



Bactérias potencialmente patogênicas isoladas de beijupirá (*Rachycentron canadum*) cultivadas em sistema *offshore*

[Potentially pathogenic bacteria isolated from beijupirá (*Rachycentron canadum*)
offshore system cultured]

"Artigo Científico/Scientific Article"

DL Nascimento¹, CN Barros¹, ADR Silva¹, JM Guimarães¹, VF Pedrosa¹ e ES Mendes^{1(*)}

¹Departamento de Medicina Veterinária, Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos/UFRPE, Recife, PE, Brasil.

Resumo

Objetivou-se isolar, identificar e avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias potencialmente patogênicas do peixe marinho beijupirá *Rachycentron canadum*. Para este estudo foram analisados 74 beijupirás, alevinos e juvenis aparentemente saudáveis, cultivados em sistema *offshore* em Pernambuco/Brasil, dos quais, 71 apresentaram presença de *Vibrio* ou *Aeromonas*. As coletas foram realizadas entre os meses de novembro de 2010 a julho de 2011. As espécies isoladas de *Vibrio* foram *V. alginolyticus* (3,33%), *V. cincinnatiensis* (3,33%), *V. fischeri* (13,33%), *V. ichthyoenteri* (23,33%), *V. mediterranei* (26,67%), *V. natrieigen* (6,67%), *V. natrieigen* NCMB 1900 (13,33%) e *Vibrio* spp. (10%) e as *Aeromonas*, *A. media* (2,70%), *A. salmonicida* (9,46%), *A. salmonicida* spp. *salmonicida* (1,35%), *A. salmonicida* spp. *achromogenes* (1,35%), *A. schubertii* (27,03%), *A. sobria* (32,43%), *A. veronii* spp. *veronii* (10,81%), *A. veronii* spp. *sobria* (5,40%) e *Aeromonas* spp. (9,46%). Todos os isolados foram sensíveis a enrofloxacin, tetraciclina, cloranfenicol, florfenicol e gentamicina, exceto o *Vibrio* spp. que demonstrou múltipla resistência (MAR 0,5). Em relação a exposição à ampicilina, todos os organismos testados foram resistentes, exceto o *Vibrio fischeri*. Em decorrência do isolamento de bactérias patogênicas em órgãos estéreis, em quantidade e variedade elevada, conclui-se que os beijupirás, embora aparentemente saudáveis, estão infectados com bactérias potencialmente patogênicas para peixes e humanos, com elevado nível de sensibilidade a maioria das drogas testadas.

Palavras-chave: *Rachycentron canadum*, peixe marinho, *Vibrio*, *Aeromonas*, antibiograma.

Abstract

Aiming at the isolation, identification and evaluation of antimicrobial resistance profile of potentially pathogenic bacteria from marine fish Beijupirá *Rachycentron canadum*, 30 and 74 strains of *Vibrio* and *Aeromonas* were isolated from brain, liver and kidney of 74 beijupira apparently healthy fingerlings and juveniles grown in offshore system in Pernambuco/Brazil. Sampling was performed between November 2010 and July 2011. The isolated species were *Vibrio alginolyticus*, *V. cincinnatiensis*, *V. fischeri*, *V. ichthyoenteri*, *V. mediterranei*, *V. natrieigen*, *V. natrieigen* NCMB 1900, *Vibrio* spp., and *Aeromonas media*, *A. salmonicida*, *A. salmonicida* spp. *salmonicida*, *A. salmonicida* spp. *achromogenes*, *A. schubertii*, *A. sobria*, *A. veronii* spp. *veronii*, *A. veronii* spp. *sobria* and *Aeromonas* spp.. All isolates were susceptible to enrofloxacin (5 µg), tetracycline (30 µg), chloramphenicol (30 µg), florfenicol (30 µg) and gentamicin (30 µg), other *Vibrio* spp. demonstrated that multiple resistance. On exposure to ampicillin (10 mg), *Vibrio fischeri* was just

(*) Autor para correspondência/Corresponding author: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: es Mendes@yahoo.com.br; alexandre drs@yahoo.com

Recebido em: 19 de março de 2014.

