

DIAGNÓSTICO E CARACTERIZAÇÃO DE *Lactococcus garvieae* EM TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*) NO ESTADO DO CEARÁ

Kauane Mileide Souza do Espírito SANTO^{1,4}, Ellen Meneguzzi RODRIGUES^{2,4}, Larissa CHICOSKI^{2,4}, Natália Amoroso FERRARI^{2,4}, Ulisses de Pádua PEREIRA^{3,4}

¹ Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – UEL, Londrina, PR, Brasil.

³ Prof. Adj. do Dept. de Med. Vet. Preventiva da UEL, Coordenador do LABBEP, Londrina, PR, Brasil.

⁴ Endereço: Laboratório de Bacteriologia em Peixes – LABBEP. R. Chuva de Ouro, s/n, Campus Universitário, Universidade Estadual de Londrina – UEL, CEP: 86.057-970, Londrina, PR, Brasil. e-mail: upaduapereira@uel.br.

Palavras-chave: isolamento; lactococose; microbiologia; resistência; piscicultura.

INTRODUÇÃO

A aquicultura mundial é o setor da produção animal que apresenta uma das maiores taxas de crescimento nas últimas décadas (FAO, 2020). No Brasil, houve aumento de 4,7% na produção de peixes de cultivo em 2021 se comparado a 2020 (PEIXE BR, 2022). Juntamente com essa expansão, problemas sanitários como manejo inadequado e má qualidade da água predis põem o surgimento de doenças, principalmente de etiologia bacteriana (MALLASEN *et al.*, 2008; KUBITZA, 2009).

A lactococose é uma doença emergente que atinge a piscicultura marinha e de água doce, principalmente trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e rabo amarelo (*Seriola quinqueradiata*). O agente patogênico, *Lactococcus garvieae*, é uma bactéria Gram-positiva de cocos ovoides, denominada, até a década de 90, como *Enterococcus seriolicida* (TEIXEIRA, 1996; ZLOTKIN, 1998; FEFER *et al.*, 1998). Essa bactéria possui dois sorotipos, KG+ e o KG-, sendo o último mais virulento devido a presença de uma cápsula que confere resistência para opsonofagocitose (SOLTANI *et al.*, 2021). Os principais sinais clínicos apresentados são exoftalmia, conjuntivite, melanose, natação errática, anorexia, hemorragia interna e congestão vascular (BWALYA *et al.*, 2021).

Surtos da doença em outras espécies se tornaram relevantes. Dentre elas está a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), que apresenta sinais clínicos graves quando a infecção ocorre em temperatura acima de 20°C (VENDRELL *et al.*, 2006; BASTARDO, 2012), ocasionando mortalidade, rebaixamento de carcaças, devido a lesões cutâneas, e redução da taxa de crescimento, resultando em perdas econômicas (BWALYA *et al.*, 2021). No Brasil o primeiro

isolamento e caracterização de *L. garvieae* ocorreu no ano de 2009, em tilápia do Nilo e pintado (*Pseudoplathystoma corruncans*) (EVANS, 2009).

Com isso, esse trabalho teve o objetivo de caracterizar a etiologia de um surto de mortalidade em tilápias do estado do Ceará, e testar a resistência aos antibacterianos dos sorovares destas bactérias, enviadas para o Laboratório de Bacteriologia em Peixes (LABBEP) da Universidade Estadual de Londrina (UEL) em agosto de 2021.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados, de forma asséptica, fragmentos de olhos, cérebro, rim cranial, fígado e baço de 11 animais; em seguida, estriados diretamente em placas de Ágar cistina coração e Ágar sangue. Posteriormente, as placas foram incubadas por até 96 horas a 28°C. Foi observada a morfologia das colônias, seguidas de coloração (Gram) e testes fenotípicos catalase, esculina, urease e NaCl 6,5% para classificação inicial do patógeno (HOLT *et al.*, 1994). Por fim, as amostras foram submetidas a Reações em Cadeia da Polimerase (PCR) seguidas por sequenciamento do gene 16S para determinar a espécie bacteriana (WEISBURG *et al.*, 1991) e PCR espécie-específica para *L. garvieae* (DANG, 2012). Para determinação da susceptibilidade do microrganismo aos antimicrobianos foi realizada a técnica de antibiograma por disco difusão (CLSI 2018) com amoxicilina, enrofloxacina, estreptomicina, florfenicol, gentamicina, penicilina e tetraciclina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 11 animais analisados observou-se crescimento bacteriano nas sementeiras de cérebro e baço. Os microrganismos isolados foram caracterizados como Gram positivos através da coloração. Os testes fenotípicos foram positivos para urease, sem produção de catalase, oxidase e gás. Essas características foram similares às descritas na literatura como *Enterococcus spp.* / *Lactococcus spp.* (HOLT *et al.*, 1994). As técnicas de PCR e sequenciamento confirmaram a identificação de *L. garvieae*. O resultado do antibiograma determinou que a bactéria é sensível a todos os antimicrobianos testados.

