

DIAGNÓSTICO BASEADO EM MICRORNAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO POR *AEROMONAS HYDROPHILA* EM PEIXES

GUILHERME NEVES LIMA RATTMANN¹; NATIELI MACHADO GONÇALVES²;
VINICIUS FARIAS CAMPOS³

¹Universidade Federal de Pelotas – gnlr@outlook.com

²Universidade Federal de Pelotas – natielimgoncalves@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – fariascampos@gmail.com

1. DESCRIÇÃO DA INOVAÇÃO

O Brasil, por ter uma vasta reserva de água doce, se destaca como um dos principais países com potencial para expansão da piscicultura. Segundo a Associação Brasileira da Piscicultura, as exportações brasileiras de produtos relacionados à piscicultura registraram, em 2024, um aumento de 48% em valor e 20% em peso quando comparado ao ano anterior, movimentando cerca de US\$ 8,73 milhões entre janeiro e março (EMBRAPA, 2024). E, assim como todo empreendimento que envolve a produção animal, a piscicultura também está suscetível à ocorrência de doenças, as quais podem trazer perdas econômicas para os produtores. O aumento na taxa de procura por proteínas de origem de animais aquáticos implica na necessidade de intensificar a produção destes, causando alta densidade populacional nos criadouros, o que pode comprometer a saúde dos peixes e aumentar o risco de infecções por patógenos oportunistas. Assim, torna-se necessário a criação de testes de diagnósticos rápidos e precisos para identificar a presença de patógenos.

Entre os agentes causadores de infecção que podem acarretar na perda econômica para os produtores está a bactéria *Aeromonas hydrophila*, a qual causa uma ampla variedade de doenças em diferentes tipos de animais e humanos. Em peixes, é causadora de diversas patologias, incluindo a septicemia por aeromonas móveis (MAS). Já em humanos, a sua manifestação clínica pode ser através da infecção de tecidos, meningite ou septicemia (JI, 2015). A septicemia por aeromonas móveis, causa diversas alterações fisiológicas no animal, tais como a hidropsia infecciosa anormal, exoftalmia, pequenas hemorragias locais (principalmente nas brânquias e na região anal), úlceras, abscessos, distensão abdominal e apodrecimento das nadadeiras e da cauda. Sintomas internos como a anemia, ascite e dano a órgãos, também podem ser observados (HARIKRISHNAN, 2005).

Em peixes, a pele, juntamente com a camada de muco que a cobre, funciona como uma barreira protetora contra infecções bacterianas, sendo considerada a “primeira linha de defesa” contra patógenos. Diversos estudos apontam a expressão diferencial de fatores genéticos na mucosa dos peixes como um elemento colaborador para a imunidade desses animais. Por meio da análise de expressão de miRNAs, pesquisadores identificaram miRNAs expressos diferencialmente durante a infecção inicial por *A. hydrophila*, que possivelmente

ajudam a regular a expressão de genes envolvidos em processos imunológicos (BAI, 2020; LÜ, 2015).

MiRNAs são pequenas moléculas de RNA, contendo em média 22 nucleotídeos, não codificantes que regulam a expressão de genes através da inibição da sua transcrição (SHANG, 2023). E, por estar ligado com a regulação de genes, os miRNAs são utilizados como biomarcadores de fatores genéticos, fisiológicos ou até mesmo para identificar doenças. Estudos são realizados através da análise do painel de expressão de miRNAs de um organismo quando exposto a uma determinada condição, por exemplo: |Estudos são realizados para determinar quais microRNAs são diferencialmente expressos em espermatozoides de touros com alta motilidade espermática quando comparado a touros com baixa motilidade espermática (DE SOUZA, 2023); Pesquisadores buscaram identificar microRNAs que podem ser utilizados para diagnosticar o câncer (HE, 2020);

Desta forma, a presente invenção refere-se a um diagnóstico que utiliza a biologia molecular para identificar a bactéria *Aeromonas hydrophila*, causadora da aeromonose, em peixes. Tal diagnóstico baseia-se na análise de diferentes microRNAs de mucosa específicos, os quais estão diferencialmente expressos em animais infectados por este patógeno. A descoberta destaca-se por tratar de uma abordagem biotecnológica de diagnóstico precoce, minimamente invasivo, rápido e com alta acurácia. Através da invenção, é possível diminuir o tempo e a baixa precisão dos testes utilizados hoje, trazendo maior precisão ao diagnóstico. Com a análise de miRNAs presentes na mucosa da pele de peixes, visa-se identificar a bactéria patogênica *Aeromonas hydrophila*, sem a necessidade de necropsia dos animais doentes, podendo ser realizado logo após o surgimento dos primeiros sintomas.

2. ANÁLISE DE MERCADO

A presente invenção supre a carência existente no mercado de diagnósticos rápidos e precisos para *Aeromonas hydrophila*, visto que os testes atuais são antiquados e demandam muito tempo para serem realizados, além de não apresentarem grande precisão nos resultados. Outra vantagem da invenção é a possibilidade de identificar a presença do patógeno logo no início da infecção, sem a necessidade de eutanasiar o animal para realizar o teste.

Esse painel baseado em microRNAs para a detecção de aeromonose pode ser utilizado tanto na área da pesquisa básica quanto aplicada e existe a possibilidade de transferência da tecnologia para agências, órgãos, empresas e entidades que realizam o diagnóstico de doenças de interesse da piscicultura.

