

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

FERNANDO JUN-HO PEIXOTO KIM

Desenvolvimento e Padronização de uma PCR multiplex para a detecção de *Aeromonas* spp. e *Streptococcus* spp. em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) nos municípios de Jatobá e Petrolândia em Pernambuco, Brasil.

RECIFE - 2017



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

FERNANDO JUN-HO PEIXOTO KIM

Desenvolvimento e Padronização de uma PCR multiplex para a detecção de *Aeromonas* spp. e *Streptococcus* spp. em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) nos municípios de Jatobá e Petrolândia em Pernambuco, Brasil.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em biociência animal.

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

RECIFE - 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

K49d

Kim, Fernando Jun-Ho Peixoto

Desenvolvimento e padronização de uma PCR multiplex para a detecção de *Aeromonas* spp. e *Streptococcus* spp. em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) nos municípios de Jatobá e Petrolândia em Pernambuco, Brasil / Fernando Jun-Ho Peixoto Kim. – 2017.

55 f.: il.

Orientador: Rinaldo Aparecido Mota.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, BR-PE, 2017.

Inclui referências.

1. Doença em peixe 2. Tilapicultura 3. Aeromoniose
4. Estreptococose I. Mota, Rinaldo Aparecido, orient.

II. Título

CDD 636.089

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**Desenvolvimento e Padronização de uma PCR multiplex para a detecção de
Aeromonas spp. e *Streptococcus* spp. em tilápias do Nilo (*Oreochromis
niloticus*) nos municípios de Jatobá e Petrolândia em Pernambuco, Brasil.**

**Tese de Doutorado elaborada por
FERNANDO JUN-HO PEIXOTO KIM**

**Aprovada em 20/02/2017
BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota - Orientador
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE**

**Prof^a. Dr^a. Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva
Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE**

**Prof^a. Dr^a. Maria José de Sena
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE**

**Dr^a. Sandra Batista dos Santos
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE**

**Dr^a Débora Rochelly Alves Ferreira
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE**

RESUMO

O cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) vem crescendo atualmente no Brasil e em Pernambuco. O sistema de cultivo intensivo associado ao manejo inadequado resulta no aparecimento de doenças oportunistas, principalmente as de origem bacteriana. As bactérias dos gêneros *Aeromonas* ssp. e *Streptococcus* ssp. são responsáveis pela maioria das mortalidades nas fazendas de peixe, causando morte por septicemia, além de se disseminar rapidamente nos plantéis. Objetivou-se neste estudo desenvolver um diagnóstico rápido por Reação em Cadeia de Polimerase - PCR para bactérias do gênero *Aeromonas* e *Streptococcus*, além de analisar a ocorrência dessas bactérias oriundas de tilapiculturas nos municípios de Jatobá e Petrolândia em Pernambuco. Foi padronizada uma PCR multiplex para o gênero *Aeromonas* e para a espécie *Aeromonas hydrophila*, com temperatura ideal de anelamento de 57.6°C e limite de detecção até 10⁻¹⁰ g/μL de DNA extraído diretamente das colônias em cultivo microbiológico, utilizando como alvos os genes 16S rRNA e a citotoxina enterotóxica aerolisina (*aer*). Também foram estudadas a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* e *Streptococcus* oriundas de tilapiculturas localizadas nos municípios de Jatobá e Petrolândia no sertão de Pernambuco. Todos os 70 peixes coletados e todas as 16 amostras de água apresentaram isolados de *Aeromonas* spp. e *Aeromonas hydrophila* com prevalência dos fatores de virulência aerolisina (*aer*) e enterotoxina citotóxica (*act*) de 53,6% e 52,9%, respectivamente. Não foram encontrados isolados de *Streptococcus* ssp. tanto nos peixes como na água das tilapiculturas estudadas. A padronização de técnicas de diagnóstico bem como a ocorrência de aeromoniose em peixes cultivados no sertão de Pernambuco, demonstra a importância de pesquisas nessa área com objetivo de impulsionar a tilapicultura no Estado e otimizar o diagnóstico de doenças bacterianas.

Palavras chave: Doença em Peixes; Tilapicultura; Aeromoniose; Estreptococose

ABSTRACT

Culture of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is currently expanding in Brazil and Pernambuco. Intensive culture systems are associated with inadequate management, which results in the occurrence of opportunistic bacterial diseases. The bacterial genera *Aeromonas* spp. and *Streptococcus* spp. are responsible for mortality in fish farms, due to septicemia and rapid spread of infection among animals. The aim of this study was to develop a quick assay for diagnosis by Polymerase Chain Reaction - PCR for *Aeromonas* spp. and *Streptococcus* spp., to investigate the occurrence of these bacteria from tilapia culture in Jatobá and Petrolândia - PE. It was standardized a mPCR for *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas* genus, with annealing temperature 57.6 °C and 10⁻¹⁰ g/μL detection limit of DNA extracted directly from colonies in microbiological culture, using as targets the 16S rRNA genes and the virulence gene enterotoxigenic cytotoxin aerolysin (*aer*). Were also studied the occurrence of *Aeromonas* spp. and *Streptococcus* spp. collected from tilapia cultures located on Jatobá and Petrolândia - PE. All 70 collected fish and 16 water samples showed *Aeromonas* spp. and *Aeromonas hydrophila* isolates, with prevalence of virulence factors (*aer*) and cytotoxic enterotoxin (*act*) of 53.6% and 52.9%, respectively. None *Streptococcus* spp. isolates were identified. The diagnostic techniques standardization and the occurrence of Aeromoniasis in fish farmed in Pernambuco demonstrates the importance of research in this area with the objective of boosting tilapia culture in the state and optimize the bacterial diseases diagnosis.

Index terms: Fish disease; Tilapia culture; Aeromoniasis; Streptococcosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 REVISÃO DE LITERATURA	
3.1 Aquicultura	13
3.2 Tilapicultura	14
3.3 Doenças	17
3.4 Aeromoniose	18
3.5 Diagnóstico clínico e laboratorial da aeromoniose	19
3.6 Estreptococose	23
3.7 Diagnóstico clínico e laboratorial da estreptococose	24
3.8 Controle e Prevenção	25
4 REFERÊNCIAS	30
5 ARTIGOS	
5.1 Padronização de uma PCR multiplex para detecção de <i>Aeromonas</i> spp. e <i>Aeromonas hydrophila</i> em tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>)	40
5.2 Ocorrência de Aeromoniose em cultivos de tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>) em tanques-rede nos municípios de Jatobá e Petrolândia, Pernambuco – Brasil	47
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
7 ANEXOS	
6.1 (Anexo I) Instruções da Pesquisa Veterinária Brasileira (Artigo 1)	55

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1. Órgãos internos de duas tilápias do Nilo de mesmo tamanho. (A) – peixe sadio: observe a vesícula biliar de tamanho normal e coloração verde claro, indicando peixe que está se alimentando. 22

Figura 2. Tilápia à direita com ascite: infecção por *Aeromonas hydrophila*. 22

Artigo 1. Padronização de uma PCR multiplex para detecção de *Aeromonas* spp. e *Aeromonas hydrophila* em tilápias (*Oreochromis niloticus*).

Figura 1 - Gel de agarose dos produtos amplificados para multiplex PCR. 43

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1. Produção da Aquicultura no Brasil no ano 2015.	14
Tabela 2. Produção de Tilápia no Brasil no ano 2015.	15
Tabela 3. Produção Pernambucana da tilapicultura em 2015.	16
Tabela 4. Ocorrência de <i>Aeromonas</i> spp. no Brasil e os respectivos métodos de diagnóstico.	18
Tabela 5. Genes e seus respectivos <i>primers</i> utilizados no diagnóstico molecular de <i>Aeromonas</i> spp.	21
Tabela 6. Ocorrência de <i>Streptococcus</i> spp. em tilápia no Brasil e seus respectivos métodos de diagnóstico.	24
Tabela 7. Genes e seus respectivos <i>primers</i> utilizados em <i>Streptococcus</i> spp.	25

Artigo 1. Padronização de uma PCR multiplex para detecção de *Aeromonas* spp. e *Aeromonas hydrophila* em tilápias (*Oreochromis niloticus*).

Quadro 1. Características dos <i>primers</i> utilizados na mPCR.	42
Quadro 2. Resultado dos isolados no teste mPCR padronizada para os genes 16S rRNA e <i>Aer</i> .	42

Artigo 2. Ocorrência de Aeromoniose em cultivos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em tanques-rede nos municípios de Jatobá e Petrolândia, Pernambuco – Brasil.

Quadro 1. <i>Primers</i> utilizados nas reações de PCR para as cepas de <i>Aeromonas</i> ssp.	49
Quadro 2. Identificação molecular dos isolados de <i>Aeromonas</i> provenientes de peixes nos municípios de Jatobá e Petrolândia.	50
Quadro 3. Caracterização molecular dos isolados de <i>Aeromonas</i> provenientes das amostras de água dos municípios de Jatobá e Petrolândia.	50

ANEXOS

Instruções para os autores (Normas das revistas)

Anexo I (Artigo 2). Ocorrência de Aeromoniose em cultivos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanques-rede nos municípios de Jatobá e Petrolândia, Pernambuco – Brasil: Formatado para o periódico *Pesquisa Veterinária Brasileira*.

