

Alterações histopatológicas em fígado de dourado *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 (Osteichthyes, Characidae) causadas por *Neocucullanus neocucullanus* Travassos, Artigas & Pereira 1828 (Nematoda)

Edson de Lara Rodrigues^{1*}, Maria José Tavares Ranzani-Paiva² e Antenor Aguiar Santos¹

¹Laboratório de Impacto Ambiental e Histopatologia, Centro Universitário Adventista de São Paulo, Estrada de Itapecerica, 5859, 05858-001, São Paulo, São Paulo, Brasil. ²Instituto de Pesca, Av. Francisco Matarazzo, 455 05001-900, São Paulo, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: rodriguesedson@hotmail.com

RESUMO. Foram capturados 293 exemplares de *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840, (Osteichthyes, Characidae) no rio Mogi-Guaçu, Cachoeira de Emas, de agosto de 1996 a dezembro de 1997. Amostras de fígado de 45 exemplares que apresentaram parasitos, *Neocucullanus neocucullanus* Travassos, Artigas e Pereira, 1928 (prevalência de 15,35%), foram fixadas em Bouin e processadas para inclusão em parafina. Cortes de 5 µm foram corados por HE, Tricrômico de Mallory e submetidos ao PAS contracorados com Hematoxilina. Macroscopicamente nos fígados que se apresentavam parasitados, havia infecção nas regiões centrais e periféricas, algumas vezes com perfuração do estroma do órgão, permitindo visão do cisto externamente. Microscopicamente e circunscrito à região da instalação do parasito, encontrou-se desorganização intensa do tecido, com células típicas de processo inflamatório ativo e de uma discreta deposição de fibrina ao redor do foco inflamatório. Justaposto ao parasito há a cápsula delgada constituída por fibroblastos e fibras colágenas. A presença de leucócitos e o encapsulamento do parasito demonstram um processo inflamatório agudo.

Palavras-chave: peixes, parasito, nematóides, infecção helmíntica, *Salminus maxillosus*, *Neocucullanus neocucullanus*.

ABSTRACT. "Dourado", *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 (Osteichthyes, Characidae) liver histopathologic alterations caused by *Neocucullanus neocucullanus* Travassos, Artigas & Pereira 1828 (Nematoda). From August 1996 to December 1997, 293 specimens of *Salminus maxillosus* were captured in the Mogi-Guaçu river, at Cachoeira de Emas, municipality of Pirassununga, state of São Paulo, Brazil. The livers of 45 fishes were parasitized by *Neocucullanus neocucullanus* Travassos, Artigas and Pereira, 1928 (15.35% prevalence). Liver samples were fixed in Bouin and processed for paraffin inclusion. 5µm-sections were stained with ME, Mallory trichromic and submitted to Hematoxylin-contrasted PAS. Macroscopically, the parasitized livers had central and peripheral infection, sometimes perforating the stroma, allowing the cyst to be seen externally. Microscopically, and only surrounding the parasite, intense tissue disorganization, with typical active inflammatory process cells, and discrete fibrin deposition around the inflammatory focus. Juxtaposed to the parasite, there is the thin capsule with fibroblasts and collagen. The presence of leukocytes and the parasite encapsulation indicate an acute inflammatory process.

Key words: fish, parasite, nematodes, helminthic infection, *Salminus maxillosus*, *Neocucullanus neocucullanus*.

Quando se estuda um determinado organismo, é de suma importância conhecer as possíveis afecções que possam acometê-lo. Diagnosticar eficazmente e intervir prontamente de forma terapêutica é o meio mais indicado no controle da mortalidade das populações em cativeiro (Cruz *et al.*, 1982).

A epidemiologia das doenças em populações naturais de peixes é assunto recente em Ictiologia e

esforços têm sido feitos para usar a ocorrência das doenças de peixes como indicador dos efeitos de fatores ambientais impactantes (Ranzani-Paiva *et al.*, 1997). Esses efeitos podem ser de ordem natural ou antropogênicas, isoladamente ou em associação, tendo como consequência a perturbação fisiológica dos animais (Obiekezie *et al.*, 1988).

