

PESQUISA DE AMOSTRAS SUSPEITAS DE INFECÇÃO POR *FLAVOBACTERIUM COLUMNARE* EM UM ESTABELECIMENTO ATACADISTA DE PEIXES ORNAMENTAIS NA GRANDE SÃO PAULO

Emy Yano

Andrea Micke Moreno e Simone de Carvalho Balian

Pedro Henrique Magalhães Cardoso

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo

emy.yano@usp.br

Objetivos

A Columnariose, causada pela *Flavobacterium columnare*, é uma doença comum em peixes e responsável por perdas econômicas significativas na indústria da aquariofilia, sendo a segunda doença responsável por prejuízos à indústria americana do Bagre-do-canal (*Ictalurus punctatus*)¹. *Flavobacterium columnare* é uma bactéria móvel com motilidade por deslizamento, gram-negativa e em formato de bastonete. De acordo com a literatura, as lesões causadas começam com áreas de descoloração pálida, a qual é

circunscrita por uma região avermelhada², juntamente às outras manifestações clínicas observadas como letargia, inapetência, natação errática e movimentos operculares acelerados. Através dos achados clínicos e do raspado das lesões, com posterior identificação do bacilo pela coloração de gram, é possível realizar um diagnóstico presuntivo da doença³.

O presente estudo tem como objetivo realizar o diagnóstico de peixes ornamentais com suspeita de Columnariose através do diagnóstico *in loco* pela coloração de gram, além de descrever como lesão acomete



Figura 1 - A: *Hemichromis bimaculatus* com lesão esbranquiçada da metade caudal do corpo; B: *Polypterus senegalus* com múltiplas lesões avermelhadas pelo corpo; C: *Corydora aeneus* com lesões avermelhadas pelo corpo; D e E: *Xiphophorus maculatus* com lesão esbranquiçada na metade caudal do corpo e na boca; F: *Helostoma temminckii* com lesões esbranquiçadas e bordas avermelhadas na cabeça e no seu corpo; G: *Arapaima gigas* com lesões acinzentadas pelo corpo; H: bastonetes longos na coloração de gram, descrição compatível com *Flavobacterium columnare*.

diferente as diversas espécies.

Métodos e Procedimentos

Os peixes foram doados por uma empresa atacadista localizada na Grande São Paulo, coletados e analisados dentro do período de março a julho de 2021 após a identificação das manifestações compatíveis com a infecção causada pela *Flavobacterium columnare* (Figura 1). Foi realizado o raspado de pele das lesões encontradas nos animais com sinais clínicos compatíveis com a Columnariose e corado com coloração de gram. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ 6927180221).

Resultados

A partir do raspado de pele e da coloração de gram, 300 das 385 amostras coletadas foram identificadas como positivas para bastonetes longos gram-negativos. Dentre elas, a infecção foi identificada em espécies que conhecidamente são afetados pela *F. columnare* como o Lebiste (*Poecilia sphenops*) e o Plati (*Xiphophorus maculatus*)⁴, mas outras 53 espécies como citadas na Tabela 1.

Conclusões

Até o presente momento, conclui-se que é relativamente comum a ocorrência de bactérias com bastonetes gram-negativos alongados com morfologia semelhante ao *F. columnare*

Tabela 1 – Lista das espécies coletadas, com seu nome científico à esquerda e o número de indivíduos coletados à direita, totalizando 300 animais positivos para o diagnóstico presuntivo com coloração de gram.

Nome científico	nº de amostras
<i>Ancistrus cirrhosus</i>	2
<i>Andinoacara rivulatus</i>	1
<i>Arapaima gigas</i>	10
<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	1
<i>Chindongo demasoni</i>	2
<i>Chitala ornata</i>	2
<i>Cichla pinima</i>	3
<i>Corydoras aeneus</i>	2
<i>Cyprinus carpio</i>	3
<i>Dermogenys pusilla</i>	1
<i>Eigenmannia virescens</i>	2
<i>Epalzeorhynchos frenatum</i>	2
<i>Fundulopanchax gardneri</i>	1
<i>Glossolepis incisa</i>	6
<i>Gymnocranius ternetzi</i>	4
<i>Helostoma temminckii</i>	14
<i>Hemichromis bimaculatus</i>	10
<i>Hyphessobrycin amandae</i>	5

