

AVALIAÇÃO DA INOCULAÇÃO DE SUSPENSÕES BACTERIANAS DE *Aeromonas hydrophila*, EM JUVENIS DE JUNDIÁ, *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE)

Cheila de Lima BOIJINK¹ & Deodoro Atlante BRANDÃO²

¹ Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparada, Departamento de Ciências Biológicas/Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas. Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Rod. Washington Luiz Km 235, São Carlos – SP/ Brasil. E-mail: pcheila@iris.ufscar.br Autor para correspondência.

² Professor do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria.

ABSTRACT - EVALUATION OF THE INOCULATION OF BACTERIAL SUSPENSIONS OF *Aeromonas hydrophila*, IN JUVENILE OF JUNDIÁ, *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE). This study had as objective evaluates the effect of the application of suspensions of different amounts of UFC (Unity Formation of Colony) of *Aeromonas hydrophila* (CHESTER, 1901) / ml of saline solution, in juvenile of jundiá, *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824), to determine the bacterial counting of bacteria kidney and lesion for the fish inoculate, as well as describe its pathogenicity. The suspensions used were $3,6 \times 10^7$ and $7,5 \times 10^6$ UFC/ml. With duration of 10 days, it was obtained 100% of mortality in the fish inoculated with $3,6 \times 10^7$ UFC/ml and 25% mortality in those inoculated with $7,5 \times 10^6$ UFC/ml. The bacterial counting was proportional the amount of inoculated bacterias, having significant difference among the amounts found in the kidney and lesions inside of the treatments and between treatments. The clinical signs and the behavior observed by the infected animals were the same ones in the two bacterial concentrations: balance loss, ascite, exophthalmia, pale and flaccid organ, necrosis in the fins, lesions in the skin, in the genital pore and jaw. The bacteria showed be pathogenic and can cause of the ulcer disease in jundiá.

Key words : ictiopathology, *Aeromonas hydrophila*, *Rhamdia quelen*

RESUMO - Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de suspensões de diferentes quantidades de UFC (Unidade Formadora de Colônia) de *Aeromonas hydrophila* (CHESTER, 1901) / ml de solução salina, em juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824), determinar a quantidade de bactéria na lesão e no rim dos peixes inoculados, bem como descrever a sua patogenicidade. Foram utilizadas as suspensões de $3,6 \times 10^7$ e $7,5 \times 10^6$ UFC/ml. Em 10 dias, foi verificado 100% de mortalidade nos peixes inoculados com $3,6 \times 10^7$ UFC/ml e 25% de mortalidade nos inoculados com $7,5 \times 10^6$ UFC/ml. A quantidade de bactérias encontradas foi proporcional à quantidade de bactérias inoculadas, havendo diferença significativa entre as quantidades encontradas no rim e lesões dentro dos tratamentos e entre os tratamentos. Os sinais clínicos e as alterações comportamentais apresentados pelos animais infectados foram os mesmos nas duas concentrações: perda de equilíbrio, ascite, exoftalmia, órgãos pálidos e flácidos, necrose nas nadadeiras, lesões na pele, no poro genital e mandíbula. A bactéria mostrou-se patogênica e causadora da doença ulcerativa em jundiá.

Palavras-chave : ictiopatologia, *Aeromonas hydrophila*, *Rhamdia quelen*

INTRODUÇÃO

A produção mundial de peixes cultivados intensivamente tem demonstrado um crescimento rápido durante as últimas décadas, consolidando-se como um setor de importância econômica (NEWMAN, 1993). Paralelamente ao desenvolvimento da piscicultura e da criação intensiva, há um aumento da incidência e severidade de doenças bacterianas, assim como a introdução e disseminação de novas enfermidades (AUSTIN & AUSTIN, 1993).

No meio aquático as bactérias fazem parte da flora normal da água e são consideradas como patogênicas oportunistas, visto que só se manifestam, provocando infecções bacterianas, quando os peixes estão em condições ambientais adversas (BARJA & ESTEVES, 1988). O aparecimento de uma epizootia por bactéria, na maioria das vezes, é causado por uma situação de estresse, a qual pode não provocar mortalidade ou manifestação, representando uma ameaça sanitária para a saúde humana.

