

Surto de infecção por *Piscinoodinium pillulare* e *Trichodina* spp. em tambaquis (*Colossoma macropomu*), pirapitingas (*Piaractus brachypomus*) e tilápias (*Oreochromis niloticus*) no Distrito Federal

Outbreak of Infection by *Piscinoodinium pillulare* and *Trichodina* spp. in Tambaquis (*Colossoma macropomu*), Pirapitingas (*Piaractus brachypomus*) and Tilapias (*Oreochromis niloticus*) in the Federal District, Brazil

Jair Alves Ferreira Junior¹, André Santos Leonardo¹, João Paulo Monteiro Vieira Bayma Azevedo¹, Fábio Renato Rodrigues², Karla Alvarenga Nascimento¹, Juliana Targino Silva Almeida Macêdo¹ & Pedro Miguel Ocampos Pedroso¹

ABSTRACT

Background: *Piscinoodinium pillulare* is a mandatory mastigophore protozoan with no parasitic specificity, and an important ectoparasite of tropical and temperate pisciculture. This parasite is responsible for serious health problems in Brazilian native fish. Another important pathogenic protozoan in pisciculture belongs to the genus *Trichodina* spp., which is commonly found on the surface of fish, gills, fins, and integument. The aim of the present study was to describe an outbreak of *P. pillulare* and *Trichodina* spp. in three species of fish intensively created, emphasizing the anatomopathological and epidemiological aspects.

Cases: Five animals were necropsied, among them three tambaquis (*Colossoma macropomu*), one pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) and one tilapia (*Oreochromis niloticus*) from an intensive pisciculture in the Federal District. Out of 1500 fishes, 18 (1.2%) became ill and died. It was reported that the animals showed decreased feed intake, discomfort, dyspnea, opercular movements, red skin lesions and consequent death. In the direct examination of scraping of the body surface of a fish, prepared between lamina and coverslip, a ciliated ectoparasite, with a circular bell shape, measuring approximately 20-180 µm, adhered, with morphology consistent with *Trichodina* spp. was evidenced. During necropsy, fragments of different organs were collected and fixed in 10% formalin, routinely processed for histology, embedded in paraffin, cut to five microns thick and stained with hematoxylin and eosin (HE). Macroscopically, there were pale scaly areas in the medial-lateral regions, moderate increase amount of mucus with brown to green lumps on the body surface, partial loss of the fins, swollen gills with whitish mucus and multifocal hemorrhagic areas on the skin and between the scales. Microscopically, moderate multifocal lymphoplasmocytic branchitis was observed with cell hyperplasia and fusion of secondary lamellae associated with trophons (protozoa), consistent with *P. pillulare*.

Discussion: The diagnosis of infection by *P. pillulare* and *Trichodina* spp. in this study was based on the epidemiological and clinical-pathological findings. Regarding the first ones, we highlight the variety of fish species affected. *P. pillulare* is an example of a commensal parasite present on the substrate of culture tanks, and exerts a type of non-obligatory parasitism that uses the fish as a substrate for its fixation under favorable conditions. In this case, only *Trichodina* spp. was observed during the traditional evaluation of body surface and gills scraping, and histopathology was essential for the verification of the agent *P. pillulare*. Routine histopathological analysis may also provide a definitive diagnosis, observing the trophons attached to the gill filaments. Atrophy and fusion of secondary lamellae, which promote proliferative lesions in the gills associated with the interlamellar presence of parasites, are responsible for hypoxia, loss of balance and erratic movements. Although they were observed in a small number, *Trichodina* spp. are believed to be responsible, on a larger scale, for hemorrhagic lesions on the skin and between fish scales. These findings were similar to those of the literature, and the diagnosis of these parasites allows producers and technicians to adopt adequate treatment, as well as prophylactic measures that provide good environmental conditions in order to avoid economic losses.

Keywords: fish diseases, protozoa, fish ectoparasites.

