

**Streptococcus sp em peixes criados no sistema de policultivo na Região Sul do Estado de Minas Gerais***(Streptococcus sp in fish created in the policultor system in the southern region of the minas gerais state)*LEIRA, Matheus Hernandes<sup>1\*</sup>; REGHIM, Lucas Silva<sup>2</sup>; BOTELHO, Hortência Aparecida<sup>3</sup>; CUNHA, Luciane Tavares<sup>4</sup>; MELO, Carlos Cicinato<sup>5</sup>; NASCIMENTO, Ariane Flávia do<sup>6</sup>; BRAZ, Mirian Silvia<sup>7</sup>; FREITAS, Rilke Tadeu Fonseca de<sup>8</sup><sup>1\*</sup> Docente adjunto do Centro Universitário do Sul de Minas – UNIS-MG;<sup>2</sup> Graduando em Medicina Veterinária do Centro Universitário do Sul de Minas – UNIS-MG. E-mail: [lucasreghim@hotmail.com](mailto:lucasreghim@hotmail.com);<sup>3</sup> Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Goiás – UFG. E-mail: [hortenciabot@gmail.com](mailto:hortenciabot@gmail.com);<sup>4</sup> Docente adjunto do Centro Universitário do Sul de Minas – UNIS-MG. E-mail: [luciane.cunha@unis.edu.br](mailto:luciane.cunha@unis.edu.br);<sup>5</sup> Docente do Instituto Federal Bahiano, Campus Santa Inês-BA. E-mail: [carloscicinato@hotmail.com](mailto:carloscicinato@hotmail.com);<sup>6</sup> Docente da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS. E-mail: [arianefn@hotmail.com](mailto:arianefn@hotmail.com);<sup>7</sup> Doutoranda em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Lavras – ULFA-MG. E-mail: [miniansilviabr@gmail.com](mailto:miniansilviabr@gmail.com);<sup>8</sup> Docente adjunto do curso de aootecnia da Universidade Federal de Lavras – UFLA-MG. E-mail: [rilke@dzo.ufla.br](mailto:rilke@dzo.ufla.br);\* Autor para correspondência: [matheus.hernandes@unis.edu.br](mailto:matheus.hernandes@unis.edu.br)

Artigo enviado em 26/09/2016, aceito para publicação em 02/03/2017

DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/revcivet.v3i2.33606>**RESUMO**

Estreptococose é o termo genérico utilizado para designar a doença septicêmica de etiologia bacteriana em peixes, causadas por cocos Gram positivos incluindo nesse grupo, microrganismos dos gêneros *Streptococcus*, a bactéria é patogênica para diversos hospedeiros, como por exemplo, os bovinos e os seres humanos, além de causarem doenças nos peixes. A infecção por esse agente causa nos peixes doença septicêmica e encefalite, a partir disso vários sinais clínicos são perceptíveis, como natação alterada, com rodopios e perda de equilíbrio, lesões de tegumento e músculo semelhante a abscessos, petéquias na superfície corporal, principalmente ao redor da boca, opérculo e nadadeiras, olhos opacos e exoftalmia.

**Palavras-chave:** Bactérias, Piscicultura, Sanidade, Peixes, Microbiologia.**ABSTRACT**

Streptococose is the generic term used to designate the septicemic disease of bacterial etiology in fish caused by Gram-positive cocci including this group, microorganisms of the genus *Streptococcus*, the bacterium is pathogenic to other hosts, such as cattle and humans, besides causing diseases in fish. Infection by this pathogen causes disease in fish septicemic and encephalitis from that various clinical signs are noticeable, as amended swimming with whirling and loss of balance, muscle and integument lesions like abscesses, petechiae on the body surface, especially around the mouth, operculum and fins, eyes dull and exophthalmos.

**Keywords:** Bacteria, Fish Farming, Health, Fish, Microbiology..**INTRODUÇÃO**

Atualmente a aquicultura é o ramo da produção de proteína de origem animal que mais cresce em todo mundo, com uma elevação na produção total de menos de um milhão de toneladas nos anos 1950 para aproximadamente 52,5 milhões de toneladas em 2008. Segundo dados da Food and Agriculture Organization (FAO, 2010) a aquicultura já atende metade da demanda mundial por peixes e outros animais aquáticos, sendo ainda satisfatoriamente capaz

de atender a crescente procura por esse tipo de alimento.

