυσμών προέκυψαν σημαντικά δεδομένα σχετικά με την ηθολογία και την ειδοειδική σχέση των παρασίτων με τους ξενιστές τους.

Τα **μονογενή** παράσιτα διατηρούν μια υψηλή ειδικότητα ξενιστών και ανά είδος συνηθίζουν να εντοπίζονται στα ψάρια μιας μόνο οικογένειας (*Gastrocotyle*, *Pseudaxine*, *Macrouridophora*, *Khunia*, *Pseudanthocotyloides*, *Kannaphalus* και *Diplectanum* είναι μερικά μονό παραδείγματα παρασίτων που χαρακτηρίζονται από τέτοια σχέση). Οι **μονοοπισθοκοτύλες** εμφανίζουν τη μεγαλύτερη ειδικότητα ξενιστών καθώς παρασιτούν σε ψάρια της ίδιας οικογενείας (βλέπε Πίνακα 5β., *Diplectanum aequans*, *Lamellodiscus echeneis*). Σε ότι αφορά τα παράσιτα που είναι υπεύθυνα για ασθένειες στα εκτρεφόμενα ψάρια φαίνεται πως στη περίπτωση του είδους *Diplectanum aequans*, κύρια δεξαμενή μόλυνσης πιθανώς αποτελούν οι άγριοι πληθυσμοί λαβρακιών καθώς μόνο σε αυτό το είδος εντοπίστηκε το παράσιτο. Χρησιμοποιείται ο όρος «πιθανώς» διότι επιδημιολογικά δεδομένα μετάδοσης του παρασίτου στα ψάρια είναι ελάχιστα. Όμως εάν η μεταφορά των παρασίτων γίνεται μέσω των ψαριών τότε μόνο οι άγριοι πληθυσμοί λαβρακιού θα μπορούσαν να μολύνουν τα εκτρεφόμενα λαβράκια. Το ίδιο συμβαίνει και στη περίπτωση του μονογενούς παρασίτου *Lamellodiscus echeneis* ένα κοινό παράσιτο της εκτρεφόμενης τσιπούρας, όπου συναντήθηκε μόνο στα βράγχια άγριων ατόμων τσιπούρας. Το παρασιτικό είδος *Diplectanum simile* ανευρέθη σε βράγχια των ειδών *Sciaena umbra* και *Umbrina cirrosa* που ανήκουν στην ίδια οικογένεια (Sciaenidae). Οι **πολυοπισθοκοτύλες** παρουσιάζουν μια περισσότερο σύνθετη παρασιτική ηθολογία σε σύγκριση με τις μονοοπισθοκοτύλες, καθώς μπορεί να εντοπίζονται α) σε ένα μόνο είδος ψαριού (π.χ. *Gastrocotyle trachuri*, *Pseudaxine trachuri*, *Khunia scombri*), β) σε ψάρια της ίδιας οικογενείας (π.χ. *Atrispinum salpaea*, *Microcotyle erythrini*, *Sparicotyle chrysophrii*) και γ) σε ψάρια διαφορετικής οικογενείας (*Pagellicotyle mormyri*).

Πίνακας 5β. Αντιστοιχία παρασίτων και ξενιστών τους.

	<i>Gastrocotyle trachuri</i>	<i>Pseudaxine trachuri</i>	<i>M. nezumiae</i>	<i>Kuhnia scombri</i>	<i>P. heterocotyle</i>	<i>Microcotyle erythrini</i>	<i>K. trachuris n.sp.</i>	<i>Sparicotyle chrysosphriti</i>	<i>Crotaxine sp.</i>	<i>Atrispinium salpaea</i>	<i>Pagellicotyle mormyri</i>	<i>Diplectanum simile</i>	<i>Diplectanum caequans</i>	<i>Lamellodiscus echeensis</i>	<i>Lamellodiscus spp.</i>	<i>Hemiuirus lutei</i>	<i>Hemiuirus communis</i>	<i>Aponurus laguncula</i>	<i>Genarchiopsis goppo</i>	<i>Prosorhynchus sp.</i>	<i>Phyllodistomum sp.</i>	<i>Lepidapedon sp.</i>	<i>Opechona bacillaris</i>	<i>Didymozoidae</i>	<i>Hatshekia sargi</i>	<i>H. pagellibogneravei</i>	<i>P. alatus</i>	<i>Caligus minimus</i>	<i>Clavella sargi</i>	<i>Clavellopsis sargi</i>	<i>Parabrachiella exigua</i>	<i>Lernanthropus kroeyeri</i>	<i>Gnathiid (praniza) ♀</i>	<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Calliobdella vivida</i>	<i>Scolex pleuronectis</i>			
<i>Boops boops</i>						x											x																		x	x			
<i>Coris julis</i>																																					x	x	
<i>Dicentrarchus labrax</i>												x																						x		x	x		
<i>Diplodus amularis</i>										x					x											x											x		
<i>Diplodus puntazzo</i>								x		x	x				x																						x		
<i>Diplodus sargus</i>																																					x		
<i>Diplodus vulgaris</i>										x					x																						x		
<i>Engraulis encrasicolus</i>					x											x		x																			x		
<i>Helicolenus dactylopterus</i>																																					x		
<i>Lithognathus mormyrus</i>											x																												
<i>Merluccius merluccius</i>															x																				x		x		
<i>Mugil cephalus</i>																																					x		
<i>Pagellus acarne</i>						x																															x		
<i>Pagellus erithrinus</i>						x																															x		
<i>Pagrus pagrus</i>															x																						x		
<i>Phycis phycis</i>				x																			x														x		
<i>Sarpa salpa</i>																							x														x		
<i>Sardina pilchardus</i>																																						x	
<i>Sardinella aurita</i>																																						x	
<i>Sciaena umbra</i>												x			x																							x	
<i>Serranus cabrilla</i>																			x	x															x	x		x	
<i>Scomber colias</i>					x																																	x	
<i>Scorpaena scrofa</i>																																						x	
<i>Sparus aurata</i>								x						x																							x		
<i>Spicara smaris</i>															x																							x	
<i>Thunnus thynnus</i>																																						x	
<i>Trachurus trachurus</i>	x	x					x											x	x																	x		x	
<i>Trachurus mediterraneus</i>									x																													x	
<i>Trigla lyra</i>																																						x	
<i>Umbrina cirrosa</i>												x																									x	x	x
<i>Zeus faber</i>																																						x	

Τα **διγενή τρηματώδη** εμφανίζουν μεγάλη ειδικότητα ξενιστών με την πλειονότητα των παρασίτων σε αυτή την εργασία να εντοπίζονται σε ένα μόνο είδος ψαριού. Εξαιρέση αποτέλεσε το είδος *Opechona bacillaris* που εντοπίστηκε σε ψάρια των οικογενειών Scombridae και Carangidae και το είδος *Aponurus laguncula* που εντοπίστηκε σε ψάρια των οικογενειών Engraulidae και Carangidae.

Τα **κωπήποδα** παράσιτα επίσης εμφάνισαν μεγάλη ειδικότητα ξενιστών με τα περισσότερα να εντοπίζονται σε ένα μόνο είδος ψαριού. Η ειδικότητα ωστόσο στα κωπήποδα μπορεί να είναι πλασματική καθώς η αφθονία των κωπηπόδων στους τελεόστεους πληθυσμούς είναι μικρή (μικρή παρουσία συνοδευόμενη από μικρή ένταση), έτσι υπάρχει το ενδεχόμενο να παρασιτούν και άλλα είδη όπου όμως εξαιτίας της σπανιότητάς τους, να μην εντοπίστηκαν. Τη προηγούμενη υπόθεση έρχεται να ενισχύσει το κωπήποδο παράσιτο *Lernanthropus hoferi*, το οποίο εμφανίζει μεγάλη αφθονία στους πληθυσμούς (μεγάλη παρουσία συνοδευόμενη από μεγάλη ένταση), όπου παρατηρήθηκε σε ψάρια τριών διαφορετικών οικογενειών (Moronidae, Sparidae, Carangidae).

Τα **ισόποδα** παράσιτα χαρακτηρίζονται από μικρή ειδικότητα ξενιστών με χαρακτηριστικό παράδειγμα τη θαλάσσια ψείρα (*Ceratothoa oestroides*) η οποία βρέθηκε να παρασιτεί σε 7 είδη 5 διαφορετικών οικογενειών.

Τα **κεστώδη** υπέδειξαν τη μικρότερη ειδικότητα ξενιστών καθώς εντοπίστηκαν σε όλα τα υπό εξέταση ψάρια με εξαίρεση τα είδη *Diplodus sargus* και *Lithognathus mormyrus*. Όλα τα κεστώδη παράσιτα που εντοπίστηκαν στο έντερο των ξενιστών τους, βρέθηκαν σε ανώριμα στάδια (στάδιο σκωληκοκεφαλής). Φορέας μετάδοσης πιθανότατα είναι τα υδρόβια πτηνά τα οποία μέσω των περιττωμάτων τους αποβάλλουν στο θαλάσσιο περιβάλλον τα γεννητικά τους προιόντα τα οποία καταναλώνονται από τα ψάρια και ωριμάζουν έως το στάδιο της σκωληκοκεφαλής. Τα ψάρια τρώγονται από τα πουλιά και ο κύκλος του παρασίτου κλείνει μέσα στο έντερο τους.

Σε ότι αφορά τη παθολογία των εξωπαρασιτώσεων αυτή εμφανίζει κοινή ιστοπαθολογική εικόνα κυρίως στα βράγχια και η οποία συνοδεύεται σε οξείες παρασιτώσεις από υπερπλασία του επιθηλίου ενώ σε χρόνιες από νέκρωση, υπερπλασία και υδρωπική εκφύλιση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

Τοξικότητα Εμαμεκτίνης, Νικλοσαμίδης

2.1 Εισαγωγή 2^{ης} ενότητας

2.1.1 Νικλοσαμίδα

2.1.1.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Συναντάται υπό διάφορες εμπορικές ονομασίες όπως Nicloside, Devermine, Niclosan, Bayluscide[®]WP70, Bayluscide[®]EC250, Bayer 73, clonitralid, Niclocide, ενώ περιέχεται στο Yomesan[®], ένα ισχυρό αντικεστιδικό, καθώς και σε πολλά άλλα. Η χημική της ονομασία είναι 5- χλωρο - N - (2-χλωρο-4-νιτροφαινυλο)-2-υδροξυβενζαμίδα (διεθνώς: 5 - Chloro - N - (2 - chloro - 4 - nitrophenyl) 2 - hydroxybenzamide) όμως βιβλιογραφικά μπορεί να συναντηθεί και υπό τη κατά IUPAC χημική ονομασία 2',5-dichloro-4'-nitrosalicylanilide. Έχει χρώμα υποκίτρινο ενώ το άλας της με πιπεραζίνη είναι έντονο κίτρινο. Ανήκει στην ομάδα των αλογονομένων σαλικιλανιλιδών, η οποία έχει αντιπαρασιτικές ιδιότητες στα ζώα. Μοριακό βάρος 327,1. Σημείο ζέσεως 22-224⁰C. Εμπειρικός τύπος C₁₃H₈O₄N₂Cl₂.

Τα 2'-nitro παράγωγα της Νικλοσαμίδης είναι δραστικά ενάντια στα μαλάκια σε συγκεντρώσεις 1mg/l, ενώ τα 4'-nitro παράγωγα της είναι εντόνως δραστικά ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις των 0,3mg/l (Andrews et al., 1983). Περιέργως, τα 3'-nitro παράγωγα της Νικλοσαμίδης είναι ελάχιστα δραστικά.

Είναι πρακτικά αδιάλυτη στο νερό ενώ είναι εξαιρετικά διαλυτή σε DMSO, ακετόνη και μεθανόλη. Η διαλυτότητα της στο νερό (20⁰C) κυμαίνεται από 5-8mg/l ενώ ανάλογα με τη θερμοκρασία, το pH και τα διαλυμένα άλατα που περιέχει το υδατικό διάλυμα μπορεί να κυμανθεί από 0,2-19mg/l (Meyling & Pitchford, 1966, Gönnert, 1961). Το άλας της με αιθανολαμίνη αυξάνει δραματικά τη διαλυτότητα της στο νερό (145-372mg/l)(Gönnert, 1961), ενώ υπό τη μορφή 70% έφυδρης σκόνης η διαλυτότητα μπορεί να φθάσει τα 1010mg/l (Meyling et al., 1962).

2.1.1.2 Χημική σταθερότητα

Η θερμοσταθερότητα που παρουσιάζει η νικλοσαμίδα είναι υψηλή, έτσι το μόριο διατηρεί τη δομή του ακόμη και σε υψηλές θερμοκρασίες ενώ σαπωνοποίηση επιτυγχάνεται μόνο στο σημείο βρασμού παρουσία ισχυρών οξέων ή βάσεων. Η χημική της σταθερότητα σε κορεσμένα υδατικά διαλύματα εξαρτάται από τη χημική σύσταση του παραγώγου (Πίνακας 6) και την ηλιακή ακτινοβολία.

Η νικλοσαμίδα είναι φωτοευαίσθητη ένωση. Η φωτοσταθερότητα της εξαρτάται από τη χημική μορφή του παραγώγου της (Andrews ,1982), την ένταση και διάρκεια της ακτινοβολίας (Bruaux and Gillet,1961), το pH (Gönnert &Strufe, 1961) και τη σκληρότητα του νερού (Meyling et al.,1962). Η συγκέντρωση υδατικού διαλύματος πρότυπης Νικλοσαμίδης με σκληρότητα 0,26mg CaCO₃/l, μειώνεται κατά 80% μετά από 16h έκθεσης στο ηλιακό φως, ενώ κατά 57% όταν η σκληρότητα του νερού είναι 408 mg CaCO₃/l. Η έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία για 24 h μπορεί να μειώσει τη δραστηριότητα του 70% έφυδρου παραγώγου κατά 80-90%, ενώ μικρότερης διάρκειας εκθέσεις (6-12h) δεν επηρέασαν σημαντικά τη δραστηριότητα (Bruaux and Gillet,1961). Διαλύματα με σχετικά χαμηλό pH (5.0), αυξάνουν τη φωτοευαισθησία ενώ ουδέτερα και αλκαλικά διαλύματα την μειώνουν. Το άλας Νικλοσαμίδης-αιθανολαμίνης είναι το λιγότερο φωτοευαίσθητο.

Πίνακας 6. Σύγκριση σταθερότητας Νικλοσαμίδης και 70% έφυδρου παραγώγου σε διαφορετική χρονική έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία

Μορφή	C (mg/l)	Χρόνος	T (°C)	Απώλεια ενεργότητα ς	Παραπομπή
Νικλοσαμίδα	0,7	9 h	20-50	Όχι	Strufe & Gönnert 1962
	1	13 h	45	Όχι	Meyling et al., 1962
	N.D.	4 d	N.D.	20%	Gönnert &Strufe 1961
	0,5	15 d	30	30-60%	Gönnert &Strufe 1961
	0,08-0,075	6 d	24-26	Όχι	Ritchie & Berrios Duran 1969
	0,08-0,075	8 d	24-26	100%	Ritchie & Berrios Duran 1969
70% έφυδρο παράγωγο	N.D.	52 d	N.D.	Όχι	Upatham & Sturrock 1977
	N.D.	41 w	T.C.	Όχι	Strufe & Gönnert 1962
	N.D.	3 y	22-31	Ελάχιστη	Fox et al., 1966

2.1.1.3 Κτηνιατρική Χρήση

Η δράση της νικλοσαμίδης δεν είναι απολύτως γνωστή, πιθανότατα δρα μέσω της παρεμπόδισης της παραγωγής ATP (τριφωσφορικής αδενοσίνης) , καθώς και μέσω της αποσύνδεσης της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης στα μιτοχόνδρια του παρασίτου κατά τη διάρκεια της μεταφοράς ηλεκτρονίων από το NADH. (James and Gilles 1985).

Πρόκειται για ισχυρό **μαλακιοκτόνο** το οποίο προτείνεται από τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας (WHO) για τη καταπολέμηση της σχιστοσωμιάσης, εξαλείφοντας τους υδρόβιους κοχλίες που είναι οι ενδιάμεσοι ξενιστές του. Έως και σήμερα παραμένει το μόνο μαλακιοκτόνο με επιτρεπόμενη χρήση (WHO,1993). Επίσης χρησιμοποιείται και για τη καταπολέμηση της λάμπραιναις *Petromyzon marinus* (Linnaeus 1758) ενός άγναθου ιχθυόμορφου παρασιτικού οργανισμού (**αγναθοκτόνο**).

Εξαιτίας της τοξικότητας που παρουσιάζει στους ιχθύες των γλυκών νερών, η νικλοσαμίδα έχει χρησιμοποιηθεί και ως **ιχθυοκτόνο** είτε για να εξαλείψει αλλόχθονα εξωτικά είδη είτε για να περιορίσει συγκεκριμένα είδη. Στην Αμερική χρησιμοποιήθηκε νικλοσαμίδα εσώκλειστη σε ταχέως βυθιζόμενες πολυμερείς κάψουλες για να μειωθεί ο πληθυσμός του βυθόβιου είδους *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) (Schreier et al. 2001). Εξαιτίας της **κεστωδοκτόνου δράσης** του χρησιμοποιείται στους ανθρώπους αλλά και σε κατοικίδια και παραγωγικά ζώα κυρίως για τη καταπολέμηση ταινιών.

2.1.1.4 Αντιπαρασιτική δράση στους ιχθύες

Μια από τις πρώτες εργασίες που έλεγξε και επιβεβαίωσε τη πιθανή αντιπαρασιτική δράση της νικλοσαμίδης ενάντια σε μονογενή ήταν εκείνη των Schmahl & Taraschewski (1987). Στην εργασία αυτή η εφαρμογή του φαρμάκου έγινε μόνο με εμφύσηση. Το 1988 ο Sanmartin Duran και λοιποί επιβεβαίωσαν με τη σειρά τους τη δράση της νικλοσαμίδης ενάντια στο κεστώδες *Bothriocephalus scorpii* στο έντερο του καλκανιού. Η ιδιαιτερότητα αυτής της εργασίας είναι πως για πρώτη φορά γίνεται χορήγηση *per os* στον ξενιστή, καταλήγοντας σε ιδανική δοσολογία εκείνη των 40mg/kg ιχθυομάζας για 3 ημέρες.

Δέκα χρόνια αργότερα, το 1998 οι Tojo & Santamarina δημοσίευσαν μια εργασία κατά την οποία έλεγξαν τη πιθανή δράση 24 ουσιών ενάντια στο μονογενές

παράσιτο του γένους *Gyrodactylous* sp. Ανάμεσα σε αυτές τις 24 ουσίες συμπεριλαμβάνονταν και η νικλοσαμίδη, η οποία τελικώς θεωρήθηκε από τους συγγραφείς ως αναποτελεσματική διότι παρατηρήθηκε σχετική ελάττωση αλλά όχι πλήρης εξάλειψη του παρασιτικού φορτίου, μείωση στην όρεξη και θνητότητα στις πέστροφες όπου χορηγούνταν. Σημειώνεται πως σε αυτή την εργασία έγινε *per os* χορήγηση νικλοσαμίδης σε συγκέντρωση 40.000 ppm (40g/kg τροφής), χωρίς ωστόσο να αναφέρεται η συγκέντρωση που τελικώς χορηγήθηκε (mg φαρμάκου/kg ιχθυομάζας). Ενδιαφέρον να ειπωθεί πως οι συγγραφείς ανέφεραν πως τα παράσιτα παρατηρούνταν νεκρά ή ακίνητα. Μετά και το 1998 η έρευνα επάνω στην αντιπαρασιτική δράση της νικλοσαμίδης ήταν ανύπαρκτη εξαιτίας πιθανότατα της διττής ιδιότητας της ως ιχθυοκτόνο.

Στις μέρες μας η νικλοσαμίδη περιορίζεται στη χρήση για την οποία αρχικώς προοριζόταν, δηλαδή το περιορισμό της σχιστοσωμιάσης και ως αγναθοκτόνο, έχοντας παράλληλα και μια περιορισμένη κτηνιατρική χρήση ενάντια στις ταινίες του πεπτικού. Η έρευνα που γίνεται τα τελευταία χρόνια και αφορά τη νικλοσαμίδη εστιάζει κυρίως στις αντικαρκινικές ιδιότητες της (Bai & Yang, 2013, Li et al., 2014, Arend et al., 2014, Ono et al., 2014).

2.1.1.5 Παρεντερική χορήγηση

Ο μόνος παρεντερικός τρόπος χορήγησης των φαρμάκων στα ψάρια σε επίπεδο εκτροφής, είναι μέσω των βραγχίων με εμβάπτιση. Από την έως τώρα γνώση που έχουμε αποκομίσει από έρευνες για τη τοξική συμπεριφορά της νικλοσαμίδης, προκύπτουν πολλά ενδιαφέροντα συμπεράσματα. Ξεκινώντας από τις περιπτώσεις που έχει χρησιμοποιηθεί ως μαλακιοκτόνο, γνωρίζουμε πως η άμεση εφαρμογή της νικλοσαμίδης υπό μορφή άλατος αιθανολαμίνης σε υδάτινα περιβάλλοντα με χαμηλή σκληρότητα (λίμνες και ποτάμια), έχει ως αποτέλεσμα την ολική θανάτωση του συνόλου των ιχθύων σε χρονικό διάστημα από **5min** (29mg/l διττανθρακικά, 30mg/l CaCO₃) έως και **6h** (20mg/l διττανθρακικά, 100mg/l CaCO₃). Αυτή η ισχυρή ιχθυοκτόνος δράση παρατηρείται ακόμη και όταν οι συγκεντρώσεις στο νερό δεν ξεπερνούν τα 0,1 mg/l (Harrison and Mason, 1967). Συμπεραίνουμε λοιπόν πως όταν το νερό εμβάπτισης έχει χαμηλή ολική σκληρότητα ενισχύεται η τοξική δράση της νικλοσαμίδης.

Μία άλλη σημαντική φυσικοχημική παράμετρος είναι το pH του νερού εκτροφής. Στην εργασία του Webbe (1961) προέκυψαν στοιχεία πως το άλας νικλοσαμίδης – αιθανολαμίνης ήταν λιγότερο δραστικό σε αποσταγμένο νερό από ότι σε εμφιαλωμένο νερό, κάτι που έρχεται σε αντίθεση με όσα αναφέρονται στη παραπάνω παράγραφο περί σκληρότητας. Ο λόγος που συνέβη αυτό ήταν εξαιτίας του pH. Το εμφιαλωμένο νερό που χρησιμοποιήθηκε είχε pH 7.3 ενώ το αποσταγμένο νερό είναι ελαφρώς όξινο. Ως δεύτερο συμπέρασμα λοιπόν θα μπορούσαμε να πούμε πως η νικλοσαμίδα παρουσιάζει μειούμενη δραστικότητα όσο περισσότερο αλκαλικό είναι το pH., κάτι που επιβεβαιώνεται και από παλαιότερες εργασίες (Andrews et al., 1982, Dawson et al., 2002).

Μεταφράζοντας τα παραπάνω θα περιμέναμε μικρότερη ή ίσως και αμελητέα τοξική δράση σε ύδατα με μεγάλη ολική σκληρότητα και αλκαλικό pH, χαρακτηριστικά δηλαδή που έχει το θαλασσινό νερό. Το θαλασσινό νερό έχει ολική σκληρότητα που κυμαίνεται στα 3600mg/l, δηλαδή 100 περίπου φορές περισσότερη από εκείνη που έχουν οι λίμνες και τα ποτάμια, ενώ το pH του κυμαίνεται κοντά στο 8,0. Με άλλα λόγια στα εκτρεφόμενα θαλάσσια είδη η νικλοσαμίδα θα μπορούσε με ευκολία να εφαρμοστεί χωρίς να παρατηρούνται τοξικά φαινόμενα, αυξάνοντας τα επίπεδα ασφαλείας στη χρήση της.

Δυστυχώς έως τώρα δεν υπάρχει δημοσιευμένη εργασία στην οποία να προκύπτουν στοιχεία για τη δραστικότητα της νικλοσαμίδης σε ψάρια θαλασσινού νερού μετά από εμβάπτιση.

Ο Inglesias και λοιποί (2002) διερεύνησαν την αντιπαρασιτική δράση της νικλοσαμίδης μόνο *in vitro* χωρίς να υπάρξουν δοκιμές σε ψάρια ενώ ο Sanmartin Duran και λοιποί (1989) χορήγησαν νικλοσαμίδα (Cestocida[®], Bayer) *per os* αλλά όχι και με εμβάπτιση σε καλκάνι (*Scophthalmus maximus*).

2.1.1.6 Γαστρεντερική χορήγηση

Η *per os* χορήγηση της νικλοσαμίδης σε ψάρια και η δραστικότητα αυτής δεν έχει μελετηθεί αναλυτικά. Από τα στοιχεία που προκύπτουν για το καλκάνι φαίνεται πως ημερήσιες δόσεις των 40mg/kg Σ.Β. μέσω της για 3 ημέρες ήταν ικανές να σκοτώσουν το παράσιτο (κεστώδες) χωρίς να υπάρχουν θνησιμότητες στα ψάρια (για 12 ημέρες)(Sanmartin Duran et al., 1989). Σε εφάπαξ χορήγηση 150mg/Kg Σ.Β. σε κυπρίνο (*Ctenopharyngodon idella*) παρατηρήθηκαν τοξικά φαινόμενα (Pool et

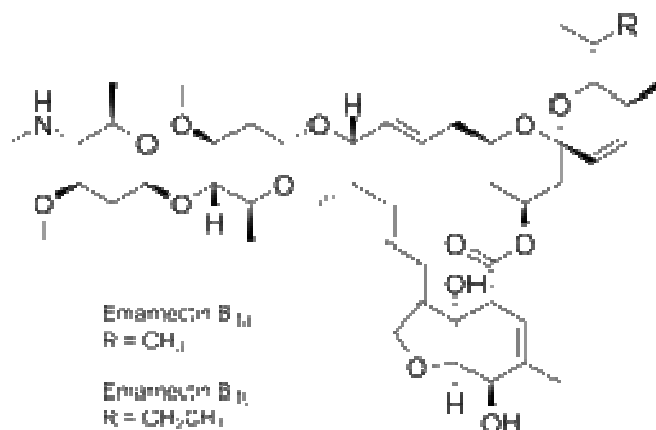
al.,1984). Στις εργασίες των Tojo & Santamarina (1998a,1998b,1998c) η γαστρεντερική χορήγηση μέσω της τροφής είναι ανεκτή στη πέστροφα ακόμα και σε υψηλές δόσεις 800ppm/ ημέρα για 10 ημέρες (40g/kg τροφής- 2% Σ.Β./d/10d), χωρίς να αναφέρονται θνητότητες στις 2 από τις 3 εργασίες (1998a, 1998c), ενώ στη μία εργασία (1998b) αναφέρεται μειωμένη όρεξη πρόσληψης τροφής και θνητότητα (2 από τις 20 πέστροφες).

2.1.2 Εμαμεκτίνη

2.1.2.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Συναντάται υπό διάφορες χημικές ονομασίες όπως (10*E*,14*E*,16*E*)-(1*R*,4*S*, 5'*S*,6*S*, 6'*R*, 8*R*, 12*S*, 13*S*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-6'-[(*S*)-sec-βουτυλο]-21,24-διυδροξυ-5', 11, 13, 22-τετραμεθυλο-2-οξο(3, 7, 19-τριοξατετρακυκλο[15.6.1.1^{4, 8}. 0^{20, 24}]πεντακοσα-10, 14, 16, 22-tetraene)-6-σπυρο-2'-(5', 6'-διυδρο-2*H*-pyran)-12-yl 2, 6 διυδροξυ-3-0-μεθυλο-4-0-(2, 4, 6 τριυδροξυ-3-0-μεθυλο-4-μεθυλαμινο-α-*L*-lyxo-εξαπυρανόσυλο)-α-*L*-arabino-hexapyranoside benzoate και ≤ 10% (10*E*,14*E*,16*E*)-(1*R*,4*S*, 5'*S*,6*S*, 6'*R*, 8*R*, 12*S*, 13*S*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-21, 24 διυδροξυ-6'-ισοπρόπυλο-5', 11, 13, 22-τετραμεθυλο-2-οξο-(3, 7, 19-τριαξατετράκυκλο[15.6.1.1^{4, 8}. 0^{20, 24}]πεντακοσα-10, 14, 16, 22-tetraene)-6-σπυρο-2'-(5', 6'-διυδρο-2*H*-pyran))-12-yl 2, 6 διυδροξυ-3-0-μεθυλο-4-0-(2, 4, 6 τριυδροξυ-3-0-μεθυλο-4-μεθυλαμινο-α-*L*-lyxo-εξαπυρανόσυλο)-α-*L*-arabino-hexapyranoside benzoate.