Descritores: doenças de peixes, protozoários, ectoparasitas de peixes.

INTRODUÇÃO

Piscinoodinium pillulare é um protozoário mastigóforo obrigatório, sem especificidade parasitária e importante ectoparasita de pisciculturas tropicais e de regiões temperadas [5,7]. Esse parasito é responsável por sérios problemas sanitários no Brasil em peixes nativos de criatório dentre eles o tambaqui (*Colossoma macropomum*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*), pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e menos frequentemente a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) [4]. Clinicamente, de forma inespecífica, os hospedeiros geralmente apresentam sinais de desconforto, asfixia, intensos movimentos operculares, dobras nas nadadeiras, além da presença de uma camada cutânea superficial com aspecto aveludado. A patogenicidade deste ectoparasita compreende, dentre outras, fusão extensa das lamelas secundárias branquiais, resultando em dispneia e conseqüentemente morte dos animais [6].

Ademais, outro parasita relevante em piscicultura é *Trichodina* spp. um protozoário ciliado, arredondado, monoxênico, que atinge alta prevalência, encontrado comumente na superfície dos peixes, brânquias, nadadeiras e tegumento [4,6]. As principais alterações ocorrem quando o parasitismo é intenso e quando há declínio da qualidade da água, podendo causar lesões não específicas no tegumento e nas brânquias, formação de uma camada cinzento-azulada na superfície do corpo e aumento da secreção de muco. [6]. Este trabalho tem como objetivo descrever um surto de infecção por *P. pillulare* e *Trichodina* spp. em três espécies de peixes criadas intensivamente com ênfase nos aspectos anatomopatológicos e epidemiológicos.

CASOS

Cinco peixes foram encaminhados para realização de necropsia no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília (LPV-UnB). Antes da necropsia, foi realizado exame direto através de raspado na superfície corporal e nas brânquias. O material obtido foi montado entre lâmina e lamínula e observado em microscópio óptico. Durante a necropsia fragmentos de diversos órgãos foram coletados e fixados em formol 10%, processados rotineiramente para histologia, emblocados em parafina, cortados a cinco micras de espessura e coradas pela hematoxilina e eosina (HE). Dados epidemiológicos e clínicos foram obtidos através do médico veterinário da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Governo do Distrito Federal - EMATER-DF.

O surto ocorreu no mês de maio de 2016, notando-se morte de peixes desde janeiro, em uma propriedade comercial intensiva de piscicultura na cidade satélite do Gama, Distrito Federal. Os animais eram provenientes de um tanque de 1500 peixes entre eles três tambaquís (*Colossoma macropomum*), uma pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e uma tilápia (*Oreochromis niloticus*). Os peixes ficavam alojados em um tanque com água de boa qualidade, bombeada de poço artesiano e tratados com ração comercial. De um total de 1500 peixes, 18 (1,2%) adoeceram e morreram. Os animais acometidos desse tanque apresentaram sinais clínicos caracterizados por diminuição no consumo de ração, desconforto, dispneia, movimentos operculares, lesões vermelhadas na pele e conseqüente morte. Na necropsia, os cinco peixes apresentavam áreas pálidas em escamas nas regiões medianas laterais, moderado aumento na quantidade de muco com grumos marrom a verde na superfície corporal (Figura 1), perda parcial de nadadeiras, tumefação das brânquias com presença de muco esbranquiçado e áreas hemorrágicas multifocais na pele e entre as escamas. No exame direto da superfície corporal foi evidenciado ectoparasita ciliado, com forma circular de sino achatado, medindo aproximadamente 20-180 µm, aderidos, com morfologia consistente com *Trichodina* spp. (Figura 2). Microscopicamente, foi observado nas brânquias infiltrado linfoplasmocítico multifocal moderado, hiperplasia celular e fusão de lamelas secundárias com trofontes (protozoários) ora ovais ora piriformes medindo de 64-100 µm, por vezes aderidos ao epitélio, com morfologia consistente com *P. pillulare* (Figuras 3 e 4). Na pele foi evidenciado infiltrado neutrofílico discreto difuso. O ectoparasita *Trichodina* spp. não foi encontrado histologicamente. Nos demais órgãos não foram observados alterações significativas.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de infecção por *Piscinoodinium pillulare* e *Trichodina* spp. desse trabalho foi baseado nos achados epidemiológicos e clínico-patológicos. Em relação aos achados epidemiológicos, destaca-se a variedade de espécies de peixes acometidos. As criações de tambaquís, pirapitingas, tilápias e tabatingas em pisciculturas comerciais convencionais na região Centro-Oeste, assume grande importância econômica local, em função do valor comercial do produto, da demanda regional, do bom desempenho reprodutivo e do



