

# As principais doenças na criação de tilápias no Brasil: revisão de literatura

Bactéria, microbiologia, peixes, produção, aquicultura.

Matheus Hernandes Leira<sup>1</sup>  
Aline de Assis Lago<sup>2</sup>  
Jose Antonio Viana<sup>3</sup>  
Luciane Tavares da Cunha<sup>4</sup>  
Felipe Gabarra Mendonça<sup>5</sup>  
Rilke Tadeu Fonseca de Freitas<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Professor e Pesquisador do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário do Sul de Minas – UNIS. E-mail: matheushernandes@uol.com.br;

<sup>2</sup> Pesquisadora, Pós-doutorando em zootecnia UFPA;

<sup>3</sup> Professor e Pesquisador do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário do Sul de Minas - UNIS;

<sup>4</sup> Professora e Pesquisadora do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário do Sul de Minas - UNIS;

<sup>5</sup> Graduando em Medicina Veterinária pela UFPA;

## RESUMO

Com o aumento da produção de tilápias em sistemas superintensivos, o número de casos de doenças bacterianas nesses peixes vem aumentando significativamente. O produtor acaba não encontrando meios de detecção e diagnósticos precisos para as doenças que acarretam na mortalidade de praticamente toda a produção. O uso indiscriminado de antibióticos e outras drogas têm selecionado espécies mais resistentes de microrganismos e o número de pesquisas sobre vacinas tem apresentado um crescimento significativo nos últimos anos, porém sem grandes sucessos. O manejo e a seleção de espécies de peixes mais resistentes vêm sendo usada como uma boa forma de prevenção de doenças bacterianas. Esta revisão objetivou-se em descrever sobre as principais bactérias encontradas em tilápias no Brasil, mostrando suas principais características e estudos realizados.

**Palavras-chave:** Bactéria, microbiologia, peixes, produção, aquicultura.



# Nutri·Time

Revista Eletrônica

Vol. 14, Nº 02, mar. / abr. de 2017

ISSN: 1983-9006

[www.nutritime.com.br](http://www.nutritime.com.br)

A Nutritime Revista Eletrônica é uma publicação bimestral da Nutritime Ltda. Com o objetivo de divulgar revisões de literatura, artigos técnicos e científicos bem como resultados de pesquisa nas áreas de Ciência Animal, através do endereço eletrônico: <http://www.nutritime.com.br>.

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

## MAJOR DISEASES IN TILAPIA CREATION IN BRAZIL: LITERATURE REVIEW ABSTRACT

With the increased production of tilapia Superintensive systems, the number of cases of bacterial diseases has grown significantly in these fish. The producer ends up finding no means of detection and accurate diagnosis for diseases that cause mortality of virtually all production. The indiscriminate use of antibiotics and other drugs have selected more resistant species of microorganisms and the number of vaccine research has shown significant growth in recent years, but without great success. The management and the selection of fish species are being used more resistant as a good way of preventing bacterial diseases. This review aimed to describe yourself on the main bacteria found in tilapia in Brazil, showing its main features and studies.

**Keyword:** Bacteria, microbiology, fish production, aquaculture.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, como em todo o mundo, as enfermidades bacterianas são motivo de constante preocupação, pois são responsáveis por elevadas taxas de mortalidade de peixes e quando não ocasionam mortalidade, provocam lesões que inviabilizam sua comercialização, causando grandes prejuízos econômicos.

As bactérias com importância econômica para a piscicultura são consideradas oportunistas. Estão presentes na água e na microbiota dos peixes e desencadeiam enfermidades quando o hospedeiro se encontra debilitado em decorrência de alguns fatores. Entre os quais, podemos ressaltar o estresse provocado por alterações na qualidade da água, associados à elevada densidade de estocagem de peixes, favorecendo o aumento de populações bacterianas e outros agentes patogênicos ou oportunistas.

As bactérias constituem importantes patógenos na piscicultura intensiva, devido a sua facilidade de disseminação e por apresentarem um caráter oportunista. Embora existam inúmeras bactérias patogênicas, algumas delas são de ocorrência frequente e apresentam maior impacto econômico na produção comercial de peixes cultivados, como: *Aeromonas spp*, *Edwardsella spp*, *Flavobacterium columnare*, *Francisella spp*, *Streptococcus spp*.

Os peixes podem ser portadores de agentes etiológicos sem, contudo, apresentarem sintomas clínicos, podendo ocorrer uma proliferação se houver alteração nas condições ambientais ou no hospedeiro. A combinação de um agente infeccioso e o estresse provocado pelos fatores ambientais causa a progressão da enfermidade e morte.

A intensificação dos cultivos representa um dos principais fatores estressantes para os peixes, contribuindo para a permanência e disseminação do agente no ambiente, principalmente quando associada a variações abruptas nos parâmetros de manejo a que estão acostumadas.

A tilápia do Nilo se tornou na última década, a espécie mais cultivada no Brasil, sendo responsável

por aproximadamente 40% do volume da piscicultura nacional. (MPA, 2012).

## REVISÃO DE LITERATURA

### *Aeromonas hydrophila*

É um cocobacilo gram-negativas, anaeróbias facultativas, não formadoras de esporos (Rodriguez et al., 2005). *Aeromonas* é um *hydrophila* móvel que possui um único flagelo polar, catalase e oxidase positiva, glucose que fermentam com ou sem produção de gás e é insensível a agentes vibriostáticos 0/129 (2,4-diamino, 6,7-di-isopropil pteridina). Além disso, produz 2,3-butanodiol e reduz o nitrato a nitrito (CIPRIANO, 2001).

Não é tolerante ao sal e ao ambiente ácido (pH min. 6,0), possui crescimento máximo a cerca de 28°C. Tem a capacidade para crescer a temperaturas frias tendo sido relatado casos -0,1°C para algumas espécies. (DASKALOV, 2006).

A caracterização taxonômica do gênero *Aeromonas* é bastante complexa, entretanto sabe-se muito sobre seus caracteres genéticos e moleculares (JOSEPH; CARNAHAN, 2000).

Segundo Palumbo et al. (2001), *Aeromonas hydrophila* pode ser encontrada em muitos nichos ecológicos, sobretudo em águas, seja de rios, lagos, poluídas ou não e até mesmo em água levemente salinas.

A produção de  $\alpha$  e  $\beta$  hemolisinas por *Aeromonas*, pode causar hemólise e citotoxicidade nos hospedeiros. As proteases metalopeptidases e peptidases séricas são produzidas em condições ótimas de temperatura, pH e potencial redox, produzem danos teciduais e prejudicam o sistema de defesa do hospedeiro, sendo possível, algumas, ainda atuarem na ativação de toxinas. Quando em presença de microbiota láctica competidora, como *Lactococcus lactis*, o crescimento e produção de proteases de *A. hydrophila* podem ser inibidos (SANTOS et al., 1999).

As infecções por bactérias do gênero *Aeromonas* são comuns em diversas espécies animais, inclusive nos seres humanos, e é especialmente importante

para a aquicultura, devido ao acometimento de uma variedade enorme de peixes de cativeiro e silvestres.

Nos peixes cultivados, a infecção por *A. hydrophila* normalmente causa hemorragia cutânea no corpo e nas nadadeiras, progredindo para ulcerações com perdas de epitélio. Os peixes afetados normalmente morrem entre 02 e 10 dias após o início dos sinais clínicos. A doença é transmitida horizontalmente a partir das excretas dos peixes ou lesões da pele.

