

Figura 1 - Cabeça de pintainho com três semanas de idade após fixação, visão lateral esquerda. Observar a protrusão de meninge e encéfalo de 2,0 x 1,6 x 1,0 cm.



Figura 2 - Cabeça de pintainho com três semanas de idade após fixação, visão dorsal. Observar que a protrusão envolve ambos hemisférios.



Figura 3 - Cabeça de pintainho de três semanas de idade após fixação, visão lateral esquerda após corte longitudinal medial. Observar maior detalhamento da região herniada.

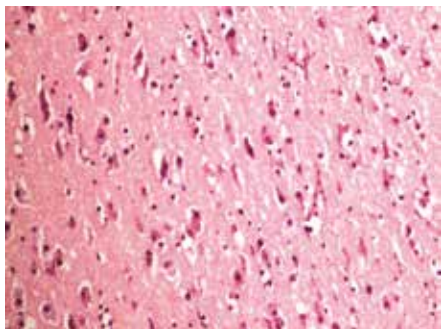


Figura 4 - Cérebro de pintainho de três semanas de idade, corte histológico da região herniada. Observar múltiplas áreas de necrose neuronal e gliose. Coloração HE, 20X.

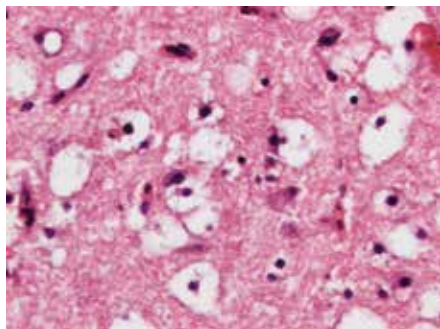


Figura 5 - Cérebro de pintainho de três semanas de idade. Corte histológico da região herniada. Observar múltiplas áreas de vacuolização. Coloração HE, 40X.

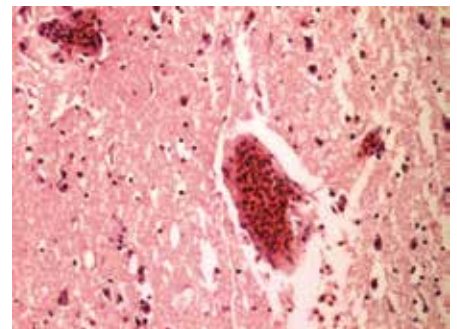


Figura 6 - Cérebro de pintainho de três semanas de idade. Corte histológico da região herniada. Observar áreas de congestão, além de hemorragia e gliose. Coloração HE, 20X.

Conclusão: Acredita-se que neste caso a morte tenha ocorrido pela sequência de alterações neurológicas, culminando em um choque cardiorrespiratório. Este relato é importante para futuros estudos genéticos desta raça e também de outras, visto que, à exceção dos casos envolvendo a correlação do antifúngico griseofulvina como agente teratogênico em felinos, os demais relatos em medicina veterinária correlacionam esta doença à hereditariedade.

Apoio financeiro: Este relato não contou com auxílio financeiro.

Referências

- [1] MAXIE, M. G.; YOUSSEF, S. Nervous System. In: MAXIE, M. G. (Ed.). **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. p. 301-302.
- [2] ZACHARY, J. F. Sistema Nervoso. In: ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. (Ed.). **Bases da Patologia em Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Mosby Elsevier, 2013. p. 798.
- [3] PUROHIT, V. D.; BASRUR, P. K.; REINHART, B. S. Exencephaly in chicken-pheasant hybrids. **Br. Poult. Sci.**, v. 18, n. 2, p. 143-146, 1977.

AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE ACARÁS (*GEOPHAGUS BRASILIENSIS*) COMO BIOMARCADOR DE POLUIÇÃO AMBIENTAL DA REPRESA BILLINGS

LÓPEZ, ANA CAROLINA CAMACHOS¹; PAIVA, VERA LISA GENEROSA SILVA¹; HELD, BÁRBARA; QUINAGLIA, GILSON²; SÁ, LILIAN ROSE MARQUES¹

¹Laboratório de Gastroenterologia Experimental e Comparada e Patologia Ambiental, Departamento de Patologia, FMVZ-USP

²Laboratório de Análises Toxicológicas, Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

