



Epistilíase:

uma doença emergente no Brasil

Por:

Santiago Benites de Pádua¹, santiagopadua@prevet.com.br
Roney Nogueira de Menezes Filho¹, roneynogueira@prevet.com.br
José Dias Neto¹, josedias@prevet.com.br
Márcia Mayumi Ishikawa², marcia@cpao.embrapa.br
Gabriela Tomas Jerônimo³, gabriela@cca.ufsc.br
Maurício Laterça Martins³, mlaterca@cca.ufsc.br
Laura Roberta Pinto Utz⁴, laura.utz@puccs.br

¹PREVET Sanidade Aquícola

²Embrapa Agropecuária Oeste, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA

³Laboratório AQUOS- Sanidade de Organismos Aquáticos, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

⁴Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

O aumento da incidência da epistilíase foi constatado a partir de estudos realizados entre 2000 e 2012 nas regiões sul, sudeste, centro-oeste e nordeste, que acabaram por revelar um aumento significativo da prevalência do protozoário *Epistylis* em peixes cultivados no Brasil. Ao contrário dos tricodínídeos e dos quilodoneídeos, ectoparasitas abordados anteriormente na *Panorama da AQUICULTURA*, cujas patogenias estavam relacionadas à sua movimentação sobre a pele dos peixes, o *Epistylis* se distingue pela sua forma peculiar de causar problemas, ao abrigar na sua estrutura peduncular, bactérias cuja produção de enzimas acabam por provocar sérias lesões nos peixes. Os aspectos da propagação desses animais, suas preferências, a forma como agem em seus hospedeiros e as medidas preventivas que podem ser adotadas pelos piscicultores, são temas abordados neste artigo.

A piscicultura de água doce tem se desenvolvido de forma acelerada no Brasil, especialmente nos últimos anos. O perfil de espécies cultivadas tem apresentado diferenças quando avaliados os últimos 10 anos, onde peixes nativos emergiram, alguns híbridos interespecíficos ganharam destaque em nichos regionais e novos cruzamentos são explorados cada vez mais, muitas vezes de formas inconsistentes. Além disso, espécies exóticas, como a tilápia do Nilo, promovem um salto nas estatísticas de produção de peixes de água doce. Isso ocorre graças ao aprimoramento de práticas zootécnicas, aumento da densidade de estocagem, utilização de rações nutricionalmente mais completas e melhoramento genético disponível com oferta regular de alevinos (apenas para a tilapicultura). Além disso, com esse desenvolvimento, ocorre intenso trânsito de animais, inclusive em diferentes bacias hidrográficas o que é possível devido ao aprimoramento das técnicas de transporte. No entanto, algumas dessas práticas, apesar de no momento contribuírem de maneira significativa para o aumento da produção, acabam trazendo alguns riscos sanitários a essa promissora atividade.

Por meio de visitas técnicas a algumas pisciculturas pelo Brasil, podemos notar que o crescimento da produção que assistimos atualmente está fundamentado quase que exclusivamente sobre os parâmetros que mensuram a produtividade animal, sendo deixadas de lado as questões sanitárias, ambientais, além de segurança alimentar do consumidor. Em muitos locais presenciamos consideráveis perdas de produção causadas por problemas sanitários, e esse entrave tende a tomar dimensões ainda maiores caso não sejam adotadas medidas de controle eficientes. Isso ocorre, pois o aumento da produção de forma desordenada está proporcionalmente atrelado à diminuição da qualidade ambiental, com diminuição da biossegurança do sistema de produção.

A deterioração do ambiente aquático, com aumento da matéria orgânica em suspensão, aliada às condições adversas que o ambiente constantemente proporciona, favorece a proliferação de microrganismos patogênicos e aumenta a susceptibilidade dos peixes frente aos desafios de criação. Somado a essas condições, está o estresse de manejo inerente a todos os tipos de criação, que fisiologicamente diminui os mecanismos de defesa imune dos peixes. Além disso, o trânsito de peixes entre unidades produtoras de forma desordenada faz com que doenças sejam disseminadas para outros criadores, muitas delas sendo exóticas à ictiofauna local. Portanto, é de fundamental importância o conhecimento prévio dos agentes causadores de enfermidades em peixes, sejam eles de etiologia viral, bacteriana, fúngica ou parasitária, possibilitando assim a adoção de métodos de controle e profilaxia nas pisciculturas, para proporcionar maior biossegurança ao sistema de produção.