*A. hydrophila* é um habitante normal da água e do trato gastrointestinal dos animais aquáticos e terrestres. No entanto, as condições ambientais, tais como mudanças bruscas de temperatura, manipulação de alimentos, superlotação inadequada e redução na taxa de oxigênio, são fatores de predisposição que podem iniciar processos patológicos em peixes e mamíferos (RODRIGUEZ et al., 2005).

Na espécie *A. hydrophila* foram caracterizadas 5 subespécies; *A. hydrophila subsp. Anaerogenes*, *A. hydrophila subsp. Dhakensis*, *A. hydrophila subsp. Hydrophila*, *A. hydrophila subsp. Proteolytica* e *A. hydrophila subsp. Ranae* (HARF-MONTEIL et al., 2004).

As infecções em seres humanos são causadas pela *A. hydrophila*, ocasionando meningite, endocardite e outras doenças, principalmente em recém-nascidos (Begue et al., 1994; FALCON et al., 2001).

O papel desta bactéria em incidentes de origem alimentar não é bem estabelecido. No entanto, há dados que indicam que é possível que a *A. Hydrophila*, é capaz de crescer a temperaturas de alimentos refrigerados, atualmente considerados adequados para a prevenção do crescimento de organismos patogênicos (DASKALOV, 2006).

Um pré-requisito para iniciar a infecção, é a adesão e a invasão de células hospedeiras epiteliais. *A. hydrophila* é capaz de ligar-se a fibronectina, o colágeno e as glicoproteínas encontradas no soro e em células da mucosa epitelial (Ascencio et al., 1991;. Neves et al., 1994). Acredita-se que as bacté-

rias são capazes de se fixarem nas adesinas, facilitando a subsequente invasão (EISSA et al., 1994).

Demonstrou-se que a prevalência da *Aeromonas* em placas de cultura de tilápias nilóticas selvagens, era de 2,5% a 10% respectivamente. A bactéria possui múltiplos fatores de virulência, tais como, fatores de produtos extracelulares de superfície (ECPs), associados a células de fatores, plasmídeos e sistemas de restrição ou modificação, que parecem desempenhar um papel importante na patogenicidade da doença em peixes, sem, no entanto ter sido capaz de identificar exatamente entre todas quais possui maior relevância em relação ao aparecimento e desenvolvimento da doença (KHALIL & MANSOUR, 1997).

Tan et al. (1998) concluíram que *A. hydrophila* pode entrar e invadir as células dos peixes, sobrevivendo como um parasita intracelular. Eles estudaram a interação entre *A. hydrophila* e EPC, sugerindo que existe uma via de transdução de sinal que participam dessa interação, onde *A. hydrophila* adere à superfície da célula hospedeira antes da internalização. Após a adesão, *A. hydrophila* inicia uma cascata de sinalização que envolve a enzima tirosina quinase. No final desta via de sinalização, *A. hydrophila* produz uma reorganização dos microfilamentos (F-actina) em células EPC, para formar nuvens de actina. Posteriormente bactérias internalizadas replicam intracelularmente, causando alterações morfológicas nas monocamadas EPC.

A microscopia eletrônica mostrou que as fímbrias móveis produzidas por *Aeromonas* (Pili), facilitam a aderência (Cipriano, 2001). Além disso, Dooley e Confiança (1988) caracterizaram uma proteína de superfície denominada 52 kDa tetragonal (S layer), cuja tampa penetra a membrana celular bacteriana, aumentando assim a sua hidrofobicidade. Esta tensão superficial potencializa a resistência das bactérias, aumentando assim a lise ocasionada pelo complemento e pela fagocitose (CIPRIANO, 2001).

Em peixes existem três possíveis manifestações da doença: na pele, por septicemia com limitadas lesões de pele e de músculo e ainda uma forma latente a

qual não apresenta sinais clínicos (GRIZZLE & KIRYU, 1993).

O período de incubação da doença depende das espécies de peixes e suas respectivas resistências, condições ambientais e época do ano. Este período varia de 2 a 4 dias quando há infecções naturais, e de 8 a 48 horas em modelos de infecção experimental (HUIZINGA, 1979).

Na forma aguda, a septicemia fatal ocorre rapidamente, e o peixe morre antes de desenvolver quaisquer sinais da doença. Quando os sinais clínicos de infecção estão presentes, o peixe afetado pode apresentar exoftalmia, rubor na pele e um acúmulo de líquido nas cavidades (FAKTOROVICH, 1969).

O abdômen pode se tornar distendido e o edema resultante das escalas pode estar muito desenvolvido. Brânqueas podem estar sangrando e úlceras podem se desenvolver na derme. Outras aeromonas celulares foram isoladas a partir dos olhos, fígado e rins de peixes afetados (CIPRIANO, 2001; ROBERTS, 2001).

Infecções sistêmicas foram caracterizadas por necrose difusa em vários órgãos internos, com a presença de macrófagos contendo melanina do sangue internamente, o fígado e os rins são os órgãos alvo da septicemia aguda. (VENTURA GRIZZLE, 1987).

O fígado pode estar pálido ou possuir uma cor esverdeada, enquanto o rim apresenta um aspecto inflamado e friável. Estes órgãos são atacados por toxinas bacterianas e aparentemente perdem a sua integridade estrutural (AFIFI et al., 2000).

Nos rins foi possível observar hemorragia subcapsular, degeneração intersticial do parênquima com uma formação vacuolar citoplasmática e necrose epitelial tubular com infiltração. Esta última possui relação direta com o aparecimento da nefrite intersticial linfocítica, que foi observada em estudos paralelos (Yardimci & AYDIN, 2011).

A investigação epidemiológica de *A. hydrophila* foi

dificultada pela falta de um método rápido para a identificação taxonômica e complexidades dos múltiplos isolados (LONGYANT et al., 2007).

O isolamento acontece por meio de esfregaços de rim em meios não seletivos, tais como agar nutriente ou tripticase de soja (TSA), ou meios seletivos chamados de meio Rimler-Shotts (SHOTTS e RIMLER, 1973).

Incubou-se durante 24 a 48 horas, a uma temperatura de 20 a 25°C. Ambos os métodos fenotípicos e sorológicos são usados no diagnóstico (Austin & Austin, 2007). A fermentação da glicose é considerada uma reação crítica utilizada na identificação da *A. hydrophila* (CIPRIANO, 2001).

Para o diagnóstico também podem ser utilizados anticorpos policlonais (PAB), específicos para *A. hydrophila* (Sendra et al., 1997; Swain et al., 2002), ou o estudo do papel de flagelos de invasão bacteriana (Merino et al., 1997).

Sem os anticorpos policlonados (PAb) poderia causar um fundo falso positivo e uma inespecificidade de reação antígeno-anticorpo, em particular para a caracterização dos epítomos antígenos alvo. Em contraste, os MAbs específicos para *A. hydrophila* tem sido caracterizados contra LPS isolados a partir de *A. hydrophila* tipo I (Cartwright et al., 1994) e também contra 110 kDa proteína *A. hydrophila* com baixa reatividade cruzada com outras espécies de *Aeromonas* e várias espécies bacterianas (DELAMARE et al., 2002).

Jongjareanjai et al., 2009 descobriram que o antibiótico cloranfenicol foi mais eficaz para inibir o crescimento de *A. hydrophila*, sendo assim o primeiro medicamento de escolha; seguido por sulfametoxazol - trimetoprim e amicacina. Em contraste, 100% relataram resistência ao metronidazol e colistina, enquanto que para a penicilina e a amoxicilina, observou-se semelhante resistência (92,31%). Geralmente, as drogas de escolha para o tratamento de infecções em animais aquáticos são a enrofloxacina e a oxitetraciclina, no entanto este estudo mostrou que a enrofloxacina (37,04% de sensibilidade, 51,85% resistente), possui pouca eficácia na eliminação das bactérias.

