



ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS CAUSADAS POR PISCINOODINOSE EM ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

HISTOLOPATHOLOGICAL ANALYSIS CAUSED BY PISCINOODINOSIS IN ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

Matheus Antônio Lopes Silva
Maria Luisa Gonçalves Gama Pereira
Camila Leandro Gomes Soares
Mateus Augusto Silva Diniz
Alessandro Loureiro Paschoalini
Nilo Bazzoli

RESUMO

A piscicultura ornamental no Brasil apresenta grande potencial econômico. A Piscinoodinose, causada pelo parasita *Piscinoodinium pillulare*, é uma doença significativa em sistemas de alta densidade, resultando em alterações fisiológicas e histopatológicas em peixes. Este estudo teve como objetivo analisar lesões branquiais em Zebrafish (*Danio rerio*) infectados, buscando identificar sinais clínicos e danos celulares. As principais histopatologias observadas foram fusão lamelar, hiperplasia e hipertrofia das lamelas primárias e secundárias, e congestão vascular, refletindo a resposta do peixe ao parasita. As respostas histopatológicas em *D. rerio* auxiliaram na compreensão dos impactos da Piscinoodinose e sugeriram medidas preventivas para reduzir perdas na piscicultura ornamental.

Palavras-chave: piscicultura ornamental; *Piscinoodinium pillulare*; histopatologias; brânquias.

ABSTRACT

Ornamental fish farming in Brazil has great economic potential. Piscinoodinosis, caused by

¹ Discente do curso de Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Betim, Minas Gerais, Brasil. CEP 32604-115.

² Discente do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Meio Ambiente Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. CEP 30535-610

³ Docente do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Meio Ambiente Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. CEP 30535-610

*Autor correspondente: bazzoli@pucminas.br

the parasite *Piscinoodinium pillulare*, is a significant disease in high-density systems, resulting in alterations in physiological and histopathological in fish. This study aimed to analyze gill lesions in infected Zebrafish (*Danio rerio*), seeking to identify clinical signs and cellular damage. The main histopathologies observed were lamellar fusion, hyperplasia, and hypertrophy of primary and secondary lamellae, and vascular congestion, reflecting the fish's response to the parasite. The histopathological responses in *D. rerio* helped to understand the impacts of Piscinoodinosis and suggest preventive measures to reduce losses in ornamental fish farming.

Keywords: ornamental fish; *Piscinoodinium pillulare*; histopathologies; fish gills.

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura ornamental consiste na criação de peixes para fins decorativos. O Brasil possui uma grande bacia hidrográfica, o que o torna uma potência na produção aquícola (VALENTI et al., 2021). O estado de Minas Gerais é o maior polo de piscicultura ornamental do país, localizado na Zona da Mata mineira, que produz uma grande variedade de espécies de diferentes famílias, e as comercializa para outras regiões do país (CARDOSO et al., 2012). A piscicultura ornamental está constantemente sujeita a desafios relacionados à saúde animal e à qualidade dos ambientes de reprodução, sendo as doenças infecciosas um dos principais obstáculos ao sucesso da piscicultura ornamental (SENTHAMARAI et al., 2023).

A Piscinoodinose, também conhecida como “doença de veludo”, tornou-se uma das doenças mais importantes na aquicultura, especialmente em sistemas de aquário e tanques de alta densidade (MARTINS et al., 2015). A doença é causada pelo parasita dinoflagelado *Piscinoodinium pillulare*, que tem um ciclo de vida adaptado para invadir tecidos epiteliais de peixes, causando danos severos como necrose, inflamação, fusão das lamelas secundárias e é caracterizada pela presença de uma coloração dourada ou esverdeada nas brânquias e pele de peixes infectados (MACIEL-HONDA et al., 2023; NOGA, 2010). A doença é transmitida principalmente pela contaminação do ambiente aquático com o parasita, mas o estresse ambiental, causado por fatores como mudanças bruscas de temperatura, pH e altas densidades de peixes, aumenta a vulnerabilidade dos animais à infecção e facilita a disseminação de *P. pillulare* (SANT'ANA et al., 2012).