Quando se estudam infecções por endoparasitos, observam-se várias alterações nos órgãos e tecidos dos hospedeiros. Geralmente, os tecidos reagem encapsulando os parasitos por hiperplasia celular, resultando em nódulos, que podem ser macroscópicos. Segundo Eiras e Rego (1989), a repercussão do parasitismo sobre a condição do hospedeiro pode ser importante e depende de vários fatores, tais como: a natureza do parasito, a intensidade de infecção e o órgão afetado. Por outro lado, Paperna e Lahav (1974) verificaram que exemplares pequenos de *Haplochromis* sp. infectados com apenas um exemplar de Copepoda podem interferir no desenvolvimento normal dos ovócitos do hospedeiro, e que dois ou mais exemplares do parasito podem resultar na destruição completa do ovário.

Estudos patológicos em peixes resultantes de infecções por Nematoda têm sido descritas em fígado, musculatura, baço, estômago e outros órgãos em diversas espécies de peixes (Hauck e May, 1977; Poole e Dick, 1984; Eiras e Rego, 1988, 1989; Bucke e Feist, 1993). Em dourado, encontrou-se na literatura a descrição da histopatologia de vesícula biliar parasitada por *Prothenhystera obessa* (Pavanelli *et al.*, 1992).

Este trabalho teve como propósito, descrever as alterações morfológicas do fígado de *Salminus maxillosus*, do rio Mogi-Guaçu, Cachoeira de Emas, região de Pirassununga, Estado de São Paulo, parasitado por *Neocucullanus neocucullanus* (Nematoda, Cucullaniidae), permitindo a descrição de achados patológicos. Essa espécie de peixes tem distribuição geográfica: Brasil - Amazonas, alto Amazonas, rio Paraguai e bacia do rio Paraná superior, médio e inferior (Ringuelet *et al.*, 1967); Bolívia; Colômbia; Peru e Uruguai (Fowler, 1951). São considerados peixes de "piracema" e reofílicos, de grande valor econômico, sendo uma espécie muito apreciada pelos pescadores esportivos e profissionais (Morais Filho e Schubart, 1955).

Material e métodos

No período de agosto de 1996 a dezembro de 1997, foram capturados 293 exemplares de *S. maxillosus* Valenciennes, 1840 (Figura 1), de vários tamanhos, no rio Mogi-Guaçu, em trechos a jusante e a montante da barragem, da Cachoeira de Emas (21°58'S - 47°26'W, altitude 560 metros), município de Pirassununga, Estado de São Paulo, Brasil.

Os animais foram sacrificados por comoção cerebral e, em seguida, pesados (g) e medidos (cm).

Dos indivíduos que apresentaram parasitos no fígado, colheram-se amostras deste órgão, que foram

fixadas em Bouin e processadas conforme rotina histológica (Culling *et al.*, 1985) para inclusão em parafina. Os cortes foram realizados à espessura de 5µm, sendo corados por H.E., Tricrômico de Mallory e submetidos à reação de PAS contracorados com Hematoxilina (Bücherl, 1962) e observados sob microscópio de luz comum.