Aceito em: 16 de junho de 2014.

sensitive. Due to the isolation of pathogenic bacteria in sterile organs in quantity and high variety, it is concluded that beijupiras, although apparently healthy, are infected with potentially pathogenic bacteria to fish and humans, with high level of sensitivity to most drugs tested.

Key-words : *Rachycentron canadum*, marine fish, *Vibrio*, *Aeromonas*, antibiogram.

Introdução

O *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766), mundialmente conhecido como cobia e, no Brasil, comumente como beijupirá ou cação de escama, é uma espécie com destaque mundial devido a sua elevada taxa de crescimento, baixa taxa de conversão alimentar (Benetti et al., 2008), facilidade de desovar em cativeiro, tolerância a variações de salinidade (Faulk e Holt, 2006), adaptabilidade ao confinamento, aceitação de dietas extrusadas e por possuir uma carne de ótima qualidade (Craig et al., 2006). O nordeste brasileiro apresenta condições ambientais favoráveis à produção destes peixes marinhos cultivados em gaiolas (Bezerra et al., 2011).

Ainda que o beijupirá apresente excelentes características para o cultivo, todos os peixes são susceptíveis às infecções bacterianas, sendo um dos fatores limitantes ao desenvolvimento desta atividade. As bactérias causam um impacto econômico significativo na aquicultura, visto que estes agentes ocorrerem naturalmente no ambiente aquático (Janda e Abbott, 2010). Dentre os diversos gêneros bacterianos, o *Aeromonas* e *Vibrio* são micro-organismos onipresentes em ambientes marinhos (Igbinsosa e Germano, 2008; Janda e Abbott, 2010) e comumente encontrados na água de cultivo de peixes (Roberts et al., 2009), sendo consideradas oportunistas por promoverem infecções secundárias nos imunodeprimidos (Buller, 2004).

Lin et al. (2006) e Su et al. (2012) relataram que as bactérias são patógenas de grande importância no cultivo do beijupirá e normalmente estão presentes em surtos com mortalidade elevada. Nestas oportunidades,

podem ser isoladas de rim, fígado, cérebro, coração, baço e intestino (Austin e Austin, 2007).

É comum a utilização de antimicrobianos para o combate às doenças bacterianas, mas na aquicultura poucos produtos são registrados para uso no Brasil (Tavechio et al., 2009). É permitido o uso do florfenicol para o tratamento da septicemia hemorrágica bacteriana, causada por bactéria do gênero *Aeromonas* spp. em tilápias; de estreptococose, doença causada por *Streptococcus agalactiae* e para o tratamento da doença da boca vermelha, causada por *Yersini ruckerii* em espécies de Truta Arco-Íris, além da oxitetraciclina, com indicação de uso em peixes e crustáceos (Buller, 2004). Drogas veterinárias causam significativo impacto ambiental na piscicultura devido aos resíduos descartados, efeito tóxico nos tecidos (brânquias, tegumento e fígado) e acumulação de resíduos na musculatura, exibindo risco potencial ao consumidor. O uso abusivo de antimicrobianos aumenta a possibilidade de proliferação de bactérias resistentes.

Para se estabelecer a epidemiologia e métodos de controle e profilaxia, faz-se necessário a correta caracterização e diagnóstico das enfermidades que acometem o animal e de seus agentes etiológicos (Costa, 2003). De acordo com Figueiredo e Leal (2008), os aspectos sanitários da produção e a falta de estrutura para o diagnóstico das principais enfermidades infecciosas são alguns entraves para o aumento da produção e da produtividade aquícola. Assim sendo, objetivou-se isolar, identificar e avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias dos gêneros *Aeromonas* e *Vibrio*

isoladas de beijupirá, relacionando o período de cultivo e o órgão analisado.

Material e métodos

Todos os procedimentos realizados na pesquisa seguiram os protocolos discriminados no projeto aprovado pela Comissão de Ética e Uso Animal.

