

Eficácia do florfenicol e da oxitetraciclina no controle de *Aeromonas hydrophila* em pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

[Efficacy of the florfenicol and of the oxytetracycline in the control in *Aeromonas hydrophila* in pacu (*Piaractus mesopotamicus*)]

S.P. Carraschi^{1,2}, C. Cruz², J.G. Machado Neto³, M.P. Castro⁴, N.L. Bortoluzzi⁴, A.C.F. Gírio²

¹Centro de Aquicultura da Unesp - Campus de Jaboticabal - Jaboticabal, SP

²Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia - NEPEAM

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

Via de Acesso Prof. Dr. Paulo Donato Castellani, s/nº, Zona Rural

14884-900 – Jaboticabal, SP

³Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional (Laroseg)

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp de Jaboticabal - Jaboticabal, SP

⁴Laboratório de Ictiopatologia - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Jaboticabal, SP

RESUMO

Determinou-se a concentração eficaz de oxitetraciclina (OTC) e florfenicol (FFC) no tratamento de *Aeromonas hydrophila* em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Os pacus foram submetidos à captura duas vezes ao dia por quatro dias e em seguida foram infectados com *A. hydrophila* ($2,4 \times 10^7$ bactéria mL⁻¹). Os tratamentos utilizados foram: controle sem infecção (CSI), controle com infecção (CCI) e tratados com 110,0; 140,0 e 170,0mgOTC.kg⁻¹, e 5,0; 10,0 e 15,0mgFFC.kg⁻¹. As variáveis de qualidade da água foram monitoradas diariamente. Após o tratamento, no CSI dos dois testes, ocorreu 100% de sobrevivência. Nos testes com OTC, no CCI, a sobrevivência foi de 29,2%; em 110,0mg.kg⁻¹, 37,5%; em 140,0mg.kg⁻¹, 29,2%; e em 170,0mg.kg⁻¹, 50,0%. Nos testes com FFC, foi eficaz com 10,0mg.kg⁻¹, e no CCI a sobrevivência foi de 76,9%; em 5,0mg.kg⁻¹, 81,81%; em 10,0mg/L.kg⁻¹, 100% e em 15,0mg.kg⁻¹, 87,5%. A OTC, em concentrações de até 170,0mg.kg⁻¹ de ração, não é eficaz para o controle de *A. hydrophila* em pacu, e o FFC é eficaz na concentração de 10,0mg.kg⁻¹ e ambos não alteram as variáveis de qualidade de água.

Palavras-chave: tratamento, doenças, bactérias, antibióticos

ABSTRACT

The effective concentration of antibiotics OTC and FFC in the treatment of *Aeromonas hydrophila* in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). The pacus were subjected to capture twice daily (four days) and then were infected with *A. hydrophila* (2.4×10^7 bacteria mL⁻¹). The treatments were: control without infection (CSI), with infection control (CCI) and 110.0, 140.0 and 170.0mgOTC.kg⁻¹, and 5.0, 10.0 and 15.0mgFFC.kg⁻¹. The variables of water quality were monitored daily. After treatment, the CSI of the two experiments was 100% survival. In tests with OTC, the CCI was 29.17%, in 110.0mg.kg⁻¹, 37.5%, in 140.0mg.kg⁻¹, 29.17% and in 170.0mg.kg⁻¹, 50.0%. The FFC was effective with 10.0 mg kg⁻¹, and in the CCI the survival was 76.9%, in 5.0mg.kg⁻¹, 81.81%, in 10.0mg/L.kg⁻¹, 100% and in 15.0mg.kg⁻¹, 87.5%. The OTC in concentrations of up to 170.0 mg.kg⁻¹ of ration is not effective in the control of *A. hydrophila* in pacu and the FFC is effective in the concentration of 10.0mg.kg⁻¹ and this antibiotic does not change the variables of water quality.