Η ονομασία του εμπορικού σκευάσματος που χρησιμοποιείται στα ψάρια ως αντιπαρασιτικό είναι SLICE, και η δραστική ουσία είναι η εμαμεκτίνη (Emamectin benzoate), σε ποσοστό 0,2%).



Εικόνα 77. Συντακτικός τύπος Βενζοϊκής εμαμεκτίνης

Είναι διαλυτή σε ισχυρούς οργανικούς διαλύτες όπως ακετόνη και ακετονιτρίλιο, ενώ η διαλυτότητα της στη μεθανόλη είναι λιγότερο καλή. Το χρώμα της είναι λευκό ενώ κατά τη πλήρη διάλυση της στους παραπάνω διαλύτες είναι διαφανής. Η εμαμεκτίνη δρα ως ενεργοποιητής των καναλιών του χλωρίου δεσμεύοντας τους υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέως (GABA) και τα κανάλια του γλουταμινικού χλωρίου, παρεμποδίζοντας έτσι τη μετάδοση των νευρικών ώσεων μέσα στα αρθρόποδα.

Σε δοσολογικά σχήματα υποτοξικών συγκεντρώσεων παρατηρείται λήθαργος, σκούρος χρωματισμός δέρματος, ανορεξία, έλλειψη συντονισμού και απάθεια. Σε τοξικές συγκεντρώσεις ο θάνατος επέρχεται εντός του 1^{ου} 24ώρου. Η πρωτεϊνική μεμβράνη P (γλυκοπρωτεΐνη) στα ψάρια μειώνει σημαντικά την τοξικότητα της εμαμεκτίνης με τη δράση της ως ATP εξαρτώμενη αντλία εκροής των μακροκυκλικών λακτονών έξω από τον εγκέφαλο. Τα MRL έχουν οριστεί στα 100μg/kg ενώ το ADI στ 1μg/kg. Για να μπορέσει να καταβολιστεί η εμαμεκτίνη έχει υπολογιστεί πως απαιτούνται 175 βαθμοημέρες (AAVBC 2004). Αν και θεωρείται ασφαλής ουσία για τους καταναλωτές εντούτοις ένας μεταβολίτης της εμαμεκτίνης (B₁) φαίνεται πως παραμένει ως κατάλοιπο στους ιστούς και στο δέρμα.

2.2 Υλικά και Μέθοδοι 2^{ης} ενότητας

Σκοπός της 2^{ης} ενότητας ήταν η διερεύνηση της τοξικής δράσης της Νικλοσαμίδης και της Εμαμεκτίνης στα ψάρια. Συνολικά έγιναν 10 πειραματικές χορηγήσεις φαρμάκων εκ των οποίων οι 8 αφορούσαν τη Νικλοσαμίδα και 2 για την Εμαμεκτίνη. Οι διερεύνηση των ασφαλών ορίων χορήγησης για τη Νικλοσαμίδα ήταν το κύριο ζητούμενο, καθώς πρόκειται για μια ουσία η οποία είναι ελάχιστα μελετημένη στα ψάρια. Για το λόγο αυτό έγιναν περισσότεροι έλεγχοι χορήγησης της νικλοσαμίδης συγκριτικά με την εμαμεκτίνη. Η εμαμεκτίνη αποτελεί αδειοδοτημένη φαρμακευτική ουσία για το σολομό και ως εκ τούτου θεωρείται ασφαλής. Παρόλα αυτά έγιναν τυπικοί έλεγχοι τοξικότητας σε λαβράκια, ένας στη προτεινόμενη δοσολογία για επαλήθευση και ένας δεύτερος σε διπλάσια ποσότητα για να διερευνηθεί η ανοχή των μεσογειακών ειδών σε υπερδοσία, υπό αυξημένη θερμοκρασία εκτροφής (19⁰C).

2.2.1 Έλεγχος τοξικότητας Νικλοσαμίδης

Για τον έλεγχο τοξικότητας της Νικλοσαμίδης επιλέχθηκαν συνολικά 8 διαφορετικά δοσολογικά σχήματα χρησιμοποιώντας ως πειραματικά υποκείμενα λαβράκια, μυλοκόπια και φαγκριά. Τα ψάρια προ της φαρμακευτικής χορήγησης είχαν εγκλιματιστεί για τουλάχιστον 2 εβδομάδες στα ενυδρεία και τρέφονταν με τροφή του εμπορίου που ενδείκνυται για αυτά τα είδη. Το πείραμα έληγε 30 ημέρες μετά και τη τελευταία ημέρα χορήγησης του φαρμάκου. Ως ημέρα 0 θεωρείται η τελευταία ημέρα χορήγησης. Όλες οι θνητότητες καταγράφονταν καθώς επίσης και οποιαδήποτε κλινική εκδήλωση η οποία θα μπορούσε να υποδηλώσει τοξικότητα. Τα δοσολογικά σχήματα τα οποία:

- 1^{ov}) δεν προκάλεσαν θνητότητα, και
- 2^{ov}) δεν εμφάνισαν κλινική εικόνα τοξικότητας, και
- 3^{ov}) δεν επέφεραν ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις

Θεωρούνταν πως κινούνταν κάτω από την οριακή δόση (Threshold Dose, TD), οπότε και αποτελούσαν υποψήφια δοσολογικά σχήματα για την επόμενη ενότητα.

Τα δοσολογικά σχήματα που εφαρμόστηκαν ήταν:

- 1) Νικλοσαμίδη, 400ppm εφάπαξ σε 110 μυλοκόπια (Μέσο Βάρος 0,3g)
- 2) Νικλοσαμίδη, 400ppm εφάπαξ σε 21 λαβράκια (Μέσο Βάρος 10g)
- 3) Νικλοσαμίδη, 100ppm/ημέρα (2 ημέρες) σε λαβράκια (Μέσο Βάρος 40g)
- 4) Νικλοσαμίδη, 100ppm εφάπαξ σε 10 φαγκριά (Μέσου Βάρους 15g)
- 5) Νικλοσαμίδη, 40ppm/ημέρα (5 ημέρες) λαβράκια (Μ.Β.50g)+απ.γεύμα
- 6) Νικλοσαμίδη, 20ppm/ημερα (10 ημέρες) λαβράκια (Μ.Β.50g)+απ.γεύμ
- 7) Νικλοσαμίδη, 30ppm/ημέρα (3 ημέρες) σε λαβράκια (Μέσο Βάρος 60g)
- 8) Νικλοσαμίδη, 60ppm εφάπαξ με χειροποίητη τροφή σε λαβράκια (67g)

2.2.2 Έλεγχος τοξικότητας Εμαμεκτίνης

Για τον έλεγχο τοξικότητας της Εμαμεκτίνης επιλέχθηκαν συνολικά 2 διαφορετικά δοσολογικά σχήματα χρησιμοποιώντας ως πειραματικά υποκείμενα λαβράκια. Τα ψάρια προ της φαρμακευτικής χορήγησης είχαν εγκλιματιστεί για τουλάχιστον 2 εβδομάδες στα ενυδρεία και τρέφονταν με τροφή του εμπορίου που

ενδείκνυται για αυτά τα είδη. Το πείραμα έληγε 30 ημέρες μετά και τη τελευταία ημέρα χορήγησης του φαρμάκου. Ως ημέρα 0 θεωρείται η τελευταία ημέρα χορήγησης. Όλες οι θνητότητες καταγράφονταν καθώς επίσης και οποιαδήποτε κλινική εκδήλωση η οποία θα μπορούσε να υποδηλώσει τοξικότητα.

Τα δοσολογικά σχήματα τα οποία:

1^ο) δεν προκάλεσαν θνητότητα, και

2^ο) δεν εμφάνισαν κλινική εικόνα τοξικότητας, και

3^ο) δεν επέφεραν ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις

Θεωρούνταν πως κινούνταν κάτω από την οριακή δόση (Threshold Dose, TD), οπότε και αποτελούσαν υποψήφια δοσολογικά σχήματα για την επόμενη ενότητα.

Τα δοσολογικά σχήματα που εφαρμόστηκαν ήταν:

9) Εμαμεκτίνη, 0,1μg/kg/ημέρα (10ημέρες) σε λαβράκια (Μέσο Βάρος 50g)

10) Εμαμεκτίνη, 100μg/kg/ημέρα (10 ημέρες)σε λαβράκια (Μέσο Βάρος 50g)

2.2.3 Τρόποι χορήγησης ουσιών

Ο τρόπος χορήγησης των ουσιών σε όλα τα δοσολογικά σχήματα εφαρμόστηκε *per os* που ήταν και το ζητούμενο διερεύνησης. Οι ουσίες χορηγούνταν στα ψάρια αφού πρώτα είχαν εγκλειστεί στη τροφή τους. Η διαδικασία εγκλεισμού στη τροφή γίνεται με αρχική καλή ανάδευση της ουσίας με τη τροφή και την εφαρμογή ελαίου που αποτελεί την υδρόφοβη φάση. Η ουσία είναι προτιμότερο να βρίσκεται υπό μορφή σκόνης για να εξασφαλιστεί η ομοιόμορφη κατανομή της στη τροφή κατά την ανάδευση. Η σκόνη κατά την ανάδευση επικάθεται προσκολλούμενη στην επιφάνεια των κόκκων τροφής και δεν εισχωρεί μέσα σε αυτήν. Όμως υπό αυτή τη μορφή όταν ο κόκκος τροφής πέσει στο νερό κατά το τάισμα η ουσία θα διαλυθεί σε αυτό προτού το ψάρι προλάβει να τη καταναλώσει. Για να μειωθεί αυτή η απώλεια φαρμάκου, γίνεται πριν την εφαρμογή εγκλεισμός των κόκκων τροφής με κάποιο υδρόφοβο μέσο (έλαια). Η ελαιώδης φάση περιβάλλει τους κόκκους τροφής και αποτρέπει τη διάλυση του φαρμάκου στο νερό.

Ένα μεγάλο πρόβλημα που έπρεπε να επιλυθεί στα αρχικά πειράματα ήταν η ευθύς εξαρχής άρνηση αποδοχής της τροφής (φάρμακομορφή) από τα ψάρια. Συνήθως τη πρώτη ημέρα χορήγησης τα ψάρια κολυμπούσαν ενεργά για να φάνε τη

τροφή, γεύονταν ένα- δύο κόκκους τροφής και είτε συνέχιζαν με δισταγμό να τους καταναλώνουν είτε τους απέρριπταν εντελώς αντιμετωπίζοντας τους με απάθεια. Το μεγαλύτερο πρόβλημα παρουσιάστηκε στη Νικλοσαμίδη και λιγότερο στην Εμαμεκτίνη. Έτσι έγινε σαφές πως η γεύση των ουσιών, αποτελεί περιοριστικό παράγοντα πρόσληψης και σαφώς ένα πρώτο φυσικοχημικό μειονέκτημα για αυτές.

Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα η αρχική σκέψη ήταν αν ακολουθήσει 12ωρη νηστεία προ της 1^{ης} χορήγησης, κάτι που όμως δεν βελτίωσε τη πρόσληψη τροφής από τα ψάρια. Τελικώς η λύση δόθηκε με αντικατάσταση τη υδρόφοβης φάσης εγκλεισμού. Το έλαιο που αρχικά χρησιμοποιήθηκε (σπορέλαιο) αντικαταστάθηκε με ιχθυέλαιο το οποίο εξαιτίας της έντονης μυρωδιάς και γεύσης του κάλυπτε τη πικρότητα των ουσιών.

Στο 8^ο πειραματικό δοσολογικό σχήμα έγινε ενσωμάτωση της νικλοσαμίδης στη τροφή και όχι απλώς εγκλεισμός. Για την ενσωμάτωση χρησιμοποιήθηκε ιχθυόσκονη και ιχθυέλαιο, τα οποία ζυμώθηκαν μαζί τη φαρμακευτική σκόνη και κόπηκαν σε σύμπηκτα όμοιας κοκκομετρίας με την εμπορική τροφή. Η ημερήσια κατανάλωση τροφής καθορίστηκε στο 2% επί της συνολικής ιχθυομάζας των υποκείμενων. Όλη η τροφή της ημέρας δίδονταν εφάπαξ κάθε πρωί η οποία και περιείχε τις υπό διερεύνηση ουσίες. Μετά το πέρας χορήγησης των ουσιών δίδονταν εμπορική τροφή δύο φορές τη μέρα έως τον κορεσμό.

2.2.4 Εγκαταστάσεις- Πειραματικές διατάξεις

Όλα τα πειραματικά υποκείμενα φιλοξενήθηκαν στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου Ιχθυολογίας-Ιχθυοπαθολογίας του τμήματος Κτηνιατρικής (Καρδίτσα), σε ενυδρεία των 200 λίτρων. Κάθε ενυδρείο ήταν εξοπλισμένο με βιολογικό φίλτρο το οποίο ήταν ήδη λειτουργικό κατά την εισαγωγή των ψαριών. Η παροχή οξυγόνου γινόταν με δύο αεραντλίες ατμοσφαιρικού μείγματος αερίων όμως σε περιπτώσεις μεγάλων ιχθυοφορτίσεων υπήρχε επικουρική παροχή καθαρού οξυγόνου με diffuser. Η κύρια δεξαμενή παροχέτευσης νερού ήταν απομονωμένη και περιείχε νερό βρύσης με διαλυμένο αλάτι για ενυδρεία. Η αλατότητα (S) κυμαινόταν από 3,3-3,5%.

Ένα μειονέκτημα των ενυδρείων ήταν ότι αυτά λειτουργούσαν ως κλειστά κυκλώματα και όχι ως δεξαμενές συνεχούς ανανέωσης νερού. Αυτό περιορίζει σημαντικά την εγκυρότητα της πειραματικής διάταξης καθώς οι ουσίες παραμένουν συνεχώς μέσα στα ενυδρεία έχοντας συσσωρευτική δράση. Για να περιοριστεί αυτό

το πρόβλημα κάθε μέρα απομακρύνονταν δια σιφονισμού όλα τα περιττώματα και στη συνέχεια γινόταν αλλαγή της μισής ποσότητας νερού του ενυδρείου. Ο σιφονισμός και η αλλαγή του νερού γίνονταν τις απογευματινές ώρες.

Όλες οι συγκεντρώσεις των ημερήσιων ή συνολικών δόσεων παρουσιάζονται υπό τη μορφή ppm (mg ουσίας/ Kg συνολικής ιχθυομάζας).

2.3 Αποτελέσματα 2ης Ενότητας

2.3.1 Νικλοσαμίδα, 400ppm εφάπαξ σε 110 μυλοκόπια (Μέσο Βάρος 0,3g)

Η επιλογή αυτού του είδους ψαριού δεν έγινε τυχαία καθώς είναι σύνηθες λίγες μέρες μετά τη μεταφορά τους από την προπάχυνση στους κλωβούς να εμφανίζουν θνητότητες εξαιτίας παρασιτώσεων. Ήταν αρκετά ενδιαφέρον να χορηγηθεί η νικλοσαμίδα σε αυτό το είδος έτσι ώστε να εξεταστεί η γενική αντίδραση του στην ουσία. Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 21-22⁰C. Παράλληλα με τη πειραματική δεξαμενή χορήγησης Νικλοσαμίδης υπήρξε και μια ακόμη στην οποία διατηρούνταν οι μάρτυρες (47 μυλοκόπια), ίδιου σωματικού βάρους προερχόμενα από τους ίδιους γεννήτορες και την ίδια τοκετοομάδα. Η τροφή ήταν σύστοιχης κοκκομετρίας και σύνθεσης με το πειραματικό ενυδρείο χορήγησης Νικλοσαμίδης, με τη διαφορά ότι η τροφή δεν περιείχε την ουσία. Η ημερήσια ποσότητα χορήγησης τροφής ήταν ίδια και στα δύο ενυδρεία. Η αρχική τυπική απόκλιση του βάρους των ιχθυδίων ήταν 0,92.

Πριν από την χορήγηση της νικλοσαμίδης τα μυλοκόπια εμφάνιζαν φυσιολογική εικόνα, με καλή κινητικότητα και αρκετή όρεξη. Τη πρώτη ημέρα χορήγησης τα μυλοκόπια δέχθηκαν τη τροφή (με νικλοσαμίδα) χωρίς πρόβλημα. Η κινητικότητα δεν επηρεάστηκε, αντιδρώντας έντονα σε ερεθίσματα κίνησης εκτός ενυδρείου. Τη δεύτερη ημέρα η αντίδραση στη τροφή (εμπορική) ήταν μειωμένη και διστακτική αυξάνοντας το χρόνο πρόσληψης της, σχεδόν στο διπλάσιο. Βρέθηκαν 21 άτομα νεκρά, με τα υπόλοιπα ψάρια να εμφανίζουν αταξία χωρίς τη φυσιολογικά τάση για κοπάδιασμα. Τη τρίτη ημέρα εντοπίστηκαν 11 νεκρά άτομα. Τα υπόλοιπα ζωντανά ψάρια εμφάνιζαν χαρακτηριστικά συμπτώματα τοξίκωσης, με τη πλειονότητα των ψαριών να βρίσκεται σε αταξία, παραμένοντας ακίνητα εκτελώντας σπασμωδικές νευρικές κινήσεις κατά διαστήματα. Όσα ζωντανά ψάρια δεν είχαν

εκδηλώσει τα προαναφερθέντα συμπτώματα δέχονταν τη τροφή (εμπορική) διστακτικά. Η τρίτη ημέρα ήταν και η τελευταία ημέρα όπου κάποια ψάρια δέχονταν τροφή. Στις υπόλοιπες ημέρες που ακολούθησαν όλα τα ψάρια εμφάνισαν συμπτώματα τοξίκωσης. Η πλευστότητα τους ήταν αδύνατο να διατηρηθεί με τα περισσότερα να παρασύρονται από την απορροή του βιολογικού φίλτρου έχοντας παθητική πλεύση. Τη τέταρτη ημέρα βρέθηκαν 30 νεκρά άτομα. Τα εναπομείναντα ζωντανά ήταν απαθή και δεν αντιδρούσαν σε εξωτερικά ερεθίσματα. Τη πέμπτη ημέρα όλα σχεδόν τα ιχθύδια βρέθηκαν νεκρά, οπότε και το πείραμα έληξε. Παρακάτω παρουσιάζονται οι αναλυτικά οι θνητότητες:

*Πίνακας 7.Εφάπαξ 400ppm Niclosamide
(μυλοκόπια)*

Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο	
0 ^η	0	110	
1 ^η	21	89	
2 ^η	11	78	
3 ^η	30	48	← LD ₅₀
4 ^η	43	6	
5 ^η	6	0	

Τα 400ppm με εφάπαξ χορήγηση θεωρήθηκαν ως τοξική δόση (Toxic dose, TD) για τα μυλοκόπια. Αυτή η συγκέντρωση θεωρείται μέση θανατηφόρος δόση (LD₅₀) στις 72h. Εξαιτίας του μικρού μεγέθους των ψαριών οι τομές των βιοψιών για τις ιστοπαθολογικές εξετάσεις έγιναν κατά μήκος ολόκληρων των ιχθυδίων, με τα ιστοπαθολογικά ευρήματα να είναι ασαφή.

Στους μάρτυρες (n=47) δεν παρατηρήθηκαν θνητότητες στις αντίστοιχες ημέρες που εμφανίστηκαν στη δεξαμενή χορήγησης Νικλοσαμίδης. Η παρακολούθηση των μαρτύρων συνεχίστηκε συνολικά για 30 ημέρες. Από την 23 ημέρα και μετά, πέθαναν συνολικά 14 ιχθύδια, εξαιτίας έντονου κανιβαλισμού. Τη 30^η ημέρα (ημέρα λήξης), η τυπική απόκλιση βάρους των μαρτύρων είχε αυξηθεί στο 1,73.

2.3.2 Νικλοσαμίδα, 400ppm εφάπαξ σε 21 λαβράκια (Μέσο Βάρος 10g)

Σε αυτή τη διερεύνηση τοξικότητας διατηρήθηκε το ίδιο δοσολογικό σχήμα με τη διαφορά ότι άλλαξε το είδος του ψαριού (λαβράκι) και το μέγεθος του (10g). Με αυτό τον τρόπο μπορούμε να διαπιστώσουμε εάν η νικλοσαμίδα είναι εν γένει

τοξική σε αυτή τη συγκέντρωση ή εάν η τοξικότητα του 1^{ου} δοσολογικού σχήματος οφείλονταν στο είδος (μυλοκόπι) ή/και στο μέγεθος του ψαριού (0,3g). Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 21-22⁰C. Παράλληλα με τη πειραματική δεξαμενή χορήγησης Νικλοσαμίδης υπήρξε και μια ακόμη στην οποία διατηρούνταν οι μάρτυρες (13 λαβράκια), ίδιου σωματικού βάρους προερχόμενα από τους ίδιους γεννήτορες και την ίδια τοκετοομάδα. Η τροφή ήταν σύστοιχης κοκκομετρίας και σύνθεσης με το πειραματικό ενυδρείο χορήγησης Νικλοσαμίδης, με τη διαφορά ότι η τροφή δεν περιείχε την ουσία. Η ημερήσια ποσότητα χορήγησης τροφής ήταν ίδια και στα δύο ενυδρεία.

Τα λαβράκια βρίσκονταν στις ενυδρειακές εγκαταστάσεις για πάνω από 2 μήνες. Τη πρώτη ημέρα χορήγησης (ημέρα 0) της νικλοσαμίδης τα ψάρια δέχθηκαν τη τροφή (φάρμακο) χωρίς δισταγμό. Αν και το ποσοστό ημερήσιας χορήγησης τροφής ήταν 2% επί του σωματικού τους βάρους, τα λαβράκια έφαγαν αμέσως όλη τη ποσότητα που τους αναλογούσε και συνέχιζαν να είναι δραστήρια αναζητώντας περισσότερη. Τη δεύτερη ημέρα 6 από τα ψάρια εμφάνισαν σκουρόχρωμο χρωματισμό στο δέρμα χωρίς όμως να συνοδεύεται από αταξία όπως έγινε στα μυλοκόπια. Τη τρίτη ημέρα εμφανίστηκαν τα πρώτα συμπτώματα, με κλινική εικόνα όμοια με εκείνη που παρουσίασαν τα μυλοκόπια. Ο σκούρος χρωματισμός παρατηρούνταν στα μισά και πλέον ψάρια, ενώ κάποια επιπροσθέτως επέμεναν σε μια στατική πλευση, με ανορεξία και απάθεια. Μόνο 3 από τα ψάρια συνέχισαν να τρώνε ενεργά, ενώ ένα εκ των τριών είχε σκούρο χρωματισμό. Τη τέταρτη ημέρα ξεκίνησαν οι θνητότητες και η κλινική εκδήλωση νευρικών συμπτωμάτων. 8 από τα 21 ψάρια βρέθηκαν νεκρά ενώ πλέον η ασταθής πλευση ήταν χαρακτηριστικό των περισσότερων. Η πρόσληψη τροφής διακόπηκε αφού πλέον η απάθεια στα εξωτερικά ερεθίσματα ήταν έντονη. Τη πέμπτη ημέρα βρέθηκαν 9 ακόμη νεκρά ψάρια ενώ τα υπόλοιπα 4 κείτονταν ημιθανή στον πυθμένα. Τα 3 από τα 4 κατέληξαν την επόμενη (έκτη) ημέρα. Ενώ το τελευταίο την 7^η. Σημειώνεται εδώ ότι στα μυλοκόπια δεν ήταν δυνατόν να παρατηρηθεί σκουρόχρωμος χρωματισμός γιατί το φυσικό χρώμα του δέρματος τους δεν το επιτρέπει.

Πίνακας 8. Εφάπαξ 400ppm Niclosamide
(λαβράκια)

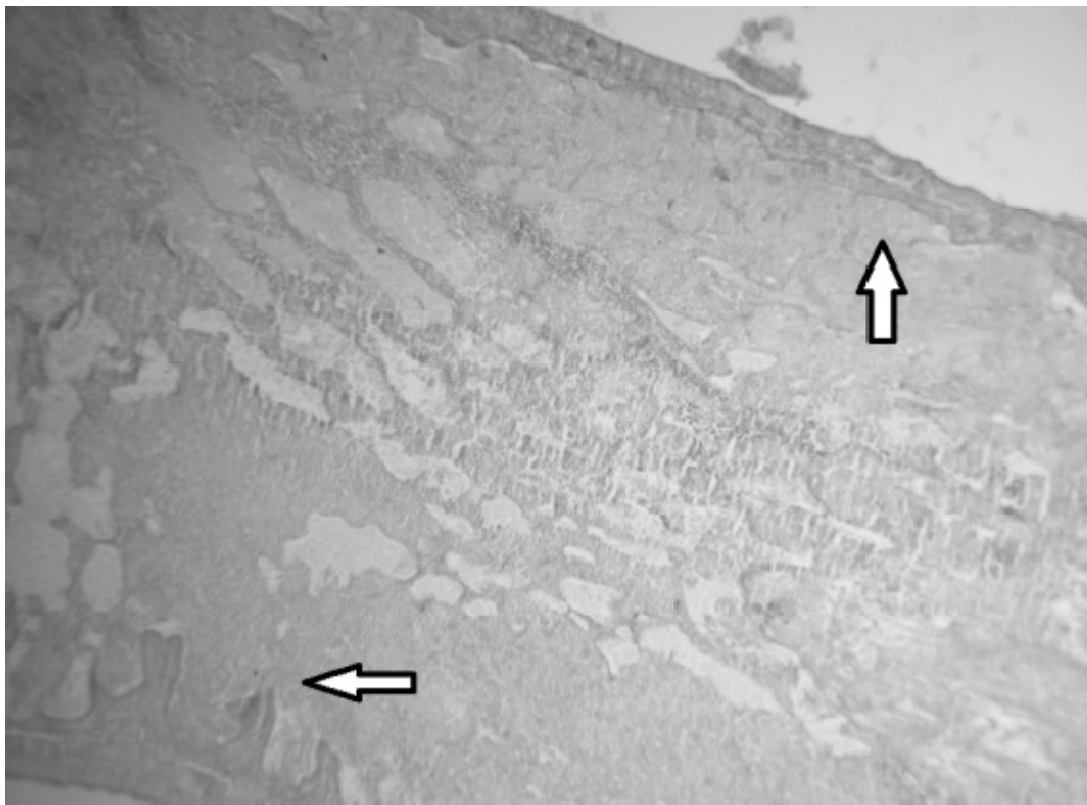
Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο	
0 ^η	0	21	
1 ^η	0	21	
2 ^η	0	21	
3 ^η	0	21	
4 ^η	8	13	
5 ^η	9	4	← LD ₅₀
6 ^η	3	1	
7 ^η	1	0	

Μετά και το τέλος του 2^{ου} πειράματος διαπιστώθηκε η τοξική δράση της νικλοσαμίδης στα 400ppm ακόμα και με εφάπαξ χορήγηση. Η τοξίκωση που αποφέρει είναι σαφής και βίαιη από τις πρώτες κιόλας ημέρες χορήγησης, ενώ φαίνεται να είναι ανεξάρτητη του είδους και της ηλικίας (μεγέθους). Ενδιαφέρον εύρημα το γεγονός πως στα λαβράκια η συγκέντρωση των 400ppm θεωρείται μέση θανατηφόρος δόση (LD₅₀) στις 96h. Τα ιστοπαθολογικά ευρήματα θεωρήθηκαν ασαφή εξαιτίας πιθανώς της βίαιης τοξίκωσης. Στους μάρτυρες (n=13) δεν παρατηρήθηκαν θνητότητες.