O presente estudo teve como objetivo analisar as alterações histopatológicas nas brânquias de *D. rerio* afetadas por *P. pillulare*, fornecendo dados que contribuam para o

diagnóstico precoce e medidas preventivas na piscicultura ornamental.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Peixes

Exemplares adultos de *D. rerio* (n=19) foram doados por uma loja especializada. Durante o processo de quarentena, eles foram diagnosticados pelo veterinário da loja como infectados pelo parasita *P. pillulare* através da análise de sinais clínicos e microscopia óptica de lâmina úmida de raspados superficiais da pele de indivíduos selecionados no lote da espécie. Todos os peixes coletados foram anestesiados com 85 mg/L de Eugenol e eutanasiados por secção transversal da medula cervical, seguindo os princípios éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, 2013). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (nº 2023/29608).

2.2 Análises histopatológicas

Fragmentos de brânquias (n=19) foram fixados em líquido de Bouin por 12 horas, desidratados em banhos de álcool, incluídos em blocos de historesina, cortados em secções de 3 μ com micrótomo de alta precisão e corados com azul de toluidina em solução de borato de sódio. Os achados histopatológicos observados foram fotografados com microscópio óptico Olympus-BX50 acoplado a uma câmera Olympus SC30.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao exame clínico, observou-se a presença de lesões amareladas em escamas, nadadeiras e cabeça (**Figura 1a**), compatíveis com Piscinoodinose, enquanto na microscopia óptica do raspado de pele foi possível observar a presença de cistos do parasita, confirmando o diagnóstico da doença (**Figura 1b**).