1 INTRODUÇÃO

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) é o peixe mais produzido no Brasil, responsável por 38% de toda produção aquícola no país, gerando um total de 1,1 bilhões de reais no ano de 2015 de acordo com dados da Produção da Pecuária Municipal (IBGE, 2016). Pernambuco é o terceiro maior produtor de tilápias na região Nordeste e os municípios de Petrolândia e Jatobá são responsáveis por 77% de toda produção de tilápia do estado (IBGE, 2016). De acordo com Pedreira et al. (2016), o cultivo de tilápias em tanque-rede é o sistema intensivo com mais vantagens quando comparado aos viveiros convencionais, já que propicia o controle sobre o crescimento dos peixes além de maximizar o espaço com grandes densidades de estocagem. Carvalho et al. (2010) em estudos sobre o desempenho produtivo da tilápia do Nilo em tanques-rede numa represa pública, demonstraram que a tilápia pode alcançar em média um quilo em 8 meses de cultivo em sistema intensivo em tanques-rede com densidade de estocagem na fase final entre 140 a 153 peixes por m³.

De acordo com Kubitzka (2013), o custo de produção em tanques-rede está diretamente ligado à conversão alimentar mais elevada, devido à restrição ao consumo de plâncton devido ao confinamento, e à mortalidade crônica por doenças bacterianas, em especial aquelas causadas por *Aeromonas hydrophila* e *Streptococcus agalactiae*. Essas espécies bem como outras também pertencentes ao gênero *Aeromonas* e *Streptococcus* são responsáveis por grandes mortalidades no cultivo de tilápia (KUBITZA, 2005; FIGUEIREDO et al., 2006; HU et al., 2012; HATHA et al., 2012; ZHANG et al., 2013; YE et al., 2013; PRIDEGEON & KLESIUS, 2013; DONG et al., 2015).

O diagnóstico da aeromoniose e da estreptococose muitas vezes é limitado já que essas doenças não possuem sinais clínicos patognomônicos (Kubitzka, 2005; Lemos et al., 2006; Figueiredo et al., 2006; Lacerda et al., 2015). De acordo com Gonzalez et al. (2004), os métodos convencionais de diagnóstico requerem muito tempo para serem realizados, mas o uso de técnicas moleculares como a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) vem proporcionando uma maior rapidez no diagnóstico. Em Pernambuco não se sabe o impacto destas doenças nas fazendas de tilápia nem quais bactérias estão presentes nos cultivos. Desta forma são importantes pesquisas para diagnosticar a ocorrência da aeromoniose e estreptococose no estado de Pernambuco.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e Padronizar através da PCR a detecção de bactérias do gênero *Aeromonas* e *Streptococcus*, descrevendo sua ocorrência em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) oriundas de tilapiculturas em Pernambuco, Brasil.

2.2 Objetivos Específicos

1. Desenvolver e padronizar uma PCR Multiplex para a detecção de bactérias do gênero *Aeromonas* e *Aeromonas hydrophila*;
2. Descrever a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* e *Streptococcus* em tilápias e água de criadouros em Jatobá e Petrolândia - PE;
3. Identificar os genes de virulência por meio de PCR dos isolados oriundos das tilapiculturas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aquicultura

De acordo com o relatório técnico 601 da *Aquaculture Big Numbers* da FAO (2016), com a produção de pescados oriundos de captura relativamente estática, a aquicultura tem sido responsável pelo impressionante crescimento da oferta de peixes para consumo humano, observando-se um aumento da oferta de 26% em 1994 para 39% em 2004. Esse mesmo relatório destaca a China como maior representante do setor em produção mundial aquícola, e o crescimento de países em desenvolvimento que representam cerca de 80% da produção mundial da aquicultura.

Brabo et al. (2016) cita que a aquicultura na América Latina se caracteriza por uma mistura de empresas de médio e grande porte, mas também de pequenos produtores em alguns países, muitas vezes não captadas pelas estatísticas oficiais. Brasil, Paraguai, Equador e Chile são considerados como tendo o maior número de pequenos produtores, engajados no cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), pacú (*Piaractus mesopotamicus*) e a cultura de macrófitas marinhas, principalmente *Gracilaria chilensis* e mexilhões no Chile (FAO, 2016).

Com a consolidação dos dados oriundos da Produção Pecuária Municipal – PPM em 2015 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016) evidencia-se uma produção total da aquicultura brasileira de 574 mil toneladas, gerando mais de 4 bilhões de reais em 2015 (Tabela 1). O lucro do setor é explicado por Rebouças et al. (2014), já que o cultivo de peixes vem assumindo importância cada vez maior no panorama do abastecimento alimentar, uma vez que a alta taxa de crescimento demográfico condiciona um aumento populacional que poderá colocar em risco a oferta de alimentos, sendo assim, a produção aquícola pode auxiliar nessa demanda por alimentos em quantidade e qualidade.

A partir dos dados do IBGE (2016) a tilápia do Nilo é o principal peixe cultivado no Brasil, com produção total de 219 mil toneladas, participando com 27% de todo valor gerado pela aquicultura, gerando mais de 1 bilhão de reais para o setor. (Tabela 1).

Tabela 1. Produção da Aquicultura no Brasil no ano 2015 por espécies (IBGE, 2016)

Tipo de produto da aquicultura	Variável		
	Produção da aquicultura (Quilogramas)	Valor (Mil Reais)	Percentual do Valor
1- Tilápia	219.329.206	1.177.643	26,86
2 - Camarão	69.859.745	901.895	20,57
3 - Tambaqui	135.857.980	871.393	19,87
4- Tambacu, Tambatinga	37.443.358	263.391	6,01
5 - Pintado, Cachara, Cachapira, Pintachara e Surubim	18.354.578	196.905	4,49
6 – Alevinos*	955.614	181.990	4,15
7 - Larvas e pós-larvas de camarão*	17.044.028	145.690	3,32
8 - Carpa	20.693.189	131.971	3,01
9 - Pacu e patinga	13.276.299	100.848	2,3
10 - Curimatã, curimbatá	2.554.052	19.860	0,45
11 - Dourado	31.860	420	0,01
12 - Jatuarana, piabanha e piracanjuba	5.320.567	38.949	0,89
13 - Lambari	244.730	1.639	0,04
14 - Matrinxã	9.366.203	73.336	1,67
15 - Ostras, vieiras e mexilhões	21.063.695	86.766	1,98
16 - Pirarucu	8.386.708	85.768	1,96
17 - Pirapitinga	3.480.185	25.283	0,58
18 - Piau, piapara, piauçu, piava	3.173.105	24.546	0,56
19 - Truta	1.590.010	23.235	0,53
20 - Traíra e trairão	1.129.168	8.365	0,19
21 - Tucunaré	67.965	529	0,01
22 - Outros peixes	2.942.110	20.612	0,47
23 - Sementes de moluscos*	66.504	1.822	0,04
24 - Outros produtos (rã, jacaré, siri, caranguejo, lagosta, etc)**.	-	2.256	0,05
Total	574.164.713	4.385.111	100

* Não participa do total em quilogramas por se tratar de contagem em milheiros.

** Não possui dados de produção em quilogramas.

3.2 Tilapicultura

Chamamos de tilápia um grande conjunto de espécies que compreende três gêneros: *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilapia* que pertencem a família Cichlidae, sendo encontradas naturalmente em rios costeiros de Israel, na bacia do Nilo, nas bacias do Senegal, Gambia, Volta, Níger, Chade e Benue; também é encontrada em

outros países devido a introdução humana (Fishbase 2015). No Brasil, a maioria das tilápias cultivadas é da espécie *Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758 (MPA, 2011; IBGE, 2016). A espécie *O. niloticus* em comparação com outras espécies dos gêneros *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilapia*, apresenta um rápido crescimento, podendo alcançar em média um quilograma em 8 meses de cultivo em sistemas intensivos como em tanques-rede (Carvalho et al., 2010).

De acordo com Fitzsimmons (2016), o cultivo de tilápia continuou seu rápido aumento na produção global em 2015 com produção estimada em 5.576.800 toneladas, sendo a China o maior produtor mundial isolado (1,8 milhões de toneladas em 2015), mas foi observada uma grande expansão com mais fazendas e maior produtividade em Bangladesh, México, Egito e Brasil.

De acordo com Figueiredo Junior & Valente Junior (2008), a introdução em caráter experimental da tilápia no Brasil foi realizada em 1953 com a importação de poucos exemplares de *Tilapia rendalli* do Congo; a seguir, em 1971 por meio do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), introduziu-se exemplares de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em reservatórios públicos com o objetivo de desenvolver a produção piscícola brasileira.

Segundo Vicente et al. (2014) durante muitos anos a tilápia foi disseminada por entidades governamentais por meio de programas de incentivo e cursos de cultivo, mas em 1996 houve uma grande melhoria na produção e aumento no número de criadores devido a importação de uma linhagem melhorada da *O. niloticus* da linhagem Chitralada da Tailândia, seguida em 2002 pela introdução da linhagem GenoMar Supreme Tilapia e a FishGen.

Ainda de acordo com os dados da PPM (2015), a produção de tilápia de acordo com as regiões no Brasil, destaca a região nordeste como o terceiro maior produtor desta espécie com 52 mil toneladas, gerando 324 milhões de reais (Tabela 2).

