

IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE ORGANISMOS SEMELHANTES À ANAPLASMATACEAE EM MONÓCITOS DE SURUBIM HÍBRIDO (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*) - RELATO DE CASO*

MORPHOLOGICAL IDENTIFICATION OF ANAPLASMATACEAE-LIKE ORGANISMS IN MONOCYTES OF THE HYBRID SURUBIM CATFISH (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*) - CASE REPORT

Márcia Mayumi Ishikawa¹, Santiago Benites de Pádua², Fabiana Satake³, Maurício Laterça Martins⁴ e Marcos Tavares Dias⁵

ABSTRACT. Ishikawa M.M., de Pádua S.B., Satake F., Martins M.L. & Tavares-Dias M. [**Morphological identification of anaplasmatocae-like organisms in monocytes of the hybrid surubim catfish (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*) – case report**]. Identificação morfológica de organismos semelhantes à anaplasmatocae em monócitos de surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*) – relato de caso. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 33(4):225-228, 2011. Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163 km 253,6, Cx. Postal 661, Dourados, MS 79804-970, Brasil. E-mail: marcia@cpao.embrapa.br

The aim of this study was to report the occurrence of Anaplasmatocae-like organisms in monocytes from the hybrid surubim catfish. During the hematological evaluation of fish infected by *Pseudomonas* sp. in a fish farm located in the State of Mato Grosso do Sul we observed into the monocytes the presence of numerous pleomorphic inclusions of various sizes, rough in appearance which presented basophilic staining. These inclusions were similar to elementary bodies, initial bodies and morule of the bacteria from Anaplasmatocae family, often diagnosed in domestic mammals. This is the first report of its occurrence possibly belonging to the family of Anaplasmatocae in cultured fish in Brazil. Additional studies are necessary for molecular characterization of this bacteria, pathogenic potential, life cycle and impact on the intensive production of fish.

KEY WORDS. Rickettsiales, fish bacteriosis, zoonosis.

RESUMO. Este trabalho tem por objetivo relatar a ocorrência de organismos semelhantes à Anaplasmatocae em monócitos de surubim híbridos. Durante a avaliação hematológica em peixes infectados por *Pseudomonas* sp., num evento natural, nos peixes cultivados no Estado de Mato Grosso do

Sul, verificou-se a presença de várias inclusões pleomórficas, exibindo aparência rugosa e coloração predominantemente basofílica, apresentando-se em monócitos de apenas um indivíduo de surubim híbrido. Estas inclusões são similares aos corpúsculos elementares, corpos iniciais e mórulas de bactérias

*Recebido em 17 de fevereiro de 2011.

Aceito para publicação em 24 de março de 2011.

¹Médica-veterinária, DSc. Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163 km 253,6, Cx. Postal 661, Dourados, MS 79804-970, Brasil. E-mail: marcia@cpao.embrapa.br

²Médico-veterinário, Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), Rod. Paulo Donato Castellane, s/n Bairro Rural, Jaboticabal, SP 14884-900, Brasil. E-mail: santiagopadua@live.com

³Médica-veterinária, DSc. Departamento de Ciências Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia, PB 58397-000, Brasil. E-mail: fabsatake@yahoo.com.br

⁴Biólogo, DSc. Laboratório AQUOS - Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Rod. Admar Gonzaga, 1346, Florianópolis, SC 88040-900, Brasil. E-mail: mlaterca@cca.ufsc.br

⁵Biólogo, DSc. Embrapa Amapá, Rodovia Juscelino Kubitschek, km 5, 2600 Caixa Postal 10, Macapá, AP 68903-419, Brasil. E-mail: marcostavares@cpafap.embrapa.br

pertencentes à família Anaplasmataceae. Estudos adicionais são necessários para caracterização molecular desta bactéria, bem como caracterização do potencial patogênico, ciclo de vida e impacto de sua ocorrência na produção intensiva de peixes e saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE. Rickettsiales, bacteriose em peixes, zoonose.

INTRODUÇÃO

A ocorrência de agentes riquetsiais em peixes de produção tem sido relatada desde o final do século passado. Bactérias pertencentes à ordem Rickettsiales foram descritas no salmão coho *Oncorhynchus kisutch* (Fryer et al. 1990), no salmão do Atlântico *Salmo salar* (Palmer et al. 1996), em *Dicentrarchus labrax* (McCarthy et al. 2005), em tilápia *Oreochromis* sp. (Mauel et al. 2005), truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Pusterla et al. 2000), bem como em *Xenentodon cancila*, *Channa striata* e *Mastacembelus armatus* (Seng et al. 2009).