A indústria brasileira de tilápia cresce vigorosamente, com posição de destaque entre os países americanos. Condições climáticas favoráveis e vastos reservatórios hídricos corroboram para a expansão significativa da produção nacional. Se 2% do potencial hídrico do país fosse utilizado para o cultivo de peixes em tanques-rede o Brasil estaria entre os maiores produtores mundiais. O estabelecimento da cadeia produtiva da tilápia propicia o desenvolvimento

*Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v. 3, n. 2, p. 092-097, 2016*

de agroindústrias de processamento, geração de milhares de empregos, maior produção de alimentos, geração de renda e intercâmbio de tecnologias, incrementando o agronegócio nacional (VERA-CALDERÓN e FERREIRA, 2004).

Estreptococose é o termo genérico utilizado para designar as doenças septicêmicas de etiologia bacteriana em peixes causados por cocos Gram positivos incluindo nesse grupo, microrganismos dos gêneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus* e *Carnobacterium*. (MATA *et al.*, 2004a). Essa doença foi primeiramente descrita em 1956 no Japão, onde um surto de septicemia em uma fazenda comercial de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) foi caracterizado (HOSHINA *et al.*, 1958). Desde então, diversas espécies de estreptococos têm sido associadas a processos patogênicos, bem como, um número crescente de espécies de peixes e outros organismos aquáticos cultivados têm sido descritos como susceptíveis a essa enfermidade. (HASSON *et al.*, 2009).

Pertencente à família *Streptococcaceae*, o gênero *Streptococcus* abrange uma ampla gama de espécies bacterianas associadas a processos etiológicos em seres humanos e animais, bem como, microrganismos saprofíticos ou não patogênicos. Atualmente, 67 espécies e 12 subespécies bacterianas são descritas como pertencentes a esse gênero (GLAZUNOVA *et al.*, 2009). Os *Streptococcus* são cocos Gram positivos, com diâmetro de 0,5-2,0 µm, organizados em pares ou cadeias lineares curtas, catalase negativos, não móveis e não formadores de esporos. Além das características fenotípicas, o tipo de hemólise e a sorotipagem baseada na antigenicidade de polissacarídeos capsulares (20 grupos, denominados Grupos de Lancefield) têm sido empregadas para caracterizar as diferentes espécies de *Streptococcus* (SHEWMAKER *et al.*, 2007).

Desde a década de 1930, a bactéria *Streptococcus agalactiae*, também comumente chamada de *Streptococcus* do Grupo B, é uma das

principais causadoras de doenças em seres humanos e animais. Essa bactéria Gram-positiva é responsável por casos de pneumonia, septicemia e meningite em seres humanos neonatos, e possui alta taxa de morbidade em gestantes e mortalidade em adultos imunocomprometidos (JOHRI *et al.*, 2006).

Na medicina veterinária esse microrganismo tem se destacado como causador de mastite clínica e subclínica em bovinos (WAAGE *et al.*, 1999). Patógeno emergente na aquicultura, essa bactéria é responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade em casos de septicemia e meningoencefalite em peixes de água doce, marinhos e estuarinos (EVANS *et al.*, 2002).

Seis espécies têm sido descritas como os principais agentes etiológicos causadores de septicemia e meningoencefalite em peixes: *Streptococcus iniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus parauberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus phocae* e *Streptococcus ictaluri* (HERNÁNDEZ, *et al.*, 2009). Dentre as principais espécies patogênicas para peixes destaca-se *S. iniae* e *S. agalactiae*, as quais causam grandes prejuízos em vários países incluindo o Brasil (BOTREL *et al.*, 2010).

Casos de infecção foram descritas até o momento em mais de 20 espécies de peixes, esporadicamente *S. agalactiae* está associado com casos de doenças em vários outros hospedeiros como aves, camelos, cães, equinos, gatos, rãs, hamsters, camundongos, macacos, dentre outros (GARCIA, *et al.* 2008).

No Brasil, o primeiro relato da ocorrência da doença em peixes foi no ano de 2003, onde foram identificados surtos de estreptococoses em tilapiculturas no Norte do Paraná (SALVADOR, 2008).