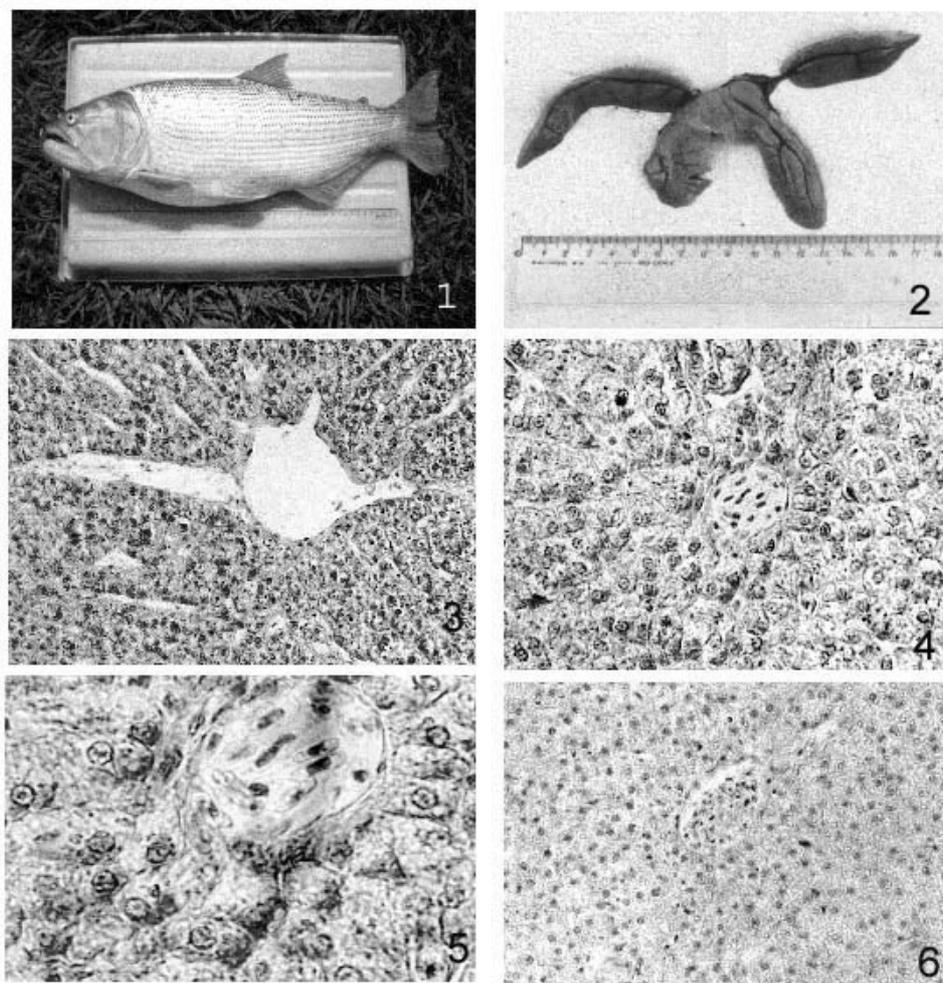
Resultados e discussão

Foram analisados 293 espécimes de dourado, todos adultos com comprimento total entre 36,6 e 87,0 cm e peso total entre 480,0 e 7030,0 g.

Pela observação macroscópica, verificou-se que o fígado de *S. maxillosus* ocupava considerável volume da cavidade celomática, quando comparado ao restante do corpo, apresentando uma coloração vermelho-acastanhada e de consistência macia (Figura 2). Está situado na porção anterior da cavidade, recobrimdo parte da porção dorsal e ventral do estômago. Encontra-se, ainda, uma vesícula biliar, com inúmeros vasos sanguíneos e uma estreita ligação com o baço.

Microscopicamente, em *S. maxillosus*, os hepatócitos possuem forma arredondada poligonal, arranjando-se em cordões margeando os sinusóides (Figuras 3 e 4). Apresentam eliminação plasmática bem definida e grande núcleo arredondado com cromatina dispersa na periferia e nucléolos proeminentes (Figura 5). O citoplasma apresenta aspecto vacuolizado com presença de grânulos de glicogênio PAS-positivo (Figura 5). Na Figura 6, observa-se o controle, amilase salivar mais PAS, demonstrando visualmente a digestão do glicogênio. Esse padrão de descrição também foi observado por vários autores para diferentes espécies (Byczkowska-Smyk, 1968; Weis, 1972; Hibiya, 1982; Rodrigues e Fanta, 1998).

Macroscopicamente, o fígado de 45 exemplares de *S. maxillosus* apresentava-se parasitados pelo nematóide *Neocucullanus neocucullanus* (prevalência de 15,35%). Esse nematóide foi descrito por Travassos, Artigas e Pereira, em 1928, e considerado por Moravec (1998) como sinônimo de *Cucullanus interrogativus* Travassos, Artigas e Pereira, 1928 encontrado em fígado de *S. maxillosus*. Foram encontrados encerrados em cistos esbranquiçados, situados no parênquima hepático próximo à superfície do órgão, produzindo infecção tanto nas regiões centrais, como periféricas, sendo que algumas vezes, houve perfuração do estroma do órgão, permitindo uma visão do cisto externamente (Figura 7). Cada cisto continha um ou, no máximo, 2 parasitos. Algumas vezes foram encontrados cistos sem parasitos e com material amorfo, esbranquiçado.