2.3.3 Νικλοσαμίδα, 100ppm/ημέρα (2 ημέρες) σε 10 λαβράκια (Μέσο Βάρος 40g)

Σε αυτή τη χορήγηση το δοσολογικό σχήμα τροποποιήθηκε μειώνοντας τη συγκέντρωση αλλά διπλασιάζοντας τις ημέρες χορήγησης. Το είδος διατηρήθηκε όμως αυξήθηκε η ηλικία του (M.B. 40g). Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 10 λαβράκια. Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 23-24⁰C. Παράλληλα με τη πειραματική δεξαμενή χορήγησης Νικλοσαμίδης υπήρξε και μια ακόμη στην οποία διατηρούνταν οι μάρτυρες (9 λαβράκια), ίδιου σωματικού βάρους προερχόμενα από τους ίδιους γεννήτορες και την ίδια τοκετοομάδα. Η τροφή ήταν σύστοιχης κοκκομετρίας και σύνθεσης με το πειραματικό ενυδρείο χορήγησης Νικλοσαμίδης, με τη διαφορά ότι η τροφή δεν περιείχε την ουσία. Η ημερήσια ποσότητα χορήγησης τροφής ήταν ίδια και στα δύο ενυδρεία. Τα λαβράκια έφαγαν τα σύμπηκτα με την ίδια όρεξη και τις δύο ημέρες. Η εικόνα τους διατηρήθηκε καλή τις πρώτες 5 ημέρες όμως από τη τρίτη ημέρα τα ψάρια παρουσίαζαν σταδιακή μείωση στην όρεξη. Από την 6 ημέρα και μετά, τα περισσότερα ψάρια αρνούσαν πεισματικά να τραφούν ενώ η κινητικότητα τους ήταν μειωμένη. Όλο αυτό το διάστημα δεν παρατηρήθηκαν φαινόμενα ανώμαλης πλεύσης ούτε νευρικές διαταραχές, όμως 4 από τα 10 ψάρια

παρέμεναν σκουρόχρωμα. Ο πρώτος θάνατος σε λαβράκι συνέβη την 9^η ημέρα ενώ έως το τέλος του μήνα πέθαναν άλλα 2, χωρίς ιδιαίτερη συμπτωματολογία. Εξαιτίας της απουσίας σαφούς κλινικής εικόνας τοξίκωσης και επειδή τα ψάρια αρνούσαν για αρκετές ημέρες να τραφούν, ήταν δύσκολο να εκτιμηθεί εάν τελικά κατέληξαν από αστιτία ή από άλλη αιτιολογία. Για το λόγο αυτό έγιναν νεκροτομικές εξετάσεις για να διερευνηθεί περαιτέρω η αιτία θανάτου. Σε όλα τα θανόντα άτομα παρατηρήθηκε υδροπεριτόναιο. Το ήπαρ εμφανίστηκε εστιακά αποχρωματισμένο χωρίς αιμορραγικές αλλοιώσεις, ενώ η χολή ήταν πλήρως διογκωμένη εξαιτίας της πολυήμερης νηστείας. Οι ιστοπαθολογικές εξετάσεις κατέδειξαν πάχυνση των γαστρικών αδένων του στομάχου ατροφία του εντερικού βλεννογόνου (Εικόνα 86), και σπειραματονεφρίτιδα (Εικόνα 87).



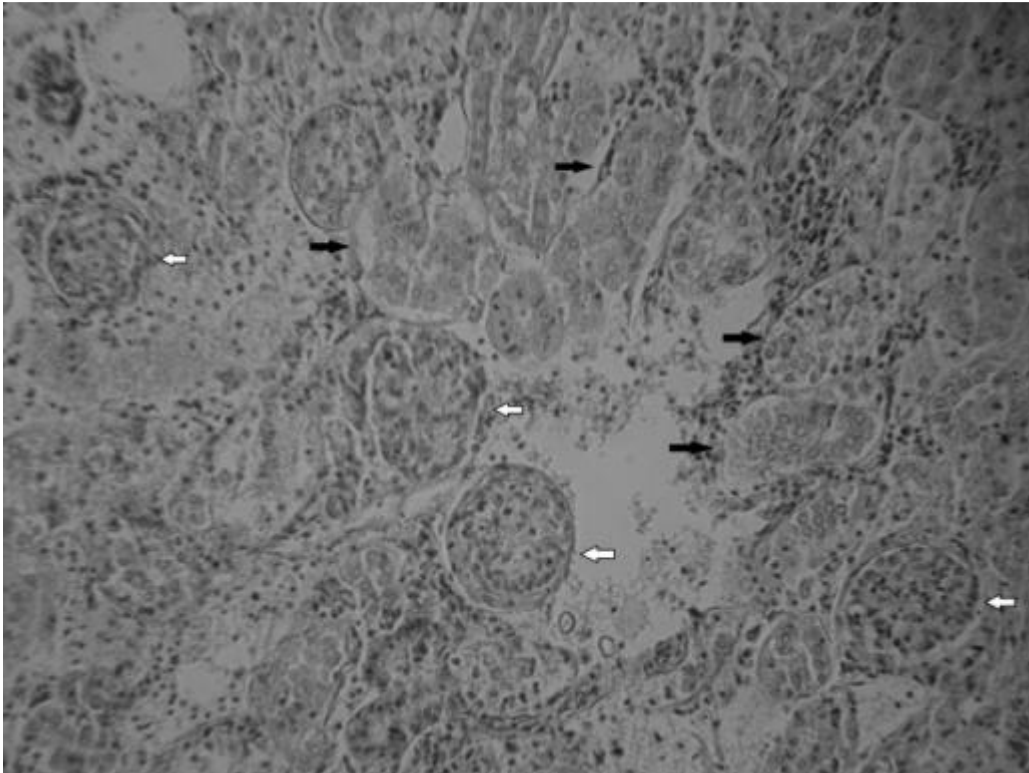
Εικόνα 86. Επιμήκης ιστολογική τομή εντέρου. Εκτεταμένη ατροφία του εντερικού βλεννογόνου (βέλη). Χρώση PAS, μεγέθυνση 10x.

Πίνακας 9. 2 x 100ppm Niclosamide
(λαβράκια)

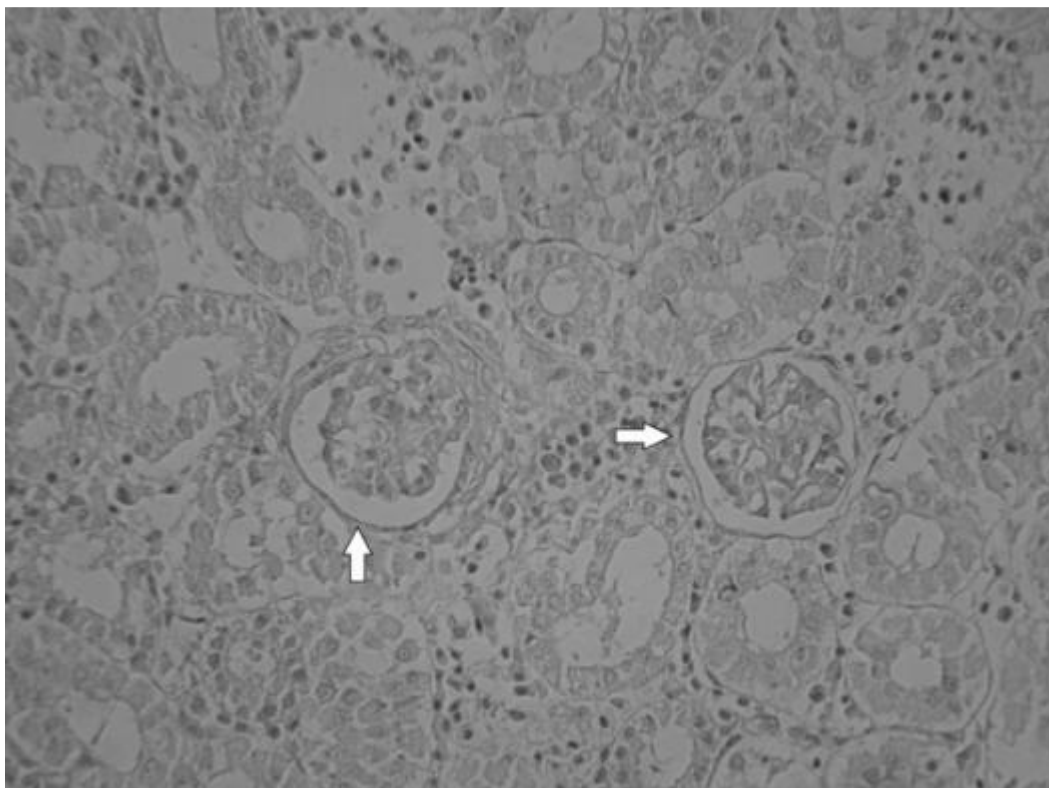
Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο
0 ^η	0	10
1 ^η	0	10
2 ^η	0	10
3 ^η	0	10
⋮	⋮	⋮
8 ^η	0	10
9 ^η	1	9
10 ^η	0	9
11 ^η	1	8
12 ^η	0	8
13 ^η	0	8
14 ^η	1	7
⋮	⋮	⋮
29 ^η	0	7
30 ^η	0	7

Καθώς αυξήθηκαν οι ημέρες χορήγησης και μειώθηκε η ημερήσια δόση, η τοξική δράση της νικλοσαμίδης περιορίστηκε. Το μόνο επίμονο και ανησυχητικό εύρημα ήταν η άρνηση των ψαριών να φάνε, το οποίο συνεκτιμημένο με το υδροπεριτόναιο, υποδηλώνει συνεκδοχικά δυσλειτουργία του πεπτικού συστήματος κάτι που επιβεβαιώθηκε και ιστοπαθολογικά.

Έτσι μέσα από τα ευρήματα αυτής της διερευνητικής χορήγησης διαπιστώθηκε πως τα 2x100 ppm κινούνται μεν ανάμεσα στα όρια της τοξικής δόσης (Toxic dose, TD) χωρίς όμως να προκύπτουν δεδομένα για μέση θανατηφόρο δόση (LD₅₀) στις 30 ημέρες.



Εικόνα 87. Ιστολογική τομή νεφρού, παρατηρείται αραίωση νεφρικού παρεγχύματος, υπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα (λευκά βέλη), και αποδιοργάνωση των ουροφόρων σωληναρίων (μαύρα βέλη)(χρώση H & E, μεγέθυνση 40x).



Εικόνα 88. Ιστολογική τομή νεφρού, παρατηρείται περιορισμένη νεφρική λιπίδωση, ωστόσο τα νεφρικά σωματίδια εμφανίζονται φυσιολογικά (λευκά βέλη). Τα ουροφόρα σωληνάκια παρουσιάζουν ελαφρά πάχυνση με τη πλειονότητα τους ωστόσο να είναι δομικά άρτια. (χρώση H&E, μεγέθυνση 40x).

2.3.4 Νικλοσαμίδα, 100ppm εφάπαξ σε 10 φαγκριά (Μέσου Βάρους 15g)

Σε αυτή τη χορήγηση το δοσολογικό σχήμα τροποποιήθηκε εφαρμόζοντας μια εφάπαξ χορήγηση στα 100ppm. Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα του 3^{ου} δοσολογικού σχήματος αναμέναμε πως με μια εφάπαξ χορήγηση στα 100ppm η εκδήλωση τοξικών συμπτωμάτων θα είναι περιορισμένη. Έχοντας ήδη διαπιστώσει τη τοξικότητα σε λαβράκια και μυλοκόπια, στη 4^η πειραματική χορήγηση χρησιμοποιήθηκε ένα 3^ο είδος (φαγκρί) για να εκτιμηθεί με τη σειρά του η αντίδραση του στην ουσία. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 10 φαγκριά (Μ.Β. 15g). Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 20-21⁰C. Παράλληλα με τη πειραματική δεξαμενή χορήγησης Νικλοσαμίδης υπήρξε και μια ακόμη στην οποία διατηρούνταν οι μάρτυρες (10 φαγκριά), ίδιου σωματικού βάρους προερχόμενα από τους ίδιους γεννήτορες και την ίδια τοκετομάδα Η τροφή ήταν σύστοιχης κοκκομετρίας και σύνθεσης με το πειραματικό ενυδρείο χορήγησης Νικλοσαμίδης, με τη διαφορά ότι η τροφή δεν περιείχε την ουσία. Η ημερήσια ποσότητα χορήγησης τροφής ήταν ίδια και στα δύο ενυδρεία.

Σε αυτό το δοσολογικό σχήμα δεν υπήρξε καμία θνητότητα. Όμως παρατηρήθηκε ελάττωση της πρόσληψης τροφής για περίπου 6 ημέρες, από την ημέρα χορήγησης της ουσίας. Μετά την 6^η ημέρα τα φαγκριά ξεκίνησαν σταδιακά να ανακάμπτουν αυξάνοντας ολοένα την όρεξη τους και τη κινητικότητα τους.

Στην ιστολογική εικόνα οι στοιβάδες του στομάχου εμφανίστηκαν φυσιολογικές χωρίς πάχυνση ή ενδείξεις φλεγμονής, ενώ το έντερο δεν παρουσίασε ευρήματα εντεροτοξίκωσης. Σε ότι αφορά το νεφρό, τα νεφρικά σωμάτια ήταν φυσιολογικά ενώ τα ουροφόρα σωληνάρια υπέδειξαν ελαφρά πάχυνση (Εικόνα 88) η οποία όμως δεν θα μπορούσε να θεωρηθεί ιδιαίτερος παθολογική. Ανάμεσα στο νεφρικό παρέγχυμα εντοπίστηκαν πολυάριθμοι πυκνωτικοί πυρήνες.

Πίνακας 10. Εφάπαξ 100ppm Niclosamide
(φαγκριά)

Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο
0 ^η	0	10
1 ^η	0	10
2 ^η	0	10
3 ^η	0	10
⋮	⋮	⋮
29 ^η	0	10
30 ^η	0	10

Η συγκέντρωση των 100ppm θεωρήθηκε ελάχιστα πάνω από την οριακή δόση (Threshold dose, TD), τη δόση δηλαδή όπου δεν παρατηρείται κανένα αποτέλεσμα.

Στους μάρτυρες (n=10) δεν παρατηρήθηκαν θνητότητες.

2.3.5 Νικλοσαμίδα, 40ppm/ημέρα (5 ημέρες) σε λαβράκια (M.B. 50g) + απογευματινό γεύμα

Σε αυτή τη χορήγηση το δοσολογικό σχήμα τροποποιήθηκε σε σχέση με τη προηγούμενη (4^η) πειραματική χορήγηση, μειώνοντας τη συγκέντρωση αλλά αυξάνοντας τις ημέρες. Στην ουσία πρόκειται για μια παραλλαγή της 3^{ης} πειραματικής χορήγησης, όπου η συνολική ποσότητα του φαρμάκου είναι ίδια μεν, όμως, μεταβάλλεται η ημερήσια δόση. Επιπρόσθετα το απόγευμα τα ψάρια έτρωγαν εμπορικά σύμπηκτα σε ποσοστό 0,5% επί της συνολικής ιχθυομάζας **τα οποία δεν περιείχαν την ουσία**. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 11 λαβράκια (M.B. 50g). Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 20-21⁰C.

Στις πειραματικές χορηγήσεις 5,6,7,8,9 και 10 ως μάρτυρες θεωρήθηκαν όλα τα λαβράκια τα οποία προορίζονταν για πειράματα και τα οποία διατηρούνταν σε ένα ενυδρείο με παροχή οξυγόνου. Ο αρχικός αριθμός τους ήταν 86 με ίδιο σωματικό βάρος (Stan. Dev. 6,41), προερχόμενα από τους ίδιους γεννήτορες και την ίδια τοκετοομάδα. Η τροφή ήταν σύστοιχης κοκκομετρίας και σύνθεσης με εκείνη που χρησιμοποιήθηκε στα πειραματικά ενυδρεία χορήγησης Νικλοσαμίδης, με τη διαφορά ότι η τροφή δεν περιείχε την ουσία. Η ημερήσια ποσότητα χορήγησης τροφής ήταν κάθε φορά ίδια. Οι μάρτυρες για το 5^ο, 9^ο και 10^ο δοσολογικό σχήμα ήταν 86 (τα πειράματα έγιναν ταυτόχρονα) ενώ για το 6^ο ήταν 71(86-15)(15 ήταν τα υποκείμενα του 6^{ου}). Στο 7^ο ήταν 62 (71-9)(9 ήταν τα πειραματικά υποκείμενα του 7^{ου}), και για το 8^ο ήταν 52 (62-10)(10 ήταν τα πειραματικά υποκείμενα του 8^{ου}).

Σε αυτό το δοσολογικό σχήμα δεν υπήρξε καμία θνητότητα. **Το απογευματινό γεύμα φάνηκε πως περιορίζει τις προηγούμενες εμφανισθέντες γαστρεντερικές διαταραχές, κάνοντας τα ψάρια να διατηρούν την όρεξη τους και την επόμενη μέρα.**

Πίνακας 11. 5 x 40ppm Nicosamide
(λαβράκια)

Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο
0 ^η	0	11
1 ^η	0	11
2 ^η	0	11
3 ^η	0	11
⋮	⋮	⋮
29 ^η	0	11
30 ^η	0	11

Τα ευρήματα σχετικά με το δεύτερο γεύμα και τη βελτίωση που αυτό έχει στην όρεξη των λαβρακιών ήταν πραγματικά εντυπωσιακό. Για το λόγο αυτό το πείραμα επαναλήφθηκε (6^ο), με κάποιες τροποποιήσεις ως προς τη δοσολογία.

Στους μάρτυρες (n=86) δεν παρατηρήθηκαν θνητότητες.

2.3.6 Νικλοσαμίδη, 20ppm/ημερα (10 ημέρες) σε λαβράκια (M.B. 56g) + απογευματινό γεύμα

Σε αυτή τη χορήγηση το δοσολογικό σχήμα τροποποιήθηκε σε σχέση με τη προηγούμενη (5^η) πειραματική χορήγηση, μειώνοντας την ημερήσια ποσότητα αλλά αυξάνοντας τις ημέρες. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 15 λαβράκια (M.B. 56g). Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 20-21^οC.

Θνητότητα δεν παρατηρήθηκε όμως, 3 ψάρια (20%) εμφάνισαν την 8^η ημέρα απάθεια και ανορεξία, παρά το γεγονός πως ήταν προγραμματισμένο και απογευματινό γεύμα χωρίς φάρμακο.. Τα ψάρια αυτά συνέχισαν να αρνούνται τη τροφή και να βρίσκονται σε νηστεία για τις υπόλοιπες 32 ημέρες (έως λήξη πειράματος). Τα ψάρια αυτά θανατώθηκαν και κατά τη νεκροσκοπική εξέταση διαπιστώθηκε έντονος ασκίτης, διογκωμένη χολή και φυσικά κενός εντερικός σωλήνας. Στους μάρτυρες (n=71) δεν παρατηρήθηκαν θνητότητες.

Πίνακας 12. 10 x 20ppm Niclosamide
(λαβράκια)

Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο
0 ^η	0	15
1 ^η	0	15
2 ^η	0	15
3 ^η	0	15
⋮	⋮	⋮
29 ^η	0	15
30 ^η	0	15

2.3.7 Νικλοσαμίδη, 30ppm/ημέρα (3 ημέρες) σε λαβράκια (Μέσο Βάρος 64g)

Σε αυτή τη χορήγηση το δοσολογικό σχήμα μειώθηκε στις 3 ημέρες χωρίς όμως τα υποκείμενα να δέχονται απογευματινό γεύμα. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 9 λαβράκια (Μ.Β. 64g). Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 20-21⁰C.

Τα λαυράκια δεν εμφάνισαν θνητότητα, αλλά ούτε και κάποια κλινική ένδειξη τοξικότητας. Κανένα από τα 9 λαβράκια δεν εμφάνισε ανορεξία ή οποιαδήποτε άλλη ήπια συμπτωματολογία καταπόνησης από τη χορήγηση της ουσίας. Στους μάρτυρες (n=62) δεν παρατηρήθηκαν θνητότητες.

*Πίνακας 13. 3 x 30ppm Niclosamide
(λαβράκια)*

Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο
0 ^η	0	9
1 ^η	0	9
2 ^η	0	9
3 ^η	0	9
⋮	⋮	⋮
29 ^η	0	9
30 ^η	0	9

2.3.8 Νικλοσαμίδη, 60ppm εφάπαξ με χειροποίητη τροφή σε λαβράκια (76g)

Στην 8^η και τελευταία πειραματική χορήγηση η νικλοσαμίδη δεν εγκλείστηκε σε εμπορικά σύμπηκτα αλλά ενσωματώθηκε σε ιχθυόσκονη με αρκετή ποσότητα ιχθυελαίου. Η ζυμώδης τροφή κόπηκε σε σύμπηκτα αντίστοιχης κοκκομετρίας με εκείνα που χρησιμοποιήθηκαν στα προηγούμενα πειράματα. Ο λόγος που έγινε αυτό ήταν για να διερευνηθεί εάν μια εύθρυπη τροφή η οποία διαλύεται άμεσα στο στομάχι, είναι ικανή να επηρεάσει την απορρόφηση της νικλοσαμίδης από το έντερο. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 10 λαβράκια (Μ.Β. 76g). Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 20-21⁰C.

Τα λαβράκια έφαγαν τη χειροποίητη τροφή με τη νικλοσαμίδη με μεγάλη όρεξη, όμως μέσα σε 40min, κάποια από τα ψάρια σταμάτησαν να κολυμπούν και βυθίστηκαν διατηρώντας αρχικά την ισορροπία τους στον πυθμένα του ενυδρείου και εμφανίζοντας ταχύπνοια. Μέσα σε 10min από την αρχική αυτή εκδήλωση, όλα τα ψάρια εκτελούσαν στιγμιαίες σπειροειδείς κινήσεις εκτινάζοντας το σώμα τους με

δύναμη και πολλές φορές χτυπώντας στα τζάμια του ενυδρείου. Μέσα σε 3 ώρες όλα τα ψάρια είχαν καταλήξει με τα περισσότερα να έχουν αποβάλει μεγάλο μέρος της χειροποίητης τροφής μέσω του εντέρου, στο νερό.

Λαμβάνοντας υπόψη τη χορηγούμενη συγκέντρωση της ουσίας και συγκρίνοντας τη με τις πειραματικές χορηγήσεις 4 και 5, θα περίμενε κάποιος μια ήπια εκδήλωση κλινικών συμπτωμάτων όπως αυτά περιγράφονται στις αντίστοιχες παραγράφους (ανορεξία, σκούρος χρωματισμός). Παρόλα αυτά παρατηρούμε μια βίαιη και εκρηκτική εκδήλωση τοξίκωσης, σαφώς μη αναμενόμενης, όπου όμοια της δεν έλαβε χώρα σε κανένα από τα προηγούμενα 7 δοσολογικά σχήματα (ούτε καν στο 1^ο: 400ppm εφάπαξ). Διαπιστώνουμε λοιπόν ότι σε μεγάλο βαθμό η τοξικότητα μπορεί να επηρεαστεί και από τη μορφολογία ή/και την κοκκομετρία ή/και την υφή ή/και τη λιποπεριεκτικότητα της χορηγούμενης τροφής. Τα ιστοπαθολογικά ευρήματα ήταν ασαφή.

Στους μάρτυρες (n=52) δεν παρατηρήθηκαν θνητότητες.

Πίνακας 14. εφάπαξ 60ppm Niclosamide
(λαβράκια) χειροποίητη τροφή

Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο	
0 ^η	0	10	← LD ₅₀
0 ^η (3h)	10	0	

2.3.9 Εμαμεκτίνη, 0,1μg/kg/ημέρα (10ημέρες) σε λαβράκια (Μέσο Βάρος 50g)

Αυτό το δοσολογικό σχήμα ακολουθείται στις Βόρειες χώρες για την καταπολέμηση της ψείρας στο σολομό, καθώς προτείνεται από την φαρμακευτική εταιρεία που παράγει το μόνο διαθέσιμο μέχρι τώρα εμπορικό σκεύασμα.

Ο εγκλεισμός της εμαμεκτίνης έγινε με τη μέθοδο που αναλύεται σε προηγούμενη παράγραφο. Η εφαρμογή έγινε σε 10 λαβράκια (Μ.Β. 50g). Όπως ήταν φυσικό δεν παρατηρήθηκαν θνησιμότητες ούτε και κλινικές εκδηλώσεις τοξίκωσης. Η όρεξη των ψαριών διατηρούνταν καλή σε όλη τη διάρκεια του πειράματος. Η

θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 19-21⁰C. Στους μάρτυρες (n=86) δεν παρατηρήθηκαν θνητότητες.

*Πίνακας 15. 10 x 0,1μg/kg Emamectin
(λαβράκια)*

Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο
0 ^η	0	10
1 ^η	0	10
2 ^η	0	10
3 ^η	0	10
⋮	⋮	⋮
29 ^η	0	10
30 ^η	0	10

2.3.10 Εμαμεκτίνη, 100μg/kg/ημέρα (10 ημέρες) σε λαβράκια (Μέσο Βάρος 50g)

Η εφαρμογή έγινε σε 10 λαβράκια (Μ.Β. 50g). Παρά την αυξημένη συγκέντρωση (1000φορές) δεν παρατηρήθηκαν θνησιμότητες αλλά εμφανίστηκαν κάποια συμπτώματα όπως απάθεια, λήθαργος, και ανορεξία. Τα συμπτώματα επέμειναν έως και 7 ημέρες από την τελευταία ημέρα χορήγησης όμως σταδιακά τα ψάρια ανέκαμψαν παρουσιάζοντας τελικά κινητικότητα και όρεξη. Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 19-21⁰C. Στους μάρτυρες (n=86) δεν παρατηρήθηκαν θνητότητες.

*Πίνακας 16. 10 x 0,1 ppm Emamectin
(λαβράκια)*

Ημέρα	θνητότητες	Υπόλοιπο
0 ^η	0	10
1 ^η	0	10
2 ^η	0	10
3 ^η	0	10
⋮	⋮	⋮
29 ^η	0	10
30 ^η	0	10

2.4 Συζήτηση 2ης Ενότητας

Μέσα από τους πειραματισμούς αυτής της ενότητας εξήχθησαν σημαντικά συμπεράσματα για το τοξικό προφίλ της νικλοσαμίδης, τη συμπεριφορά των ψαριών σε υπερδοσία από αυτή, τα κλινικά συμπτώματα και το χρονικό μοτίβο της θνητότητας. Ίσως το πιο σημαντικό εύρημα να αποτελεί το γεγονός πως η ομοιογένεια των συμπτωμάτων ήταν δοσοεξαρτώμενη αλλά ανεξάρτητη από την οικογένεια και την ηλικία των ιχθύων. Πιο συγκεκριμένα στη χορήγηση 400ppm εφάπαξ, η τοξικότητα εκδηλώθηκε βιαίως μέσα σε 3-5 ημέρες τόσο στα μυλοκόπια (0,3g) όσο και στα λαβράκια (10g) και μάλιστα παρουσιάζοντας σχεδόν ταυτόσημα LD_{50} (LD_{50} μυλοκόπια = 72h, LD_{50} λαβράκια = 96h)(διαφορά μόλις 24 ωρών).

Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις σε όργανα στόχους όπως νεφρό και έντερο και ήπαρ ήταν ασαφείς στην εφάπαξ χορήγηση νικλοσαμίδης στα 400 ppm. Πιθανότατα ο λόγος που δεν παρατηρήθηκαν ευρήματα στα όργανα αυτά να οφείλεται αφενός στην υπερδοσία και αφετέρου στον τρόπο δράσης της Νικλοσαμίδης αυτής καθαυτής. Η δράση της νικλοσαμίδης εκδηλώνεται μέσω της παρεμπόδισης της παραγωγής ATP (τριφωσφορικής αδενοσίνης) , καθώς και μέσω της αποσύνδεσης της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης στα μιτοχόνδρια των οργανισμών κατά τη διάρκεια της μεταφοράς ηλεκτρονίων από το NADH. Η δράση αυτή δεν ακολουθεί εξειδικευμένα μονοπάτια και δεν περιορίζεται μόνο σε μετάζωα παράσιτα, αλλά σε όλους τους οργανισμούς (για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται και ως ιχθυοκτόνο). Πρακτικά λοιπόν, η υπερδοσία ήταν τόσο έντονη ώστε τελικώς τα ψάρια κατέληξαν εξαιτίας καρδιακής ανακοπής αφού η ικανότητα σύσπασης των καρδιακών μυϊκών κυττάρων αναστάληκε λόγω της δράσης της Νικλοσαμίδης. Για το λόγο αυτό τα ευρήματα ήταν περιορισμένα στα μυλοκόπια του 1^{ου} πειράματος όσο και στα λαβράκια του 2^{ου} και 8^{ου} πειράματος.

