

PATOGENICIDADE DA INFECÇÃO POR *Aeromonas hydrophila* EM ALEVINOS DE JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*)

MARTENINGHE¹, A.; ANZILIERO, D².; BARCELLOS³, L.J.G.; KREUTZ^{3*}, L.C.;

Resumo

A criação de peixes, embora de grande importância para o desenvolvimento sustentável de pequenas e médias propriedades em muitas regiões do Brasil, ainda é conduzida com precariedades de manejo e problemas sanitários diversos, que propiciam o surgimento de doenças causadas por microorganismos aquáticos oportunistas, como a *Aeromonas hydrophila*. O presente estudo teve como objetivo determinar a CL₅₀ da *A. hydrophila*, inoculada pela via intracelomática, para alevinos de jundiá. Foram utilizados 147 alevinos de jundiá com peso médio de 4,82 g ($\pm 0,17$ g) e 8,01 cm ($\pm 3,48$ cm) de comprimento, distribuídos em 21 tanques de 40 litros (7 peixes/tanque), na densidade máxima de 1 g de peixe/litro. Após o período de aclimação os alevinos foram inoculados pela via intracelomática utilizando-se as concentrações de 8×10^8 , 8×10^7 , 8×10^6 , 8×10^5 , 8×10^4 , e 8×10^3 UFC de *A. hydrophila*/100 μ l. Todos os peixes foram inoculados com 100 μ l de suspensão bacteriana e cada dose foi inoculada em 21 alevinos, correspondente a 3 tanques. O grupo controle foi inoculado com PBS estéril. O experimento teve duração de 10 dias e durante este período observou-se as lesões, mortalidade e alterações comportamentais dos peixes. Todos os alevinos que receberam a concentração de 8×10^8 UFC de *A. hydrophila* morreram no segundo dia após a inoculação intracelomática, e 6 alevinos que receberam a concentração de 8×10^7 UFC morreram, entre o segundo e o sexto dia após a inoculação. Computando-se o número de alevinos mortos e sobreviventes após a inoculação de cada dose e utilizando-se o Método de Spearman Kärber, a CL₅₀ de *A. hydrophila* para alevinos de jundiá foi determinada em $1,63 \times 10^8$ UFC.

Introdução

A criação de peixes, embora de grande importância para o desenvolvimento sustentável de pequenas e médias propriedades em muitas regiões do Brasil, ainda é conduzida com precariedades de manejo e problemas sanitários diversos, que propiciam o surgimento de doenças causadas por microorganismos aquáticos oportunistas, como a *Aeromonas hydrophila*. A infecção por *A. hydrophila* causa lesões ulcerativas e septicemia hemorrágica em peixes de água doce. O principal mecanismo de virulência dessa bactéria é uma enterotoxina citotóxica capaz de lisar eritrócitos e causar danos irreversíveis as membranas celulares, induzindo o acúmulo de fluido no intestino. Diversos estudos têm demonstrado a letalidade da *A.*

¹ Acadêmica do Curso de Biologia, Universidade de Passo Fundo

² Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo

³ Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Campus I, Bairro São José. 99001-970 Passo Fundo, RS. Brasil. lckreutz@upf.br.

hydrophila para alevinos de jundiá (BOIJINK; BRANDÃO, 2001; SANTOS et al., 1991).

No entanto, os dados existentes são conflitantes, o que impede o estudo da influência do estresse ou mesmo de condições inadequadas de manejo sobre a resistência as infecções oportunistas. Além disso, os peixes foram inoculados pela via intramuscular com concentrações bacterianas pré-definidas e, em nenhum experimento, se estimou a concentração letal (CL₅₀) da *A. hydrophila* para jundiás. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo determinar a CL₅₀ da *A. hydrophila*, inoculada pela via intracelomática, para alevinos de jundiá.

Materiais e métodos

Foram utilizados 147 alevinos de jundiá com peso médio de 4,82 g ($\pm 0,17$ g) e 8,01 cm ($\pm 3,48$ cm) de comprimento, distribuídos em 21 tanques de 40 litros (7 peixes/tanque), na densidade máxima de 1 g de peixe/litro. Durante o experimento, a temperatura média da água manteve-se em 15°C ($\pm 1,5^\circ\text{C}$) e os peixes receberam alimentação “*ad libitum*”.

