



DIAGNÓSTICO DE TREMATÓDEOS DA FAMÍLIA DIPLOSTOMIDAE EM PEIXES: REVISÃO DOS MÉTODOS LABORATORIAIS

DIAGNOSIS OF DIPLOSTOMIDAE TREMATODES IN FISH: A REVIEW OF LABORATORY METHODS

DOI: 10.5281/zenodo.20437447



Acácio Costa Silva¹
Ana Luísa Marcolino²
Dariely de Carvalho Monte Amaral³
Eki Tôrres de Araújo Veras⁴
Eraldo da Costa Amaral⁵
Francisco Sylvestre Miranda Melo⁶
Francisco Elionardo Melo Gomes⁷
Maria de Fátima Gomes Pereira⁸
Maria do Desterro Machado⁹
Nathália Borges de Almeida Angelim¹⁰
Neirigelson Ferreira de Barros Leite¹¹
Rayane Leite Sousa¹²

-
- 1 Bacharelado em Medicina Veterinária, Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
2 Bacharelado em Medicina Veterinária, Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
3 Bacharelado em Medicina Veterinária, Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
4 Bacharelado em Medicina Veterinária, Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
5 Bacharelado em Medicina Veterinária, Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
6 Médico Veterinário, Especialista em Parasitologia Aplicada a Ciências, Professor do Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
7 Médico Veterinário, Especialista em Clínica Médica de Pequenos Animais, Professor do Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
8 Bacharelado em Medicina Veterinária, Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
9 Bacharelado em Medicina Veterinária, Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
10 Médica Veterinária, Professora do Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
11 Químico, Mestre em Química, Professora do Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.
12 Bacharelado em Medicina Veterinária, Centro Universitário Chrisfapi, Unichrisfapi – Piauí.

Revista *OWL Journal*, Campina Grande - PB, v.4 n.5 (2026) - ISSN 2965-2634

A Revista *OWL Journal* está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição (CC BY)





RESUMO

Introdução: Os trematódeos da família Diplostomidae constituem importantes parasitos de peixes, associados a alterações sanitárias, produtivas e ecológicas em ambientes naturais e sistemas aquícolas. O diagnóstico adequado dessas infecções é essencial para o manejo sanitário e para a compreensão epidemiológica do grupo. **Referencial Teórico:** A revisão evidenciou que os Diplostomidae apresentam ciclo biológico complexo, interação parasito-hospedeiro relevante e impactos diretos sobre a saúde dos peixes, especialmente em tecidos oculares, comprometendo desempenho e susceptibilidade a predadores. **Metodologia:** Trata-se de estudo bibliográfico, qualitativo, descritivo e exploratório, conduzido por meio de Revisão Integrativa da Literatura, com buscas realizadas nas bases PubMed, BVS-Vet, SciELO e ScienceDirect, utilizando descritores em português, inglês e espanhol, no recorte temporal de 2015 a 2025. **Resultados e Discussão:** Os estudos analisados demonstraram que métodos convencionais, como inspeção clínica, microscopia e avaliação morfológica, permanecem amplamente utilizados pela praticidade e menor custo, porém apresentam limitações diagnósticas. Em contrapartida, técnicas complementares, como histopatologia, PCR, qPCR, sequenciamento gênico e métodos imunológicos, ampliam a sensibilidade, especificidade e precisão taxonômica. Tecnologias emergentes, como biossensores e inteligência artificial, mostraram potencial promissor para aplicação futura. **Conclusão:** Conclui-se que a integração entre metodologias tradicionais e técnicas laboratoriais avançadas representa a estratégia mais eficiente para o diagnóstico dos Diplostomidae, sendo necessária a ampliação de estudos voltados à padronização de protocolos e redução dos custos operacionais.

Palavras-chave: Diplostomidae; peixes; técnicas laboratoriais; trematódeos.

ABSTRACT

Introduction: Trematodes of the family Diplostomidae are important parasites of fish, associated with sanitary, productive, and ecological alterations in natural environments and aquaculture systems. Proper diagnosis of these infections is essential for sanitary management and for understanding the epidemiology of the group. **Theoretical Framework:** The review showed that Diplostomidae have a complex biological cycle, relevant parasite-host interaction, and direct impacts on fish health, especially in ocular tissues, compromising performance and susceptibility to predators. **Methodology:** This is a qualitative, descriptive, and exploratory bibliographic study, conducted through an Integrative Literature Review, with searches performed in the PubMed, BVS-Vet, SciELO, and ScienceDirect databases, using descriptors in Portuguese, English, and Spanish, within the time frame of 2015 to 2025. **Results and Discussion:** The analyzed studies demonstrated that conventional methods, such as clinical inspection, microscopy, and morphological evaluation, remain widely used due to their practicality and lower cost, but present diagnostic limitations. In contrast, complementary techniques, such as histopathology, PCR, qPCR, gene sequencing, and immunological methods, increase sensitivity, specificity, and taxonomic precision. Emerging technologies, such as biosensors and artificial intelligence, showed promising potential for future application. **Conclusion:** It is concluded that the integration between traditional methodologies and advanced laboratory techniques represents the most efficient strategy for the diagnosis of





Diplostomidae, and that further studies aimed at standardizing protocols and reducing operational costs are necessary.

Keywords: Diplostomidae; fish; laboratory techniques; trematodes.

1. INTRODUÇÃO

Os parasitos pertencentes à família Diplostomidae (Digenea) constituem um importante grupo de helmintos que acometem peixes de água doce e marinhos, apresentando ciclos biológicos complexos que envolvem múltiplos hospedeiros, incluindo moluscos, peixes e aves piscívoras. Esses organismos são amplamente distribuídos em diferentes ecossistemas aquáticos e possuem elevada relevância ecológica e sanitária, sobretudo em sistemas naturais e de produção aquícola. A infecção por metacercárias, especialmente em tecidos oculares, pode comprometer significativamente a visão dos peixes, interferindo em sua sobrevivência e dinâmica populacional (Acosta *et al.*, 2016; Avsever *et al.*, 2016; Sousa *et al.*, 2022).