Vários estudos isolados sobre *A. hydrophila*, mostrou uma alta resistência a alguns antibióticos, aplicados na prática clínica, o que pode gerar dificuldades para a cura de doenças causadas por esta bactéria (DASKALOV, 2006).

Por esta razão, existe atualmente uma tendência a desenvolver outras propostas, incluindo vacinas, probióticos e imunostimulantes, para controle de doenças em peixes (AWAD, 2010).

### ***Edwardsella ssp***

É uma bactéria gram-negativa da família Enterobacteriaceae, curto móvel de 1 micron de diâmetro e 2-3 microns de comprimento, o que afeta uma grande variedade de hospedeiros, incluindo os peixes de água doce e salgada (THUNE et al., 1993).

*E. tarda* é anaeróbia facultativa e mesófila, caracterizada como citocromo oxidase negativa, indol positiva e também produtor forte de H<sub>2</sub>S na natureza. *E. tarda* forma típicas colônias verdes com centros brancos em meio agar Rimler-Shott (ACHARYA et al., 2007).

*E. tarda* é considerado um organismo oblico e foi identificada como hospedeiro em amostras de animais e ambientais de água. O habitat natural da bactéria *E. tarda* é o trato gastrointestinal de animais, e a sua deposição nas fezes permite que a propagação seja feita no ecossistema, a infecção é mais provável de ocorrer através do epitélio do intestino danificado (PLUMB & EVANS, 2006).

Os répteis e anfíbios foram identificados como importantes hospedeiros da bactéria *E. toma*, sendo isoladas em cobras, lagartos, jacarés, tartarugas, sapos e rãs (Wiedenmayer, 2006). As aves são também consideradas hospedeiras essenciais das bactérias e pode ser um componente importante de propagação (WIEDENMAYER, 2006).

White et al., 1973 identificaram a presença de *E. tarda* em várias espécies de aves aquáticas, como o pelicano marrom. Elas são capazes de infectar uma variedade de espécies de mamíferos, sendo isoladas em macacos (Kourany et al., 1977), gado (Ewing et al., 1965), suínos (Owens et al., 1974) e

mamíferos marinhos, incluindo leões-marinhos e botos (COLES et al., 1978).

Vários estudos indicam que as mudanças nas condições ambientais (por exemplo, salinidade e temperatura), geram impacto sobre a virulência da bactéria (Darwish et al., 2001; Zheng et al., 2004).

Yasunobu et al., 2006 sugeriram que a atividade de hemaglutinação e de expressão da proteína 19,3 kDa fimbrial são atenuadas com concentrações elevadas de NaCl e virulência de *E. levemente* aumentada.

*E. tarda* é um patógeno oportunista, considerada muito ampla e embora o início da septicemia não seja necessariamente crítica, estressores ambientais como flutuações de temperatura, grau de qualidade da água e superlotação podem aumentar a incidência e a gravidade da doença em peixes (PLUMB, 1999).

Plumb e Evans 2006 relataram uma faixa de temperatura ótima entre cerca de 20 e 30°C, para a transmissão em *Edwardsella* em peixe com septicemia.

É importante considerar o impacto destas bactérias zoonóticas, vários pesquisadores afirmam que a exposição ao ecossistema aquático e seus habitats parecem ser precursores de doenças por *E. tarda* (WIEDENMAYER, 2006).

Considera-se também patógeno de origem alimentar, o consumo de forma crua ou manipulados de produtos do mar em condições inadequadas ou processados em ambientes contaminados, podendo levar à doença (SLAVEN et al., 2001).

A patogênese da *E. tarda* é multifatorial. (Janda et al., 1991) demonstra a capacidade das bactérias para aderência e replicação dentro das monocamadas das linhas celulares epiteliais HEp-2. A invasão foi relatada como sendo dependente de microfilamentos.

Da mesma forma, Phillips et al., 1998 através de microscopia eletrônica mostrou que *E. toma* induz projeções que se estendem sobre a membrana

plasmática de células HEp-2.

O alto potencial de infecção do agente patogênico em relação ao seu hospedeiro deve-se ao fato da sua capacidade de desintoxicar várias formas tóxicas de oxigênio ( $O_2$ ,  $H_2O_2$  e  $OH_2$ ) presentes no organismo invadido, no intuito de produzir enzimas como a superóxido dismutase, catalase e a peróxidase (SOD) (Mohanty e Sahoo, 2007). (Wakabayashi & Yamada, 1999) identificaram o gene da SOD (SodB) de *E. tarda*.

De acordo com Srinivasa Rao et al., 2003 relataram 14 genes (derivados mutantes de TnpA 15) importantes na patogênese causada por *E. tarda*, que codificam alguns fatores de virulência, como transportadores de fosfato de proteínas homólogas ao sistema regulador, secreção de catalase como o glutamato descarboxilase, proteínas fimbriais e duas novas proteínas.

O gene fimA da bactéria é responsável pela adesão à sede invasão (Mohanty & Sahoo, 2007). Dentro do hospedeiro, a bactéria produz um soro anti- morte mediada pelos fagócitos, que são realizadas pelos genes gadB, ISOR, Katb e ompS2 SSRB. Os genes Pst ajudam adquirir nutrientes, tais como o fosfato e o ferro no hospedeiro, necessários para a proliferação das bactérias (MOHANTY & SAHOO, 2007).

Ainda de acordo com Shen & Chen, 2005 também observaram a expressão de genes de virulência (hlyA, CITC, Fima, gadB, Katb e mukF) correlacionados com a mortalidade de peixes infectados com *E. tarda*.

Han et al., 2006 relataram que estirpes virulentas possuem genes do tipo I e sodB Katb, enquanto cepas avirulentos têm tipo II sodB, mas não Katb. Isto sugere que a capacidade de *E. tarda* leva a resistência do complemento da atividade de fagocitose e é para a presença da enzima superóxido dismutase e catalase. Além disso, as estruturas de superfície celular, tais como lipopolissacáridos e bactérias peptidoglicano também ajudam a resistir ao ambiente hostil dentro do hospedeiro (Matthew et al., 2001). *E. Tarda* também tem um sistema de aquisição de ferro, mediada por (KOBO et al., 1990).

Estudos recentes descobriram que a *E. tarda* produz uma proteína tóxica que pode ser injectada dentro das células hospedeiras por sistema de secreção T3SS (TAN et al., 2005; ZHENG et al., 2005).

As dermatoxinas hemolisinas produzidas pela maioria das cepas das bactérias são responsáveis pelo maior dano (HIRONO et al., 1997).

De acordo com Aranishi & Hand, 2000 relataram que durante a infecção, o nível habitual de catepsinas da pele aumentou, indicando uma atividade antibacteriana.

Ao reproduzir a infecção experimental de *E. tarda* em tilápias nilóticas, injetando por via intramuscular 0,3 mL de suspensão bacteriana contendo 108 UFC /ML. Vários sinais clínicos foram observados, incluindo movimentos lentos e perda de reflexos de defesa e fuga. Sintomaticamente relataram derramamento de escalas e coloração pálida, edematose grave, inchaço no local da injeção, presença de balonismo na barriga com ascite amareladas, ânus sangrando e opacidade em ambos os olhos (EL-YAZEED & IBRAHEM, 2009).