Dentre os ectoparasitos que acometem os peixes, estão os tricodinídeos (edição 127, setembro/outubro de 2011) e quilodnelídeos (edição 128, novembro/dezembro de 2011). Estes parasitos possuem a patogenia relacionada à movimentação sobre a superfície do hospedeiro, causando lesões abrasivas que podem atuar como porta de entrada para agentes secundários, geralmente bactérias. Entretanto, recentemente temos observado maior incidência de protozoários da subclasse Peritrichia, ordem Sessilida, no diagnóstico realizado a campo em diversas regiões do país, os quais se incluem os gêneros *Apiosoma*, *Ambiphrya* e principalmente *Epistylis*, que será abordado nesta edição por sua maior importância, uma vez que participa de uma doença que pode ser agressiva aos peixes de criação.

Etiologia

Epistilíase é uma doença parasitária causada por protozoários ciliados pertencentes ao gênero *Epistylis*. Estes protozoários pertencem à Subclasse Peritrichia,

Ordem Sessilida, pois se agrupam em colônias fixas que se ramificam e mantêm-se ligados uns aos outros por meio de pedúnculos (lembram ramallete de flor), com um ou vários zoóides nas extremidades (cada zoóide trata-se de um protozoário) (Figura 1). Estes parasitos possuem ciliatura oral em forma de espiral, e apresentam contração de zoóide de tempo em tempo, mas não contraem a porção do pedúnculo (Figura 2).

Figura 1. *Epistylis* sp. observado em exame a fresco em microscopia óptica comum (a) e em microscopia com contraste de fase (b). Aumento de 100 x

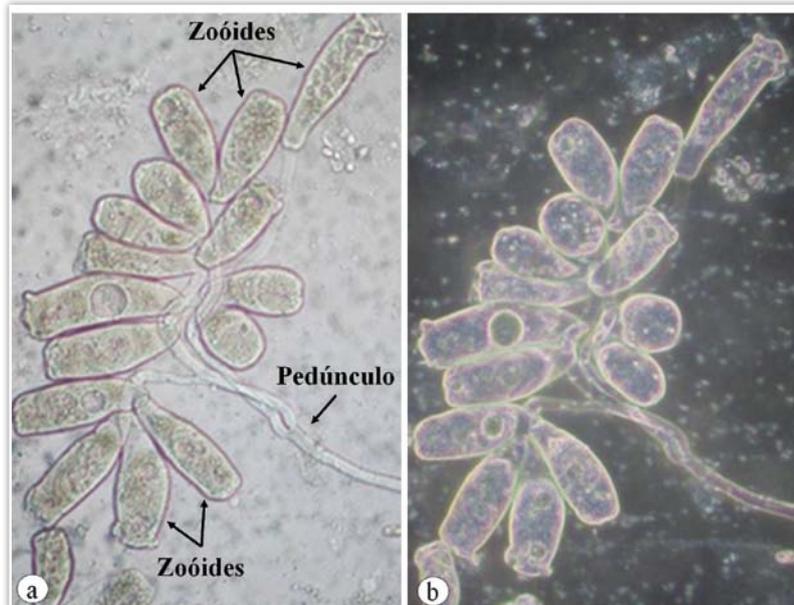


Figura 2. *Epistylis* observado em exame a fresco em microscopia óptica comum mostrando zoóide estendido (a) e em seguida contraído (b)