Tabela 2. Produção de tilápia do Nilo no Brasil no ano de 2015 por regiões (IBGE, 2016)

	Variável		
	Produção de tilápias (Quilogramas)	Valor (Mil Reais)	Percentual do Valor
Brasil	219.329.206	1.177.643	100
Sul	90.967.713	439.826	37,35
Sudeste	57.083.226	319.659	27,14
Nordeste	52.964.653	324.928	27,59
Ceará*	27.889.101	171.298	14,55
Bahia*	8.823.321	47.151	4
Pernambuco*	6.510.557	38.537	3,27
Centro-Oeste	17.785.914	88.929	7,55
Norte	527.700	4.302	0,37

*Destaque para os três maiores produtores de tilápia na região nordeste do Brasil.

Pernambuco situa-se em terceiro lugar entre os estados nordestinos em produção aquícola, com 52 mil toneladas, destacando os municípios pernambucanos banhados pelo rio São Francisco como grandes responsáveis pelo cultivo no estado (Tabela 2). Em Pernambuco, os municípios de Jatobá, Petrolândia e Itacuruba são os maiores produtores de tilápia, gerando juntos mais de 23 milhões de reais nesse setor (Tabela 3).

Tabela 3. Produção Pernambucana da tilapicultura em 2015 (IBGE, 2016).

Unidade da Federação, Mesorregião Geográfica e Município	Variável		
	Produção da aquicultura (Quilogramas)	Valor (Mil Reais)	Percentual do Valor
1 - Jatobá – PE	4.000.000	22.800	59,16
2 - Petrolândia – PE	1.000.000	5.700	14,79
3 - Itacuruba – PE	950.000	5.700	14,79
4 - São Benedito do Sul - PE	105.000	735	1,9
5 - Catende – PE	70.000	490	1,27
6 - Bom Conselho – PE	62.000	465	1,2
7 - Petrolina – PE	36.200	380	0,98
8 - Primavera – PE	36.089	180	0,47
Demais municípios juntos	251.268	2087	5,41
Total em Pernambuco	6.510.557	38.537	100
Total no Sertão Pernambucano	21.700	214	0,56
Total no São Francisco	6.032.700	35.049	90,9
Total no Agreste Pernambucano	143.660	1.001	2,6
Total na Mata Pernambucana	312.497	2.273	5,94

O sistema de criação de peixes em tanques-rede é classificado como um sistema intensivo de renovação contínua de água e consistem em estruturas de tela ou rede, fechadas de todos os lados, que confinam os peixes em um menor espaço, dentro de um curso d'água (Bozano et al. 1999). Segundo Degefu et al. (2011), os tanques-rede possuem um potencial elevado e apresentam uma série de vantagens em relação ao cultivo convencional e entre elas podem citar: as populações de ambos os sexos de tilápia podem ser criadas sem o problema de reprodução indesejada; o manejo simplificado, facilidade, baixo custo de despesa e acompanhamento direto do crescimento dos peixes. As desvantagens desse sistema relacionam-se às elevadas taxas de estocagem, deficiências nutricionais devido a alimentação unicamente por ração e falta de controle dos parâmetros físico-químicos da água.

Kubitza (2016) relata que quando comparado à criação em tanques escavados, os cultivos de tilápia em tanques-rede demandam menor investimento na implantação e maior facilidade no manejo dos estoques, no entanto, o custo de produção é maior em tanques-rede, em especial pela conversão alimentar mais elevada e pela mortalidade crônica por doenças bacterianas.

3.3 Doenças na tilapicultura

Apesar da característica rústica da tilápia e as tecnologias aplicadas no seu cultivo, a rápida expansão e intensificação da tilapicultura vêm causando uma série de problemas, incluindo a ocorrência de várias doenças que podem restringir o desenvolvimento desse setor (Wang Gehua et al., 2013). No Brasil, principalmente nas regiões Sul e Sudeste, têm sido relatados surtos de infecção bacterianas em tilápia causadas principalmente por *Streptococcus* sp. e *Aeromonas* sp. (Suhel et al. 2011; Marcusso et al. 2015; Leira et al., 2016).

Essas bactérias são os principais agentes causadores de doenças na Tilapicultura, destacando-se por altas taxas de mortalidade nas fazendas (Kubitza 2005). No país, ainda não há informações precisas sobre a dimensão das perdas causadas pelos agentes bacterianos citados, mas Kubitza (2013) estimou o impacto das enfermidades sobre o custo de produção da tilápia em tanques-rede nas regiões Sudeste e Nordeste, demonstrando um custo adicional entre R\$ 0,49 a 1,36/kg por cada peixe produzido vivo, dependendo da severidade e recorrência das enfermidades. Com base na estimativa de Kubitza (2013) e nos dados da Tabela 2 e

3 sobre a produção de tilápia no Brasil e em Pernambuco, pode-se inferir um custo adicional entre R\$ 107 a 298 milhões no Brasil e R\$ 3 a 8,8 milhões no estado de Pernambuco.

3.4 Aeromoniose

Segundo Janda e Abbott (2010), as *Aeromonas* estão entre as bactérias mais comuns em *habitats* de água doce em todo o mundo, sendo frequentemente associada à gastroenterite bacteriana em humanos ou doenças graves em outros animais como os peixes. Atualmente há ocorrência de infecções por *Aeromonas* em todos os países que possuem cultivo de tilápias (HU et al. 2012; Chenia & Vietze 2012; Ye et al. 2013; Wang Gehua et al. 2013; Pridgeon & Klesius 2013).

O primeiro relato de isolamento de *Aeromonas* sp. em peixes no Brasil foi feito por Canabarro et al. (1992), e na última década foram relatados casos de mortalidade por *Aeromonas* em várias regiões onde a tilápia é cultivada no país (Tabela 4). Ainda, de acordo com Hirsch et al. (2006), é grande a diversidade de espécies de *Aeromonas* em ambientes de piscicultura e diversos destes isolados como *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, apresentam-se resistentes aos antibióticos, mesmo sem o uso de tais substâncias no controle dessas doenças no local.

Tabela 4. Ocorrência de *Aeromonas* spp. no Brasil e os respectivos métodos de diagnóstico

REGIÃO	ESTADOS	MÉTODO DIAGNÓSTICO	REFERÊNCIAS
Sul	Paraná	Convencional ¹	Souza e Silva-Souza (2001)
	Paraná	PCR	Carriera et al. (2016)
Nordeste	Bahia	Convencional	Lemos et al. (2006)
Suldeste	Espirito Santo	Convencional	Suhet et al. (2011)
	São Paulo	Convencional	Romera et al. (2013)
	São Paulo	Convencional	Belém-Costa e Cyrino, (2006)
	São Paulo	PCR	Carriera et al. (2016)
	Minas Gerais	PCR	Carvalho-Castro et al. (2010)
	Minas Gerais	Convencional	Hirsch et al. (2006)
	Rio de Janeiro	Convencional	Rodrigues et al. (2010)
	Rio de Janeiro	PCR	Carriera et al. (2016)
	Mato Grosso do Sul	PCR	Carriera et al. (2016)

1- Método de diagnóstico por isolamento microbiológico e caracterização bioquímica.

3.5 Diagnóstico clínico e laboratorial da aeromoniose

De acordo com Janda e Abbott (2010); Holt et al. (1994) e Carnarhan et al. (1991), as espécies do gênero *Aeromonas* são bacilos Gram-negativos, oxidase e catalase positivos, anaeróbios facultativos, utilizam a D-glicose como única fonte de carbono e energia e sais amoniacaais como fonte de nitrogênio. Na sua maioria são móveis por meio de flagelo polar monotríquio, normalmente encapsuladas, não produzem esporos, e crescem em meios de rotina como Ágar *Brain Heart Infusion* (BHI), Ágar *MacConkey*, Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), Ágar *Hektoen Enteric* (HE), Ágar *Salmonella-Shigella* (SS) e Ágar *Deoxycholate Citrate* (DC). Fermentam a glicose com produção de ácido com ou sem gás, reduzem nitrato a nitrito por meio da desnitrificação e são resistentes ao agente vibriostático O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropilpteridina).

De acordo com e Abbott et al. (2003), desde a criação do gênero *Aeromonas* em 1943 até meados da década de 1970, as *Aeromonas* eram divididas grosseiramente em dois grandes agrupos, sendo o primeiro grupo mesófilo, tipificado por *A. hydrophila*, constituído de isolados móveis que crescem bem entre 35°C a 37°C e associados a uma variedade de infecções humanas; o segundo grupo foi referido como estirpes psicófilas, causadoras de doenças em peixes, imóveis e que apresentam crescimento em temperaturas entre 22°C a 25 °C. Atualmente com base em estudos filogenéticos do DNA, em especial dos genes 16S rRNA *gyrB* e *rpoD* foi ampliado o número de espécies e relações de parentesco (Amador, 2007; Janda & Abbott, 2010)

Janda & Abbott (2010) e Holt et al. (1994) estabeleceram um protocolo de cultivo onde primeiramente as amostras suspeitas de *Aeromonas* spp. são inoculadas em meio líquido BHI ou em água peptonada, incubadas entre 28°C a 37°C por 24h. Logo após são semeadas meio sólido como o Ágar Sangue com ampicilina para verificar a resistência a este antimicrobiano e a hemólise do tipo β neste meio, características que auxiliam na identificação do gênero.

