



## ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS MARINHAS E COSTEIRAS

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura Sustentável

**Pesquisa de Bactérias do Género *Vibrio* Patogénicas em Tilápia *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) Cultivada em Hapas Montadas no Tanque Escavado de Água Salobra no Distrito de Inhassunge - Província da Zambézia.**



**Autor: Mauro Gabriel Uqueio**



**ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS MARINHAS E COSTEIRAS**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura Sustentável

**Pesquisa de bactérias do género *Vibrio* spp patogénicas em tilápia *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) cultivada em hapas montadas no tanque escavado de água salobra no Distrito de Inhassunge - Província da Zambézia.**

Autor: **Mauro Gabriel Uqueio**

**SUPERVISOR:**

Msc. Aly Salimo Omar Muadica  
(Mestre em Microbiologia e Parasitologia)

**CO-SUPERVISORA:**

Dra. Valera Lucena Dias  
(PhD em Biologia Celular e Molecular)

**Quelimane, Março de 2018**

## CERTIFICAÇÃO

A assinatura abaixo certifica o parecer completo dos supervisores e a recomendação para aceitação pela Universidade Eduardo Mondlane intitulada: “**Pesquisa de bactérias do género *Vibrio* spp patogénicas em tilápia *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) cultivada em hapas montadas no tanque escavado de água salobra no Distrito de Inhassunge - Província da Zambézia**”, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Aquacultura Sustentável.

### Supervisores:

**Msc. Aly Salimo Omar Muadica**

\_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Dra. Valera Lucena Dias**

\_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## DECLARAÇÃO

Eu, **Mauro Gabriel Uqueio**, declaro que esta dissertação é fruto do trabalho da minha autoria e nunca foi apresentado e não será apresentado em qualquer outra Universidade para a obtenção de nenhum grau acadêmico.

As contribuições dos outros autores neste trabalho de dissertação foram citados e referenciados.

Aceito que este trabalho de dissertação seja fotocopiado para distribuição gratuita nas bibliotecas escolares, o título e o resumo podem ser usado por outras organizações que se sintam interessados.

Assinatura

---

*(Mauro Gabriel Uqueio)*

## **Dedicatória**

Dedico a minha dissertação do mestrado:

Aos meus filhos: Máudia e Marley

## **Agradecimentos**

Agradeço ao meu supervisor, mestre Aly Salimo Muadica, pela sua inestimável paciência e precisas instruções para materialização deste trabalho.

Agradeço a minha supervisora Dra. Valera Dias, pela oportunidade dada, pela compreensão e pelas sugestões dadas para melhoria e materialização deste trabalho.

Ao mestre Vicente Ernesto pela paciência manifestada durante a realização dos meus trabalhos na farma.

Professor Doutor António Hogueane pelo incentivo que me deu para seguir a minha paixão pela patologia em aquacultura, principalmente a microbiologia.

Expresso a minha satisfação a todos os trabalhadores e técnicos da Aquapesca pelo incentivo e encorajamento durante a realização da pesquisa.

Ao meu colega de profissão Edson Carlos Tembe pela expressiva ajuda oferecida durante as práticas laboratoriais.

Ao Dr. Fabião Jorge, pela colaboração na elaboração de metodologias de identificação e confirmação dos vibrios.

Aos meus pais pela assistência, educação, pelo encorajamento e afecto dentro de todas as dificuldades que enfrentaram, “ndzile ka nwina khani mambo.”

A todos os docentes do curso de mestrado e CTA da Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeira - UEM

Ao meu amigo, colega e irmão, Miguel Macamo endereço o meu obrigado pela ajuda, encorajamento, simpatia que manifestou em todos os momentos partilhados

Devo obrigado aos meus colegas do curso Manuel Bueno, Agostinho Mahanjane, Jrosa Simbine, Isabel Mucavele, Lucrência Jotamo, Helton da Conceição e Celso Maulequele, e a todos que directa ou indirectamente contribuíram de forma imensurável na minha formação.