Em infecções leves, a única manifestação da doença inclui pequenas lesões de pele (3-5 mm de diâmetro), localizadas nas porções laterais do corpo. Com a progressão da doença, abscessos se desenvolveram lateralmente dentro dos músculos ou no pedúnculo caudal. Estes abscessos rapidamente aumentam de tamanho e se desenvolvem dentro de grandes cavidades cheias de gás, e que na fase aguda, são visíveis como áreas convexas e inchadas (MOHANTY & SAHOO, 2007).

Se a lesão está instalada, um odor fétido é emitido, sendo possível identificar restos de tecido necrosados nas cavidades (WIEDENMAYER, 2010).

À medida que a infecção progride, os peixes afetados perdem o controle sobre a metade caudal do corpo (MOHANTY & SAHOO, 2007).

O exame histopatológico de septemia por *E. tarda* são realizados no rim, fígado, baço e intestino. A infecção é caracterizada por necrose liquefativa, disseminação bacteriana extensa, e presença de macrófagos (WIEDENMAYER, 2006).

De acordo com Galal et al.,2005 alterações histopatológicas em *O. niloticus* inoculados experimentalmente, levando a mudanças como degeneração hepática, alterações de gordura, e necrose. Nos rins, a necrose epitelial observada ocorreu nos túbulos contornados.

O isolamento primário de *E. tarda* é mais satisfatório usando uma etapa de caldo enriquecido de Salmonella-Shigella ou dupla força caldo selenito-cisteína, seguido de semeadura direta em ágar Salmonella-Shigella (STARLIPER, 2008).

Além disso, Horenstein, et al., 2004 diagnosticou *E.tarda* utilizando PCR levadas a amostras de sangue.

Segundo Savan et al., 2005 relatou um método sensível e rápido de LAMP para o diagnóstico da *edwardsiellosis*.

Vários pesquisadores relataram o uso de norfloxacin, ciprofloxacina, oxitetraciclina, gentamicina e cloranfenicol (SAHOO & MUKHERJEE, 1997), cefazolina (ZHANG et al., 2005) e azetronam (ZHU et al., 2006).

O parâmetro físico-químico do ambiente deve ser ideal para prevenir a infecção. Uma boa alternativa é manter as condições adequadas em lagoas. As incubadoras devem ser mantidas com saneamento básico e higiene. Para um melhor controle de *edwardsiellosis*, deve-se monitorar constantemente a sua presença no meio e manter a raça livre de patógenos (MOHANTY & SAHOO, 2007).

O uso de substâncias tais como probióticos stress, ácido ascórbico, lipopolissacarídeo podem ser realizados, adicionando-os ao alimento. (Pirarat et al., 2006) sugeriu que peixes infectados com *E. tarda*, possuem um aumento de *Lactobacillus rhamnosus* no sistema do complemento do peixe, ocorrendo uma agregação de células fagocíticas permitindo dessa forma, um aumento da atividade fagocítica subsequentemente protegendo os peixes da morte por septicemia aguda.

Taoka et al.,2006 reportou que a administração de probióticos comerciais contendo *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, e *Clostridium butyricum*

*Saccharomyces cerevisiae* aumentam o sistema imune não específico, adaptando ligeiramente a tilápia para sobreviver sob estresse salino, e reduzindo a mortalidade devido à infecção *E. tarda*.

Uma OMP foi detectada em várias estirpes de *E. tarda*, designando uma vacina eficaz contra a infecção experimental em peixes da espécie linguado japonês (Kawai et al., 2004). No entanto, essas vacinas requerem um trabalho caro e não prático.

Liu et al.,2005 prepararam uma GAPDH recombinante de *E. tarda*, a qual serve como um antígeno de vacina, prático e eficaz contra a infecção por *E. Tarda* no linguado japonês. Curiosamente, a GAPDH protege de forma eficaz o linguado japonês da infecção víbrio porque ambas as bactérias patogênicas são altamente homólogas.

Verjan et al.,2005 identificou 7 proteínas antigênicas de *E.tarda* utilizando anti-soro leva policlonal de coelho e suas sequências de aminoácidos identificados como lipoproteínas, proteínas periplásmicas e proteínas exportadas, realizando papel importante no transporte de metabólitos através da membrana celular, ocasionando uma resposta ao estresse e a mortalidade. Genes detectados e seus produtos podem ser utilizados para desenvolver vacinas recombinantes ou subunidades de DNA.

Além disso, outros métodos importantes relatados referem-se ao controle, tratamento e prevenção da doença, utilizando imunoestimulantes. Foi selecionado um número grande de imunoestimulantes usados contra infecções por *E. tarda* nas grandes carpas indianas. Alguns deles, tais como o  $\beta$ -1, 3-glucano, proveniente da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* com uma dose de 0,1 mg de alimentação / kg por 5 vezes, a intervalos de 3 dias, foi encontrada para ser mais do eficaz no tratamento da doença e para reduzir a mortalidade em casos agudo. Estas substâncias protegem contra outros patógenos como bactérias, vírus, parasitas e fungos, não ocorrendo a possibilidade de criação de um ambiente prejudicial (SAHOO & MUKHERJEE, 2002).

***Flavobacterium columnare***

*Flavobacterium columnare* é o agente etiológico da columnarose, enfermidade comumente observada em pisciculturas de água doce, que ocasiona extensiva morbidade e mortalidade em peixes de todo o mundo, gerando sérios impactos econômicos (PILARSKI et al., 2008).

*F. columnare* é uma bactéria gram-negativa, não flagelada, que tem como principal característica a motilidade, através de deslocamento e deslizamento em superfícies sólidas. As características que distinguem esta bactéria de outras são as suas habilidades para crescer na presença de sulfato de neomicina e sulfato de polimixina B. Forma colônias de coloração amarelada, produtoras de rizóides, e de uma enzima que degrada a condroitina, gelatina B, sulfato de congo e absorção o vermelho dentro de colônias (SEBASTIÃO et al., 2011).

Esta bactéria é oportunista, e possui ampla distribuição geográfica no Brasil. Foi encontrada em espécies nativas, assim como nas comercialmente importantes, incluindo tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*). Ela faz parte da microbiota normal da água, da pele e das guelras de um peixe. É comumente observada em água de piscicultura e é descrito como um agente causador de um grande número de mortalidades em tilápias.

A doença *Columnarisose* é caracterizada por aparecimento de pontos cinzentos ou áreas amareladas de erosão, que são normalmente cercadas por uma zona hiperémicas avermelhada geralmente aparecendo na cabeça, na superfície do corpo e nas brânquias (PILARSKI et al., 2008).

No entanto, sob condições desfavoráveis, tais como temperaturas superiores a 20°C, baixos níveis de oxigênio dissolvido na água, altas concentrações de amônia, alta densidade de contaminação da população, associadas a outras bactérias, são capazes de invadir o corpo do hospedeiro causando danos ou até a morte em casos mais graves (SEBASTIÃO et al., 2011).

*Columnaris* é uma doença contagiosa que pode ser transmitida horizontalmente através do contato direto em feridas na pele ou por via fecal (MOHAMED & AHMED, 2011), sendo pouco conhecidos seus me-

canismos de virulência.

Estudos tem sugerido que a adesão ao tecido branquial é um passo importante na patogênese desta bactéria, e a quimiotaxia da mucosa do peixe está associada com a virulência deste patógeno (KUNTTU, 2010).

Além disso, as atividades das enzimas que degradam tecidos conjuntivos, como a condroitina AC liase aparentam estar relacionadas com a virulência de *F. columnare*. Também verificou-se que a composição de LPS difere dos mutantes virulentos (KUNTTU, 2010).

