

Parâmetros hematológicos e alterações histopatológicas em bijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) com amyloodiniose¹

Bartira Guerra-Santos^{2*}, Ricardo C.B. Albinati², Eduardo Luiz T. Moreira², Fernanda W.M. Lima³, Tatiana M.P. de Azevedo², Denise S.P. Costa², Silene D.C. de Medeiros² e Alessandra D. Lira²

ABSTRACT.- Guerra-Santos B., Albinati R.C.B., Moreira E.L.T., Lima F.W.M., Azevedo T.M.P., Costa D.S.P., Medeiros S.D.C. & Lira A.D. 2012 [Parameters hematological and histopathologic alterations in cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) com amyloodiniose.] Parâmetros hematológicos e alterações histopatológicas em bijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) com amyloodiniose. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 32(11):1184-1190. Setor de Produção Animal, Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Av. Adhemar de Barros 500, Salvador, BA 41170-110, Brazil. E-mail: bartiraguerra@yahoo.com.br

The aim of this study was to describe the hematological parameters and histopathologic alterations in cobia infected by *Amyloodinium ocellatum*. A group of 27 fish were anesthetized to collect blood samples and euthanized to collect mucus and tissue fragments of skin and gills. The prevalence and parasitic intensity of the infection, besides hematologic parameters and histopathologic alterations, was measured. Parasite prevalence in the gills was 100% and in the mucus 80.8%, and the average intensity of infection in gills and skin was 683.5 e 67.1 respectively. The mean values of hematological parameters were: erythrocytes $4.3 \times 10^6/\mu\text{L}$; PCV 26%, MCV 64.2 fL, plasma protein 5.8mg/dL, thrombocytes $5.2 \times 10^3/\mu\text{L}$ and leukocytes $3.6 \times 10^3/\mu\text{L}$. Furthermore was found hyperplasia of the respiratory epithelium accompanied by lamellar fusion, detachment of the epithelium, venous sinus dilatation, aneurysm formation and rupture of the lamellar epithelium, hemorrhage, necrosis and lymphocytic inflammatory reaction. The parasite was observed between the gills lamellae, the AMV ranged from mild to severe and AHI values were 76.8. The study assumes importance because it is the first study in *Rachycentron canadum*, a fish that stands out with potential for growing.

INDEX TERMS: *Amyloodinium ocellatum*, cobia, *Rachycentron canadum*, aquaculture, parasite.

RESUMO.- O objetivo do trabalho foi descrever os parâmetros hematológicos e as alterações histopatológicas em bijupirás infectados por *Amyloodinium ocellatum*. Um grupo de 27 peixes foi anestesiado para coleta de amostras de sangue e eutanasiados para coleta de muco e fragmentos de tecido cutâneo e branquial. Foram avaliadas a prevalência e a intensidade parasitária da infecção, assim como os valores de parâmetros hematológicos e alterações histopatológicas. A prevalência parasitária nas brânquias

foi de 100% e no muco foi de 80,8% e as intensidades parasitárias médias foram de 683,5 nas brânquias, e 67,1 no muco cutâneo. Os valores médios dos parâmetros hematológicos foram: eritrócitos $4,3 \times 10^6/\mu\text{L}$; VG 26%; VGM 64,2fL; proteína plasmática 5,8mg/dL; trombócitos $5,2 \times 10^3/\mu\text{L}$ e leucócitos $3,6 \times 10^3/\mu\text{L}$. Além disso, foram verificadas hiperplasia do epitélio respiratório acompanhada de fusão lamelar, descolamento do epitélio, dilatação do seio venoso, formação de aneurisma, ruptura do epitélio lamelar, hemorragia, necrose, reação inflamatória linfocítica. O parasito foi observado nas lamelas branquiais, o VMA variou do grau discreto ao severo e o IAH foi de 76,8. A pesquisa assume importância por se tratar dos primeiros estudos em *Rachycentron canadum*, um peixe que se destaca com potencial ao cultivo.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Amyloodinium ocellatum*, bijupirá, *Rachycentron canadum*, aquicultura, parasito.

¹ Recebido em 31 de agosto de 2011.

Aceito para publicação em 2 de agosto de 2012.

² Departamento de Produção Animal, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Av. Adhemar de Barros 500, Salvador, BA 41170-110, Brasil. *Autor para correspondência: bartiraguerra@yahoo.com.br

³ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, UFBA, Rua Barão do Jeremoabo 147, Salvador BA 40170-115.

INTRODUÇÃO

Amyloodinium ocellatum Brown, 1931 é um ectoparasito que se destaca como um dos mais importantes patógenos de peixes marinhos de águas tropicais. Dinoflagelado de distribuição cosmopolita (Lom & Dyková 1992) é agente etiológico da amyloodinose, que se localiza nas brânquias ou no tegumento (Pavanelli et al. 2008). Apresenta ciclo trifásico, incluindo o trofonte, estágio parasitário, que se fixa e se alimenta nas brânquias e tecido epitelial; o tomonte, estágio reprodutivo, que realiza divisões sobre o substrato e o estágio infeccioso, o dinosporo, que nada livremente na água ao encontro de um hospedeiro susceptível (Brown 1931, 1934, Nigrelli 1936, Brown & Hovasse 1946, Cheung et al. 1981).

Os sinais clínicos iniciais geralmente são alterações comportamentais como perda de apetite, os peixes ficam se raspando contra objetos, paredes ou substrato dos tanques, aglomerados próximos aos aeradores, assim como na superfície da água, respiração rápida e natação errática. Com a evolução do processo patológico, é possível observar manchas de despigmentação, congestão e erosão das nadadeiras, hipersecreção mucosa, perda de escamas e dilatação do ventre (Paperna 1980, Reed & Francis-Floyd 1994, Ramos & Oliveira 2001, Carvalho-Varela 2005). Segundo Carvalho-Varela (2005), as brânquias são os primeiros órgãos de infecção.

