

Fotobacteriose: doença zoonótica emergente em peixes marinhos

Ana Maria Cristina R.P.F. Martins - crisfm@biologico.sp.gov.br

Márcia Helena B. Catroxo - catroxo@biologico.sp.gov.br

Marcio Hipólito - hipolito@biologico.sp.gov.br

Luara Lucena Cassiano - lua.cassianolc@gm

Centro de Pesquisa de Sanidade Animal

Número 228 - 10/05/2018

Essa é uma doença causada pela bactéria *Photobacterium damsela* subsp., considerada um dos principais patógenos emergentes de peixes marinhos cultivados e responsável por importantes prejuízos econômicos na piscicultura. Houve um notável aumento em sua distribuição geográfica nos últimos anos e, no Brasil, a partir de 2011, quando foi registrada sua presença em cultivos. É responsável por um surto que provocou grande mortalidade de bijupirás (*Rachycentron canadum*) e em outras espécies, mundialmente (Tavares et al., 2016).

O gênero *Photobacterium*, bactéria gram negativa halófila, é um dos oito gêneros da família *Vibrionaceae*, com 27 espécies. Algumas apresentam mecanismos de bioluminescência e patogênese próprios. No entanto, a taxonomia e a filogenia desse gênero não estão completamente elucidadas (Terceti et al., 2018).

Os habitats e a fonte de isolamento das espécies de *Photobacterium* incluem a água do mar, os sedimentos marinhos, as águas salgadas dos lagos e uma variedade de organismos marinhos com os quais as fotobactérias estabelecem relações diferentes, de simbiose às interações patogênicas. Várias espécies desse gênero contêm cepas bioluminescentes em simbiose com peixes marinhos e cefalópodes (por exemplo, *Photobacterium leiognathi* e *Photobacterium phosphoreum*). Além disso, outras espécies, como as *Photobacterium profundum*, aumentam seu crescimento a pressões acima de 1 atmosfera, por meio de diversos mecanismos de adaptação à alta pressão e, para isso, podem ser consideradas como bactérias piezófilas (ex-barofílicas) e psicofílicas (crescem em alta temperatura).

Até o momento, apenas *P. jeanii*, *P. rosenbergii*, *P. sanctipauli* e as duas subespécies de *P. damsela* foram relatadas como agentes responsáveis de diversas patologias em hospedeiros animais, como corais, esponjas, peixes e animais homeotérmicos. (Labella et al., 2017).

Photobacterium damsela (anteriormente *Vibrio damsela*) é um patógeno de uma variedade de animais marinhos, incluindo peixes, crustáceos, moluscos e cetáceos. Em humanos, pode causar infecções oportunistas que podem evoluir para fascíte necrosante, com desfecho fatal (Rivas et al., 2015).

Existem duas subespécies: subespécie piscicida (a causadora da doença do peixe conhecida como Pasteurelose) e subespécie damsela. Alguns sugerem que duas subespécies são diferentes o suficiente para serem espécies separadas. *Photobacterium damsela* subsp. piscicida foi anteriormente conhecida como *Pasteurella piscicida*. (Link (https://web.archive.org/web/20141224085358/http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol_4684/Microbes/species.html))

Photobacterium damsela subsp. piscicida

Photobacterium damsela subsp. *piscicida* é o patógeno responsável pela doença denominada fotobacteriose (também conhecida como pasteurelose ou pseudotuberculose), de grande importância na aquicultura, e pode ser encontrado globalmente em espécies de peixes marinhos cultivados (Romalde, 2002; Ho et al., 2014), como em *R. canadum* (Liao et al., 2004), olhete (*Seriola quinqueradiata*) (Romalde, 2002), pargo europeu (*Sparus aurata*) (Andreoni & Magnani, 2014) e robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) (Korun & Timur, 2005).