Η τοξικότητα εκτός από τη δόση φάνηκε να εξαρτάται και από τη συνεκτικότητα της τροφής και ενδεχομένως από τη λιποσύσταση της, καθώς στην 8^η πειραματική χορήγηση με χειροποίητη τροφή (ιχθυόσκονη + ιχθυέλαιο) οι θνητότητες ήταν δριμυές και εκδηλώθηκαν μέσα σε 3h., παρουσιάζοντας LD_{50} μέσα μόλις σε 45 min. Η τροφή περνώντας από τον στόμαχο διαλύθηκε πλήρως χωρίς να διατηρεί τη μορφή της στο έντερο. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα την άμεση προώθηση της τροφής σε όλο το μήκος του εντερικού σωλήνα αυξάνοντας ραγδαία την απορρόφηση του φαρμάκου περνώντας μεγάλες ποσότητες αυτού στην αιματική

κυκλοφορία. Από το σημείο αυτό η καρδιά τροφοδοτούνταν συνεχώς με αίμα που περιείχε μεγάλες ποσότητες νικλοσαμίδης έχοντας ως τελικό αποτέλεσμα τη καρδιακή ανακοπή και το θάνατο.

Σε μικρότερα δοσολογικά σχήματα (2x100ppm) η τοξίκωση ήταν λιγότερο έντονη. Η νωθρότητα και η απάθεια που παρουσίασαν κάποια ψάρια οφειλόταν πιθανότατα σε μειωμένη καρδιακή συσπαστικότητα, εξαιτίας της Νικλοσαμίδης, η οποία όμως δεν εκδηλωνόταν σε ανακοπή. Έως ο οργανισμός να καταφέρει να μεταβολίσει την ουσία, η ίδια είχε ήδη προκαλέσει μη αντιστρεπτές βλάβες εξαιτίας της πολυήμερης καρδιακής ανεπάρκειας. Η καρδιακή ανεπάρκεια οδήγησε τελικώς σε πολυοργανική ανεπάρκεια, μια υπόθεση που συνάδει με τα ιστοπαθολογικά ευρήματα.

Σε ότι αφορά τις ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις που εντοπίστηκαν σε αυτή τη δοσολογία (2x100ppm), τόσο η ατροφία του εντερικού βλεννογόνου όσο και η σπειραματονεφρίτιδα οδήγησαν συνεργικά σε ανισοροπία της ωσμωτικής και υδροστατικής πίεσης με αποτέλεσμα ο οργανισμός να είναι πλέον ανίκανος να ρυθμίζει την ανταλλαγή των υγρών του σώματος του. Αυτή η δυσλειτουργία προκάλεσε συγκέντρωση ασκτικού υγρού έξω από τα όργανα, τα αγγεία και τους ιστούς και για αυτό το λόγο πολλά ψάρια εμφάνισαν υδροπεριτόναιο.

Σε χαμηλότερες δόσεις κάτω του δοσολογικού σχήματος των 2x100ppm, παρουσιάστηκε το φαινόμενο κάποια από τα ψάρια να εμφανίζουν απάθεια, νωθρότητα, ανορεξία και ασκίτη, την ίδια στιγμή που τα υπόλοιπα πειραματικά υποκείμενα εμφανίζονταν φυσιολογικά. Σε επίπεδο εκτροφής ακόμη και αν θεωρήσουμε πως η νικλοσαμίδα είναι θεραπευτική παρουσιάζοντας εξαιρετική αντιπαρασιτική δράση, η μείωση της όρεξης στο 20% των ψαριών σε έναν ιχθυοκλωβό θα είχε ως αποτέλεσμα μείωσης της παραγωγής και δημιουργία ετερομεγέθους πληθυσμού που οδηγεί σε κανιβαλισμό. Ποιος είναι όμως ο λόγος που εμφανίζονται αυτά τα συμπτώματα σε λίγα μόνο ψάρια και όχι σε όλα; Η απάντηση βρίσκεται στη ποσότητα της τροφής που περιέχει την ουσία. Όσο μικρότερη είναι η ποσότητα της φαρμακούχας τροφής που δίνεται στα ψάρια τόσο περισσότερο αυξάνει η πιθανότητα κάποια ψάρια (κυρίως τα δυνατά και μεγάλα) να λάβουν παραπάνω δραστική ουσία από αυτή που τους αναλογεί (υπερδοσία), αφού τρώνε περισσότερο ενώ κάποια άλλα (μικρότερα και αδύναμα) να λαμβάνουν λιγότερη δραστική ουσία (υποδοσία) αφού δεν καταφέρνουν να φάνε επαρκώς. Κρίσιμο σημείο λοιπόν η νικλοσαμίδα να διαμοιράζεται σε περισσότερη ποσότητα τροφής, και όχι σε λίγη, έτσι

ώστε να περιορίζονται φαινόμενα υπερδοσίας. Συνήθως σε επίπεδο μονάδας η ανάμειξη των αντιβιοτικών με τη τροφή γίνεται μέσα σε μπετονιέρες. Το μέσο μέγεθος των κοινών μπετονιέρων μπορεί να δεχθεί έως και 3 τσουβάλια τροφής (3x 20kg). Θεωρούμε πως σε κλωβούς όπου το πρωινό τάισμα (80% συνολικής ημερήσιας ποσότητας τροφής) ξεπερνά τα 3 τσουβάλια τροφής η εφαρμογή θα πρέπει να γίνεται σε όλη τη ποσότητα της και όχι σε 3 μόνο τσουβάλια. **Στο απογευματινό τάισμα** (υπόλοιπο 20% συνολικής ημερήσιας ποσότητας τροφής) **δεν θα πρέπει να εφαρμόζεται νικλοσαμίδα**, γιατί όπως παρατηρήθηκε στις πειραματικές δοσολογίες, το απογευματινό γεύμα φάνηκε πως βοηθάει τα ψάρια να λάβουν τη τροφή της επόμενης ημέρας με μεγαλύτερη όρεξη. Η πιο πιθανή εξήγηση για αυτή τη βελτίωση είναι πως η απογευματινή τροφή αυξάνει τη κινητικότητα του εντέρου και έτσι τα σύμπληκτα, άρα και το δυσασποροροφήσιμο φάρμακο, παραμένουν λιγότερη ώρα στον εντερικό σωλήνα καθώς προωθούνται γρηγορότερα. Επιπροσθέτως το ήπαρ έχει την ευκαιρία να μεταβολίσει την ουσία χωρίς να επιβαρύνεται συνεχώς με νέα ποσότητα σε κάθε τάισμα.

Σε ότι αφορά την εμαμεκτίνη λίγα πράγματα μπορούν να ειπωθούν, καθώς αποτελεί ήδη επιτρεπόμενη αντιπαρασιτική ουσία για τη καταπολέμηση των κωπήποδων στη Νορβηγία. Η τοξική της δράση εμφανίζεται σε δόσεις πολλαπλάσιες από αυτές που χρησιμοποιήθηκαν και φυσικά επιβεβαιώθηκε το εύρος ασφαλείας της με 10ήμερη χορήγηση διπλάσιας από τη συνιστώμενη δόση χωρίς να προκύψουν θνησιμότητες ή ενδείξεις τοξίκωσης.

Στην ενότητα που ακολουθεί (3^η Ενότητα), θα εξεταστεί η αντιπαρασιτική δράση της νικλοσαμίδης στις δοσολογίες όπου δεν εμφανίστηκαν κλινικά συμπτώματα τοξίκωσης, καθώς επίσης και της εμαμεκτίνης στις συνιστώμενες δοσολογίες που αναφέρονται βιβλιογραφικά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

Αποτελεσματικότητα –πειραματικές δοκιμές

3.1 Υλικά και Μέθοδοι 3^{ης} Ενότητας

Σκοπός αυτής της ενότητας εργασιών ήταν να εξεταστεί η δραστικότητα των δύο ουσιών (νικλοσαμίδα και εμαμεκτίνη) έναντι μετάζωων παρασίτων. Για να επιτευχθεί κάτι τέτοιο μεταφέρθηκαν φυσικά μολυσμένα ψάρια εκτροφής από ιδιωτικές μονάδες στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου μας.

Η αποτελεσματική δράση των δύο ουσιών εκτιμήθηκε αρχικά στις εγκαταστάσεις του τμήματος κτηνιατρικής σε φυσικά μολυσμένα ψάρια που εκτρέφονταν μέσα σε ενυδρεία. Όμως για να υπάρχει και μια πιο ρεαλιστική εικόνα σχετικά με τη πραγματική αντιπαρασιτική δράση των ουσιών έγιναν και δοκιμές πεδίου σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής σε ειδικά διαμορφωμένους ιχθυοκλωβούς.

Σε ότι αφορά τους πειραματισμούς που έγιναν στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου μας, αμέσως μετά τη μεταφορά των φυσικά μολυσμένων ψαριών, έγινε εγκλιματισμός για 30 ημέρες στα ενυδρεία υποδοχής. Μια μέρα πριν την έναρξη εφαρμογής των δοσολογικών σχημάτων, μέρος του αρχικού πληθυσμού θανατώθηκε με σκοπό να εκτιμηθεί το αρχικό παρασιτικό τους φορτίο. Το παρασιτικό φορτίο εκτιμήθηκε με αποκοπή των 2 ή 3^{ων} πρώτων αριστερών βραγχιών και παρατήρηση νωπών ξεσμάτων τους κάτω από οπτικό μικροσκόπιο.

Μία ημέρα μετά την καταμέτρηση διενεργήθηκαν πειραματισμοί χρησιμοποιώντας τα βέλτιστα δοσολογικά σχήματα της προηγούμενης ενότητας (Ενότητα 2). Από τα αποτελέσματα της 2^{ης} Ενότητας επιλέχθηκαν για τη Νικλοσαμίδα τα δοσολογικά σχήματα των πειραματικών δοκιμών 5):(40ppm/d x 5d), 6):(20ppm/d x 10d) και 7):(30ppm/d x 3d), ενώ για την Εμαμεκτίνη το δοσολογικό σχήμα 9):(50μg/d x 10d). Όλα τα μολυσμένα ψάρια για τις δοκιμές αυτές ήταν λαβράκια.

Η δραστικότητα κάθε φαρμάκου καθορίστηκε με τη μέτρηση των θνησιμοτήτων και του συνολικού παρασιτικού φορτίου των ψαριών στα οποία χορηγήθηκε η θεραπεία, συγκριτικά με τα ψάρια μάρτυρες. Η διάρκεια αυτών των πειραμάτων ήταν 6 μήνες. Τα πιο αποτελεσματικά δοσολογικά σχήματα αυτής της

ενότητας επιλέχθηκαν για περαιτέρω διερεύνηση, στην ακόλουθη, 4^η ενότητα εργασίας.

Σε ότι αφορά τις εγκαταστάσεις και τις πειραματικές διατάξεις ισχύουν όσα αναφέρονται στην αντίστοιχη ενότητα του 2^{ου} Κεφαλαίου. Ο εγκλεισμός των ουσιών στη τροφή έγινε με την ίδια μεθοδολογία όπως αυτή παρουσιάζεται αναλυτικά στη δεύτερη ενότητα.

Η αποτελεσματικότητα κάθε δοσολογικού σχήματος εκτιμήθηκε μια μέρα μετά το τέλος εφαρμογής του, θανατώνοντας όλον το πληθυσμό και εκτιμώντας ποιοτικά και ποσοτικά το εναπομένον παρασιτικό φορτίο. Το φορτίο αυτό στη συνέχεια συγκρίθηκε με το αρχικό παρασιτικό φορτίο των μαρτύρων.

Σε ότι αφορά τους πειραματισμούς που έγιναν στο πεδίο, το τελικό δοσολογικό σχήμα που επιλέχθηκε ήταν 60ppm ανά ημέρα για 5 ημέρες και εφαρμόστηκε σε 100 τσιπούρες μέσου βάρους 70g. Το τάισμα των ψαριών τις 4 πρώτες ημέρες έγινε κανονικά όμως την 5 ημέρα αναβλήθηκε εξαιτίας κακοκαιρίας και δόθηκε την 6^η ημέρα. Επίσης ο εγκλεισμός της εμαμεκτίνης δεν έγινε με ιχθυέλαιο αλλά με ηλιέλαιο, κάτι που επηρέασε τη όρεξη των ψαριών από τη 3^η ημέρα και έπειτα, εξαιτίας της πικρή γεύσης της νικλοσαμίδης.

Μετά το τέλος της χορήγησης τα εναπομείναντα ψάρια δεν θανατώθηκαν αλλά συνέχισαν να εκτρέφονται για τους επόμενους δύο μήνες με σκοπό να διερευνηθεί ο χρόνος επαναπροσβολής από παράσιτα.

3.2 Αποτελέσματα 3ης Ενότητας

3.2.1 Παρασιτικό φορτίο μαρτύρων (ενυδρεία)

Μετά τη μεταφορά φυσικά μολυσμένων λαβρακιών στα ενυδρεία υποδοχής και τον εγκλιματισμό τους για 30 ημέρες, εκτιμήθηκε μια ημέρα πριν την έναρξη των πειραμάτων το ποιοτικό και ποσοτικό παρασιτικό φορτίο τους. Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 17) αναφέρονται αναλυτικά τα είδη των παρασίτων και ο αριθμός τους.

Πίνακας 17. παρασιτικό φορτίο μαρτύρων (λαβράκια)

A/A	N ^ο . Bρ.	<i>Lernanthropus</i>	Ανώριμα <i>Diplectanum</i>	Όριμα <i>Diplectanum</i>	Σύνολο
1	A ₁	0	10	2	12
	A ₂	2	1	0	3
	A ₃	1	7	0	8
2	A ₁	0	1	0	1
	A ₂	1	1	0	2
	A ₃	0	2	0	2
3	A ₁	0	20	5	25
	A ₂	1	2	0	3
	A ₃	0	0	1	1
4	A ₁	0	1	3	4
	A ₂	0	2	2	4
	A ₃	1	0	0	1
5	A ₁	0	0	1	1
	A ₂	1	1	0	2
	A ₃	0	1	0	1
6	A ₁	2	2	6	10
7	A ₁	1	2	5	8
	A ₂	3	2	0	5
8	A ₁	3	1	4	8
	A ₂	0	2	1	3
9	A ₁	1	0	0	1
	A ₂	2	0	1	3
10	A ₁	1	2	0	3
	A ₂	0	10	8	18
Μέση ένταση παρασίτων/βρ		0,833	2,917	1,625	5,375

Όπως παρατηρούμε από τον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 17), τα λαβράκια (μάρτυρες) έφεραν κωπήποδα του γένους *Lernanthropus* και μονογενή του γένους *Diplectanum*. Η μέση ένταση των κωπήποδων ανά βράγχιο ήταν 0,833 ενώ των μονογενών ήταν αντίστοιχα 4,542 (2,917 + 1,625). Η συνολική ποσότητα παρασίτων ανά βράγχιο άγγιξε τα 5,375. Επί της ουσίας πρόκειται για μια τυπική παρασιτική μόλυνση των λαβρακιών η οποία είναι συνήθης σε επίπεδο εκτροφής. Η ένταση και των δύο τύπων παρασίτων είναι σχετικά μεγάλη και ικανή για να εκδηλώσει αθροιστικά σοβαρές αλλοιώσεις στα βράγχια. Την επόμενη ημέρα της καταμέτρησης ξεκίνησαν ταυτόχρονα οι πειραματικές χορηγήσεις νικλοσαμίδης και εμαμετίνης, σε τέσσερα διαφορετικά δοσολογικά σχήματα (βλέπε παραπάνω).

3.2.2 Νικλοσαμίδη -Αποτελέσματα πειραματικών χορηγήσεων (ενυδρεία)

3.2.2.1 Νικλοσαμίδη, 20ppm/ημέρα (10 ημέρες) σε λαβράκια (M.B. 100g)

Το πρώτο δοσολογικό σχήμα αφορούσε τη χορήγηση 20ppm νικλοσαμίδης ανά ημέρα για 10 ημέρες συνολικά, σε 8 λαβράκια μέσου βάρους 100g. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 18), αφορούν το παρασιτικό φορτίο των υποκειμένων, μια ημέρα μετά το τέλος της τελευταίας χορήγησης νικλοσαμίδης (11^η ημέρα).

Πίνακας 18. παρασιτικό φορτίο υποκειμένων (20ppm/ημέρα x 10)

A/A	N ^ο . Bp.	<i>Lernanthropus</i>	Ανώριμα <i>Diplectanum</i>	Ώριμα <i>Diplectanum</i>	Σύνολο
1	A ₁	1	0	0	1
	A ₂	0	0	0	0
	A ₃	3	0	0	3
2	A ₁	1	0	0	1
	A ₂	0	0	0	0
3	A ₁	1	0	0	1
	A ₂	0	0	0	0
4	A ₁	2	0	0	2
	A ₂	0	0	0	0
5	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	2	0	0	2
6	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	2	0	0	2
7	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	3	0	0	3
8	A ₁	1	0	0	1
	A ₂	2	0	0	2
Μέση ένταση παρασίτων/βρ		1,058	0	0	1,058

Η δράση της νικλοσαμίδης έναντι των μονογενών παρασίτων ήταν σαφής μετά από 10 ημέρες χορήγησης στα 20ppm ανά ημέρα καθώς δεν βρέθηκαν καθόλου παράσιτα στα βράγχια. Η νικλοσαμίδα ωστόσο φαίνεται να μην επιδρά έναντι των κοπήποδων καθώς η μέση ένταση τους ανά βράγχιο δεν περιορίστηκε αριθμητικά (στην ουσία αυξήθηκε).

3.2.2.2 Νικλοσαμίδα, 40ppm/ημέρα (5 ημέρες) σε λαβράκια (M.B. 100g)

Παράλληλα έγινε και η πειραματική χορήγηση νικλοσαμίδης στο δοσολογικό σχήμα των 40ppm/ημέρα, για 5 ημέρες, σε 8 λαβράκια μέσου βάρους 100g. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 19), αφορούν το παρασιτικό φορτίο των υποκειμένων, μια ημέρα μετά το τέλος της τελευταίας χορήγησης νικλοσαμίδης (6^η ημέρα).

Πίνακας 19. παρασιτικό φορτίο υποκειμένων (40ppm/ημέρα x 5)

A/A	N ^ο . Bp.	<i>Lernanthropus</i>	Ανώριμα <i>Diplectanum</i>	Όριμα <i>Diplectanum</i>	Σύνολο
1	A ₁	2	0	0	2
	A ₂	1	0	0	1
	A ₃	0	0	0	0
2	A ₁	1	0	0	1
	A ₂	1	0	0	1
3	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	0	0	0	0
4	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	3	0	0	3
5	A ₁	1	0	0	1
	A ₂	1	0	0	1
6	A ₁	2	0	0	2
	A ₂	1	0	0	1
7	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	2	0	0	2
8	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	1	0	0	1

Μέση ένταση παρασίτων	0,941	0	0	0,941
--------------------------------------	--------------	----------	----------	--------------

Η Νικλοσαμίδη φαίνεται πως έχει ισχυρή αντιπαρασιτική δράση έναντι των μονογενών παρασίτων καθώς ακόμη και το δοσολογικό σχήμα των 40ppm για 5 ημέρες είναι ικανό να μηδενίσει το παρασιτικό φορτίο στα βράγχια των ψαριών. Σε ότι αφορά τα κωπήποδα επιβεβαιώθηκε πως πρακτικά δεν τα επηρεάζει καθώς η μέση ένταση τους ανά βράγχιο παραμένει σταθερή.

3.2.2.3 Νικλοσαμίδη, 30ppm/ημέρα (3 ημέρες) σε λαβράκια (M.B. 100g)

Στο 3^ο και τελευταίο δοσολογικό σχήμα χορηγήθηκε νικλοσαμίδη για 3 ημέρες σε σταθερή ημερήσια δόση 30ppm, σε 8 λαβράκια μέσου βάρους 100g. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 20), αφορούν το παρασιτικό φορτίο των υποκειμένων, μια ημέρα μετά το τέλος της τελευταίας χορήγησης νικλοσαμίδης (4^η ημέρα).

Πίνακας 20. παρασιτικό φορτίο υποκειμένων (30ppm/ημέρα x 3)

A/A	N ^ο . Bp.	<i>Lernanthropus</i>	Ανώριμα <i>Diplectanum</i>	Ώριμα <i>Diplectanum</i>	Σύνολο
1	A ₁	1	1	0	0
	A ₂	3	0	0	
	A ₃	0	0	0	
2	A ₁	1	0	0	1
	A ₂	0	2	1	3
3	A ₁	0	0	2	2
	A ₂	3	0	0	3
4	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	1	3	0	4
5	A ₁	1	0	0	1
	A ₂	3	0	0	3
6	A ₁	0	0	1	1
	A ₂	1	0	0	1

7	A ₁	0	1	1	2
	A ₂	0	0	0	0
8	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	1	0	0	1
Μέση ένταση παρασίτων/βρ		0,882	0,411	0,294	1,588

Αυτό το δοσολογικό σχήμα φάνηκε να υπολείπεται σε δραστικότητα υποδεικνύοντας πως για να επιφέρει η νικλοσαμίδα δραστική μείωση των παρασίτων χρειάζονται πάνω από 3 ημέρες συνεχούς χορήγησης. Πάραυτα στο 25% (2/ 8) των ψαριών δεν εντοπίστηκαν παράσιτα.

3.2.3 Εμαμεκτίνη -Αποτελέσματα πειραματικών χορηγήσεων (ενυδρεία)

3.2.3.1 Εμαμεκτίνη, 0,1μg/kg/ημέρα (10 ημέρες) σε λαβράκια (M.B. 100g)

Σε ότι αφορά την εμαμεκτίνη, εφαρμόστηκε το δοσολογικό σχήμα των 0,1 μg/kg βιομάζας ανά ημέρα για 10 ημέρες, όπως χρησιμοποιείται για τη καταπολέμηση των κωπήποδων στις Βόρειες χώρες. Τα δοσολογικό αυτό σχήμα εφαρμόστηκε σε 9 λαβράκια μέσου βάρους 100g. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 21), αφορούν το παρασιτικό φορτίο των υποκειμένων, μια ημέρα μετά το τέλος της τελευταίας χορήγησης νικλοσαμίδης (11^η ημέρα).

Πίνακας 21. παρασιτικό φορτίο υποκειμένων (50μg/kg/ημέρα x 10)

A/A	N ^ο . Bρ.	<i>Lernanthropus</i>	Ανώριμα <i>Diplectanum</i>	Ώριμα <i>Diplectanum</i>	Σύνολο
1	A ₁	0	3	4	7
	A ₂	0	4	0	4
	A ₃	0	3	2	5
2	A ₁	0	0	0	0
	A ₂	0	0	1	1
	A ₃	0	0	0	0
3	A ₁	0	1	1	2
	A ₂	0	0	0	0

	A ₃	0	2	2	4
	A ₁	0	2	5	7
	A ₂	0	1	0	1
4	A ₃	0	1	2	3
	A ₁	0	0	4	4
5	A ₂	0	0	2	2
	A ₃	0	1	3	4
	A ₁	0	6	10	16
6	A ₂	0	4	6	10
	A ₃	0	0	3	3
	A ₁	0	3	10	13
7	A ₂	0	0	5	5
	A ₃	0	7	5	12
	A ₁	0	1	2	3
8	A ₂	0	0	1	1
	A ₃	0	0	3	3
	A ₁	0	0	1	1
9	A ₂	0	0	1	1
	A ₃	0	1	0	1
Μέση ένταση παρασίτων/βρ		0	1,625	2,958	4,583

Η εμαμεκτίνη όπως ήταν αναμενόμενο είχε ισχυρή αντιπαρασιτική δράση ενάντια στα κωπήποδα του γένους *Lernanthropus*. Μετά από 10 ημέρες χορήγησης μέσω της τροφής δεν εντοπίστηκε κανένα παράσιτο στα νωπά ξέσματα των βραγχίων.

Αντίθετα με τη νικλοσαμίδα, η εμαμεκτίνη δεν έχει καμία δράση ενάντια στα μονογενή παράσιτα των βραγχίων, καθώς 10 ημέρες μετά τη πρώτη χορήγηση της, η μέση ένταση των μονογενών ανά βράγχιο ήταν 4,58.

3.2.4 Παρασιτικό φορτίο μαρτύρων (πεδίο)

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζεται το αρχικό παρασιτικό φορτίο των βραγχίων των τσιπούρων (μάρτυρες), πριν τη εφαρμογή της νικλοσαμίδης και της εμαμεκτίνης. Στο συγκεκριμένο πίνακα παρουσιάζονται τα παράσιτα που

εντοπίστηκαν, καθώς επίσης και τα αυγά των παρασίτων. Τα αυγά των παρασίτων αν και καταμετρήθηκαν και παρουσιάζονται στον πίνακα 22, δεν προσμετρήθηκαν, και δεν υπολογίστηκαν στην τελική στατιστική επεξεργασία καθώς η παρουσία τους (ή όχι) εξαρτάται κάποιες φορές από τη πίεση που ασκείται μεταξύ της αντικειμενοφόρου πλάκας και της επικαλυπτρίδας κατά τη προετοιμασία των νωπών παρασκευασμάτων, η οποία ευνοεί την διέξοδο τους από το σώμα των ώριμων παρασίτων.

Πίνακας 22. Αρχικό παρασιτικό φορτίο μαρτύρων πεδίου (Τσιπούρες)

A/A	N ^ο . Bp.	Ανώριμα <i>Sparicotyle</i>	Όριμα <i>Sparicotyle</i>	<i>Lamellodiscus</i> <i>echeneis</i>	Αυγά παρασίτων	Σύνολο	
Μάρτυρας 1	A ₁	2	2	2	0	6	46
	A ₂	2	2	0	0	4	
	A ₃	2	7	0	10	9	
	Δ ₁	2	3	3	0	8	
	Δ ₂	4	2	2	6	8	
	Δ ₃	6	5	0	0	11	
Μάρτυρας 2	A ₁	6	2	2	0	10	58
	A ₂	3	2	1	0	6	
	A ₃	1	12	0	4	13	
	Δ ₁	4	3	1	0	8	
	Δ ₂	6	3	0	7	9	
	Δ ₃	6	5	1	0	12	
Μάρτυρας 3	A ₁	1	0	3	0	4	36
	A ₂	1	5	1	10	7	
	A ₃	1	3	1	0	5	
	Δ ₁	1	4	1	9	6	
	Δ ₂	2	3	1	0	6	
	Δ ₃	3	2	3	0	8	
Μάρτυρας 4	A ₁	1	3	1	2	5	50
	A ₂	16	2	1	0	19	
	A ₃	8	3	1	0	12	
	Δ ₁	0	1	1	0	2	

	Δ_2	1	2	3	0	6	
	Δ_3	1	5	0	0	6	
Μάρτυρας 5	A_1	3	3	1	0	7	60
	A_2	1	2	1	0	4	
	A_3	3	0	0	0	3	
	Δ_1	5	7	2	28	14	
	Δ_2	9	5	5	0	19	
	Δ_3	9	3	1	13	13	
Μάρτυρας 6	A_1	3	5	5	32	13	94
	A_2	6	6	11	45	23	
	A_3	5	3	2	0	10	
	Δ_1	4	4	3	0	11	
	Δ_2	4	11	1	0	16	
	Δ_3	9	6	6	0	21	
Μάρτυρας 7	A_1	2	1	0	0	3	74
	A_2	2	4	6	0	12	
	A_3	5	10	2	0	17	
	Δ_1	2	2	3	15	7	
	Δ_2	10	8	5	11	23	
	Δ_3	2	10	0	0	12	
Μάρτυρας 8	A_1	3	3	5	0	11	55
	A_2	1	3	0	0	4	
	A_3	6	5	2	0	13	
	Δ_1	9	5	2	15	16	
	Δ_2	4	4	1	9	9	
	Δ_3	1	1	0	0	2	
Μάρτυρας 9	A_1	8	0	4	0	12	74
	A_2	7	2	2	0	11	
	A_3	11	1	1	0	13	
	Δ_1	6	3	1	8	10	
	Δ_2	13	3	1	1	17	
	Δ_3	9	2	0	2	11	
Μάρτυρας 10	A_1	6	1	0	1	7	35

	A ₂	4	3	0	0	7	
	A ₃	7	0	1	1	8	
	Δ ₁	2	2	1	0	5	
	Δ ₂	0	3	0	10	3	
	Δ ₃	1	3	1	0	5	
<hr/>							
Μάρτυρας 11	A ₁	2	1	1	0	4	
	A ₂	1	0	0	0	1	
	A ₃	4	2	0	0	6	17
	Δ ₁	0	0	0	0	0	
	Δ ₂	2	0	0	0	2	
	Δ ₃	4	0	0	0	4	
<hr/>							
Μάρτυρας 12	A ₁	5	0	0	0	5	
	A ₂	1	2	1	0	4	
	A ₃	6	2	0	1	8	38
	Δ ₁	3	1	0	0	4	
	Δ ₂	2	4	0	0	6	
	Δ ₃	4	7	0	59	11	
<hr/>							
Μάρτυρας 13	A ₁	3	1	1	0	5	
	A ₂	3	1	0	1	4	
	A ₃	2	0	1	0	3	32
	Δ ₁	6	0	6	0	12	
	Δ ₂	3	0	1	0	4	
	Δ ₃	4	0	0	0	4	
<hr/>							
Μάρτυρας 14	A ₁	6	1	0	0	7	
	A ₂	8	2	2	0	12	
	A ₃	7	2	1	5	10	41
	Δ ₁	4	2	0	5	6	
	Δ ₂	2	0	0	0	2	
	Δ ₃	3	1	0	2	4	
<hr/>							
Μέση ένταση παρασίτων/βρ		4,130	2,904	1,416	3,714	8,45	

Η παρασιτική μόλυνση που υπέδειξε η καταμέτρηση στα βράγχια των μαρτύρων παρουσίασε μια τυπική μόλυνση συχνή στην εκτρεφόμενη τσιπούρα η οποία συνήθως εμφανίζεται μεικτή (*Sparicotyle-Lamellodiscus*). Η ένταση της μόλυνσης ανά βράγχιο είναι αρκετά μεγάλη έτσι ώστε να προκαλέσει σημαντικές ιστικές βλάβες στα βράγχια των ξενιστών τους.