Após o período de aclimação os alevinos foram inoculados pela via intracelomática com diferentes concentrações de *A. hydrophila*. Para obtenção do inóculo, as bactérias foram cultivadas durante 18 hr em meio BHI (Brain Heart Infusion), lavadas em Solução Salina Tamponada Fosfatada (PBS) e a concentração bacteriana ajustada na densidade óptica (DO) de 0,6 a 550 nm. Após, um inóculo foi removido e as bactérias foram semeadas em placas para determinar a quantidade de Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

Para inoculação intracelomática utilizaram-se as concentrações de 8×10^8 , 8×10^7 , 8×10^6 , 8×10^5 , 8×10^4 , e 8×10^3 UFC/100 μl . Antes da inoculação os peixes foram anestesiados com Eugenol na concentração de 50 mg/litro de água. Todos os peixes foram inoculados com 100 μl de suspensão bacteriana e cada dose foi inoculada em 21 alevinos, correspondente a 3 tanques. O grupo controle, composto de 21 alevinos (3 tanques) foi inoculado com PBS estéril. O experimento teve duração de 10 dias e durante este período observou-se as lesões, mortalidade e alterações comportamentais dos peixes. A CL₅₀ foi determinada utilizando-se o Método de Spearman Kärber.

Resultados e discussão

Todos os alevinos que receberam a concentração de 8×10^8 UFC de *A. hydrophila* morreram no segundo dia após a inoculação intracelomática, e 6 alevinos que receberam a concentração de 8×10^7 UFC morreram, entre o segundo e o sexto dia após a inoculação. Os alevinos mortos apresentaram lesões características da infecção por *A. hydrophila* como hemorragias, úlceras com exposição da musculatura, úlceras com bordas avermelhadas no local da inoculação e palidez. As demais concentrações de *A. hydrophila* utilizadas não foram suficientes para causar lesões nem mortalidade nos alevinos inoculados.

Computando-se o número de alevinos mortos e sobreviventes após a inoculação de cada dose e utilizando-se o Método de Spearman Kärber, a CL₅₀ de *A. hydrophila* para alevinos de jundiá foi determinada em $1,63 \times 10^8$ UFC. A concentração letal de *A. hydrophila* para diferentes espécies de peixes pode variar de 10^2 a 10^8 UFC, após inoculação pela via intracelomática (SANTOS et al., 1991) e pode variar dependendo da idade dos peixes e fatores relacionados ao manejo e

meio ambiente. Estudos anteriores sobre a patogenicidade de *A. hydrophila* indicou que doses de $1,3 \times 10^9$ e $3,5 \times 10^8$ UFC, inoculadas via intramuscular, são letais para juvenis de jundiás após 24 hr (BOIJINK; BRANDÃO, 2001).

No entanto, em nenhum estudo se estabeleceu a CL^{50} de *A. hydrophila* para jundiás, a qual é de fundamental importância para estudar a patogenicidade e mecanismos de resistência dos peixes. Os dados sobre a letalidade da *A. hydrophila*, determinada nesse estudo, serão úteis para estudos sobre a patogenicidade dessa importante infecção e para avaliar o efeito de imunossupressores ou probióticos na capacidade de resposta imune do jundiá.

Referências

BOIJINK, Cheila de Lima; BRANDÃO, Deodoro Atlante; VARGAS, Agueda Castagna; COSTA, Mateus Matiuzzi; RENOSTO, Andreia Vilella. Inoculação de suspensão bacteriana de *Plesiomonas shigelloides* em jundiá, *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI: PIMELODIDAE). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 497-501, 2001.

SANTOS, Ysabel; BANDÍN, Isabel; NIETO, Teresa; BARJA, Juan; TORANZO, Alicia. Cell-Surface-Associated Properties of Fish Pathogenic Bacteria. *Journal of Aquatic Animal Health*, v. 3, p. 297-301, 1991.