Introdução e Objetivos: A água é um recurso natural essencial para a vida na Terra. Além de ser fundamental ecologicamente, é utilizada com fins econômicos como para o abastecimento para a humanidade e produção industrial e agrícola, influenciando diretamente a tomada de decisões políticas, econômicas e sociais. Na atualidade, se faz fundamental a participação da sociedade com uso consciente e adequado da água, e das Universidades na pesquisa por maior eficiência dos métodos de preservação do meio ambiente bem como analisando e propondo formas de avaliação da qualidade da água disponível. Um dos recursos mais utilizados no mundo todo para monitorar e garantir a qualidade de águas é a biomonitorização, pois reflete a condição dessas águas nos organismos residentes. O objetivo do projeto é emprego da análise anatomopatológica de peixes acarás (*Geophagus brasiliensis*) provenientes de diferentes pontos de coleta do reservatório Billings como

biomarcador e desta forma verificar a possibilidade de utilizar essa espécie como bioindicador dos níveis de poluição do ambiente, e assim subsidiar políticas públicas de monitoramento ambiental. Os objetivos específicos são a análise do estado de saúde dos peixes em cada ponto, a determinação do órgão com maior frequência e grau de lesão para correlação com comprometimento do estado de saúde e poluição, e a definição do padrão de reação com maior frequência de ocorrência. **Materiais e Métodos:** Foram avaliados 50 acaráns machos e 37 fêmeas provenientes de cinco pontos do reservatório Billings, coletados no período de chuvas de 2014 pela CETESB. As carcaças foram identificadas, pesadas e mensuradas, e necropsiadas. Foram coletados e fixados em formol 10% fragmentos do fígado, rins, baço, brânquias e outros órgãos que apresentaram alteração, que foram processados com inclusão em parafina e coloração por hematoxilina e eosina. Quando pertinente foram realizadas colorações histoquímicas ácido periódico de Schiff (PAS), Ziehl-Neelsen, Perls e reticulina. As análises histopatológicas foram conduzidas nos aumentos de 40, 100, 200, 400 e 1000x.

A análise microscópica foi baseada e adaptada de [1] Bernet e colaboradores (1999). Cada alteração recebeu um fator de importância (w), que varia de 1 a 3 e um valor de escore (a), que varia de 0 a 3, dependendo de seu grau e da sua extensão, com que foram calculados os Índices de lesão por órgão e Índice total. Com os dados de análise da água foi calculado o Índice de Qualidade da Água (IQA) de cada ponto de coleta.

O teste não paramétrico Kruskal-Wallis em seguida o post teste de Dunnett foram usados para comparar os pesos e biometria e os índices totais entre os cinco pontos e o teste de Spearman foi usado para verificar correlação entre os IQA dos pontos de coleta e a média do Tot-I dos peixes coletados nesses pontos utilizando o programa estatístico Minitab e diferença estatística significante foi considerada quando $p < 0,05$. **Resultados e Discussão:** A diferença entre os gêneros não foi considerada na análise. A média e desvio padrão do peso dos peixes foi de $135,77 \pm 42,666g$, e os dados biométricos para comprimento total médio $18,32 \pm 1,983cm$, e para comprimento padrão médio $14,58 \pm 2,028cm$. Quanto à condição corpórea, 55/87 (63,22%) dos animais apresentaram condição corpórea adequada com depósitos de gordura intracelomática e 29/87 (33,33%) condição de sobrepeso com grandes depósitos de gordura, enquanto 3/87 (3,45%) foram considerados magros.

Fazendo uma análise por ponto de coleta a média e desvio padrão do peso em gramas dos peixes provenientes do ponto 1 (Lat 23 49 16 e Long 46 31 30) foi de $134,12 \pm 24,589g$, e quanto aos dados biométricos, a média e desvio padrão, em centímetros, do comprimento padrão foi de $14,931 \pm 3,165cm$, e do comprimento total $18,62 \pm 0,988cm$. Peixes em condição corpórea adequada totalizaram 12/16 (75%), 1/16 (6,25%) grandes depósitos de gordura e 3/16 (18,75%) foram considerados magros neste ponto.

Os peixes provenientes do ponto 2 (Lat 23 44 23 Long 46 26 44) tiveram média e desvio padrão do peso em gramas de $139,3 \pm 27,344g$, e dados biométricos em centímetros do comprimento padrão de $15,04 \pm 1,791$ e do comprimento total de $18,07 \pm 1,975$. 75% dos peixes tiveram condição corpórea adequada e 25% grandes depósitos de gordura.