Keywords: treatment, diseases, bacteria, antibiotics

Recebido em 19 de maio de 2010

Aceito em 6 de abril de 2011

E-mail: pacarraschi@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

As bacterioses destacam-se como importantes fatores limitadores da produtividade, pois provocam atraso no crescimento e alta taxa de mortalidade (Ranzani-Paiva *et al.*, 1997), e são consideradas um dos principais problemas da aquicultura em sistemas de cultivo intensivo. As bactérias do gênero *Aeromonas* estão entre os patógenos que mais causam perdas econômicas, sendo responsáveis por grande parte das doenças dos animais de cultivo. Elas são encontradas em diversos *habitats* e as espécies que causam doenças em peixes são: *A. hydrophila*, *A. veronii*, *A. sobri*, *A. caviae*, *A. allosaccharophila* e *A. salmonicida* (Austin e Austin, 1987). A *A. hydrophila*, um bastonete móvel gram-negativo, causa septicemia hemorrágica em peixes, caracterizada por apresentar lesões superficiais e hemorragias focais como petéquias, e exoftalmia. Internamente, pode haver acúmulo de líquido ascítico, anemia e lesões no fígado e rins, como pontos de necrose (Austin e Austin, 1987).

Entre os antibióticos, a oxitetraciclina (OTC) e o florfenicol (FFC) são os mais utilizados para tratar infecções causadas por bactérias gram-negativas em peixes (Rigos e Troisi, 2005). A OTC apresenta amplo espectro de ação contra os patógenos de peixes e baixa toxicidade (Barragy, 1994) e é eficaz no tratamento de colunariose e aeromonose (Bullock *et al.*, 1986; Thomas-Jinu e Goodwin, 2004; Andrade *et al.*, 2006). O FFC apresenta eficácia nas infecções por *A. salmonicida subsp. salmonicida*, *A. hydrophila*, *F. psychrophilum*, *Yersinia ruckeri* e *Vibrio anguillarum* (Fukui *et al.*, 1987; Nordmo *et al.*, 2006).

Este trabalho teve como objetivos determinar a concentração dos antibióticos oxitetraciclina (Terramicina®) e florfenicol (Aquaflor®) no tratamento da infecção experimental por *A. hydrophila* em pacu e avaliar as variáveis de qualidade da água durante o tratamento com esses xenobióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Pacus, com média de peso de 33,08±4,97 gramas, foram mantidos em caixa de 400 litros, e duas vezes ao dia, durante quatro dias, foram submetidos à captura. Os peixes foram retirados da água por dois minutos como estímulo

estressante como forma de causar imunossupressão (Urbinati *et al.*, 2004). Após este período de indução de estresse, foram infectados com *A. hydrophila* por injeção intracelomática de $2,4 \times 10^7$ bactéria mL⁻¹ (escala McFarland). Vinte e quatro horas após a infecção foram observados os sinais clínicos causados pela bactéria, como: dilatação do celoma, exoftalmia, lesões cutâneas bilaterais avermelhadas com erosão da pele e corrosão da nadadeira caudal, após o que se iniciou o tratamento com os antibióticos.

Foram realizados dois experimentos, um para cada antibiótico. No experimento com OTC, foram utilizados 104 peixes, e com FFC 64 peixes. Os tratamentos utilizados foram: controle sem infecção (CSI) – peixes alimentados com ração comercial –, controle com infecção (CCI) – peixes alimentados com ração comercial – e três concentrações de cada antibiótico – peixes alimentados com ração comercial –, com três repetições por tratamento e em delineamento inteiramente ao acaso. Os antibióticos utilizados foram a Terramicina®, com 5,5gOTC.100g⁻¹, e o Aquaflor®, com 500gFFC.kg⁻¹. Para os grupos tratados com antibióticos, foi utilizada a ração da Poli Nutri (32% PB) e em cada quilo de ração foram acrescentados, de forma homogênea, 110,0; 140,0 e 170,0mg de OTC.kg⁻¹ ou 5,0; 10,0 e 15,0mg de FFC.kg⁻¹ dissolvidos em 2% de óleo vegetal. Essa ração foi mantida em temperatura ambiente por quatro dias para secagem. O tratamento com OTC teve duração de sete dias, e o com FFC 10 dias, à taxa de 2,0% do peso corporal ao dia e manutenção do fluxo de água constante de 9,0ml.s⁻¹.