Figura 1. Superfície corporal, tambaqui (*Colossoma macropomu*). Notam-se áreas pálidas em escamas (seta) além de moderado aumento de muco com grumos marrom a verde recobrendo a superfície corporal dorsal (cabeça de seta).

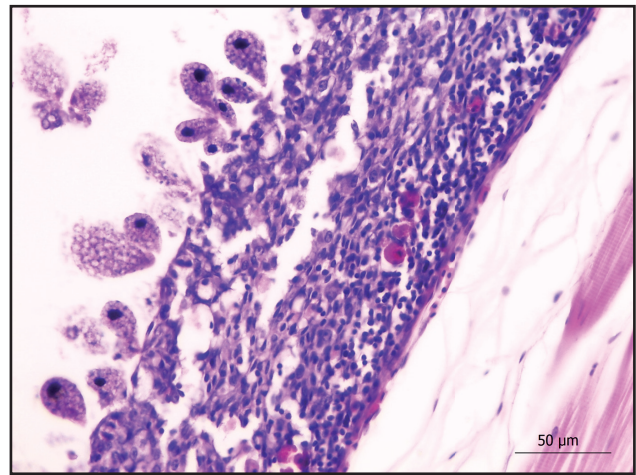


Figura 4. Fotomicrografia de brânquia, infecção por *Piscinoodinium pillulare*. Nota-se, na base de uma lamela secundária (lamela primária), detalhe de trofozoítos piriformes aderidos ao epitélio, além de moderado infiltrado linfoplasmocítico.

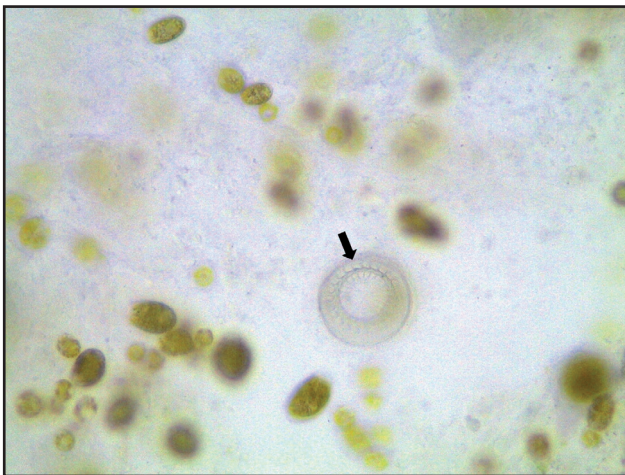


Figura 2. Raspado de superfície corporal, infecção por *Trichodina* spp. Evidencia-se ectoparasita ciliado, com forma circular de sino achatado, medindo aproximadamente 20-180 μ m, com morfologia consistente com tricodínídeo (seta).