## Resumo

A piscicultura tem registado um crescimento acentuado em Moçambique. Esta actividade contribui para a segurança alimentar, crescimento da economia, criação de postos de trabalho e redução da pressão sobre as espécies do ambiente natural. As infecções por víbrios são factores limitantes para a piscicultura sustentável, pois criam um retrocesso na produção e comercialização dos produtos de aquacultura ao nível mundial, são um risco para a saúde humana e constituem um problema significativo para o desenvolvimento económico do sector, devido a altas taxas de mortalidade e perda de qualidade de carne. O objectivo deste trabalho é pesquisar bactérias do género *Vibrio* spp patogénicas em tilápia *Oreochromis mossambicus* cultivada em tanques escavados de água salobra no Distrito de Inhassunge. Foram analisados 65 peixes com o peso de 50-120 gramas nos meses de Abril e Junho de 2016, com auxílio de um puçá. As amostras foram transportadas em bolsas estéreis e em caixas isotérmicas para o laboratório de inspecção do pescado. Fez-se a biometria e foram tomadas 20 gramas de músculo incluindo o cérebro do peixe para a análise microbiológica. Os víbrios foram isolados em TCBS agar e confirmadas através da API 20E e foi determinada a prevalência. A prevalência de *Vibrio* spp nos peixes amostrados foi de 38.5 %. As espécies de víbrio identificadas foram *V. vulnificus* (15.4 %), *V. alginolyticus* (12.3 %), *V. fluvialis* (7.7 %) e *V. mimicus* (3.1 %), Estas bactérias podem causar doenças nos peixes durante o cultivo, podendo liderar altas taxas de mortalidade, principalmente quando os peixes estiveram em condições de estresse. As espécies de bactérias do género *Vibrio* isoladas nos peixes representam um certo risco à saúde humana.

**Palavras-chaves:** *Piscicultura, Tilapia "Oreochromis mossambicus"; Vibrio, prevalência.*

## Abstract

Fish farming has grown in Mozambique. This activity contributes to food security, economic growth, job creation and reduced pressure on species in the natural environment. *Vibrio* infections are limiting factors for sustainable fish farming because they create a setback in the production and marketing of aquaculture products worldwide is a risk to human health and constitute a significant problem for the economic development of the sector due to high mortality rates and loss of meat quality. The objective of this work is to investigate bacteria of the genus *Vibrio* spp pathogenic in tilapia *Oreochromis mossambicus* cultured in brackish water tanks in the Inhassunge District. A total of 65 fish weighing 50-120 grams were analyzed between April and June of 2016, with the aid of a shovel. The samples were transported in sterile pouches and in isothermal boxes to the fish inspection laboratory. Biometry was performed and 20 grams of muscle were taken including the fish brain for microbiological analysis. The vibrios were isolated on TCBS agar and confirmed through API 20E and the prevalence was determined. The prevalence of *Vibrio* spp in the fish sampled was 38.5%. *Vibrio* species isolated were *V. vulnificus* (15.4%), *V. alginolyticus* (12.3%), *V. fluvialis* (7.7%) and *V. mimicus* (3.1%). These bacteria can cause disease in fish during cultivation, lead to high mortality rates, especially when the fish were under stress conditions. Species of the genus *Vibrio* isolated in fish represent a certain risk to human health.

**Key words:** Fish-farming, Tilapia "*Oreochromis mossambicus*", *Vibrio* and prevalence.



## LISTA DE FIGURAS

## PÁGINA

<b>Figura 1:</b> Produção total aquícola em Moçambique entre 1980-2015 .....	7
<b>Figura 2:</b> Produção piscícola em Moçambique entre 2010-2015. ....	8
<b>Figura 3:</b> Produção aquícola de tilápias em Moçambique entre 2010-2015. ....	10
<b>Figura 4:</b> Mapa do Distrito de Inhassunge, ilustrando potenciais área de aquacultura (coloração esverdeada). ....	22
<b>Figura 5:</b> Fases de preparação e enriquecimento da amostra. ....	25
<b>Figura 6:</b> Prevalência de espécies de bactéria do género <i>Vibrio</i> isoladas de <i>Oreochromis mossambicus</i> cultivada em água salobra. ....	32

## LISTA DE TABELAS

## PÁGINA

<b>Tabela 1:</b> Principais agentes bacterianos que causam doenças em peixes. ....	13
<b>Tabela 2:</b> Plano de amostragem .....	24
<b>Tabela 3:</b> Parâmetros ambientais da água no tanque de cultivo. ....	30
<b>Tabela 4:</b> Características bioquímicas das bactérias isoladas. ....	31