A doença é caracterizada clinicamente pela presença de áreas de erosão ou lesões necróticas rasas, com uma coloração entre cinza-esbranquiçado e branco-cinza-amarelado, localizada na região das barbatanas, da cabeça e / ou do corpo. As brânquias também são afetadas e mostram sinais de palidez e necrose. Epizootias de *columnaris* são especialmente importantes quando a temperatura da água é de 21°C ou mais, conduzindo a perdas elevadas no peixe afetado (SANDOVAL et al., 2010).

Mohamed & Ahmed, 2011 trabalhando com tilápias nilóticas contaminadas com 0,2 x 10<sup>8</sup> UFC de *F. columnare*, demonstrou perda de apetite e desconforto respiratório, natação perto da superfície da água, movimentos rápido, opérculo com manifestações nervosas e uma mortalidade de aproximadamente 70% dos peixes.

As lesões de pele formam erosões extensas e placas, principalmente na região frontal da cabeça e abdomen, assim como pequenas úlceras hemorrágicas cercadas por uma área avermelhada identificadas nas áreas pélvica e anal. O sangramento foi observado na base das nadadeiras peitorais e nadadeira caudal, com edema e margem cinza desbotada. Necrose foi observada na porção membranosa caudal final, nos filamentos branquiais e nas vísceras congestionadas, que estavam inflamadas e cobertas de muco. Em outros casos, uma ligeira opacidade da córnea foi observada (MOHAMED & AHMED, 2011). Segundo os mesmos autores, as lesões encontradas em tilápias infectadas com *F. Columnare* foram limitadas à pele

e às brânquias, além de lesões septicêmicas em outros órgãos. As infecções das brânquias são menos comuns, sendo que as lesões mais graves começam na base do arco branquial, provocando um alargamento progressivo e posterior necrose.

A pele apresentou necrose coagulativa grave e espongiase na epiderme, sendo que em alguns casos, a necrose mostrou pústulas, erosões e ulcerações induzidas, apresentando massas de basófilos e colônias bacterianas. As ulcerações penetram nos tecidos mais profundos causando dermatite, miosite necrosante e perimiositis (MOHAMED & AHMED, 2011).

O fígado apresentou necrose de coagulação, infiltração de neutrófilos e congestão dos vasos sanguíneos. O fígado foi observado apresentando um tecido parenquimatoso fibroso, infiltrado com numerosos macrófagos, linfócitos e células polimorfonucleares (MOHAMED & AHMED, 2011).

Os rins mostraram áreas multifocais de necrose coagulativa e hemorragia, com degeneração moderada hidrofóbica no revestimento epitelial dos túbulos renais e encolhimento dos glomérulos. Observaram-se também áreas focais de células de fibrose mononuclear, que substituíram o tecido renal (MOHAMED & AHMED, 2011).

De acordo com Mohamed & Ahmed, 2011 relataram o uso de oxitetraciclina para minimizar a lesão ocasionada por *F. Columnare*.

A prevenção e o controle de *columnaris* incluem manutenção da qualidade da água e controle do policultivo. O uso de nifurpirinol (NFP) e nitrofuranos, dentre outros medicamentos, tem alcançado um bom resultado no tratamento dessa doença (SANDOVAL et al., 2010). O uso de probióticos contendo *Bacillus subtilis* na dieta e na água de tanques com, dois meses antes do desafio com *F. columnare*, favoreceu o desaparecimento de sinais clínicos, não ocorrendo relatos de mortalidade (MOHAMED & AHMED, 2011).

### ***Francisella* spp.**

A *francisella* é um cocobacilo gram-negativo pequeno, pleomórfico, sem motilidade, estritamente aeróbico, intracelular facultativo, e que não produz esporos (Foley & Nieto, 2009). As bactérias são

isoladas em crescimento em ágar Mac Conkey e ágar nutritivo (6% de NaCl) (OTTEM et al., 2007).

A *F. asiatica* foi recentemente descrita como membro do gênero *Francisella*, recuperada a partir de três pacientes infectados com *Parapristipoma trilineatum* no Japão, utilizando o isolamento para descrever novas espécies (MIKALSEN & COLQUHOUN, 2009).

Nos últimos cinco anos, a bactéria causou mortalidade significativa em tilápias de cultivo (*Oreochromis spp.*), e em outras espécies importantes de águas quentes e frias nos Estados Unidos, Taiwan, América Latina, especialmente na Costa Rica e no Japão (SOTO et al., 2009; VOJTECH et al., 2009).

A transmissão da infecção da *F. asiatica* está aparentemente restrita a uma temperatura entre 20°C - 28°C em Robalo (OSTLAND et al., 2006).

O sucesso da *Francisella* diz respeito ao fato de o patógeno estar intimamente associado com a sua capacidade de sobreviver e se replicar em uma grande variedade de tipos de células hospedeiras (PECHOUS et al., 2009).

A *Francisella* adentra as células por meio do processo de fagocitose (looping fagocitose), que envolve o rearranjo de actina via sinalização fosfatidilinositol 3-quinase e sofre dependência da presença do fator de C3 e de receptor CR3 do complemento (CLEMENS et al., 2009).

Seguido por internalização dentro da célula, a *Francisella* é capaz de alterar os processos normais bactericidas e evitar a indução da explosão respiratória (FORTIER et al., 1994).

Os vacúolos contendo *F. tularensis* não adquirem catepsina D e mesclam a hidrolase com lisossomos (Clemens et al., 2009). Além disso, *F. altera* as células *tularensis* do hospedeiro, fazendo com que o fagossoma entre no citosol, sofrendo dessa maneira uma replicação extensiva (PECHOUS et al., 2009).

Membros do gênero *Francisella*, por serem organismos não móveis, são transmitidos por contato direto com animais infectados, através de água ou alimentos contaminados ou por vetores, como

insetos mastigadores (COLQUHOUN & DUODU, 2011).

A transmissão da *Francisellosis* em peixes possui uma ligação com os ambientes aquáticos, sendo possível ser identificada em peixes de água doce e salgada (MIKALSEN et al., 2007).

Aparentemente, a *francisellosis* é altamente transmissível em condições ambientais ideais, possuindo níveis altos de infecção principalmente no bacalhau do Atlântico e em tilápias. (CHERN, 2006).

Além disso, Colquhoun & Duodu, 2011 relataram que o contato peixe a peixe é desnecessário para a contaminação. Por exemplo, o bacalhau pode ser diretamente infectado através da água de efluentes, contida em tanques com peixes infectados.

Foi relatado, também que *F. noatunensis* subsp. *noatunensis* pode ser cultivada a 50% dos coabitantes no intestino do bacalhau do Atlântico (Mikalsen et al., 2009), o que pode indicar que a via de propagação fecal-oral é uma das principais rotas de transmissão (COLQUHOUN & DUODU, 2011).

Além disso, a identificação de *F. noatunensis* subsp. *noatunensis* em ovas de bacalhau do Atlântico pode indicar que a doença é transmitida verticalmente contudo, é preciso uma investigação mais aprofundada para se chegar a uma conclusão precisa (COLQUHOUN & DUODU, 2011).

A patogenicidade da *Francisella* sp (FPI) é um locus de 30 kb, identificado dentro da *Francisella genoma tularensis*. As funções associadas com os genes codificados pelo IFP incluem o crescimento intracelular. (Soto, 2010a). Vários genes homólogos ao IglA, IglB, IGLC e IGLD de *F. tularensis* foram encontrados na estirpe 07-285 *F. asiatica*, isolados a partir de tilápias doentes (SOTO, 2010).