No contexto da aquicultura e da sanidade de organismos aquáticos, as infecções por Diplostomidae assumem importância crescente devido aos impactos produtivos e econômicos associados à redução do desempenho zootécnico, aumento da suscetibilidade a predadores e predisposição a infecções secundárias. Além disso, esses parasitos são considerados bioindicadores ambientais, refletindo alterações na qualidade da água e na estrutura trófica dos ecossistemas aquáticos. Dessa forma, a compreensão da epidemiologia e dos efeitos patológicos das infecções é essencial para o manejo sanitário adequado (Siqueira; Cunha; Vilela, 2023; Lima, 2024).

Tradicionalmente, o diagnóstico das infecções por Diplostomidae baseia-se em métodos morfológicos e microscópicos, incluindo a observação direta de metacercárias em tecidos, especialmente nos olhos e encéfalo dos peixes. Embora essas abordagens sejam amplamente utilizadas devido à sua praticidade e baixo custo, apresentam limitações significativas, principalmente na diferenciação de espécies morfológicamente semelhantes e na identificação de estágios larvais. Assim, a dependência exclusiva da morfologia pode





comprometer a acurácia diagnóstica e a interpretação epidemiológica (Belem-Costa *et al.*, 2021; Alshehri; Abdel-Gaber; Al-Quraishy, 2024).

Diante dessas limitações, observa-se um avanço significativo na aplicação de técnicas laboratoriais complementares, como a histopatologia, que permite a avaliação das lesões teciduais associadas à infecção, incluindo alterações inflamatórias e degenerativas em estruturas oculares e sistêmicas. Estudos demonstram que a presença de *Diplostomum spp.* pode induzir respostas complexas do hospedeiro, como formação de estruturas císticas e alterações retinianas, evidenciando a importância da análise histológica na elucidação da patogênese dessas infecções (Padrós; Knudsen; Blasco-Costa, 2018; Ondráčková *et al.*, 2025).

Paralelamente, o desenvolvimento de ferramentas moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e o sequenciamento de regiões gênicas específicas, tem revolucionado o diagnóstico parasitológico, permitindo a identificação precisa de espécies e a análise filogenética dos parasitos. Essas técnicas possibilitam superar as limitações da morfologia tradicional, contribuindo para uma melhor compreensão da diversidade genética, das relações evolutivas e da dinâmica de transmissão dos Diplostomidae (Schwelm *et al.*, 2021; Barata; Dörücü; Gürses, 2022; Mahdy; Attia; Salem, 2024).

Apesar dos avanços tecnológicos, ainda existem lacunas significativas na padronização dos métodos diagnósticos e na integração entre abordagens clássicas e moleculares, especialmente em estudos conduzidos em países tropicais. A escassez de investigações que utilizem metodologias combinadas limita a compreensão abrangente da epidemiologia e da patogenicidade dessas infecções, reforçando a necessidade de revisões sistematizadas que sintetizem o conhecimento disponível (Hupało *et al.*, 2025; Cruz *et al.*, 2025).

Diante desse cenário, torna-se fundamental reunir e analisar criticamente os principais métodos laboratoriais empregados no diagnóstico de trematódeos da família Diplostomidae em peixes, destacando suas aplicações, limitações e perspectivas futuras. Assim, este estudo tem como objetivo revisar a literatura científica recente, enfatizando a evolução das técnicas diagnósticas, desde abordagens morfológicas até métodos moleculares avançados,



contribuindo para o aprimoramento das práticas em parasitologia aquática (Tavares-Dias; Chagas; Maciel, 2021; Villa-O'dogherty *et al.*, 2025).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Os trematódeos da família Diplostomidae apresentam características biológicas e taxonômicas que os distinguem dentro do filo Platyhelminthes, especialmente pela organização de seus estágios larvais e pela especificidade de interação com seus hospedeiros. Esses parasitos são amplamente estudados na ictioparasitologia devido à sua relevância na dinâmica ecológica de ambientes aquáticos e à sua capacidade de influenciar processos como predação e equilíbrio populacional. Além disso, sua identificação e classificação têm sido constantemente revisadas com o avanço de técnicas morfológicas e moleculares, o que evidencia a complexidade sistemática do grupo. Sendo assim, este referencial teórico apresenta um panorama frente aos aspectos relacionados à interação parasito–hospedeiro, à importância sanitária na piscicultura e aos principais métodos diagnósticos, abrangendo desde abordagens tradicionais até técnicas laboratoriais avançadas e suas perspectivas futuras (Schwelm *et al.*, 2021).

2.1 Aspectos biológicos e ciclo de vida dos Diplostomidae

Os representantes da família Diplostomidae apresentam ciclo biológico indireto e heteroxênico, caracterizado pela participação de, em geral, três hospedeiros distintos: moluscos gastrópodes atuando como hospedeiros intermediários primários, peixes como hospedeiros intermediários secundários e aves piscívoras como hospedeiros definitivos. No interior dos moluscos ocorre intensa reprodução assexuada do parasito, culminando na formação de cercárias, as quais são liberadas no meio aquático e desempenham papel fundamental na infecção dos peixes. Essa dinâmica biológica contribui para a ampla dispersão desses helmintos em ecossistemas aquáticos, sobretudo em cenários ambientais que





favorecem a manutenção e interação entre os diferentes hospedeiros envolvidos (Sousa *et al.*, 2022).

Após a penetração ativa no hospedeiro intermediário secundário, as cercárias deslocam-se por diferentes tecidos, apresentando tropismo por estruturas oculares, como o cristalino e a retina, onde se diferenciam em metacercárias. Essa localização preferencial favorece a transmissão trófica, uma vez que compromete a acuidade visual e altera o comportamento dos peixes, aumentando sua vulnerabilidade à predação por aves. Tal estratégia evidencia um refinado mecanismo adaptativo do parasito, que potencializa seu sucesso reprodutivo ao manipular o hospedeiro intermediário, facilitando a continuidade e manutenção do ciclo biológico (Padrós; Knudsen; Blasco-Costa, 2018; Hoby *et al.*, 2022).