Posteriormente, infecções causadas por *S. agalactiae* foram relatadas em tilapiculturas nos estados do Paraná, São Paulo, Espírito Santo, Minas Gerais, Bahia, Ceará (BOTREL *et al.*, 2010).

Atualmente, esse patógeno é considerado o principal risco sanitário para criações comerciais de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no país. Taxas de mortalidades elevadas têm sido verificadas em surtos causados por *S. agalactiae* em tilápias do Nilo e os principais fatores de risco para ocorrência de surtos são aumento da temperatura da água (acima de 27°C), manejo intensivo e altas densidades de estocagem (LIN *et al.*, 2011).

Os processos de seleção e classificação também têm sido caracterizados como desencadeadores de surtos para tilápias do Nilo cultivadas em tanques-rede. Os casos de infecção natural por *S. agalactiae* são observados principalmente em peixes adultos, entretanto, em condições experimentais a doença pode acometer alevinos e juvenis (FIGUEIREDO *et al.*, 2012a).

Os principais sinais clínicos verificados em peixes infectados são melanose, taquipnéia, anorexia, excitabilidade, natação errática e em rodopios, rigidez dorsal, exoftalmia unilateral ou bilateral, ascite e morte súbita. Em casos superagudos esses podem não se manifestar, sendo verificada apenas a ocorrência das mortalidades (LIN *et al.*, 2011).

Em tilápias, as principais alterações patológicas observadas em casos de estreptococose por *S. agalactiae* são pericardite, epicardite, miocardite, endocardite, meningite e septicemia (CHEN *et al.*, 2007).

Devido à importância das infecções por *S. agalactiae* em seres humanos, diversos fatores de virulência e mecanismos envolvidos na patogênese da doença em mamíferos têm sido descritos e caracterizados. Os principais fatores de virulência já descritos para *S. agalactiae* são: as adesinas como, por exemplo, proteínas de ligação ao fibrinogênio FbsA e FbsB, proteína de ligação a fibronectina pavA, C5a peptidase, proteína de ligação a laminina, e as proteínas de pílus; as invasinas  $\beta$ -hemolisina/citolisina, fator CAMP, proteína C- $\alpha$  e proteína de superfície rib; e proteínas com função de evasão do sistema imune tais

como proteína c- $\beta$ , genes da cápsula, C5a peptidase e serina protease cspA (LIN *et al.*, 2011).

Em peixes a patogênese dos processos infecciosos causados por essa bactéria é pouco compreendida. Apesar de ser a mesma espécie bacteriana, as amostras isoladas de peixes apresentam padrão genético distinto das isoladas de seres humanos e bovinos (PEREIRA *et al.*, 2010). Este mesmo trabalho demonstrou que, em condições experimentais, as amostras isoladas de seres humanos são capazes de infectar alevinos de tilápia do Nilo. Esses dados sugerem que isolados de diferentes hospedeiros podem compartilhar fatores de virulência e mecanismos de invasão, envolvidos na patogênese das infecções.

Um dos principais métodos para controlar estreptococoses nas pisciculturas é a antibioticoterapia oral dos peixes. Entretanto, o tratamento é realizado pela via oral e a anorexia é umas das primeiras alterações fisiológicas induzidas pela infecção, sendo essa terapia muitas vezes malsucedida. Este procedimento evita a ocorrência da doença nos peixes não infectados, debela as infecções dos casos que se encontram no início e dos portadores assintomáticos, mas não cura os peixes que já estão apresentando sinais clínicos. (HEUER *et al.*, 2009).

## MATERIAL E MÉTODOS

No período de 2014 a 2015, foram analisados um total de noventa e três peixes de sete propriedades, localizadas no sul de Minas Gerais. Os peixes foram doados de pisciculturas e pesque-pagues, foram transportados em sacos plásticos com oxigênio para laboratório de Doenças de Animais Aquáticos localizado no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Lavras.

No laboratório foram anestesiados segundo Ross e Ross (2008) e Zahl *et al.* (2012); necropsiados e amostras de rim, cérebro, fígado e baço foram semeadas em meio de cultivo, BHI (Brain Heart Infusion – Difco), suplementadas com 5% de sangue ovino desfibrinado as placas colocadas em estufa aeróbica a 27°C por cinco dias.