Os peixes infectados mostraram sinais clínicos inespecíficos, como a natação errática, anemia, anorexia, exoftalmia e alta mortalidade (SOTO et al., 2010).

Existem graves alterações patológicas em achados histopatológicos descritos em tilápias afetadas,

cultivadas na Costa Rica, de acordo com relatos de (Hsieh et al., 2006) e (Mauel et al., 2007). Sinais clínicos e alta mortalidade estavam presentes nas tilápias. De acordo com relatos de criadores, os peixes afetados nadavam de forma irregular por cinco a dez minutos e depois sucumbiam e ocorria óbito.

Este sinal clínico pode ser relacionado com a quantidade de infiltração de células granulomatosas inflamatórias presentes no sistema nervoso central, uma vez que a maioria dos peixes afetados foram aqueles que exibiram este comportamento (SOTO et al., 2010).

Soto et al., 2009 mostrou que apenas 23 bactérias de *F. Asian* injetadas no peritônio são capazes de causar mortalidade em tilápias (*Oreochromis niloticus*), e menos patógenos ainda são suficientes para causar graves lesões em órgãos importantes como rim e baço.

### ***Streptococcus spp.***

*Streptococcosis* é uma das infecções bacterianas mais importantes que afetam tilápias e evoluiu de uma "doença emergente", para uma entidade verdadeira, completamente identificada e bem estabelecida. Esta doença tem sido relatada em todo o mundo, afetando mais de 45 espécies de peixes em ambientes de água doce, e em água salgada em estuários na África, América, Ásia, Austrália e Europa. O continente americano possui casos notificados de *streptococcosis* em tilápias cultivadas em pelo menos 12 países (Conroy, 2009).

*S. iniae* é um cocobacilo gram-positivo, catalase negativo, organizado em pares ou em cadeias. Não móvel; sensível à vancomicina, a reação negativa de Voges-Proskauer (VP) para acetimetil carbinol a produção da enzima, e que não reagem com a bilis meia – escualina (BE), ácido produção de sorbitol e de gás no Mann Rogosa afixada caldo (MRS), e cultivadas a 45 ° C ou caldo contendo 6,5% de NaCl. No entanto, algumas cepas podem mostrar fraco crescimento, positiva para a produção de leucina aminopeptidase (LAP) e CAMP (teste para aumentar a produção de hemólise beta utilizando *Staphylococcus aureus* Streptococcus (Evans et al., 2006b.).

Ele foi isolado pela primeira vez em 1976, em botos de água doce da Amazônia (*iniae geoffrensis*) que viveram no aquário de San Francisco e de Nova York (Pier & Madin, 1976).

Esses animais tinham lesões superficiais na pele. Na década de 80, foram isoladas novas espécies de streptococos, consideradas agentes etiológicos da meningoencefalite aguda que afetavam o cultivo de tilápias em Israel, Taiwan e EUA (Eldar et al., 1994 e 1995a), causando alta taxa de mortalidade entre os animais. Inicialmente este patógeno foi denominado de *Streptococcus shiloi*, entretanto as análises fenotípicas e genotípicas mostraram que a bactéria isolada era a *Streptococcus iniae* (Eldar et al., 1995b).

*S. iniae* pode afetar diversas espécies de peixes, incluindo peixes de água salgada (Boletim OPAS Epidemiológica, 2000; Colourn et al., 2002). Entratanto vários relatórios indicam que a tilápia é o peixe mais afetado (Baiano & Barnes, 2009).

Kitao, 1993 mostrou que os peixes que sobrevivem a um surto de *streptococcosis* permanecem como uma foco permanente de infecção. Dessa maneira, uma vez que a doença entra numa fazenda ou em uma produção de tilápia, é extremamente difícil ou impossível erradica-lá.

De acordo com Chang, 1994 demonstrou que *O. niloticus* era susceptível à infecção por *Streptococcus* após sofrer lesão na superfície da pele, observando-se a maior responsável pela elevada taxa de mortalidade quando os peixes foram mantidos em água com uma salinidade de 30‰ e uma temperatura de 25°C. Isto possivelmente indica que a suscetibilidade de tilápias para esta doença aumenta a medida que a salinidade e a temperatura da água se elevam.

Normalmente tilápias infectadas com *streptococcosis* mostram diferentes manifestações clínicas, dependendo das espécies de *Streptococcus* e da espécie de tilápia (Conroy, 2009). Ainda de acordo com (Sandoval et al., 2010), aparentemente *Oreochromis niloticus* é mais resistente ao *sptreptococcosis aureus*.

Sinais clínicos típicos podem incluir anorexia, letargia (Romano & Mejia, 2003), melanose da pele, hemorragias petequiais e hiperemia da região anal e nas asas, lesões hemorrágicas e necróticas na pele e tecido muscular, exoftalmia unilateral ou bilateral com ou sem sangramento e opacidade da córnea e periocular (CONROY, 2009).

Uma característica importante é a presença de movimentos erráticos e natação desorientada, principalmente quando peixe está morrendo, o que tem dado origem ao termo "doença de tilápia selvagem." O comportamento de natação anormal é causado pela meningoencefalite, que é a infecção das meninges por *Streptococcus* cérebro invasivo (CONROY, 2009).

A exoftalmia geralmente está associada com as fases iniciais da doença, e apresentam como sintomas congestão e edema retrobulbar acompanhada por inflamação, necrose e hiperemia do nervo óptico e coróide, o que resulta na expulsão de materiais necróticos através da córnea ulcerada. Pode ser encontrada opacidade ou até mesmo a perda total da córnea (CONROY, 2009).

De acordo com a experiência de Conroy, 2009, em particular na América, os sinais clínicos e manifestações patológicas de tilápias doentes podem variar de acordo com a espécie de *Streptococcus* que causou a infecção.

As hemorragias petequiais ou difusas cutâneas são comuns e embora a situação prevaleça em todo o corpo, na região cefálica e caudal é onde irá apresentar maiores manifestações. Muitas vezes o baço e fígado, estão friáveis. Na cavidade craniana, pode haver a congestão difusa do fluido espinhal cerebral hemorrágico (ROMANO & MEJIA, 2003).

Na necropsia o baço normalmente está com o tamanho aumentado e o fígado e os rins estão pálidos e manchados com inúmeras áreas de necrose focal. Frequentemente é identificada uma miocardite e pericardite (Perera et al., 1998) e poliserositis. A cavidade abdominal pode ser distendida, contendo um exsudato sero-sanguinolento (ROMANO & MEJIA, 2003).

Os vasos branquiais são geralmente hiperemico e infiltrados com os macrófagos e nesses casos, os filamentos branquiais podem apresentar sangramento maciço e sofrem um processo de necrose que afeta as áreas das brânquias, provocando odor e posteriormente aumentando a mortalidade. O trato intestinal pode também estar com a mucosa hiperemiada e sofrer descamação contínua (CONROY, 2009).

*Streptococcosis* em tilápias geralmente estão associados com o aparecimento de granulomas. A análise histológica mostra uma aguda septicemia, com infiltração de células inflamatórias e numerosos cocos na maioria dos tecidos examinados. Predominantemente uma imagem meningo-encefálico apresentam os capilares dilatados, ocorrendo um extravasamento dos eritrócitos e densos infiltrados inflamatórios com predominância de granulócitos-macrófagos embora também linfócitos sejam observados (CONROY, 2009).