Ela é caracterizada por ser uma bactéria gram-negativa halofílica, imóvel, oxidase e catalase positiva, fermentativa sem produção de gás, que apresenta pleomorfismo, variando de cocoide a bastonetes longos, dependendo do meio de cultura utilizado (Romalde, 2002; Roberts, 2012). Essa bactéria apresenta crescimento ótimo entre 22,5 e 30 °C, podendo se desenvolver em uma faixa de temperatura que vai de 15 a 32,5 °C. Devido ao seu lento crescimento, entretanto, pode ocorrer dificuldade no seu isolamento do hospedeiro, devido à competição com bactérias de rápido crescimento (Romalde, 2002, 2014). Essa subespécie forma um grupo homogêneo, que se difere da *P. damsela* subsp. *damsela*, em especial, nas seguintes características: ausência de atividade hemolítica em meio ágar sangue, e atividade negativa para redução do nitrato, urease, amilase e lipase (Romalde, 2002). Além disso, Rajan et al. (2003) relataram ausência de crescimento em meio ágar tiosulfato citrato saís de bile sacarose (TCBS). É considerada um patógeno primário, de transmissão horizontal (entre peixes), capaz de sobreviver na água do mar e manter sua capacidade infecciosa (Magariños et al., 1994; Roberts, 2012), especialmente frente a peixes suscetíveis e imunodeprimidos. Além disso, uma vez que essa bactéria é frequentemente encontrada nas vísceras de peixes marinhos (McLean et al., 2008), é provável que o intestino seja uma importante porta de entrada do patógeno. Os peixes afetados de forma crônica apresentam coloração enegrecida, letargia e diminuição do consumo de alimentos. Os animais afetados de forma aguda apresentam úlceras e erosões na superfície epidérmica da cabeça e nadadeiras. Internamente, os animais apresentam fígado pálido, com volume aumentado, e desenvolvem granulomas em órgãos como rim, baço e fígado, progredindo para um quadro de septicemia hemorrágica generalizada (Roberts, 2012).

Photobacterium damsela subsp. *damsela*

Photobacterium damsela subsp. *damsela* já foi isolada de diversas espécies marinhas cultivadas, como o robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), pargo europeu (*Sparus aurata*), corvina (*Argyrosomus regius*) e barramundi (*Lates calcarifer*) (Labella et al., 2010). É também uma bactéria gram-negativa halofílica e pleomórfica, geralmente com formato de bacilo. Requer sódio para crescimento, contém 1-3 flagelos polares e são luminescentes. É incapaz de formar endosporos resistentes e são quimiorganotróficos. Ao contrário da *P. damsela* subsp. *piscicida*, apresenta elevada atividade hemolítica e cresce em meio TCBS (Austin & Austin, 2007; Roberts, 2012). É considerada um patógeno oportunista (Roberts, 2012), transmitido pela água (Fouz et al., 1998) e capaz de sobreviver aos mecanismos bactericidas do muco. Evidências de surtos epizooticos com aumento de úlceras observadas entre as populações de peixes parecem correlacionar-se a estações mais quentes, sugerindo uma distribuição sazonal na incidência da doença, dependente da temperatura e salinidade das águas e da diminuição da resistência causada por alterações fisiológicas experimentadas pelo hospedeiro durante a maturidade sexual (Austin, 2010).

Além disso, também está associada a danos traumáticos (por exemplo, cortes e perfurações) (Roberts, 2012), sendo o tegumento uma via de entrada do patógeno (Austin & Austin, 2007). Os peixes afetados apresentam lesões ulcerativas no tegumento, em especial na região da nadadeira peitoral e pedúnculo caudal, que podem atingir até 2 cm de diâmetro (Austin, 2010). Na lesão ocorre lise do tecido muscular, e exames histopatológicos apontam a presença de dermatite ulcerativa granulomatosa, que se desenvolve em uma septicemia generalizada, com extensa hemorragia (Austin & Austin, 2007; Gonçalves et al. 2012). Love et al. (1981) descreveram mortalidades após 4 dias em temperaturas entre 16,0 e 16,5 °C. Dessa forma, os peixes infectados pela subespécie *damsela* tem o apetite diminuído, seguido de letargia e lesões ulcerativas ao longo de suas regiões de flanco e cabeça. O estômago sofre distensão, além da ocorrência de hemorragia extensa, especialmente nos olhos, boca e musculatura. Presença também de petéquias nas brânquias e no fígado, juntamente com o acúmulo característico de muco ao redor das brânquias. Foi notado que o peixe infectado nada violentamente alguns minutos antes da morte.