Biologia do parasito

Protozoários como *Epistylis* geralmente utilizam os peixes apenas como substrato para fixação, numa relação ecológica conhecida como epibiose, onde os peixes atuam como organismos basibiontes (Figura 3). Esta condição pode ser facultativa ou obrigatória, dependente da espécie de peritríquio em questão; uma vez que alguns destes protozoários podem se fixar em substratos inertes. Estes organismos geralmente utilizam estruturas firmes do corpo dos peixes para fixação, portanto em peixes sem escama as colônias são encontradas principalmente nos raios das nadadeiras (peitoral e dorsal principalmente), bordas do opérculo, bordas dos lábios, além da superfície da cabeça. Já os peixes com escama podem albergar as colônias nestes mesmos locais, com adição do restante da superfície corporal, uma vez que as escamas proporcionam a sustentação necessária para a fixação e desenvolvimento das colônias.

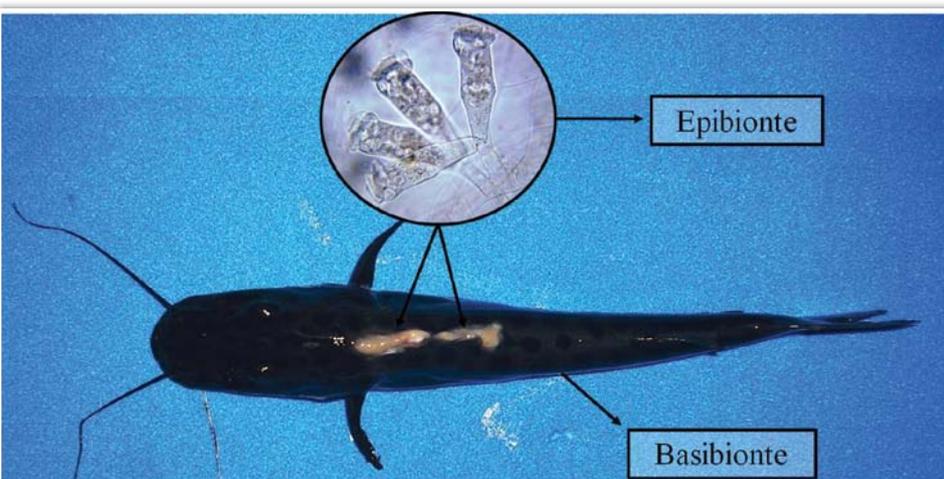


Figura 3. Juvenil de surubim híbrido (organismo basibionte) exibindo colônias macroscópicas de *Epistylis* (organismo epibionte) sobre a nadadeira dorsal e porção caudal da cabeça

Uma vez utilizando peixes ou outros animais aquáticos tais como crustáceos, anfíbios ou répteis como basibiontes, estes ciliados se alimentam de materiais em suspensão na água, principalmente bactérias. É importante salientar que *Epistylis* sp. não se alimenta das **células dos peixes, nem causa lesões** nestes, tampouco perfuram a pele durante o processo de fixação. Fato este que torna questionável a denominação de parasito para estes protozoários, já que eles não dependem dos peixes para se alimentarem, nem competem pelo mesmo alimento. No entanto, peixes que albergam muitas colônias de *Epistylis* podem desenvolver uma doença com etiologia mista, ocorrendo assim, um efeito negativo que, por sua vez, torna a denominação de epibiose para essa situação também questionável. Portanto, por conveniência, adotamos o termo de parasito para este protozoário quando diagnosticado em peixes de criação.

Ciclo de vida

Assim como outros protozoários, *Epistylis* sp. realiza fissão binária (Figura 4c) como estratégia de proliferação assexuada, podendo utilizar a conjugação como reprodução sexuada. No entanto, estes ciliados podem formar estágios não sésseis denominados telotróquios (Figura 4b). Estes organismos são células móveis que nadam livremente na coluna d'água em busca de novos hospedeiros para fixação.