Com técnicas de impregnação de prata, é possível identificar cocos abundantes no parênquima cerebral. No fígado, há uma hepatite focal intraséptica com focos de necrose hepatocelular e infiltrado inflamatório. Métodos de diagnóstico envolvem várias técnicas de bioquímica bacteriológica, juntamente com as técnicas convencionais moleculares (ROMANO MEJIA, 2003).

Alterações na taxonomia e nomenclatura do gênero *Streptococcus* ocorreram como um resultado do advento de técnicas moleculares utilizadas para ajudar a delinear as diferenças de gênero em espécies bacterianas. Além disso, a semelhança entre as características fenotípicas como catalase negativos, cocos gram-positivos, como ocorre, por exemplo, em *Lactococcus gera*, *Enterococcus hemolítica* e *Streptococcus*, pode causar confusão e erros de identificação (EVANS et al., 2006).

Tanto *S. iniae* e *S. agalactiae* são positivos para LAP e CAMP. Para confirmar o diagnóstico, a diferenciação entre *S. Iniae* e *S. agalactiae* é feita pelo fato de a primeira crescer normalmente a 10 ° C, não hidrolisar hipurato, mas sim o amido, e ter um grupo Lancefield (EVANS et al., 2006).

A *S. iniae* é sempre hemolítica em placas de sangue, enquanto que *S. Agalactiae* hemolítica pode ou não ser não hemolítico. O teste para a hidrólise de amido é essencial para identificação de *S. iniae* e diferenciação de outros organismos (Evans et al., 2004).

*S. iniae* é sensível a vários antibióticos, incluindo a oxitetraciclina, ciprofloxacina, amoxicilina ácido clavulônico, penicilina, cloranfenicol, tetraciclina, rifampina, trimetoprim sulfametoxazol, eritromicina e vancomicina (Evans et al., 2006b.). Isolados da *S. iniae* são resistentes à eritromicina, amicacina e ácido nalidíxico variando a sensibilidade à gentamicina e ampicilina (VANDAMME et al., 1997).

Os Alevinos de tilápias que apresentaram sinais clínicos e mortalidade causados por *S. iniae*, sofreram tratamento com florfenicol em doses de 15 mg de peso corporal / kg / dia, durante 10 dias. Observou-se um aumento significativo de sobrevivência após os 14 dias de tratamento, em comparação com os animais não medicados. As chances de morte entre peixes não medicados eram 1,34 vezes maiores do que os encontrados em peixes medicados (GAIKOWSKI, 2009).

A adição de probióticos para alimentar é uma boa escolha. Recentemente, foi utilizada uma mistura de dois probióticos contendo *Lactobacillus acidophilus*, e *Streptococcus faecium*, que parecem melhorar o ambiente intestinal, reduzindo o estresse em animais e gerando alguma proteção contra a infecção por parasitas e / ou bactérias patogênicas, tais como *S. iniae* (TAVARES-DIAS et al., 2001).

No entanto, a melhor estratégia, como quase sempre acontece, é a vacinação apropriada nos animais. Quando se menciona a utilização adequada, refere-se à utilização de vacina específica. Portanto, não fazer uma boa identificação do microrganismo que possuem diferentes cepas de virulência e cada um diferente genótipo é um equívoco (Fuller et al., 2001). É por isso que algumas vacinas parecem ser bem sucedidas, partindo do fato de que o sistema imunitário dos peixes é muito semelhante ao dos mamíferos e o reconhecimento da fase específica da resposta imune, seja móvel ou humoral antígeno-

dependente, ou seja, apenas responde ao determinante antígeno apresentado por células apresentadoras de antígenos (BACHRACH et al., 2001).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Enfermidades bacterianas em peixes são comuns em sistemas aquáticos, porém práticas de manejo adequadas podem prevenir mortalidades. Para que um diagnóstico preciso e confiável seja realizado, é necessária a contribuição do piscicultor, no sentido de fornecer dados corretos sobre o sistema de criação, manejo empregado, espécies trabalhadas, tratamentos utilizados, enfermidades já identificadas na propriedade, qualidade da água e principalmente, enviar amostras de peixes e água adequadas. Dessa forma, o diagnóstico será rápido e as devidas soluções serão postas em prática para que o problema seja o mais rapidamente resolvido.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBINATI, A. C. L., ALBINATI, R. C. B., OLIVEIRA, E. M. D., LABORDA, S. S., AUSTIN, B., AUSTIN, D.A. Fish pathogens diseases in farmed and wild. **Chichester, UK : Ellis Horwood.**, p. 196-224. 1987.
- BARJA, J. L.; ESTEVES, A.T. Patologia en acuicultura. Espanha: **Caicyt**, 550, p. 1988.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 7. Normas para o trabalho em contenção com organismos geneticamente modificados – **OGMS. Diário Oficial, República Federativa do Brasil**, Brasília, p.11.827-11.833, 9 jun 1997. Seção 1, 1997.
- BUNCH, E. C.; BEJERANO, I. The effect of environmental factors on the susceptibility of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* to streptococcosis. **The Israeli Journal of Aquaculture**, v. 49, n. 2, p. 67-76, 1997.
- BUNCK, E. C.; BEJERANO, I. The effect of environmental factors on the susceptibility of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) to streptococcosis. **The Israeli Journal of Aquaculture**, v. 49, p. 67-76, 1997.
- CLARK, J. S.; PALLER, B.; SMITH, P. D. Prevention of streptococcosis in tilapia by vaccination: the Philippine experience. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE**, 5, Rio de Janeiro, RJ. Proceedings... Rio de Janeiro, 2000. v. 2, p. 545-551. 2000.
- CLEMENS DL Y HORWITZ MA. Uptake and intracellular fate of *Francisella tularensis* in human macrophages. **Ann N Y Acad. Sci** 1105: 160-186. 2009.
- COLQUHOUN DJ Y DUODU S. Francisella infections in farmed and wild aquatic organisms. **Vet Res** 42(45): 1-15. 2011.
- COSTA, A.B. Estratégias para o estudo de bactérias potencialmente patogênicas na piscicultura. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnoli, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt**, 2004. p. 387-403.
- DARWISH AM, ISMAIEL AA, NEWTON JC, TANG J. 2004. Identification of *F. columnare* by a species-specific polymerase chain reaction and remaining of ATCC 43622 strain to *F. johnsoniae*. **Molecular and cellular probes**. 81: 421-427.
- EVANS, J. J. et al. Characterization of b-hemolytic group B Streptococcus agalactiae in culture sea bream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri*, in Kuwait. **Journal of Fish Diseases**, v. 25, p. 505-513, 2002.
- FACKLAM, R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. **Clin. Microbiol. Rev**, v. 15, n 4, p. 613-630, 2002.
- FIGUEIREDO, H. P. C. et al. Streptococcus agalactiae associado a meningoencefalite e infecção sistêmica em tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 678-680, 2006.
- FORTIER AH, GREEN S J, POLSINELLI T, JONES TR, CRAWFORD RM, et al. Life and death of an intracellular pathogen: *Francisella tularensis* and the macrophage. **Immunol Ser** 60: 349-361. 1994.
- HARF-MONTEIL, C. et al. *Aeromonas simiae* sp. nov., isolated from monkey faeces. **Internacional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 481-485, 2004.
- HERMAN, R.L., BULLOCK, G.L. Pathology caused