Piscirickettsia salmonis, única espécie da família Piscirickettsiaceae, foi identificada causando infecção em várias espécies de peixes, determinando a ocorrência de doença granulomatosa crônica (Fryer et al. 1990, Palmer et al. 1996, Steiropoulos et al. 2002). Por outro lado, Pusterla et al. (2000) e Seng et al. (2009) relatam a identificação de bactérias pertencentes à família Anaplasmataceae em peixes, no entanto, com patogenia não elucidada. Os agentes desta família são microorganismos gram-negativos, parasitos intracelulares obrigatórios, residem em vacúolos citoplasmáticos de células hematopoiéticas maduras ou imaturas, encontrados no sangue periférico ou em tecidos (Dumler et al. 2001).

No Brasil, os membros da família Anaplasmataceae com ocorrência reconhecida são *Neorickettsia risticii*, que causa infecção em equinos (Coimbra et al. 2006), *Neorickettsia helminthoeca* (Headley et al. 2006), *Ehrlichia chaffeensis* (Machado et al. 2006), *Anaplasma platys* e *Ehrlichia canis* (Dantas-Torres 2008) e *Ehrlichia ewingii* (Oliveira et al. 2009), os quais infectam especialmente membros da família Canidae. Contudo, *N. helminthoeca*, *E. chaffeensis*, *E. canis* e *E. ewingii* são caracterizados como potenciais agentes zoonóticos (Brouqui & Matsumoto 2007).

Espécies de trematódeos são considerados vetores de bactérias do gênero *Neorickettsia* (Pusterla et al. 2000; Coimbra et al. 2005), havendo participação de moluscos aquáticos (Coimbra et al. 2005). O consumo de peixes in natura confere condições pro-

pícias para a transmissão de doenças causadas por trematódeos de origem alimentar (Seng et al. 2009), assim como proporcionam condições necessárias para a transmissão dessa riquetsiose. Estima-se que em torno de 50 milhões de pessoas são infectadas por trematódeos transmitidos por alimentos, especialmente no sudeste asiático (Seng et al. 2009). Portanto, em peixes de cultivo, a identificação de agentes com potenciais zoonóticos é de fundamental importância para que se estabeleçam medidas de controle e prevenção, garantindo a produção de alimentos seguros para a população.

Este trabalho tem por objetivo reportar a ocorrência de organismos semelhantes à Anaplasmataceae em surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*), oriundo do cultivo intensivo no Estado de Mato Grosso do Sul.

HISTÓRICO

Em outubro de 2008, um piscicultor contatou o Laboratório de Piscicultura da Embrapa Agropecuária Oeste, localizado no Município de Dourados, MS, relatando a ocorrência de mortalidade de surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*) em um tanque de cultivo. Procedeu-se uma visita técnica na piscicultura para estudo da casuística.

Na propriedade foram realizadas avaliações clínica, hematológica e necroscópica de nove peixes moribundos, bem como a colheita sanguínea de outros cinco animais isentos de sinais clínicos, para comparação dos parâmetros hematológicos. Três peixes moribundos foram utilizados para o diagnóstico microbiológico, efetivando-se o isolamento de *Pseudomonas* sp., a partir do rim de um destes.

A coleta sanguínea foi realizada com auxílio de seringas descartáveis (3 mL) e agulhas hipodérmicas (25 x 7 mm), contendo EDTA (3%) (Ishikawa et al. 2010). Procedeu-se a confecção de extensões sanguíneas imediatamente após a venopunção, sendo estas coradas pancromicamente com uma combinação de May Grünwald-Giemsa-Wright.

Na avaliação das extensões sanguíneas, verificou-se a presença de 28 inclusões pleomórficas, com diâmetro variando entre 1,35 a 3,85 µm e valores médios de 2,40 ± 0,68 µm. Estas apresentavam aspecto rugoso, com coloração predominantemente basofílica, apresentando-se em vacúolos de monócitos de apenas um peixe isento de sinais clínicos (Figura 1), não sendo verificadas inclusões similares nos demais peixes. Estas inclusões são características de bactérias pertencentes à ordem Rickettsia-