Os peixes provenientes do ponto 3 (Lat 23 46 16 Long 46 32 03) tiveram média e desvio padrão do peso em gramas de $151,13 \pm 82,314g$, e dados biométricos em centímetros do comprimento padrão de $15,18 \pm 2,170$ e do comprimento total de $19,53 \pm 2,807$. 15/20 (aproximadamente 85%) dos peixes tiveram condição corpórea adequada e 5/20 (13%) dos animais grandes depósitos de gordura.

Os peixes provenientes do ponto 4 (Lat 23 45 16 Long 46 38 40) tiveram média e desvio padrão do peso em gramas de $109,53 \pm 22,686g$, e dados biométricos em centímetros do comprimento padrão de $13,24 \pm 0,947$ e do comprimento total de $17,18 \pm 1,150$. 12/15 (80%) dos peixes tiveram condição corpórea adequada e 3/15 (20%) grandes depósitos de gordura.

Os peixes provenientes do ponto 5 (Lat 23 47 27 Long 46 35 54) tiveram média e desvio

padrão do peso em gramas de $141,45 \pm 28,619g$, e dados biométricos em centímetros do comprimento padrão de $14,40 \pm 1,119$ e do comprimento total de $18,29 \pm 1,948$. 3/21 (aproximadamente 15%) dos peixes apresentaram condição corpórea adequada e 18/21 (cerca de 85%), grandes depósitos de gordura. A análise estatística revelou que existe diferença significativa de peso entre os pontos ($p=0,010$), de comprimento padrão ($p=0,001$) e de comprimento total ($p=0,011$). Quanto ao peso, a análise estatística revelou que os pontos 3 e 4 têm diferença significativa entre si ($p=0,082$); quanto ao comprimento padrão, que o ponto 4 tem diferença significativa com os pontos 2 e 3 ($p=0,46$); e quanto ao comprimento total, que os pontos 3 e 4 têm diferença significativa entre si ($p=0,019$).

Quanto à condição corpórea, a análise estatística revelou que existe diferença significativa entre os pontos ($p=0,001$). A análise também mostrou que o Ponto 5 teve diferença significante entre todos os outros pontos ($p=0,001$) e os Pontos 1 e 2 apresentaram diferença significante entre si ($p=0,001$).

Considerando a totalidade de acaráns, quanto aos órgãos analisados, 34/87 (39,08%) dos peixes apresentaram hepatomegalia e 49/87 (56,32%) coloração amarela e 51/87 (58,62%) consistência friável do fígado. Quanto ao baço, apenas 7/87 (8%) apresentaram esplenomegalia e 42/87 (48,28%) alteração de coloração do mesmo, com cor vermelho escuro a enegrecido. Em relação às brânquias, 5/87 (5,75%) dos animais apresentaram muco recobrindo os arcos. Os demais órgãos analisados – genitais; trato gastrointestinal, coração e rins – não apresentaram alterações macroscópicas.

Dentre os peixes coletados no ponto 1 ($n=16$), 1/16 (6,25%) apresentou hepatomegalia, e 14/16 (87,5%) apresentaram coloração amarelada do fígado e 10/16 (62,5%) consistência friável do órgão. Houve alteração de tamanho do baço em 1/16 (6,25%) e 3/16 (18,75%) apresentou coloração vermelho escura e 10/16 (62,5%), vermelha. As brânquias não apresentaram alteração.

No ponto 2 ($n=20$), 15/20 (75%) dos peixes coletados apresentaram hepatomegalia, 20/20 (100%) coloração amarela e 19/20 (95%) consistência friável do fígado, além de 2/20 (10%) com vasos evidentes, gordura entremeada e petéquias no parênquima. Não houve alteração de tamanho do baço, e 13/20 (65%) apresentaram coloração vermelho-escuro e 5/20 (25%), vermelha. Quanto às brânquias, 5/20 (25%) apresentaram coloração vermelho-escuro e 4/20 (20%) coloração rosa, e 2/20 (10%) exibiram material verde aderido e muco. 3/20 (15%) dos peixes apresentaram estômago vazio ou com pouco conteúdos.

No ponto 3 ($n=15$), 1/15 (6,67%) dos peixes coletados apresentaram hepatomegalia, quanto à coloração do fígado, 9/15 (60%) vermelho escuro enegrecido e 5/15 (33,3%) vermelho acastanhado, com 2/15 (13,33%) de consistência friável, 2/15 (13,33%) apresentando bordos arredondados e 5/15 (33,33%) com gordura entremeada e os fragmentos flutuaram na solução fixadora. Em 2/15 (13,33%) dos peixes foi observado esplenomegalia e 9/15 (60%) coloração vermelho escura do baço. Em 1/15 (6,67%) dos peixes, as brânquias exibiu coloração vermelho escura, e em 9/15 (60%), vermelha. 4/15 (26,67%) dos animais apresentaram estômago com pouco ou nenhum conteúdo.