O antibiótico foi considerado eficaz quando apresentou, no mínimo, 90% de eficácia, de acordo com a Portaria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil n. 48 (Brasil, 1997), relativo a parasitos, adaptada para bactérias.

As condições iniciais das variáveis de qualidade da água foram: temperatura 25±2°C; pH entre 6,5 e 7,5; O₂D entre 7,0 e 8,0mgL⁻¹ e condutividade elétrica entre 180,0 e 185,0 mScm⁻¹, e foram monitoradas diariamente durante o tratamento, duas vezes ao dia (manhã e tarde).

Esse projeto foi aceito pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp de Jaboticabal, protocolo nº 028409-08.

RESULTADOS

No experimento com OTC, a taxa de sobrevivência no CSI foi de 100%. A OTC não foi eficaz no controle da infecção causada por *A. hydrophila*. Após sete dias de alimentação no CCI, a taxa de sobrevivência foi de 29,2%; em 110,0mg.kg⁻¹, 37,5%; em 140,0mg.kg⁻¹, 29,2% e em 170,0mg.kg⁻¹, 50,0%. Do total de 104 organismos que iniciaram o experimento com OTC somente 43 sobreviveram após sete dias de tratamento, mesmo se considerando os peixes do CCI e os tratados.

Uma hora após o arraçamento com OTC, ainda se observava sobra de alimento, indicando baixo consumo de ração.

No experimento com FFC, a taxa de sobrevivência no CSI foi também de 100%. Após 10 dias de alimentação no CCI, a taxa de sobrevivência foi de 76,9%; em 5,0mg.kg⁻¹, 81,8%; em 10,0mg/L.kg⁻¹, 100%; e em 15,0mg.kg⁻¹, 87,5%. Do total de 64 peixes que iniciaram o experimento com FFC, 57 permaneceram até o final de 10 dias.

No tratamento com FFC, somente no primeiro e no segundo dia de alimentação, ocorreu pequena sobra de ração. Após esse período, o consumo foi total (2,0% do peso corporal).

Após o tratamento com os dois antibióticos, ocorreu melhora dos sinais clínicos, com cicatrização da epiderme. Alguns sinais, como o avermelhamento da periferia da ferida, e algumas lesões com erosão da pele ainda estavam presentes em alguns animais do CCI e nos do tratamento com OTC. Isso pode ser atribuído ao fato de que esse antibiótico não foi eficaz no controle de *A. hydrophila* e o CCI não ocorreu medicação; assim, as lesões não apresentaram total cicatrização.

As variáveis de qualidade de água não foram alteradas durante o tratamento com os antibióticos em nenhum dos períodos de avaliação (manhã e tarde), estando dentro dos parâmetros iniciais dos experimentos.

DISCUSSÃO

O pequeno consumo de ração nos tratamentos com OTC sugere baixa palatabilidade. Rigos *et al.* (1999), ao trabalharem com ração adicionada OTC com 5% de óleo, também observaram baixa palatabilidade para *Dicentrarchus labrax*. Segundo esses autores, a palatabilidade é maior quando a OTC é incluída durante a preparação da ração, o que poderia aumentar a eficácia desse antibiótico.

A OTC foi 100% eficaz para outras espécies, incluindo para *Salvelinus fontinalis* para tratar úlcera (Snieszko *et al.*, 1951); para *I. punctatus* para tratar aeromonose, com 50,0mg.kg⁻¹ (Oxytetracycline, 1986) e em *I. punctatus* no tratamento de *F. columnare*, com 80,0mg.kg⁻¹ (Tomas-Jinu e Goodwin, 2004). Porém, neste trabalho a maior eficácia observada foi de 50% em 170,0mg.kg⁻¹. Talvez essa baixa eficácia possa ser pelo efeito da infecção, pela perda de apetite ou pela baixa palatabilidade da ração.