Foram realizadas coletas de beijupirás, alevinos e juvenis, que se apresentaram aparentemente saudáveis no exame clínico, cultivado em sistema *offshore*, entre os meses de novembro de 2010 e julho de 2011. As duas primeiras coletas foram de alevinos na fase de berçário em laboratório privado (Ipojuca, PE, Brasil) e as subsequentes, de animais criados em gaiolas no sistema de cultivo *offshore*, localizadas a cinco quilômetros da costa (Recife, PE, Brasil). Foram realizadas quatro coletas no período de estio (novembro/2010 a fevereiro/2011), de 39 peixes e quatro no período chuvoso (março a julho de 2011), com 35 peixes, totalizando 74 animais. Os animais eram alimentados com ração comercial de produção nacional com formulação específica para beijupirá, fornecidas duas vezes ao dia. Os valores médios dos parâmetros de cultivo foram temperatura de 28°C, salinidade de 36,2, oxigênio de 6,8 mg/L e transparência de 9,9 metros.

Após o exame clínico ainda nos tanques rede, os peixes foram transportados vivos com aeração constante e assim permaneceram até o início das análises. Os animais foram anestesiados com benzocaína (10mg/L), pesados, medidos e em seguida eutanasiados pelo método de secção medular (Neifer e Stamper, 2009). Realizou-se a necropsia, coletando-se fragmentos de rim, fígado e encéfalo para exame bacteriológico e posterior identificação das espécies e seu perfil antimicrobiano.

As análises bacteriológicas de rim, fígado e cérebro foram realizadas pelo método indireto, para isolamento e

identificação de bactérias dos gêneros *Vibrio* e *Aeromonas*, por serem os órgãos alvos de bactérias que comumente causam enfermidades em peixes. O método indireto é caracterizado pela inoculação da amostra em caldo nutritivo, antes de serem plaqueados para isolamento, no intuito de pré-enriquecimento (Meirelles, 2010).

A inoculação indireta para o isolamento de bactérias do gênero *Vibrio* foi executada em tubos contendo Água Peptonada Alcalina (APA), os quais foram incubados em estufa a 35-37°C durante 24 horas. Em seguida, alíquotas dos tubos que demonstraram desenvolvimento foram estriadas em ágar Tiosulfato Citrato Sais de Bile Sacarose (TCBS) e incubadas em estufa a 35-37°C por 24 horas. As colônias características foram estocadas em Tryptone Soy Agar (TSA) suplementado com 2% de NaCl para posterior identificação da espécie (Buller, 2004).

O isolamento de bactérias do gênero *Aeromonas* foi realizado em caldo de enriquecimento APA, incubado em estufa a 28°C durante 24 horas. Em seguida, alíquotas dos tubos que demonstraram desenvolvimento foram estriadas em ágar amido com 20 µg/mL de ampicilina e incubadas em estufa a 28°C por 24 horas. As colônias com características do gênero foram estocadas em Tryptone Soy Agar (Mores, 1994; Buller, 2004).

A identificação das espécies foi realizada a partir do estudo do perfil bioquímico, pelo método convencional, seguindo a orientação de Holt et al. (1994), Buller (2004) e Mores (1994), com confirmação pelo sistema API 20E (Biomérieux).

Todos os isolados foram submetidos ao teste de sensibilidade a ampicilina (10µg), cloranfenicol (30µg), enrofloxacina (5µg), florfenicol (30µg), gentamicina (10µg) e tetraciclina (30µ), pelo método de difusão em disco em Agar Müller-Hinton, conforme

metodologia preconizada pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003).

Os diâmetros dos halos foram mensurados com paquímetro e comparados à tabela padrão para o teste de sensibilidade a antibióticos, sendo classificadas como sensível, intermediário ou resistente (Mazza et al., 2001).

Pela relação do número de antibióticos que o isolado demonstrou resistência e o número de antibióticos aos qual o isolado foi exposto, foi estimado o índice de múltipla resistência antimicrobiana (MAR). Foi caracterizada a resistência múltipla quando o índice MAR foi superior a 0.2 (Krumperman, 1983).