Transmissão

A transmissão deste parasito pode ocorrer por meio dos telotróquios durante contato direto entre os peixes, bem como pela água e utensílios que normalmente são utilizados em ambientes distintos na piscicultura, sem a devida prática de desinfecção. Além disso, microcrustáceos zooplânctônicos podem ser portadores destes protozoários, atuando como reservatório da doença no ambiente aquático. Recentemente, observamos a ocorrência de *Epistylis* em copepoditos e fêmeas adultas de *Lerneae cyprinacea* em tambacu cultivado no Estado de Mato Grosso do Sul (Figura 5), portanto, esses crustáceos podem

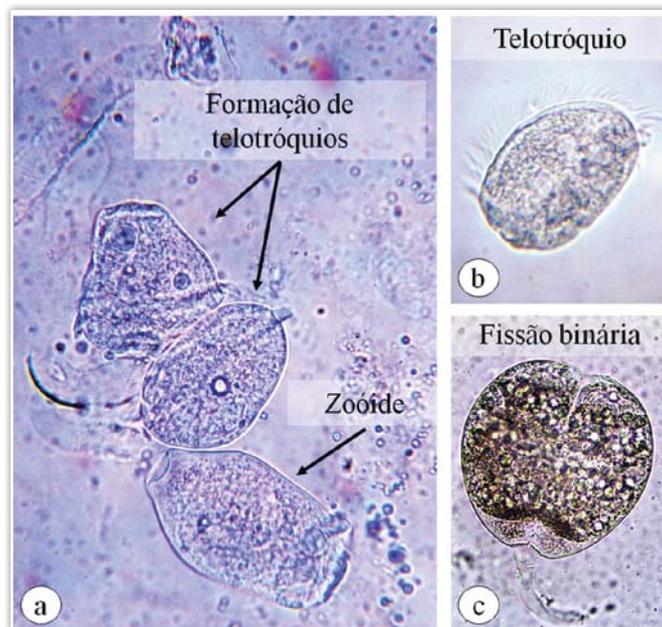
também carrear ou atuar como reservatório da epistiliasse no sistema de produção.

Nos berçários de algumas pisciculturas é comum a prática de adubação de viveiros para aumentar a produtividade planctônica, sendo posteriormente ofertados para as pós-larvas. Com essa prática de manejo, propicia-se também um ambiente adequado para a proliferação destes protozoários, que podem ser carreados para o sistema de criação com a oferta de microcrustáceos zooplânctônicos durante a alimentação das fases iniciais dos peixes. Vale salientar que bastam poucos peixes parasitados entre os demais para

Figura 5. *Lernaea cyprinacea*, popularmente conhecida como verme âncora (embora seja um crustáceo), exibindo colônias de *Epistylis* fixadas em seu corpo



Figura 4. Formas de reprodução e propagação de *Epistylis*. Formação de zoóides móveis (telotróquios) ainda fixados na colônia (a), telotróquio livre (b) e fissão binária do zoóide (c)



ocorrer a disseminação da doença, uma vez que as formas livres deste protozoário (telotróquios) são responsáveis pela dispersão e formação de novas colônias.

Doença da ferida vermelha (*Red-sore disease*)

Na década de 70 a infestação por *Epistylis* em peixes produzidos nos Estados Unidos foi associada muitas vezes à formação de feridas avermelhadas sobre a superfície corporal destes, sendo denominada doença da ferida vermelha (*Red-sore disease* no inglês), tendo este ciliado como agente primário da doença. Hazen et al. (1978) elucidou o envolvimento da bactéria *Aeromonas hydrophila* como agente primário desta enfermidade, revelando que *Epistylis* (sendo reclassificado e hoje denominado *Heteropolaria*) na realidade trata-se do agente causador secundário. Estes ciliados não secretam enzimas líticas capazes de provocar lesões sobre os peixes. O que ocorre é a colonização do pedúnculo do protozoário por bactérias capazes de secretar essas enzimas, o que ocasiona a formação de lesões típicas que levam o nome da doença (Figura 6). Além disso, a infecção exclusiva por *Aeromonas hydrophila* determina a ocorrência septicemia hemorrágica, com a despigmentação da pele, ulceração cutânea, palidez branquial, além de alterações patológicas variadas em órgãos internos (Silva et al. 2011).