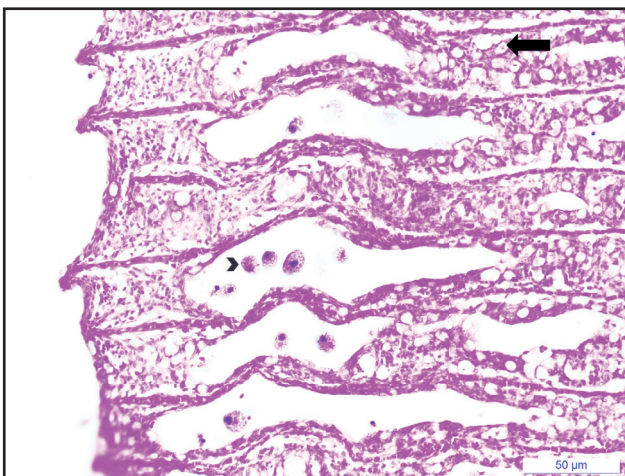


Figura 3. Fotomicrografia de brânquia, infecção por *Piscinoodinium pillulare*. Observa-se fusão de lamelas secundárias (seta) associada a trofozoítos (protozoários) ovais no espaço interlamelar (cabeça de seta).

potencial da piscicultura em questão [7]. Além disso, os parasitos em questão não são hospedeiro-específicos já que há relatos de infecção por triconídeos em diferentes espécies [4], incluindo tilápias de criatórios [11]. Por outro lado, parasitos que não possuem especificidade parasitária, incluindo o *P. pillulare*, utilizam um grande número de espécies diferentes de hospedeiros favorecendo sua proliferação [5,8].

Parasitos de peixes são considerados eficientes monitores do estado imuno-fisiológico do hospedeiro e, conseqüentemente, tornam-se bons indicadores da qualidade ambiental [3]. O aumento da piscicultura nos últimos anos tem favorecido os riscos à saúde dos peixes, associado a manejo inadequado, baixa qualidade da água, alimento de baixa qualidade, desbalanço nutricional, sistema de cultivo com alta densidade de matéria orgânica e ausência de medidas profiláticas [2]. *P. pillulare* é um exemplo de parasito comensal, presente no substrato de tanques de cultivo e que exerce um tipo de parasitismo não obrigatório que utiliza o peixe como substrato para sua fixação quando em condições propícias [8].

Algumas enfermidades protozoárias de peixes ocorrem com frequência após práticas de manejo realizadas em épocas frias do ano ou associadas a outros fatores estressantes [10]. No presente estudo, o surto foi precedido de situação grave de estresse físico devido ao início do período seco e queda de temperatura. Surto com altos índices de mortalidade por infecção por *P. pillulare* são comuns em épocas frias do ano, porém, nesses casos não se registra aumento da quantidade de parasitas, e sim, diminuição da resistência imunológi-

ca dos peixes [9]. O presente surto foi semelhante ao descrito por Sant'Ana *et al.* [7] em pacus (*Piaractus mesopotamicus*), onde provavelmente os agentes etiológicos já estavam no tanque e/ou nos peixes e, após a condição estressante (temperaturas baixas), ocorreu imunodepressão nos animais seguido dos efeitos patológicos dos parasitas.

No presente caso, somente *Trichodina* spp. foi observada durante a avaliação tradicional de raspado de superfície corporal e brânquias. Assim, a histopatologia foi essencial para a verificação do agente *P. pillulare*. A análise histopatológica de rotina também pode fornecer um diagnóstico definitivo, observando os trofontes anexados aos filamentos branquiais [4,7]. A atrofia e fusão de lamelas secundárias, que promovem uma lesão proliferativa nas brânquias, associadas à presença interlamelar de parasitas são responsáveis pela hipoxia, perda de equilíbrio e movimentos erráticos [4,7]. Esses achados também foram encontrados nas espécies de peixes em estudo e acredita-se que tenham sido a causa *mortis* dos animais por insuficiência respiratória. Clinicamente a dispneia foi verificada por intensos movimentos operculares, contudo a literatura diz que também se podem observar os peixes procurando por oxigênio na superfície da água ou na entrada de água dos tanques [4].