Carnarhan et al. (1991) desenvolveram um sistema de classificação de bactérias do gênero *Aeromonas*, Aerokey II, baseado na caracterização bioquímica e resistência ao vibriostático O/129. O Aerokey II apresentou-se como um sistema confiável e preciso para a identificação das diversas espécies de *Aeromonas*, sejam elas provenientes de isolados de espécimes clínicos ou até de cepas de referência

(*American Type Culture Collection*) sendo utilizado até hoje como principal sistema para caracterização das principais espécies do gênero *Aeromonas*, como *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *A. caviae*, *A. media*, *A. eucrenophila*, *A. sóbria* e *A. trola* (Tokajian & Hashwa, 2004; Hatha & Nifty, 2012; Chao et al., 2013) Juntamente com essa chave, é possível também identificar *Aeromonas* atípicas, imóveis e psicrófilas através da caracterização bioquímica de acordo com os critérios de Holt et al. (1994) e Janda & Abbott (2010).

Os métodos convencionais para identificar estes organismos são muitas vezes limitados pela quantidade de tempo necessário, mas nos últimos anos, técnicas moleculares como a PCR superaram os problemas associados às técnicas baseadas em cultura, permitindo a detecção de microrganismos em amostras clínicas sem a necessidade de cultura prévia (Gonzalez et al., 2004). A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma ferramenta promissora que pode ser utilizada no diagnóstico de diversas doenças. A PCR tem como base um ou mais pares de iniciadores (*primers*) que especificamente amplificam fragmentos alvo do ADN de interesse num único ensaio. Isto oferece a detecção de diferentes agentes patogênicos em um curto espaço de tempo quando comparado às técnicas tradicionais (Tsai et al., 2012).

Vários são os protocolos descritos para diagnóstico empregando a PCR em infecções por *Aeromonas* (Gonzalez et al., 2004; Carvalho-Castro et al., 2010; Oliveira et al., 2012; Tsai et al., 2012). Como exemplo podem citar as metodologias decrita por Trakhna et al. (2009) e Ye et al. (2013), que consideram não só a amplificação de genes de virulência, mas também o sequenciamento da região 16S rDNA, a qual é utilizada tanto na identificação de várias espécies do gênero como também na análise de similaridade entre linhagens de *Aeromonas* (Tabela 5).

Tabela 5. Genes e seus respectivos *primers* utilizados no diagnóstico molecular de *Aeromonas* spp.

Gene	Primers (5' – 3')	Tamanhos (Pb)	Referência
16S rRNA ¹	F-GGCCTTGCGCGATTGTATAT R-GTGGCGGATCATCTTCTCAGA	103	Trakhna et al. (2009)
	F-AGGAGGTGATCCAACCGCA R-AGAGTTTGATCATGGCTCAG	—	Ye et al. (2013)
16S rRNA ¹	F-AGAGTTTGATYMTGGCTCAG R-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT	900	Carriera et al. (2016)
<i>A. hydrophila</i> (<i>Aer</i>)	F-CAAGGCTGATATCTCCTATCCCTATG R-GCCACTCAGGGTCAGGTCAT	67	Trakhna et al. (2009)
<i>A. hydrophila</i> (<i>alt</i>)	F-TGACCCAGTCCTGGCACGGC R-GGTGATCGATCACCACCAGC	405	Ye et al. (2013)
<i>A. caviae</i> (<i>cav1</i>)	F-GAGCCAGTCCTGGGCTCAG R-GCATTCTTCATGGTGTCCGC	381	Wang et al. (1996)
<i>A. sóbria</i> (<i>asa1</i>)	F-TAAAGGGAAATAATGACGGCG R-GGCTGTAGGTATCGGTTTTCG	249	Wang Gehua et al. (2003)

1-Utilizados para sequenciamento e determinação de similaridade na identificação de *Aeromonas* spp.

Os sinais clínicos da infecção por *Aeromonas* podem variar de lesões superficiais ou profundas da pele até quadros típicos de septicemia. As lesões de pele podem se apresentar como áreas de hemorragia e necrose de extensão variada, que podem progredir para úlceras que acometem geralmente o tecido muscular (Kubtiza, 2005; Lemos et al., 2006; Lacerda et al., 2015). Nos quadros sistêmicos observa-se anorexia, exoftalmia, abdômen distendido contendo líquido opaco ou serosanguinolento (hidropisia ou ascite), presença de petéquias nas vísceras, hepatomegalia, esplenomegalia, rins hiperplásicos e friáveis, pontos hemorrágicos na parede interna da cavidade abdominal e falta de equilíbrio devido a infecção da janelas oval na bexiga natatória (Pavanelli et al., 2002; Kubtiza, 2005; Lemos et al., 2006).

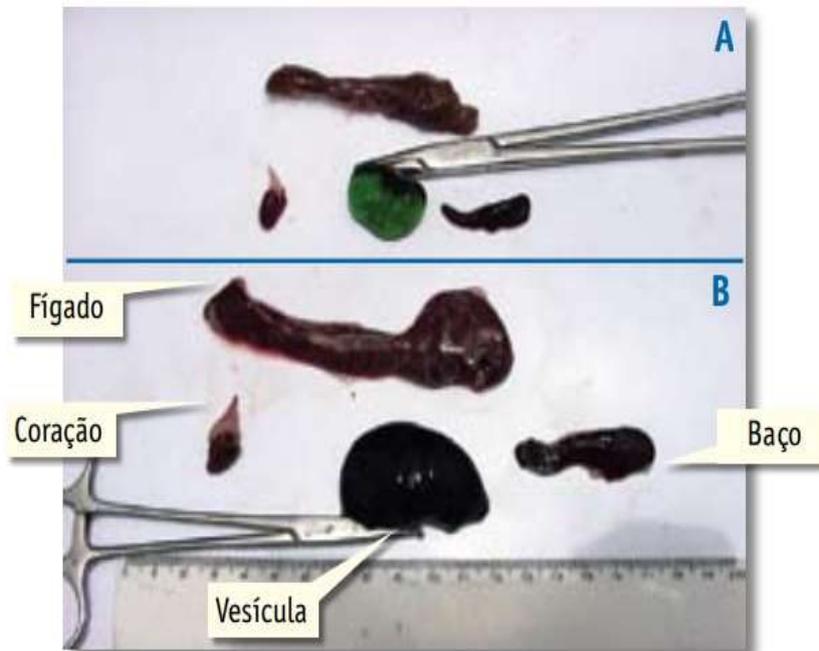


Figura 1. Órgãos de duas tilápias de mesmo tamanho (A) – peixe sadio: observar a vesícula biliar de tamanho normal e coloração verde claro, indicando que o peixe que está se alimentando. No peixe doente (B), a vesícula está escura e repleta de fluido biliar, típico de peixe que deixou de se alimentar a dias. Observar que o peixe doente tinha o baço aumentado e de coloração muito escura, quase negra. Também é perceptível o aumento no tamanho do fígado e do coração no peixe doente. Fonte: Kubitza, (2005).



Figura 2. Tilápia à direita com ascite: infecção por *Aeromonas hydrophila*. Fonte: Kubitza (2005).

Segundo Kubitzka (2005), o fígado de peixes doentes geralmente se apresenta pálido e hemorrágico e o intestino também pode apresentar aspecto inflamado de cor avermelhada e geralmente vazio pelo fato do peixe doente não se alimentar. Apesar dessa descrição detalhada, outras infecções bacterianas também podem apresentar os mesmos sinais clínicos, por isso sempre é necessário o diagnóstico laboratorial, seja por meio do isolamento e caracterização bioquímica ou por meio de técnicas moleculares.

3.6 Estreptococose

O gênero *Streptococcus* é formado por bactérias esféricas ou em forma ovóide, ocorrendo em pares ou em cadeias quando cultivadas em meios líquidos; são imóveis, não formam esporos, Gram-positivas, anaeróbias facultativas, exigindo meios nutricionalmente ricos de crescimento e geralmente rompem as células vermelhas do sangue e produzem coloração esverdeada (α -hemólise) ou clara (β -hemólise) em ágar sangue (Holt et al., 1994; Wang et al., 2013).

Além disso, possuem metabolismo fermentativo, produzindo principalmente o ácido láctico, mas sem produção de gás e são catalase negativa (Holt et al., 1994). Dentre as diferentes espécies, *Streptococcus iniae* e *Streptococcus agalactiae* são as que mais afetam a produção de tilápias no mundo (Evans et al., 2006, Zhang et al., 2012). Outros estreptococos patógenos de peixes citados na literatura são: *Streptococcus faecium* (Minami, 1979); *Streptococcus equi*, *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus zooepidemicus* (Ugajin 1981) e *Streptococcus difficile* (Eldar et al., 1994).

O primeiro relato de isolamento de *Streptococcus* em peixes no Brasil foi feito por Canabarro et al. (1992) e as primeiras mortalidades causadas por este gênero bacteriano na piscicultura foram relatadas por Salvador et al. (2003) e Figueiredo et al. (2006), caracterizando principalmente *S. agalactiae* como principal espécie envolvida (Tabela 6). No Brasil, existem relatos isolados da ocorrência de *S. iniae* que acomete diversas espécies de peixes e atualmente tem sido descrito com potencial zoonótico. O primeiro isolamento de *S. iniae* ocorreu na década de 70, a partir de amostras de pele de um golfinho (Pier & Madin 1976). Atualmente, esta bactéria é um dos patógenos de maior relevância para a produção de peixes, principalmente na Ásia (Agnew & Barnes 2007).