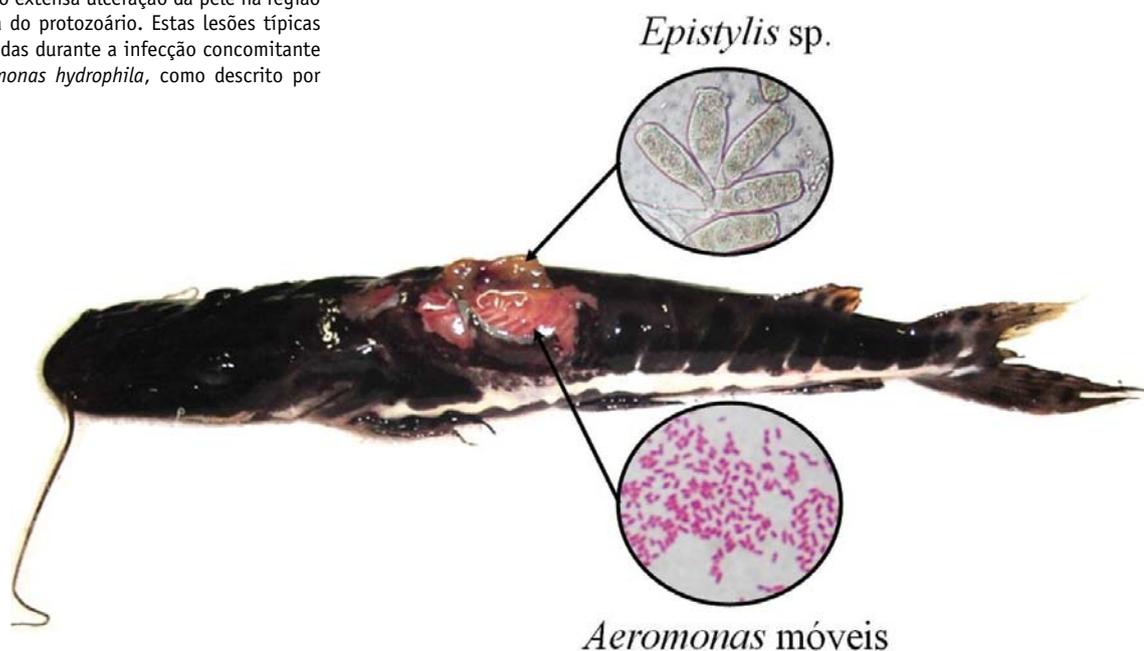
Patogenia da doença da ferida vermelha

Em infestações massivas por *Epistylis* sp. podemos observar principalmente corrosão de nadadeiras e ulceração da pele, relacionada à atividade de enzimas bacterianas. Em cortes histológicos vê-se a ocorrência de necrose epitelial (morte das

"A transmissão de *Epistylis* sp. pode ocorrer por meio dos telotróquios durante contato direto entre os peixes, bem como pela água e utensílios que normalmente são utilizados em ambientes distintos na piscicultura, sem a devida prática de desinfecção."

células da pele), com intensa descamação de células, proliferação das células produtoras de muco, além de presença de infiltrado inflamatório mononuclear, que trata-se de células de defesa do organismo que migram até a região acometida para realizar a defesa contra os agentes causadores da doença.

Figura 6. Juvenil de surubim híbrido parasitado por *Epistylis* sp. exibindo extensa ulceração da pele na região adjacente à colônia do protozoário. Estas lesões típicas podem ser ocasionadas durante a infecção concomitante pela bactéria *Aeromonas hydrophila*, como descrito por Silva et al. (2011).