Por outro lado, notou-se que o número de triconídeos encontrados no exame direto foi menos significativo do que o de trofontes de *Piscinoodinium pillulare* no exame histopatológico das brânquias. Sabe-se que em infestações crônicas, os tricodinídeos podem induzir um aumento das células mucosas do epitélio e filamentos branquiais, hiperplasia discreta com fusão parcial ou total das lamelas secundárias, infiltrado inflamatório e necrose branquial [4,11]. Todavia, acredita-se que os tricodinídeos neste estudo tenham sido responsáveis, em maior escala, pelas lesões hemorrágicas na pele e entre as escamas dos peixes. Os movimentos de fixação e rotação destes parasitos podem causar séria irritação e danos às células epiteliais ou epidérmicas dos peixes [1,4]. Surtos de mortalidade podem ocorrer através de infecções bacterianas oportunistas que aceleram a progressão da doença [4].

O diagnóstico dessas parasitoses permite aos produtores e técnicos a adoção de tratamento adequado, além de medidas profiláticas que proporcionem boas condições ambientais a fim de evitar perdas econômicas.

Declaration of interest. The authors declare no conflict of interest. The authors are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Eiras J.C. 2013. Ciliophora. In: Pavanelli G.C., Takemoto R.M. & Eiras J.C. (Eds). *Parasitologia de peixes de água doce do Brasil*. Maringá: EDUEM, pp.233-245.
- 2 Ghiraldelli L. 2005. Parasitologia e hematologia de peixes cultivados em três municípios do estado de Santa Catarina. 82f. Florianópolis, SC. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.
- 3 Lizama M.L.P., Fernandes E.S., Oda F.H., Moreira L.H.A. & Ribeiro T.S. 2013. Parasitos como bioindicadores. In: Pavanelli G.C., Takemoto R.M. & Eiras J.C. (Eds). *Parasitologia de peixes de água doce do Brasil*. Maringá: EDUEM, pp.115-130.
- 4 Martins M.L., Cardoso L., Marchiori N. & Pádua S.B. 2015. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*. 24(1): 1-20.
- 5 Martins M.L., Moraes J.R.E., Andrade P.M., Schalch S.H.C. & Moraes F.R. 2001. *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus, 1954) Lom, 1981 (Dinoflagellida) infection in cultivated freshwater fish from the northeast region of São Paulo State, Brazil: parasitological and pathological aspects. *Brazilian Journal of Biology*. 61(4): 639-644.
- 6 Pavanelli G.C., Eiras J.C. & Takemoto R.M. 2008. Parasitoses. In: Pavanelli G.C., Eiras J.C. & Takemoto R.M. (Eds). *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. 3.ed. Maringá: EDUEM, pp.65-87.
- 7 Sant'Ana F.J.F., Oliveira S.L., Rabelo R.E., Vulcani V.A.S., Silva S.M.G. & Ferreira Júnior J.A. 2012. Surtos de infecção por *Piscinoodinium pillulare* e *Henneguya* spp. em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) criados intensivamente no Sudoeste de Goiás. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32(2): 121-125.

- 8 **Schalch S.H.C. & Moraes F.R. 2005.** Distribuição sazonal de parasitos branquiais em diferentes espécies de peixes em pesque-pague do município de Guariba - SP, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 14(4): 141-146.
- 9 **Tavares-Dias M., Martins M.L. & Moraes F.R. 2001.** Fauna parasitária de peixes oriundos de pesque-pague do município de Franca, São Paulo, Brasil. I. Protozoários. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 18(Suppl 1): 67-79.
- 10 **Thatcher V.E. & Brites-Neto J. 1994.** Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 16(3): 111-128.
- 11 **Valladão G.M.R., Pádua S.B., Gallani S.U., Menezes-Filho R.N., Dias-Neto J., Martins M.L., Ishikawa M.M. & Pilarski F. 2013.** *Paratrichodina africana* (Ciliophora): a pathogenic gill parasite in farmed Nile tilapia. *Veterinary Parasitology*. 197(3-4): 705-710.