Nos hospedeiros definitivos, predominantemente aves piscívoras pertencentes a famílias como Ardeidae (garças), Phalacrocoracidae (biguás), Pelecanidae (pelicanos) e Laridae (gaivotas), as metacercárias ingeridas juntamente com o peixe infectado excistam no trato digestório, liberando formas juvenis que se fixam na mucosa intestinal. Nesse ambiente, os parasitos completam seu desenvolvimento até a fase adulta, apresentando morfologia característica dos digeneos, com estruturas especializadas de fixação, como ventosas, que garantem sua permanência no hospedeiro. A maturação sexual ocorre rapidamente, permitindo a produção contínua de ovos férteis, os quais são eliminados juntamente com as fezes no ambiente aquático, assegurando a perpetuação do ciclo parasitário (Siqueira; Cunha; Vilela, 2023).

Uma vez liberados no meio aquático, os ovos embrionados eclodem sob condições ambientais favoráveis, liberando miracídios ciliados que apresentam curta viabilidade e elevada capacidade de locomoção, sendo responsáveis por localizar e penetrar ativamente nos moluscos hospedeiros intermediários. No interior desses gastrópodes, os miracídios sofrem diferenciação em esporocistos, dando início a sucessivas fases de multiplicação assexuada que culminam na produção de cercárias infectantes. A eficiência desse ciclo está diretamente associada a fatores ambientais, como temperatura, luminosidade, oxigenação da água e densidade dos hospedeiros,





tornando a dinâmica epidemiológica dos Diplostomidae altamente dependente das condições ecológicas e das interações entre os diferentes componentes do ecossistema (Lima, 2024).

2.2 Relação parasito–hospedeiro em peixes

A interação entre parasitos da família Diplostomidae e seus hospedeiros intermediários secundários constitui um processo dinâmico, marcado por adaptações fisiológicas e comportamentais que influenciam diretamente a sobrevivência e o desempenho dos peixes. Após a infecção, as metacercárias estabelecem-se preferencialmente em tecidos específicos, sobretudo em estruturas oculares, onde exercem efeitos deletérios sobre a função visual. Essa relação parasitária, embora frequentemente subclínica em infecções leves, pode desencadear alterações significativas na homeostase do hospedeiro, comprometendo sua capacidade de locomoção, alimentação e evasão de predadores (Sousa *et al.*, 2022).

Do ponto de vista fisiopatológico, a presença de metacercárias nos tecidos dos peixes induz respostas inflamatórias locais e alterações estruturais, especialmente em regiões como retina e cristalino, podendo culminar em opacificação ocular, degeneração tecidual e prejuízo funcional. Além disso, estudos demonstram que o parasitismo por *Diplostomum spp.* pode desencadear mecanismos de defesa do hospedeiro, como encapsulamento e formação de estruturas císticas, refletindo uma complexa interação entre o sistema imunológico do peixe e o parasito. Tais alterações evidenciam o impacto direto da infecção na integridade orgânica e na aptidão biológica dos indivíduos parasitados (Ondráčková *et al.*, 2025).

Sob a perspectiva ecológica, a relação parasito–hospedeiro em Diplostomidae extrapola os efeitos individuais, influenciando padrões populacionais e interações tróficas nos ecossistemas aquáticos. A modificação do comportamento dos peixes infectados, associada à redução da acuidade visual, aumenta a probabilidade de predação por aves, favorecendo a transmissão do parasito ao hospedeiro definitivo. Esse fenômeno caracteriza um exemplo clássico de manipulação parasitária, no qual o parasito altera características do hospedeiro para otimizar sua própria disseminação. Assim, a compreensão dessa relação torna-se fundamental





para a análise da dinâmica ecológica e epidemiológica das infecções por Diplostomidae (Hoby *et al.*, 2022; Cruz *et al.*, 2025).

2.3 Importância sanitária e impacto na piscicultura

As infecções por trematódeos da família Diplostomidae assumem elevada relevância sanitária nos sistemas de produção aquícola, especialmente em cultivos intensivos, nos quais a elevada densidade populacional favorece a disseminação parasitária. A presença de metacercárias pode comprometer a qualidade dos lotes, afetando características comerciais dos peixes, como aspecto visual e integridade dos tecidos, o que resulta em perdas econômicas diretas e indiretas. Além disso, a ocorrência de parasitos está frequentemente associada a condições ambientais subótimas, funcionando como indicador de desequilíbrios no manejo e na qualidade da água (Crmv-MG, 2022; Siqueira; Cunha; Vilela, 2023).

Sob o ponto de vista produtivo, o parasitismo por Diplostomidae pode ocasionar redução no crescimento, menor eficiência alimentar e aumento da susceptibilidade a enfermidades secundárias, sobretudo em sistemas onde o estresse fisiológico é elevado. Embora nem sempre provoquem mortalidade direta, essas infecções contribuem para a diminuição do desempenho zootécnico e para a heterogeneidade dos plantéis, dificultando a padronização da produção. Dessa forma, o impacto dessas parasitoses deve ser considerado não apenas em termos clínicos, mas também em relação à eficiência produtiva e ao rendimento final da atividade aquícola (Tavares-Dias; Chagas; Maciel, 2021; Cruz *et al.*, 2025).

Adicionalmente, a presença de Diplostomidae em ambientes de cultivo reflete a interação entre fatores ecológicos e práticas de manejo, como a proximidade com hospedeiros definitivos e intermediários, incluindo aves piscívoras e moluscos. A ausência de medidas preventivas eficazes, como controle de vetores biológicos e manejo ambiental adequado, favorece a manutenção do ciclo parasitário nas unidades produtivas. Nesse contexto, a adoção de estratégias integradas de biossegurança e monitoramento sanitário torna-se essencial para





minimizar os impactos dessas infecções, promovendo maior estabilidade produtiva e sustentabilidade nos sistemas aquícolas (Belem-Costa *et al.*, 2021; Lima, 2024).