Quanto aos possíveis clientes da tecnologia, estima-se que empresas relacionadas à piscicultura possam se interessar na utilização desta. Por exemplo: A empresa norueguesa Mowi (<https://mowi.com>) que fornece proteínas de origem de animais aquáticos para o mundo todo; A empresa brasileira Tilabras Aquicultura (<https://tilabras.com.br/>); Ou, de forma mais regional, a empresa Acquaviva Piscicultura (<https://www.acquavivars.com.br>), a qual está localizada no

Rio Grande do Sul. Outros possíveis clientes que possam vir a se interessar são instituições de pesquisa e universidades que realizam o diagnóstico ou estudam os efeitos da *A. hydrophila* em peixes. Em relação a possíveis concorrentes, a invenção destaca-se por apresentar grande caráter inovativo, não havendo outro teste que baseie-se em microRNAs para identificação da presença de *Aeromonas hydrophila* em peixes.

3. ESTRATÉGIA DE DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO

A inovação proposta, baseada na detecção precoce da bactéria *A. hydrophila* em peixes, visa trazer avanços significativos para a piscicultura ao trazer uma alternativa para a detecção do patógeno logo no início da infecção e sem necessidade de necropsia do animal. A geração de receita virá através da prestação do serviço de diagnóstico para empresas relacionadas a piscicultura, tendo seu modelo de preços escalonado, com possibilidade de pacotes personalizados de acordo com o número de amostras testadas.

Quanto à distribuição, espera-se realizar parcerias com grandes e pequenos produtores de pescado e laboratório de análises. Além disso, serão formadas colaborações com instituições de pesquisa e órgãos regulatórios para que haja maior credibilidade e disseminação da tecnologia. Também há possibilidade de transferência de tecnologias para possíveis empresas interessadas. Até o presente momento, a inovação ainda não possui propriedade intelectual registrada, mas está nos planos do grupo que a mesma seja depositada até o final do ano. Com o registro, espera-se proteger o painel de microRNAs utilizados na identificação, além da metodologia de coleta de amostras e análise de dados. Atualmente, a tecnologia está em fase de desenvolvimento, com seu TRL sendo 3.

Os principais desafios incluem o custo elevado para a execução de cada teste, o que pode acabar dificultando a inserção da tecnologia no mercado. Além disso, há o risco de falsos diagnósticos caso os procedimentos não sejam realizados de maneira rigorosa. Para mitigar tais fatos, serão desenvolvidos protocolos padronizados que garantam a exatidão dos resultados, bem como negociações para redução de custos de insumos.

4. RESULTADOS ESPERADOS E IMPACTO

A inovação tem grande potencial de gerar impacto tanto social quanto ambiental. Do ponto de vista ambiental, a tecnologia contribuirá para uma piscicultura mais sustentável, minimizando o uso excessivo de tratamentos com antibióticos. Socialmente, a inovação também promove o bem-estar dos pequenos e médios produtores ao oferecer uma solução não-invasiva para o diagnóstico da infecção em peixes. Além disso, a melhoria na qualidade do pescado contribui diretamente para a segurança alimentar humana. Nos próximos anos, com o desenvolvimento completo do diagnóstico, será possível realizar um monitoramento eficaz da presença de infecção por *A. hydrophila* em peixes em grandes empresas do ramo da piscicultura. Além disso, é possível que com o avanço de técnicas de diagnóstico e o aprimoramento da bioinformática, esta tecnologia se torne o padrão ouro utilizado, trazendo benefícios econômicos para o setor da aquicultura no Brasil e no mundo.

5. CONCLUSÕES

A inovação apresentada, baseada na detecção precoce da bactéria *A. hydrophila* em peixes por meio da análise de miRNAs presentes em sua mucosa, representa um avanço significativo para o setor da piscicultura, pois oferece um método não-invasivo, preciso e rápido para diagnosticar a doença, eliminando a necessidade de necropsias e reduzindo o uso excessivo de antibióticos. Isso não apenas melhora a saúde dos peixes e a qualidade do pescado, mas também garante a segurança alimentar humana. Embora a propriedade intelectual ainda esteja em processo de registro, os avanços no desenvolvimento da tecnologia indicam que a inovação está no caminho certo para entrar no mercado. O impacto social, ambiental e financeiro projetado é promissor, com potencial de escalabilidade para tornar-se o padrão ouro no mercado.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Jl, Yachan et al. Contribution of nuclease to the pathogenesis of *Aeromonas hydrophila*. **Virulence**, v. 6, n. 5, p. 515-522, 2015.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, CJRiFS. Modern trends in *Aeromonas hydrophila* disease management with fish. **Reviews in Fisheries Science**, v. 13, n. 4, p. 281-320, 2005.

BAI, Jie et al. MicroRNA expression profile analysis of skin immune response in crucian carp (*Carassius auratus*) infected by *Aeromonas hydrophila*. **Fish & shellfish immunology**, v. 104, p. 673-685, 2020.

LÜ, A.-J. et al. Skin immune response in the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton), to *Aeromonas hydrophila* infection: a transcriptional profiling approach. **Journal of fish diseases**, v. 38, n. 2, p. 137-150, 2015.

SHANG, Renfu et al. microRNAs in action: biogenesis, function and regulation. **Nature Reviews Genetics**, v. 24, n. 12, p. 816-833, 2023.

DE SOUZA, Lucas Petitemberte et al. Expression of sperm microRNAs related to bull fertility: a systematic review. **Research in Veterinary Science**, p. 105077, 2023.

HE, Boxue et al. miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in Cancer. **International journal of biological sciences**, v. 16, n. 14, p. 2628, 2020.

Primeiro trimestre registrou expressivo crescimento nas exportações brasileiras de peixe de cultivo. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/88688783/primeiro-trimestre-registrou-expressivo-crescimento-nas-exportacoes-brasileiras-de-peixe-de-cultivo>>. Acesso em: 16 set. 2024.