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

API - Analytical Profile Index

FAO - Food and Agriculture Organization Of The United Nations

GAFSP - Global Agriculture and Food Security Program

IDEPA - Instituto Nacional de Desenvolvimento de Pesca e Aquicultura

INAQUA - Instituto Nacional de Desenvolvimento da Aquicultura

INIP - Instituto Nacional de Inspeção do Pescado

LD – Dose letal

MP - Ministério das Pescas

MIMAIP - Ministério do Mar, Águas Interiores e Pescas

OF-medium - Oxidative-Fermentative Medium

PDCF - Programme Document Common Fund

PTM – Procedimento Técnico de microbiologia

TCBS - Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose

UFBA - Universidade Federal da Bahia

## Índice

	<b>Página</b>
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. Objectivos.....	3
1.1.1. Objectivo geral .....	3
1.1.2. Objectivos específicos.....	3
1.2. Problematização .....	4
1.3. Justificativa .....	5
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	6
2.1. Aquacultura em Moçambique .....	6
2.1.1. Piscicultura em Moçambique .....	7
2.1.2. Cultivo de tilápia .....	9
2.2. Doenças na piscicultura .....	10
2.2.1. Doenças em tilápias .....	13
2.2.1.1. Vibrioses em tilápias.....	14
2.3. Zoonoses transmitidas por peixes .....	15
2.3.1. Vibrioses nos humanos .....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	21
3.1. Descrição da Área de Estudo .....	21
3.4. Coleta de amostra .....	23
3.5. Análises microbiológicas.....	24
3.5.1. Preparação e enriquecimento da amostra .....	24
3.5.2. Isolamento das bactérias .....	26
3.5.3. Identificação das espécies de bactérias.....	26
3.6. Análise de dados .....	29
4. RESULTADOS .....	30
4.1. Condições de cultivo e dados biométricos dos peixes .....	30
4.2. Isolamento e identificação das bactérias do género <i>Vibrio</i> spp: .....	30
4.3. Prevalência de <i>Vibrio</i> spp em tilápia <i>Oreochromis mossambicus</i> .....	32
5. DISCUSSÃO .....	33

6.	CONCLUSÕES.....	39
7.	RECOMENDAÇÕES.....	40
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41
9.	ANEXOS .....	51

## 1. INTRODUÇÃO

A aquacultura tem vindo a crescer em quase todos os continentes, com excepção da Oceânia. Em 2014, contribuiu com 44.1% de produção mundial, sendo que os maiores produtores são a China, Indonésia, Índia, Vietname e Bangladesh. A piscicultura e a carcinicultura são as actividades que mais contribuem em termos de produção global no subsector de aquacultura (FAO, 2016).

Segundo a FAO, (20116), a África contribuiu para a produção global em aquacultura com cerca 2,32% em 2014. O maior produtor é Egipto (1.54%), seguido Nigéria (0.42%), este último é o maior produtor da África Subsaariana. Maior parte desta actividade é praticada nas águas interiores (FAO, 2017a), dominada por cultivo de peixes, com apenas uma pequena fracção de camarão marinho e moluscos marinhos (FAO, 2016).

Em Moçambique a aquacultura é representada maioritariamente pela piscicultura, porém esta actividade ainda é pouco desenvolvida (MP actualmente designado por MIMAIP, 2015). A produção nacional aquícola contribuiu em 0.46% do pescado em 2014 e 0,39% em 2015 (MIMAIP, 2016).

Maior parte das pisciculturas existentes em Moçambique são extensivas e de pequena escala (Boane, 2008), de água doce, viradas para o consumo familiar e para o mercado interno. As pisciculturas de águas marinhas são viradas para a exportação. As espécies mais cultivadas são *Oreochromis niloticus*, *O. mossambicus*, *Tilapia rendalli*, *Cyprinus carpio* e *Ctenopharyngodon idella*. *O. mossambicus*, (tilápia mossabicana) é a espécie mais utilizadas na piscicultura em Moçambique (INAQUA, 2010).