O DNA genômico bacteriano foi extraído de 20-50 mg dos órgãos através do Kit Qiagen para extração de tecidos, segundo protocolo do fabricante. Todas as amostras foram diluídas em 50 µL de água ultrapura autoclavada. Uma sequência do gene 16S rRNA alvo de *S. agalactiae* foi amplificada utilizando-se um ensaio de real time PCR para quantificação de células equivalentes/DNA bacteriano. Todas as reações de real time PCR foram realizadas em triplicatas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em duas propriedades foram confirmados seis casos de estreptococose por *S. agalactiae*. Os estreptococos são bactérias amplamente distribuídas no ambiente aquático e sua patogenicidade está associada às condições de estresse do hospedeiro, tais como má qualidade da água, manejo inadequado e condições de criação intensiva.

Os estreptococos podem sobreviver mesmo em condições ambientais adversas, possuem predileção durante os meses de verão, e diminuiu durante o outono e inverno entrando em sua forma latente, podendo voltar a ocorrer surtos no próximo verão.

De acordo com Perera *et al.* (1997) baseados no padrão de mortalidade observado em algumas pisciculturas de tilápia no Texas, sugeriram a existência de fonte permanente de estreptococos no meio aquático. Quando as condições são favoráveis, tais como grande quantidade de matéria orgânica, o aumento da temperatura da água e densidade animal elevada ocorre a infecção nos peixes.

Os primeiros surtos da doença no Brasil, com a identificação do agente envolvido, foram realizados por Shama *et al.* (2000) em jundiá *Rhamdia quelen* criados no estado do Rio Grande do Sul. Desde então, os estudos sobre as bactérias que acometem a piscicultura foram intensificados. Apesar do maior número de estudos sobre diagnósticos de agentes causadores da doença, ainda poucas alternativas estão disponíveis para o manejo, controle de infecções bacterianas em peixes no Brasil.

Entre os agentes com maior impacto na tilapicultura brasileira, estão os cocos Gram positivos causadores de meningoencefalite. As espécies *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae* e *S. iniae* foram identificados em diferentes regiões do Brasil (FIGUEIREDO *et al.*, 2012b).

A transmissão desta doença ocorre por contato direto entre peixes infectados com peixes saudáveis, e por contato indireto, pela bactéria presente na água, permitindo que a doença se manifeste gradativamente em diferentes tanques-rede de uma mesma propriedade (FIGUEIREDO *et al.*, 2007a).

O diagnóstico pode ser realizado pela associação dos sinais clínicos e com os achados laboratoriais. Peixes doentes devem ser coletados e encaminhados vivos para os laboratórios de análise. O diagnóstico pode ser realizado por técnicas convencionais, ou cultivos em meios seletivos ou ainda por técnicas de biologia molecular (PCR), por exemplo (FIGUEIREDO *et al.*, 2007a).

O tratamento tático deve ser realizado durante a fase de surto, com a administração de antibiótico a base de florfenicol, que é efetivo contra diversos tipos de bactérias e possui boa estabilidade na água, e sendo que no Brasil somente o florfenicol é aprovado para uso em pisciculturas.

O antibiótico deve ser usado na ração o que muitas vezes impossibilita que o animal doente ingira o alimento, pois quando a doença já está instalada o animal não se alimenta. (FIGUEIREDO *et al.*, 2007b).

O controle da doença deve ser realizado através da manutenção adequada das condições ambientais e da boa nutrição nos peixes; descarte de animais mortos ou sintomáticos (com exoftalmia, pele escurecida, ascite e perda de apetite, por exemplo); e realizar com frequência testes laboratoriais para certificar que a produção está isenta do agente bacteriano (FIGUEIREDO *et al.*, 2007b).