2.4 Princípios gerais do diagnóstico parasitológico

O diagnóstico parasitológico em peixes baseia-se na integração de diferentes abordagens, que visam identificar, caracterizar e quantificar os agentes parasitários presentes nos organismos aquáticos. No caso dos trematódeos da família Diplostomidae, a detecção das formas larvais, especialmente metacercárias, constitui etapa fundamental para o reconhecimento das infecções. A escolha dos métodos diagnósticos deve considerar fatores como estágio do parasito, localização no hospedeiro e condições de coleta, sendo necessária a associação entre técnicas diretas e indiretas para maior confiabilidade dos resultados (Belem-Costa *et al.*, 2021; Tavares-Dias; Chagas; Maciel, 2021).

Além disso, o diagnóstico eficiente depende da correta interpretação dos achados clínicos e laboratoriais, uma vez que muitas infecções podem apresentar caráter subclínico ou manifestações inespecíficas. Nesse contexto, a avaliação integrada entre observação clínica, análise morfológica e exames complementares torna-se essencial para a identificação precisa do parasito. A adoção de protocolos padronizados contribui para a reprodutibilidade dos resultados e para a comparação entre estudos, sendo fundamental em investigações epidemiológicas e no monitoramento sanitário de sistemas aquícolas (Hupało *et al.*, 2025).

Com o avanço das técnicas laboratoriais, observa-se uma tendência crescente na utilização de métodos complementares, que ampliam a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico parasitológico. A combinação entre abordagens clássicas e ferramentas modernas permite não apenas a identificação taxonômica, mas também a compreensão da dinâmica de infecção e da diversidade parasitária. Dessa forma, o diagnóstico parasitológico em Diplostomidae deve ser compreendido como um processo multifatorial, que envolve diferentes níveis de análise e contribui para a tomada de decisões no manejo sanitário (Schwelm *et al.*, 2021; Mahdy; Attia; Salem, 2024).





2.4.1 Métodos macroscópicos e inspeção clínica

Os métodos macroscópicos e a inspeção clínica representam etapas iniciais e fundamentais no diagnóstico de infecções parasitárias em peixes, permitindo a identificação de alterações visíveis associadas à presença de parasitos. No caso dos Diplostomidae, a observação direta de sinais clínicos, como opacificação ocular, alterações na coloração e comportamento anormal, pode indicar a presença de metacercárias em estruturas oculares. Essas manifestações, embora nem sempre específicas, constituem importantes indicativos para a condução de investigações laboratoriais mais detalhadas (Sousa *et al.*, 2022; Siqueira; Cunha; Vilela, 2023).

A inspeção visual dos tecidos, especialmente dos olhos e encéfalo, pode revelar a presença de estruturas parasitárias em estágios larvais, facilitando o diagnóstico preliminar em campo ou em ambientes de produção. Esse tipo de abordagem apresenta vantagens operacionais, como baixo custo, rapidez e facilidade de aplicação, sendo amplamente utilizado em triagens sanitárias e monitoramento de lotes aquícolas. Entretanto, sua limitação reside na dificuldade de identificação específica dos parasitos, exigindo a complementação com técnicas microscópicas e laboratoriais para confirmação diagnóstica (Lima, 2024).

Adicionalmente, a avaliação clínica deve considerar parâmetros comportamentais e fisiológicos dos peixes, como redução da atividade, alterações na resposta a estímulos e dificuldades de orientação no ambiente aquático. Esses sinais, quando associados a alterações macroscópicas, podem indicar infecções parasitárias em níveis mais avançados, contribuindo para o direcionamento do diagnóstico. Assim, os métodos macroscópicos e a inspeção clínica configuram ferramentas indispensáveis na triagem inicial, servindo como base para a aplicação de técnicas diagnósticas mais específicas (Crmv-MG, 2022).





2.4.2 Métodos microscópicos e morfológicos

Os métodos microscópicos e morfológicos constituem a base clássica do diagnóstico parasitológico em peixes, sendo amplamente utilizados para a identificação de formas larvais de trematódeos, como as metacercárias de Diplostomidae. Essas abordagens envolvem a análise direta de tecidos sob microscopia óptica, permitindo a visualização de estruturas parasitárias, bem como a caracterização de aspectos morfológicos relevantes, como formato corporal, presença de ventosas e organização interna. Tais características são fundamentais para a classificação taxonômica inicial, embora apresentem limitações na distinção entre espécies morfolologicamente semelhantes (Alshehri; Abdel-Gaber; Al-Quraishy, 2024).

Entre as técnicas mais empregadas destacam-se o exame a fresco, a compressão de tecidos (técnica de “squash”) e a utilização de colorações específicas, que auxiliam na evidência de estruturas internas do parasito. A análise de regiões como olhos, encéfalo e musculatura possibilita a detecção de metacercárias com maior precisão, sobretudo quando associada a procedimentos de dissecação cuidadosa. Esses métodos são amplamente utilizados em estudos de campo e laboratório, devido à sua relativa simplicidade e baixo custo operacional, sendo ferramentas essenciais na rotina de diagnóstico parasitológico (Belem-Costa *et al.*, 2021).

No entanto, apesar de sua ampla aplicabilidade, os métodos morfológicos apresentam limitações significativas, especialmente no que se refere à identificação em nível específico e à avaliação da diversidade genética dos parasitos. A semelhança morfológica entre espécies do gênero *Diplostomum* pode dificultar a correta classificação, tornando necessária a complementação com técnicas mais avançadas. Dessa forma, os métodos microscópicos devem ser compreendidos como parte de uma abordagem integrada, que, quando associada a ferramentas moleculares, permite maior precisão diagnóstica e melhor compreensão da epidemiologia das infecções parasitárias (Schwelm *et al.*, 2021; Barata; Dörücü; Gürses, 2022).





2.4.3 Análise histopatológica

A análise histopatológica constitui importante ferramenta complementar no diagnóstico das infecções parasitárias em peixes, permitindo a avaliação detalhada das alterações celulares e teciduais provocadas pela presença de helmintos da família Diplostomidae. Diferentemente dos métodos exclusivamente macroscópicos ou morfológicos, essa abordagem possibilita a identificação de lesões microscópicas, muitas vezes não perceptíveis em inspeções convencionais. Dessa forma, o exame histológico contribui para a compreensão da intensidade do dano orgânico e da resposta do hospedeiro frente ao processo infeccioso (Tavares-Dias; Chagas; Maciel, 2021).