3.2.5 Νικλοσαμίδη -Αποτελέσματα πειραματικών χορηγήσεων (πεδίο)

3.2.5.1 Νικλοσαμίδη, 60ppm/ημέρα (5 ημέρες) σε τσιπούρες (M.B. 70g)

Μετά την εκτίμηση των αποτελεσμάτων από τις προηγούμενες πειραματικές δοκιμές σε ενυδρεία διενεργήθηκε μια δοκιμή πεδίου σε ειδικά διαμορφωμένο ιχθυοκλωβό, με σκοπό να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της νικλοσαμιδης σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής. Το τελικό δοσολογικό σχήμα που επιλέχθηκε για αυτή τη δοκιμή πεδίου ήταν 60ppm ανά ημέρα για 5 ημέρες και εφαρμόστηκε σε 100 τσιπούρες μέσου βάρους 70g. Το τάισμα των ψαριών τις 4 πρώτες ημέρες έγινε κανονικά όμως την 5 ημέρα αναβλήθηκε εξαιτίας κακοκαιρίας και δόθηκε την 6^η ημέρα.

Ένα 24ωρο μετά την πρώτη ημέρα χορήγησης της νικλοσαμιδης έγινε μια πρώτη καταμέτρηση στο παρασιτικό φορτίο των βραγχίων των υποκείμενων με σκοπό να διερευνηθούν τυχόν μεταβολές. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 23), παρουσιάζεται η ποσοτική και ποιοτική καταμέτρηση των παρασίτων 24 ώρες μετά τη πρώτη χορήγηση.

Πίνακας 23. Παρασιτικό φορτίο 24h μετά τη πρώτη χορήγηση Νικλοσαμιδης (60ppm x5d)

A/A	N°. Βρ.	Ανώριμα <i>Sparicotyle</i>	Ώριμα <i>Sparicotyle</i>	<i>Lamellodiscus echeneis</i>	Αυγά παρασίτων	Σύνολο
	A ₁	0	0	0	0	0
	A ₂	0	0	0	0	0
1	A ₃	0	0	0	0	0
	Δ ₁	1	1	0	0	2
	Δ ₂	2	1	2	0	5
	Δ ₃	5	4	0	0	9
						16

2	A_1	1	2	0	0	3	24
	A_2	4	0	0	0	4	
	A_3	2	2	0	0	4	
	Δ_1	2	1	0	0	3	
	Δ_2	2	3	0	0	5	
	Δ_3	2	3	0	0	5	
3	A_1	6	2	0	3	8	36
	A_2	5	1	0	0	6	
	A_3	3	1	2	0	6	
	Δ_1	4	3	1	14	8	
	Δ_2	4	2	1	0	7	
	Δ_3	1	0	0	0	1	
4	A_1	3	3	3	0	9	85
	A_2	5	2	7	4	14	
	A_3	8	10	3	0	21	
	Δ_1	5	7	7	4	19	
	Δ_2	5	5	2	21	12	
	Δ_3	2	6	2	8	10	
5	A_1	0	1	3	0	4	30
	A_2	5	0	3	0	8	
	A_3	3	0	3	0	6	
	Δ_1	2	2	0	1	4	
	Δ_2	2	1	0	1	3	
	Δ_3	2	0	3	0	5	
6	A_1	4	0	1	7	5	16
	A_2	1	1	1	0	3	
	A_3	4	1	1	0	6	
	Δ_1	0	0	0	0	0	
	Δ_2	1	0	0	0	1	
	Δ_3	0	0	1	0	1	
7	A_1	2	0	1	0	3	21
	A_2	2	0	0	0	2	
	A_3	1	5	0	0	6	
	Δ_1	2	0	0	0	2	
	Δ_2	1	0	0	0	1	
	Δ_3	4	1	2	0	7	

8	A ₁	4	3	1	3	8	30
	A ₂	3	0	0	3	3	
	A ₃	2	0	0	0	2	
	Δ ₁	3	0	0	0	3	
	Δ ₂	3	1	0	0	4	
	Δ ₃	3	2	5	0	10	
9	A ₁	7	3	0	0	10	44
	A ₂	3	3	0	19	6	
	A ₃	3	2	1	0	6	
	Δ ₁	2	8	0	19	10	
	Δ ₂	3	3	0	12	6	
	Δ ₃	4	2	0	0	6	
10	A ₁	7	0	1	0	8	39
	A ₂	5	2	0	0	7	
	A ₃	4	0	0	0	4	
	Δ ₁	3	1	2	0	6	
	Δ ₂	3	1	2	0	6	
	Δ ₃	4	4	0	1	8	
11	A ₁	5	5	1	0	11	55
	A ₂	6	2	1	0	9	
	A ₃	2	3	0	0	5	
	Δ ₁	10	8	2	6	20	
	Δ ₂	5	0	1	0	6	
	Δ ₃	2	2	0	0	4	
Μέση ένταση παρασίτων/βρ		3,090	1,909	1	1,909	6	

Η καταμέτρηση των παρασίτων επαναλήφθηκε 48h μετά τη πρώτη χορήγηση νικλοσαμίδης. Τα αποτελέσματα αυτής της καταμέτρησης παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 24)

Πίνακας 24. Παρασιτικό φορτίο μετά από 48h χορήγησης νικλοσαμίδης (60ppm x5 ημέρες)

A/A	N ^ο . Bp.	Ανώριμα <i>Sparicotyle</i>	Ώριμα <i>Sparicotyle</i>	<i>Lamellodiscus</i> <i>echeneis</i>	Αυγά παρασίτων	Σύνολο
1	A ₁	1	3	0	0	4
	A ₂	1	1	5	0	7
	A ₃	0	0	0	0	0
	Δ ₁	2	0	0	0	2
	Δ ₂	0	0	0	0	0
	Δ ₃	1	1	0	0	2
2	A ₁	1	0	0	0	1
	A ₂	0	1	0	0	1
	A ₃	0	0	4	0	4
	Δ ₁	0	0	0	0	0
	Δ ₂	1	0	0	0	1
	Δ ₃	0	0	0	0	0
3	A ₁	0	0	2	0	2
	A ₂	0	0	0	0	0
	A ₃	2	1	0	0	3
	Δ ₁	0	1	0	0	1
	Δ ₂	0	1	1	0	2
	Δ ₃	0	1	0	0	1
4	A ₁	2	2	4	0	8
	A ₂	4	1	2	0	7
	A ₃	0	0	0	0	0
	Δ ₁	0	0	7	0	7
	Δ ₂	2	2	2	0	6
	Δ ₃	1	3	1	0	5
5	A ₁	2	10	1	0	13
	A ₂	1	4	2	0	7
	A ₃	2	3	1	0	6
	Δ ₁	4	1	2	0	7
	Δ ₂	0	1	0	0	1
	Δ ₃	2	0	1	0	3
6	A ₁	2	6	3	0	11
	A ₂	3	0	1	0	4

	A_3	6	4	6	0	16		
	Δ_1	0	0	0	0	0		
	Δ_2	2	0	0	0	2		
	Δ_3	0	0	0	0	0		
	<hr/>							
	A_1	0	0	0	0	0		
	A_2	3	3	4	0	10		
7	A_3	2	2	4	0	8	38	
	Δ_1	2	0	5	0	7		
	Δ_2	2	1	2	0	5		
	Δ_3	6	0	2	0	8		
	<hr/>							
	A_1	0	2	0	0	2		
	A_2	0	0	1	0	1		
8	A_3	3	2	2	0	7	14	
	Δ_1	0	1	0	0	1		
	Δ_2	1	1	0	0	2		
	Δ_3	1	0	0	0	1		
	<hr/>							
	A_1	0	3	1	0	4		
	A_2	1	5	0	0	6		
9	A_3	1	0	0	0	1	20	
	Δ_1	2	0	1	0	3		
	Δ_2	4	0	0	0	4		
	Δ_3	1	1	0	0	2		
	<hr/>							
	A_1	0	0	0	0	0		
	A_2	1	1	0	0	2		
10	A_3	1	0	1	0	2	8	
	Δ_1	1	1	1	0	3		
	Δ_2	0	1	0	0	1		
	Δ_3	0	0	0	0	0		
	<hr/>							
	A_1	2	3	1	0	6		
	A_2	4	4	0	0	8		
11	A_3	6	3	0	0	9	51	
	Δ_1	2	2	0	0	4		
	Δ_2	9	4	3	0	16		
	Δ_3	3	5	0	0	8		
	<hr/>							
12	A_1	2	1	0	0	3	57	
	A_2	3	5	0	0	8		

A ₃	2	6	0	0	8
Δ ₁	3	5	1	0	9
Δ ₂	8	6	1	0	15
Δ ₃	6	7	1	0	14
Μέση ένταση παρασίτων/βρ	1,722	1,694	1,055	0	4,472

Μεταξύ άλλων, διενεργήθηκε καταμέτρηση του παρασιτικού προφίλ μια ημέρα μετά το τέλος της πενθήμερης χορήγησης νικλοσαμίδης. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 25) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της καταμέτρησης των παρασίτων.

Πίνακας 25. Παρασιτικό φορτίο μια ημέρα μετά τη τελευταία χορήγηση (7η ημέρα)

A/A	N ^ο . Βρ.	Ανώριμα <i>Sparicotyle</i>	Ώριμα <i>Sparicotyle</i>	<i>Lamellodiscus</i> <i>echeneis</i>	Αυγά παρασίτων	Σύνολο
1	A ₁	2	2	1	0	5
	A ₂	2	0	1	0	3
	A ₃	1	0	1	0	2
	Δ ₁	1	1	0	0	2
	Δ ₂	3	2	0	0	5
	Δ ₃	3	1	0	0	4
2	A ₁	5	14	0	3	19
	A ₂	5	1	3	0	9
	A ₃	4	0	1	0	5
	Δ ₁	1	6	2	0	9
	Δ ₂	3	2	1	0	6
	Δ ₃	3	0	1	0	4
3	A ₁	1	1	0	0	2
	A ₂	0	0	0	0	0
	A ₃	1	2	0	0	3
	Δ ₁	2	1	0	0	3
	Δ ₂	2	0	0	0	2
	Δ ₃	0	0	0	0	0
4	A ₁	2	0	0	0	2
	A ₂	0	0	0	0	0

	A ₃	1	0	0	0	1	
	Δ ₁	0	2	0	0	2	
	Δ ₂	0	1	0	0	1	
	Δ ₃	0	0	0	0	0	
5	A ₁	0	1	0	0	1	11
	A ₂	0	0	0	0	0	
	A ₃	0	1	0	0	1	
	Δ ₁	1	3	0	0	4	
	Δ ₂	0	2	0	0	2	
	Δ ₃	1	2	0	0	3	
6	A ₁	7	3	1	0	11	30
	A ₂	5	2	1	0	8	
	A ₃	0	0	1	0	1	
	Δ ₁	2	1	0	0	3	
	Δ ₂	1	1	0	0	2	
	Δ ₃	2	3	0	0	5	
Μέση ένταση παρασίτων/βρ		1,694	1,527	0,388	0,083	3,611	

Μετά το τέλος της πειραματικής χορήγησης νικλοσαμίδης τα εναπομείναντα ψάρια συνέχιζαν να εκτρέφονται με τροφή πάχυνσης χωρίς νικλοσαμίδα. Την 17^η ημέρα (10^η ημέρα μετά τη τελευταία ημέρα χορήγησης νικλοσαμίδης), έγινε μια διερεύνηση του παρασιτικού φορτίου σε 6 τσιπούρες. Τα αποτελέσματα αυτής της δειγματοληψίας παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 26).

Πίνακας 26. Παρασιτικό φορτίο 10 ημέρες μετά τη τελευταία χορήγηση (17η ημέρα)

A/A	N ^ο . Βρ.	Ανώριμα <i>Sparicotyle</i>	Ώριμα <i>Sparicotyle</i>	<i>Lamellodiscus echeneis</i>	Αυγά παρασίτων	Σύνολο
1	A ₁	2	0	0	0	2
	A ₂	0	0	1	0	1
	A ₃	1	0	0	0	1
	Δ ₁	1	1	0	0	2
	Δ ₂	2	0	0	0	2
	Δ ₃	0	1	0	0	1
2	A ₁	0	0	0	0	0
						5

	A ₂	1	1	0	0	2	
	A ₃	0	1	1	0	2	
	Δ ₁	1	0	0	0	1	
	Δ ₂	0	0	0	0	0	
	Δ ₃	0	0	0	0	0	
	<hr/>						
3	A ₁	0	1	0	0	1	
	A ₂	0	0	0	0	0	
	A ₃	0	1	0	0	1	2
	Δ ₁	0	0	0	0	0	
	Δ ₂	0	0	0	0	0	
	Δ ₃	0	0	0	0	0	
	<hr/>						
4	A ₁	0	0	1	0	1	
	A ₂	0	1	0	0	1	
	A ₃	1	1	0	0	2	4
	Δ ₁	0	0	0	0	0	
	Δ ₂	0	0	0	0	0	
	Δ ₃	0	0	0	0	0	
	<hr/>						
5	A ₁	0	1	0	0	1	
	A ₂	0	0	0	0	0	
	A ₃	0	0	2	0	2	3
	Δ ₁	0	0	0	0	0	
	Δ ₂	0	0	0	0	0	
	Δ ₃	0	0	0	0	0	
	<hr/>						
6	A ₁	0	1	0	0	1	
	A ₂	0	0	0	0	0	
	A ₃	4	0	6	0	10	13
	Δ ₁	0	0	0	0	0	
	Δ ₂	0	0	1	0	1	
	Δ ₃	0	1	0	0	1	
	<hr/>						
	Μέση ένταση παρασίτων/βρ	0,361	0,305	0,333	0	1	

Στον παρακάτω πίνακα (27), εμφανίζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των 5 δειγματοληπτικών σημείων (0h, 24h, 48h, 7d και 17 ημέρες αντίστοιχα), ενώ στον πίνακα 28 παρουσιάζονται τα ίδια αποτελέσματα υπό μορφή ποσοστού μείωσης του παρασιτικού φορτίου επί του αρχικού (μάρτυρες), για κάθε παράσιτο ξεχωριστά.

Πίνακας 27. Συγκεντρωτική παρουσίαση των μέσων παρασιτικών εντάσεων ανά χρονικό σημείο ελέγχου και ανά παράσιτο (Μέση τιμή ± Τυπ. Απ.)

(t)	Ανώριμα <i>Sparicotyle</i>	Όριμα <i>Sparicotyle</i>	<i>Lamellodiscus echeneis</i>	Αυγά παρασίτων	N ^ο παρασίτων/ βράγχιο	Συνολική ένταση
0h	4,13 ± 3,11	2,90 ± 2,59	1,41 ± 1,89	3,71 ± 9,56	8,45 ± 5,06	61,85 ± 31,89
24h	3,09 ± 2,03	1,90 ± 2,22	1,00 ± 1,54	1,90 ± 4,76	6,00 ± 4,36	36,00 ± 20,18
48h	1,72 ± 1,97	1,69 ± 2,12	1,05 ± 1,60	0	4,47 ± 4,14	26,83 ± 17,09
6d	1,69 ± 1,77	1,52 ± 2,49	0,38 ± 0,68	0,08 ± 0,5	3,61 ± 3,79	21,67 ± 17,23
17d	0.36 ± 0,83	0.30 ± 0,46	0.33 ± 1,06	0	1,00 ± 1,57	5.83 ± 3,86

Πίνακας 28. Συγκεντρωτική παρουσίαση της ποσοστιαίας μείωσης του παρασιτικού φορτίου σε σχέση με το αρχικό (μάρτυρες) ανά ημέρα δειγματοληψίας

ημέρες	Ανώριμα <i>Sparicotyle</i>	Όριμα <i>Sparicotyle</i>	<i>Lamellodiscus echeneis</i>	Αυγά παρασίτων	N ^ο παρασίτων/ βράγχιο	Συνολική ένταση
1d	25,18%	34,28%	29,41%	48,60%	29,01%	41,80%
2d	58,31%	41,67%	25,49%	100,00%	47,09%	56,62%
6 d	58,98%	47,40%	72,55%	97,76%	57,28%	64,97%
17d	91,26%	89,48%	76,47%	100,00%	88,50%	90,57%

Εκτελώντας ανάλυση διακύμανσης χωρίς αλληλεπίδραση, μεταξύ των εντάσεων των παρασίτων ανά ημέρα ελέγχου, παρατηρούμε πως προκύπτει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα σε αυτές ($P_{\text{value}} = 0,006$), γεγονός που καταδεικνύει την δραστικότητα της νικλοσαμίδης ως αντιπαρασιτικό σε δοκιμές πεδίου.

Πίνακας 29. Αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA (w/r)), μεταξύ των εντάσεων των παρασίτων ανά ημέρα ελέγχου.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ						
Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	10,23	4	2,558	8,237	0,006	3,837
Στήλες	4,704	2	2,352	7,575	0,014	4,458
Σφάλμα	2,484	8	0,310			
Σύνολο	17,421	14				

Μετά το τέλος του πειράματος τα εναπομείναντα ψάρια δεν θανατώθηκαν αλλά συνέχισαν να εκτρέφονται για τους επόμενους δύο μήνες. Η δραστικότητα της νικλοσαμίδης έδειξε να έχει διάρκεια καθώς η επαναπροσβολή από παράσιτα φάνηκε να ξεκινά περί τις 30 ημέρες μετά τη τελευταία ημέρα χορήγησης.

3.2.6 Εμαμεκτίνη -Αποτελέσματα πειραματικών χορηγήσεων (Πεδίο)

3.2.6.1 Εμαμεκτίνη, 0,1μg/kg/ημέρα (10 ημέρες) σε λαβράκια (M.B. 117g)

Μετά την εκτίμηση των αποτελεσμάτων από τις προηγούμενες πειραματικές δοκιμές σε ενυδρεία διενεργήθηκε μια δοκιμή πεδίου σε ειδικά διαμορφωμένο ιχθυοκλωβό, με σκοπό να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της εμαμεκτίνης σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής. Το τελικό δοσολογικό σχήμα που επιλέχθηκε για αυτή τη δοκιμή πεδίου ήταν 0,1μg/kg ανά ημέρα για 10 ημέρες και εφαρμόστηκε σε 100 λαβράκια μέσου βάρους 117g τα οποία μεταφέρθηκαν από διπλανό κλωβό ψαριών τα οποία είχαν εμφανίσει τις τελευταίες 3 ημέρες θανάτους από υψηλό παρασιτικό φορτίο κωπήποδων.

Επειδή η εμαμεκτίνη φάνηκε να είναι αποτελεσματική μόνο ενάντια στα κωπήποδα παράσιτα και όχι στα μονογενή (Αποτελέσματα 2^{ης} ενότητας), για την εκτίμηση του παρασιτικού φορτίου δεν έγινε καταμέτρηση του συνόλου των ευρημάτων αλλά μόνο των κωπήποδων. Σε ότι αφορά τα κωπήποδα του γένους *Lernanthropus* εξαιτίας του μεγάλου μεγέθους τους και του μικρού σχετικά αριθμού τους στα βράγγια, τα κωπήποδα καταμετρήθηκαν συγκεντρωτικά ανά ψάρι, χωρίς να γίνεται αναφορά στα βραγγιακά τόξα που εντοπίστηκαν. Επίσης, σε ότι αφορά τα κωπήποδα του γένους *Caligus*, καταμετρήθηκαν μόνο εκείνα που βρίσκονταν μέσα στην στοματική κοιλότητα και έως το βάθος που οριοθετεί η βάση της γλώσσας χωρίς δηλαδή να καταμετρηθούν τα παράσιτα της περιβραχιακής κοιλότητας. Δεν έγινε διάκριση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών (ωοφόρων ή μη) παρασίτων.

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 30) παρουσιάζεται το αρχικό παρασιτικό φορτίο των βραγγίων των λαβρακιών (μάρτυρες), πριν τη εφαρμογή της εμαμεκτίνης. Η καταμέτρηση έγινε σε 20 άτομα.

Πίνακας 30. Παρασιτικό φορτίο μαρτύρων στο πεδίο (λαβράκια) (ημέρα 0)

<i>A/A</i>	<i>Lernanthropus</i>	<i>Caligus</i>
1.	7	19
2.	1	35
3.	9	11
4.	14	6
5.	3	8
6.	7	0
7.	9	20
8.	2	0
9.	8	31
10.	5	17
11.	11	0
12.	0	0
13.	8	11
14.	2	2
15.	2	41
16.	6	13
17.	1	17
18.	0	9
19.	7	6
20.	0	0
M.O	5,1	12,3

Επίσης, διενεργήθηκε καταμέτρηση του παρασιτικού προφίλ μια ημέρα μετά το τέλος της δεκαήμερης χορήγησης εμαμεκτίνης. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 31) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της καταμέτρησης των παρασίτων ανά ψάρι.

Πίνακας 31. Παρασιτικό φορτίο λαβρακιών στο πεδίο(ημέρα 11)

<i>A/A</i>	<i>Lernanthropus</i>	<i>Caligus</i>
1.	3	23
2.	0	4
3.	3	12
4.	7	12
5.	1	9
6.	2	31
7.	1	0
8.	1	9
9.	4	7
10.	8	0
11.	1	0
12.	7	16
13.	0	1
14.	4	8
15.	2	7
16.	6	9
17.	0	14
18.	5	0
19.	7	9
20.	0	5
M.O	3,1	8,8

Μετά το τέλος της πειραματικής χορήγησης εμαμεκτίνης τα εναπομείναντα λαβράκια συνέχιζαν να εκτρέφονται με τροφή πάχυνσης χωρίς εμαμεκτίνη. Την 20^η ημέρα (10^η ημέρα μετά τη τελευταία ημέρα χορήγησης), έγινε μια διερεύνηση του παρασιτικού φορτίου σε 20 λαβράκια. Τα αποτελέσματα αυτής της δειγματοληψίας παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 32).

Πίνακας 32. Παρασιτικό φορτίο μαρτύρων στο πεδίο (λαβράκια) (ημέρα 20)

<i>A/A</i>	<i>Lernanthropus</i>	<i>Caligus</i>
1.	0	0
2.	0	12
3.	5	7
4.	0	0
5.	3	2
6.	6	0
7.	1	19
8.	0	7
9.	2	9
10.	0	2
11.	0	0
12.	4	14
13.	2	2
14.	3	0
15.	2	6
16.	0	0
17.	3	0
18.	0	3
19.	0	7
20.	1	6
M.O	1,6	4,8

Τέλος, διενεργήθηκε καταμέτρηση του παρασιτικού προφίλ 20 ημέρες μετά το τέλος της δεκαήμερης χορήγησης εμαμεκτίνης (30^η ημέρα). Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 33) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της καταμέτρησης των παρασίτων. Η καταμέτρηση των παρασίτων έγινε σε 10 λαβράκια.

Πίνακας 33. Παρασιτικό φορτίο μαρτύρων στο πεδίο(λαβράκια) (ημέρα 30)

<i>A/A</i>	<i>Lernanthropus</i>	<i>Caligus</i>
1.	0	0
2.	0	7
3.	2	5
4.	0	0
5.	1	0
6.	0	0

7.	0	8
8.	1	1
9.	0	0
10.	2	0
M.O	0,6	2,1

Μετά το τέλος του πειράματος τα εναπομείναντα ψάρια δεν θανατώθηκαν αλλά συνέχισαν να εκτρέφονται για τους επόμενους δύο μήνες με τροφή εμπορίου. Η δραστηριότητα της εμαμεκτίνης έδειξε να έχει μεγάλη διάρκεια καθώς η επαναπροσβολή από παράσιτα φάνηκε να ξεκινά περί τις 15 ημέρες μετά τη τελευταία ημέρα χορήγησης.

Στον παρακάτω πίνακα (34), εμφανίζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των 4^{ων} δειγματοληπτικών σημείων (0, 11, 20 και 30 ημέρες αντίστοιχα), ενώ στον πίνακα 35 παρουσιάζονται τα ίδια αποτελέσματα υπό μορφή ποσοστού μείωσης του παρασιτικού φορτίου επί του αρχικού (μάρτυρες), για κάθε παράσιτο ξεχωριστά.

Πίνακας 34. Συγκεντρωτική παρουσίαση των μέσων παρασιτικών εντάσεων ανά χρονικό σημείο ελέγχου και ανά παράσιτο (Μέση τιμή ± Τυπ. Απ.)

A/A	<i>Lernanthropus</i>	<i>Caligus</i>	Ένταση / ψάρι
0 ⁿ	5,1 ± 4,08	12,3 ± 12,16	8,7 ± 6,3
11 ⁿ	3,1 ± 2,73	8,8 ± 7,97	11,9 ± 8,59
20 ⁿ	1,6 ± 1,87	4,8 ± 5,43	6,4 ± 5,77
30 ⁿ	0,6 ± 0,84	2,1 ± 3,24	2,7 ± 3,30

Πίνακας 35. Συγκεντρωτική παρουσίαση της ποσοστιαίας μείωσης του παρασιτικού φορτίου σε σχέση με το αρχικό (μάρτυρες) ανά ημέρα δειγματοληψίας

A/A	<i>Lernanthropus</i>	<i>Caligus</i>	Ένταση / ψάρι
11 ⁿ	39,22%	28,46%	-36,78%
20 ⁿ	68,63%	60,98%	26,44%
30 ⁿ	88,24%	82,93%	68,97%

Εκτελώντας ανάλυση διακύμανσης χωρίς αλληλεπίδραση, μεταξύ των ποσοστών μείωσης του παρασιτικού φόρτου ανά ημέρα ελέγχου, παρατηρούμε πως

προκύπτει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα σε αυτά ($P_{\text{value}} = 0,01$), γεγονός που καταδεικνύει την δραστηριότητα της εμαμεκτίνης ως αντιπαρασιτικό σε δοκιμές πεδίου.