## CONCLUSÃO

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

## AGRADECIMENTOS

A FAPEMIG e ao grupo UNIS

## REFERÊNCIAS

- AMERICAN TILAPIA ASSOCIATION. **Tilapia situation and outlook report**. Califórnia, 1998.
- BOTREL, M. A.; HAENNI, M.; MORIGNAT, E.; SULPICE, P.; MADEC, J. Y.; CALAVAS, D. Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhône-Alpes, France. **Foodborne Pathog. Dis.**, 7, pp. 479–487, 2010.
- CHEN, C. Y.; CHA, C. B.; BOWSER, P. R. Comparative histopathology of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus agalactiae*-infected tilapia. **Bulletin of The European Association of Fish Pathologists**, v. 27, n. 1, p. 2-9, 2007.
- EVANS, J. J.; KLESIUS, P. H.; GILBERT, P. M. *et al.* Characterization of  $\beta$ -haemolytic Group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day), in Kuwait. **Journal of Fish Diseases**, v. 25, n. 9, p. 505-513, 2002.
- FIGUEIREDO, H. C. P. *et al.* Estreptococose em tilápia do Nilo - parte 1. **Panorama da Aquicultura**, v. 19, n. 103, set./ out. 2007a.
- FIGUEIREDO, H. C. P. *et al.* Estreptococose em tilápia do Nilo - parte 2. **Panorama da Aquicultura**, v. 17, n. 104, p. 42-45, nov./ dez. 2007b.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, 197p. 2010.
- GARCIA, J. C.; KLESIUS, PHILLIP, H.; EVANS, JOYCE, J.; SHOEMAKER, CRAIG, A. Non-infectivity of cattle *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 281, n. 1–4, p. 151-154, 2008.
- GLAZUNOVA, O. O.; RAOULT, D.; ROUX, V. Partial sequence comparison of the rpoB, sodA, groEL and gyrB genes within the genus *Streptococcus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. 9, p. 2317-2322, 2009.
- HASSON, K. W.; WYLD, E. M.; FAN, Y. *et al.* Streptococcosis in farmed *Litopenaeus vannamei*: a new emerging bacterial disease of penaeid shrimp. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 86, n. 2, p. 93-106, 2009.
- HERNÁNDEZ, E.; FIGUEROA, J.; IREGUI, C. Streptococcosis on a red tilapia, *Oreochromis* sp., farm: a case study. **Journal of Fish Diseases**, v. 32, n. 3, p. 247-252, 2009.
- HEUER, O. E.; KRUSE, H.; GRAVE, K. *et al.* Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 8, p. 1248-1253, 2009.
- HOSHINA, T.; SANO, T.; MORIMOTO, Y. A. *Streptococcus* pathogenic to fish. **Journal of Tokyo University of Fisheries**, v. 44, p. 57-68, 1958.
- JOHRI, A. K.; PAOLETTI, L. C.; GLASER, P. *et al.* Group B *Streptococcus*: global incidence and vaccine development. **Nature reviews. Microbiology**, v. 4, n. 12, p. 932-42, dez 2006.
- LIN, F. P. Y.; LAN, R.; SINTCHENKO, V. *et al.* Computational Bacterial Genome-Wide Analysis of Phylogenetic Profiles Reveals Potential Virulence

- Genes of *Streptococcus agalactiae* **PLoS ONE**, v. 6, n. 4, p. e17964, 2011.
- MATA, A. I.; GIBELLO, A.; CASAMAYOR, A.; BLANCO, M. M.; DOMÍNGUEZ, L.; FERNÁNDEZ, J. F. G. Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm water Streptococcosis in fish. **Applied and Environmental Microbiology**, 70, 3183-3187, 2004.
- PERERA, R. P.; JOHNSON, S. K.; LEWIS, D. H. Epizootiological aspects of *Streptococcus iniae* affecting tilapia in Texas. **Aquaculture**, v.152, p.25-33, 1997.
- PEREIRA, U. P.; MIAN, G. F.; OLIVEIRA, I. C. M. et al. Genotyping of *Streptococcus agalactiae* strains isolated from fish, human and cattle and their virulence potential in Nile tilapia. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 1-2, p. 186-192, 2010.
- ROSS, L. G. e ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science. 236p. 2008.
- SALVADOR, R. Imunização e inflamação por *Streptococcus agalactiae* em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração suplementada com parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*. 136f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Jaboticabal. 2008.
- SHEWMAKER, P. L. et al. *Streptococcus ictaluri* sp. Ap. nov., isolada de Channel Catfish *Ictalurus punctatus* broodstock. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 57, n. 7, p. 1603-1606, 2007.
- VERA-CALDERÓN, L. E.; FERREIRA, A. C. Estudo da economia de escala na piscicultura em tanque-rede, no estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v. 34, n. 1, p. 7-17, 2004.
- WAAGE, S.; MØRK, T.; RØROS, A. et al. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 4, p. 712-9, abr 1999.
- ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiology Biochemical**. v. 38, p. 201-218, 2012.