Nome científico	nº de amostras
<i>Hyphessobrycon ecques</i>	45
<i>Hyphessobrycon erythrostigma</i>	1
<i>Hyphessobrycon herbertaxelrodi</i>	2
<i>Hyphessobrycon megalopterus</i>	3
<i>Ictalurus punctatus</i>	3
<i>Iriatherina werneri</i>	7
<i>Kryptopterus bicirrhosus</i>	2
<i>Labeotropheus trewavasae</i>	1
<i>Lepisosteus oculatus</i>	3
<i>Melanochromis auratus</i>	6
<i>Melanotaenia gracilis</i>	4
<i>Melanotaenia praecox</i>	1
<i>Mikrogeophagus ramirezi</i>	10
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	1
<i>Monodactylus argenteus</i>	7
<i>Nematobrycin palmeri</i>	3
<i>Paracheirodon axelrodi</i>	5
<i>Poecilia reticulata</i>	10

Nome científico	nº de amostras
<i>Poecilia sphenops</i>	2
<i>Polypterus senegalus</i>	22
<i>Poropanchax normani</i>	2
<i>Pristella maxillaris</i>	2
<i>Pseudotropheus demasoni</i>	1
<i>Pterophyllum scalare</i>	7
<i>Pterygoplichthys pardalis</i>	3
<i>Puntius ticto</i>	7
<i>Rocio octofasciata</i>	1
<i>Stigmatogobius sadanundio</i>	4
<i>Syphodus alquifaciatus</i>	1
<i>Synbranchus marmoratus</i>	8
<i>Tanichthys albonubes</i>	2
<i>Tanichthys thacbaensis</i>	1
<i>Trichogaster lalius</i>	8
<i>Trichogaster leeri</i>	2
<i>Trichogaster microlepis</i>	10
<i>Xiphophorus hellerii</i>	5
<i>Xiphophorus maculatus</i>	27

em peixes ornamentais de aquário, e que os sinais clínicos nem sempre são iguais entre uma espécie de peixe e outra. Mais trabalhos são necessários para que se possa fazer uma correlação ao tipo de lesão, a bactéria, possíveis genótipos e fatores de virulência envolvidos. Posteriormente, será realizado o diagnóstico definitivo das amostras coletas dos animais através do PCR e genotipagem, além de avaliação histopatológica das lesões encontradas.

Referências Bibliográficas

- NOGA, E. J. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*. 2. ed. [s.l.] Wiley-BlackWell, 2010.
- PILARSKI, F.; ROSSINI, A. J.; CECCARELLI, P. S. Isolation and characterization of *Flavobacterium columnare* (Bernardet et al. 2002) from four tropical fish species in Brazil. *Braz. J. Biol.* v. 68, n. 2, p. 409-414, 2008.
- PILARSKI, F.; ISHIKAWA, M. M.; SEBASTIÃO, F. D. A.; DE PÁDUA, S. B.; SAKABE, R. Columnariose: etiologia, sinais clínicos e envio de amostras para análise laboratorial. *Documentos / Embrapa Agropecuária Oeste*. v. 109, p. 32, 2011.
- DECLERCQ, A. M. et al. *Columnaris disease in fish: a review with emphasis on bacterium-host interactions*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.veterinaryresearch.org/content/44/1/27>>.

RESEARCH ABOUT ORNAMENTAL FISHES SAMPLES SUSPECTED OF *FLAVOBACTERIUM COLUMNARE* INFECTION IN GREATER METROPOLY AREA OF SAO PAULO'S DISTRIBUTOR FACILITY

Emy Yano

Andrea Micke Moreno e Simone de Carvalho Balian

Pedro Henrique Magalhães Cardoso

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo

emy.yano@usp.br

Objectives

Columnaris is a common bacterial disease on freshwater fish, infection caused by *Flavobacterium columnare*. Responsible for large economic loss, the disease is the second illness that prejudices the U.S. channel catfish industry¹. The bacteria have flexing motion, visible by wet mounts of lesions like long and thin rods. Viewing these structures in shallow ulcers or discolored areas with erosion on the skin². Also, we can see general clinical signs on

fishes with *F. columnare* like lethargy, inappetence, erratic swimming and fasten operculum movement³. With the clinic signs and skin scrapping of lesioned area, colored with gram stain, we can make the presumptive diagnosis and start the treatment.

The objective of this study is to have diagnosis *in loco* with gram stain in fishes suspected with infection of Columnaris and describe the lesions on different species.



Figure 1 – A: severe columnaris in *Hemichromis bimaculatus* with discoloration and eroded fin; B: *Polypterus senegalus* with red lesions all over their body; C: *Corydora aeneus* with reddish lesions all over the body; D and E: *Xiphophorus maculatus* with discoloration on the skin and mouth; F: *Helostoma temminckii* with saddleback lesion and eroded tail; G: *Arapaima gigas* with greyish lesions over the body; H:gram stain of lesioned area, with characteristic long thin rods, compatible description of *Flavobacterium columnare*.