No ponto 4 ($n=15$), 5/15 (33,33%) dos peixes coletados apresentaram hepatomegalia, 4/15 (26,67%) coloração amarelada e 5/15 (33,33%) consistência friável do fígado, 5/15 (33,33%) vasos evidentes e 3/15 (20%) com gordura entremeada e os fragmentos flutuaram na solução fixadora. Em 3/15 (20%) dos peixes foi diagnosticado esplenomegalia e 8/15 (53,33%) coloração vermelho escura do baço, assim como coloração vermelho escura das brânquias. 3/5 (20%) dos animais apresentaram pouco ou nenhum conteúdo gástrico.

No ponto 5 ($n=21$), 12/21 (57,14%) dos peixes coletados apresentaram hepatomegalia, 11/21 (52,38%) coloração amarelada do fígado e 15/21 (71,43%) consistência friável do órgão. Em 1/21 (4,76%) dos acaráns foi observado esplenomegalia e 2/21 (9,52%) coloração vermelho enegrecido do baço. Em 6/21 (28,57%) dos peixes a coloração vermelho escura foi observada nas brânquias e em 4/21 (19%) presença de muco nas mesmas. 7/21 (33,33%) dos animais apresentaram pouco ou nenhum conteúdo gástrico.

Os Índices seguiram as fórmulas descritas por [1] Bernet et al são:

$$I_{org.} = \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

$$I_{org\ rp} = \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

$$Tot - I = \sum_{org} \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

$$I_{rp} = \sum_{org} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

Todos os Índices foram calculados usando os dados das brânquias e do fígado. O rim seria usado, porém, devido ao baixo número de fragmentos coletados, foi excluído do cálculo. Os valores máximo e mínimo de Tot-I foram, respectivamente, 16 e 1 no Ponto1; 22 e 1 no Ponto 2; 9 e 1 no Ponto 3; 17 e 2 no Ponto 4 e 26 e 7 no Ponto 5. A média do Ponto 1 foi 5,75; do Ponto 2 foi 6,65; do Ponto 3 4,73; do Ponto 4 7,2 e do Ponto 5 14,14. A análise estatística revelou que há diferença entre os pontos quanto aos valores de Tot-I ($p=0,001$), e que o ponto com diferença significativa entre os outros é o Ponto 5.

Com os valores dos parâmetros pode ser calculado o Índice de Qualidade de Água (IQA) de cada um dos pontos, que foram apresentados na tabela 1.

A análise estatística indicou que existe correlação não significativa entre o IQA e o Tot-I dos acará. O coeficiente de correlação de Spearman foi $r = -0,700$ e o valor $p=0,188$. O valor negativo do coeficiente de Spearman indica que a correlação é inversa, ou seja, quanto menor o valor de IQA, maior o Tot-I, em outras palavras quanto pior a qualidade da água (menor IQA) maior o índice geral Tot-I (maior o número de lesões).

No rim, foi observada maior frequência de ocorrência dos quadros de congestão, depósitos de pigmentos e degeneração tubular, glomerulonefrite e melanomacrófagos. A nefrite linfocítica intersticial foi baixa. Com a coloração específica de PAS e Perls, gotículas hialinas intracitoplasmáticas PAS positivas nas células tubulares ficaram evidentes.

No rim cefálico as lesões mais frequentes foram congestão e alteração no número de agregados de melanomacrófagos. A depleção da porção cortical tem uma ocorrência importante, embora também tenha sido observada uma inversão, com a hiperplasia da porção cortical.

No pâncreas a alteração histopatológica mais frequente foi infiltração adiposa, embora também tenha sido diagnosticada pancreatite linfocítica.

No baço foi diagnosticado em maior frequência congestão (85,19%) e depleção da polpa branca (65,43%), quase sempre, concomitantes. A frequência de ocorrência de depósitos de pigmentos (43,21%) foi essencialmente nas células reticulares dos elipsóides. Foram realizadas colorações específicas PAS e Perls para avaliação dos pigmentos, e se constatou Perls positivo nos agregados de melanomacrófagos e ausência de lipofuscina (PAS negativo).

