

PRINCIPAIS GÊNEROS DE BACTÉRIAS IDENTIFICADAS POR ESPECTOMETRIA DE MASSA MALDI-TOF CAUSANDO DOENÇAS CLÍNICAS EM PEIXES ORNAMENTAIS

Pedro Henrique Magalhães CARDOSO^{1,2}, Simone de Carvalho BALIAN¹, Vasco Túlio Moura GOMES¹, Carolina Helena de OLIVEIRA¹, Luisa Zanolli MORENO¹, Andrea Micke MORENO¹

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, Brasil

²Endereço/Address: Avenida Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Butantã – CEP: 05508-270 – São Paulo – SP – Brasil.
e-mail: pedrohenriquemedvet@usp.br

Palavras-chave: Saúde animal; peixes ornamentais; infecção bacteriana; MALDI-TOF

INTRODUÇÃO

Doenças bacterianas são comuns em peixes ornamentais e mais frequentemente associadas a bactérias ubíquas do ambiente aquático. Geralmente essas bactérias são patógenos oportunistas e secundários ao estresse como manejo inadequado, transporte incorreto, má qualidade de água, etc. Raramente, as bactérias são causas primárias de doenças em peixes ornamentais de aquário. A maioria das bactérias que acometem os peixes são gram-negativas. Os gêneros mais comuns são *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Shewanella* e *Vibrio* (ROBERTS *et al.*, 2009). Algumas bactérias isoladas em peixes ornamentais tem potencial zoonótico, diversos casos de patógenos em humanos foram isolados de peixes de aquário, reservatório de água e infecções associados a manutenção de aquário (BEAZ-HIDALGO *et al.*, 2015).

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 141 peixes moribundos com sinais clínicos de exoftalmia e opacidade de córnea, lesões ulcerativas hemorrágicas e histórico de mortalidade, foram coletados em uma distribuidor na cidade de São Paulo, estado de São Paulo, Brasil. As amostras foram semeadas em ágar MacConkey e ágar Sangue. As colônias selecionadas foram rastreadas por ionização por dessorção a laser assistida por espectrometria de massa (MALDI-TOF MS). A preparação da amostra, processamento e análise de dados foram feitos como previamente descrito por HIJAZIN *et al.* (2012).

RESULTADOS

Os animais positivos para isolamento bacteriano apresentaram as seguintes condições clínicas: septicemia (41,0%), lesão ocular e septicemia (30,3%), lesão de pele (15,6%) e lesão de pele e septicemia (13,1%). Entre os animais positivos, 57 (46,7%) apresentaram infecção causadas por um único gênero bacteriano, enquanto os demais 53,3% apresentaram infecção mista. Dois a cinco gêneros bacterianos diferentes foram identificados a partir de amostras de animais com infecção mista. Entre os 17 gêneros identificados, apenas quatro compreendiam espécies Gram-positivas (*Enterococcus*, *Kocuria*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*). Dos 122 animais positivos para isolamento foram obtidos um total de 221 cepas bacterianas. Os gêneros de maior frequência foram: *Aeromonas* (37,6%), *Shewanella* (11,8%), *Citrobacter* (10,4%) e *Vibrio* (7,7%), que compuseram 67,5% das cepas identificadas.

DISCUSSÃO

Apesar dos diferentes perfis de infecção identificados, não foi possível correlacionar a presença de lesões com as bactérias isoladas e as espécies animais do estudo. Sugerimos que as principais bactérias responsáveis por causar sinais clínicos de lesões de úlcera de pele, lesões oculares e septicemia no grupo de animais foram *Aeromonas*, *Shewanella*, *Citrobacter* e *Vibrio*. A descrição clínica corrobora com estudos anteriores em todo o mundo, embora não haja relação direta entre sinais clínicos e bactérias específicas (ROBERTS *et al.*, 2009; GRIM *et al.*, 2013; GAUTHIER, 2015).

Enterococcus, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Plesiomonas*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas*, *Kocuria*, *Micrococcus*, *Edwardsiella*, *Kluyvera* e *Pandoraea* foram isolados em menor número de peixes doentes que podem pertencer à microbiota normal de peixes e / ou ao ecossistema aquático (EL-JENI *et al.*, 2016; KSENIJA *et al.*, 2016; KSENIJA *et al.*, 2016 GIRIJAKUMARI *et al.*, 2018; SHARIFUZZANA e AUSTIN, 2009; SHARIFUZZAMAN *et al.*, 2018).