Πίνακας 36. Αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA (w/r)), μεταξύ των ποσοστών μείωσης του παρασιτικού φόρτου ανά ημέρα ελέγχου.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ						
Πρόελευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	0,739	2	0,369	14,901	0,0140	6,944
Στήλες	0,359	2	0,179	7,257	0,0466	6,944
Σφάλμα	0,099	4	0,024			
Σύνολο	1,198	8				

3.3 Συζήτηση 3ης Ενότητας

3.3.1 Νικλοσαμίδα

Στην ενότητα αυτή επιβεβαιώθηκε η αντιπαρασιτική δράση της νικλοσαμίδης έναντι των μονογενών παρασίτων τόσο μέσα από τις πειραματικές χορηγήσεις στα ενυδρεία όσο και στο πεδίο. Η νικλοσαμίδα έδειξε πως δρα ικανοποιητικά έναντι των μονογενών πολύοπισθοκοτυλών (*Sparicotyle*) όσο και ενάντια των μονοοπισθοκοτυλών (*Lamellodiscus*, *Diplectanum*) τα οποία αποτελούν συχνούς αιτιολογικούς παράγοντες μόλυνσης των εκτρεφόμενων ψαριών της Μεσογείου.

Παρά το γεγονός πως στις πειραματικές χορηγήσεις νικλοσαμίδης μέσα στα ενυδρεία, η θανάτωση των μονογενών ήταν ολοκληρωτική στα 2 από τα 3 δοσολογικά σχήματα, εντούτοις στη εφαρμογή πεδίου όπως ήταν φυσικό τα αποτελέσματα διαφοροποιήθηκαν.

Ο λόγος που επιλέχθηκαν τα 60ppm ανά ημέρα για την εφαρμογή πεδίου της νικλοσαμίδης ήταν γιατί όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα πειραματικές διατάξεις-εγκαταστάσεις του 2^{ου} κεφαλαίου, τα ενυδρεία αποτελούσαν κλειστό σύστημα ανακύκλωσης νερού και όχι σύστημα πλήρους ανανέωσης του νερού. Αναμέναμε λοιπόν, παρά την καθημερινή ανανέωση της μισής ποσότητας του νερού του

ενυδρείου, τα αποτελέσματα της τοξικότητας αλλά και αντιπαρασιτικής δράσης να αποκλίνουν και να αποδίδουν ψευδώς εντονότερη από το κανονικό εικόνα.

Τη τελευταία ημέρα χορήγησης, όπως αναφέρθηκε ήδη στην ενότητα *υλικά και μέθοδοι* του 3^{ου} κεφαλαίου, εξαιτίας κακοκαιρίας, το τσίγμα αναβλήθηκε και έτσι έγινε μια ημέρα μετά (6^η ημέρα). Από τη πρώτη κιόλας ημέρα είναι εμφανής η αντιπαρασιτική δράση της νικλοσαμίδης η οποία κατάφερε να μειώσει το συνολικό αριθμό των παρασίτων ανά βράγχιο κατά 29%, ενώ τη 2^η ημέρα κατά 47%. Τα αποτελέσματα της τελευταίας ημέρας (6^{ης}) ωστόσο δεν ήταν τα αναμενόμενα καθώς η τελική μείωση του συνολικού παρασιτικού φορτίου/ βράγχιο άγγιξε μόλις το 57%, δηλαδή ελαττώθηκε μόλις 10% από τη τιμή που παρουσίασε τη 2^η ημέρα. Η αιτία αυτής της μικρής μείωσης μεταξύ της 2^{ης} και της τελευταίας ημέρας πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός πως για τον εγκλεισμό της τροφής χρησιμοποιήθηκε ηλιέλαιο αντί ιχθυελαίου, κάτι που τελικώς επηρέασε την όρεξη των ψαριών. Πράγματι τη τρίτη ημέρα χορήγησης και έπειτα, τα ψάρια δέχονταν την τροφή με διστακτικότητα.

Τελικά λοιπόν ποιά είναι η εικόνα που μας δίνει η νικλοσαμίδα; Πρόκειται για μια ουσία η οποία έχει μεν μια αντιπαρασιτική δράση αλλά οι ιδιαιτερότητες της την περιορίζουν; Και εάν θεωρήσουμε το 88,5% ως ένα μέγιστο όριο μείωσης των παρασίτων, είναι αυτό ικανό να μας κάνει να την επιλέξουμε ή εντέλει να τη προτιμήσουμε έναντι των συμβατικών αντιπαρασιτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται έως τώρα; Η απάντηση είναι μια, ΝΑΙ.

Τα λουτρά με φορμόλη που είναι το μοναδικό έως τώρα όπλο περιορισμού των εξωπαρασιτώσεων είναι επικίνδυνο για τους χειριστές και για το ζωικό κεφάλαιο. Επιπροσθέτως απαιτεί αρκετές εργατοώρες και το κόστος είναι μεγαλύτερο από εκείνο της νικλοσαμίδης για την ίδια εφαρμογή. Η νικλοσαμίδα έχει το πλεονέκτημα πως χορηγείται *per os* κάτι που μειώνει δραστικά τις απαιτούμενες εργατοώρες εφαρμογής, ενώ ο κίνδυνος για τοξίκωση του ζωικού κεφαλαίου είναι μικρός εάν ακολουθηθούν όλα όσα προτείνονται σε αυτή την εργασία. Τέλος το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της νικλοσαμίδης είναι ο μεγάλος χρόνος που απαιτείται για την επαναπροσβολή του ζωικού κεφαλαίου. Ο μέσος χρόνος επαναπροσβολής μετά το λουτρό με φορμόλη είναι 7 ημέρες ενώ η νικλοσαμίδα μπορεί και παρέχει χρόνο μεγαλύτερο των 4^{ων} εβδομάδων έως την επαναμόλυνση των ψαριών. Το γεγονός αυτό είναι εξαιρετικά σημαντικό ιδιαίτερα τη καλοκαιρινή περίοδο όπου ενώ τα ψάρια αυξάνουν το μεταβολισμό τους και κερδίζουν γρηγορότερα βάρος, περιορίζουν

αυτή την αύξηση εξαιτίας των παρασίτων που μαστίζουν τα βράγχια τους προκαλώντας τους εκτεταμένες ιστικές βλάβες.

Στην ενότητα εργασιών που ακολουθεί (Κεφάλαιο 4^ο), θα γίνει μια εκτίμηση της φαρμακοκινητικής και βιοδιαθεσιμότητας της νικλοσαμίδης και της εμαμεκτίνης.

3.3.2 Εμαμεκτίνη

Στις δοκιμές πεδίου χρησιμοποιήθηκε το δοσολογικό σχήμα που εφαρμόζεται για την καταπολέμηση των κωπήποδων στις Βόρειες χώρες. Το σκεύασμα που είναι γνωστό υπό την ονομασία SLICE[®], περιέχει 0,2% emamectin benzoate η οποία είναι και η δραστική αντιπαρασιτική ουσία εφαρμογής.

Η εμαμεκτίνη δεν παρουσιάζει άμεσα δραστικά αποτελέσματα μείωσης του παρασιτικού φορτίου από τις πρώτες ημέρες εφαρμογής όπως η νικλοσαμίδα. Φάνηκε πως ο αριθμός των παρασίτων ανά ψάρι ξεκινά να μειώνεται μετά το πέρας της φαρμακευτικής αγωγής και όχι κατά τη διάρκεια αυτής. Σημειώνεται εδώ, πως κατά τη διαδικασία της καταμέτρησης του παρασιτικού φορτίου, πολλά κωπήποδα ήταν ήδη νεκρά όμως συνέχιζαν να βρίσκονται αγκιστρωμένα στο στοματικό ή βραγχιακό επιθήλιο, εξαιτίας των ισχυρών και πολλαπλών εξαρτημάτων προσάρτησης που διαθέτουν. Με άλλα λόγια ενδεχομένως η εμαμεκτίνη να δίνει μια ψευδή εικόνα ως προς την μειωμένη αποτελεσματικότητα των πρώτων ημερών χορήγησης εξαιτίας αυτών των ανατομικών χαρακτηριστικών των κωπήποδων. Με το πέρας του χρόνου και καθώς το ψάρι κινείται και κολυμπάει, τα εξαρτήματα προσάρτησης διαδοχικά απαγκιστρώνονται και τα παράσιτα αποκολλούνται εντέλει από τους ξενιστές τους.

Συμπερασματικά η εμαμεκτίνη είναι μια δραστική αντιπαρασιτική ουσία όπου όμοια με τη νικλοσαμίδα μπορεί να χορηγηθεί *per os*. γεγονός που αυτόματα της προσδίδει προσόντα επιλογής έναντι των συμβατικών μεθόδων καταπολέμησης των παρασίτων

Η *per os* χορήγηση πλεονεκτεί πολλαπλώς, καθώς α) μειώνεται το κόστος εφαρμογής, β) μειώνεται ο κίνδυνος για το ζωικό κεφάλαιο, γ) μηδενίζεται το ρίσκο έκθεσης της ουσίας στο προσωπικό, δ) ελαττώνονται δραματικά οι εργατοώρες, ε) αυξάνεται η αντιπαρασιτική δράση, στ) είναι περισσότερο φιλική προς το περιβάλλον και ζ) αυξάνει το χρόνο έως την επαναμόλυνση του ζωικού κεφαλαίου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο Φαρμακοκινητική, t αποδρομής

4.1 Υλικά και Μέθοδοι 4^{ης} Ενότητας

Στη 4^η θεματική ενότητα πραγματοποιήθηκε μία εκτενής διερεύνηση της κατανομής της νικλοσαμίδης στους ιστούς των ψαριών. Τα ψάρια μεταφέρθηκαν από μονάδα εκτροφής ιχθύων της Λωρίδας Σαγιάδας (Θεσπρωτίας), στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου Ιχθυολογίας-Ιχθυοπαθολογίας του τμήματος Κτηνιατρικής Καρδίτσας. Τα ψάρια εγκλιματίστηκαν για 15 ημέρες και στη συνέχεια διενεργήθηκαν έλεγχοι φαρμακοκινητικής με μεθοδολογίες που αναφέρονται αναλυτικά στα υποκεφάλαια που ακολουθούν.

Έλεγχος των φαρμακοκινητικών παραμέτρων της εμαμεκτίνης δεν έγινε στη παρούσα θεματική ενότητα καθώς έχει εκτενώς διερευνηθεί από πρόσφατες εργασίες (Samuelsen 2010, Kim-Kang 2001).

4.1.1 Υπολογισμός φαρμακοκινητικής Νικλοσαμίδης

Η φαρμακοκινητική της νικλοσαμίδης υπολογίστηκε από τα δεδομένα που λήφθηκαν μετά από ενδομυϊκή έγχυση 6mg/kg βιομάζας στη βάση του ραχιαίου πτερυγίου σε λαβράκια (μέσου βάρους 120g.). Εκτελέστηκαν αιμοληψίες και αναλύθηκε η κατανομή του φαρμάκου σε όργανα-στόχους όπως ήπαρ, νεφρό και δέρμα (επιδερμίδα + μύες), ½, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 32, 48 και 216 ώρες μετά τη χορήγηση. Οι αναλύσεις των αντιπαρασιτικών φαρμάκων που έγιναν στο πλάσμα του αίματος και τους ιστούς αποτέλεσε τροποποιημένη μέθοδο που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο μας.

4.1.2 Εξαγωγή Νικλοσαμίδης από τους ιστούς

4.1.2.1 Προετοιμασία Δείγματος

Η ανάλυση της νικλοσαμίδης στους ιστούς έγινε σύμφωνα με τους Dawson et al. (2002), υπό τροποποίηση από το εργαστήριο μας.

Ζυγίζουμε 5g ιστού, προσθέτουμε 5ml Acetone και ομογενοποιούμε σε Falcon των 15ml. Εάν το δείγμα είναι κάτω των 5 g το ομογενοποιούμε όλο αφού πρώτα καταγράψουμε το βάρος του. Το βάρος του κάθε δείγματος είναι αναγκαίο να είναι γνωστό για τις μετέπειτα αναγωγές.

(β) Αναμιγνύουμε για 10min σε wrist action shaker.

(γ) Φυγοκεντρούμε στις 8500 στρ. για 5min. στους 20⁰C. Μετά το τέλος της φυγοκέντρησης προσεκτικά λαμβάνουμε το υπερκείμενο με υάλινη πιπέτα και το αδειάζουμε σε 100ml pear-shaped rotovar flask.

Το υποκείμενο δεν το απορρίπτουμε. Προσθέτουμε άλλα 5ml acetone και επαναλαμβάνουμε τα στάδια β και γ ,τριάκις. Συνολικά δηλαδή θα στον ίδιο ιστό προσθέτουμε 3 φορές ακετόνη, έτσι στο τέλος θα πρέπει να υπάρχουν στο pear-shaped rotovar flask, 15ml Acetone.

Εναλλακτικά, αντί για pear-shaped rotovar flask μπορούν να χρησιμοποιηθούν Falcon των 15ml. Με αυτό τον τρόπο μπορεί να γίνει οικονομία χρόνου καθώς όλα τα falcon συγκεντρώνονται μαζί και τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 70⁰C και συμπυκνώνουμε έως τα 2ml.

Η εξαγωγή της νικλοσαμίδης έγινε με τη μέθοδο της εξαγωγής στερεής φάσης (SPE) κατά την οποία χρησιμοποιήθηκαν φυσίγγια C¹⁸ (500mg/3ml). Η διαδικασία σε αυτό το στάδιο τροποποιήθηκε από το πρωτόκολλο των Schreier et al 2000, καθώς είναι χρονοβόρα και οικονομικά ασύμφορη για μεγάλο αριθμό δειγμάτων.

4.1.2.2 Προετοιμασία φυσιγγίων C18

Πριν την εισαγωγή του δείγματος, τα φίλτρα των φυσιγγίων C¹⁸ πρέπει αρχικά να καθαριστούν με τη βοήθεια κάποιου οργανικού διαλύτη για να απομακρυνθούν πιθανοί ρυπαντές. Στη συνέχεια το φυσίγγιο C¹⁸ φορτίζεται με ένα δεύτερο διάλυμα το οποίο διαθέτει τέτοια χαρακτηριστικά έτσι ώστε να δεσμεύει τη νικλοσαμίδα.

Πιο συγκεκριμένα κάθε φυσίγγιο τοποθετήθηκε σε συσκευή κενού. Το φίλτρο του φυσιγγίου εφυγράνθηκε αρχικά με μεθανόλη (2 όγκοι φυσιγγίου) και απορρίφθηκε με τη βοήθεια της συσκευής υποπίεσης, ενώ στη συνέχεια η ενεργοποίηση του φίλτρου έγινε με 2 όγκους διαλύματος 1:1 methanol: Sodium Acetate Buffer (58mM, pH 3,8), το οποίο επίσης απορρίφθηκε. Ο ρυθμός που αυτά τα διαλύματα πρέπει να περνούν μέσα από το φίλτρο του φυσιγγίου δεν θα πρέπει να

ξεπερνά τα 5ml/min. Ο χρόνος εισαγωγής των δειγμάτων μετά τη προετοιμασία των φυσιγγίων πρέπει να είναι το δυνατότερο σύντομος καθώς η εξάτμιση του διαλύματος ενεργοποίησης από το φίλτρο του φυσιγγίου θα έχει ως αποτέλεσμα το περιορισμό της ενσωμάτωσης της Νικλοσαμίδης από αυτό.

4.1.2.3 Φόρτωση Δειγμάτων στα φυσιγγία - έκλουση

Η εισαγωγή του δείγματος στο φυσιγγίο γίνεται τμηματικά. Πιο συγκεκριμένα μέσα στο φυσιγγίο εισάγεται **πρώτα** 1ml διαλύματος 50:50, Sodium Acetate Buffer/Methanol και ίσος όγκος δείγματος. Τα δύο διαλύματα αναδεύονται ισχυρά με τη βοήθεια πιπέτας. Εφαρμόζουμε υποπίεση και το διήθημα απορρίπτεται. Επαναλαμβάνουμε την παραπάνω διαδικασία όσες φορές χρειαστεί έως ότου προστεθεί όλη η ποσότητα του δείγματος.

Αφού προστεθεί όλη η ποσότητα του δείγματος ξεπλένουμε με 2 όγκους στήλης φυσιγγίου με διάλυμα 50:50, Sodium Acetate Buffer/Methanol. Εφαρμόζουμε υποπίεση και το διήθημα απορρίπτεται. Σε αυτό το στάδιο το διήθημα πρέπει να είναι διαυγές.

Στο τέλος εκλούουμε με methanol σε γυάλινα φιαλίδια των 2ml. Πιο συγκεκριμένα προσθέτουμε 1 ml methanol και εκλούουμε με ταχύτητα η οποία δεν πρέπει να ξεπερνά τα 3ml/min, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί κατά το δυνατόν η μέγιστη ενσωμάτωση. Επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία προσθέτοντας στη στήλη ακόμη 1ml methanol. Το διήθημα των 2ml περιέχει την νικλοσαμίδα. Η τμηματική έκλουση αυξάνει τη συγκέντρωση της νικλοσαμίδης παρά εάν προσθέταμε εφάπαξ τη μεθανόλη (2ml). Για να περιοριστεί το σφάλμα, εξασφαλίζουμε πως τα γυάλινα φιαλίδια είναι γεμάτα πλήρως. Εάν για κάποιο λόγο παρά τα 2ml methanol που χρησιμοποιήσαμε το φιαλίδιο δεν είναι γεμάτο προσθέτουμε στη στήλη όση ποσότητα μεθανόλης χρειάζεται για να γεμίσει το φιαλίδιο. Σε καμία περίπτωση δεν προσθέτουμε απευθείας μεθανόλη στο φιαλίδιο γιατί θα εκλάβουμε λάθος αποτελέσματα.

4.1.2.4 Ανάλυση υγρού έκλουσης - Ποσοτικοποίηση

Η τελική μεθοδολογία για την ανίχνευση και τελική ποσοτικοποίηση της εμαμεκτίνης γίνεται με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης

(HPLC). Το μήκος κύματος εκπομπής- ανάγνωσης ανέρχεται στα 360nm. Η ποσοτικοποίηση γίνεται με ανάγνωση του χρωματογράμματος στα 12min. Η κινητή φάση αποτελείται από 5mM Sodium acetate buffer / acetonitrile σε αναλογίες που βελτιστοποιούν κάθε φορά το χρωματογράμμα.

4.2 Αποτελέσματα 4ης Ενότητας

4.2.1 Κατανομή Νικλοσαμίδης στους ιστούς (εφάπαξ *per os* χορήγηση)

Η κατανομή στους ιστούς και η απομάκρυνση των καταλοίπων της νικλοσαμίδης από αυτούς, μελετήθηκε έπειτα από εφάπαξ *per os* χορήγηση 6mg/kg βιομάζας. Μυς, δέρμα, ήπαρ και νεφρός συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν ½ ,1, 2, 4, 6, 12, 24, 32, 48 και 216 ώρες μετά τη χορήγηση. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 38).

Πίνακας 38. Μέση συγκέντρωση νικλοσαμίδης ng/g ιστού μετά από εφάπαξ χορήγηση 6mg/kg *per os*

(h)	ΔΕΡΜΑ	ΗΠΑΡ	ΝΕΦΡΟΣ	ΑΙΜΑ
0,5	9,875539869	70,8614	95,45821	3,244852136
1	20,07233577	78,9754	178,3238	7,841547738
2	18,87833111	97,40343	75,28697	2,414997785
4	30,5324383	94,36775	55,8301	5,204723484
6	35,82499907	114,8427	111,3755	2,863237823
12	48,04009864	260,2814	67,91897	7,350400964
24	51,52893364	298,436	229,5098	15,42967264
32	89,08305095	204,4727	259,5825	7,890374321
48	5,204723484	77,88931	194,3601	10,40482392
216	1,403319	32,30804	46,09372	1,610481

Παρακάτω ακολουθούν έλεγχοι ανάλυσης διακύμανσης δύο παραγόντων χωρίς αλληλεπίδραση για τα αποτελέσματα του παραπάνω πίνακα:

Πίνακας 39. Αποτελέσματα Ανάλυσης διακύμανσης χωρίς αλληλεπίδραση

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	1,563	9	0,173	2,689	0,0225	2,250131477
Στήλες	3,293	3	1,097	16,991	2,12236E-06	2,960351321
Σφάλμα	1,744	27	0,064			
Σύνολο	6,601	39				

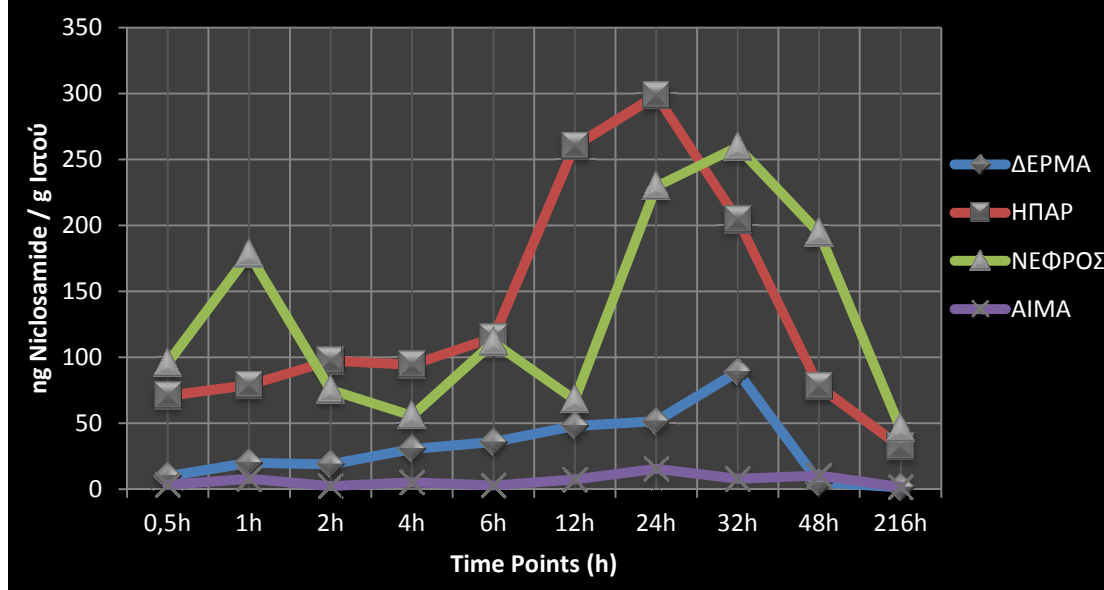
Μετά τον έλεγχο των απόλυτων τιμών των αποτελεσμάτων της ανάλυσης διακύμανσης δύο παραγόντων χωρίς αλληλεπίδραση προκύπτει:

α) Σε ότι αφορά την κατανομή της νικλοσαμίδης στους ιστούς ως προς το χρόνο, παρατηρούμε πως ο λόγος F/F_{cr} είναι >1 και ταυτόχρονα πως η τιμή P είναι μικρότερη του α ($P=0,022$), γεγονός που υποδεικνύει πως η συγκέντρωση της νικλοσαμίδης μειώνεται όσο περνάει ο χρόνος και πως αυτή η μείωση είναι στατιστικά σημαντική μέσα στις πρώτες 8 ημέρες.

β) Σε ότι αφορά τη κατανομή της νικλοσαμίδης στους ιστούς χωρίς να λαμβάνουμε υπόψη το χρόνο αποδρομής, παρατηρούμε πως ο λόγος F/F_{cr} είναι >1 και ταυτόχρονα πως η τιμή P είναι μικρότερη του α ($P=2,12e^{-06}$), γεγονός που υποδεικνύει πως μεταξύ των ιστών εντοπίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση της νικλοσαμίδης. Πιο συγκεκριμένα σε ιστούς όπως το δέρμα και το αίμα η νικλοσαμίδα παραμένει σε χαμηλές συγκεντρώσεις ενώ αντίθετα όργανα που έχουν ενεργό ρόλο στον μεταβολισμό του φαρμάκου (ήπαρ, νεφροί), η συγκέντρωση της νικλοσαμίδης είναι πολλαπλάσια σε τιμή.

Στο διάγραμμα που ακολουθεί (Διάγραμμα 1), παρουσιάζεται η απεικόνιση των συγκεντρώσεων της νικλοσαμίδης ανά ιστό ως προς το χρόνο.

δρρη εφάπαξ



Διάγραμμα 1. Φαρμακοκινητική νικλοσαμίδης μετά από εφάπαξ χορήγηση δρρη. Στα χρονοσημεία εμφανίζονται οι μέσες τιμές των συγκεντρώσεων (ng νικλοσαμίδης/ g ιστού).

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε πως μέσα σε 24 ώρες η νικλοσαμίδα εμφανίζει τη μέγιστη συγκέντρωση της στο ήπαρ το οποίο καταφέρνει μέσα σε 48ώρες να μεταβολίσει το μεγαλύτερο μέρος αυτής. Οι νεφροί εμφανίζουν μέγιστη συγκέντρωση νικλοσαμίδης στους ιστούς τους στις 32 ώρες. Η νικλοσαμίδα δεν αποβάλλεται γρήγορα μέσω των διεργασιών απέκκρισης των νεφρών αλλά μάλλον σταδιακά, καθώς χρειάζονται 6 ημέρες για να ελαττώσουν τη συγκέντρωση της νικλοσαμίδης στη τιμή που είχε εμφανίσει σε αυτά μέσα στο πρώτο μισάωρο χορήγησης. Το δέρμα διατηρεί σταθερά χαμηλές τιμές νικλοσαμίδης στον ιστό του κάτι που αποτελεί ευνοϊκό δείκτη για τη μελλοντική χρήση της. Ενδιαφέρον εύρημα το γεγονός πως η μέγιστη συγκέντρωση της νικλοσαμίδης στο πλάσμα του αίματος ταυτίζεται χρονικά με τη μέγιστη συγκέντρωση της στους νεφρούς. Πιθανότατα μέσω της αιμοποιητικής πρόσθιας μοίρας του νεφρού διοχετεύεται νικλοσαμίδα στην αιματική κυκλοφορία η οποία είτε προσλαμβάνεται τελικώς από το ήπαρ είτε αποβάλλεται μέσω της απεκκριτικής μοίρας του νεφρού (οπίσθιος νεφρός).

Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι της νικλοσαμίδης υπολογίστηκαν με το πρόγραμμα WinNonlin version 4.0.1 (Pharsight Corp., Mountain View, CA, USA) και παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 40).

Πίνακας 40. Αποτελέσματα φαρμακοκινητικών παραμέτρων νικλοσαμίδης

Παράμετρος		Αίμα	Ήπαρ	Νεφρός	Δέρμα
Σταθερά ρυθμού αποβολής	K_{el} (L/h)	0,0138	0,0058	0,0033	0,0046
Μέγιστη συγκέντρωση	C_{max} (ng/g)	89,1	298,4	259,6	15,4
Χρονικό σημείο (C_{max})	T_{max} (h)	32	24	32	24
Κάθαρση	CL (L/h/Kg)	0,84	0,05	0,02	0,85
Φαινομενικός όγκος κατανομής	Vd (L/Kg)	60,8	8,5	6,3	184,9
Χρόνος ημίσειας ζωής	$t_{1/2}$ (h)	50,1	119,61	210,37	149,97
Περιοχή κάτω από τη καμπύλη	AUC _{0-t} (h*ng/g)	2863,57	18531,42	28602,06	1439,84
Μέσος χρόνος αναμονής	MRT (h)	44,0	136,0	214,3	130,6

4.3 Συζήτηση 4^{ης} Ενότητας

4.3.1 Φαινομενικός όγκος κατανομής (V_d)

Οι όγκοι κατανομής της νικλοσαμίδης παρουσίασαν μεγάλες αυξομειώσεις στις τιμές τους ανάλογα με το όργανο-στόχο. Παρά τις αυξομειώσεις όλες οι τιμές V_d ανά όργανο μπορούν να θεωρηθούν αυξημένες, έτσι η νικλοσαμίδα μπορεί να χαρακτηριστεί ως ιδιαίτερα λιπόφιλη ουσία.

Ως όγκος κατανομής ενός φαρμάκου (V_d) ορίζεται ο όγκος του πλάσματος που απαιτείται για ένα φάρμακο έτσι ώστε αυτό να διαλυθεί πλήρως μέσα σε αυτό. Πρόκειται για μια αφηρημένη τιμή, καθώς ο όγκος κατανομής είναι ένας συντελεστής αναλογίας, ένα μέτρο συσχετισμού του φαινομενικού χώρου (υγρό) μέσα στο οποίο δύναται να διαλυθεί ένα φάρμακο, έτσι πολλές φορές ο όγκος κατανομής ενός φαρμάκου μπορεί να υπερβαίνει κατά πολύ τον όγκο του σώματος. Εξαιτίας αυτής της αφηρημένης τιμής ο όγκος κατανομής αναφέρεται συχνά και ως **φαινομενικός όγκος κατανομής** ενός φαρμάκου στο σώμα.