Tabela 6. Ocorrência de *Streptococcus* spp. em tilápia no Brasil e seus respectivos métodos de diagnóstico

Região	Estados	Método de Diagnóstico	Referências
Sul	Paraná	Convencional ¹	Salvador et al. (2003)
	Paraná	Convencional	Salvador et al. (2005)
Nordeste	Bahia	Convencional	Almeida et al. (2013)
	Bahia	Convencional	Lemos et al. (2006)
Sudeste	Espirito Santo	Convencional	Suhet et al. (2011)
	São Paulo	Convencional	Romera et al. (2013)
	Minas Gerais	Convencional	Figueiredo et al. (2006)

1- Método de diagnóstico por isolamento microbiológico e caracterização bioquímica.

3.7 Diagnóstico clínico e laboratorial da estreptococose

Para o isolamento de *Streptococcus* é necessário a colheita de amostras de cérebro, fígado, rim, olho e baço de peixes enfermos que devem ser semeadas em ágar BHI suplementado com 1% de extrato de levedura e 5% de sangue ovino desfibrinado e incubadas a 37°C or até 48h (Wang et al., 2013). A caracterização bioquímica pode ser feita a partir da prova da catalase, crescimento em azul de metileno, NaCl a 6,5%, bile a 40% e esculina de acordo com os critérios de Holt et al. (1994). Uma característica importante na identificação de *Streptococcus* é que por se tratarem de bactérias Gram-positivas, o diagnóstico diferencial pode ser facilitado já que a maioria das bacterioses em peixes são causadas por bactérias Gram-negativas (Yanong e Floyd, 2002).

Como as espécies *Streptococcus iniae* e *Streptococcus agalactiae* são as principais espécies responsáveis pela estreptococose, o diagnóstico por PCR pode ser exemplificado a partir das metodologias de Mata et al. (2004) e Li et al. (2010), com seus respectivos *primers* (Tabela 7). Além do diagnóstico por meio da PCR, também é possível a caracterização molecular da virulência através de comparações das sequências genômicas entre as linhagens. O sequenciamento completo de *S. agalactiae* virulento isolado de um surto de mortalidade de tilápias feito por Pridgeon e Zhang (2014), serve como base para possível comparação e caracterização com outras linhagens encontradas em surtos da doença no Brasil.

Tabela 7. Genes e seus respectivos *primers* utilizados em *Streptococcus* spp.

Gene	Primers – Iniciadores (5' – 3')	Tamanhos (pb)	Referência
<i>S. agalactiae</i> (<i>cfb</i>)	F-AAGCGTGTATTCCAGATTTTCCT R-CAGTAATCAAGCCCAGCAA	474	Li et al. (2010)
<i>S. iniae</i> (<i>lct0</i>)	F-AAGGGGAAATCGCAAGTGCC R-ATATCTGATTGGGCCGTCTAA	870	Mata et al. (2004)
<i>S. difficilis</i> 16S-23S rDNA ¹	F-AGGAAACCTGCCATTTGCG R-CAATCTATTTCTAGATCGTGG	192	Mata et al. (2004)

1- Pode ser utilizado para sequenciamento e determinação de similaridade em *Streptococcus* spp.

A estreptococose é uma doença caracterizada por quadros de septicêmica e meningoencefalite. Acomete peixes de água doce, de ambiente estuarino e marinho. As características relevantes observadas em animais com estreptococose são o escurecimento dos peixes, exoftalmia bilateral ou unilateral, pequenas lesões de pele com perda de escamas e áreas de petéquias na base das nadadeiras ventrais, natação errática e em movimentos circulares, alta mortalidade e evolução rápida, com morte entre dois a três dias após os primeiros sinais clínicos (Figueiredo et al., 2006).

De acordo com Agnew & Barnes (2007), após alta mortalidade inicial, a doença atinge um quadro endêmico no plantel já que as cepas bacterianas podem persistir no ambiente por sucessivos ciclos de produção. O sinal clínico mais marcante dessa doença é a natação em círculos que pode ser evidenciada rapidamente pelo criador, seja em cultivos em tanques-rede ou criações livres em pequenos açudes ou lagos. Essa característica ocorre devido à infecção das meninges, comprometendo o sistema nervoso do peixe e ocasionando a natação unilateral (Figueiredo et al., 2006).

3.8 Controle e Prevenção

De acordo com Figueiredo et al. (2008), o tratamento das bacterioses na piscicultura pode ser realizado por administração de antibióticos aos peixes, via injeção intraperitoneal, banho de imersão ou misturados à ração. A injeção intraperitoneal é o melhor método de garantir que a dose de antibiótico seja assimilada, mas esta via geralmente é utilizada para tratamento de peixes reprodutores devido ao trabalho de utilizá-la em todo o plantel. O banho de imersão necessita de doses maiores de antibiótico para alcançar o efeito desejado, já que é assimilado pela mucosa branquial, sendo realizado geralmente em alevinos. A via de

administração mais utilizada é a incorporação dos antibióticos à ração, podendo ser incorporada na fábrica de ração ou na propriedade (Figueiredo et al., 2008).

Atualmente existem poucas opções autorizadas oficialmente e disponíveis para uma intervenção terapêutica em situações de surtos em pisciculturas. Em busca realizada no Compêndio de Produtos Veterinários (SINDAN), pode-se verificar o registro de três moléculas de antibióticos autorizadas pelo MAPA (Florfenicol, Oxitetraciclina e Neomicina (embora este último seja destinado a peixes ornamentais), além de outros produtos à base de vitaminas, minerais e agentes biocidas para desinfecção (Pádua et al., 2012). No entanto, na prática são utilizados muitos outros antimicrobianos de forma indiscriminada e sem conhecimento dos potenciais riscos à saúde humana, dos peixes e de toda a biota aquática (Pádua et al., 2012).

De acordo com Tavares et al. (2014), a maioria das rações comerciais para peixes são extrusadas e como o processo de extrusão requer uma alta temperatura e pressão, o antibiótico pode sofrer degradação parcial ou total se incorporado durante o processo de fabricação. A incorporação do antibiótico à ração pode ser feita manualmente, misturando-se o antibiótico solubilizado à ração, e após homogeneização, adiciona-se óleo de soja com o intuito de diminuir a diluição do antibiótico na água durante o arraçoamento. A dose final do antibiótico deverá ser calculada em mg/kg de peso vivo (pv) e administrada por 10 dias, considerando a taxa de arraçoamento de cada tanque.

O profissional responsável pelo tratamento com antibióticos em peixes deve ser o Médico Veterinário, e de acordo com as orientações do Conselho Regional de Medicina Veterinária de Minas Gerais, o profissional não deve fazer uso de antibióticos, hormônios, drogas, biocidas ou qualquer produto sem licenciamento no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para utilização em animais aquáticos (CRMVMG, 2014).

Gaunt et al. (2010) em estudo com *O. niloticus* infectadas artificialmente por *S. iniae* conseguiram ótimos resultados, reduzindo a mortalidade para 2,5% com a utilização do florfenicol na ração com concentração de 15 mg/Kg/. Já nos dados revsados por Tavares et al. (2014) sobre antibioticoterapia em peixes, indicam o uso na ração de 10 mg/Kg/pv de florfenicol ou 50 a 100 mg/Kg/pv de oxitetraciclina. Apesar da resistência encontrada em *Streptococcus* spp. ao antibiótico amoxicilina, Darwish & Hobbs (2005) testaram diversas doses desse antibiótico diluídas na ração, contra *S.*

iniae em Tilápia azul (*Oreochromis aureus*) infectadas experimentalmente e obtiveram uma alta taxa de sobrevivência com a ingestão diária na proporção de 80 mg/Kg/pv. Darwish et al. (2002) também testaram a oxitetraciclina em *O. aureus* infectadas por *S. iniae*, conseguindo uma elevada taxa de sobrevivência com a ingestão diária na dose de 100 mg/Kg/pv.

O uso tópico dos antibióticos oxitetraciclina e florfenicol nas concentrações recomendadas por Tavares et al. (2014) é indicado para *Aeromonas* spp. apesar dos vários relatos de resistência e multirresistência de diversas linhagens dessas bactérias às tetraciclinas e anfenicóis (Belém-Costa e Cyrino, 2006; Hirsch et al., 2006; Suhet et al., 2011; Janda e Abbott, 2013; Ye et al., 2013). Shoemaker et al. (2000) verificaram que tratamentos com antibióticos não foram eficazes na eliminação dos problemas com bactérias em sistemas de re-utilização de água. Destacaram que uma parte do problema com o uso de antibióticos foi a de que no momento da intervenção, os peixes estavam tão debilitados que não comiam a ração ou ainda, os tratamentos não duravam tempo suficiente.