Nas parasitoses intensas podem se manifestar lesões, como hiperplasia das células do epitélio respiratório com fusão das lamelas seguidas de edema, levando ao descolamento das células do epitélio respiratório, alterações degenerativas, inflamação, hiperplasia acompanhada de hemorragia e necrose e depleção das células mucosas (Paperna 1980, Scott 2000, Ramos & Oliveira 2001, Pavanelli et al. 2008).

O objetivo desse trabalho foi descrever as principais alterações desencadeadas por *Amyloodinium*, através das avaliações da prevalência e intensidade média parasitária, dos parâmetros hematológicos e histopatológicos em juvenis de bijupirá naturalmente infectados.

MATERIAL E MÉTODOS

Um grupo de 27 juvenis de bijupirá, oriundo da Fazenda Oruabo, localizada no município de Santo Amaro, Bahia e doado pela empresa Bahia Pesca S.A. foi anestesiado com Eugenol® (Laboratório Biodinâmica) na concentração de 0,5mL/L e em seguida colheu-se 1,0mL de sangue da veia caudal de cada peixe, em seringas com anticoagulante EDTA a 10%. Os peixes foram eutanasiados por secção medular para coleta de material parasitológico e histopatológico. Os procedimentos utilizados estiveram de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, recomendados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA 1991).

De cada amostra de sangue determinou-se proteína plasmática total em refratômetro, contagem de eritrócitos em câmara de Neubauer (diluição em solução de cloreto de sódio 0,65%) e volume globular (VG) pela técnica do microhematócrito (Goldenfarb et al. 1971). O volume globular médio (VGM) foi calculado de acordo com Wintrobe 1934. A contagem dos leucócitos e trombócitos totais foram realizadas nas extensões sanguíneas, coradas com May-Grünwald-Giemsa-Wright (Tavares-Dias & Moraes 2003). Os números de trombócitos e leucócitos totais foram cal-

culados, por método indireto, conforme Tavares-Dias & Faustino (1998). O muco e brânquias foram colocados em potes plásticos com formalina a 5%, após repouso de 24h o sobrenadante foi descartado, acrescentando-se álcool 70%, retirando-se três alíquotas para observação em câmara de MacMaster para a observação e quantificação dos parasitos.

A prevalência e intensidade média foram calculadas segundo Bush et al. (1997). Fragmentos de brânquias foram colocados em recipientes com solução fixadora de formol neutro, tamponado a 10%/48 horas e, posteriormente submersos em ácido fórmico a 10%/48-72 horas para descalcificação. A inclusão em parafina foi realizada de acordo com os métodos convencionais (Prophet et al. 1992). Secções de 4,0µm de espessura foram coradas pela hematoxilina-eosina (HE) (Luna 1968).

A presença de alterações histopatológicas para cada brânquia foi avaliada semiquantitativamente pelo cálculo do valor médio de alteração (VMA) e do índice de alteração histopatológica (IAH). O VMA é baseado na ocorrência das lesões, método modificado de Schwaiger et al. (1997), na qual se atribui um valor numérico para cada animal em uma escala de grau apresentado no Quadro 1. Foi calculada uma média do grau de alteração para cada grupo e foram classificados em discreto (0,1-1,0), moderado (1,1-2,0), intenso (2,1-3,0) e severo (3,1-4,0).

O IAH é baseado na severidade das lesões, modificado de Poleksic & Mitrovic-Tutundzic (1994). As alterações foram classificadas nas seguintes categorias: **estágio I** = alterações que não comprometem o funcionamento do tecido, **estágio II** = alterações mais severas e que prejudicam o funcionamento do órgão, e **estágio III** = alterações muitos severas e irreversíveis. O valor do IAH foi calculado para cada peixe pela fórmula:

$$IAH = (1 \times SI) + (10 \times SII) + (100 \times SIII),$$

sendo que, I, II e III correspondem ao número de alterações no estágio I, II e III, respectivamente.

Valores de IAH foram divididos em cinco categorias (Quadro 2).

Este índice permitiu a avaliação da severidade das lesões branquiais. No Quadro 3 estão apresentadas as alterações patológicas quanto ao tipo e os estágios, segundo Poleksic & Mitrovic-Tutundzic (1994).

Os resultados numéricos das variáveis hematológicas, parasitológicas foram submetidos à análise de variância e teste Tukey em nível de 5%. Os valores de IAH e VMA foram analisados por

Quadro 1. Critérios para pontuação das lesões em função da ocorrência das alterações nas brânquias, modificado de Schwaiger et al. (1997)

Pontuação	Ocorrência das alterações
0 (zero)	Alteração não observada
1 (discreta)	1-5 ocorrências
2 (moderada)	6-10 ocorrências
3 (intensa)	11-15 ocorrências
4 (severa)	Acima de 15 ocorrências

Quadro 2. Classificação da severidade das lesões por categoria de índice de alteração histopatológica (IAH), segundo Poleksic & Mitrovic-Tutundzic (1994)

Categorias	Severidade das alterações (órgão)
0-10	Funcionamento normal
11-20	Leve dano
21-50	Moderada alteração
51-100	Severa lesão
>100	Dano irreversível

Quadro 3. Classificação das alterações histopatológicas das brânquias quanto ao tipo e os estágios em que se inserem (Poleksic & Mitrovic-Tutundžic 1994)