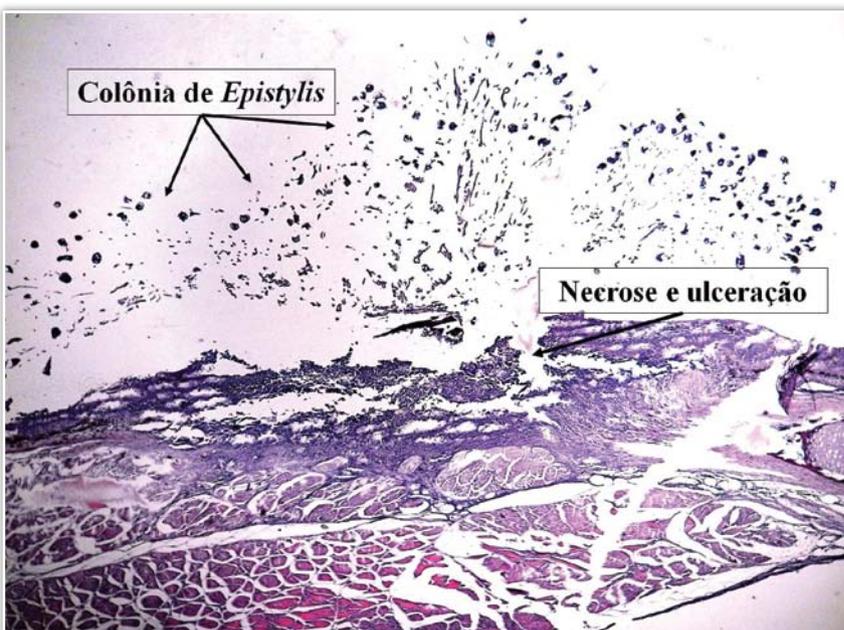


Figura 7. Fotomicrografia da pele (região sobre o crânio) em corte histológico mostrando colônia de *Epistylis* fixada, porém sem invadir a pele do peixe, exibindo necrose epitelial, ulceração e presença de infiltrado inflamatório. Essas lesões são ocasionadas por enzimas produzidas por bactérias que colonizam o pedúnculo do protozoário. Coloração com hematoxilina-eosina, aumento de 40x

Na figura 7 pode-se observar o início da complicação da doença, onde o tecido do peixe na região adjacente à colônia de *Epistylis* começa a apresentar algumas dessas alterações patológicas, como necrose, ulceração e presença de infiltrado inflamatório.

Complicações da doença ocorrem quando a bactéria, que no início está concentrada na colônia do protozoário, passa a invadir o tecido do peixe a ponto de causar septicemia (infecção generalizada). Dessa forma, podem ocorrer surtos de mortalidade em função da bacteriose, não pela epistilíase.

Diagnóstico

O diagnóstico desta doença é realizado da mesma forma para os demais protozoários de pele e brânquia, para isso é necessário um microscópio óptico. Devem ser confeccionados raspados do corpo e brânquia dos peixes com auxílio de lâminas para microscopia, adiciona-se laminula, e a pesquisa pelo parasito é realizada com aumento de 100 e ou 400 vezes no microscópio. Com esta técnica de exame a fresco será possível observar a presença dos protozoários coloniais exibindo contração dos zoóides, com as características morfológicas conforme descritas no item **Etiologia** deste artigo.

Colônias macroscópicas também devem ser avaliadas, principalmente para diferenciar de outros agentes etiológicos.

Diagnóstico diferencial

O diagnóstico diferencial deve ser realizado principalmente quando ocorre a formação de colônias macroscópicas

"Complicações da doença ocorrem quando a bactéria passa a invadir o tecido do peixe a ponto de causar uma infecção generalizada. Dessa forma, podem ocorrer surtos de mortalidade em função da bacteriose, não pela epistilíase."

por estes ciliados. Nestas situações deve ser realizada a diferenciação de infecção fúngica, especialmente por *Saprolegnia*, que possui aspecto de algodão sobre a superfície do peixe. Além disso, o gênero *Epistylis* deve ser cuidadosamente diferenciado de outros peritríquios sésseis, tais como *Apiosoma* e *Ambiphrya*, que não formam colônias ramificadas. Por outro lado, ocasionalmente outros gêneros de ciliados podem ser encontrados em peixes, tais como *Zoothamnium* e *Carchesium*, que por sua vez formam colônias ramificadas muito similares às colônias de *Epistylis*, mas a diferenciação se dá pela atividade contrátil ser exercida não somente pelo zoóide, mas também pelo pedúnculo.