Para verificar a influência do período de coleta e dos órgãos analisados foi utilizado o teste de Fisher, com nível de significância de 0.05 (Mendes et al., 2006).

Resultados e Discussão

Os 20 alevinos examinados apresentaram presença de *Vibrio* (três isolados) e *Aeromonas* (10 isolados) e dos 54 juvenis, foram obtidos 41 isolados de *Aeromonas* e 17 de *Vibrio*. A presença dos micro-organismos em maior proporção nos juvenis pode ser devido ao maior período de cultivo, enquanto que nos alevinos, a menor proporção pode ser explicada pelo maior cuidado nesta fase, principalmente com a alimentação fornecida, em qualidade e quantidade.

Um total de 30 espécies de *Vibrio* foram isoladas em 20 animais e 74 *Aeromonas* em 51 animais, de cérebros, fígados e rins dos beijupirás, no período de

estio e chuvoso (Tabela 1). Das bactérias do gênero *Vibrio*, foram identificadas as espécies *V. alginolyticus* (3,33%), *V. cincinnatiensis* (3,33%), *V. fischeri* (13,33%), *V. ichthyoenteri* (23,33%), *V. mediterranei* (26,67%), *V. natriegens* (6,67%), *V. natriegens NCMB 1900* (13,33%) e três (10%) sem identificação da espécie (*Vibrio* spp.). Foram identificados víbrios potencialmente patogênicos, semelhantemente a Lopez et al. (2002) que isolaram *Vibrio alginolyticus*, *V. vulnificus* e *V. parahaemolyticus* de beijupirás enfermos e com alteração comportamental, enquanto pesquisavam parasitos nestes peixes de cultivo e de Liu et al. (2004), que isolaram *V. harvey* em beijupirás cultivados que apresentavam gastrenterite e ascite.

De acordo com Buller (2004), dos víbrios identificados, o *Vibrio natriegens*, *V. fischeri* e o *V. mediterranei* são considerados micro-organismos ambientais e o *V. cincinnatiensis* patogênico para humanos, com relatos de isolamento em casos de meningites. O *V. ichthyoenteri* pode causar enterite bacteriana em peixes e o *V. alginolyticus* é um agente zoonótico, responsável por vibrioses em animais aquáticos e otite e infecções de ferimentos em humanos.

Dos 74 isolados de *Aeromonas* foram identificadas as espécies *A. media* (2,70%), *A. salmonicida* (9,46%), *A. salmonicida* spp. *salmonicida* (1,35%), *A. salmonicida* spp. *Achromogenes* (1,35%), *A. schubertii* (27,03%), *A. sobria* (32,43%), *A. veronii* spp. *veronii* (10,81%), *A. veronii* spp. *sobria* (5,40%) e sete (9,46%) sem identificação da espécie (*Aeromonas* spp.) (Tabela 2).

Tabela 1 - *Vibrio* e *Aeromonas* isoladas de beijupirás cultivados, de acordo com o período de coleta

Nº de animais

Coleta	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	Total	Período
1	3	6	10	Estio
2	-	4	10	Estio
3	2	6	9	Estio
4	8	10	10	Estio
5	-	4	10	Chuvoso
6	-	7	10	Chuvoso
7	4	10	10	Chuvoso
8	3	4	5	Chuvoso
Total	20	51	74	

Tabela 2 – Porcentagem de isolamento de *Vibrio* e *Aeromonas* de acordo com o período de coleta

Período	<i>Vibrio</i>		<i>Aeromonas</i>	
	Estio	Chuvoso	Estio	Chuvoso
Presença	33,33%	17,14%	66,67%	71,43%
Ausência	66,67%	82,86%	33,33%	28,57%
Valor P	0,182		1,34E-04	

Pesquisadores já isolaram diversas espécies de *Aeromonas*, como Suhet et al. (2011) que identificaram *A. veronii*, *A. schubertii*, *A. sobria* e *A. salmonicida* isoladas da superfície corporal e rim de tilápas. *A. veronii* foi uma das mais isoladas nas amostras de rim, enquanto *A. schubertii* só foi isolada da superfície corporal. Bactérias do gênero *Aeromonas* também foram isoladas de amostras de água de piscicultura em diversos empreendimentos do estado do Maranhão por Silva et al. (2010), tendo isolado *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. veronii spp. sobria*.