Conforme SHOTTS JR & BULLOCK (1975) e BARJA & ESTEVES (1988) uma grande variedade de grupos bacterianos são descritos como patogênicos para peixes, mas os bacilos gram-negativos são os responsáveis pela maioria das mortalidades. Dentre os gram negativos está a *Aeromonas hydrophila* que já foi encontrada em jundiá (*Rhamdia quelen*) criados em tanques em Santa Maria, Rio Grande do Sul - Brasil (SHAMA *et al.*, 2000). Bactéria reconhecida como agente patogênico oportunista para peixes, associada com a septicemia hemorrágica em peixes de água doce (AUSTIN, 1980), é encontrada naturalmente em águas doces de todo o mundo e, ocasionalmente em águas salobras e salgadas (PLUMB, 1994). Está presente em grande quantidade em águas com qualidade alterada, especialmente com baixos níveis de oxigênio e altos níveis de matéria orgânica e poluentes (NEWMAN, 1993). Fazendo parte da microbiota dos peixes de rios, lagos e tanques (QUINN *et al.* 1994) qualquer fator desfavorável que provoque alterações imunológicas no peixe, pode provocar graves infecções (NIETO *et al.* 1984).

Algumas cepas de *Aeromonas hydrophila* são capazes de causar doenças em outros animais e em humanos, quando ingeridas na alimentação ou na água (U.S.FDA, 1999;

RATH, 2000; BISWAS *et al.*, 2002). No Brasil, bactérias do gênero *Aeromonas* têm sido descritas como patógenos emergentes de importância crescente em alimentos. No estado de São Paulo (Brasil) foi relatado que 48% das amostras do peixe “pintado” (*Pseudoplatystoma* sp.) coletados no comércio, foram positivas para *Aeromonas* (RALL *et al.* 1998).

Existem poucos trabalhos relacionados com doenças infecciosas de peixes, principalmente, em espécies de peixes nativos do Brasil, como o jundiá, que apresenta um alto potencial de produção e comercialização, sendo uma ótima opção para o fomento da piscicultura (RADÜNZ NETO, 1981).

Levando em consideração a expansão mundial da aqüicultura, o alto risco de infecções por bactérias patogênicas e o interesse econômico pelo jundiá, é que se realizou este trabalho, que teve como objetivos: avaliar o efeito da aplicação de suspensões de diferentes quantidades de UFC/ml de solução salina em juvenis de jundiá, quantificar as UFC/ml de rim e de lesão dos peixes inoculados, bem como descrever a sua patogenicidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e no Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia – Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria (Rio Grande do Sul – Brasil). Os 96 juvenis de jundiá foram distribuídos em número de 16 para cada caixa, os quais apresentavam peso e comprimento médio de 9,52g e 10,87cm, respectivamente. As seis caixas d’água de cimento amianto, com capacidade de 250 litros cada foram abastecidas com água de poço artesiano. Em todas as caixas havia iguais condições de temperatura (25°C), oxigênio dissolvido (7,9 mg/l), amônia não ionizada (0,006 mg/l), pH (7,1), alcalinidade total (36 mg/l CaCO₃) e dureza (24 mg/l CaCO₃). Para alimentação dos juvenis foi administrada uma ração comercial, contendo 36% de proteína bruta, na proporção de 3% da biomassa, uma vez ao dia.

O inóculo bacteriano foi preparado através da cultura de *Aeromonas hydrophila* em

ágar sangue, sendo as colônias suspensas em solução salina estéril. Para orientação das concentrações bacterianas, estas diluições foram ajustadas pela turvação segundo escala 0,5 ($3,6 \times 10^7$ UFC/ml) e 0,25 ($7,5 \times 10^6$ UFC/ml) de MacFarland (VANDEPITTE *et al.*, 1993). Os jundiás foram inoculados com as duas concentrações (tratamentos) de *Aeromonas hydrophila* (T1: $3,6 \times 10^7$ e T2: $7,5 \times 10^6$ UFC/ml de solução salina), sendo um grupo controle, onde os animais receberam apenas solução salina estéril (T3: solução salina). No T1 e T2, foram utilizados 32 peixes para cada tratamento, dos quais 24 inoculados com suspensão bacteriana, 4 inoculados com solução salina e 4 sem inocular. Estes últimos serviram de sentinela, marcados com linha de diferentes cores na base do primeiro raio da nadadeira dorsal. Estes peixes serviram para verificar a contaminação por *Aeromonas hydrophila* proveniente dos peixes inoculados com a bactéria. No controle, foram utilizados 28 peixes inoculados com solução salina e 4 sem inocular. Cada jundiá foi inoculado com 1 ml da respectiva suspensão, por via intramuscular, na região dorso-lateral direita entre a nadadeira dorsal e a linha lateral e, nos controles, 1 ml de solução salina (0,5%). Antecedendo a inoculação, os animais foram pesados e medidos.