Alterações histopatológicas das brânquias	Estágio
Hipertrofia e hiperplasia	
Descolamento	I
Hiperplasia do epitélio lamelar	I
Desarranjo lamelar	I
Fusão incompleta de várias lamelas	I
Fusão completa de várias lamelas	I
Ruptura do epitélio lamelar sem hemorragia	II
Ruptura do epitélio lamelar com hemorragia	II
Necrose	III
Alterações vasculares/inflamatórias	
Dilatação do seio sanguíneo	I
Congestão vascular	I
Aneurisma lamelar	II
Infiltrado mononuclear	I
Parasitas branquiais	
Presença de parasito	I

teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, também a 5%, utilizando o pacote estatístico SAEG (Ribeiro Junior 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alterações comportamentais não foram muito evidentes, alguns peixes raspavam-se contra as paredes ou substrato dos tanques, apresentavam letargia ou se mantinham próximos aos aeradores. A prevalência de *Amyloodinium ocellatum* nas brânquias foi de 100% e no muco foi de 80,8% revelando a acentuada capacidade de dispersão do agente parasitário entre os peixes, coletados de tanques de criação, e em condições normais de manejo. Observou-se grande intensidade parasitária média, embora com ampla variação individual (Quadro 4).

Preparações a fresco de brânquias, examinados ao estereomicroscópio, permitiu observar hipersecreção de muco, congestão branquial e estruturas que caracterizam as formas parasitárias de *Amyloodinium*; presença de trofontes, nas lamelas (Fig.1A,B) e muco branquiais (Fig.1C) e no muco cutâneo com formato arredondado ou oval, desprovidas de flagelo, formas descritas por Brown (1934) e que constituem o ciclo de vida trifásico do parasito (Cobb 1998), correspondendo as fases parasitária (trofontes) e de divisão ou multiplicação (quistos). A fase infectante (dinosporos) não foi evidenciada nesse estudo.

Segundo Noga (1996), o ciclo biológico desse parasito é idêntico ao do ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*. Paperna (1980) e Ramos & Oliveira (2001) também observaram a presença de trofontes na pele e brânquias de dourado e do pregado, respectivamente. Segundo Paperna & Laurencin

Quadro 4. Intensidade média parasitária, valor mínimo e máximo e desvio-padrão do número de parasitos nas brânquias e no muco de bijupirá

Órgão analisado	Intensidade média			
	Média	Valor mínimo	Valor máximo	Desvio padrão
Brânquias (nº médio de parasitos)	683,5	240,0	1120,0	278,54
Muco cutâneo (nº médio de parasitos)	67,1	0,0	120,0	33,2

(1979) as infestações da pele são raramente observadas, exceto com larvas de robalo e de dourado, para as quais a pele se constitui o sítio de eleição para fixação do parasito. Por sua vez, Montgomery et al. (1999) em estudo com *Polydactylus sexfilis*, registraram as brânquias como sendo o local de infestação primária. O presente estudo apontou as brânquias como sítio de predileção do parasito. Por outro lado, em estudos com o peixe-porco (*Anisotrenus virginicus* L.) foi evidenciado por Cheung et al. (1981), a ocorrência de trofontes na submucosa, no músculo, no tecido

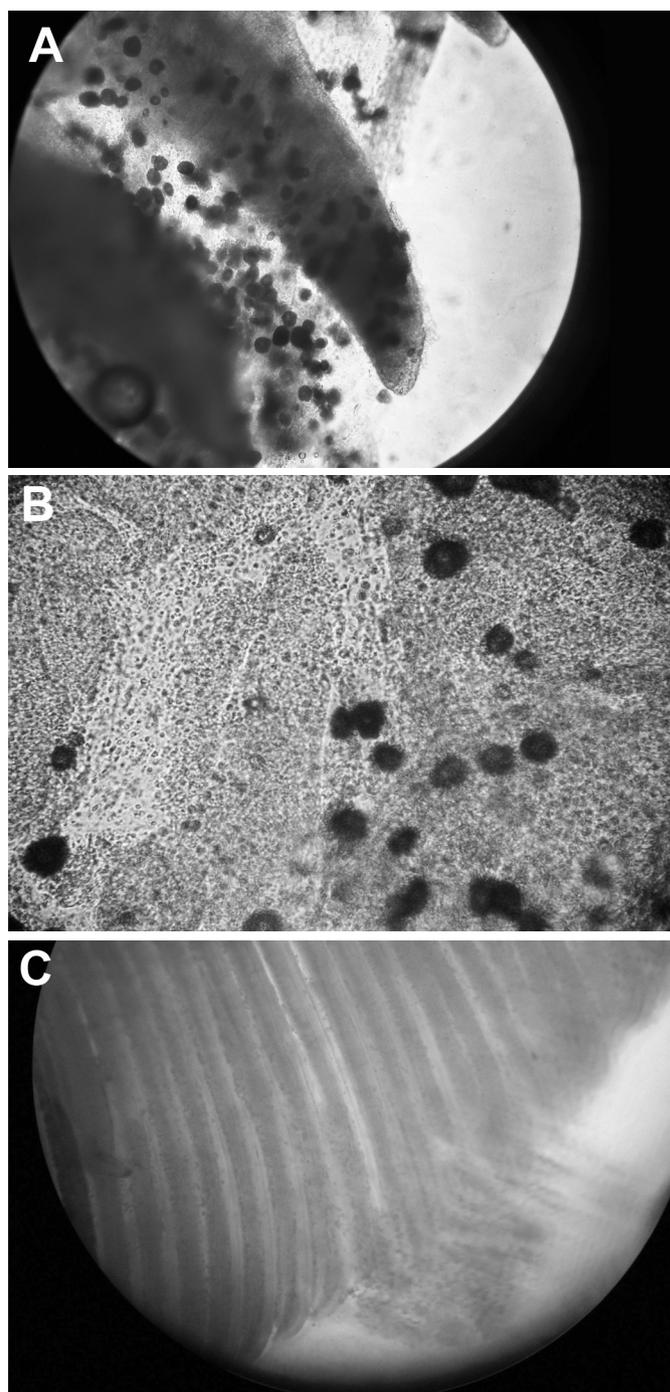


Fig.1. Brânquias de juvenis de bijupirá. Trofontes em exame a fresco vistas em (A) lamelas branquiais; (B) muco branquial; (C) lamelas branquiais, observadas em estereomicroscópio, obj. 2x.

conjuntivo da faringe e no rim cefálico. Tais ocorrências, entretanto, não foram acompanhadas por alterações significativas nas células, sugerindo que a presença interna do parasito é compatível com o hospedeiro.