Figuras 1-6. 1. *Salminus maxillosus* do rio Mogi-Guaçu, Cachoeira de Emas, Pirassununga, Estado de São Paulo. 2. Aspecto macroscópico normal do fígado de *Salminus maxillosus*. 3. Secção de fígado de *Salminus maxillosus* com cordões hepáticos, sinusóides, vasos sanguíneos com células sanguíneas (HE, 200X). 4. Fígado de *Salminus maxillosus* onde se observam grânulos de glicogênio, vasos sanguíneos com eritrócitos, sinusóides (PAS 400X). 5. Detalhe do fígado de *Salminus maxillosus* em PAS. Nota-se a presença de células poligonais, os hepatócitos com núcleos arredondados e nucléolo, vênula hepática terminal, presença de grânulos de glicogênio PAS-positivo (1000X). 6. Controle (amilase salivar + PAS) de fígado de *Salminus maxillosus* (200X)

Microscopicamente e circunscrito à região da instalação do parasito, encontrou-se desorganização intensa do tecido, com células típicas de processo inflamatório ativo. Na trajetória do parasito, observou-se exsudação leucocitária (Figura 8). Soma-se a esse quadro uma discreta deposição de fibrina ao redor do foco inflamatório. Justaposto ao parasito, há uma cápsula delgada constituída por fibroblastos e fibras colágenas identificadas pelo método de coloração de Tricrômico de Mallory e HE (Figuras 9 e 10). A estrutura das cápsulas observadas é semelhante às descritas por outros autores para Nematoda do mesmo ou de gêneros diferente (Eiras e Rego, 1987, 1988, 1989; Bucke e Feist, 1993).

A presença de leucócitos e o encapsulamento do parasito demonstram, em primeira instância, um processo inflamatório agudo, mesmo após a penetração do parasito, pois este, aparentemente mantinha movimentos, aprofundando-se no tecido. Com o passar do tempo, o processo inflamatório pode tornar-se crônico, devido à persistência do estímulo desencadeador ou devido a alguma interferência no processo normal de reparo tecidual. Comumente, a inflamação crônica inicia-se de modo insidioso na forma de resposta indolente de baixa intensidade, não acompanhando a inflamação aguda. Provavelmente, no caso em estudo, o organismo do hospedeiro buscou um isolamento do parasito e seus metabólitos.

Segundo Eiras (1994), a patogenia dos nematóides para os peixes é, de modo geral, pouco significativa. As larvas encontram-se usualmente encapsuladas e para muitas espécies, os tecidos dos hospedeiros contíguos à cápsula não evidenciam alterações histopatológicas apreciáveis.

Várias espécies de peixes são hospedeiras intermediárias para nematóides e estes têm sido encontrados encistados em vários órgãos ou locais dos peixes, provocando desorganização celular e quantidade variável de células fagocitárias e linfócitos infiltrados (Eiras e Rego, 1989). Mesmo com a presença de parasitos em órgãos vitais como fígado, rim e baço, a condição do hospedeiro não demonstrou, aparentemente, alterações graves, o que também foi constatado por Eiras e Rego (1989). A microscopia de luz comum revelou, ainda, no tecido

hepático, a musculatura circular do parasito, indicando o local da sua instalação no órgão (Figuras 11 e 12). O mesmo foi encontrado por Eiras e Rego (1988), quando estudaram o Nematoda *Eustrongylides* sp. em *Paratrygon* sp., *Pseudoplatystoma corruscans* e *Pygocentrus nattereri*, espécies de teleósteos do rio Cuiabá (MT).

A infecção helmíntica em vertebrados superiores geralmente leva a uma resposta inflamatória eosinofílica, nos tecidos do hospedeiro. Tal resposta é comum em anisakíase humana, mas não ocorreu nos peixes deste estudo. Esses achados corroboram os de outros investigadores (Hauck e May, 1977), que afirmaram que extensa eosinofilia não é usual como reação inflamatória dos peixes hospedeiros contra os parasitos.