As caixas foram limpas e observadas diariamente. Durante o experimento foram verificadas alterações comportamentais, sinais clínicos externos, bem como a morbidade e mortalidade ocasionada pela *Aeromonas hydrophila* em cada grupo de jundiás inoculados. Durante as limpezas foram retirados os animais mortos e coletadas amostras dos rins e das lesões externas, para determinação da quantidade de bactérias e identificação do agente bacteriano presentes. De cada amostra de rim, lesões dos peixes e das amostras semanais de água coletada das caixas, foram feitas diluições decimais até 10^{-8} , com o auxílio de uma micropipeta; estas amostras, semeadas em meio de PCA (Ágar Padrão de Contagem), foram incubadas a 27°C por 48 horas e feita a contagem de cada UFC/ml (BERGEY & HOLT, 1994).

O delineamento experimental constituiu-se de blocos incompletos ao acaso,

critério de bloqueamento por dia, sendo a unidade experimental cada um dos 10 peixes de cada caixa das duas repetições. Para a análise estatística do experimento os dados foram submetidos à análise de variância e teste F ao nível de 5% de significância, sendo aplicado o teste de Tukey para comparação entre as médias dos tratamentos no mesmo nível de significância, utilizando o Pacote Estatístico SAS (SAS, 1995).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificada uma sobrevivência de 0%, no T₁ e 75% (15 peixes) no T₂, e no controle (T₃) 100% (20 peixes). Resultados que mostraram uma diferença altamente significativa (Teste χ^2 , $P < 0,01$) entre os tratamentos com relação à sobrevivência. O que pode ser justificado pela quantidade de bactérias inoculadas, pois segundo RODRIGUEZ *et al.* (1993) as cepas de *A. hydrophila* produzem a toxina acetilcolinesterase, que é letal para peixes. Em alguns casos de infecção crônica por *A. hydrophila*, os peixes não apresentaram sinais externos, mas rapidamente morreram, devido à ação de toxinas letais (SCHLOTFELDT & ALDERMAN, 1995). Outro fator que pode ter favorecido foi a temperatura. GROBERG JR. *et al.* (1978) infectaram peixes juvenis (*Salmo gairdneri*, *Oncorhynchus kisutch* e *O. tshawytscha*) com injeções intraperitoneais ou intramusculares com *A. salmonicida* e *A. hydrophila* em diferentes temperaturas (3,9 a 20,5°C). Em uma temperatura de 20,5°C a mortalidade ficou em torno de 64 a 100 %; à 9,4 °C ou menos, não foram observadas mortes por *A. hydrophila*. No presente experimento os peixes foram mantidos a uma temperatura de 20 a 25°C, o que pode ter proporcionado maior crescimento bacteriano, conseqüentemente, maior mortalidade do que as observadas no trabalho citado.

Os sinais clínicos apresentados pelos peixes após a inoculação com bactérias no T₁ e T₂ foram também comportamentais. Os peixes ficaram parados no fundo da caixa, alguns vinham à superfície, mas logo desciam, parecendo perder o equilíbrio. A maior parte do tempo permaneciam parados no fundo, quando

se alimentavam, pegavam a ração já no fundo. Após a morte dos animais inoculados com bactéria, foi observado ascite (fluido mucoso amarelado), exoftalmia, lesões grandes (úlceras) com bordas hemorrágicas, deixando a maioria das vezes a musculatura exposta e a região lateral dorsal direita com pigmentação anormal. Alguns apresentavam nadadeiras destruídas, lesões no poro genital, no ânus e parte externa da mandíbula, brânquias e rins pálidos e flácidos. Manchas hemorrágicas internas na região dorsal da cabeça também foram observadas. Os sentinelas também apresentaram os mesmos sinais clínicos dos animais inoculados com bactéria. No T₁ os animais não apresentaram nenhum sinal clínico ou alteração no comportamento. Inoculação da mesma bactéria em carpa (*Cyprinus carpio*) também observou as mesmas lesões descritas no presente estudo (HARIKRISHINAN *et al.*, 2003). LLOBRERA & GACUTAN (1987) também observaram úlceras necróticas abertas sobre o corpo, maxilas e na região do pedúnculo caudal em *Ophicephalus striatus*, *Clarias batrachus*, *Carassius* sp. e *Glossogobius giurus*. McDANIEL (1979) relata que a doença por *A. hydrophila* ocorre na forma superaguda, aguda, subaguda e crônica. As formas superaguda e aguda são caracterizadas pela alta mortalidade e lesões hemorrágicas internas pronunciadas. As formas subaguda e crônica ocorrem com hemorragias nas brânquias, aberturas naturais, órgãos internos e presença de fluido sanguinolento nas cavidades do corpo, sendo também evidente abscessos e úlceras externas. Quanto aos peixes portadores, o autor os descreve sem manifestação clínica aparente (assintomáticos).