Em ambientes com condições favoráveis como temperatura elevada e constante (Brown 1934), o ciclo biológico é normalmente completado no substrato do fundo do tanque. A hipersecreção de muco registrada no presente estudo e por Ramos e Oliveira (2001) reteve as formas de multiplicação e o ciclo se completou também no próprio peixe, conforme assegura Sindermann (1999).

A média dos eritrócitos 4,3 ($\times 10^6/\mu\text{L}$) (Quadro 5) foi superior aos valores encontrados nas espécies marinhas *Lates caucarifer*, *Arius subrostratus*, *Plotosus canius*, *Siganus javus*, *Mugil cephalus*, *Megalopes cyprinoide* e *Chanos chanos*, estudadas por Satheesahkumar et al. (2011, 2012) que encontraram 3,0 $\times 10^6/\mu\text{L}$; 2,7 $\times 10^6/\mu\text{L}$; 2,0 $\times 10^6/\mu\text{L}$; 2,3 $\times 10^6/\mu\text{L}$; 2,5 $\times 10^6/\mu\text{L}$; 2,9 $\times 10^6/\mu\text{L}$ e 2,6 $\times 10^6/\mu\text{L}$, respectivamente.

O valor médio do VG, (Quadro 5) foi de 26% o que corrobora com a média de 29% verificada por Denson et al. 2003 em juvenis de bijupirá mantidos em diferentes graus de salinidade. Por outro lado, essa média se mostrou inferior aos valores observados por Satheesahkumar et al. (2011, 2012) com variações entre 28 a 44, nas espécies de *Lates caucarifer*, *Arius subrostratus*, *Plotosus canius*, *Siganus javus*, *Mugil cephalus*, *Megalopes cyprinoide* e *Chanos chanos*. Pitombeira & Martins (1970) e Pitombeira et al. (1976) registraram valores médios de VG de 49,3% e 47% em estudos com o peixe cavala (*Scomberomorus cavalla*) e peixe-serra (*Scomberomorus maculatus*).

O volume globular médio (Quadro 5) de 64,2fL mostrou-se superior aos encontrados por Satheesahkumar et al. (2011) e Satheesahkumar et al. (2012) nas espécies já citadas, variando entre 11,3 a 17,5. O valor médio da proteína plasmática total foi de 5,8 (Quadro 5), resultado superior ao verificado por Denson et al. (2003) que foi de 2,9 em estudos com juvenis de bijupirá submetidos a vários graus de salinidade. Já Satheesahkumar et al. (2011) e Satheesahkumar et al. (2012) registraram uma média de 4,3 nas diversas espécies já citadas acima.

O valor de leucócitos totais (Quadro 5) foi de 3,6 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) de sangue. Pitombeira & Martins (1970) e Pitombeira et al. (1967) verificaram valores de 3,9 e 3,4 ($\times 10^6/\mu\text{L}$) de eritrócitos nas espécies de peixes cavala e peixe-serra, respectivamente. Valores diferentes, variando entres 21,6 a 32, foram encontrados em diversos peixes marinhos estudados por Satheeshkumar et al. (2011, 2012). Vale ressaltar que a metodologia adotada por esses pesquisadores consistiu na contagem direta dos leucócitos, diferindo da metodologia aplicada a esse trabalho que fez a contagem de forma indireta, conforme descrito em material e métodos desse estudo.

Segundo Feldman et al. (2000) a resposta leucocitária é uma ferramenta importante para análise do estado de saúde dos animais e tem papel relevante no desenvolvimento da imunidade humoral e celular. Tavares-Dias (2003) afirma que as diferenças no número de leucócitos ocorrem tanto entre as espécies quanto dentro da mesma espécie, podendo ser consideradas variáveis individuais naturais e

relacionadas à espécie. Todavia as características sanguíneas são reguladas em peixes teleósteos pelas características ambientais. Assim esses fatores podem notadamente influenciar os parâmetros hematológicos dos peixes. Ainda segundo Tavares-Dias (2003), a simples avaliação quantitativa dos leucócitos pode sugerir que as espécies com elevado número dessas células poderiam apresentar mais capacidade de resposta de defesa que as demais. Entretanto, é preciso considerar além dessa avaliação, as atividades qualitativas, como a capacidade de produção e liberação de leucócitos para a circulação, a fagocitose e o poder microbicida em cada espécie. Os valores de trombócitos totais foram de 5,2 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) (Quadro 5). Além de sua participação na hemostasia, os trombócitos são células que desempenham relevante papel nos mecanismos de defesa orgânica, evidenciado por sua presença marcante nos processos inflamatórios, e na atividade fagocitária Tavares-Dias (2003).

Os cálculos dos valores médios das alterações revelaram danos no tecido branquial dos animais com amyloodinose que variaram do grau discreto ao severo (Quadro 6). As análises histopatológicas das brânquias demonstraram graus de frequência variados, o que segundo Paperna (1980), pode estar associado ao nível de severidade da infestação por *Amyloodinium*. A hiperplasia do epitélio respiratório acompanhada de fusão lamelar (Fig.2A) ocorreu em resposta à ação persistente do parasito, registrada com muita frequência nos cortes histológicos, de forma focal disseminada (Fig.2B). Essas alterações também foram registradas de maneira muito evidente comprometendo as regiões apicais de lamelas adjacentes (Fig.2C). O descolamento do epitélio respiratório, provavelmente em decorrência de alteração edematosa prévia, foi observado muito frequentemente nas lamelas branquiais (Fig.2D).