A *A. media* é considerada ambiental, enquanto a *A. veronii* e *A. schubertii* são organismos patogênicos aos humanos. A *A. sobria*, espécie isolada de maior frequência e a *A. salmonicida*, podem causar a doença conhecida como furunculose, caracterizada por lesões na derme, além de provocarem outras enfermidades em peixes (Buller, 2004).

Não houve diferença estatística ($P \geq 0,05$) entre os períodos de coleta (estio/chuvoso) em relação ao isolamento dos micro-organismos pesquisados. Barretto (2012) também não constatou diferença estatística entre os períodos de coleta, ao analisar tilápias cultivadas em tanques-rede no estado de Pernambuco. Provavelmente, a temperatura mais elevada no período de estio, favoreceu a proliferação dos micro-organismos em estudo.

Quando comparado o número de isolados de *Vibrio* e *Aeromonas* por órgão analisado, foi verificada diferença significativa ($P < 0,05$) na positividade, cujos resultados são apresentados na Tabela 3 e as frequências de isolamento por órgão analisado apresentadas na Tabela 4. Pode-se observar que o cérebro se apresentou menos infectado por *Vibrio* e *Aeromonas* do que o rim e o fígado, provavelmente, pela função exercida por cada órgão, sendo os últimos, filtradores de sangue, o que faz com que sejam mais vulneráveis, além de serem

órgãos de eleição de diversos micro-organismos (Meirelles, 2010 e Barreto, 2012).

Ainda que a frequência de isolamento no cérebro não tenha sido elevada, este

achado é extremamente importante, visto que causa problemas de ordem neurológica, comprometendo as funções vitais (Suhel et al., 2011).

Tabela 3 – *Vibrio* e *Aeromonas* isolados de beijupirás cultivados, segundo o órgão analisado

GÊNERO	ÓRGÃO		
	Cérebro	Fígado	Rim
<i>Vibrio</i>	2 ^a *	14 ^b	14 ^b
<i>Aeromonas</i>	8 ^a	34 ^b	32 ^b

* Letras iguais não diferem estatisticamente ($P \geq 0,05$) pelo teste de Fisher.

Tabela 4 – Frequência de isolamento de *Vibrio* e *Aeromonas* de acordo com o órgão analisado

Presença nos órgãos	Vibrio		Aeromonas	
	Frequência	Freq.relative	Frequência	Freq.relative
Fígado	14	0,48	32	0,44
Rim	13	0,45	32	0,44
Cerebro	2	0,07	8	0,11
Valor P	0,999		1,34E-07	

*O valor P é de associação entre *Vibro/Aeromonas* e Estio/Chuvoso e *Vibro/Aeromonas* e Fígado/Rim/Cérebro

O rim foi o órgão mais infectado por *Aeromonas*, tendo sido isolado de 32 de um (2006), foram provenientes da água de abastecimento de 214 tanques e da superfície corpórea de tilápias cultivadas, sem isolamento do parênquima renal, sendo

total de 51 peixes. Diferentemente, todas as 75 *Aeromonas* isoladas por Hirsch et al. identificadas *A. trota*, três *A. jandaei* e dois *A. sobria*.