Συχνά υπάρχει παρερμηνεία τόσο στον ορισμό του όγκου κατανομής όσο και στη διαφορά μεταξύ της απλής κατανομής ενός φαρμάκου και του όγκου κατανομής ενός φαρμάκου. Η κατανομή ενός φαρμάκου ορίζεται ως ο εντοπισμός του φαρμάκου στα όργανα στόχους και σε άλλους ιστούς μέσα στο χρόνο και μπορεί να υπολογιστεί

δίνοντας άμεσα μετρήσιμα αποτελέσματα. Αντίθετα ο όγκος κατανομής είναι μια αναλογική σταθερά, ένα μέτρο συσχετισμού -όπως αναφέρθηκε παραπάνω- μεταξύ της χορηγηθείσας δόσης και της τελικώς διαλυθείσας ποσότητας του φαρμάκου στο πλάσμα του αίματος.

Ο φαινομενικός όγκος κατανομής δεν είναι ένας. Έχουν οριστεί διάφοροι όγκοι κατανομής σε διαφορετικές συνθήκες. Έτσι μπορεί βιβλιογραφικά να συναντηθεί ως βραχυγραφία με το λατινικό γράμμα V συνοδευόμενο από διαφορετικούς δείκτες (V , V_d , V_z , V_{ss} , V_1 , V_c , V_2 , V_{area}), οι οποίοι προσδιορίζουν το χρονικό σημείο υπολογισμού του. Οι κυριότεροι όγκοι κατανομής (V_d) είναι οι V_c , V_{ss} και V_{area} . Ο V_c προσδιορίζει τον όγκο κατανομής του φαρμάκου στο χρονικό σημείο t_0 (αμέσως μετά τη IV χορήγηση). Ο V_{ss} προσδιορίζει τον όγκο κατανομής του φαρμάκου τη χρονική στιγμή όπου έχει επιτευχθεί ισορροπία κατανομής (equilibrium). Ο V_{area} προσδιορίζει τον όγκο κατανομής του φαρμάκου τη χρονική στιγμή όπου βρίσκεται σε κατάσταση ψευδό-ισορροπίας (pseudo-equilibrium).

Ο φαινομενικός όγκος κατανομής (V_d) συσχετίζει τη ποσότητα του φαρμάκου που βρίσκεται στον οργανισμό (δόση), με τη ποσότητα του φαρμάκου που τελικώς κατανέμεται στα βιολογικά υγρά (κυρίως πλάσμα) του οργανισμού και χρησιμοποιείται όταν α) γίνεται προσπάθεια υπολογισμού της αναγκαίας δόσης για δεδομένη συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα, και β) για υπολογισμό συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε περιπτώσεις υπερδοσολογίας.

Ο όγκος κατανομής του φαρμάκου (V_d) αποτελεί μια πρωτεύουσα φαρμακοκινητική παράμετρο. Αυτό σημαίνει πως εξαρτάται άμεσα από τη κατάσταση του οργανισμού δέκτη, την εν γένει φυσιολογία του καθώς επίσης και τις φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου. Ως πρωτεύουσα φαρμακοκινητική παράμετρος χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό δευτερεύουσων φαρμακοκινητικών παραμέτρων.

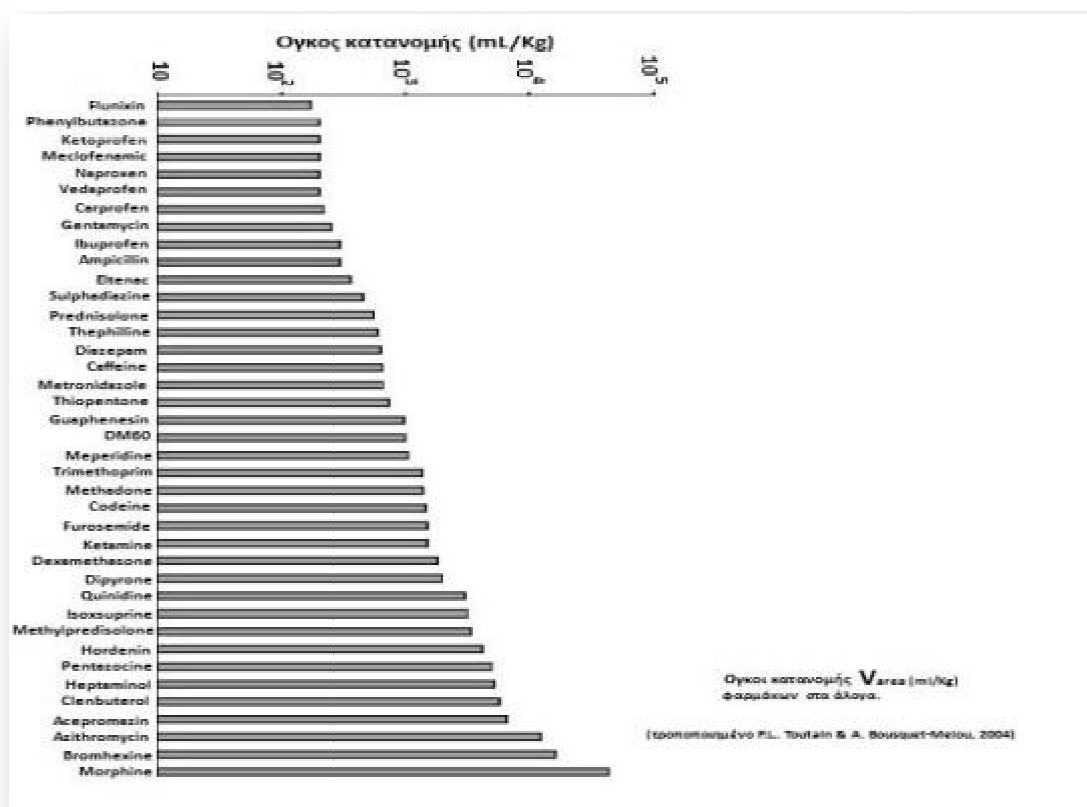
Ο φαινομενικός όγκος κατανομής ενός φαρμάκου στο σώμα υπολογίζεται από τον τύπο:

$$V_d = \chi / C_p$$

,όπου χ είναι η ποσότητα του φαρμάκου που υπάρχει στον οργανισμό (δόση φαρμάκου) και C_p η συγκέντρωση του φαρμάκου στον ιστό μετά την επίτευξη ισορροπίας κατανομής.

Για να υπολογιστεί τελικώς ο φαινομενικός όγκος κατανομής είναι αναγκαίο να γνωρίζουμε τον συνολικό όγκο του πλάσματος του αίματος, δηλαδή της φυσικής δεξαμενής που θα υποδεχθεί το φάρμακο. Στον άνθρωπο η ποσότητα του πλάσματος του αίματος μπορεί να υπολογιστεί με μεγάλη ακρίβεια γνωρίζοντας μόνο το συνολικό βάρος του ατόμου. Στη περίπτωση όμως των ιχθύων τόσο ο όγκος του αίματος όσο και ο αιματοκρίτης παρουσιάζουν μεγάλες διαφοροποιήσεις. Γενικά ο όγκος του αίματος στους χονδριχθείς κυμαίνεται στο 6.6% ενώ στους χονδρόστεους, ολόστεους και τελεόστεους (τόσο γλυκού όσο και θαλασσινού νερού) κυμαίνεται κατά προσέγγιση στο 3% του σωματικού βάρους (Fish physiology, Volume IV, W.S.Hoar & D.J.Randall σελ:159-162).

Πίνακας 41. Φαινομενικοί όγκοι κατανομής διαφόρων φαρμακευτικών ουσιών σε άλογα



Όσο μεγαλύτερη η τιμή του όγκου κατανομής τόσο υψηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρούνται στα εξωαγγειακά διαμερίσματα σε σύγκριση με το ενδοαγγειακό διαμέρισμα. Αντίθετα, όσο μικρότερη η τιμή του φαινομενικού όγκου κατανομής τόσο μεγαλύτερες οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου που παρατηρούνται ενδοαγγειακά. Το πόσο μεγάλη ή μικρή τιμή τελικά θα έχει ο όγκος κατανομής για

ένα όργανο-διαμέρισμα αναφοράς θα εξαρτηθεί από την συνάφεια του φαρμάκου να διαλύεται στο διαμέρισμα αυτό σε σχέση με τα λοιπά διαμερίσματα (ιστούς και υγρά).

Στους ιχθύες το ποσοστό του νερού στους διάφορους ιστούς κυμαίνεται από 65 έως 80% (Bertelsen et al, 1998), έτσι εάν χρησιμοποιήσουμε το πλάσμα του αίματος ως βιολογικό υγρό αναφοράς θα πρέπει να αναμένουμε τιμές V_{ss} από 0,65 έως 0,8 L/Kg για ένα φάρμακο που κατανέμεται μόνο στα υγρά του σώματος και δεν δεσμεύεται καθόλου από τις πρωτεΐνες του πλάσματος. Αντίθετα φάρμακα όπου παρουσιάζουν ισχυρή τάση σύνδεσης με τις πρωτεΐνες του πλάσματος και μικρή συνέργεια με τους λοιπούς ιστούς και υγρά αναμένεται να παρουσιάσουν τιμές V_{ss} μικρότερες από 0,65 L/Kg. Εναλλακτικά, φάρμακα που παρουσιάζουν υψηλή συνέργεια με έναν ή παραπάνω ιστούς (π.χ. λιποφιλία,) οι αναμενόμενες τιμές V_{ss} θα είναι μεγαλύτερες των 0,8L/Kg (Επιλέγουμε ως προτιμότερο τον V_{ss} (Steady-State), δηλαδή τον όγκο κατανομής του φαρμάκου τη χρονική στιγμή όπου έχει επιτευχθεί ισορροπία κατανομής (equilibrium)).

4.3.2 Χρόνος ημίσειας ζωής ($t_{1/2}$), Μέσος χρόνος αναμονής

Ο χρόνος ημίσειας ζωής της νικλοσαμίδης στους ιστούς σύμφωνα με τον πίνακα 40, εμφανίζει διακυμάνσεις ανάλογα με το όργανο-στόχο. Στο αίμα έχει τη μικρότερη τιμή ενώ στους νεφρούς τη μεγαλύτερη.

Ο χρόνος ημίσειας ζωής μιας ουσίας που εφαρμόζεται σε ζώα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση έχει μεγάλη σημασία για τη δημόσια υγεία καθώς μέσα από αυτόν θα καθοριστούν οι απαιτούμενοι χρόνοι αναμονής. Ιδιαίτερη βαρύτητα δίνεται στη τιμή του χρόνου ημίσειας ζωής στα βρώσιμα τμήματα (μυς και δέρμα στη περίπτωση των ψαριών). Συνήθως απαιτούνται 6 χρόνοι ημίσειας ζωής για να θεωρηθεί πως μια ουσία έχει πλήρως καταβολιστεί από το ζώο και δεν είναι ανιχνεύσιμη, ενώ στα ψάρια ο χρόνος αναμονής καθορίζεται και από τη θερμοκρασία του νερού εκτροφής (Noga, 2000). Από τον πίνακα 40, ο χρόνος ημίσειας ζωής της νικλοσαμίδης στο δέρμα (επιδερμίδα + μύες) υπολογίστηκε στις 150 h σε θερμοκρασία νερού εκτροφής 21⁰C. Αν θεωρήσουμε πως πρέπει να παρέλθουν 6 χρόνοι ημίσειας ζωής για την ασφαλή κατανάλωση του δέρματος τότε απαιτείται χρόνος αναμονής περί τις 787 βαθμοημέρες. Συγκριτικά αναφέρεται πως η

οξυτετρακυκλίνη στα ψάρια έχει μέγιστο χρόνο αναμονής 500 βαθμοημέρες (300-500dd).

Σημαντική παράμετρος που θα πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι πως κατά το καθάρισμα των ψαριών συνήθως παραμένει αρκετός νεφρικός ιστός στο τελικό καθαρισμένο προϊόν (εξαιτίας του ιδιαίτερου ανατομικού εντοπισμού του), ο οποίος τελικώς μειρεύεται και ίσως καταναλώνεται. Από τον πίνακα 40 παρατηρήθηκε πως ο χρόνος αναμονής της νικλοσαμίδης στο νεφρό είναι περίπου 210 h (60h παραπάνω από το δέρμα). Αν ληφθεί υπόψη αυτή η παράμετρος τότε ο χρόνος αναμονής της νικλοσαμίδης θα πρέπει να αυξηθεί και να είναι 1102 βαθμοημέρες (π.χ. 55 ημέρες στους 20⁰C).

Σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής και λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω προτείνεται η νικλοσαμίδα να εφαρμόζεται τη καλοκαιρινή και φθινοπωρινή περίοδο όπου η θερμοκρασία του νερού της θάλασσας στην Ελλάδα είναι ακόμη υψηλή, έτσι ώστε η απομάκρυνση της ουσίας από τους ιστούς των ψαριών να μεγιστοποιείται, ιδιαίτερα σε ψάρια που βρίσκονται κοντά στο εμπορεύσιμο μέγεθος.

Αν θέλαμε να δώσουμε έναν γενικό κανόνα, η *per os* εφαρμογή σε τσιπούρες και λαβράκια δεν θα πρέπει να γίνεται σε μέσα βάρη μεγαλύτερα των 200g (θεωρώντας ως εμπορεύσιμο μέγεθος τα 300g). Ενώ στον κρανίο η εφαρμογή νικλοσαμίδης μπορεί να γίνει έως το βάρος του 1kg (θεωρώντας ως εμπορεύσιμο μέγεθος τα 3kg).

Τελικά Συμπεράσματα

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από τα ευρήματα αυτής της διατριβής είναι:

1^η Ενότητα

- Τα παράσιτα των ψαριών παρουσιάζουν ηθολογία επιλογής των ξενιστών τους, με κάποια να εμφανίζουν υψηλή ειδικότητα ξενιστών (μονογενή, διγενή, κωπήποδα) και άλλα να εμφανίζουν χαμηλή (ισόποδα, κεστώδη).
- Η επιδημιολογία των μονογενών παρασίτων των άγριων πληθυσμών ψαριών κατέδειξε πως τα κύρια παθογόνα παράσιτα (*Lamellodiscus echeueis*, *Diplectanum aequans* και *Sparicotylle Sparicotylle chrysophrii*), της εκτρεφόμενης τσιπούρας και του λαβρακιού μπορούν να μεταφερθούν μέσω των αντίστοιχων άγριων ειδών και του μυτακιού.
- Σε ότι αφορά τη παθολογία των εξωπαρασιτώσεων αυτή εμφανίζει κοινή ιστοπαθολογική εικόνα κυρίως στα βράγχια και η οποία συνοδεύεται σε οξείες παρασιτώσεις από υπερπλασία του επιθηλίου και φλεγμονή ενώ σε χρόνιες από νέκρωση, υπερπλασία και υδρωπική εκφύλιση.

2^η Ενότητα

- Η κλινική και ιστοπαθολογική συμπτωματολογία της **νικλοσαμίδης** είναι δόσοεξαρτώμενη αλλά ανεξάρτητη από το είδος και την ηλικία των ιχθύων.
- Το προτεινόμενο υποτοξικό δοσολογικό σχήμα για τη **νικλοσαμίδα** είναι τα 40ppm/ ημέρα για 5 ημέρες. Τα επίπεδα ασφαλείας αυτής της ουσίας είναι μικρά καθώς τριπλασιασμός της ανωτέρω ποσότητα θεωρείται ως οριακή δόση.
- Η **εμαμεκτίνη** έχει μεγάλα όρια ασφαλείας καθώς δοσολογία 1000 φορές πάνω από τη προτεινόμενη δεν υπέδειξε ιδιαίτερα τοξικά συμπτώματα.

3^η Ενότητα

- Η **νικλοσαμίδα** έχει ισχυρή αντιπαρασιτική δράση έναντι των μονογενών παρασίτων μετά από *per os* χορήγηση, ικανή να μειώσει έως και 88,5% το συνολικό παρασιτικό φορτίο.

- Η **νικλοσαμίδα** μπορεί και παρέχει χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 4^{ων} εβδομάδων έως την επαναμόλυνση των ψαριών, ενώ ο αντίστοιχος χρόνος μετά από λουτρά φορμόλης είναι περίπου 7 ημέρες.
- Η **εμαμεκτίνη** έχει ισχυρή αντιπαρασιτική δράση έναντι των κοπήποδων παρασίτων μετά από *per os* χορήγηση, ικανή να μειώσει έως και 69% το συνολικό παρασιτικό φορτίο.

4^η Ενότητα

- Οι όγκοι κατανομής της **νικλοσαμίδης** παρουσίασαν μεγάλες αυξομειώσεις στις τιμές τους ανάλογα με το όργανο-στόχο. Παρά τις αυξομειώσεις όλες οι τιμές Vd ανά όργανο μπορούν να θεωρηθούν αυξημένες, έτσι η νικλοσαμίδα μπορεί να χαρακτηριστεί ως ιδιαίτερα λιπόφιλη ουσία.
- Ο χρόνος ημίσειας ζωής της **νικλοσαμίδης** εμφανίζει στο αίμα τη μικρότερη τιμή ενώ στους νεφρούς τη μεγαλύτερη.
- Ο χρόνος αναμονής της **νικλοσαμίδης** στο δέρμα (επιδερμίδα + μύες) υπολογίστηκε στις 787 βαθμοημέρες, όμως για τη ασφαλή κατανάλωση προτείνονται οι 1102 βαθμοημέρες.

Νικλοσαμίδα, Μελλοντική χρήση: ευκαιρία ή ουτοπία;

Ποια όμως θα μπορούσε να είναι η πιθανότητα χρήσης μιας αντιπαρασιτικής ουσίας σε ψάρια όταν αποδεδειγμένα έχει εξακριβωθεί η **ιχθυοκτόνος** δράση της και έχει επαληθευτεί η τοξικότητα της σε αυτά; Μήπως τελικά τα ευρήματα είναι αρκετά έτσι ώστε να αποκλείουν τη πιθανότητα μιας τόσο οξύμωρης από τη φύση της πιθανολογίας;

Η απάντηση στο παραπάνω ερώτημα βρίσκεται στην ιδιαιτερότητα του μορίου της Νικλοσαμίδης, η δραστηριότητα του οποίου διαφοροποιείται δραματικά από **α)** τις φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού (pH, σκληρότητα, θερμοκρασία) και **β)** τη φαρμακοτεχνική μορφή χορήγησης (καθαρή ουσία, μορφές αλάτων, υδατοδιαλυτότητα).

Μελλοντικά θα πρέπει να διερευνηθούν οι φαρμακοκινητικές παράμετροι και τα όρια ασφαλείας διαφορετικών παραγώγων της νικλοσαμίδης (υδατοδιαλυτά άλατα), έτσι ώστε να αυξηθούν τα όρια ασφαλούς χρήσης στα ψάρια.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- AKMIRZA, A.**, 2013. Monogeneans of fish near Gökçeada, Turkey. Turkish Journal of Zoology, 37(4), pp. 441-448.
- AMINE, F. and EUZET, L.**, 2005. Two new species of the genus *Lamellodiscus* Johnston & Tiegs, 1922 (Monogenea: Diplectanidae) parasites of Sparidae (Teleostei) of the Algerian coasts. Systematic parasitology, 60(3), pp. 187-196.
- AMINE, F., EUZET, L., KECHEMIR-ISSAD, N.**, 2007. Description of *Lamellodiscus Confusus* N. SP. (Monogenea: Diplectanidae), parasite of *Sarpa Salpa* (Teleostei: Sparidae). Parasite, 14(4), pp. 281-285.
- AMINE, F., EUZET, L., KECHEMIR-ISSAD, N.**, 2007. *Lamellodiscus theroni* sp. nov. (Monogenea, Diplectanidae), a gill parasite from *Diplodus puntazzo* (Teleostei, Sparidae) from the Mediterranean Sea. Acta Parasitologica, 52(4), pp. 305-309.
- AMINE, F., EUZET, L., KECHEMIR-ISSAD, N.**, 2006. Description of two new species of *Lamellodiscus* Johnston & Tiegs, 1922 (Monogenea: Diplectanidae) of the morphological group 'ignoratus', parasites of *Diplodus sargus* and *D. vulgaris* (Teleostei: Sparidae). Systematic parasitology, 64(1), pp. 37-45.
- AMINE, F., NEIFAR, L., EUZET, L.**, 2006. *Lamellodiscus sanfilippoi* n. sp. (Monogenea, Diplectanidae) parasite from the gills of *Diplodus sargus* (Teleostei, Sparidae) in Mediterranean Sea. Parasite, 13(1), pp. 45-49.
- ANDREWS, J.W., MURAI, T., CAMPBELL, C.**, 1973. Effects of dietary calcium and phosphorus on growth, food conversion, bone ash and hematocrit levels of catfish. Journal of Nutrition, 103(5), pp. 766-771.
- ANDREWS, P., THYSSEN, J., LORKE, D.**, 1982. The biology and toxicology of molluscicides, bayluscide. Pharmacology and Therapeutics, 19(2), pp. 245-295.
- ANTONELLI, L., QUILICHINI, Y., MARCHAND, B.**, 2012. *Lernanthropus kroyeri* (Van Beneden and Hesse 1851) parasitic Copepoda (Siphonostomatoidae, Lernanthropidae) of European cultured sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus 1758) from Corsica: Ecological and morphological study. Parasitology research, 110(5), pp. 1959-1968.
- ANTONELLI, L., QUILICHINI, Y., MARCHAND, B.**, 2010. *Sparicotyle chrysophrii* (Van Beneden and Hesse 1863) (Monogenea: Polyopisthocotylea) parasite of cultured Gilthead sea bream *Sparus aurata* (Linnaeus 1758) (Pisces: Teleostei) from Corsica: Ecological and morphological study. Parasitology research, 107(2), pp. 389-398.
- AREND, R.C., LONDOÑO-JOSHI, A.I., SAMANT, R.S., LI, Y., CONNER, M., HIDALGO, B., ALVAREZ, R.D., LANDEN, C.N., STRAUGHN, J.M.**

- BUCHSBAUM, D.J.**, 2014. Inhibition of Wnt/ β -catenin pathway by niclosamide: A therapeutic target for ovarian cancer. *Gynecologic oncology*, 134(1), pp. 112-120.
- ARMSTRONG R., MACPHEE,T, KATZ, T., ENDRIS,R.**, 2000. A fields evaluation of emamectin benzoate for the control of sea lice on Atlantic salmon. *Can. Vet. J.*, 41, pp. 607-612.
- ATHANASSOPOULOU, F.**, 1990. A study of the Myxosporean infections of *R. rutilus L.* with special reference to *Myxidium rhodei* Leger, 1905 in the renal tissue. Ph.D. Thesis, University of Stirling.
- ATHANASSOPOULOU, F., PRAPAS, T., RODGER, H.**, 1999. Diseases of *Puntazzo puntazzo C.* in marine aquaculture systems in Greece. *The Journal of Fish Diseases*,22. pp. 215-218.
- ATHANASSOPOULOU, F., BOUBOULIS, D., MARTINSEN, B.**, (2001a). In vitro treatments of deltamethrin against the isopod *Ceratothoa oestroides*, a pathogen of seabass *D. labrax L.* *The Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 21(1) 26-29.
- ATHANASSOPOULOU, RAGIAS, V., TAVLA, J., CHRISTOFILLOYANNIS, P., LIBERIS, N.**, 2001b. Preliminary trials on the efficacy of ivermectin against *Lernathropus kroyeri* (Crustacea) in cultured sea bass *D. labrax L.* *Aquaculture Research*, 32. pp.77-79.
- ATHANASSOPOULOU, F., RAGIAS, V., ROTH, M., LIBERIS, N., HATZINIKOLAOU, S.**, 2002. Toxicity and pathological effects of orally and intraperitoneally administered ivermectin in sea bass *D. labrax L.* *Diseases of Aquatic Organisms*, 52(1). pp.69-76.
- ATHANASSOPOULOU, F., KARAGOUNI, E., PAPPAS, I., S.**, 2004a. Antimicrobial and antiparasitic activity induced by *Origanum minutiflorum* and *Angelica sinensis* (Umbelliferae) essential oils respectively, in Mediterranean aquaculture. Ανακοινώθηκε στο World Conference on Magic Bullets Celebrating Paul Ehrlich's 150th Birthday, Nurnberg, Germany, September 9-11, A10
- ATHANASSOPOULOU, F., PAPPAS, I., S., KARAGOUNI, E.**, 2004b New research on treatments for parasitic disease in Mediterranean aquaculture. Ανακοινώθηκε στο World Conference on Magic Bullets Celebrating Paul Ehrlich's 150th Birthday, Nurnberg, Germany, September 9-11. A11.
- ATHANASSOPOULOU, F., BOUBOYLIS, D., MARTINSEN, B.**, 2004c. Experimental treatments of sea bass *D. labrax L.* infected with the isopod *Ceratothoa oestroides* with diflubenzuron and deltamethrin. *Journal of Applied Ichthyology*, 20. pp.314-317.
- ATHANASSOPOULOU, F., RAGIAS, V., VAGIANOU, S., DI CAVE, D., RIGOS, G., PAPATHANASIOU, G. and GEORGOULAKIS, J.**, 2005. Report of Sparicotyle (Microcotyle) chrysophrii Van Beneden and Hesse 1863, Atrispinum seminalis Euzet and Maillard 1973 and Polylabris tubicirrus Paperna and Kohn 1964 (Monogenea) on captive sea bream (*Sparus aurata*) and sharp snout sea bream (*Diplodus puntazzo*) in coastal Greece and Italy. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 25(6), pp. 256-261.

- ATHANASSOPOULOU, F., PAPPAS, I., S., BITCHAVA, K.,** 2009. An overview of the treatments for parasitic disease in Mediterranean aquaculture. *CIHEAM Journal Options Méditerranéennes*. 86. pp. 65-83.
- BAI, M., YANG, H.,** 2013. Fabrication of novel niclosamide-suspension using an electro-spray system to improve its therapeutic effects in ovarian cancer cells in vitro. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 419, pp. 248-256.
- BARTON, B.A. and SCHRECK, C.B.,** 1987. Influence of acclimation temperature on interrenal and carbohydrate stress responses in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*, 62(3-4), pp. 299-310.
- BERTELSEN, S., L., HOFFMAN, A., D., GALLINAT, C., A., ELONEN, C., M., NICHOLS, J., W.,** 1998. Evaluation of log KOW and tissue lipid content as predictors of chemical partitioning to fish tissues. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(8), pp.1447-1455.
- BIRON, M., BENFEY, T., J.,** 1994. Cortisol, glucose and hematocrit changes during acute stress, cohort sampling, and the diel cycle in diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis* Mitchell). *Fish Physiology and Biochemistry*, 13(2), pp.153-160.
- BRAY, R.A. and JUSTINE, J.,** 2013. Bucephalidae (Digenea) from epinephelines (Serranidae: Perciformes) from the waters off New Caledonia, including *Neidhartia lochepintade* n. sp. *Parasite*, 20(1),.
- BRIAN, A.,** 1902: Note su alcuni crostacei parassiti dei pesci del Mediterraneo. *Atti della Società ligustica di Scienze Naturalie geografiche*, 13, pp.30-45.
- BRUAUX, P., GILLET, J.,** 1961. Comparison de l'activité de divers molluscicides en laboratoire. *Bull Wld Hlth Org* 25:519-523.
- BURESSON, E., M.,** 1979. Structure and life cycle of *Trypanoplasma beckeri* sp. n. (Kinetoplastida), a parasite of the cabezon, *Scorpaenichthys marmoratus*, in Oregon coastal waters. 1. *Protozool.*, 26, pp. 343-347.
- BYCHOWSKY, E., B.,** 1957. Monogenetic trematodes. Their systematic and phylogeny. Translation of a Russian monograph. English editor William J., H. American Institute of Biological Sciences.
- CAO, S., DING, X., ZHANG, J. and LIU, L.,** 2010. Monogenea of Chinese marine fishes. XVIII. Two monocotylids, including a new species, from the blotched fantail ray *Taeniurops meyeri* (Elasmobranchii: Dasyatidae) in the South China Sea. *Folia parasitologica*, 57(3), pp. 169-172.
- CHIRIVELLA MARTORELL, J.,** 1994. Contribución al estudio del parasitismo branquial de peces espáridos (Pisces: Sparidae) del Mar Mediterráneo. (License Thesis). Valencia University: Valencia, pp. 226.
- CLEARWATER, S., J., HICKEY, C., W., MARTIN, M., L.,** 2008. Overview of potential piscicides and molluscicides for controlling aquatic pest species in New Zealand. *Science for Conservation* 283. Department of Conservation, Wellington. 74p.