Quadro 5. Valores médios dos parâmetros hematológicos de juvenis de bijupirá parasitados por *Amyloodinium* sp.

Parâmetros	Valores médios
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4,3 \pm 0,8 (2,5-5,7)
VG (%)	26,1 \pm 4,8 (20-39)
VGM (fL)	64,2 \pm 23,1 (35,2-30,4)
PPT (mg/dL)	5,8 \pm 0,29 (5,2-6,2)
Leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3,6 \pm 1,6 (1,4-6,83)
Trombócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5,2 \pm 6,1 (0-23,6)

Quadro 6. Valores médios de alteração histopatológica (VMA) e seu significado (entre parênteses) para as lesões em brânquias de juvenis de bijupirá coletados de unidade de aquicultura

Lesões	Média
Hiperplasia e hipertrofia	3,8 (severa)
Fusão incompleta das lamelas secundárias	2,4 (intensa)
Fusão completa das lamelas	1,7 (moderada)
Descolamento	3,1 (severa)
Ruptura do epitélio sem hemorragia	0,5 (discreta)
Ruptura do epitélio com hemorragia	1,1 (moderada)
Dilatação do seio venoso	3,3 (severa)
Aneurisma	0,7 (discreta)
Infiltrado inflamatório	0,7 (discreta)
Presença de muco	3,3 (severa)
Desarranjo lamelar	0,4 (discreta)
Necrose	0,8 (discreta)
Presença do parasito	0,2 (discreta)

A congestão vascular, com presença marcante nas seções analisadas, provocou dilatação do seio venoso (Fig.2E), e dilatação do canal vascular, em muitos casos gerando a formação de aneurismas (Fig.2F). A congestão do seio venoso, em alguns segmentos branquiais analisados, seguida de descolamento e de ruptura do epitélio lamelar, promoveu a formação de hemorragia ao longo dos espaços interlamelares (Fig.3A). Em algumas regiões, apesar de ocorrer ruptura com necrose do epitélio respiratório, aliada à reação inflamatória linfocítica, não houve acompanhamento de hemorragia (Fig.3B). A presença de acúmulos sanguíneos em regiões interlamelares, promoveu o desarranjo lamelar onde as estruturas filamentosas encontravam-se comprimidas, delgadas e sinuosas (Fig.3C). As formas de trofontes do parasito foram vistas principalmente entre as lamelas respiratórias ou ligadas a estas, na sua região apical ou lateral, em tamanhos variados (Fig.3D-F). Nesse estágio, o parasito mostrou-se de forma arredondada ou ovoide, envolvida por uma membrana, demonstrando grande núcleo esférico basofílico, circundado por glóbulos de proteínas e por substância refringente e citoplasma eosinofílico, conforme descrito por Brown (1931) e Brown & Hovasse (1946). Trabalhos sobre as alterações desencadeadas por *Amyloodinium* são muito escassos e os existentes não apresentam resultados quantitativos das lesões provocadas pelo parasito.

O cálculo o IAH, permitiu perceber que as lesões revelaram danos severos às brânquias. Essas alterações, contudo, segundo Poleksic et al. (1994), não esgotam a capacidade de funcionamento do órgão, podendo regredir, caso seja eliminado o agente agressor. Caso haja persistência, essas lesões podem induzir perda da função do órgão. A hiperplasia, embora não comprometa a função do órgão, pode com sua evolução provocar a fusão das lamelas e isso levar a morte do peixe por asfixia. Os valores de IAH determinados para as brânquias dos peixes iniciais variaram de 6,00 a 138,00, com média de 76,8. Os achados histopatológicos observados no bijupirá foram semelhantes aos registrados por Paperna (1980) nas espécies de robalo e dourado e por Ramos e Oliveira (2001) no pregado. Para Lom & Lawler (1973) a elevada patogenicidade de *Amyloodinium* é devido aos danos provocados pelos rizópodes ao se inserir na célula do hospedeiro, como também pelo processo de alimentação do parasito no citoplasma de sua célula. Paperna (1980), entretanto, considera que além do prejuízo imediato causado às células parasitadas e às adjacentes ao local de fixação do parasito, graves alterações histopatológicas generalizadas ocorrem ao longo de todo o tecido epitelial das brânquias.

A hiperplasia epitelial, seguida por alterações edematosas, assim como degeneração celular e necrose exten-