A espécie mais isolada foi a *A. sobria*, diferentemente dos resultados obtidos por Ribeiro (2011), em que a *A. veronii* spp.

sobria foi a mais frequente, ao pesquisar a presença de *Vibrio* e *Aeromonas* em tilápias, aparentemente saudáveis, cultivadas em sistema de aproveitamento e reuso de água. Neste mesmo estudo, não foram encontrados os vibrios nas amostras, porém as aeromonas estavam presentes em 100% dos animais analisados, tendo sido isolados do pool de vísceras de tilápias: *Aeromonas caviae*, *A. veronii* spp. *sobria*, *A. hydrophila*, *A. media*, *A. jandaei*, *A. trota*, *A. sobria*, *A. eucrenophila* e *Aeromonas* spp.

Todas as bactérias do gênero *Aeromonas* identificadas demonstraram sensibilidade a todos os antimicrobianos testados, exceto para ampicilina, em que alguns isolados foram resistentes. A maioria das *Aeromonas* spp. é resistente à penicilina, ampicilina e carbenicilinas, segundo Trabulsi e Alterthum (2004). De acordo com Piddock (2006), a bomba de efluxo é um dos mecanismos de resistência das bactérias aos antimicrobianos em que algumas proteínas da membrana plasmática agem bombeando as drogas do meio intracelular para o meio extracelular antes que elas exerçam sua função. Há também a possibilidade de transferências de genes de resistência de uma bactéria para outra (Verschuere et al., 2000). No ambiente aquático essa transferência de genes é facilitada devido aos elementos móveis chamados plasmídeos (Smith et al., 2008).

Scoaris et al. (2008) em análise de água, observaram que 78,26% das aeromonas isoladas apresentaram múltipla resistência a três ou mais antibióticos testados, tendo a ampicilina 91% de resistência. Enquanto que Mejdí et al. (2010), isolaram *Aeromonas* spp. e *Vibrio* spp. de água do mar e mexilhões e determinaram a sensibilidade frente a 12 antimicrobianos. A maioria dos isolados mostrou-se resistente a pelo menos dois

preocupação acerca da saúde pública, já que o antibiótico residual pode persistir no produto

agentes e a ampicilina mais uma vez apresentou maior porcentagem de resistência.

Em relação a sensibilidade ao florfenicol e enrofloxacina, observado no presente estudo, corroboram com os resultados obtidos por Barretto (2012), que afirmou ser esse resultado decorrente do uso desses fármacos exclusivamente na veterinária e o florfenicol ser um composto com o uso aprovado na aquicultura recentemente.

Das espécies de *Vibrio* isoladas, o *Vibrio* spp. demonstrou resistência ao cloranfenicol, florfenicol, gentamicina e ampicilina, o que caracterizou múltipla resistência (MAR 0,5). As demais espécies foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados, exceto a penicilina, ao qual apenas o *Vibrio fischeri* foi sensível. Os vibrios isolados por Lopez et al. (2002), a partir de beijupirás doentes, cultivados em sistema *offshore*, foram sensíveis à enrofloxacina, demonstrando que a resistência/sensibilidade é variável de acordo com a frequência de uso da droga, consequente da enfermidade instalada nos peixes, que por sua vez tem a incidência variável conforme a região de cultivo.

Dos 75 isolados de *Aeromonas* obtidos na pesquisa de Hirsch et al. (2006), 32 (42,66%) demonstraram múltipla resistência antimicrobiana aos fármacos testados eritromicina, tetraciclina, ác. nalidíxico, gentamicina, nitrofurantoína, canamicina, norfloxacina, cloranfenicol e sulfonamidas, mesmo aquelas substâncias não usadas na piscicultura.

A maioria das drogas testadas tiveram ação frente aos patógenos, porém as porcentagens de isolados resistentes é fato preocupante, já que o inadequado uso de antibióticos tem elevado potencial para desenvolver linhagens bacterianas resistentes, destruir a microbiota ambiental, além da final. O uso na aquicultura pode levar a contaminação direta das águas superficiais,

onde os resíduos podem acumular-se nos sedimentos, com potencial de alterar negativamente o ecossistema aquático (Alexy et al., 2004).