Nos casos de diplostomíase, as principais alterações histopatológicas são observadas em tecidos oculares, especialmente retina, cristalino e estruturas adjacentes, locais preferenciais de encistamento das metacercárias. Entre os achados mais frequentes destacam-se processos inflamatórios, degeneração celular, edema, hemorragias puntiformes e desorganização das camadas retinianas, os quais podem comprometer severamente a função visual dos peixes parasitados. Em infecções mais intensas, também podem ocorrer alterações secundárias associadas à compressão mecânica dos tecidos e à reação inflamatória persistente (Padrós; Knudsen; Blasco-Costa, 2018; Ondráčková *et al.*, 2025).

Além das lesões locais, a histopatologia permite evidenciar mecanismos de defesa desencadeados pelo hospedeiro, como encapsulamento parasitário, hiperplasia tecidual e formação de estruturas císticas ao redor das larvas. Tais respostas demonstram a tentativa do organismo em limitar a progressão da infecção e reduzir os danos funcionais decorrentes da presença do parasito. A interpretação desses achados fornece subsídios relevantes para estudos de patogenia, imunologia e resistência natural entre diferentes espécies de peixes expostas ao mesmo agente parasitário (Cruz *et al.*, 2025).

Do ponto de vista metodológico, a realização do exame histopatológico envolve etapas padronizadas, como coleta de tecidos, fixação em formalina tamponada, processamento histológico, inclusão em parafina, microtomia e coloração, sendo a hematoxilina-eosina uma





das técnicas mais empregadas. Quando associada a outros métodos diagnósticos, como microscopia direta e biologia molecular, essa abordagem amplia a precisão diagnóstica e permite correlação entre presença parasitária e severidade das lesões. Assim, a análise histopatológica representa recurso indispensável na investigação sanitária e no monitoramento de enfermidades parasitárias em organismos aquáticos (Belem-Costa *et al.*, 2021; Hupało *et al.*, 2025).

2.4.4 Técnicas moleculares

As técnicas moleculares representam um dos principais avanços no diagnóstico parasitológico contemporâneo, proporcionando elevada sensibilidade e especificidade na detecção de agentes infecciosos. No estudo dos Diplostomidae, essas metodologias têm sido amplamente empregadas para complementar a identificação morfológica, especialmente em estágios larvais, nos quais as características anatômicas podem ser insuficientes para distinção entre espécies próximas. Dessa maneira, a biologia molecular tornou-se ferramenta essencial para o diagnóstico preciso, para estudos taxonômicos e para o entendimento da diversidade genética desses trematódeos (Schwelm *et al.*, 2021; Barata; Dörücü; Gürses, 2022).

Entre os métodos mais utilizados destaca-se a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), capaz de amplificar fragmentos específicos do material genético do parasito a partir de pequenas amostras biológicas. Regiões gênicas como ITS1, ITS2, 18S rRNA, 28S rRNA e COX1 têm sido frequentemente utilizadas em investigações envolvendo *Diplostomum spp.*, por apresentarem elevado valor discriminatório entre linhagens e espécies. A partir dessas sequências, torna-se possível confirmar a identidade taxonômica dos isolados e comparar amostras provenientes de diferentes áreas geográficas e hospedeiros (Mahdy; Attia; Salem, 2024).

O sequenciamento de DNA e as análises filogenéticas também desempenham papel relevante, permitindo inferir relações evolutivas e revisar classificações tradicionais baseadas exclusivamente em morfologia. Diversos estudos demonstram que linhagens anteriormente





agrupadas sob uma única denominação específica podem representar complexos de espécies distintas, evidenciando a importância dessas abordagens para a sistemática do grupo. Além disso, o uso de bancos de dados genéticos internacionais amplia a confiabilidade das identificações e favorece a padronização dos estudos parasitológicos em escala global (Schwelm *et al.*, 2021; Villa-O'dogherty *et al.*, 2025).

Métodos quantitativos, como a PCR em tempo real (qPCR), vêm sendo incorporados para estimativa de carga parasitária e monitoramento de infecções subclínicas em sistemas produtivos e populações naturais. Essas técnicas possibilitam detectar o parasito mesmo em baixos níveis de infestação, contribuindo para medidas precoces de controle sanitário. Entretanto, fatores como custo operacional, necessidade de infraestrutura laboratorial e capacitação técnica ainda limitam sua ampla aplicação em determinadas regiões. Ainda assim, as ferramentas moleculares consolidam-se como recurso indispensável no diagnóstico moderno e na vigilância epidemiológica dos Diplostomidae (Hupało *et al.*, 2025; Cruz *et al.*, 2025).

2.4.5 Métodos imunológicos e novas abordagens

Os métodos imunológicos vêm ganhando destaque no diagnóstico parasitológico por possibilitarem a detecção de antígenos do parasito ou de anticorpos produzidos pelo hospedeiro em resposta à infecção. Em peixes, essas técnicas apresentam relevância crescente por permitirem avaliações complementares, sobretudo em situações nas quais a visualização direta do agente é dificultada pela baixa carga parasitária ou pela localização tecidual das formas larvais. No contexto dos Diplostomidae, tais abordagens contribuem para a identificação precoce das infecções e para o entendimento das respostas imunológicas desencadeadas no organismo parasitado (Mahdy; Attia; Salem, 2024).

Entre os ensaios mais empregados destacam-se o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), a imunofluorescência indireta e técnicas de imunohistoquímica, utilizadas para localizar antígenos parasitários em tecidos ou mensurar biomarcadores





relacionados ao processo infeccioso. Essas metodologias oferecem vantagens como rapidez analítica, possibilidade de processamento simultâneo de múltiplas amostras e maior sensibilidade quando comparadas a alguns métodos convencionais. Ademais, a aplicação de marcadores imunológicos permite correlacionar intensidade parasitária, inflamação tecidual e estado fisiológico dos peixes avaliados (Ondráčková *et al.*, 2025).