A quantidade média de bactérias que os peixes apresentavam antes da inoculação foi de 5×10^2 UFC/ml no rim, e as bactérias encontradas foram: *Aeromonas* sp., *Acinetobacter* e *Pseudomonas* sp. Na água das caixas, antes da colocação dos peixes, não houve crescimento bacteriano.

Conforme SHAMA *et al.* (2000), o jundiá pode ser portador de bactérias descritas como patogênicas, tais como *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp., *Edwardsiella tarda*, *Yersinia ruckeri*, *Vibrio* sp.,

Micrococcus sp. *Acinetobacter* sp. e *Pasteurella* sp. A média do pico de crescimento, ou seja, o “clearance” bacteriano apresentado nos peixes que morreram durante os dias experimentais, tanto no rim como na lesão, estão representados na Tabela 1.

Houve diferença significativa entre as contagens das UFC de rim e UFC de lesões em cada tratamento, bem como entre os tratamentos, pelo teste Tukey ($P < 0,05$), no T₁ e T₂. A quantidade de bactérias encontradas nos rins dos peixes inoculados sempre se mostrou significativamente menor que a encontrada nas lesões, devido à presença da bactéria na água em contato direto, bem como as variações dos fatores de virulência da cepa da bactéria. Segundo RODRÍGUEZ *et al.* (1992) esta variação se dá de acordo com a célula utilizada. A presença de colônias puras de *Aeromonas hydrophila* pode ter inibido o crescimento de outras bactérias, as quais foram encontradas nos controles inoculados com solução salina, sugerindo que seja devido à liberação de suas toxinas.

No final dos dez dias experimentais foi feita a contagem bacteriana dos peixes e dos sentinelas sobreviventes de cada tratamento, que foram sacrificados, cujos resultados estão na Tabela 2.

Na Tabela 3 estão os grupos bacterianos e as contagens feitas na água das caixas, no final dos 10 dias. A contagem bacteriana na água segundo AUSTIN (1980) deve ser inferior a 5×10^3 UFC/ml, podendo chegar a 5×10^8 UFC/ml, mas o autor se refere ao crescimento de todas as bactérias, o que não é o caso deste trabalho, onde a quantidade de bactérias chegou a 10^5 somente de *Aeromonas hydrophila*. A presença das colônias puras deveu-se ao fato dos peixes estarem com uma alta infecção e eliminarem a bactéria principalmente pelas fezes, o que favoreceu o surgimento de lesões nos poros genitais e ânus e, até mesmo a contaminação dos sentinelas.

Segundo SUGITA *et al.* (1993), em amostras de água de tanques onde foi encontrada *Plesiomonas shigelloides*, a mesma bactéria também foi isolada com alta frequência (80 a 100%) nos intestinos dos peixes. Os mesmos autores realizaram um levantamento da ocorrência de *Plesiomonas shigelloides* em

diversos tipos de peixes e água dos respectivos tanques. Como resultado encontraram 2×10^2 UFC/ml detectados a partir de 29 espécies de peixes e 2×10^1 UFC/ml de *Plesiomonas shigelloides* nas amostras de água.

Através das medições e pesagens feitas nos dias 0 e 10, foi possível verificar uma insignificante perda de peso nos peixes do T₃ e um insignificante ganho de peso no T₁ (Tab. IV). Através das medições notou-se uma redução de peso nos peixes, que não foi significativo a 5%, devido ao número de dia experimentais que foram 10, período este curto para se fazer análise de ganho de peso. Mas, certamente, as bactérias prejudicaram o desenvolvimento dos jundiás, uma vez que causaram vários sintomas. PLUMB (1994), sem estimar valores relata que peixes contaminados por *A. hydrophila* apresentam perdas de peso. Estas bactérias causam estresse ao animal, que interfere também no crescimento (WALTERS & PLUMB, 1980). O ganho não significativo dos peixes controles mostra que a perda de peso dos inoculados se deu pela infecção por *A. hydrophila*.