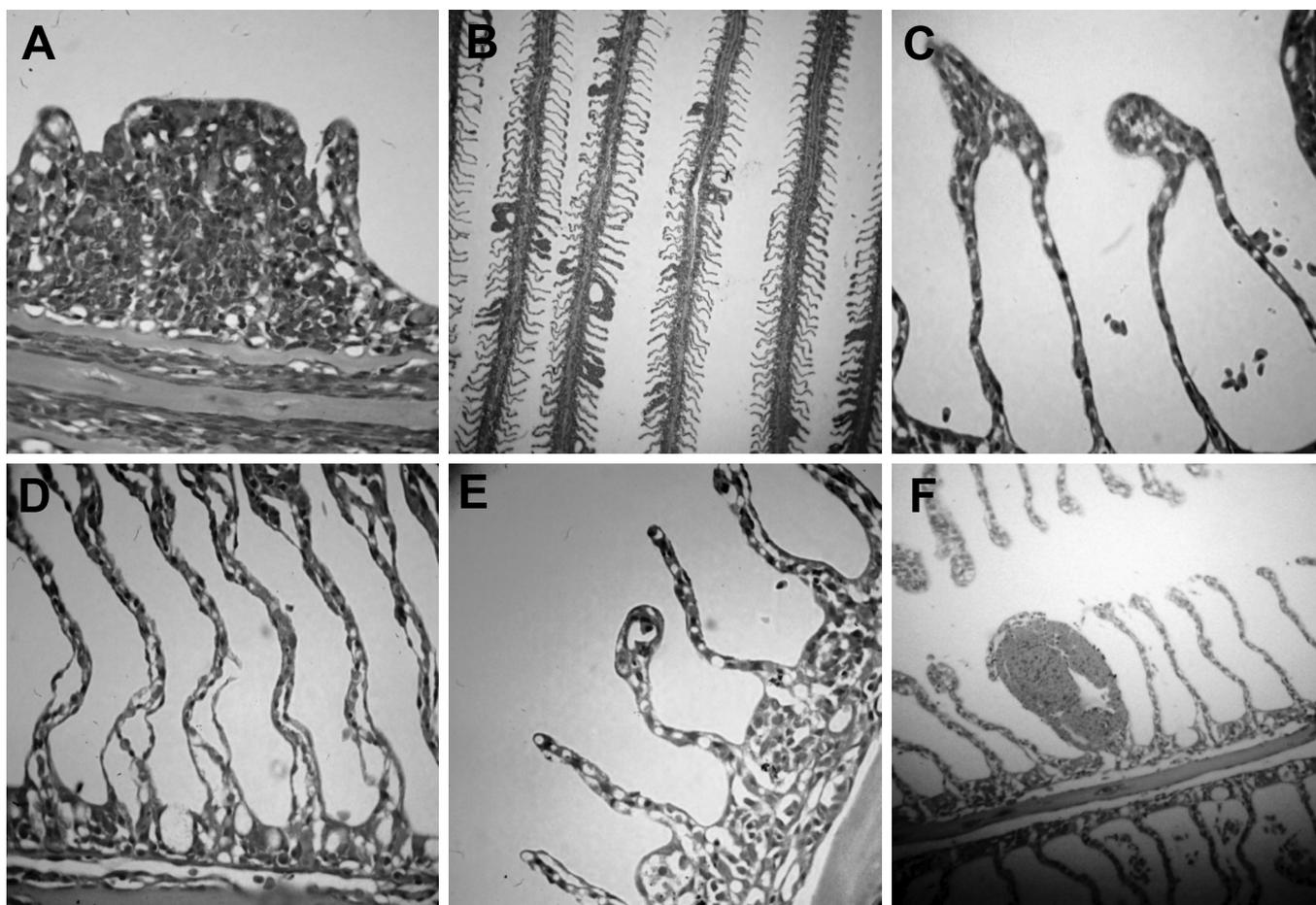


Fig.2. Seções de brânquias de bijupirás infestados com *Amyloodinium*. (A) hiperplasia e fusão de lamelas (HE, obj.1000x); (B) hiperplasia e fusão focal disseminada (HE, obj.40x); (C) fusão lamelar apical (HE, obj.1000x); (D) descolamento do epitélio respiratório (HE, obj.1000x); (E) dilatação do seio venoso (HE, obj.1000x); (F) aneurisma (HE, obj.40x).