Paralelamente, novas abordagens diagnósticas têm sido desenvolvidas com base em ferramentas biotecnológicas e digitais, incluindo biossensores, espectrometria molecular, análise proteômica e sistemas automatizados de reconhecimento por imagem. O emprego de inteligência artificial associada à microscopia digital possibilita identificar estruturas parasitárias com maior rapidez e reduzir a subjetividade das análises tradicionais. Tais inovações representam alternativas promissoras para programas de vigilância sanitária, especialmente em sistemas intensivos de produção aquícola que demandam respostas rápidas e monitoramento contínuo (Cruz *et al.*, 2025).

Apesar do elevado potencial dessas metodologias, sua aplicação rotineira ainda enfrenta limitações relacionadas ao custo, à padronização de protocolos e à disponibilidade de reagentes específicos para organismos aquáticos. Além disso, diferenças interespecíficas na resposta imune dos peixes podem interferir na interpretação dos resultados, exigindo validações adicionais para cada sistema produtivo ou espécie hospedeira. Mesmo diante desses desafios, os métodos imunológicos e as tecnologias emergentes tendem a ampliar significativamente a precisão diagnóstica, consolidando-se como ferramentas complementares relevantes no estudo das infecções por Diplostomidae (Belem-Costa *et al.*, 2021; Lima, 2024).

2.5 Desafios e perspectivas futuras

Apesar dos avanços observados nas últimas décadas, o diagnóstico e o monitoramento das infecções causadas por Diplostomidae ainda apresentam limitações importantes, especialmente quanto à padronização metodológica e à integração entre diferentes técnicas laboratoriais. Em muitos estudos, a identificação parasitária permanece dependente de





características morfológicas isoladas, o que pode comprometer a precisão taxonômica, sobretudo em espécies crípticas ou em estágios larvais. Além disso, a heterogeneidade dos protocolos empregados dificulta a comparação entre resultados obtidos em distintas regiões e sistemas produtivos (Schwelm *et al.*, 2021; Barata; Dörücü; Gürses, 2022).

Outro desafio relevante está relacionado à escassez de investigações aplicadas em ambientes tropicais e subtropicais, onde a diversidade de hospedeiros e as condições ambientais favorecem a manutenção do ciclo parasitário. Em países com forte vocação aquícola, ainda são limitados os estudos que correlacionam ocorrência parasitária, impactos produtivos e estratégias de biossegurança. Essa lacuna científica restringe a elaboração de programas sanitários específicos e reduz a capacidade de resposta frente a surtos ou perdas econômicas decorrentes dessas infecções (Siqueira; Cunha; Vilela, 2023; Lima, 2024).

No campo tecnológico, perspectivas promissoras envolvem a consolidação de métodos diagnósticos rápidos, sensíveis e de baixo custo, capazes de serem aplicados tanto em laboratório quanto diretamente em campo. Ferramentas moleculares portáteis, biossensores, sistemas automatizados de imagem e plataformas digitais de vigilância tendem a ampliar a capacidade de detecção precoce e o monitoramento contínuo das populações de peixes. A incorporação dessas tecnologias poderá favorecer decisões sanitárias mais ágeis e reduzir prejuízos nos sistemas de cultivo (Mahdy; Attia; Salem, 2024).

Adicionalmente, o fortalecimento de abordagens multidisciplinares que integrem parasitologia, ecologia, genética e manejo aquícola será fundamental para compreender a dinâmica epidemiológica dos Diplostomidae em diferentes cenários ambientais. Estudos futuros devem priorizar a construção de bancos genéticos regionais, o desenvolvimento de protocolos harmonizados e a avaliação de medidas preventivas sustentáveis. Nesse contexto, a associação entre inovação científica e gestão sanitária representa o caminho mais promissor para o controle dessas parasitoses e para o avanço da sanidade aquícola contemporânea (Villa-O'dogherty *et al.*, 2025).





3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo caracteriza-se como uma pesquisa de natureza básica, uma vez que busca reunir, organizar e ampliar conhecimentos científicos acerca dos métodos diagnósticos aplicados aos trematódeos da família Diplostomidae em peixes. Quanto à sua natureza metodológica, trata-se de investigação observacional, desenvolvida por meio da análise crítica de produções científicas previamente publicadas. A abordagem adotada é qualitativa, de caráter descritivo, considerando a interpretação, comparação e síntese das evidências disponíveis, sem enfoque estatístico quantitativo. Em relação aos objetivos, a pesquisa enquadra-se como exploratória, pois visa ampliar a compreensão acerca das técnicas laboratoriais utilizadas no diagnóstico parasitológico. Quanto aos procedimentos técnicos, configura-se como estudo bibliográfico, fundamentado em material científico já consolidado. No desenvolvimento temporal, apresenta delineamento transversal e retrospectivo (Tilman *et al.*, 2025).

Para o desenvolvimento deste trabalho empregou-se o método de Revisão Integrativa da Literatura (RI), modalidade que possibilita reunir resultados de pesquisas distintas, promovendo análise sistematizada do conhecimento produzido sobre determinado tema. Essa abordagem permite identificar avanços metodológicos, lacunas científicas e tendências diagnósticas relacionadas aos Diplostomidae, contribuindo para a construção de uma síntese crítica e atualizada acerca das técnicas laboratoriais empregadas em peixes (Sugg *et al.*, 2025).

Para a seleção dos estudos foram realizadas buscas bibliográficas com base nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e nos *Medical Subject Headings* (MeSH), combinados por meio dos operadores booleanos “and” e “or”. Os descritores foram definidos conforme os idiomas de publicação, sendo utilizados os termos apresentados no Quadro 01.





Quadro 01. Definição dos descritores conforme o idioma:

PORTUGUÊS	INGLÊS	ESPAÑHOL
<i>Diplostomum</i>	<i>Diplostomum</i>	<i>Diplostomum</i>
Diplostomidae	<i>Diplostomidae</i>	<i>Diplostomidae</i>
Diagnóstico parasitológico	<i>Parasitological diagnosis</i>	<i>Diagnóstico parasitológico</i>
Trematódeos em peixes	<i>Trematodes in fish</i>	<i>Trematodos en peces</i>
Técnicas laboratoriais	<i>Laboratory techniques</i>	<i>Técnicas de laboratorio</i>

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Os critérios de inclusão adotados contemplaram artigos científicos, dissertações, teses e revisões publicados na íntegra, nos idiomas português, inglês e espanhol, que abordassem métodos diagnósticos aplicados a trematódeos da família Diplostomidae em peixes. Foram excluídos estudos duplicados, trabalhos incompletos, publicações sem relação direta com a temática proposta e documentos situados fora do recorte temporal estabelecido.