Na vesícula natatória, foi observado em todos os fragmentos analisados presença de megalocitose, inclusões nucleares claras e vacuolização das células do epitélio produtor de surfactante. Foi realizada coloração específica com PAS e ficou evidenciado que poucos núcleos se mostraram positivos. A ocorrência de inflamação por infiltrado linfocítico e presença de mastócitos também ocorreu em frequência.

No intestino foi diagnosticado enterite, embora também alterações de congestão e presença de parasitas. No estômago o diagnóstico de gastrite foi o mais frequente. O coração apresentou alterações principalmente de espessamento do epicárdio e hemorragia. Quanto aos genitais, foi observado nos testículos túbulos revestidos por epitélio imaturo (12,86%), enquanto nos ovários foi diagnosticado inflamação granulomatosa associada a presença de parasitas em poucos casos. Com a coloração específica por PAS, ficou evidente ovos de parasita trematóide. O músculo esquelético teve frequência baixa de alterações, e dentre elas hemorragia, inflamação e larva de nematóide ascarídeo.

Os resultados biométricos apresentaram um valor máximo de 1,9 cm de diferença, e se manteve dentro do resultado esperado para a espécie, de 15 a 30 cm de comprimento padrão, como informado por Stefani, Reis e Rocha.² Na avaliação macroscópica dos peixes, o principal órgão com alterações macroscópicas em todos os pontos foi o fígado, frequentemente apresentando hepatomegalia, coloração amarela e consistência friável. De acordo com Roberts,³ é comum os hepatócitos de peixes ficarem repletos de glicogênio ou triglicerídeos quando sua alimentação diminui mesmo que discretamente.

Os índices calculados puderam ser utilizados com três finalidades: o Tot-I permite estimar o estado de saúde dos peixes; o I org é possível determinar qual órgão analisado é mais indicado para refletir o estado sistêmico do peixe e com o I rp, definir o padrão de reação mais abundante em um caso de contaminação ambiental. No quesito de estado de saúde, os peixes se encontram em bom estado de saúde, já que todos apresentaram valor de Tot-I menor que 65. Porém, existe diferença entre os pontos, e especialmente o ponto 5, cuja diferença é estatisticamente significativa pois apresenta valores muito acima dos demais pontos.

Embora o Tot-I indique estado de saúde bom dos acará analisados, a análise da correlação entre Tot-I e IQA possibilitou mostrar que os maiores valores de Tot-I (pontos) apresentam correlação forte inversa não estatisticamente significativa ($r = -0,7$) com IQA baixo (qualidade regular da água). Este resultado, mostra quanto maior a poluição, pior fica o estado de saúde dos peixes que habitam, mesmo que eles ainda sejam considerados saudáveis. Fortalecendo que os acará podem ser usados como bioindicadores do ambiente e que a análise histopatológica dos dois órgãos, brânquias e fígado, é biomarcador relevante para avaliação do ambiente.

Assim, esse resultado é interessante e importante para mostrar e reforçar que a poluição interfere na vida e na saúde dos animais aquáticos, como outros autores mostraram Camargo e Martinez e Santos.^{4,5} **Conclusões:** Os acará da represa Billings se encontram em bom estado de saúde, porém existe variação de acordo com a qualidade da água que habitam. O órgão que mais se aproxima de seu estado geral é o fígado, assim, ele é o mais adequado para ser analisado. O padrão de reação que mais se aproxima do Tot-I é o degenerativo, o que indica que pode haver reversão do processo. Assim, o acará pode ser considerado um bom bioindicador para poluição ambiental e a análise histopatológica dos órgãos, como fígado e brânquias, pode ser utilizada como biomarcador dos efeitos tóxicos ambientais.

Apoio financeiro: O presente estudo teve auxílio financeiro do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

- BERNET, D. et al. Histopathology in fish: a proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J. Fish Dis.*, v. 22, n. 1, p. 25-34, Jan. 1999.
- STEDANI, P. M.; REIS, S. A.; ROCHA, O. Caracterização alimentar do acará (*Geophagus brasiliensis*) na lagoa dos tropeiros, Minas Gerais. In: SIMPÓSIO DE ECOLOGIA, 2., São Carlos, 2008. *Anais...* São Carlos: UFSCar, 2008.
- ROBERTS, R. J. *Fish Pathology*. 4. ed. Inglaterra: Wiley-Blackwell, 2012.
- CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotrop. Ichthyol.*, Porto Alegre, v. 5, n. 3, p. 327-336, July/Sept. 2007.
- SANTOS, D. M. S. **Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim, Maranhão**. 2010. 83 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.