Um de seus principais mecanismos de virulência é a fosfolipase hemolítica, com a produção de damselysin (Dly) (Labella et al., 2010; Hundenborn et al., 2013). Outros produtos extracelulares, porém, também estão envolvidos na citotoxicidade do patógeno (Austin, 2010). Segundo Fouz et al. (1998), a DL50 referente aos produtos extracelulares é de 0,02 a 0,43 µg g-1 de proteína, e as mortalidades ocorrem entre 4 e 72 horas. (Rivas et al, 2013). Essa bactéria pode, portanto, representar uma ameaça significativa para espécies de peixes de aquicultura, especialmente aquelas que vivem em condições de estresse e superlotação, nas quais a disseminação da doença pode ser acelerada por contato direto e, dessa forma, representa uma ameaça aos seres humanos (Fouz, et al., 2000). As fotobactérias são principalmente organismos marinhos (daí o uso de sódio para o crescimento). Eles podem ser de vida livre ou podem ser encontrados como colônias associadas a certas espécies de peixes. Esses organismos não contêm pigmentação e, portanto, aparecem brancos ou incolores. Quando há uma alta densidade de células formando uma colônia, elas exibem fluorescência. No entanto, a fluorescência é baseada na acumulação de autoindutores, que é proporcional à densidade celular e, desse modo, a fotobactéria de vida livre não irá fluorescer. Sua associação com peixes pode ser crescimento simbiótico dentro de peixes para a formação de órgãos de luz, como uma entidade neutra na superfície ou no intestino de peixes, como decompositores de peixes mortos ou como um agente da doença.

Ambas as subespécies piscicida e damselae são importantes do ponto de vista sanitário e podem ser consideradas ameaças, respectivamente, em relação à atividade econômica e em relação à saúde humana. *Photobacterium damsela* subsp. piscicida representa um dos maiores problemas no cultivo de bijupirá ao longo de todo o ciclo produtivo. Além disso, *P. damsela* subsp. piscicida é um patógeno amplamente distribuído, com registros de surtos em diversos países.

Já a peculiaridade da subespécie damselae reside em sua capacidade de infectar outros grupos de animais, incluindo o ser humano, sendo, portanto, considerada uma zoonose (Roberts, 2012; Hundenborn et al., 2013), que, apesar de relativamente rara, com aproximadamente 20 casos de infecção humana relatados na literatura, costuma ser letal (Hundenborn et al., 2013). A principal forma de infecção em humanos ocorre por meio de lacerações ou perfurações durante a manipulação de peixes infectados. Entretanto, a ingestão in natura de animais contaminados também é uma possível via de infecção (Hundenborn et al., 2013).

O Laboratório Interinstitucional de Sanidade em Aquicultura (LISA), uma parceria entre o Instituto Biológico e o Instituto de Pesca, está preparado para o diagnóstico de algumas doenças, utilizando os métodos recomendados pela Organização Mundial de Saúde Animal, como os exames histopatológicos, imunoistoquímicos, hibridização in situ, PCR (Polimerase Chain Reaction – Reação em Cadeia da Polimerase) e por microscopia eletrônica de transmissão, através das técnicas de contração negativa, inclusão em resina, imunoeletromicroscopia e imunocitologia. Também podem ser realizadas provas de cultivo bacteriano, com identificação bioquímica e testes de sensibilidade aos antibióticos de uso recomendado e permitidos pela legislação.