O contato íntimo existente entre a água e o peixe no ambiente aquático potencializa o risco de patologias causadas por bactérias, vírus e parasitas, no entanto o grau de infecção dependerá do estado fisiológico dos peixes. As alterações dos parâmetros físico-químicos da água além dos limites aceitáveis também podem predispor os peixes às enfermidades. Esses parâmetros são: altas temperaturas e densidades de estocagem, mudanças bruscas de temperatura, traumatismos decorrentes de manejo, transferência de peixes, baixos níveis de oxigênio dissolvido, condições nutricionais deficientes e infecções por fungos ou parasitas (Moraes e Martins 2004, Pilarski e Sakabe 2009). O controle das infecções causadas por *Aeromonas* e *Streptococcus* está intimamente ligado aos fatores que facilitam a invasão e proliferação dessas bactérias no hospedeiro. Geralmente não é possível determinar o principal fator estressante ou as fontes de infecção primárias nem tampouco modificar o fluxo de água ou a densidade do estoque (Pilarski & Sakabe, 2009).

Kubitiza (2005) cita algumas formas de prevenção das doenças em tilápias: realizar quarentena antes da introdução de novos exemplares; manter um setor de berçário isolado dos outros setores da piscicultura; efetuar um contínuo monitoramento e correção da qualidade da água; prover adequada nutrição e

alimentação dos animais; remover diariamente peixes mortos e doentes dos tanques de cultivo e disponibilizar local adequado para o descarte; realizar inspeção sanitária de rotina mesmo em lotes de peixes aparentemente saudáveis; ficar atento a qualquer alteração no comportamento dos peixes; fazer a desinfecção de equipamentos e utensílios de uso rotineiro.

Uma das opções de prevenção das doenças na piscicultura é a imunoprofilaxia que consiste no estímulo da imunidade do peixe em contato com patógenos atenuados e/ou inativados. Sua administração na forma de vacinas pode levar a diminuição da dependência do uso de antibióticos, proporcionando um cultivo mais sustentável na piscicultura atual. Os testes com vacinas têm demonstrado resultados satisfatórios, destacando-se as formulações injetáveis, as administradas por imersão e via oral (Sacchetin et al. 2010). Como a diversidade de agentes potencialmente patogênicos é muito elevada na produção de tilápia, as estratégias de vacinação incluem a pesquisa e desenvolvimento de vacinas polivalentes (Biering et al., 2016). A vantagem da vacina polivalente é a proteção do peixe contra uma vasta variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-Negativas (Nikoskelainen et al., 2007). No Brasil ainda não existe o uso difundido de vacinas na piscicultura comercial, apesar desta ser a ação mais eficaz para reduzir a mortalidade nos cultivos intensivos de tilápia e mesmo de outras espécies de peixe (Kubitza, 2005). Vacinas contra *S. agalactiae* e *A. hydrophila* estão sendo usadas pontualmente no Brasil, principalmente em estudos científicos, mas ainda não se tornou prática comum nas tilapiculturas (Silva et al., 2009; Marcusso et al., 2013).

Outro método que pode ajudar tanto no controle como na prevenção das bacterioses e outras doenças é o uso de probióticos na alimentação dos peixes. Os probióticos podem ser definidos como um suplemento alimentar microbiano vivo que atua benéficamente no hospedeiro, melhorando o equilíbrio intestinal (Fuller, 1989). De acordo com Welker e Lim (2011), as evidências sugerem que os probióticos suplementados individualmente ou em combinação, podem aumentar a imunidade intestinal e levar a uma resistência sistêmica e local contra as doenças em tilápias. Na maioria dos estudos, parece haver algum efeito positivo sobre a função imunológica, resistência a doenças ou ambas.

Os estudos geralmente variam quanto a escolha dos diferentes probióticos, concentração, espécies, idades, tamanho dos peixes, manejo alimentar e duração e

virulência do patógeno causador da doença (Welker e Lim, 2011). *Saccharomyces cerevisiae* é um bom exemplo de probióticos na dieta de tilápias desafiadas contra *Aeromonas* e *Streptococcus* (Abdel-Tawwab et al., 2008; Reque et al., 2010; Salvador et al., 2013). Os peixes que receberam as leveduras ou os suplementos da parede celular, apresentavam aumento da resposta inflamatória aguda inespecífica, sugerindo um efeito benéfico sobre o sistema imunológico de defesa.

4 REFERÊNCIAS

ABBOTT, S. L., CHEUNG, W. K., JANDA, J. M. The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. *Journal of clinical microbiology*. v. 41, n. 6, p. 2348-2357, 2003.

ABDEL-TAWWAB, M., ABDEL-RAHMAN A. M., ISMAEL, N. E. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*. v. 280, n. 1, p.185-189, 2008.

AGNEW W. BARNES A.C. *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. *Veterinary Microbiology*. v.122, p. 1-15, 2007.

ALBINATI, A. C. L., ALBINATI, R. C. B., OLIVEIRA, E. M. D., LABORDA, S. S., VIDAL, L. V. O. Edwardsiellose em Tilápias do Nilo (*Oreochromis Niloticus*). *Rev. Bras. Saúde Prod. Animal*. V. 7, n. 2, p. 164-168, 2006.

AL-HARBI A.H. Molecular characterization of *Streptococcus iniae* isolated from hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* and *Oreochromis aureus*). *Aquaculture*. v. 312, n. 1, p. 15-18, 2011.

ALMEIDA, C. K. L., LAGE, S. A. G., OLIVEIRA, C. M. G., SANTOS, M., ESPINOLA M. A., SILVA SANTOS, D. M. Detecção de *Streptococcus* spp. em pisciculturas de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) tilápia do Nilo na região semiárida da Bahia. *Anais XIII Jornada De Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX 2013 – UFRPE: Recife*.

AYROZA, L. M. S., FURLANETO, F. P. B., AYROZA, D. M. M. R., SUSSEL, F. R. Piscicultura no médio Paranapanema: situação e perspectivas. *Aquicultura e Pesca*, p. 29 - 32, 2005.

AMADOR, L. V. 2007. Estudio taxonômico de *Aeromonas* móviles y salicina negativas. Tese de Doutorado, Facultad de Ciencias Biológicas da Universitat de Valencia, Valência, 318p.

BELÉM-COSTA, A., CYRINO, J. E. P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Scientia Agricola*. v. 63, n. 3, p. 281-284, 2006.

BOZANO, G. L., CYRINO, J. E. P. Produção intensiva de peixes em tanque rede e gaiolas. Estudo de casos. *Revista panorama da aquicultura*. v. 3, p. 53-60, 1999.

BIERING, E., VAAGNES, Ø., KROSSØY, B., GULLA, S., COLQUHOUN, D. J. Challenge models for atypical *Aeromonas salmonicida* and *Vibrio anguillarum* in farmed Ballan wrasse (*Labrus bergylta*) and preliminary testing of a trial vaccine against atypical *Aeromonas salmonicida*. Journal of fish diseases. v. 39, p. 1257-1261, 2016.

BRABO, M. F., PEREIRA, L. F. S., SANTANA, J. V. M., CAMPELO, D. A. V., & VERAS, G. C. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. Acta of Fisheries and Aquatic Resources. v. 4, n. 2, p. 50-58, 2016.

CANABARRO, T. F., WEIBLEN, R., BRANDAO, D. A., SPANEVELLO, D. Isolamentos de Bactérias e Vírus Em Peixes de Águas do Município de Santa Maria e Arredores. Cienc. Rural. v. 22, n. 1, p. 93-100, 1992.

CARNAHAN, A. M., BEHRAM, S., JOSEPH, S. W. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. Journal of Clinical Microbiology. v. 29, p. 2843-2849, 1991.

CARRIERO, M. M., MENDES MAIA, A. A., MORO SOUSA, R. L., HENRIQUE-SILVA, F. Characterization of a new strain of *Aeromonas dhakensis* isolated from diseased pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*) in Brazil. Journal of fish diseases. v. 39, n. 11, p. 1285-1295, 2016.

CARNEIRO, D. O., FIGUEIREDO, H. C. P., PEREIRA JÚNIOR, D. J., LEAL, C. A. G., LOGATO, P. V. R. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.59, n. 4, p.869-876, 2007.

CARVALHO-CASTRO, G. A., LOPES, C. O., LEAL, C. A. G., CARDOSO, P. G., LEITE, R. C., FIGUEIREDO, H. C. P. Detection of type III secretion system genes in *Aeromonas hydrophila* and their relationship with virulence in Nile tilapia. Veterinary microbiology. v. 144, n. 3, p. 371-376, 2010.

CARVALHO, E. D., CAMARGO, A. L. S., ZANATTA, A. S. Desempenho produtivo da tilápia do nilo em tanques-rede numa represa pública: modelo empírico de classificação. Ciência Rural. v. 40, n. 7, p. 1616-1622, 2010.

CERRO, A., MARQUEZ, I., GUIJARRO, J. A. Simultaneous Detection of *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum*, and *Yersinia ruckeri*, Three Major Fish Pathogens, by Multiplex PCR. Appl. Environ. Microbiol, V. 68, n. 10, p. 5177- 5180, 2002.

CASTRO-ESCARPULLI, G., FIGUERAS, M. J., AGUILERA-ARREOLA, G., SOLER L., FERNÁNDEZ-RENDÓN, E., APARICIO, G. O., GUARRO, J., CHACÓN, M. R. Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for consumption in México. *International Journal of Food Microbiology*. v. 84, p. 41-49, 2003.

CHAO, C. M., LAI, C. C., TANG, H. J., KO, W. C., HSUEH, P. R. Skin and soft-tissue infections caused by *Aeromonas* species. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. v. 32, n. 4, p. 543-547, 2013.