As bases de dados utilizadas para a busca bibliográfica foram PubMed, BVS-Vet, SciELO e ScienceDirect. O período de levantamento das publicações ocorreu entre agosto e setembro de 2025, sendo adotado recorte temporal correspondente aos anos de 2015 a 2025, com o objetivo de contemplar evidências científicas relevantes e metodologias diagnósticas consideráveis.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da literatura selecionada evidenciou que o diagnóstico de trematódeos da família Diplostomidae em peixes evoluiu significativamente nos últimos anos, acompanhando o avanço das técnicas aplicadas à parasitologia aquática. Observou-se que os métodos tradicionais, especialmente os exames macroscópicos, microscópicos e morfológicos, permanecem amplamente empregados devido à simplicidade operacional, baixo custo e viabilidade de aplicação em diferentes contextos produtivos e laboratoriais. Contudo, os estudos revisados também demonstram que tais abordagens apresentam limitações quanto à





sensibilidade diagnóstica e à diferenciação específica entre espécies próximas, sobretudo em estágios larvais (Belem-Costa *et al.*, 2021; Alshehri; Abdel-Gaber; Al-Quraishy, 2024).

No que se refere às técnicas clínicas e macroscópicas, verificou-se que alterações oculares, comportamento errático, redução da atividade natatória e sinais de debilidade podem servir como importantes indicadores iniciais de infecção por metacercárias. Entretanto, esses achados não são patognomônicos, podendo ocorrer em outras enfermidades infecciosas ou distúrbios ambientais. Dessa forma, a inspeção clínica deve ser interpretada como etapa preliminar de triagem, necessitando associação com exames complementares para confirmação etiológica. Esse resultado reforça a importância de protocolos diagnósticos integrados nos sistemas de produção aquícola (Sousa *et al.*, 2022; Siqueira; Cunha; Vilela, 2023).

A microscopia óptica e a análise morfológica continuaram sendo descritas como ferramentas centrais na rotina diagnóstica, especialmente para observação direta de metacercárias em olhos, musculatura e encéfalo. Os trabalhos analisados indicam que técnicas como dissecação dirigida, compressão de tecidos e colorações histológicas simples apresentam boa aplicabilidade em laboratórios convencionais. Contudo, a semelhança morfológica entre espécies do gênero *Diplostomum* limita a identificação taxonômica precisa, o que pode comprometer estudos epidemiológicos e medidas específicas de controle sanitário (Acosta *et al.*, 2016; Schwelm *et al.*, 2021).

Em relação à histopatologia, os resultados apontaram elevada relevância dessa abordagem para compreensão da patogenia das infecções. As lesões mais frequentemente relatadas incluíram degeneração retiniana, opacidade de cristalino, edema, infiltrado inflamatório e encapsulamento larval. Tais alterações demonstram que, mesmo quando a carga parasitária não ocasiona mortalidade direta, podem ocorrer prejuízos funcionais importantes, principalmente relacionados à visão e ao comportamento alimentar. Nesse sentido, a histopatologia mostrou-se essencial para correlacionar presença do parasito e impacto clínico no hospedeiro (Padrós; Knudsen; Blasco-Costa, 2018; Ondráčková *et al.*, 2025).





As técnicas moleculares figuraram entre os principais avanços identificados na literatura recente. PCR convencional, qPCR e sequenciamento gênico mostraram elevada precisão para detecção de infecções subclínicas e diferenciação entre espécies crípticas de Diplostomidae. Além disso, essas metodologias ampliaram a compreensão da diversidade genética, das relações filogenéticas e das rotas de dispersão geográfica dos parasitos. Apesar de sua robustez analítica, a implementação rotineira ainda enfrenta barreiras relacionadas ao custo, necessidade de infraestrutura especializada e escassez de protocolos validados para algumas regiões tropicais (Barata; Dörücü; Gürses, 2022; Mahdy; Attia; Salem, 2024; Cruz *et al.*, 2025).

No tocante aos métodos imunológicos e às abordagens emergentes, observou-se tendência crescente de incorporação de ensaios baseados em antígenos, biomarcadores e ferramentas automatizadas de análise. Tecnologias como biossensores, inteligência artificial aplicada à microscopia digital e plataformas de vigilância sanitária representam perspectivas promissoras para o diagnóstico rápido em campo. Entretanto, a literatura ainda demonstra escassez de validações específicas para Diplostomidae em peixes, indicando que tais recursos permanecem em fase de consolidação científica e tecnológica (Hupało *et al.*, 2025).

De modo geral, os estudos analisados convergem para a superioridade de estratégias diagnósticas integradas, nas quais métodos clínicos, morfológicos, histopatológicos e moleculares são empregados de forma complementar. Essa combinação amplia a sensibilidade diagnóstica, melhora a precisão taxonômica e fornece informações epidemiológicas mais robustas. Assim, a discussão dos resultados evidencia que o futuro do diagnóstico em Diplostomidae depende menos da substituição de técnicas clássicas e mais da harmonização entre abordagens convencionais e inovadoras, adaptadas às realidades produtivas e laboratoriais de cada região.





5. CONCLUSÃO

Os trematódeos da família Diplostomidae apresentam elevada relevância sanitária e produtiva, especialmente em sistemas aquícolas, devido aos impactos que podem causar sobre o desempenho, bem-estar e susceptibilidade dos peixes infectados. A presente revisão demonstrou que os métodos convencionais, como inspeção clínica, análise macroscópica, microscopia e avaliação morfológica, permanecem essenciais no diagnóstico dessas parasitoses, sobretudo pela praticidade e ampla aplicabilidade. Entretanto, tais abordagens apresentam limitações quanto à sensibilidade e à identificação específica dos agentes parasitários.