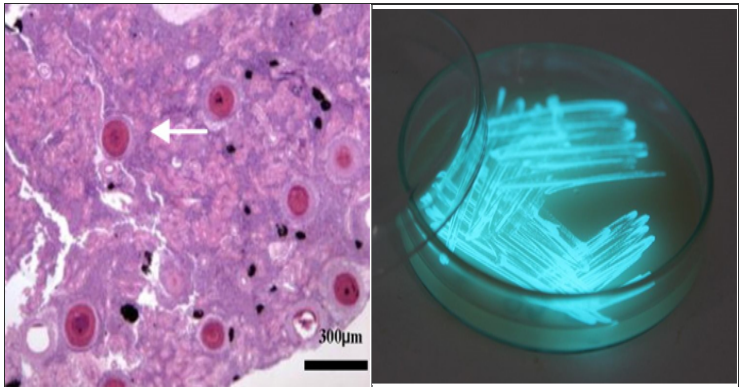


Fig. 1. Nódulos no parênquima renal (seta branca) (Ruixuan et al., 2013).

Fig. 2. Cultura de *Photobacterium damsela*. Bactérias bioluminescentes (são originalmente organismos marinhos por necessitarem de sódio para multiplicarem-se. Link (<https://alchetron.com/Photobacterium>)

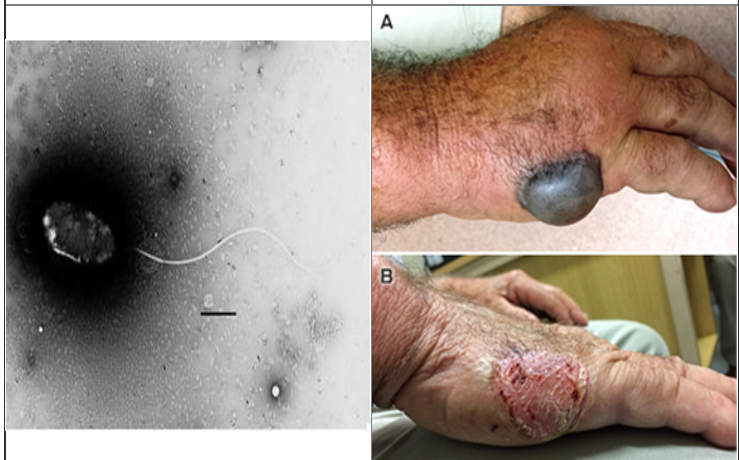


Fig. 3. Ao microscópio eletrônico vê-se *Photobacterium damsela*. Link (<https://alchetron.com/Photobacterium>)

Fig. 4. A: Paciente com lesão bolhosa hemorrágica pela *Photobacterium damsela* e B: após 2 semanas de tratamento (Akram et al.,2015).

Referências

Akram, A.; Stevens, R.S.; Konecny, P. ***Photobacterium damsela* and *Vibrio harveyi* hand infection from marine exposure**. Med J Aust 203 (5): 224-225, 2015.

Andreoni, F.; Magnani, M. **Photobacteriosis: prevention and diagnosis**. Journal of immunology Research, v.2014.

Austin, B. **Vibrios as causal agents of zoonoses**. Veterinary Microbiology, v.140, p.310-317, 2010.

Austin, B.; Austin, D.A. **Bacterial fish pathogens**. Dordrecht: Springer, 654p2007.

Fouz, B.; Toranzo, A.E.; Milan, M., and Amaro, C. **Evidence that water transmits the disease caused by the fish pathogen *Photobacterium damsela* subsp. damsela**. J. Appl. Microbiol. 88, 531–535, 2000.

Fouz, B.; Toranzo, A.E.; Marco-Noales, E.; Amaro, C. **Survival of fish virulent strains of *Photobacterium damsela* subsp. damsela** in seawater under starvation conditions. FEMS microbiology letters, v.168, p.181-186, 1998.

Gonçalves, E.L.T.; Sanches, E.G.; Martis, M.; Tsuzuki, M.Y. **Deteção, controle e prevenção de fotobacteriose em cultivo de bijupirá**. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.51, n.5, p.465-472, 2016.