Materials and Methods

The samples were collected and analyzed from March to July of 2021 on ornamental fishes donated by distributor facility in greater metropolitan area of São Paulo. All of them had clinical signs of infection caused by *Flavobacterium columnare* (Figure 1) and the skin scrapping of lesioned areas was colored with gram stain. The present project was approved by the Ethics Committee on Animal Use of University of São Paulo (CEUA/FMVZ) for the protocol CEUA 6927180221.

Results

About 300 of 385 samples were positive for gram-negative, long and thin rods. Among them, there was species known that had Columnaris like *Poecilia shenops* and *Xiphophorus maculatus*⁴ that was described with Columnaris in literature, but also another 53 species listed in Table 1.

Conclusions

Until now, we can conclude that is relatively common to animals with clinical signs have thin and long rods, similar to *Flavobacterium columnare* in fishes of aquarium. But the

lesions and the signals pattern are variable to species. We need more research to establish a correlation to the type of the lesions, the bacteria, possible genotypes and virulence factors.

References

- NOGA, E. J. **Fish Disease: Diagnosis and Treatment**. 2. ed. [s.l.] Wiley-BlackWell, 2010.
- PILARSKI, F.; ROSSINI, A. J.; CECCARELLI, P. S. Isolation and characterization of *Flavobacterium columnare* (Bernardet et al. 2002) from four tropical fish species in Brazil. **Braz. J. Biol.** v. 68, n. 2, p. 409-414, 2008.
- PILARSKI, F.; ISHIKAWA, M. M.; SEBASTIÃO, F. D. A.; DE PÁDUA, S. B.; SAKABE, R. Columnariose: etiologia, sinais clínicos e envio de amostras para análise laboratorial. **Documentos / Embrapa Agropecuária Oeste**. v. 109, p. 32, 2011.
- DECLERCQ, A. M. et al. **Columnaris disease in fish: a review with emphasis on bacterium-host interactions**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.veterinaryresearch.org/content/44/1/27>>.

Table 1 – List of species collected in the project, with scientific name at left and the how many was collected at right, totalizing 300 samples positive to presumptive diagnosis with gram stain

Nome científico	nº de amostras	Nome científico	nº de amostras	Nome científico	nº de amostras	
<i>Ancistrus cirrhosus</i>	2	<i>Hyphessobrycon ecques</i>	45	<i>Poecilia sphenops</i>	2	
<i>Andinoacara rivulatus</i>	1	<i>Hyphessobrycon erythrostigma</i>	1	<i>Polypterus senegalus</i>	22	
<i>Arapaima gigas</i>	10	<i>Hyphessobrycon herbertaxelrodi</i>	2	<i>Poropanchax normani</i>	2	
<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	1	<i>Hyphessobrycon megalopterus</i>	3	<i>Pristella maxillaris</i>	2	
<i>Chindongo demasoni</i>	2	<i>Ictalurus punctatus</i>	3	<i>Pseudotropheus demasoni</i>	1	
<i>Chitala ornata</i>	2	<i>Iriatherina werneri</i>	7	<i>Pterophyllum scalare</i>	7	
<i>Cichla pinima</i>	3	<i>Kryptopterus bicirrhosus</i>	2	<i>Pterygoplichthys pardalis</i>	3	
<i>Corydoras aeneus</i>	2	<i>Labeotropheus trewavasae</i>	1	<i>Puntius ticto</i>	7	
<i>Cyprinus carpio</i>	3	<i>Lepisosteus oculatus</i>	3	<i>Rocio octofasciata</i>	1	
<i>Dermogenys pusilla</i>	1	<i>Melanochromis auratus</i>	6	<i>Stigmatogobius sadanundio</i>	4	
<i>Eigenmannia virescens</i>	2	<i>Melanotaenia gracilis</i>	4	<i>Sympodus alquifaciatus</i>	1	
<i>Epalzeorhynchos frenatum</i>	2	<i>Melanotaenia praecox</i>	1	<i>Synbranchus marmoratus</i>	8	
<i>Fundulopanchax gardneri</i>	1	<i>Mikrogeophagus ramirezi</i>	10	<i>Tanichthys albonubes</i>	2	
<i>Glossolepis incisa</i>	6	<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	1	<i>Tanichthys thacaensis</i>	1	
<i>Gymnancistrus ternetzi</i>	4	<i>Monodactylus argenteus</i>	7	<i>Trichogaster lalius</i>	8	
<i>Helostoma temminckii</i>	14	<i>Nematobrycin palmeri</i>	3	<i>Trichogaster leeri</i>	2	
<i>Hemichromis bimaculatus</i>	10	<i>Paracheirodon axelrodi</i>	5	<i>Trichogaster microlepis</i>	10	
<i>Hyphessobrycin amandae</i>	5	<i>Poecilia reticulata</i>	10	<i>Xiphophorus hellerii</i>	5	
					<i>Xiphophorus maculatus</i>	27