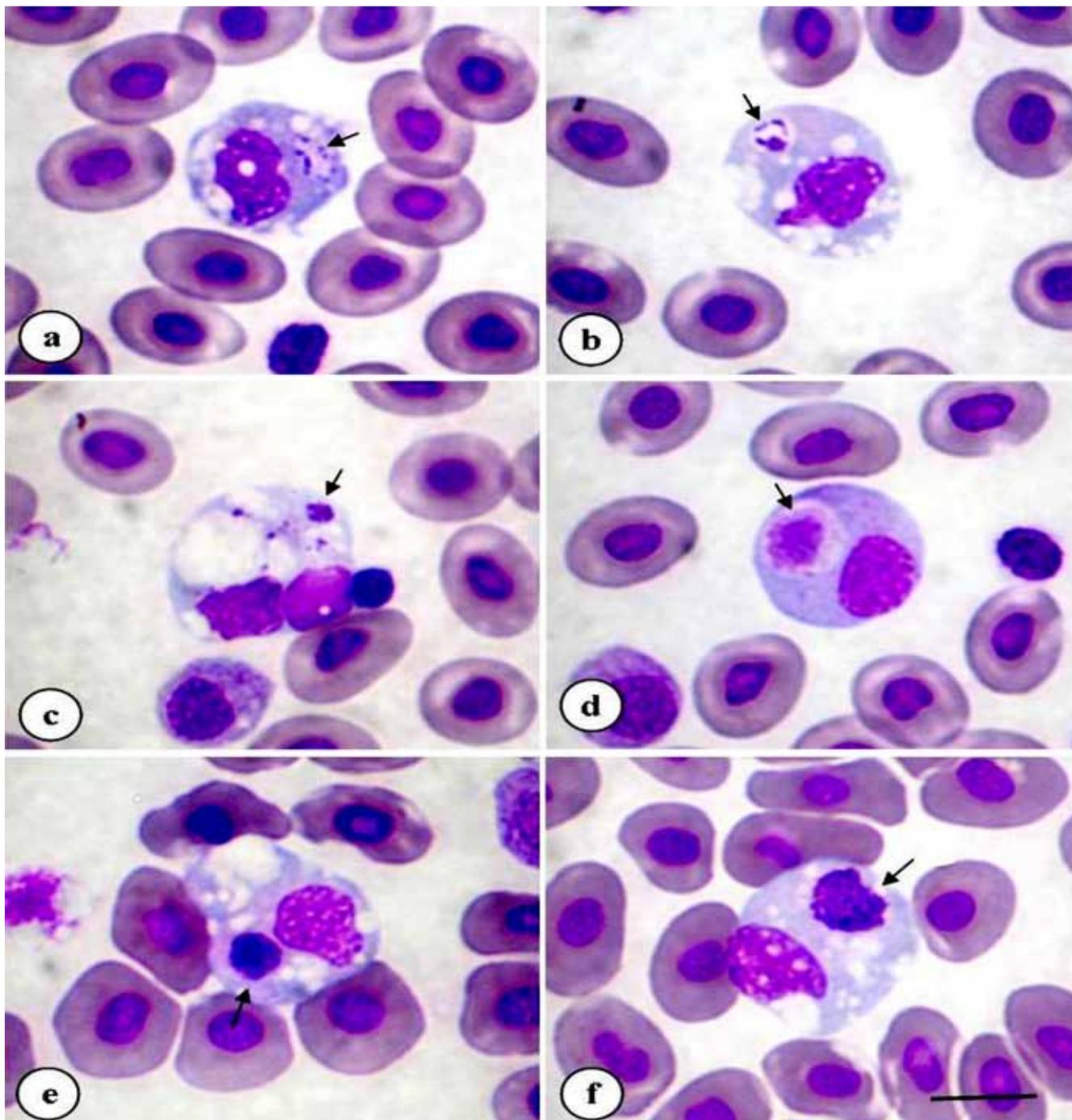


Figura 1. Organismos semelhantes à Anaplasmatidae em monócitos sanguíneos de surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*). Corpos elementares (a), corpúsculos iniciais (b-c) e mórulas compactas (d-f). Coloração May Grünwald-Giemsa-Wright. Barra= 5 µm.

les, especialmente da família Anaplasmatidae. Os peixes aqui estudados estavam no mesmo ambiente que alguns moluscos, os quais frequentemente apresentam infestações por trematódeos, descritos como vetores causadores dessas enfermidades (Pusterla et al. 2000, Coimbra et al. 2005).

DISCUSSÃO

Bactérias da ordem Rickettsiales foram identificadas molecularmente a partir de vísceras de truta

arco-íris em uma área endêmica para *N. risticii*, na região norte da Califórnia (Pusterla et al. 2000). Os autores observaram que o intestino foi órgão com maior sensibilidade para o diagnóstico molecular, com mais de 97% de positividade, pois nas trutas arco-íris foi o local onde se encontravam os trematódeos dos gêneros *Deropegu*, *Crepidostomum* e *Creptotrema*. Similarmente, Seng et al. (2009) relataram a identificação molecular de *Neorickettsia* sp. no intestino de *X. cancila*, enquanto que em *C.*

striata e *M. armatus* foi identificado agente com similaridade aos integrantes da família Anaplasmataceae. Contudo, nestes estudos não foi avaliada a ocorrência das bactérias no tecido sanguíneo.