Em 2018, um surto da doença foi relatado em tilápias do Nilo cultivadas em tanques rede de água salobra na Índia. Os peixes afetados morreram gradualmente, atingindo mortalidade cumulativa de 75% em 1 mês. KAV e ERGANIS (2008) também avaliaram isolados de *L. garvieae* em trutas arco-íris. Assim como nos nossos achados, todas as amostras foram sensíveis a penicilina, amoxicilina e florfenicol. Apesar de todas as amostras desse

estudo serem sensíveis aos antimicrobianos testados, sabe-se que o uso dessas drogas em subdosagens reduz a eficiência do tratamento e estimula seleção de populações microbianas resistentes a antibióticos, o que é indesejado (FUKUSHIMA, 2014).

CONCLUSÃO

O agente etiológico identificado foi *Lactococcus garvieae* e o mesmo não apresenta perfil de resistência para os antimicrobianos testados.

REFERÊNCIAS

- BASTARDO, A.; RAVELO, C.; CASTRO, N.; CALHEIROS, J.; ROMALDE, J.L. 2012. Effectiveness of bivalent vaccines against *Aeromonas hydrophila* and *Lactococcus garvieae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Fish & Shellfish Immunology*, 32: 756-761. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.01.028>.
- BWALYA, P.; HANG'OMBE, B.M.; EVENSEN, Ø.; MUTOLOKI, S. 2021. *Lactococcus garvieae* isolated from Lake Kariba (Zambia) has low invasive potential in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Fish Diseases*, 44(6): 721-727. <https://doi.org/10.1111/jfd.13339>.
- DANG, H.T.; PARK, H.K.; MYUNG, S.C.; KIM, W. 2012. Development of a novel PCR assay based on the 16S-23S rRNA internal transcribed spacer region for the detection of *Lactococcus garvieae*. *Journal of Fish Diseases*, 35(7): 481-487. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2012.01382.x>.
- EVANS, J.J.; KLESIUS, P.H.; SHOEMAKER, C.A. 2009. First isolation and characterization of *Lactococcus garvieae* from Brazilian Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix & Agassiz). *Journal of Fish Diseases*, 32(11): 943-951. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01075.x>.
- FAO - Food and Agriculture Organization. 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome. 244p. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- FEFER, J.J.; RATZAN, K.R.; SHARP, S.E.; SAIZ, E. 1998. *Lactococcus garvieae* endocarditis: report of a case and review of the literature. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 32(2):127-130. [https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(98\)00065-0](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(98)00065-0).
- FUKUSHIMA, H.C.S. 2014. *Eficácia de duas formulações de vacinas autógenas para o controle da lactococose em surubins híbridos Pseudoplatystoma corruscans x Pseudoplatystoma reticulatum*. Jaboticabal. 88f. (Tese de doutorado. Centro de Aquicultura de Jaboticabal - CAUNESP). Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/115894>>.
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STANLEY, J.T.; WILLIAM, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, pp.786-788.
- KAV, K.; ERGANIS, O. 2008. Antibiotic susceptibility of *Lactococcus garvieae* in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 52: 223-226
- KUBITZA, F. 2009. Manejo na produção de peixes. *Panorama da Aquicultura*, 19:14-23. 2009.
- MALLASEN, M.; BARROS, H.P.; YAMASHITA, E.Y. 2008. Produção de peixes em tanques-rede e a qualidade da água. *Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária*, 1: 47-51.

- PEIXE BR. 2022. *Anuário PeixeBr da Piscicultura. Associação Brasileira da Piscicultura*. [s. l.]. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>>.
- SOLTANI, M.; BALDISSEROTTO, B.; HOSSEINI SHEKARABI S.P.; SHAFIEI, S.; BASHIRI, M. 2021. Lactococcosis a re-emerging disease in aquaculture: disease significant and phytotherapy. *Veterinary Sciences*, 8(9): 181. <https://doi.org/10.3390/vetsci8090181>.
- TEIXEIRA, L.M.; MERQUIOR, V.L.C.; VIANNI, M.C.; CARVALHO, M.G.S.; FRACALANZZA, S.E.L.; STEIGERWALT, A.G.; BRENNER, D.J.; FACKLAN, R.R. 1996. Phenotypic and genotypic characterization of atypical *Lactococcus garvieae* strains isolated from water buffalos with subclinical mastitis and confirmation of *L. garvieae* as a senior subjective synonym of *Enterococcus seriolicida*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(3): 664-668. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-3-664>.
- VENDRELL, D.; BALCÁZAR, J.L.; RUIZ-ZARZUELA, I.; DE BLAS, I.; GIRONÉS, O.; MÚZQUIZ, J.L. 2006. *Lactococcus garvieae* in fish: a review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 29(4): 177-198. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2006.06.003>.
- WEISBURG, W.G.; BARNS, S.M.; PELLETIER, D.A.; LANE, D.J. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173(2):697-703. <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>.
- ZLOTKIN, A.; ELDAR, A.; GHITTINO, C.; BERCOVIER, H. 1998. Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(4): 983-985. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.4.983-985.1998>.