A tilápia é um peixe com grande potencial para a piscicultura pois tem um crescimento rápido, alimenta-se dos itens básicos da cadeia trófica e de grande variedade de alimentos de origem animal ou vegetal, tem a capacidade fisiológica de se adaptar em diferentes ambientes e sistemas de produção, tolera baixos teores de oxigénio dissolvido e é resistente a doenças (El-Sayed, 2006). No entanto, do ponto de vista higiénico-sanitário, estas características são uma ameaça uma vez que podem reduzir o rigor no manuseio dos tanques do cultivo, propiciando a ocorrência de contaminação por bactérias, vírus e fungos que podem causar infecções nos peixes e desencadear a ocorrência de zoonoses (Rodrigues, 2007).

As infecções bacterianas têm sido um dos factores limitantes para a aquacultura sustentável (Sharma *et al.*, 2014). O surto de doenças, especialmente aquelas causadas por *Vibrio* spp tem criado um retrocesso na produção e comercialização dos produtos de aquacultura ao nível mundial, pois são um risco para a saúde humana e constituem um problema significativo para o desenvolvimento económico do sector, quer pelas altas taxas de mortalidade quer pela perda de qualidade de carne (Sankar *et al.*, 2012; Verschuere *et al.*, 2000; Chatterjee e Haldar, 2012; Tanekhy, 2015).

As tilápias, apesar de serem resistentes a doenças, o sucesso do seu cultivo pode ser afectado por doenças bacterianas causadas por *Vibrio* spp, *Aeromonas* spp, *Streptococcus* sp, *Pseudomonas fluorescens*, e *Edwardsiella* sp. As vibrioses têm merecido uma atenção especial quando o cultivo é feito em ambiente de água salgada ou salobra (Immanuel *et al.*, 2009).

Em Moçambique o consumo anual de peixe *per capita* é de 12 kg/ano por habitante, porém este valor está abaixo do recomendado que é de 18 kg/ano por habitante (MIMAIP, 2016), daí que o País aposta na piscicultura pois é alternativa mais adequada para atingir taxas aceitáveis de consumo da proteína do peixe e reduzir os índices de subnutrição.

Assim, o desenvolvimento e disseminação da aquacultura são prioridades do Governo de Moçambique, na medida em que esta actividade contribui para a segurança alimentar, o crescimento da economia através de geração de divisas, criação de postos de trabalho e redução da pressão sobre as espécies do ambiente natural. Várias estratégias têm sido implementadas para o desenvolvimento de aquacultura, principalmente o cultivo de Tilápia *Oreochromis mossambicus* (Plano Director das Pescas 2010 – 2019), incentivando a prática de piscicultura de pequena escala, em quase todo o País.

Em algumas regiões costeiras de Moçambique próximas dos estuários os piscicultores captam água nestes mananciais para abastecer os seus tanques. Um dos maiores problemas relacionados com o cultivo de tilápia em águas com salinidade elevada é a incidência de doenças. O estresse e lesões físicas relacionadas com a manipulação são condições principais de pré-disposição de doenças em tilápias nestes ambientes (Suresh e Lin, 1992).

Portanto, o presente trabalho visa pesquisar bactérias do género *Vibrio* spp patogénicas em tilápia (*Oreochromis mossambicus*) cultivada em tanques escavados de água salobra no Distrito de Inhassunge - Província de Zambézia.

## **1.1.Objectivos**

### **1.1.1. *Objectivo geral***

- Pesquisar bactérias do género *Vibrio* patogénicos em tilápia moçambicana (*Oreochromis mossambicus*) cultivada em tanques escavados no Distrito de Inhassunge - Província de Zambézia.

### **1.1.2. *Objectivos específicos***

- Isolar e identificar as bactérias do género *Vibrio* spp;
- Determinar a prevalência de *Vibrio* spp em tilápias (*Oreochromis mossambicus*);

## **1.2.Problematização**

Em Moçambique, pouco se sabe sobre a ocorrência de víbrios patogénicos em tilápias de aquacultura bem como o risco que este peixe pode oferecer à saúde pública, principalmente quando o cultivo é feito em água salgada ou salobra.