- by the bacterium *Edwardsiella tarda* in striped bass. **American Fisheries Society**, v.115, p.232-235, 1986.
- HOSHINA, T.; SANO, T.; Morimoto, Y. A Streptococcus pathogenic to fish. **Journal of Tokyo University of Fish**, v. 44, p. 57-58, 1958.
- HSIEH CY, TUNG MC, TU C, CHANG CD, TSAI SS. Enzootics of visceral granulomas associated with Francisella-like organism infection in tilapia (*Oreochromis* spp.). **Aquaculture**. 254: 129-138. 2006.
- ISONHOOD, J. H., DRAKE, M. Aeromonas species in foods. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 3, p. 575-582, 2002.
- JOSEPH, S. W.; CARNAHAN, A. M. Update on the genus Aeromonas. **ASM News**. v. 66, p. 218-233, 2000.
- KUNTTU. Characterizing the bacterial fish pathogen *Flavobacterium columnare*, and some factors affecting its pathogenicity. 2010.
- MARENGONI, N.Z., Producao de tilapia do nilo *Oreochromis niloticus* (linhagem chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. **Revista Archivos de Zootecnia, Marechal Candido Rondon**, 55: 127-138. 2006.
- MAUEL MJ, SOTO E, MORALIS JA, HAWKE J. A piscirickettsiosis-like syndrome in cultured Nile tilapia in Latin America with Francisella spp. as the pathogenic agent. **J Aquat Anim Health**. 19: 27-34. 2007.
- MEYER, F.P.; BULLOCK, G.L. *Edwardsiella tarda*, a new pathogen of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Applied Microbiology**, v.25, n.1, p. 155-156, 1973.
- MIKALSEN J Y COLQUHOUN D J. *Francisella asiatica* sp. nov. isolated from farmed tilapia (*Oreochromis* sp.) and elevation of *Francisella philomiragia* subsp. *Noatunensis* to species rank as *Francisella noatunensis* comb. nov.sp. nov. **IJSEM** 25. 2009.
- MIKALSEN J, OLSEN AB, TENGS T, COLQUOHOUN DJ. *Francisella philomiragia* subsp *noatunensis* subsp nov., isolated from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L). **Int J Syst Evol Microbiol** 57: 1960-1965. 2007.
- MOHAMED M.H.Y; AHMED N. Pathological evaluation of probiotic, *Bacillus subtilis*, against *Flavobacterium columnare* in tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) fish in Sharkia governorate, Egypt. **J Am Sc** 7(2): 244-256. 71. 2011.
- MORAES, F. R.; MORAES, J. R. E. Nutracêuticos na inflamação e cicatrização de peixes de interesse zootécnico. In: TAVARES-DIAS, M. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: **Embrapa**, p. 625-723. 2009.
- MPA. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Produção da aquicultura continental por espécie. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura em 2010**, p. 66-67, 2012.
- MURATORI, M.C.S.; MARTINS, N.E; PEIXOTO, M.T.D.; OLIVEIRA, A.L; RIBEIRO, L.P.; COSTA, A.P.R; SILVA, M.C.C.; LEITE, R.C. Mortalidade por “septicemia dos peixes tropicais” em tilápias criadas em consorciação com suínos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.53,n.6, p.658-662, 2001.
- NOGA, E.J. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. **Ed. ST.Louis**. pp 139 162 Mosby. Missiouri. 1996.
- OSTLAND V.E; STANNARD J.A; CREEK J.J; HEDRICK R.P; FERGUSON H.W; et al. Aquatic Francisella-like bacterium associated with mortality of intensively cultured hybrid striped bass *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. **Dis Aquat Organ** 72: 135-145. 2006.
- OTTEM K.F; NYLUND A; KARLSBAKK E; FRIIS-MOLLER A; KROSSOY B, et al. New species in the genus Francisella (Gammaproteobacteria; Francisellaceae); *Francisella piscicida* sp. nov. isolated from cod (*Gadus morhua*). **Arch Microbiol** 188: 547-550. 2007.
- PALUMBO, S. et al. Aeromonas, Arcobacter, and Plesiomonas. In: DOWNES, Frances Pouch; ITO Keith. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. American Public Health Association. 4 ed. Washington,
- PERERA, R. P.; FISKE, R. A.; JOHNSON, S. K. Histopathology of hybrid Tilapias infected with a biotype of Streptococcus iniae. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 10, p. 294-299, 1998.
- PILARSKI F; ROSSINI A.J; CECCARELLI P.S.; Isolation, characterization of *Flavobacterium columnare* (Bernardet et al. 2002) from four tropical fish species in Brazil. **Braz J Biol** 68:409–414. 2008.

- PIRARAT, N.; KOBAYASHI, T.; KATAGIRI, T.; MAITA, M.; Endo, M. Protective effects and mechanisms of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* against experimental *Edwardsiella tarda* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.113, p.339-347, 2006.
- POPMA, T.J.; PHELPS, R.P.; Status report to commercial tilapia producers on monosex fingerling production techniques. **In: Aquicultura Brasil** p98, 1998, Recife. Anais... Recife: SIMBRAQ, p.127-145. 1998.
- RASHEED. V.; PLUMB. J. A. Pathogenicity of a non-hemolytic group B Streptococcus sp. in gulf killifish (*Fundulus Grand Baird and Girard*). **Aquaculture**, v. 37, p. 97-105, 1984.
- RICHARDS, R.H.; ROBERTS, R.J. The bacteriology of teleosts. In: Roberts, R.J. **Fish pathology**. London : Baillien Tindall, Cap.8, p.183-204. 1978.
- SANTOS, J. A.; GONZÁLEZ, C. J.; GARCÍA-LÓPEZ, M. L.; Hemolytic activity and siderophore production in different *Aeromonas* species isolated from fish. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 12, p. 5612-5614, 1999.
- SEBASTIÃO F.A; Nomura D; Sakabe R; Pilarski F.; Hematology and protective performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) naturally infected with *Flavobacterium columnare*. **Braz J Microb** 42: 282-289. 74. 2011.
- SHOEMAKER, C. A.; EVANS, J. J.; KLESZIUS, P. H. Density and dose: factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 188, p. 229-235, 2000.
- SOTO E; FERNANDEZ D; THUNE R; HAWKE J.; Interaction of *Francisella asiatica* with Tilapia (*Oreochromis niloticus*) innate immunity. **Infection and Immunity**. 78(5): 2070-2078. 2010.
- SURESH, A. V. Tilapia Update 1998. **World Aquaculture**, v. 30, n. 4, p. 8-68. 1998.
- TORANZO, A. E. et al. Efficacy of intraperitoneal and immersion vaccination against *Enterococcus* sp. Infection in turbot. **Aquaculture**, v. 134, p. 17-27, 1995.
- VIDAL, L. V. O. *Edwardsiellose* in Tilápias do Nilo (*Oreochromis Niloticus*). **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.7, n2, p. 164-168, 2006 .
- VOJTECH L.N; SANDERS G.E; CONWAY C; OSTLAND V; HANSEN J.D.; Host immune response and acute disease in a zebrafish model of *Francisella* pathogenesis. **Infect. Immun.** 77: 914-925. 2009.
- WALTERS, G.R.; PLUMB, J.A.; Environmental stress and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. **J Fish Biol.** v.17, p.177-185, 1980.
- WANTANABE, W. O.; LOSORDO, T. M.; FITZSIMMONS, K.; HANLEY, F. Tilapia production systems in the Americas: technological advances, trend, and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, v. 10, n. 3/4, p. 465-498, 2002.
- ZIMMERMANN, S. E HASPER, T.O.B., 2003 *Piscicultura no Brasil: o processo de intensificação da tilapicultura*. In: **reuniao anual da sociedade brasileira de zootecnia**, 40., Santa Maria, 21-24/jul./2003. *Anais...* SBZ.CD ROOM.