CHENIA, H. Y., VIETZE, C. Tetracycline resistance determinants of heterotrophic bacteria isolated from a South African tilapia aquaculture system. *African Journal of Microbiology Research*. v. 6, n. 39, p. 6761-6768, 2012.

CRMV-MG. 2014. Orientações técnicas em aquicultura-III Medidas de prevenção. Disponível em: <<http://www.crmvmg.org.br>>, acesso: 23 maio 2016.

COSTA, A. B. Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica. 2003. 68f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista - USP, Piracicaba, 2003.

DARWISH, A. M., RAWLES, S. D., GRIFFIN, B. R. Laboratory efficacy of oxytetracycline for the control of *Streptococcus iniae* infection in blue tilapia. *Journal of Aquatic Animal Health*. v. 14, n. 3, p. 184-190, 2002.

DARWISH, A. M., HOBBS, M. S. Laboratory efficacy of amoxicillin for the control of *Streptococcus iniae* infection in blue tilapia. *Journal of Aquatic Animal Health*. v. 17, n. 2, p. 197-202, 2005.

DEGEFU, F., MENGISTU, S., SCHAGERL, M. Influence of fish cage farming on water quality and plankton in fish ponds: A case study in the Rift Valley and North Shoa reservoirs, Ethiopia. *Aquaculture*. v. 316, p. 129-135, 2011.

DONG, H. T., NGUYEN, V. V., LE, H. D., SANGSURIYA, P., JITRAKORN, S., SAKSMERPROME, V., SENAPIN, S., RODKHUM, C. Naturally concurrent infections of bacterial and viral pathogens in disease outbreaks in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farms. *Aquaculture*, v. 448, p. 427-435, 2015.

ELDAR, A., BEJERANO, Y., BERCOVIER, H. *Streptococcus shiloi* and *Streptococcus difficile*, two new streptococcal species causing a meningoecephalitis in fish. *Current Microbiology*. v. 28, p. 139-143, 1994.

EVANS, J. J., PASNIK, D. J., KLESIUS, P. H., SHOEMAKER, C. A. Identification and epidemiology of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus agalactiae* in tilapia, *Oreochromis* spp. Charles Town, WV, USA, American Tilapia Association, International Symposium on Tilapia in Aquaculture. v. 7, p. 25-42, 2006.

FIGUEIREDO JUNIOR, C. A., VALENTE JUNIOR, A. S. Cultivo de tilápias no Brasil: origens e cenário atual. In: XLVI Congresso da SOBER. Rio Branco-AC, 20 a 23 de julho de 2008. Anais... Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 9p. Disponível em: <<http://www.sober.org.br>>. Acesso em: 07 out.

2016.

FIGUEIREDO, H. C. P., GODOY, D. T., LEAL, C. A. G. Antibióticos na aquicultura. Panorama da Aquicultura. v. 18, n. 105, p. 42-49, 2008.

FIGUEIREDO, H. C. P., LEAL, C. A. G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 37, suplemento especial, p. 08-14, 2008.

FIGUEIREDO, H. C. P., CARNEIRO, D. O., FARIA, F. C., COSTA, G. M. *Streptococcus agalactiae* associated to meningoencefalitis and systemic infection from tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Brazil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. v. 58, n. 4, p. 678-680, 2006.

FISHBASE. Disponível em: <<http://www.fishbase.org/home.htm>> Acesso em: 01 ago. 2016.

FITZSIMMONS, K. R. Supply and demand in global tilapia markets 2016 In: World Aquaculture Society Meetings 2016. Las Vrgas, EUA. 22 a 26 de fev. de 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. Aquaculture Big Numbers 601. Fisheries and Aquaculture Technical Paper. Rome, 60p., 2016.

FULLER R. 1989. Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol. v. 66, p. 365–378.

GAUNT, P. S., ENDRIS, R., MCGINNIS, A., BAUMGARTNER, W., CAMUS, A., STEADMAN, J., DIANE, S., SUN, F. Determination of florfenicol dose rate in feed for control of mortality in Nile tilapia infected with *Streptococcus iniae*. Journal of aquatic animal health. v. 22, n. 3, p. 158-166, 2010.

GONZALEZ, S. F., KRUG, M. J., NIELSEN, M. E., SANTOS, Y., CALL, D. R. Simultaneous Detection of Marine Fish Pathogens by Using Multiplex PCR and a DNA Microarray. *Journal of clinical microbiology*, V. 42, n. 4, p. 1414–1419, 2004.

HATHA, A. A. M., NIFTY, J. Prevalence, distribution and drug resistance of motile aeromonads in freshwater ornamental fishes. *Indian J. Fish.* v. 59, n. 2, p.161-164, 2012.

HIRSCH, D., PEREIRA-JÚNIOR, D. J., LOGATO, P. V. R. P., PICOLLI-VALLE, R. H., FIGUEIREDO, H. C. P. Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. *Cienc. Agrotecnol.* v. 30, p. 1211-1217, 2006.

HU, M., WANG, N., PAN, Z. H., LU, C. P., LIU, Y. J. Identity and virulence properties of *Aeromonas* isolates from diseased fish, healthy controls and water environment in China. *Letters in applied microbiology*, v. 55, n. 3, p. 224-233, 2012.

HOLT, J. G., KRIEG, N. R., SHEATH, P. A., STALEY, J. T., WILLIAM, S. T. 1994. *Bergey's manual of determination bacteriology*. Philadelphia: Williams & Wilkins, 9. ed. Baltimore.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE/GEPEC. Pesquisa Pecuária Municipal de 2015. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2015>. Acesso em 08 out. 2016.

JANDA, J. M., ABBOTT, S. L. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clinical microbiology reviews*. v. 23, n. 1, p. 35–73, 2010.

KONG, F., MA, L., GILBERT, G. L. Simultaneous detection and serotype identification of *Streptococcus agalactiae* using multiplex PCR and reverse line blot hybridization. *Journal of medical microbiology*. v. 54, n. 12, p. 1133-1138, 2005.

KUBITZA, F. A produção de tilápias no Brasil. Publicado em 25 de abr. de 2016 Disponível em: <<http://www.matsuda.com.br/matsuda/Web/Entrevistas/detalhe.aspx?idnot=H12101114130328>> Acesso em: 25 out., 2016.

KUBITZA, F. Nutrição e saúde no cultivo de tilápias, a sanidade na piscicultura, do ponto de vista dos produtores e técnicos. Publicado em 08 de ago. de 2013. Disponível em: < <http://www.panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=1386>> Acesso em: 25 out., 2016.

KUBITZA, F., CAMPOS, J. L., ONO, E. A., ISTCHUK, P. I. Piscicultura no Brasil: Estatísticas, espécies, pólos de produção e fatores limitantes à expansão da atividade. Panorama da aquicultura. v. 22, n. 132, p. 14-25, 2012.

KUBITZA, F. Antecipando-se às doenças na tilapicultura. Panorama da aquicultura. V. 15, n. 89, 2005.

LACERDA, I. P. S., GONCALVES, Y. S., OLIVEIRA, S. T. L., DEMARQUI, F. N., KREWER, C. D. C., GOUVEIA, G. V., FÉLIX, W. P. COSTA, M. M. Efficacy of *Aeromonas hydrophila* S-layer bacterins with different protein profiles as a vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). African Journal of Microbiology Research. v. 9, n. 29, p. 1770-1777, 2015.

LEMOS, J. B., RODRIGUES, M. E. B., LOPES, J. P. Diagnóstico de ectoparasitas e bactérias em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas na região de Paulo Afonso, Bahia. Revista Brasileira de Engenharia de Pesca. V. 1, n. 1, 2006.

LÈVEQUE, C. Out of Africa: the success story of tilapias. Environmental Biology of Fishes. v. 64, n. 4, p. 461-464, 2002.

MARCUSSO, P. F., ETO, S. F., FERNANDES, D. C., SALVADOR, R. C. Imunologia das vacinas bacterianas em teleósteos: revisão. Revista de biologia e ciências da terra. v. 13, n. 2, p. 50-57, 2013.

MATA, A. I., GIBELLO, A., CASAMAYOR, A., BLANCO, M. M., DOMÍNGUEZ, L., FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F. Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water streptococcosis in fish. Applied and environmental microbiology. v. 70, n. 5, p. 3183-3187, 2004.

MINAMI, T., NAKAMURA, M., IKEDA, Y., OZAKI, H. A betahemolytic *Streptococcus* isolated from cultured yellowtail. Fish Pathology. v. 14, p. 33-38, 1979.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA – MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura, 2009. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br>> Acesso em: 01 ago. 2012.

MORAES, F. R., MARTINS, M. L. 2004. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt. p. 343-383.

NIKOSKELAINEN, S., VERHO, S., JARVINEN, S., MADETOJA, J., WIKLUND, T., LILIUS, E. Multiple whole bacterial antigens in polyvalent vaccine may result in

inhibition of specific responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Shellfish Immunol. v. 22, p. 206-217, 2007.

OLIVEIRA, S. T. L., VENERONI-GOUVEIA, G., COSTA, M. M. Molecular characterization of virulence factors in *Aeromonas hydrophila* obtained from fish. Pesq. Vet. Bras. v. 32, n. 8, p. 701-706, 2012.