A actividade piscícola em Moçambique tem vindo a crescer, principalmente o cultivo de tilápia. Esse crescimento ainda não é paralelo às pesquisas de agentes patogénicos bacterianos que podem pôr em causa o sucesso desta actividade. Nalguns distritos costeiros da Zambézia a tilápia tem sido cultivada em águas salobras. Porém este ambiente é o habitat natural de bactérias do género *Vibrio* que tem sido relatado como agentes patogénicos dos peixes incluindo as tilápias e este género é responsável por altas taxas de mortalidade nos sistemas de cultivo. Além disso, estas bactérias, são responsáveis por doenças gastrointestinais e infecções nos humanos cujo risco aumenta na medida em que aumenta a inclusão de peixe na dieta humana confeccionado de formas diversificadas tais como pratos de peixe fresco cru, marinado, mal cozido.

### **Pergunta de estudo:**

Será que as tilápias cultivadas em água salobra estão infectadas por bactérias do género *Vibrio*?



### 1.3. Justificativa

A aquicultura tem vindo a crescer no país, a medida em que a actividade aquícola intensifica e expande, os problemas de doenças também aumentam. Estudos sobre a microbiota dos peixes em cultivo são necessários para monitoramento da saúde destes animais e da saúde pública. Fazem parte da microbiota dos peixes as bactérias, vírus, protozoários e fungos. Geralmente, as bactérias do género *Vibrio* em condições adequadas de cultivo são assintomáticas nos peixes, porém qualquer alteração dessas condições podem liderar uma morte massiva destes animais causando prejuízos económicos elevados.

As infecções por víbrios em humanos relacionados com o consumo de peixes podem implicar um efeito adverso no mercado deste peixe, uma vez que pode reduzir o consumo, causando perdas de vendas e conseqüentemente conduzir a falência do projecto (Strom e Paranjpye, 2000). A fim de proporcionar uma capacidade preditiva para possíveis surtos de doença e uma oportunidade para conceber acções preventivas, orientar tanto o aquicultor bem como o consumidor sobre alguns cuidados que deve levar em conta quando se trata de organismos cultivados, é necessária a pesquisa destas bactérias em peixes aparentemente saudáveis.

A microbiota da tilápia *O. mossambicus* em Moçambique é menos conhecida, muito menos a ocorrência de *Vibrio* spp patogénicos em tilápias cultivadas em águas salobras. Dos poucos estudos feitos sobre víbrios em organismos aquáticos destaca-se a pesquisa feita por Collin *et al.* (2012) em moluscos bivalves na Baía de Maputo. Os víbrios têm sido isolados em altas densidades em organismos marinhos tais como corais, peixes, moluscos, esponjas, camarão e plâncton (Thompson *et al.*, 2004). É nesta perspectiva que surge o presente trabalho centrado em pesquisar bactérias do género *Vibrio* patogénicos em tilápia moçambicana (*Oreochromis mossambicus*) cultivada em tanques escavados no Distrito de Inhassunge - Província de Zambézia, bem como o significado destas bactérias na saúde pública.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Aquacultura em Moçambique

A produção aquícola mundial tem vindo a crescer. Na África Subsaariana, na qual Moçambique faz parte, registou-se um crescimento de na ordem dos 21 % de produção aquícola entre 2004 a 2014 (FAO, 2017a).