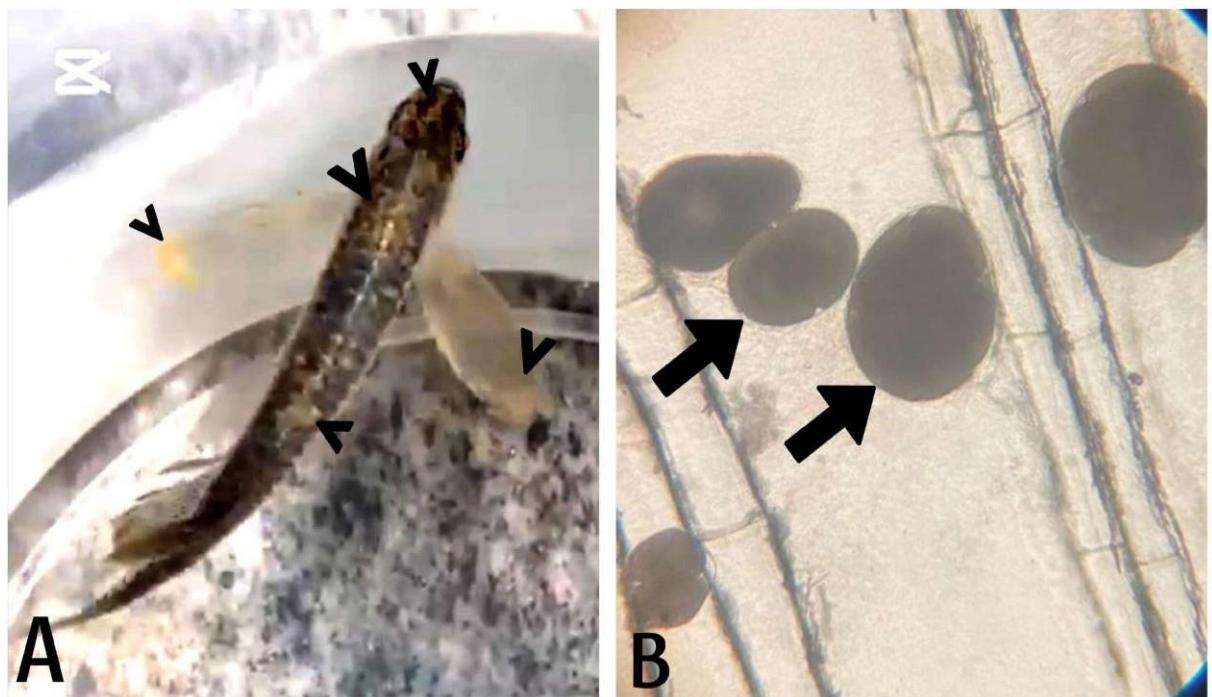


Figura 1 - *D. rerio* com lesões amareladas (ponta de seta) (a); cistos de *P. pillulare* (seta) visualizados em raspados de pele em lâmina úmida direta, aumento de 400x (b).

Nas análises histológicas das brânquias, foram observadas hiperplasia e fusão total das lamelas secundárias, congestão capilar e, em alguns casos, cistos parasitários foram observados entre as lamelas secundárias (**Figura 2**).