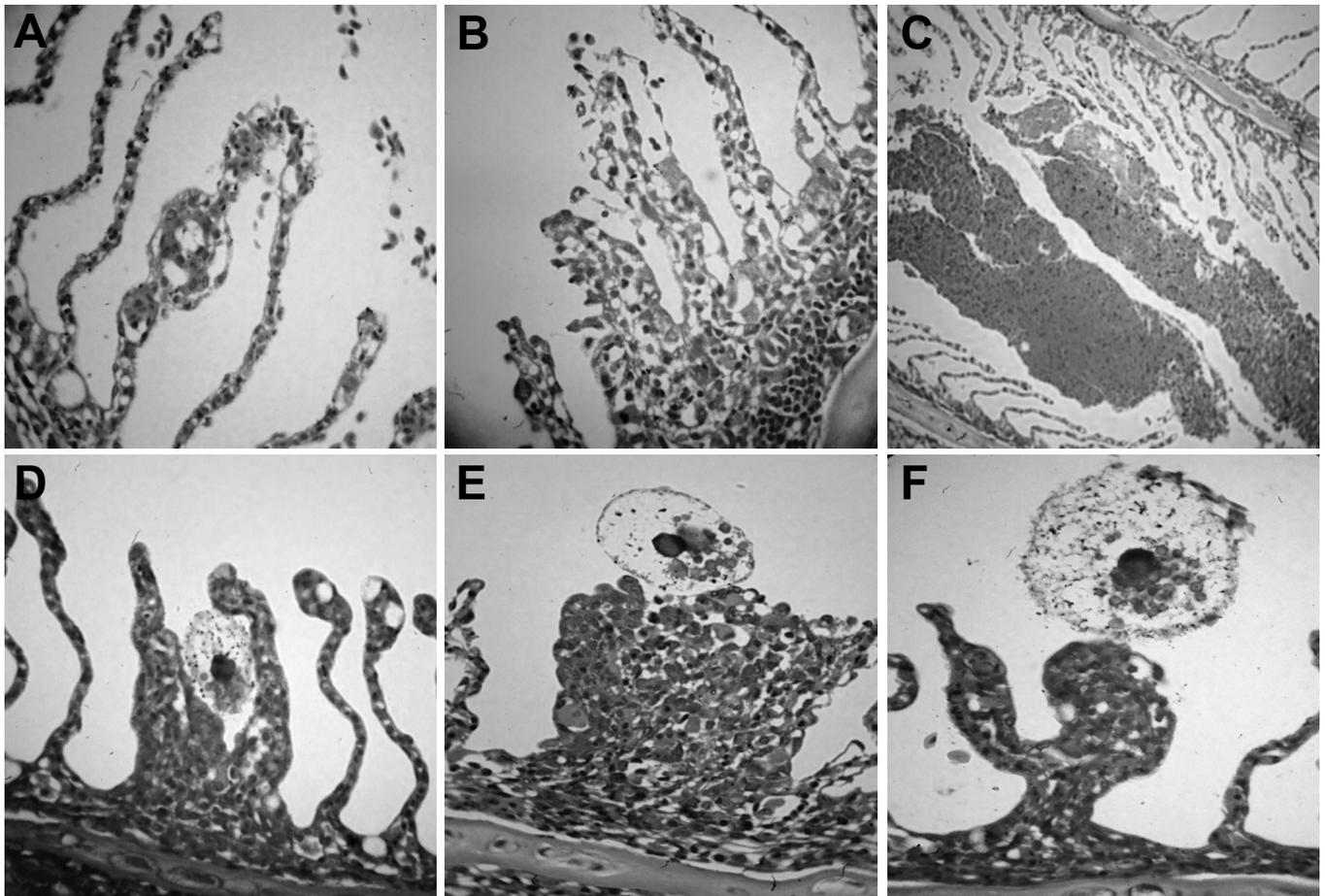


Fig.3. Secções de brânquias de bijupirás infestados com *Amyloodinium*. (A) congestão, dilatação do canal venoso, descolamento e ruptura do epitélio com hemorragia (HE, obj.100x); (B) rompimento do epitélio sem hemorragia (seta amarela) e infiltrado linfocítico (seta vermelha) (HE, obj.100x); (C) acúmulo sanguíneo interlamelar com desarranjo lamelar (HE, obj.4x); (D) trofante entre lamelas, hiperplasia e fusão com leve descolamento (HE, obj.100x); (E,F) trofontes atracadas a região apical de lamelas hiperplásicas e fusio-nadas (HE, obj.100x).

sas, são muito mais prejudiciais às brânquias e a atividade fisiológica dos peixes, do que o dano focal induzida pelo parasito. Podendo essas alterações estar relacionadas à excreção de substâncias tóxicas ou irritantes pelo parasito. Segundo Lom & Lawler (1973) *A. ocellatum* injeta fluidos líticos ou digestivos através do seu stomatopode nas células parasitadas. É provável que as alterações degenerativas e necróticas sejam mais comprometedoras do desempenho fisiológico que a agressão focal induzida pela estrutura de fixação do parasito. Esse estudo não permitiu afirmar quanto a atividade histolítica do parasito sobre a célula do hospedeiro. As lesões descritas nesse trabalho não são causadas somente pela infecção por *Amyloodinium*, visto que também se manifestam nas hipeirinfestação por outros ectoparasitos, como *Ichthyophthirius multifiliis* (Hines & Spira 1974) e *Chilodonella hexasticha* (Pavanelli et al. 2008). Segundo Paperna (1980), a diminuição ou a completa ausência de células mucosas constitui uma característica mais específica da patologia de *A. Ocellatum*. A maioria das infestações por ectoparasitos induz hiperplasia das células mucosas no tecido branquial (Hines & Spira 1974). No entanto, em *I. multifiliis* e também em infestações *Argulus* e *Ergasilus*, após um período de hi-

perplasia de células mucosas, ocorre depleção dessas, provavelmente isso se justifique pelo esgotamento do tecido em gerar células mucosas (Hines & Spira 1974). Segundo Paperna (1980), essa depleção pode ser uma característica principal induzida pelo *Amyloodinium*, devido a um declínio na capacidade de diferenciação celular do epitélio em proliferação, resultando na produção exclusiva de células epidérmicas não diferenciadas. Neste estudo, apesar gravidade das lesões nas brânquias, tal achado não pode ser confirmado.

CONCLUSÕES

O experimento assume importância por se tratar dos primeiros estudos em bijupirá que se destaca como potencial candidato ao cultivo.

A presença de *Amyloodinium ocellatum* nas brânquias dos peixes avaliados está sempre relacionada ao grau de lesão nesse local e pode ser confirmada pelos achados histopatológicos. As lesões histológicas demonstram grau de patogenidade variado sobre o epitélio branquial se manifestando entre o discreto ao severo. Dentre as lesões identificadas, a congestão foi observada em todas as secções de brânquias analisadas.

Os parâmetros hematológicos analisados servirão para compor os valores de referência para bijupirás parasitados.

Os resultados auxiliarão futuras pesquisas relativas à avaliação da sanidade dos peixes.

Agradecimentos.- À Escola de Medicina Veterinária da UFBA, à Bahia Pesca pelo fornecimento dos peixes, aos colegas do Laboratório de Sanidade dos Organismos Aquáticos (LASOA) pela colaboração para realização desse trabalho e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo incentivo à pesquisa,