Para os quatro principais gêneros identificados através da MALDI-TOF MS no estudo, os sinais clínicos corroboram com a literatura mundial. Surtos de doença no atacadista foram mais predominantes na primavera e no verão, meses quentes no sudeste do Brasil. A alta temperatura, aglomeração de animais e alta densidade em aquários, aumentam a proliferação bacteriana que pode infectar e causar doenças em peixes fracos (ROBERTS *et al.*, 2009).

Portanto, com o aprimoramento de métodos microbiológicos rápidos para diagnóstico e identificação bacteriana adequados, como MALDI-TOF, doenças em estabelecimentos de

aquicultura de peixes ornamentais podem ser controladas e medidas de biossegurança para prevenir a disseminação de doenças podem ser adotadas em situações de surtos.

REFERÊNCIAS

- BEAZ-HIDALGO, R.; AGÜERIA, D.; LATIF-EUGENÍN, F.; YEANNES, M. I.; FIGUERAS, M. J. 2015 Molecular characterization of *Shewanella* and *Aeromonas* isolates associated with spoilage of Common carp (*Cyprinus carpio*). 2015. *FEMS Microbiology Letters*, Reus, 362(1): 1–8.
- EL-JENI, R., EL BOUR, M., CALO-MATA, P., BÖHME, K., FERNÁNDEZ-NO, I. C., BARROS-VELÁZQUEZ, J., BOUHOUALA-ZAHAR, B. In vitro probiotic profiling of novel *Enterococcus faecium* and *Leuconostoc mesenteroides* from Tunisian freshwater fishes. 2016. *Canadian Journal of Microbiology*, 62(1), 60–71.
- GAUTHIER, D. T. Bacterial zoonoses of fishes: A review and appraisal of evidence for linkages between fish and human infections. 2015. *The Veterinary Journal*, Virginia, 203(1): 27–35.
- GRIM, C. J.; KOZLOVA, E. V.; SHA, J.; FITTS, E. C.; LIER, C. J. Van; KIRTLEY, M. L.; JOSEPH, S. J.; READ, T. D.; BURD, E. M.; TALL, B. D.; JOSEPH, S. W.; HORNEMAN, A. J.; CHOPRA, A. K.; SHAK, R. 2013 Characterization of *Aeromonas hydrophila* Wound Pathotypes by Comparative Genomic and Functional Analyses of Virulence Genes. *Mbio.Asm.Org*, Maryland. 4(2): 1–13.
- KSENIJA, A., JELENA, A., DUŠAN, M., SVETLANA, C., ANA, B., MARIO, C., DUŠAN, M. Differentiation between *Pseudomonas* and *Stenotrophomonas* species isolated from fish using molecular and Maldi-Tof method. 2016. *Acta Veterinaria*, 66(3), 304–316.
- HIJAZIN M, A. J.; LÄMMLER C, W. T.; HASSAN AA, T. M.; KOSTRZEWA M, P.-B. E.; M., Z. 2012 Identification of *Trueperella* (*Arcanobacterium*) *bernardiae* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analysis and by species-specific PCR. *J Med Microbiol*, 61: 457–459.
- RAJAGOPALAN GIRIJAKUMARI, N., ETHIRAJA, K., NARAYANASAMY MARIMUTHU, P. In vitro and in vivo evaluation of probiotic properties of *Enterobacter cloacae* in Kenyi cichlid, *Maylandia lombardoi*. 2018. *Aquaculture International*, 26(4), 959–980.
- ROBERTS, H. E.; PALMEIRO, B.; WEBER, E. S. 2009 Bacterial and parasitic diseases of pet fish. *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice*, 12(3):609–38.
- SHARIFUZZAMAN, S. M., AUSTIN, B. 2009 *Kocuria* SM1 controls vibriosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). 2009. *Journal of Applied Microbiology*.
- SHARIFUZZAMAN, S. M., RAHMAN, H., AUSTIN, D. A., AUSTIN, B. (2018). Properties of Probiotics *Kocuria* SM1 and *Rhodococcus* SM2 Isolated from Fish Guts. 2018. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10(3), 534–542.