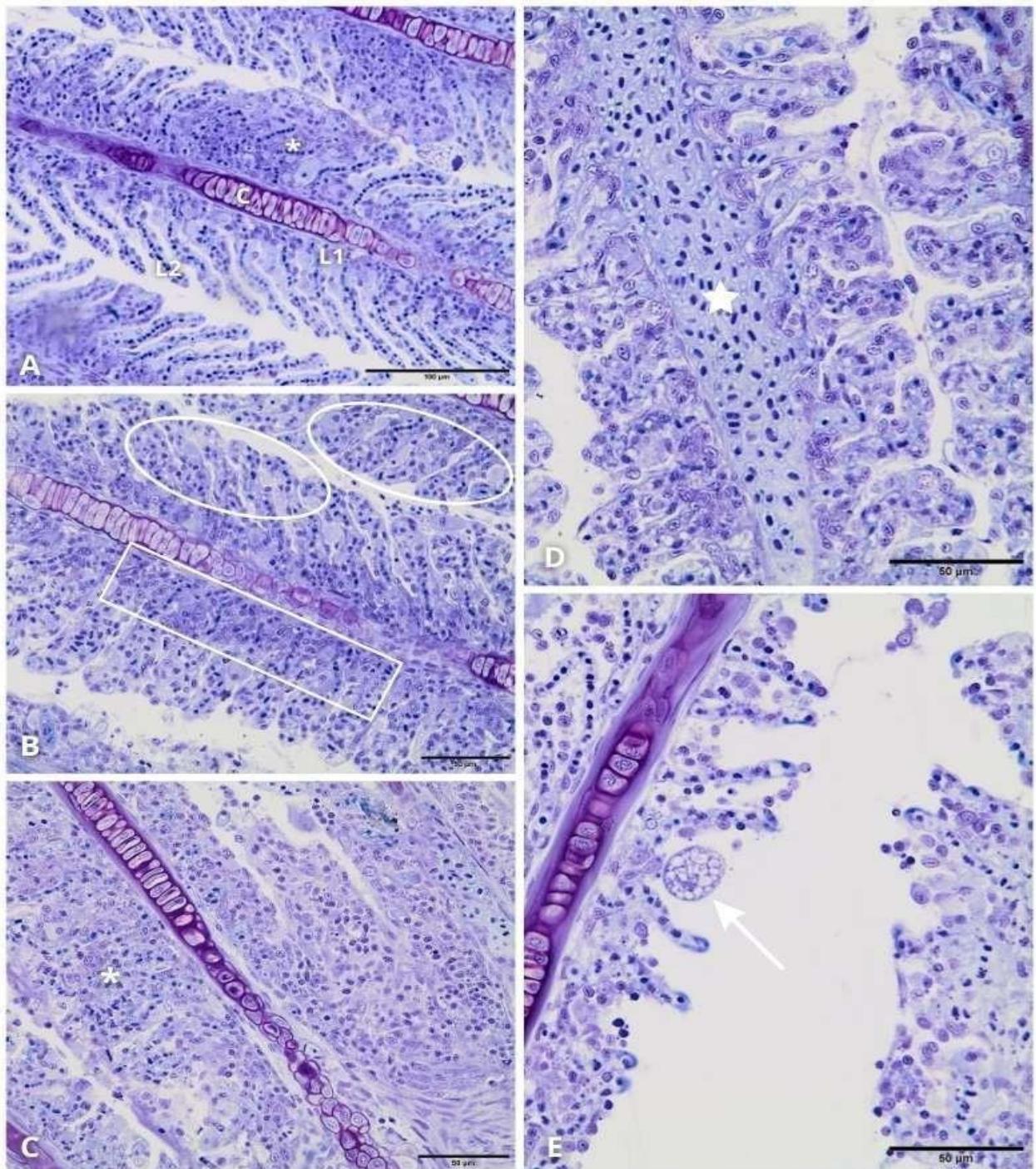


Figura 2 – Cortes de brânquias de *D. rerio* coradas com azul de toluidina e borato de sódio. Lamelas primárias (L1) contendo cartilagem hialina (C) e lamelas secundárias saudáveis (L2) e fusão completa das lamelas secundárias (asterisco) (a). Hiperplasia e hipertrofia das lamelas primárias (quadradinho) e secundárias (círculo) (b). Fusão completa das lamelas primária e secundária (asterisco) (c). Congestão dos vasos sanguíneos nas lamelas primárias (estrela) (d). Cisto parasitário (seta) nas lamelas secundárias (e).

As brânquias dos peixes fazem parte do sistema respiratório e são um dos primeiros órgãos afetados por agentes infecciosos, pois estão em contato contínuo com o ambiente aquático; portanto, em ambientes contaminados ou parasitados, os peixes geralmente

apresentam sinais clínicos de asfixia, com ventilação intensa e movimentos operculares aumentados para potencializar a oxigenação (MIKHEEV et al., 2014; NOGUEIRA et al., 2009). Os mecanismos patogênicos do parasita incluem a fixação à superfície dos peixes, aderindo a escamas e brânquias, formando cistos que evoluem para trofozoítos, invadindo camadas epiteliais. Isso resulta em dano celular, aumento do crescimento de células mucosas e hiperplasia de células branquiais, interferindo na capacidade respiratória do peixe, podendo progredir para hipóxia (DEL RIO-ZARAGOZA ET AL., 2010). Como observado no presente estudo, cistos parasitários foram observados tanto em raspados de pele quanto entre as lamelas secundárias das brânquias, demonstrando a capacidade de *P. pillulare* de aderir e penetrar no tecido branquial, comprometendo as trocas gasosas e demonstrando o impacto direto do parasita nas brânquias. O mesmo foi documentado em *Piaractus mesopotamicus*, em que os autores observaram que o parasita foi encapsulado mediante resposta inflamatória, comprometendo o fluxo sanguíneo e reduzindo as trocas gasosas (SANT'ANA et al., 2012).

Nas análises microscópicas das brânquias, as principais alterações histopatológicas são observadas no nível epitelial. A hiperplasia é uma proliferação excessiva de células epiteliais, que pode progredir para a fusão parcial ou total das lamelas primárias e secundárias, como observado no presente estudo (PANE et al., 2004). Em outro estudo envolvendo condições graves de infecção em *Piaractus mesopotamicus*, os autores observaram fusão das lamelas, comprometendo a área respiratória e dificultando as trocas gasosas, semelhante ao observado em nossas amostras (JERÔNIMO et al., 2014). A mesma alteração foi relatada em *Prochilodus lineatus* expostos a poluentes em rios, indicando que essa resposta é comum em peixes submetidos a condições de estresse ambiental e parasitário (CAMARGO & MARTINEZ, 2007). Essas alterações teciduais são mecanismos de defesa que aumentam a espessura das lamelas para limitar a área de contato com o parasita em espécies de peixes de ambientes eutróficos (NASCIMENTO et al., 2012).