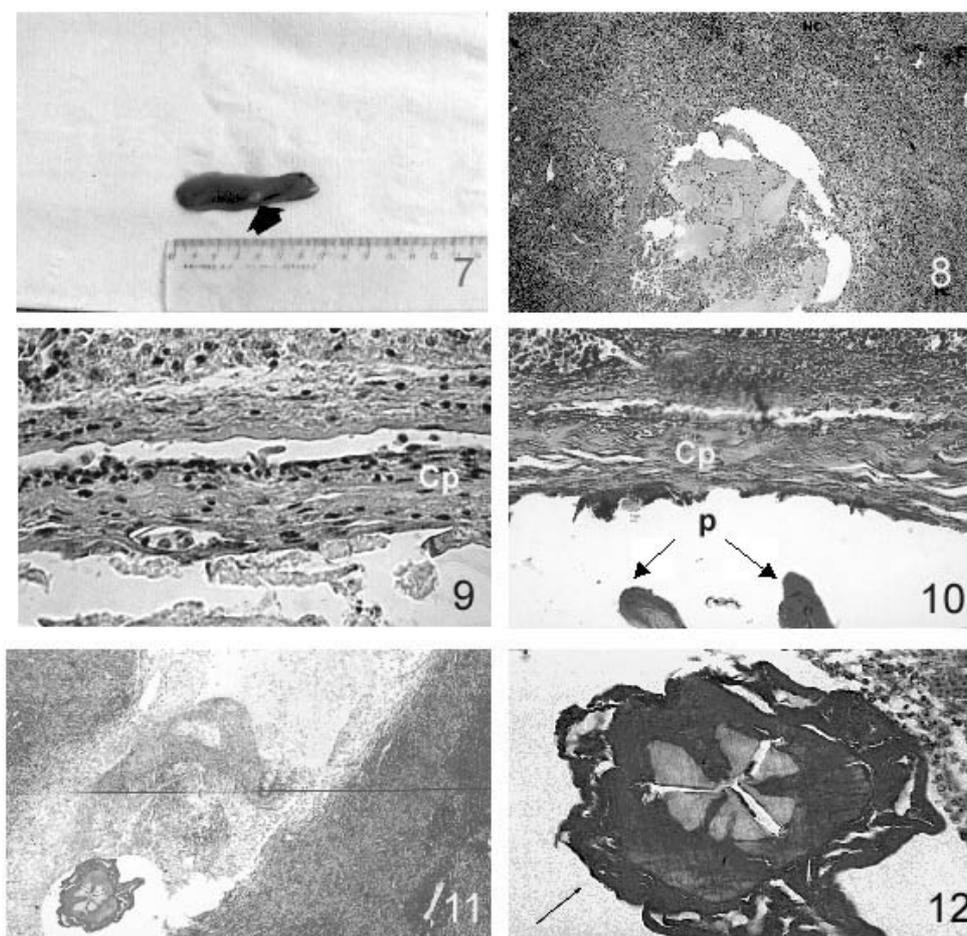


Figura 7-12. 7. Aspecto macroscópico de cisto de nematóide em fígado de *Salminus maxilloso*. 8. Fotomicrografia de fígado de *Salminus maxilloso*, corado pelo Tricrômico de Mallory permitindo a visualização da região lesionada (Le). Na região mais clara observa-se os hepatócitos (Hc) na trajetória do parasito (200X). 9. Fígado de *Salminus maxilloso*, detalhe da cápsula (Cp), que envolve o parasito (HE 400x). 10. Fígado de *Salminus maxilloso*, detalhe da cápsula (Cp) envolvendo o parasito (P), sugerindo um significativo tempo de permanência neste órgão coloração Tricromico de Mallory (400X). 11. Foco da lesão provocada por nematóide em uma secção do fígado de *Salminus maxilloso*. Lesão provocada pela trajetória do parasito (HE 200X). 12. Fotomicrografia de nematóide no fígado de *Salminus maxilloso*, demonstrando o tecido muscular do parasito fortemente eosinofílico (HE 400X)

Conclusão

Mesmo que a definição de parasitismo ressalte um resultado de efeitos negativos no crescimento e sobrevivência do hospedeiro e positivos ou benéficos para o parasito, *S. maxillosus* demonstrou ser uma espécie que desenvolve uma aparente resistência a alguns parasitos, mesmo quando estes estão alojados em órgãos vitais como o fígado, pois não foi observado um maior comprometimento na higidez dos exemplares.