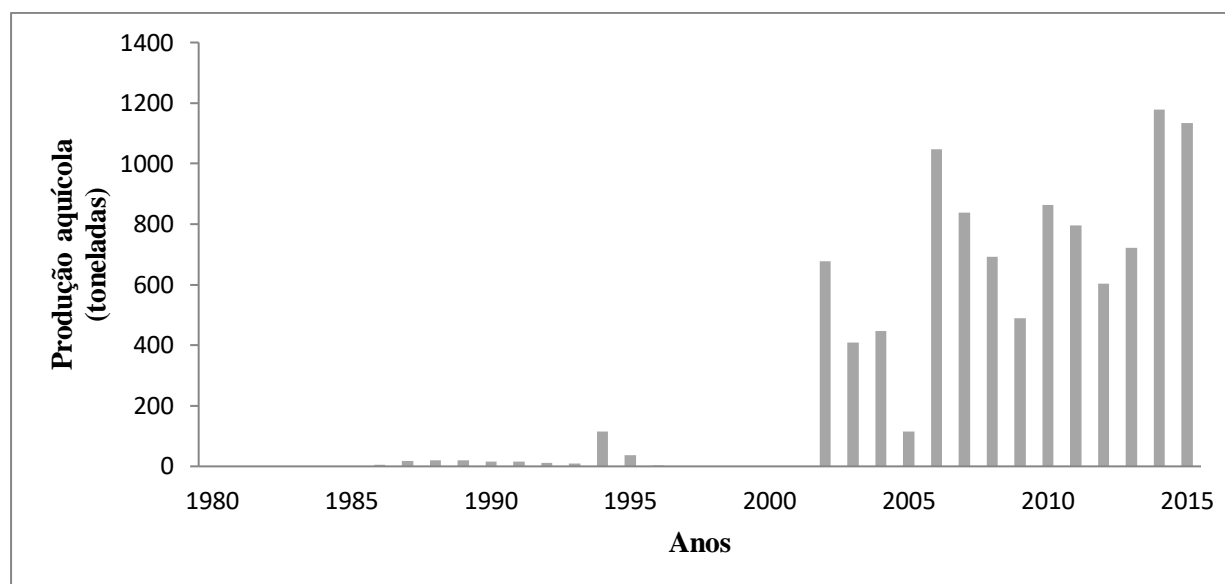
Em 2014, a produção aquícola global na África Subsaariana foi de 0.75% (FAO, 2016; FAO, 2017a), a Nigéria é considerado maior produtor desta região, seguido de Uganda e Gana. Estes três países contribuíram em cerca de 83% da produção total em 2014. O bagre africano, as tilápias e os ciprinídeos são as espécies mais cultivadas nas águas interiores (86% da produção total em 2014) (FAO, 2016; FAO, 2017a).

Em Moçambique, antes de 1990 a aquacultura estava confinada a água doce e associadas as actividades agrícolas. Nos últimos 20 anos tem surgido empresas dedicadas ao cultivo de camarão marinho, algas e outras espécies de peixe nas províncias de Cabo delgado, Nampula, e Sofala (PDCF, 2013). Nos últimos 4 anos maior parte da produção aquícola é proveniente da aquacultura de pequena escala praticada na água doce, e a contribuição da aquacultura na produção nacional do pescado não foi superior a 0.5%. Entretanto, existem apenas três farmas comerciais de aquacultura de camarão (Aquapesca localizada na Zambézia, Sol y Mar que opera na Beira e Marbar baseada na Beira e Vilanculos) e farmas de piscicultura de tilápia em pequena escala (GAFSP, 2016).

A maricultura é marcada pela produção de camarão marinho, algas, produção de algumas espécies de peixe. O nível de produção das fazendas de camarão diminuiu significativamente desde 2011 por causa de uma infecção viral (síndrome da mancha branca) que afecta as empresas industriais de aquacultura de camarão, por isso a maricultura decresceu devido a queda de produção de camarão (GAFSP, 2016; FAO, 2017a)

O sector da aquacultura em Moçambique está actualmente numa fase incipiente, o seu desenvolvimento é fraco, contudo observa-se um incremento gradual da produção de peixe de água doce proveniente de aquacultura de pequena escala (López *et al.*, 2013). De acordo com os dados da FAO (2017b), a produção aquícola nacional ainda não foi superior a 1300 toneladas/ano (Fig. 1). Vários factores têm contribuído para baixo crescimento desta actividade, dentre eles estão a ocorrência das cheias e inundações, povoamento tardio dos tanques e insuficiência de alevinos (MIMAIP, 2016).

Segundo (INAQUA, 2012 actualmente designado por IDEPA), as dificuldades relacionadas com a recolha e processamento de dados estatísticos, no sector das pescas em geral, podem ter contribuído significativamente para esta tendência da produção no subsector da aquacultura.