Conclusão

Em decorrência do isolamento de bactérias patogênicas em órgãos estéreis, em quantidade e variedade elevada, conclui-se que os beijupirás, embora aparentemente saudáveis, estão infectados com bactérias potencialmente patogênicas para peixes e humanos, porém, com elevado nível de sensibilidade a maioria das drogas testadas.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado e financiamento do projeto “Probio-Cobia”. Ao Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) pelo financiamento do projeto “Cação de Escama”, à Rede de Pesquisa e Desenvolvimento em Piscicultura Marinha (REPIMAR) e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pelo financiamento do projeto “Desenvolvimento sustentável da piscicultura marinha no Brasil”.

Referências

ALEXY, R.; SCHÖLL, A.; KÜMPEL, T. & KÜMMERER, K. **What do we know about antibiotics in the environment?** In: KÜMMERER, K., ed. *Pharmaceuticals in the environment*. 2.ed. Berlin, Springer-Verlag, p.209-221. 2004.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D.B. **Bacterial fish pathogens in farmed and wild fish**. 2a ed. Ellis Horwood Ltd., Chichester, England, 2007, 364p.

BARRETTO, A.C.G. **Status sanitário de tilápias cultivadas em viveiros e tanques-rede**. 2012. 56p. Tese (doutorado em ciência veterinária) Programa de Pós-Graduação em Ciência

JANDA, J.M. e ABBOTT, S.L. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity and infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, p.35-73, 2010.

Veterinária – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

BEZERRA, T.R.Q.; DUARTE, C.C.; DOMINGUES, E.C.; HAMILTON, S.; CAVALLI, R.O. Uso de sistemas de informação geográfica na definição de áreas propícias para a piscicultura marinha. **Anais: XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**. Curitiba, p. 4856-4863, 2011.

BULLER, N. B. **Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual**. Cambridge: CAB-Publishing, 2004. 361p.

COSTA, A.B. **Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica**. 2003. 68p. Tese (Doutorado em ciência animal e pastagem) – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CRAIG, S.; R.; SCHWARZ, M.H.; MCLEAN, E. Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. **Aquaculture**, v. 261, p. 384-391. 2006.

FAULK, C.K., HOLT, G.J., Responses of cobia *Rachycentron canadum* larvae to abrupt or gradual changes in salinity. **Aquaculture**, v. 254, p. 275–283, 2006.

FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Tecnologias aplicadas em sanidades de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 08-14, Jul 2008.

HIRSCH, D.; PEREIRA JUNIOR, D.J.; LOGATO, P.V.R.; PICCOLI, R.H.; FIGUEIREDO, H.C.P. Tificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n.6, p. 1211-1217, Nov/dez 2006.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A. **Bergey’s manual of determinative bacteriology**. 9 ed. Maryland: Williams e Wilkins, 1994.

IGBINOSA, E. O.; OKOH, A. I. Emerging Vibrio species: an unending threat to public health in developing countries. **Research in Microbiology**, v. 159, p.495–506. 2008.

JACOBS, L.; CHENIA, Y. Characterization of integrons and tetracycline resistance determinants in *Aeromonas* spp. Isolated from South African

aquaculture systems. **International Journal of Food Microbiology**, v. 114, p295-306, 2007.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Applied and Environmental Microbiology**, v 46, p. 165-170, 1983.

LIN, J.H.Y.; CHEN, T.Y.; CHEN, M.S.; B, CHEN, H.E.; CHOU, R.L.; CHEN, T.I.; SU, M.S.; YANG, H.L. Vaccination with three inactivated pathogens of cobia (*Rachycentron canadum*) stimulates protective immunity. **Aquaculture**, v. 255, p.125–132, 2006.

LIU, P.C.; LIN, J.Y.; CHUANG, W.H.; LEE, K.K. Isolation characterization of pathogenic *Vibrio harveyi* (*V. carchariae*) from the farmed marine cobia fish *Rachycentron canadum* L. with gastroenteritis syndrome. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v.20, n.5, p. 495-499, 2004.