No Brasil, o registro de agentes riquetsiais em peixes não havia sido documentado até o presente momento. Este estudo apresentou a identificação morfológica de um organismo similar a Anaplasmataceae, representando grande relevância para a saúde pública e sanidade de surubins cultivados, por isso, outros estudos complementares deverão ser conduzidos para identificação molecular e a descrição do ciclo biológico destes agentes. Estes conhecimentos permitirão a avaliação do impacto destes micro-organismos na produção de surubins híbridos, bem como elucidarão seu possível potencial zoonótico.

Agradecimentos. Os autores agradecem ao Aquabrazil/Embrapa, ao Ministério da Pesca e Aquicultura e à Fundect (Processo n. 23/200.321/2008), pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brouqui P. & Matsumoto K. Bacteriology and phylogeny of Anaplasmataceae, p. 179-212. In: Raoult D. & Parola P. (Ed.), *Rickettsial diseases*. Informa Healthcare, New York, 2007.
- Coimbra H.S., Fernandes C.G., Soares M.P., Meireles M.C.A., Radamés R. & Schuch L.F.D. Ehrlichiose monocítica equina no Rio Grande do Sul: aspectos clínicos, anatomo-patológicos e epidemiológicos. *Pesq. Vet. Bras.*, 26:97-101, 2006.
- Coimbra H.S., Schuch L.F.D., Veitenheimer-Mendes I.L. & Meireles M.C.A. *Neorickettsia (Ehrlichia) risticii* no Sul do Brasil: *Heleobia* spp. (Mollusca:Hydrobilidae) e *Parapleurolophoecous cercariae* (Trematoda: Digenea) como possíveis vetores. *Arq. Inst. Biol.*, 72:325-329, 2005.
- Dantas-Torres F. Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasit. Vect.*, 1: 1-25, 2008.
- Dumler S.J., Barbet A.F., Bekker C.P.J., Dasch G.A., Palmer G.H., Ray S.C., Rikihisa Y. & Rurangirwa F.R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int. J. Syst. Evolution. Microbiol.*, 51: 2145-2165, 2001.
- Fryer J.L., Lannan C.N., Garc's L.H., Larenas J.J. & Smith P.A. Isolation of a rickettsiales-like organism from diseased coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile. *Fish Pathol.*, 25:107-114, 1990.
- Headley S.A., Scorpio D.G., Barat N.C., Vidotto O. & Dumler J.S. *Neorickettsia helminthoeca* in dog, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.*, 12:1303-1305, 2006.
- Ishikawa M.M., Pádua S.B., Satake F., Hisano H., Jerônimo G.T. & Martins M.L. Heparina e Na₂EDTA como anticoagulantes para surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*): eficácia e alterações hematológicas. *Cienc. Rur.*, 40:1557-1561, 2010.
- Machado R.Z., Duarte J.M.B., Dagnone A.S., Szabó M.P.J. Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in Brazilian Marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). *Vet. Parasitol.*, 139:262-266, 2006.
- Mauel M.J., Miller D.L., Styer E., Pouder D.B., Yanong R.P.E., Goodwin A.E. & Schwedler T.E. Occurrence of Piscirickettsiosis-like syndrome in tilapia in the continental United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17(6):601-604, 2005.
- McCarthy Ú., Steiroopoulos N.A., Thompson K.D., Adams A., Ellis A.E., Ferguson H.W. Confirmation of *Piscirickettsia salmonis* as a pathogen in European sea bass *Dicentrarchus labrax* and phylogenetic comparison with salmonid strains. *Dis. Aquatic Organ.*, 64:107-119, 2005.
- Oliveira L.S., Oliveira K.A., Mourão L.C., Pescatore A.M., Almeida M.R., Conceição L.G., Galvão M.A.M. & Mafra C. First report of *Ehrlichia ewingii* detected by molecular investigation in dogs from Brazil. *Clin. Microbiol. Infect.*, 15:297-298, 2009.
- Palmer R., Rutledge M., Callanan K., Drinan E. Piscirickettsiosis-like disease in farmed Atlantic salmon in Ireland: isolation of the agent. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 17: 68-72, 1997.
- Pusterla N., Johnson E., Chae J.-S., DeRock E., Willis M., Hedrick R.P. & Madigan J.E. Molecular detection of an *Ehrlichia*-like agent in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from Northern California. *Vet. Parasitol.*, 92:199-207, 2000.
- Seng P., Rolain J.M., Raoult D. & Brouqui P. Detection of new Anaplasmataceae in the digestive tract of fish from southeast Asia. *Clin. Microbiol. Infect.*, 15(supl. 2):88-90, 2009.
- Steiroopoulos N.A., Yuksel S.A., Thompson K.D., Adams A., Ferguson H.W. Detection of *Rickettsia*-like organisms (RLOs) in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) by immunohistochemistry. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 22:338-342, 2002.