**Figura 1:** Produção total aquícola em Moçambique entre 1980-2015, (FAO, 2017b)

### 2.1.1. Piscicultura em Moçambique

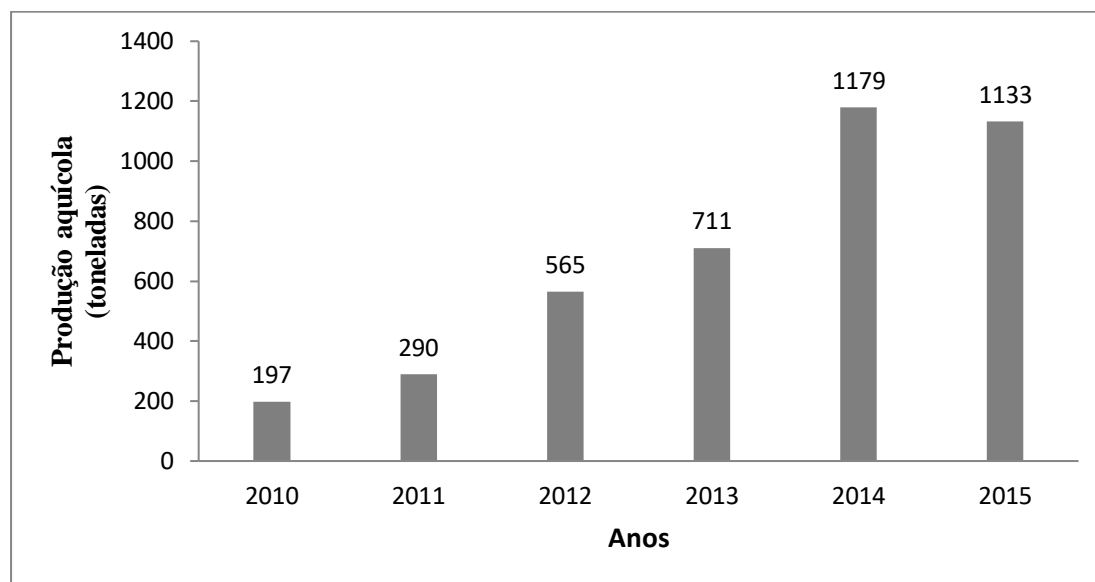
A piscicultura em Moçambique iniciou em 1952 em algumas regiões do país (Zambézia, Manica e Nampula) com finalidade de alimentar os empregados das grandes plantações. Em 1965 esta actividade já era praticada em todo o país, marcada principalmente pelo cultivo de tilápias. Na década de 60 foram repovoados as albufeiras, lagos e reservas naturais de água doce e construção das estações de Umbeluzi, Sussundenga e Chokwé com vista a incrementar a actividade piscícola (Boane, 2008; INAQUA, 2010 actualmente designado por IDEPA). Nas décadas de 70 e 80 esta actividade não registou nenhum desenvolvimento devido a falta de financiamento, a guerra e a desastres naturais (inundações e seca), onde veio a reiniciar na década de 90 (Boane, 2008).

Ultimamente tem se registado um crescimento acentuado desta actividade. Em 2014 produziu-se cerca de 1179 toneladas de peixe (FAO, 2017b). Porém em 2015 houve uma ligeira redução onde se produziu

1133 toneladas de peixe de aquacultura (Fig. 2), devido a desastres naturais e outros factores (FAO, 2017b). Apesar de se notar um crescimento desta actividade, ainda há muito por se fazer visto que está aquém das metas do governo e da produção de alguns países africanos e do mundo, apesar de possuir um potencial para a prática da piscicultura.

Entre as espécies de peixes cultivadas em Moçambique destacam-se a tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), tilápia rendalli (*Tilapia rendalli*), carpa comum (*Cyprinus carpio*) e carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) (Boane, 2008; INAQUA antiga actualmente designado por IDEPA, 2010). Também são cultivadas as espécies *Argyrosomus japonicus* e *Micropterus salmoides* em ambiente marinho.

A piscicultura é praticada principalmente em tanque-terra. As dimensões são de 200m<sup>2</sup> a 1.5ha. os tanques de água doce é mais praticada. O sistema mais usado é extensivo, os alevinos são colectados do ambiente natural ou das outras farmas relativamente próximas e a densidade de estocagem é de 2-5 peixes/m<sup>2</sup>, o peixe atinge o tamanho de 150g num período acima de 6 meses. A ração balanceada ainda não é disponível no País. Nalguns casos os piscicultores fertilizam os seus tanques com esterco de gado. A produtividade é baixa, estimada em 0.8 toneladas/ha/ano. Na província de Manica uma farma cultiva o peixe em gaiolas (FAO, 2017b).