LOPEZ, C.; RAJAN, P.R.; LIN, J.H.Y.; KUO, T.Y.; YANG, H.L. Disease outbreak in farmed Cobia (*Rachycentron canadum*) associated with *Vibrio* spp., *Photobacterium damsela* ssp. piscicida, monogenean and myxosporean parasites. **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists**, v. 22, n. 3, p. 206-211, 2002.

MAZZA, L.M.; PEZZLO, M.T.; BARON, E.J. **Atlas de diagnóstico em microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2001. 216p.

MEIRELLES, F. S. **Estudo epidemiológico das infecções bacterianas em tilápias *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), cultivadas em Pernambuco**. 2010. 77p. Tese (Doutorado em ciência veterinária) – Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

MEJDI, S.; EMIRA, N.; ALI, M.; HAFEDH, H.; AMINA, B. Biochemical characteristics and genetic diversity of *Vibrio* spp. and *Aeromonas hydrophila* strains isolated from the Lac of Bizerte (Tunisia). **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.26, p.2037-2046, 2010.

MENDES, P. de P.; MENDES, E.S.; BEZERRA, A.M. Análise estatística dos parâmetros aquícolas, com fins a otimização da produção. **Anais de simpósios da 43a reunião anual da SBZ**, v. 35, João Pessoa – PB, Brasil. 2006.

MORES, V.L. **Bactérias do gênero *Aeromonas* em peixe Pintado (*Pseudoplatystoma sp.*) e**

pesquisa de alguns fatores de virulência a partir de cepas isoladas. 1994. 108p. Dissertação (Mestrado em microbiologia), Universidade de São Paulo.

NCCLS – National Committee on Clinical Laboratory Standards. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. Approved Standard – sixth edition, 81p, 2003.

NEIFFER D.L; STAMPER M.A. Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: 368 Considerations, methods, and types of drugs. **ILAR Journal**. v. 50, n 4, p.343-360, 2009.

PIDDOCK, L.J.V. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacterial. **Clinical Microbiology Reviews**. v.19, p.382-402, 2006.

RIBEIRO, R.V. **Avaliação de sistema de cultivo integrado, a partir da reciclagem de águas residuais submetidas a tratamento primário: pesquisa de espécies dos gêneros *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* e *Aeromonas***. 2011. 93p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

ROBERTS, H. H.; PALMEIRO, B.; WEBER, S. Bacterial and parasitic diseases of pet fish. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 2, n. 3, p.609-638, setembro 2009.

SCOARIS, D.O.; COLACITE, J.; NAKAMURA, C.V.; UEDA-NAKAMURA, T.; ABREU FILHO, B.A.; DIAS FILHO, B.P. Virulence and antibiotic susceptibility of *Aeromonas* spp. isolated from drinking water. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.93, p.111-122, 2008.

SILVA, R. M. L.; ROSSI JUNIOR, O. D.; COSTA, F. N.; CHAVES, N. P.; NASCIMENTO, D. L.; KAMIMURA, B. A. *Aeromonas* spp. em água de pisciculturas da região da baixada ocidental maranhense. **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 36, n.3, p.245-249, 2010.

SU, Y.; GUO, Z.; XU, L.; JIANG, J.; WANG, J.; FENG, J. Identification of a cobia (*Rachycentron canadum*) CC chemokine gene and its involvement in the inflammatory response. **Fish e Shellfish Immunology**, v. 32, 204-210, 2012.

SUHET, M.I.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; AMARAL, L.A. Atividade hemolítica e resistência a antimicrobianos por espécies de *Aeromonas* isoladas de criação intensiva de

Nascimento et al., Bactérias potencialmente patogênicas isoladas de beijupirá (*Rachycentron canadum*).....21

tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **ARS Veterinária**, v. 27, n.1, p.36-44, 2011.
TAVECHIO, W.L.G.; GUIDELLI, G.; PORTZ, L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n.2, p.335-341, 2009.

Aquaculture. Microbiology and Molecular **Biology Reviews**. v.64, n.4, p.655-671, 2000.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**, 4.ed., São Paulo: Atheneu, 718p., 2004.
VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in