PÁDUA, S. B., FILHO, R. N. M., CRUZ, C. Alevinos saudáveis: o ponto de partida para uma produção estável. Panorama da Aquicultura. v. 134, p. 30-37, 2012.

PAVANELLI, G. C., EIRAS, J. C., TAKEMOTO, R. M. 2002. Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. 2. ed. Maringá: Eduem.

PEDREIRA, M. M., SCHORER, M., DE OLIVEIRA, I. F., TESSITORE, A. J. Cultivo de duas linhagens de tilápia nilótica sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. Rev. Acad. Ciênc. Anim. v. 14, p. 37-45, 2016.

PIER, G. B., MADIN, S. H. *Streptococcus inae* sp. nov a beta-hemolytic *Streptococcus* isolated from a Amazon freshwater dolphin, *Inia geoffrensis*. International Journal of Systematics Bacteriology. v. 26, p. 545-553, 1976.

PILARSKI, F., SAKABE, R. 2009. Principais enfermidades diagnosticadas no Estado de São Paulo: Profilaxia ou Tratamento? In: PEZZATO, L. E., BARROS, M. M., FURUYA, W. M., CYRINO, J. E. P., FERNANDES JÚNIOR, A. C. (Ed). Anais do 3º Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde de Peixes, Botucatu. p. 101-130, 2009.

PRIDGEON, J.W., KLESIUS, P. H. Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. Animal Science Reviews. v. 1, p. 141-156, 2013.

PRIDGEON, J. W., ZHANG, D. Complete genome sequence of a virulent *Streptococcus agalactiae* strain, 138P, isolated from diseased Nile tilapia. Genome announcements. v. 2, n. 2, p. 1-14, 2014.

REBOUÇAS, P. M., DE LIMA, L. R., DIAS, Í. F., BARBOSA FILHO, J. A. D. Influence of thermal oscillation on pisciculture water. JABB-Online Submission System. v. 2, n. 2, p. 35-42, 2014.

REQUE, V. R., MORAES, J. R. E., ANDRADE BELO, M. A., MORAES, F. R. Inflammation induced by inactivated *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia fed diets supplemented with *Saccharomyces cerevisiae*. Aquaculture. v. 300, n. 1, p. 37-42, 2010.

ROMERA, D. M., GOZI, K. S., SCHALCH, S. H., AYROZA, L. M., AYROZA, D. M., LIMA, J. P., GARCIA, F. Bactérias De Tilápias Do Nilo Criadas Em Tanques-Rede No Reservatório De Canoas II. Resumos expandidos da 11ª Reunião Científica do Instituto de Pesca. v.1, p. 179-181, 2013.

SACCHETIN, P. S. C., MORAES, A. M., LEAL, C. A. G., FIGUEIREDO, H. C. P. Produção de micropartículas de alginato contendo *Flavobacterium columnare* inativada pelo método de emulsão para vacinação de peixes por via oral. Química Nova, V. 33, n. 2, p. 263-268, 2010.

SALVADOR, R., MÜLLER, E. E., LEONHARDT, J. H., PRETTO-GIORDANO, L. G., DIAS, J. A., FREITAS, J. C., MORENO, A. M. Isolamento de *Streptococcus* spp. de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) e qualidade da água de tanques rede na Região Norte do Estado do Paraná, Brasil. Semina. Ciências Agrárias. v. 24, n. 1, p. 35-42, 2003.

SALVADOR, R., MULLER, E. E., FREITAS, J. C., LEONHARDT, J. H., PRETTO-GIORDANO, L. G., DIAS, J. A. Isolation and characterization of *Streptococcus* spp. group B in Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) reared in hapas nets and earth nurseries in the northern region of Parana State, Brazil. Ciência Rural. v. 35, n. 6, p. 1374-1378, 2005.

SALVADOR, R., SILVA CLAUDIANO, G., LOUREIRO, B. A., MARCUSSO, P. F., ETO, S. F., PILARSKI, F., TOAZZA, C. S., MORAES, J. R. E., MORAES, F. R. Desempenho e hematologia de tilápias do nilo alimentadas com *Saccharomyces cerevisiae* e vacinadas contra *Streptococcus agalactiae*. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v. 48, n. 8, p. 892-898, 2013.

SECOMBES, C. J. Fish immunity: the potential impact on vaccine development and performance. Aquaculture Research, V. 42, p. 90-92, 2011.

SHOEMAKER, C. A., EVANS, J. J., KLESIUS, P. H. Density and dose: factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. v. 188, p. 229 -235, 2000.

SILVA, B. C., MARTINS, M. L., JATOBÁ, A., NETO, C. C. B., VIEIRA, F. N., PEREIRA, G. V., JERÔNIMO, G. T., SEIFFERT, W. Q., MOURIÑO, J. L. P. Resposta hematológica e imunológica de tilápia do Nilo após administração de vacina polivalente por diferentes vias. Pesquisa Veterinária Brasileira. v. 29, n. 11, p. 874-880, 2009.

SOUSA, J. A. D., SILVA-SOUZA, A.T. Bacterial community associated with fish and water from Congonhas River, Sertaneja, Paraná, Brazil. *Brazilian archives of Biology and Technology*. v. 44, n. 4, p. 373-381, 2001.

SUHET, M. I., SCHOCKEN-ITURRINO, R. P., AMARAL, L. A. Hemolytic activity and resistance to antimicrobials by *Aeromonas* species isolated from intensive rearing of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ars Veterinaria, Jaboticabal*. v. 27, n. 1, p. 36-44, 2011.

TAVARES, G. C., LEAL, C. A., FIGUEIREDO, H. C. Antibioticoterapia em peixes. *Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG, sanidade em organismos aquáticos*. v. 73, p. 66-78, 2014.

TOKAJIAN, S., HASHWA, F. Phenotypic and genotypic identification of *Aeromonas* spp. isolated from a chlorinated intermittent water distribution system in Lebanon. *Journal of water and health*. v. 2, n. 2, p. 115-122, 2004.

TRAKHNA, F., HARF-MONTEIL, C., ABDELNOUR, A., MAAROUFI, A., GADONNA-WIDEHEM, P. Rapid *Aeromonas hydrophila* identification by TaqMan PCR assay: comparison with a phenotypic method. *Letters in applied microbiology*. v. 49, n. 2, p. 186-190, 2009.

TSAI, M. A., HO, P. Y., WANG, P. C., E, Y. J., LIAW, L. L. CHEN, S. C. Development of a multiplex polymerase chain reaction to detect five common Gram-negative bacteria of aquatic animals. *Journal of Fish Diseases*, V. 35, p. 489-495, 2012.

UGAJIN M. Studies on *Streptococcus* sp. as a causal agent of an epizootic among the cultured ayu (*Plecoglossus altivelis*) in Tochigi Prefecture, Japan. *Fish Pathology*. v. 16, p. 119-127, 1981.

VICENTE, I. S., ELIAS, F., FONSECA-ALVES, C. E. Prospects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production in Brazil. *Revista de Ciências Agrárias (Portugal)*. v. 37, n. 4, p. 392-398, 2014.

WANG, G. K., TYLER, D., MUNRO, C. K., JOHNSON, W. M. Characterization of cytotoxic hemolytic *Aeromonas caviae* clinical isolates and their identification by determining presence of a unique hemolysin gene. *Journal of Clinical Microbiology*. v. 34, n. 12, p.3203-3205, 1996.

WANG GEHUA., CLARK, C. G., LIU, C., PUCKNELL, C., MUNRO, C. K., KRUK, T. M. A. C., CALDEIRA, R., WOODWARD, D. L., RODGERS, F. G. Detection and characterization of the hemolysin genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas*

sobria by multiplex PCR. Journal of Clinical Microbiology. v. 41, n. 3, p. 1048-1054. 2013.

WANG, K. Y., CHEN, D. F., HUANG, L. Y., LIAN, H., WANG, J., XIAO, D., LAI, W. M. Isolation and characterization of *Streptococcus agalactiae* from Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* in China. African Journal of Microbiology Research. v. 7, n. 4, p. 317-323, 2013.

WELKER, T. L., LIM, C. Use of probiotics in diets of tilapia. Jornal Aquac. Res. Development. v. 14, p. 1-8, 2011.

YANONG, R. P. E., FRANCIS-FLOYD, R. 2002. Streptococcal infections of fish. Report from University of Florida. Series from the Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

YE, Y. W., FAN, T. F., LI, H., LU, J. F., JIANG, H., HU, W., JIANG, Q. H. Characterization of *Aeromonas hydrophila* from hemorrhagic diseased freshwater fishes in Anhui Province, China. International Food Research Journal. v. 20, n. 3, p. 1449-1452. 2013.

YOSHIDA, G. M., OLIVEIRA, C. D., OLIVEIRA, S. D., KUNITA, N. M., RESENDE, E. D., ALEXANDRE FILHO, L., RIBEIRO, R. P. Associação entre características de desempenho de tilápia-do-nylo ao longo do período de cultivo. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v.48, n.8, p. 816-824, 2013.

ZHANG, D., LI, A., GUO, Y., ZHANG, Q., CHEN, X., GONG, X. Molecular characterization of *Streptococcus agalactiae* in diseased farmed tilapia in China. Aquaculture, v. 412, p. 64-69, 2013