As concentrações recomendadas encontradas na literatura estão entre 50,0mg.kg⁻¹ e 1750mg.kg⁻¹ (Scott, 1993; Namdari *et al.*, 1996; Aquaculture..., 1998; Ueno *et al.*, 2004; Wang e Li, 2004), dependendo da bactéria, da espécie de peixe e das variáveis físico químicas da água. Mesmo se utilizando concentrações entre esse intervalo de concentração, não foi obtida eficácia de controle de infecção experimental de *A. hydrophila* em pacu.

A concentração de 5,0mg de FFC não foi suficiente para melhorar o estado debilitado dos peixes infectados com *A. hydrophila* e refazer a homeostasia (Darwish, 2007). A de 10,0mg de FFC foi suficiente para promover a homeostasia, apresentando 100% de eficácia, ou seja, nenhum peixe morreu (Aquaflor, 2010b). Já 15,0mg de FFC foi uma concentração muito alta, sendo que o antibiótico começa a competir pelo sítio metabólico e não consegue reestabelecer o seu estado saudável por despender muita energia para metabolizar o antibiótico.

A sobrevivência foi maior em pacu tratado com 10,0mg.kg⁻¹ (100%) do que em salmão para tratar *A. salmonicida* (87%) (Inglis *et al.*, 1991). Para o controle de *Streptococcus iniae* em *Morone chrysops* x *M. saxatilis*, a eficácia dessa mesma concentração também foi menor (69,2%) do que

para o pacu; porém, com 5,0mg.kg⁻¹ e 15,0mg.kg⁻¹, a eficácia foi maior (86,7% e 94,2%, respectivamente) do que para o tratamento de aeromonose em pacu (Darwish, 2007), indicando que a concentração eficaz de tratamento de *S. iniae* está entre 10,0 e 15,0mg.kg⁻¹, enquanto, para o pacu, foi de 10mg.kg⁻¹.

A concentração eficaz de 10,0mg.kg⁻¹ de FFC está de acordo com a indicada para *I. punctatus* para tratar *E. ictaluri* (Gaikowski et al., 2003; Aquaflor, 2010b); para salmão para tratar furunculoses (Inglis et al., 1991; Nordmo et al., 2006); para *G. morhua* para tratar vibriose (Seljestokken et al., 2006) e para *O. niloticus* para tratar *A. hydrophila* (Aquaflor, 2010a).

CONCLUSÃO

A OTC, em concentrações de até 170,0mg.kg⁻¹ de ração, não é eficaz para o controle de *A. hydrophila* em pacu, e o FFC é eficaz na concentração de 10,0mg.kg⁻¹ para o controle e o tratamento de infecção por *A. hydrophila* em pacu. O uso desses antibióticos não alterou as variáveis de qualidade de água.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pelo auxílio ao projeto de pesquisa, proc. nº 2008/51900-3, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida, proc. nº 136523/2009-9.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L.S.; ANDRADE, R.L.B.; BECKER, A.G. et al. Survival and behavior of silver catfish, *Rhamdia quelen*, submitted to antibiotics and sodium chloride treatments. *Cienc. Rural*, v.36, p.1004-1007, 2006.

AQUACULTURE Drugs.” In: Fish and fishery products hazards and controls guide. (2.ed.). FDA: Washington: FDA,1998. Cap.11, p.115-132.

AQUAFLO. Florfenicol. Technical Monograph for catfish health professionals. Schering-Plough Animal Health, 2010a 2p. Disponível em: http://www.aquaflor-usa.com/pdfs/Catfish_Brochure.pdf. Acessado em: 2 dez. 2009.

AQUAFLO. Florfenicol. Technical Monograph for catfish health professionals. Schering-Plough Animal Health, 2010a 36p. Disponível em: http://www.aquaflor-usa.com/pdfs/Catfish_Brochure.pdf. Acessado em: 28 nov. 2009.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D.A. *Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish*. Chichester: Ellis Horwood Limit, 1987. 171-173p.

BARRAGY, T.B. (Ed.). *Veterinary drug therapy* Malvern, USA: Lea & Febinger, 1994. 264-275p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria, n. 48, de 12 de maio de 1997. Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. p.15, 1997.