Uma doença emergente no Brasil

Abordamos esse artigo trazendo a epistilíase como uma doença emergente no Brasil. Isso ocorre quando uma doença nova ou endêmica (que normalmente ocorre em um nível conhecido e estável) começa a aumentar a incidência ao longo dos anos, como é o caso da epistilíase. Para isso, buscamos informações na literatura disponível, tais como dados publicados por Martins et al. (2000) no sudeste brasileiro, Ghiraldelli et al. (2006) na região sul, Carrijo-Mauad et al. (2011) e Pádua et al. (dados em fase de publicação) no centro-oeste, somados aos dados epidemiológicos de diagnóstico realizado a campo pela equipe PreVet Sanidade Aquícola (2011 a 2012) no sudeste, centro-oeste e nordeste. Na figura 8 pode-se observar a o aumento gradativo da incidência da doença no decorrer dos anos.

O aumento da incidência da epistilíase em peixes cultivados no Brasil pode estar associado a alguns fatores, tais como:

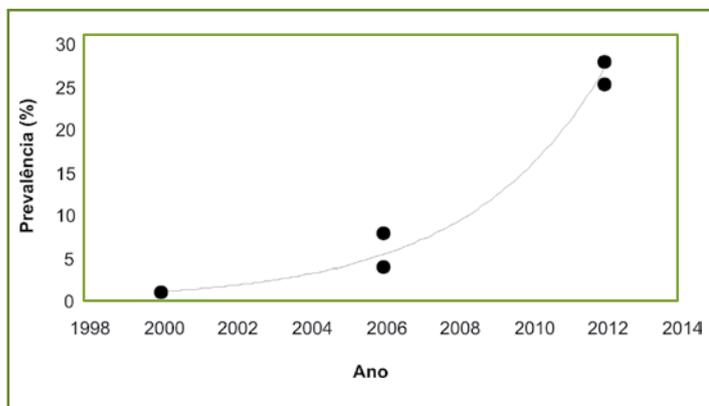
Deterioração da qualidade ambiental, uma vez que a proliferação destes protozoários é dependente das condições ambientais;

Algumas espécies de peixes podem ser mais susceptíveis que outras. Além disso, ao longo dos anos que contemplam o gráfico houve mudanças de perfil de espécies cultivadas em algumas regiões;

Avanço no campo de diagnóstico, com maior número de profissionais gabaritados.

De forma geral, vários fatores podem estar influenciando para o aumento da incidência da epistilíase em peixes cultivados no Brasil. Em especial, temos que ficar atentos às condições de qualidade de água, visto que os locais de maior prevalência destes protozoários geralmente são os mais impactados pela atividade aquícola super-intensiva.

Figura 8. Prevalência da epistilíase em peixes cultivados no Brasil entre 2000 a 2012



Algumas recomendações como medidas preventivas

A partir do conhecimento prévio sobre o gênero *Epistylis* podemos elaborar algumas estratégias para evitar sua entrada e disseminação nos sistemas de produção. Salientamos, porém, que isso pode ser difícil em rios ou grandes reservatórios explorados com a produção em tanques-rede, uma vez que estes ciliados podem compor naturalmente a fauna de protozoários presentes na biota aquática. No entanto, temos a nosso favor o baixo potencial patogênico deste ciliado, podendo tornar-se problema apenas em infestações massivas com associação de bactérias, em especial *Aeromonas hydrophila*. Por isso, o principal foco de manejo é a manutenção de boas condições da qualidade da água, aliadas a algumas medidas que proporcionam maior biossegurança, para isso deve-se colocar na rotina:

Adoção densidades de estocagens adequadas, evitando o adensamento dos animais. Altas densidades de estocagem promovem a diminuição da qualidade ambiental, pois exigem maior nível de arrazoamento e culmina em aumento proporcional na excreção de resíduos pelos peixes. Além disso, facilita a transmissão de doenças pelo contato direto dos animais (peixe a peixe);

Remover sobras de ração, peixes mortos e qualquer outro material que colabore com a deterioração da qualidade da água;

Estocar peixes com procedência confiável, criados em sistema que adota um programa sanitário na rotina, com análises de diagnóstico contínuas que confirmem suas condições de salubridade. Neste tópico vale salientar que o diagnóstico pontual de lotes de peixes não são bons indicadores de qualidade. Torna-se necessário o reconhecimento de toda a dinâmica da propriedade e seu histórico, com medidas efetivas desenhadas para cada realidade e com o acompanhamento da evolução das condições higiênico-sanitárias;

Efetivar medidas de desinfecção de equipamentos e instrumentos utilizados no manejo diário dos peixes (por exemplo a utilização de solução hipersaturada de sal em recipiente plástico destinado para desinfecção de pequenos instrumentos);

Exposição da rede-de-arrasto à luz solar, realizar a desinfecção com a utilização de formalina 5% por aspersão e deixar secar antes de ser utilizada em um novo viveiro.

Evitar a adubação de viveiros com esterco oriundo de animais, uma vez que promove a produção planctônica de baixa qualidade (Sipaúba-Tavares, 2006), além de correr o risco de introdução de patógenos que circulam em diferentes vertebrados (especialmente bacterioses);

Outras medidas preventivas passíveis de serem adotadas devem ser propostas a partir do reconhecimento da realidade de cada propriedade. Com a adoção dessas ações preventivas, consegue-se proporcionar maior biossegurança ao sistema de produção e, portanto, menor risco de perdas econômicas devido à mortalidade por enfermidades. Associado a essas medidas, o diagnóstico periódico dos peixes e das condições de cultivo são fundamentais para monitoramento e vigilância de doenças. ■

Agradecimentos:

Os autores agradecem ao Projeto Aquabrasil/Embrapa pelo apoio financeiro e ao CNPq pelo auxílio a M.L. Martins (Processo n.º: 577657/2008-9, 302493/2010-7).

Referências Bibliográficas:

- Carrizo-Mauad JR, Pádua SB, Jerônimo GT, Kasai RYD, Yamamoto WK, Ishikawa MM (2011) Infestações parasitárias em surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* ♀ X ♂ *P. corruscans* ♂) durante a fase inicial de criação. In.: XVI Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Campo Grande.
- Ghiraldelli L, Martins ML, Jerônimo GT, Yamashita MM, Adamante WB (2006) Ectoparasites communities from *Oreochromis niloticus* cultivated in the State of Santa Catarina, Brazil. *J Fish Aquat Sci* 1: 181-190.
- Hazen TC, Raker ML, Esch GW, Fliermans CB (1978) Ultrastructure of red-sore lesions on Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*): association of the ciliate *Epistylis* sp. and the bacterium *Aeromonas hydrophila*. *J Euk Microbiol* 25: 351-355.
- Martins ML, Moraes FR, Fujimoto RY, Onaka EM, Nomura DT, Silva CAH, Schalch SHC (2000) Parasitic infections in cultured freshwater fishes a survey of diagnosed cases from 1993 to 1998. *Rev Bras Parasitol Vet* 9: 23-28.
- Silva BC, Mouriño JLP, Vieira FN, Jatobá A, Seiffert WQ, Martins ML (2011) Haemorrhagic septicaemia in the hybrid surubim (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma fasciatum*) caused by *Aeromonas hydrophila*. *Aquac Res* DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.02905.x
- Sipaúba-Tavares LH, Baccarin AE, Braga FMS (2006) Limnological parameters and plankton community responses in Nile Tilapia ponds under chicken dung and NPK (4-14-8) fertilizers. *Acta Limnol Bras* 18: 335-346.