- COSTELLO, M.,J., EMBLOW, C., WHITE, R.,** 2001. European register of marine species: a check-list of the marine species in Europe and a bibliography of guides to their identification. Collection Patrimoines Naturels, 50: pp. 142-146.
- D'AMICO, V., CANESTRI TROTTI, G., CULURGIONI, J., FIGUS, V.,** 2006. Helminth parasite community of *Diplodus annularis* L. (Osteichthyes, Sparidae) from Gulf of Cagliari (Sardinia, South Western Mediterranean). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 26, pp.222.
- DAVIES, A. J., Johnston, M., R., L.,** 1976. The biology of *Haemogregarina bigemina* Laveran and Mesnil, a parasite of the marine fish *Blennius pholis* Linnaeus. *J. Protozool.*, 23, pp.315-320.
- DAWES, B.,** 1946. The Trematoda. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- DAWSON, V., K., SCHREIER, T., M., BOOGARD, M., A., SPANJERS, N., J., GINGERRICH, W., H.,** 2002. Rapid loss of lampricide from catfish and rainbow trout following routine treatment, 50, pp. 6780-6785.
- DAWSON, V., K.,** 2003. Environmental fate and effects of the lampricide Bayluscide: a review. *Journal of great lakes research*, 29(1), pp.475-492.
- DESDEVISES, Y.,** 2001. The phylogenetic position of *Furnestinia echeneis* (Monogenea, Diplectanidae) based on molecular data: A case of morphological adaptation? *International journal for parasitology*, 31(2), pp. 205-208.
- DOMINGUES, M.V. and BOEGER, W.A.,** 2008. Phylogeny and revision of Diplectanidae Monticelli, 1903 (Platyhelminthes: Monogeneoidea). *Zootaxa*, (1698), pp. 1-40.
- EUZET, L.,** 1957. Recherches sur les Monogeneoidea parasites de poisson marins. *Annales de Parasitologie*, 32(5-6), pp. 469-484.
- FODA, A.,** 1973. Changes in Hematocrit and Hemoglobin in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) as a Result of Furunculosis Disease. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 30(3), pp. 467-468.
- FOX, I., RIVER, G., A., RITCIE, L., S., FRICK, L., P.,** 1966. Effect of aging on molluscicidal activity of bayluscide against *Australorbis 91abratus*. *Bull. Wld Hlth Org.* 34, pp.307-308.
- GOLOMAZOU, E., ATHANASSOPOULOU, F., VAGIANOU, S., SABATAKOU, O., TSANTILAS, H., RIGOS, G., KOKOKKIRIS, L.,** 2006. Diseases of white sea bream (*Diplodus sargus* L.) reared in experimental and commercial conditions in Greece. *Turk. J Vet Anim Sci.*, 30 (4): pp.389-396.
- GOLOMAZOU, E., ATHANASSOPOULOU, F., KARAGOUNI, E., TSAGOZIS, P., TSANTILAS, H. and VAGIANOU, S.,** 2006. Experimental transmission of *Enteromyxum leei* Diamant, Lom and Dykova, 1994 in sharpnout sea bream, *Diplodus puntazzo* C. and the effect on some innate immune parameters. *Aquaculture*, 260(1-4), pp. 44-53.

- GOLOMAZOU, E., ATHANASSOPOULOU, F., KARAGOUNI, E., VAGIANOU, S., TSANTILAS, H. and KARAMANIS, D.,** 2006. Efficacy and toxicity of orally administrated anti-coccidial drug treatment on *Enteromyxum leei* infections in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo* C.). *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 58(3), pp. 157-169.
- GöNNERT, R., STRUFE, R.,** 1961. Untersuchungen über die Stabilität von Bayluscid als Mittel zur Scheckenvernichtung. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 12, pp. 220-234.
- GöNNERT, R.,** 1961. Results of laboratory and field trials with the molluscicide Bayer 73. *Bulletin of World Health Organisation*, 25, pp. 483-501.
- GORDON, D.P.,** 2009. New Zealand inventory of biodiversity: 1. Kingdom Animalia: Radiata, Lophotrochozoa, Deuterostomia. pp. 102-128.
- HARRISON, A., D., MASON, M., H.,** 1967. The effects on the fauna of natural waters of surveillance treatment with bayluscide in Rhodesia. *Hydrobiologia*, 29, pp. 149-155.
- HJEITNES B., SAMULSEN O. B., SVARDAL A.M.,** 1992. Changes in plasma and liver glutathione levels in Atlantic salmon *Salmo salar* suffering from infectious salmon anemia (ISA). *Diseases of aquatic organisms*, 14, pp. 31-33.
- HOAR, W., S., RANDALL, D., J.,** 1971 *Fish Physiology*. Academic Press, pp.531.
- HOSSEINI, P., VAHABZADE, H., BOURANI, M., S., KAZEMI, R.,** 2011. The Effects of Salinity Stress on Hematocrit and Hemoglobin in Fingerling Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Conference on Medical, Biological and Pharmaceutical Sciences (ICMBPS'2011)* Pattaya. pp. 487-489.
- IBARRA, E., R., MONKS, S., FLORES, G., P.,** 2011. Metacercariae of the type *Paramonilicaecum* (Digenea: Didymozoidae), accidental parasites in elasmobranchs (Elasmobranchii) from the Mexican Gulf of Mexico and identification of metacercarias (Didymozoidae) of the Colección Nacional de Helmintos. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82, pp. 705-708.
- IGLESIAS, R., PARAMÁ, A., ÁLVAREZ, M., LEIRO, J., SANMARTÍN, M.L.,** 2002. Antiprotozoals effective in vitro against the scuticociliate fish pathogen *Philasterides dicentrarchi*. *Diseases of aquatic organisms*, 49(3), pp. 191-197.
- JAMES, D., M., GILLES, H., M.,** 1985. *Human Antiparasitic Drugs. Pharmacology and Usage*. John Wiley and Sons, New York.
- JAWAD, L., A., AL-MUKHTAR, M., A., AHMED, H., K.,** 2004. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenuulosa ilisha* (Family Clupeidae). *Animal Biodiversity and Conservation*, 27(2), pp. 47-52.
- JONES J., B.,** 1985 A revision of *Hatschekia* Poche, 1902 (Copepoda: Hatschekiidae), parasitic on marine fishes, *New Zealand Journal of Zoology*, 12(2), pp. 213-271, DOI: 10.1080/03014223.1985.10428280

- JONES, E., I.**, 1933. Studies on the monogenea of Plymouth, *Gastrocotyle trachuri* v. Ben. And Hesse, 1863, J. Mar. Biol. Ass. U.K., 19(1), pp.227- 232.
- KABATA, Z.**, 1979. Parasitic Copepoda of British Fishes. The Ray Society, London, UK, 468 pp.
- KAOUACHI, N., BOUALLEG, C., BENSOUILAH. M., MARCHAND, B.**, 2010. Monogenean parasites in Sparid fish (*Pagellus* genus) in eastern Algeria coastline. African Journal of Microbiology Research ,4 (10), pp. 989-993.
- KIM-KANG, H., CROUCH, L., S., BOVA, A., ROBINSON, R., A., WU, J.**, 2001. Determination of emamectin residues in the tissues of Atlantic salmon (*Salmo salar*) using HPLC with fluorescence detection. J. Agric. Food Chem., 49. pp.5294-5302.
- LAFFARGUE, P., BAUDOIN, G., SASAL, P., ARNAUD, C., ANRAS, M., B., LAGARDÈRE, F.**, 2004. Parasitic infection of sole *Solea solea* by *Proserhynchus* spp. metacercariae (Digenea, Bucephalidae) in Atlantic nurseries under mussel cultivation influence. Diseases of aquatic organisms, 58(2-3), pp. 179-184.
- LAINSON, R.**, 1981. On *Cyrtia gomesi* (Neiva and Pinto, 1926) gen. nov. (Haemogregarinidae) and *Trypanosoma bourouli* Neiva & Pinto in the fish *Synbranchus marmoratus*: simultaneous transmission by the leech *Haementeria lutzi*. In E. U. Canning (Ed.), Parasitological Topics – A Presentation Volume to P. C. C. Camham, F. R. S. on the occasion of his 80th birthday, 1981.
- LEE, SAE-LO-OOM., SON, A-RANG., AHN JIYEON., SONG, JIE-YOUNG.**, 2014. Niclosamide enhances ROS-mediated cell death through c-Jun activation. Biomedicine and Pharmacotherapy, article in press.
- LEES, F., BAILLE, M., GEYINBY, G., REVIE, C.**, 2008. The efficacy of Emamectin benzoate against infestations of *Lepeophtheirus salmonis* on farmed Atlantic salmon in Scotland, 2002-2006. PlosOne, (2), pp.1549.
- LEONARDOS, I., TRILLES, J.P.**, 2003. Host-parasite relationships: occurrence and effect of the parasitic isopod *Mothocya epimerica* on sand smelt *Atherina boyeri* in the Mesolongi and Etolikon Lagoons (W. Greece). Diseases of Aquatic Organisms, 54(3), pp.243-251.
- LI, Y., LI, P., ROBERTS, M., J., AREND, R.,C., SAMANT, R.,S., BUCHSBAUM, D.,J.**, 2014. Multi-targeted therapy of cancer by niclosamide: A new application for an old drug. Cancer letters, 349(1), pp. 8-14.
- LOM & DYKOVA**, 1991. Methods of investigation of protozoan parasites. Institute of Czechoslovak Academy of Sciences.
- LÓPEZ-ROMÁN, R., GUEVARA, POZO, D.**, 1973. Especies de la familia Microcotylidae (Monogenea) halladas en teleósteos marinos de la costa de Granada. Revista Ibérica de Parasitología, 33 (2-3), pp. 197-223.
- MACHKEWSKYI, V.K., DMITRIEVA, E.V., AL-JUFAILI, S. and AL-MAZROOEI, N.A.M.**, 2013. Microcotyle omanae n. sp. (Monogenea: Microcotylidae), a

parasite of *Cheimerius nufar* (Valenciennes) (Sparidae) from the Arabian Sea. Systematic parasitology, 86(2), pp. 153-163.

MAMAEV, Y., L., 1988. *Kannaphallus lateriporis* new species and its position in the system of higher monogeneans. Parazitologiya (stsburg), 22(4), pp.354-358.

MARGOLIS, L., KABATA, Z., 1988 Guide to the parasites of Canada. Part II, Crustacea. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences.

MARGOLIS, L., ESCH, G., W., HOLMES, J., C., KURIS, A., M., SCHAD, G., A., 1982. The use of ecological terms in parasitology (report of adhoc committee of America Society of Parasitologists). J. Parasitol., 68, pp.131-133.

MEYLING, A., H., PITCHFORD, R., J., 1966. Physicochemical properties of substances used as molluscicides. Bull. Wld Hlth Org. 34, pp. 141-146.

MEYLING, A., H., SCHUTTE, C., H., J., PHFORO, R., J., 1962. Some laboratory investigations on Bayer 73 and ICI 24223 as molluscicides. Bull. Wld Hlth Org. 27, pp. 95-98.

MOUTOPOULOS, D., K., STERGIU, K., I., 2012. Spatial disentangling of Greek commercial fisheries landings by gear between 1928-2007. Journal of Biological Research (Greece), 18, pp. 265-279.

Μπιτχαβά, Κ., Παπιάς, Ι., Σ., Αθανασοπούλου, Φ., Καταραχιάς, Π., 2009. Ανασκόπηση των αντιπαρασιτικών φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στις ιχθυοκαλλιέργειες

ευρύαλων ψαριών στην Ελλάδα. Ανακοινώθηκε στο 11^ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο, Ξενοδοχείο Χίλτον, Αθήνα, 19-22 Μαρτίου. Πρακτικά Σελ. 405.

MUNROE, T., A., CAMPBELL, R., A., ZWERNER, D., E., 1981. *Diclidophora nezumiae* sp. n. (Monogenea: Diclidophoridae) and its ecological relationships with the macrourid fish *Nezumia bairdii* (Goode and Bean, 1877). Biological Bulletin. marine Biological Laboratory Woods Holes, 161, pp.281-290.

NETTLES, D., C., STAATS, N., R., CHIPMAN B., D., 2001. Supplemental Environmental Impact Statement. A long-term program of sea lamprey control in Lake Champlain. US Fish & Wildlife Service, Vermont Department of Fish & Wildlife, and New York State Department of Environmental Conservation. 466p. www.fluorideaction.org/pesticides/tfm.feis.champlain.2001.pdf

NOGA, J., E., 2000. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. Iowa State University Press.

OGUT, H., UZUN, E., 2014. Incidence and prevalence of *Diplectanum aequans* and its influence on the fitness of juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Black Sea. Aquaculture Research, 45, pp. 742-748. doi: 10.1111/are.12015

ONO, M., YIN, P., NAVARRO, A., MORAVEK, M.B., COON V, J.S., DRUSCHITZ, S.A., GOTTARDI, C.J. and BULUN, S.E., 2014. Inhibition of canonical WNT signaling attenuates human leiomyoma cell growth. Fertility and sterility, 101(5), pp. 1441-1449.

- PAPAPANAGIOTOU, E.,P., TRILLES, J.,P.,** 2001. Cymothoid parasite *Ceratothoa parallela* inflicts great losses on cultured sea bream *Sparus aurata* in Greece. *Dis. Aquat. Org.*, 45, pp.237-239.
- PAPATHANASIOU, G.,** 2004. Parasitic load of seawater fish. Msc Thesis, Dept of Agriculture and water environment, University of Thessaly.
- PAPERNA, I., POR, F., D.,** 1977. Preliminary data on the Gnathiidae (Isopoda) of the northern Red Sea, the Bitter Lakes and the eastern Mediterranean and the biology of *Gnathia piscivora* n. sp. *Rapp. P.-v. Reun. Comm. into Mer Mediterr.*, 24(4), pp.195-197.
- PAPOUTSOGLOU, S.E.,** 1976. Metazoan parasites of fishes from Saronikos Gulf, Athens, Greece. *Thalassographica*, 1(1): 69-102.
- PARONA, C. & A. PERURGIA,** 1890. Contribuzione per una monografia del genere Microcotyle.(Res Lingusticae,14). *Annali del Museo Cívico di Storia Naturale, Genova*, (1890-1891) 3ª sér., 2(10), pp. 173-220.
- PELLICER, M., CAMPOS, A., CARBONELL E.,** 1993. Monogenean parasites of *Sarpa salpa* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Sparidae) from the western Mediterranean Sea. *Research and Reviews in Parasitology*, 53 (3-4), pp. 81-85.
- PEREZ-DEL-OLMO, A.,** 2008 Biodiversity and structure of parasite communities in *Boops boops* (Teleostei: Sparidae) from the Western Mediterranean and off the North East Atlantic coasts of Spain. PhD thesis. URL: <http://roderic.uv.es/handle/10550/15013>.
- POOL, D.W.,** 1987. A note on the synonymy of *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934, *B. aegyptiacus* Ryšavý and Moravec, 1975 and *B. kivuensis* Baer and Fain, 1958. *Parasitology research*, 73(2), pp. 146-150.
- PUTZ, R., E., McLaughlin, J., J., A.,** 1970. Biology of Nosematidae (Microsporida) from freshwater and euryhaline fishes. In S. F. Snieszko (Ed.), *A Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes*. *Am. Fish. Soc., Wash., Spec. Publ. No.5*, pp. 124-132.
- QUAGLIO, F., FLORIO, D., GUSTINELLI, A., CAFFARA, M., MARCER, F., FIORRAVANTI, M., L.,** 2007. Gill monogeneans in marine fish cultured in Italy: Histopathological observations. *Parassitologia*, 49, pp.75.
- RADUJKOVIC, B., M., & SUNCIC, D.,** 2014. Parasitic flatworms (Platyhelminthes: Monogenea, Digenea, Cestoda) of fishes from the Adriatic sea. *Natura Montenegro*. 13 (1), pp. 7-280.
- RAGIAS, V., TONTIS, D., ATHANASSOPOULOU, F.,** 2004. Incidence of an intense *Caligus minimus* Otto 1821, *C. pageti* Russel, 1925, *C. mugilis* Brian, 1935 and *C. apodus* Brian, 1924 infection in lagoon cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in Greece. *Aquaculture*, 242(1-4), pp. 727-733.
- RAGIAS, V., ATHANASSOPOULOU, F., SINIS, A.,** 2005a. Parasites of *Mugilidae* spp. Reared under semi-intensive and intensive conditions in Greece. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, 25(3), pp.107-115.

- RAGIAS, V., ATHANASSOPOULOU, F., DI CAVE, D., VAGIANOU, S., RIGOS, G., GOLOMAZOU, E., GEORGOULAKIS, J.,** 2005b. Enlargement of the host range of *Sparicotyle chrysophrii* Van Beneden and Hesse 1863, *Atrispinum seminalis* Euzet and Maillard 1973 and *Polylabris tubicirrus* Paperna and Kohn 1964 (Monogenea) under fish farming conditions. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, 25(6), pp. 256-261.
- REVERSAT, J., SILAN, P., MAILARD, C.,** 1992. Structure of monogenean populations, ectoparasites of the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Mar. Biol.*, 112, pp. 43-47.
- RITCHIE, L. S., BERRIOS-DURAN, L., A.,** 1969. Chemical stability of molluscicidal compounds in water. *Bull. Wld Hlth Or*, 9(40), pp. 471-473.
- RITCHIE, L., S., BERRIOS-DURAN, L., A., FRICK, L., P., FOX, I.,** 1963. Molluscicidal qualities of bayluscide (Bayer 73) revealed by 6-hour and 24-hour exposures against representative stages and sizes of *Australorbis 9Iabratus*. *Bull. Wld Hlth Or* 9(29), pp. 281-286.
- RITSCHER, W., A., BANERJEE, P., S.,** 1986. Physiological pharmacokinetic models: Principles, applications, limitations and outlook. *Meth. find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 8, pp. 603-614.
- ROBERTS, R.,** 1989. *Fish pathology*, Bailliere, tindall, London.
- ROHDE, K.,** 1980. Host specificity indices of parasites and their application. *Experientia*, 36(12), pp. 1369-1371.
- ROHDE K.,** 1991. Size differences in hamuli of *Kuhnia scombri* (Monogenea: Polyopisthocotylea) from different geographical areas not due to differences in host size. *Int. J. Parasitol.* 21(1), pp. 113-114.
- ROHDE, K., WATSON, N.,** 1985. Morphology, microhabitats and geographical variation of *Kuhnia* spp. (Monogenea: Polyopisthocotylea). *International Journal for Parasitology*, 15(5), pp.569-586. DOI: 10.1016/0020-7519(85)90054-2
- SAMUELSEN, O., B.,** 2010. A Single-dose pharmacokinetic study of emamectin benzoate in cod, *Gadus morhua* L., held in sea water at 9°C. *Journal of fish diseases*, 33, pp. 137-142.
- SANMARTÍN DURÁN, M.L., CAAMAÑO-GARCÍA, F., FERNÁNDEZ CASAL, J., LEIRO, J., UBEIRA, F.M.,** 1989. Anthelmintic activity of praziquantel, niclosamide, netobimin and mebendazole against *Bothriocephalus scorpii* naturally infecting turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 76(3-4), pp. 199-201.
- SARKER, M., S., A., SATOH, S.,** 2009. Effect of dietary phosphorus and zinc levels on hematocrit value, plasma mineral content and plasma alkaline phosphatase activity of fingerling rainbow trout. *Progress. Agric.*, 20(1-2). pp. 183-192.
- SCHMAHL, G.,** 1991. The chemotherapy of monogeneans which parasitize fish: a review. *Folia parasitologica*, 38 (97). pp. 97-106.

- SCHMAHL, G., TARASCHEWSKI, H.,** 1987. Treatment of fish parasites. 2. Effects of praziquantel, niclosamide, levamisole-HCl, and metrifonate on monogenea (*Gyrodactylus aculeati*, *Diplozoon paradoxum*). *Parasitol. Res.*, 73(4), pp.341-351.
- SCHREIER, T.,M., DAWSON, V.,K., CHOI, Y., SPANJERS, N., J., BOOGARD, M., A.,** 2000. Determination of Niclosamide residues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillet tissue by High-Performanse Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 48, pp.2212-2215.
- SCHREIER, T.,M., DAWSON, V.,K., LARSON, W., J., SCHLEIS, S., M.,** 2001. Piscicides as an emergency tool for controlling range expansion of the round goby (*Neogobius melanostomus*) in the Illinois waterway. P. 120 in: Abstracts from the 44th Conference on Great Lakes Research, June 10–14, 2001, Green Bay, IL. International Association of Great Lakes Research, Ann Arbour, MI.
- SCOTT, T., SCOTT, A.,** 1913. The British Copepoda, vol. 1. Copepoda parasitic on fishes. London, Ray Society, 256 p.
- SILAN, P., MAILLARD, C.,** 1986. Modalités de l'infestation par *Diplectanum aequans*, Monogène ectoparasite de *Dicentrarchus labrax*, en aquiculture. *Éléments d'épidémiologie et de prophylaxie*. In: Vivarès, C.P., Bonami, J.R., Jasper, E. (Eds.), *Pathologie in Marine Aquaculture*. European Aquaculture Society, 9, pp. 139–152.
- SITJÀ-BOBADILLA, A. and ALVAREZ-PELLITERO, P.,** 2009. Experimental transmission of *Sparicotyle chrysophrii* (Monogenea: Polyopisthocotylea) to gilthead seabream (*Sparus aurata*) and histopathology of the infection. *Folia parasitologica*, 56(2), pp. 143-151.
- SPEARE, D., J., ATHANASSOPOULOU, F., DALEY, J., SANCHEZ, J., G.,** 1999. A preliminary investigation of alternatives to fumagillin for the treatment of *Loma salmonae* infection in rainbow trout. *J. Comp. Pathol.*, 121(3), pp.241-248.
- SPROSTON, N.,G.,** 1946. A synopsis of the monogenetic trematodes. *Transactions of the Zoological Society of London*, 25, pp.185-600.
- STRONA, G., STEFANI, F., GALLI, P.,** 2010. Monogenoidean parasites of Italian marine fish: An updated checklist, *Italian Journal of Zoology*, 77:4. pp. 419-437.
- STRUFE, R.,** 1962. Determination of bayluscide in field tests. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 15, pp.42-49.
- STRUFE, R.,** 1961. Field tests for the colorimetric determination of the molluscicide Bayer 73. *Bull. Wld Hlth Org.*, 25, pp.503-507.
- STRUFE, R.,** 1963. Modified method for determining bayluscide in field trials. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 16, pp.221-230.
- STRUFE, R.,** 1964. Zum Wirkungsmechanismus des Bandwurmmittels Yomesan. *flied Int. Congr. of Chemotherapy*, July 1963, pp. 1544-1547. Thieme Verlag, Stuttgart.

- STRUFE, R.** (1965a) Importance and application of analytical methods for molluscicides in the field. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 18, pp.123-129.
- STRUFE, R.**, 1965b. Laboratory methods for determining bayluscide in water samples. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 18, pp.130-139 (English edition).
- STRUFE, R.**, 1968. Problems and results of residue studies after application of molluscicides. *Residue Rev.* 24, pp. 79-168.
- STRUFE, R., DAZO, B., C., DAWOOD, I., K.**, 1965. Field and laboratory trials with bayluscide in the bilharziasis control pilot project Egypt 49. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 18, pp.110-122.
- STRUEE, R, EL-TAWIL, M., F.**, 1963. Determination of bayluscide by a modified method in field trials in Egypt. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 16, pp.231-243.
- SZRUFÉ, R., GONNERT, R.**, 1962 Comparative studies on the influence of environmental factors upon the efficiency of bayluscide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 15:50-70 (English edition).
- STRUFE, R., GONNERT, R.**, 1967. Ueber die Beeinflussung des Bandwurmstoffwechsels durch Arzneimittel. *Z. Tropenmed. Parasit.* 18, pp.193-202.
- TOJO, J.L. and SANTAMARINA, M.T.**, 1998. Oral pharmacological treatments for parasitic diseases of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. I: *Hexamita salmonis*. *Diseases of aquatic organisms*, 33(1), pp. 51-56.
- TOJO, J.L. and SANTAMARINA, M.T.**, 1998. Oral pharmacological treatments for parasitic diseases of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. II: *Gyrodactylus* sp. *Diseases of aquatic organisms*, 33(3), pp. 187-193.
- TOJO, J.L. and SANTAMARINA, M.T.**, 1998. Oral pharmacological treatments for parasitic diseases of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. III: *Ichthyobodo necator*. *Diseases of aquatic organisms*, 33(3), pp. 195-199.
- ULMER, M.,J., James, H.,A.**, 1981. Monogeneans of marine fishes from the Bay of Naples. *Transactions of the American Microscopical Society*, 100, pp.392-409.
- UPATHAM, E., S.**, 1980. Sensitivity of the alpha and gamma races of *Lithoglyphopsis aperta* to conventional and controlled release molluscicides. *Malacol. Rev.*, suppl. 2, pp. 263-276.
- UPATHAM, E., S., STURROCK, R., F.**, 1977. Preliminary trials against *Biomphalaria labrata* of a new molluscicide formulation: gelatin granules containing bayluscide wettable powder. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 71, pp.85-93.
- VAGIANOU, S., BITCHAVA, C., YAGNISI, M., ATHANASSOPOULOU, F.**, 2009. Estimation of seasonality and prevalence of the isopod parasite *Ceratothoa oestroides*, Risso, 1836, in Greece. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 60(1), pp.14-25.
- VAGIANOU, S., BITCHAVA, C., YAGNISI, M., ATHANASSOPOULOU, F.**, 2009. Study of the biological cycle of the

isopod *Ceratothoa oestroides*, Risso, 1836 in sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax* Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 60(1), pp.26-30.

VAGIANOU, S., ATHANASSOPOULOU, F., RAGIAS, V., DI CAVE, D., LEONTIDES, L. and GOLOMAZOU, E., 2006. Prevalence and pathology of ectoparasites of mediterranean sea bream and sea bass reared under different environmental and aquaculture conditions. Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh, 58(2), pp. 78-88.

VAN BENEDEN, G., J., 1851: Note sur un Crustace parasite nouveau, avec l'enumeration des especes de cette classe qu'on observe sur les poissons du littoral de Belgique, Bulletin l'Academie Royale des Sciences, 18, pp.286-290.

WEBBE, G., 1961. Laboratory and field trials of a new molluscicide, Bayer 73, in Tanganyika. Bull. Wld Hlth Org , 9(25), pp.525-531.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993. Schistosomiasis Control. Tech. Rep. Set. Wld Hlth Org., 515, pp.1-47.

YAMAGUTI, S., 1938. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 24. Trematodes of fishes, V. Japanese Journal of Zoology, 8, 15-74.

YAMAGUTI, S., 1953. Parasitic worms mainly from Celebes. Part 2. Monogenetic

trematodes of fishes. Acta Medicinæ Okayama, 8, 203-256.

YAMAGUTI, S., 1963. Parasitic Copepoda and Branchiura of fishes. New York, Interscience, 1104 p.

YAMAGUTI, S., 1968. Monogenetic trematodes of Hawaiian fishes. Honolulu: University of Hawaii Press, 287 pp.

YAMAGUTI, S., 1971. Synopsis of Digenetic Trematodes of vertebrates. Keigaku Publishing Co., Tokyo

ZAMBRANO, J.L.F., 1998. Descripción de dos nuevas especies de monogéneosmicrocotiloideos, parásitos de peces marinos de la costa noreste de Venezuela. Scientia Marina, 62 (1-2), pp. 65-72.