Ho, L.-P.; Chang, C.-J.; Liu, H.-C.; Yang, H.-L.; Lin, J.H.-Y. **Evaluating the protective efficacy of antigen combinations against *Photobacterium damsela* ssp. piscicida** infections in cobia, *Rachycentron canadum* L. Journal of Fish Diseases, v.37, p.51-62, 2014. Link (https://web.archive.org/web/20141224085358/http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol_4684/Microbes/species.html)

Hundenborn, J.; Thurig, S.; Kommerell, M.; Haag, H.; Nolte, O. **Severe wound infection with *Photobacterium damsela* ssp. damsela** and *Vibrio harveyi*, following a laceration injury in marine environment: a case report and review of the literature. Case Reports in Medicine, v.2013, p.610-632, 2013.

Korun, J.; Timur, G. **The first pasteurellosis case in cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) at low marine water temperatures in Turkey**. Israeli Journal of Aquaculture, v.57, p.197-206, 2005.

Labella, A.; Sanchez-Montes, N.; Berbel, C.; Aparicio, M.; Castro, D.; Manchado, M.; Borrego, J.J. **Toxicity of *Photobacterium damsela* subsp. damsela** strains isolated from new cultured marine fish. Diseases of Aquatic Organisms, v.92, p.31-40, 2010.

Labella, A.M.; Arah, D.R.; Castro, D.; Lemos, M.L.; Borrego, J.J. **Revisiting the genus *Photobacterium*: taxonomy, ecology and pathogenesis** Int Microbiol 20 (1): 1-10, 2017.

Liao, I.C.; Huang, T.-S.; Tsai, W.-S.; Hsueh, C.-M.; Chang, S.-L.; Leaño, E.M. **Cobia culture in Taiwan: current status and problems**. Aquaculture, v.237, p.155- 165, 2004.

Love, M.; Teebken-Fisher, D.; Hose, J.E.; Farmer III, J.J.; Hickman, F.W.; Fanning, G.R. ***Vibrio damsela*, a marine bacterium, causes skin ulcers on the damselfish Chromis**. Science, v.214, p.1139-1140, 1981.

Magariños, B.; Romalde, J.L.; Barja, J.L.; Toranzo, A.E. **Evidence for a dormant but infective stage of the fish pathogen *Pasteurella piscicida***. Applied and Environmental Microbiology, v.60, p.180-186, 1994.

McClean, E.; Salze, G.; Craig, S.R. **Parasites, diseases and deformities of cobia**. Ribarstvo, v.66, p.1-16, 2008.

Rajan, P.R.; Lin, J.Y.-H.; Ho, M.-S.; Yang, H.-L. **Simple and rapid detection of *Photobacterium damsela* ssp. piscicida** by a PCR technique and plating method. Journal of Applied Microbiology, v.95, p.1375-1380, 2003.

Rivas A.J.; Balado, M.; Lemos M.L.; Osorio, C.R. The *Photobacterium damsela* subsp. damsela hemolysins damselysin and HlyA are encoded within a new virulence plasmid. Infect Immun. 79:4617–4627, 2011.

Rivas, A.J.; Lemos, L.M.; Osório, C.R. ***Photobacterium damsela* subsp. damsela**, a bacterium pathogenic for marine animals and humans. Front Microbiol.; 4: 283, 2013.

Roberts, R.J. **Fish pathology**. 4th ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012.

Romalde, J.L. ***Photobacterium damsela* subsp. piscicida: an integrated view of a bacterial fish pathogen**. International Microbiology, v.5, p.3-9, 2002.

Romalde, J.L. **Vaccination against Photobacteriosis**. In: GUDDING, R.; LILLEHAUG, A.; EVENSEN, Ø. (Ed.). Fish vaccination. Oxford: Wiley, 2014.

Ruixuan, W.; Juan, F.B.C.; Youlu, S.; Lingtong, Y.; Wang Jiang-yong, W. **Studies on the isolation of *Photobacterium damsela* subsp. piscicida** from diseased golden pompano (*Trachinotus ovatus* Linnaeus) and antibacterial agents sensitivity. Veterinary Microbiology, 162 (2013) 957–963, 2013.

Terceti, M.S.; Ogute, H.; Osório, C.R ***Photobacterium damsela* subsp. damsela**, an emerging fish pathogen in the Black Sea: evidences of a multiclonal origin. Applied and Environmental Microbiology, 2018.