CONCLUSÕES

- A *Aeromonas hydrophila* se apresenta como uma bactéria patogênica para jundiá, causando doença ulcerativa;
- Jundiás infectados com *Aeromonas hydrophila* são vetores de contaminação para jundiás sadios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUSTIN, B. Human disease associated with fish culture. **Journal Bacteriol**, Washington, v.58, n.5, 1980. p. 190-195.
- AUSTIN, B.; AUSTIN, D.A. Vibrionaceae representatives. In : **Fish pathogens diseases in farmed and wild**. 2 ed, Ellis Horwood. Chichester, 1993. p. 265-307.
- BARJA, J.L.; ESTEVES, A.T. **Patología en acuicultura**. Madrid: Caicyt, 1988. 550 p.
- BERGEY, D.H.; HOLT, J.G. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Baltimore: c, 1994. p.254-255.
- BISWAS, K.; CHATTOPADHYAY, I.; BANERJEE, R.K.; BANDYOPADHYAY, U. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). **Curr. Sci.** v. 28, 2002. p. 1336-1345.
- GROBERG, JR. W.J.; McCOY, R.H.; PILCHER, K.S.; FRYER, J.L. Relation of water temperature to infections of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), chinook salmon (*O. tshawytscha*), and steelhead trout (*Salmo gairdneri*) with *Aeromonas salmonicida* and *A. hydrophila*. **Journal Fisheries Research Board of Canada**, New Jersey, v. 35, n. 1, 1978. p. 483-506.
- HARIKRISHNAN, R.; NISHA RANI, M.; BALASUNDARAM C. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. **Aquaculture**, v. 221, 2003. p. 41-50.
- LLOBRERA, A.T.; GACUTAN, R.Q. *Aeromonas hydrophila* associated with ulcerative disease epizootic in Laguna de Bay, Philippines. **Aquaculture**, Norway, v. 7, 1987. p. 273-278.
- McDANIEL, D. **Procedures for the detection and identification of certain fish pathogens**. Washington: American Fisheries Society: Fish Health Section.. c, 1979. 118p.
- NEWMAN, S.G. Bacterial vaccines for fish. **Annual Review of Fish Diseases**. New York, v.3, 1993. p. 145-185.
- NIETO, T.P.; TORANZO, A.E.; BARJA, L. Comparasion between the bacterial flora associated with fingerling rainbow trout cultured in two different hatcheries in the north west of Spain. **Aquaculture**, Norway, v. 42, 1984. p. 193-206.
- PLUMB, J.A. **Health maintenance of cultured fishes: principal microbial diseases**. New York: CRC Press, 1994. 254 p.
- QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B. **Clinical veterinary microbiology**. New York: Wolfe, 1994. 648p.
- RADÚNZ NETO, J. **Desenvolvimento de técnicas de reprodução e manejo de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Santa Maria, 1981. 77p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.
- RALL, V.L.M.; IARIA, S.T.; HEIDTMANN, S.; PIMENTA, F.C.; GAMBA, R.C.; PEDROSO, D. M.M. *Aeromonas species* isolated from pintado fish (*Pseudoplatystoma sp*): Virulence factors and drug susceptibility. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 29, 1998. p. 222-227.
- RATH, R.K. **Freshwater Aquaculture**, 2nd ed. Scientific Publishers (India), Jodhpur, India. 2000. 257 pp.
- RODRÍGUEZ, L.A.; ELLIS, A.E.; NIETO, T.P. Purification and characterisation of the extracellular metalloprotease, serineprotease and haemolysin of *Aeromonas hydrophila* strain B₃₂: all are lethal for fish. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 14, 1992. p.10-18.
- RODRÍGUEZ, L.A.; FERNANDEZ, A.I.G.; NIETO, T.P. Production of the lethal acetylcholinesterase toxin by different *Aeromonas hydrophila* strains. **Journal of Fish Diseases**, Oxford, v.16, 1993. p. 73-78.
- SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM) **Institute, SAS / STAT**. User's guide: statistics. Cary, 4 ed., v.2, 1995. 846 p. (versão 6.08).
- SCHLOTTFELDT, H.J.; ALDERMAN, D.J.A. Practical guide for the fresh water fish farmer. **Bulletin**