Nesse contexto, técnicas complementares, como histopatologia, ferramentas moleculares e métodos imunológicos, mostraram-se fundamentais para ampliar a precisão diagnóstica e aprofundar o conhecimento epidemiológico dos Diplostomidae. Contudo, a adoção dessas metodologias ainda pode ser limitada pelo elevado custo operacional, necessidade de infraestrutura especializada e capacitação técnica, fatores que tornam sua implementação mais onerosa, sobretudo em pequenas unidades produtivas e regiões com menor suporte laboratorial. Conclui-se que a associação entre metodologias tradicionais e tecnologias emergentes representa a estratégia mais eficiente para o diagnóstico contemporâneo, sendo igualmente necessária a realização de novos estudos voltados à padronização de protocolos, redução de custos analíticos e fortalecimento da sanidade aquícola sustentável.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, A. A. *et al.* Aspectos parasitológicos dos peixes. **In:** SILVA, RJ., orgs. **Integridade ambiental da represa de Jurumirim: ictiofauna e relações ecológicas** [online]. São Paulo: Editora UNESP, 2016, pp. 115-192. ISBN 978-85-6833-478-2.

ALSHEHRI, E.; ABDEL-GABER, R.; AL-QURASHY, S. Ferramentas de identificação de *Diplostomum spathaceum* Rudolphi, 1819 (Diplostomida: Diplostomidae), um trematódeo





parasita da gaivota-prateada (*Larus argentatus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 76(4), 2024.

AVSEVER, M. L. *et al.* Primeiro relato de Diplostomíase em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivadas na Turquia. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**. 63: 377-381, 2016.

BARATA, S. D.; DÖRÜCÜ, M.; GÜRSES, Murad. Identificação e investigação molecular de *Diplostomum* em Capoeta umbla capturada em fontes de água doce na Turquia. **Genetics of Aquatic Organisms**. 6(2), 2022.

BELEM-COSTA, A. *et al.* **Protocolos para diagnóstico de doenças em peixes**. 1. ed. Curitiba: Appris, 2021. 103 p.

CRUZ, A. *et al.* Efeitos da diversidade genética no estado de saúde e nas características parasitológicas em uma população de peixes selvagens que habita uma lagoa costeira. **Animals**, 15, 2195, 2025.

CRMV-MG, Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de Minas Gerais. **Doenças parasitárias em peixes de produção**. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia da UFMG, nº 101, 2022.

HOBY, S. *et al.* Infecção fatal por *Diplostomum phoxini* em filhotes de papagaio-do-mar-atlântico (*Fratercula arctica*) em cativeiro após ingestão de peixinhos-europeus infectados *Phoxinus phoxinus*. **Diseases of Aquatic Organisms**. 150: 161-167, 2022.

HUPAŁO, K. *et al.* Um novo método para detecção e identificação rápidas de parasitas em peixes através da homogeneização do peixe inteiro. **Research Square**. 2025.

LIMA, T. R. de F. **Doenças parasitárias em peixes de riachos: deficiência de informações e perspectivas para novos estudos**. 2024. Dissertação (Mestrado em Patologia Ambiental e Experimental) - Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, 2024.

MAHDY, O. A.; ATTIA, M. A.; SALEM, M. A. Análise epidemiológica multidisciplinar utilizando abordagens moleculares, morfológicas e imunológicas nas infecções por diplostomasis em *Oreochromis niloticus*. **Preprint**. 2024.





ONDŘÁČKOVÁ, M *et al.* Formação de sacos induzida por *Diplostomum* nas lentes de *Ameiurus* Touro-cabeça-de-touro: uma resposta de defesa do hospedeiro? **Journal of Fish Diseases**. 48, e14137, 2025.

PADRÓS, F.; KNUDSEN, R.; BLASCO-COSTA, I. Caracterização histopatológica de lesões retinianas associadas à infecção por espécies de *Diplostomum* (Platyhelminthes - Trematoda) em truta-alpina polimórfica (*Salvelinus alpinus*). **IJP: Parasites and Wildlife**. 7: 68-74, 2018.

SCHWELM, J. *et al.* Caracterização molecular e morfológica de *Diplostomum phoxini* (Faust, 1918) com uma classificação revisada e uma nomenclatura atualizada das linhagens em nível de espécie de *Diplostomum* (Digenea *Diplostomidae*) sequenciadas. **Parasitology**. 148: 1648-1664, 2021.

SOUSA, W. B. B. de *et al.* Primeiro relato de *Diplostomum lunaschiae* (Digenea, *Diplostomidae*) parasitando cinco espécies de peixes em um riacho na Caatinga, Brasil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**. 17(2): 161-168, 2022.

SIQUEIRA, R. S.; CUNHA, J. C. de L.; VILELA, V. L. R. Vigilância sanitária e *Diplostomidae* em peixes do açude de Orós, Ceará. **Cadernos ESP**. 17, e1483, 2023.

SUGG, H. *et al.* Integração de métodos mistos na análise de dados em ensaios clínicos de intervenções complexas em saúde: protocolo para uma revisão sistemática metodológica. **BMJ Open**, London, 2025.

TAVARES-DIAS, M.; CHAGAS, E. C.; MACIEL, P. O. Parasitismo e seus efeitos sanguíneos e histopatológicos em peixes. In: MATTOS, B. O. de *et al.* (org.). **Aquicultura na Amazônia: estudos técnico-científicos e difusão de tecnologias**. Ponta Grossa: Atena Editora, 2021. cap. 21, p. 311-324.

TILMAN, J. *et al.* Uma revisão bibliográfica aprofundada sobre o desenho de estudos em metodologia de pesquisa qualitativa. **International Journal of Social Research Methodology**, London, 2025.





VILLA-O'DOGHERTY, A. *et al.* Diversidade genética da tênia asiática do peixe *Schyzocotyle acheilognathi* Yamaguti, 1934 populações de hospedeiros de peixes de água doce introduzidos e nativos no México. **BioInvasions Records**. 14(1): 107-121, 2025.

Recebido em: 01/04/2026

Aprovado em: 29/04/2026

Publicado em: 28/05/2026