BULLOCK, G.L.; HSU, T.C.; SHOTTS, E.B.J.R. Columnaris disease of fishes. Washington: Fish and Wildlife Service Fish Disease Leaflet, 1986. p.9.

DARWISH, A.M. Laboratory efficacy of florfenicol against *Streptococcus iniae* infection in sunshine bass. *J. Aquat. Anim. Health*, v.19, p.1-7, 2007.

FUKUI, H.; FUJIHARA, Y.; KANO, T. In vitro and in vivo antibacterial activities of florfenicol, a new fluorinated analog of thiamphenicol, against fish pathogens. *Fish Pathol.*, v.22, p.201-207, 1987.

GAIKOWSKI, M.P.; WOLF, J.C.; ENDRIS, R.G.; GINGERICH, W.H. Safety of aquaflor (florfenicol, 50% type a medicated article), administered in feed to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Toxicol. Pathol.*, v.3, p.689-697, 2003.

INGLIS, V.; RICHARDS, R.H.; VARMA, K.J. et al. Florfenicol in Atlantic salmon, *Salmo salar* L, parr: tolerance and assessment of efficacy against furunculosis. *J. Fish Dis.*, v.14, p.343-351, 1991.

NAMDARI, R.; ABEDINI, S.; LAW, F.C.P. Tissue distribution and elimination of oxytetracycline in seawater chinook and salmon following medicated-fees treatment. *Aquaculture*, v.144, p.27-38, 1996.

NORDMO, R.; VARMA, K.J.; SUTHERLAND, I.H. et al. Florfenicol in Atlantic salmon, *Salmon salar* L.: field evaluation of efficacy against furunculosis in Norway. *J. Fish Dis.*, v. 17, p.239-244, 2006.

OXYTETRACYCLINE. In: *Code of Federal regulations*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1986. p.586-589.

Eficácia do florfenicol...

- RANZANI-PAIVA, M.J.T.; ISHIKAWA, C.M.; CAMPOS, B.E.S. *et al.* Hematological characteristics associated with parasitism in mullets, *Mugil platanus*, from the estuarine region of Cananéia, São Paulo, Brasil. *Rev. Bras. Zool.*, v.14, p.329-339, 1997.
- RIGOS, G.; ALEXIS, M.; NENGAS, I. Leaching, palatability and digestibility of oxolinic acid and oxytetracycline in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) *Aquac. Res.*, v.30, p.1-7, 1999.
- RIGOS, G.; TROISI, G.M. Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: A synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications. *Rev. Fish Biol. Fish.*, v.15, p.53, 2005.
- SCOTT, P. Therapy in aquaculture. In: BROWN, L. (Ed.), *Aquaculture for veterinarians*. Oxford: Pergamon Press, 1993. 131-153p.
- SELJESTOKKEN, B.; BERGH, O.; MELINGEN, G.O.; RUDRA, H. *et al.* Treating experimentally induced vibriosis (*Listonella anguillarum*) in cod, *Gadus morhua* L., with florfenicol. *J. Fish Diseases*, v.29, p.737-742, 2006.
- SNIESZKO, S.F.; FRIDDLE, S.B.; GRIFFIN, P.J. Successful treatment of ulcer disease in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) with terramycin. *Sci*, v.113, p.2, 1951.
- THOMAS-JINU, D.C.S.; GOODWIN, A.E. Acute columnaris infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque): efficacy of practical treatments for warmwater aquaculture ponds. *J. Fish Dis.*, v.27, p.23-28, 2004.
- UENO, R.; KINOSHITA, A.; WAKABAYASHI, J. Comparative pharmacokinetics of oxytetracycline in eel and its fate in a closed aquatic environment. *Aquaculture*, v.235, p.53-63, 2004.
- URBINATI, E.C.; ABREU, J.S.; CAMARGO, A.C.S. *et al.* Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. *Aquaculture*, v.229, p.389-400, 2004.
- WANG, Q.; LI, J. Tissue distribution and elimination of oxytetracycline in perch *Lateolabrus japonicus* and black seabream (*Sparus macrocephalus*) following oral administration. *Aquaculture*, v.237, p.31-40, 2004.