- European Association of Fish Pathologists**, Weymouth, v.15, n. 4, 1995. p.134-157.
- SHAMA, S.; BRANDÃO, D.A.; VARGAS, A.C.; COSTA, M.M.; PEDROZO, A.F. Ocorrência de bactérias com potencial patogênico em jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados em sistema semi-intensivo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n.2, 2000. p.293-298.
- SHOTTS, JR.E.B.; BULLOCK, G.L. Bacterial diseases of fisheries: Diagnostic procedures for gram-negative pathogens. **Journal Fisheries Research Board of Canada**, New Jersey, v. 32, n.8, 1975. p. 1243-1247.
- SUGITA, H.; NAKAMURA, T.; DEGUSHI, Y. Identification of *Plesiomonas shigelloides* isolated from fresh water fish with the microplate hybridization method. **Journal of Food Protection**, Auburn, v.56, 1993. p. 949-953.
- U. S. FDA (FOOD & DRUG ADMINISTRATION). Center for Food Safety & Applied Nutrition (CFSAN). **Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook**. (<http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap17.html>), 1999. p. 1-3.
- VANDEPITTE, J.; ENGBAEK, K.; PIOT, P.; HEUCK, C.C. **Métodos básicos de laboratório em bacteriologia clínica**. Genebra: Organização Mundial de Saúde, 1993. 122p.
- WALTERS, G.R.; PLUMB, J.A. Environmental stress and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. **Journal of Fish Biology**, Hershey, 17, 1980. p.177-185.

Tabela I. Resultado da contagem de bactérias dos peixes do T₂ e T₃ (UFC/ml de rim e lesão) durante o período experimental (10 dias). *Análise de variância com transformação por raiz quadrada.

TRATAMENTO	LESÃO	RIM
Média T ₁	106,00 x 10 ⁶ ^a	3,64 x 10 ^{6b}
Média T ₂	3,15 x 10 ⁶ ^b	0,09 x 10 ⁶ ^a
Média Total	93,14 x 10 ⁶	3,20 x 10 ⁶
Desvio Padrão	36,89 x 10 ⁶	1,42 x 10 ⁶
*CV(%)	16,66	21,97
F	43,19	19,95
P>F	0,0003	0,003

^{a, b} Médias nas linhas e colunas, seguidas de letras desiguais diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela II. Identificação e resultado médio das contagens bacterianas dos peixes sacrificados no final do período experimental.

Tratamentos	T ₁ (UFC/ml)		T ₂ (UFC/ml)		T ₃ (UFC/ml)
	Rim	Lesão	Rim	Lesão	Rim
Inoculados com suspensão bacteriana	-	-	9,4 x 10 ⁵	2,1 x 10 ⁶	-
Sentinela inoculado com solução salina	3,4 x 10 ⁵	6,0 x 10 ⁶	8,6 x 10 ⁵	1,3 x 10 ⁶	9,3 x 10 ²
Sentinela sem inocular	1,1 x 10 ⁵	8,4 x 10 ⁶	7,5 x 10 ⁴	3,0 x 10 ⁶	5,2 x 10 ²
Identificação	<i>Aeromonas hydrophila</i>		<i>Aeromonas hydrophila</i>		<i>Aeromonas</i> sp. <i>Acinetobacter</i> <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Staphylococcus</i>

Tabela III. Identificação e resultado médio das contagens bacterianas da água de cultivo dos peixes inoculados após 10 dias.

Água	T ₁ (UFC/ml)	T ₂ (UFC/ml)	T ₃ (UFC/ml)
Contagem	5,1 x 10 ⁵	7,3 x 10 ⁴	2,7 x 10 ²
Identificação	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas Acinetobacter Pseudomonas</i>

Tabela IV. Peso (g) e comprimento (cm) dos jundiás (*Rhamdia quelen*), no início e final do período experimental. ^a Médias seguidas por letras iguais na coluna não apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey (P>0,05).

Dia	Tratamento	Peso	Comprimento
0	T ₁	16,14 ^a	13,06 ^a
0	T ₂	16,86 ^a	13,34 ^a
0	T ₃	16,64 ^a	13,27 ^a
10	T ₂	15,81 ^a	13,23 ^a
10	T ₃	17,59 ^a	13,60 ^a

Recebido: 06/10/2003.

Aceito: 16/08/2004.