REFERÊNCIAS

- Brown E.M. 1931. Note on a new species of dinoflagellate from de gills and epidermis of marine fishes. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 1:341-346.
- Brown E.M. 1934. On *Oodinium ocellatum* Brown, a parasitic dinoflagellate causing epidemic disease in marine fish. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 3:583-607.
- Brown E.M. & Hovasse R. 1946. *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931), a peridian parasitic on marine fishes: A complementary study. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 116:33-46.
- Bush A.O., Lafferty K.D., Lotz J.M. & Shostak A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms. Margolis et al. revised. *J. Parasitol.* 83:575-583.
- Carvalho-Varela M. 2005. Parasitos e Parasitoses em Piscicultura. Ordem dos Médicos Veterinários, Lisboa, Portugal. 580p.
- Cheung J.P., Nigrelli R.F. & Ruggieri G.D. 1981. *Oodinium ocellatum* (Brown, 1931) (Dinoflagellata) in the kidney and other internal tissues of pork fish, *Anisotremus virginicus* (L.). *J. Fish Dis.* 4:523-525.
- Cobb C.S., Levy M.G. & Noga E.J. 1998. Acquired immunity to amyloodiniosis in associated with an antibody response. *Diseases of Aquatic Organisms* 34:125-33.
- COBEA 1991. Princípios éticos na experimentação animal. Disponível em <<http://www.cobea.org.br/etica.htm#3>> Acesso em 20 jan. 2009.
- Denson M.R., Stuart K.R. & Smith T.I.J. 2003. Effects of salinity on growth, survival, and selected hematological parameters of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *J. World Aquacult. Soc.* 34:496-504.
- Feldman D.M., Zinkm J.G. & Jain N.C. 2000. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Donna Balado, Philadelphia.
- Goldenfar P.B., Bowyer F.P., Hall E. & Brosious E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. *Am. J. Clin. Pathol.* 56:35-39.
- Hines R. & Spira D. 1974. Ichthyophthiriasis in the mirror carp *Cyprinus carpio* (L.) III. Pathology. *J. Fish Biol.* 6:189-196.
- Lom J. & Lawler A.R. 1973. An ultrastructural study on the mode of attachment in dinoflagellates invading the gills of Cyprinodontidae. *Protistologica* 9:293-309.
- Lom J. & Dyková I. 1992. Flagellates (Phylum *Mastigophora* Diesing, 1866), p.25-74. In: *Ibid.* (Eds), Protozoan Parasites of Fishes. Elsevier Science Publishers. Aquaculture and Fisheries Science v.26. Amsterdam, Netherlands.
- Luna L.G. 1968. Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd ed. MacGraw Hill, New York. 258p.
- Montgomery D., Brock J.A. & Sato V.T. 1999. Using hydrogen peroxide for Pacific threadfin infected by *Amyloodinium ocellatum*. Regional Notes, Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, The Oceanic Institute and the University of Hawaii, 10:4-5.
- Nigrelli R.F. 1936. The morphology, cytology, and life history of *Oodinium ocellatum* Brown, a dinoflagellate parasitic on marine fishes. *Zoológica* 21:129-164.
- Noga E.J. 1996. Fish Disease: Diagnosis and treatment. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 376p.
- Paperna I. 1980. *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931) (Dinoflagellida) infestations in cultured marine fish at Eilat, Red Sea: epizootiology and pathology. *J. Fish Dis.* 3:363-372.
- Paperna I. & Laurencin F.B. 1979. Parasitic infections of sea bass, *Dicentrarchus labrax* and gilt head sea bream, *Sparus aurata*, in mariculture facilities in France. *Aquaculture* 16:173-175.
- Pavanelli G.C., Eiras J.C. & Takemoto R.M. 2008. Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. 3^a ed. Eduem, Maringá, PR. 311p.
- Pitombeira S.M. & Martins J.M. 1970. Hematology of Spanish mackerel, *Scomberomorus maculatus*. *Copeia* 1:182-186.
- Pitombeira S.M., Gomes F.V.B. & Martins J.M. 1976. Dados hematológicos da cavala (*Scomberomorus cavalla* (Cuvier)), do Nordeste brasileiro. *Bol. Zool. Biol. Mar.* 30:843-852.
- Poleksic V. & Mitrovic-Tutundzic V. 1994. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution, p.339-352. In: Müller R. & Lloyd R. (Eds), Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish. Fishing News Books, Oxford.
- Prophet E.B., Mills B., Arrington J.B. & Sobin L.H. 1992. AFIP Laboratory Methods in Histotechnology. Armed Force Registry of Pathology, Washington, DC. 278p.
- Ramos P. & Oliveira J.M. 2001. Amyloodiniosis in turbot, *Psetta maxima*. *Revta Port. Ciênc. Vet.* 46:201-205.
- Reed P. & Francis-Floyd R. 1994. *Amyloodinium* infections of marine fish. University of Florida, Gainesville, Florida Cooperative Extension Service, Fact Sheet VM-90.
- Ribeiro Junior J.I. 2001. Análises Estatísticas no SAEG. Univ. Fed. Viçosa, Viçosa, MG.
- Satheeshkumar P., Senthilkumar D., Ananthan G., Soundarapandian P. & Anisa B.K. 2011. Measurement of hematological and biochemical studies on wild marine carnivorous fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. *Comp. Clin. Pathol.* 20:127-134.
- Satheeshkumar P., Ananthan G., Senthilkumar D., Anisa B.K. & Jeevanantham K. 2012. Comparative investigation on hematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. *Comp. Clin. Pathol.* 21:275-281.
- Schwaiger J., Wande R., Adm S., Pawert M., Honnen W. & Triebkorn R. 1997. The use of histopathologic indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *J. Aquatic Ecosystem Stress Recovery* 6:75-86.
- Scott P. 2000. Terapêutica em acuicultura, p.137-160. In: Brown L. (Ed.), *Acuicultura, para Veterinários: produção y clínica de peces*. Acribia, Zaragoza, Espanha.
- Sindermann C.J. 1999. Disease and parasite problems in marine aquaria, p.259-277. In: *Ibid.* (Ed.), *Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish*. 2nd ed. Academic Press, New York.
- Tavares-Dias M. 2003. Variáveis hematológicas de teleosteos brasileiros de importância zootécnica. Tese de Doutorado em Aquicultura, Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP. 209p.
- Tavares-Dias M. & Faustino C.D. 1998. Parâmetros hematológicos da Tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) em cultivo extensivo. *Ars Vet.* 14:254-263.
- Tavares-Dias M. & Moraes F.R. 2003. Características hematológicas de *Tilapia rendalli* Boulenger, 1986 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em "Pesque-Pague" de Franca, São Paulo, Brasil. *Biosci. J.* 19:103-110.
- Wintrobe M.M. 1934. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematol.* 51:32-49.