Alterações circulatórias, como a congestão capilar observada no presente estudo, ocorrem devido ao aumento do suprimento sanguíneo e consequente ruptura das células pilares (JAGOE et al., 1996). Histopatologias semelhantes foram observadas em *Colossoma macropomum* com altas cargas parasitárias, confirmando que esta é uma resposta fisiológica importante em condições de infecção intensa (TAVARES-DIAS et al., 2021). Este distúrbio circulatório geralmente leva à formação de aneurismas que podem evoluir para necrose e ruptura epitelial. Embora descritos na literatura em estágios avançados da Piscinoodinose, estes não foram observados nas amostras deste estudo, indicando infecção moderada

(VELMURUGAN et al., 2009).

Os resultados apresentados refletem as respostas adaptativas de *D. rerio* à infecção por *P. pillulare*, demonstrando alterações morfológicas específicas, como hiperplasia, fusão lamelar, congestão capilar e formação de cistos, que caracterizam o impacto do parasita no tecido branquial. A maior parte dos sinais clínicos estão associados à histopatologia observada nas brânquias, que ocorre como mecanismo de defesa que, com a exposição crônica ao parasita, podem ser agravados e resultar na morte dos animais infectados.

4 CONCLUSÃO

Este estudo destacou aspectos críticos da resposta fisiopatológica em peixes ornamentais expostos ao *P. pillulare*. Alterações clínicas, observadas em raspados de pele e análises histopatológicas de brânquias, contribuíram para a compreensão dos mecanismos de defesa contra parasitoses em peixes infectados por dinoflagelados. A identificação precoce e as medidas preventivas derivadas de estudos como este, contribuem diretamente para a viabilidade econômica da aquicultura ornamental, minimizando perdas financeiras e aprimorando o manejo sanitário. Assim, esses achados reforçam o papel de *D. rerio* como um modelo eficaz para estudos parasitológicos, oferecendo dados importantes que podem ser extrapolados para outras espécies de peixes ornamentais.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – processo 311463/2021-5), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG – processo APQ02172-23) e à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – código de financiamento 001) pelo apoio financeiro.

6 REFERÊNCIAS

CAMARGO, M.M.P., & MARTINEZ, C.C.R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*, v. 5, p. 327-336, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252007000300013>

CANEDO, A., SAIKI, P., SANTOS, A.L., CARNEIRO, K.S., SOUZA, A.M., QUALHATO, G., BRITO, R.S., MELLO-ANDRADE, F., & ROCHA, T.L. Zebrafish (*Danio rerio*) meets bioethics: the 10Rs ethical principles in research. *Cien anim bras*, v. 23, p. 70884, 2022. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v22e-70884>

CARDOSO, R.S., LANA, A.M. Q., TEIXEIRA, E.A., LUZ, R.K., & FARIA, P.M.C. Caracterização socioeconômica da aquicultura ornamental na região da Zona da Mata Mineira. *Bol Inst Pesca*, São Paulo, v. 38, p. 89-96, 2012.