Referências

- BÜCHERL, W. *Técnicas microscópicas*. São Paulo: Polígono, 1962.
- BUCKE, D.; FEIST, S.W. Histopathological changes in the livers of dab, *Limanda limanda* (L.). *J. Fish Dis.*, Oxford, v. 16, n. 4, p. 281-296, 1993.
- BYCZKOWSKA-SMYK, W. Observation of the ultrastructure of the hepatic cell of the turbot (*Lota lota* L.). *Zoologica Polonae*, v.18, p.287-297, 1968.
- CRUZ, J. M. *et al.* Two new hosts *Mugil auratus* and *Blennius pholis* of *Ichthyosporidium* and diagnosis in asymptomatic carriers. *Publicações do Instituto de Zoologia Dr. Augusto Nobre*, Porto, n.167, 1982.
- CULLING, C.F.A. *et al.* *Cellular pathology technique*. 4. ed. London: Butterworth e Co., 1985.
- EIRAS, J.C. *Elementos de Ictioparasitologia*. Porto: Fundação Eng. Antônio de Almeida, 1994.
- EIRAS, J.C.; REGO, A. A. The histopathology of *Scomber japonicus* infection by *Nematobothrium scomberi* (Trematoda:Didymozoidae) and of larval *Anisakis* nematode infection in the liver of *Pagrus pagrus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 2, n. 82, p.155-159, 1987.
- EIRAS, J.C.; REGO, A.A. Histologia em peixes resultante de infecções parasitárias. *Publicações do Instituto de Zoologia Dr. Augusto Nobrega*, Porto, n.208, p.1-12, 1989.
- EIRAS, J.C.; REGO, A.A. Histologia da parasitose de peixes do rio Cuiabá (Mato Grosso) por larvas de *Eustrongylides* sp. (Nematoda, Dioctophymidae). *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v.48, n.2, p.273-280, 1988.
- FOWLER, H.W. Os peixes de água doce do Brasil. *Arq. Zool. Est. São Paulo*, São Paulo, v.6, n.2, p.205-404, 1951.
- HAUCK, A.K.; MAY, E.B. Histopathologic alterations associated with *Anisakis* larvae in Pacific herring from Oregon. *J. Wildl. Dis.*, Lawrence, v. 13, p. 290-293, 1977.
- HIBIYA, T. Digestive System - Liver. In: *An Atlas of Fish Histology: Normal and Pathological Features*. Tokyo: Kodansha Ltd., 1982. p.82-90.
- MORAIS FILHO, M.B.; SCHUBART, O. *Contribuição ao estudo do dourado (Salminus maxillosus Val.) do rio Mogi Guassu (Pisces, Characidae)*. Ministério da Agricultura. Divisão de Caça e Pesca-São Paulo, 131 p., 1955.
- MORAVEC, F. *Nematodes of freshwater fishes of the neotropical region*. 1. ed. Praha: Academy of Science of the Czech Republic, 1998.
- OBIEKEZIE, A.I. *et al.* Diseases of the African estuarine catfish *Chrysichthys nigrodigitatus* (Lacépède) from the Cross River estuary, Nigeria. *J. Fish Biol.*, London, v.32, n.2, p.207-221, 1988.
- PAPERNA, I.; LAHAV, M. Mortality among gray mullets in a seawater pond due caligiid parasitic copepod epizootic. *Bamidgeh*, Nir-David, v.26, n.1, p.12-15, 1974.
- PAVANELLI, G.C. *et al.* Parasitose por *Prosthenhystera obesa* (Diesing, 1850) (Trematoda-Caliodistomidae) em vesícula biliar de "dourado" *Salminus maxillosus* (Pisces, Salmininae). *SIMBRAq* 7, Enbrapoa 2, Peruíbe, SP. *Anais...* 167-172, 1992.
- POOLE, B.C.; DICK, T.A. Liver pathology of yellow perch, *Perca flavescens* (Mitchill), infected with larvae of the nematode *Raphidascaris acus* (Bloch, 1779). *J. Wildlife Dis.*, v. 20, n. 4, p. 303-307, 1984.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T. *et al.* Hematological characteristics associated with parasitism in mullets, *Mugil platanus* Günther, from the estuarine region of Cananéia, São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Zool.*, Curitiba, v. 14, n. 2, p. 329-339, 1997.
- RINGUELET, R.A. *et al.* *Los peces argentinos de água dulce*. Buenos Aires: La Plata Comisión de Investigación Científica, 1967. 602p.
- RODRIGUES, E.L.; FANTA, E. Liver histopathology of the fish *Brachidanio rerio* Hamilton-Buchman after acute exposure to sublethal levels of the organophosphate Dimethoate 500. *Rev. Bras. Zool.*, Curitiba, v.15, n.2, p. 441-450, 1998.
- WEIS, P. Hepatic ultrastructure in two species of normal, fasted and gravid teleost fishes. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.133, p.317-332, 1972.

Received on January 17, 2002.

Accepted on March 08, 2002.