DEL RIO-ZARAGOZA, O.B., FAJER-AVILA, E.J., & ALMAZÁN-RUEDA, P. Haematological and gill responses to an experimental infection of dactylogyrid monogeneans on the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquaculture Research*, v. 41, p. 1592-1601, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02471.x>

JAGOE, C.H., FAIVRE, A., & NEWMAN, M.C. Morphological and morphometric changes in the gills of mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) after exposure to mercury (II). *Aquatic Toxicology*, v. 34, p. 163-183, 1996. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(95\)00033-Z](https://doi.org/10.1016/0166-445X(95)00033-Z)

JERÔNIMO, G.T., PÁDUA, S.B., BAMPI, D., GONÇALVES, E.L.T., GARCIA, P., ISHIKAWA, M.M., & MARTINS, M.L. Haematological and histopathological analysis in South American fish *Piaractus mesopotamicus* parasitized by monogenean (Dactylogyridae). *Brazilian Journal of Biology*, v. 74, 2014. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.09513>

MACIEL-HONDA, P.O., NETO, E.M.S., COSTA-FERNANDES, T.O., JESUS, F.H.R., CHAGAS, E.C., & TAVARES-DIAS, M. First record of *Neoechinorhynchus buttnerae* and *Piscinoodinium pillulare* infection in *Colossoma macropomum* in the state of Tocantins. *Brazil. Braz J Vet Parasitol*, v. 32, 2023.

MARTINS, M.L., CARDOSO, L., MARCHIORI, N., & BENITES DE PÁDUA, S. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária*, v. 24, p. 1-20, 2015. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612015013>

MIKHEEV, V.N., PASTERNAK, A.F., VALTONEN, E.T., & TASKINEN, J. Increased ventilation by fish leads to a higher risk of parasitism. *Parasites & Vectors*, v. 7, 2014. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-281>

NASCIMENTO, A.A., ARAÚJO, F.G., GOMES, I.D., MENDES, R.M.M., & SALES, A. Fish gills alterations as potential biomarkers of environmental quality in a eutrophized tropical river in South-Eastern Brazil. *Anat Histol Embryol*, v. 41, p. 209-216, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2011.01125.x>

NOGA, E.J. *Fish disease: diagnosis and treatment*. 2 ed. Oxford, Blackwell Publishing, 2010.

NOGUEIRA, D.J., CASTRO, S.C., & SÁ, O.R. Utilização das brânquias de *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000) (Teleostei, Characidae) como biomarcador de poluição ambiental no reservatório UHE Furnas – MG. *Revista Brasileira de Zoociências*, v. 11, p. 227-232, 2009.

PANE, E.F., HAQUE, A., & WOOD, C.M. Mechanistic analysis of acute, Ni-induced respiratory toxicity in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): an exclusively branchial phenomenon. *Aquatic toxicology*. V. 69, p. 11-24, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.04.009>

SANT'ANA, F.J.F., OLIVEIRA, S.L., RABELO, R.E., VULCANI, V.A.S., SILVA, S.M.G., & FERREIRA JÚNIOR, J.A. Surtos de infecção por *Piscinoodinium pillulare* e *Henneguya spp.* em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) criados intensivamente no Sudoeste de Goiás. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, p. 121-125, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000200005>

SENTHAMARAI, M.D., RAJAN, M.R., & BHARATHI, P.V. Current risks of microbial infections in fish and their prevention methods: A review. *Microbial Pathogenesis*, v. 185, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106400>

TAVARES-DIAS, M., FERREIRA, G.V., & VIDEIRA, M.N. Histopathological alterations caused by monogenean parasites the gills of tambaqui *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae). *Semina: cienc agrar*, v. 42, p. 2057-2064, 2021. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n3Supl1p2057>

VALENTI, W.C., BARROS, H.P., MORAES-VALENTI, P., BUENO, G.W., & CAVALLI, R.O. Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture reports*, v. 19, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100611>

VELMURUGAN, B., SELVANAYAGAM, M., CENGIZ, E.I., & ENLU, E. Histopathological changes in the gill and liver tissues of freshwater fish, *Cirrhinus mrigala* exposed to dichlorvos. *Braz arch of biol technol*, v. 52, p. 1291-1296, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132009000500029>

YE, M., & CHEN, Y. Zebrafish as an emerging model to study gonad development. *Computational and structural biotechnology journal*, v. 18, p. 2372-2380, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.08.025>