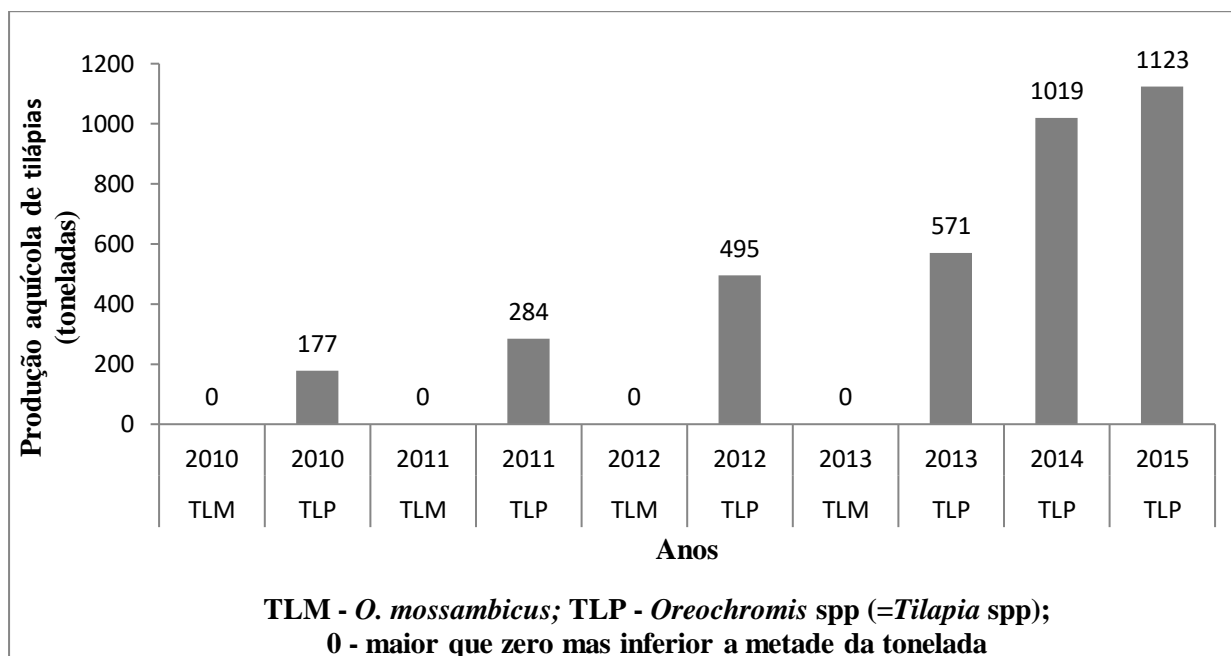
**Figura 2:** Produção piscícola em Moçambique entre 2010-2015 (FAO, 2017b).

### 2.1.2. Cultivo de tilápia

Os tilápias são ciclídeos representados por mais de 70 espécies, porém apenas quatro espécies são destacadas na piscicultura mundial: a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), a tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*), a tilápia azul ou aurea (*Oreochromis aureus*) e a tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*). A tilápia do nilo é a espécie mais cultivada no mundo (Pinto, 2006). A tilápia de Moçambique é euraliana adaptada a uma faixa muito grande de salinidade (Uchida *et al.*, 2000), cresce melhor em ambientes salinos do que de água doce (Suresh & Lin, 1992). As tilápias contribuem significativamente na segurança alimentar nas zonas rurais (El-Sayed, 2013).

Em moçambique as tilápias são as espécies mais importantes na piscicultura de água doce (Boane, 2008), *O. mossambicus* é a espécie mais cultivada, sendo também cultivada em águas salobras das regiões costeiras do País. Maior parte dos piscicultores de subsistência cultiva híbridos de *Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus* (FAO, 2017b).

Os produtores locais consistem em média uma família por tanque, muitos estão localizados na província de Manica, Niassa, Tete, Sofala e Zambézia. De acordo com a FAO (2017b), no período de 2010-2015, as tilápias contribuíram em uma boa parte do peixe de aquacultura (Fig. 3), em 2014 e 2015 contribuíram em 87.3% e 99.1% respectivamente (FAO, 2017).



**Figura 3:** Produção aquícola de tilápias em Moçambique entre 2010-2015 (FAO, 2017b).

## 2.2. Doenças na piscicultura

As doenças constituem um constrangimento para o desenvolvimento e sustentabilidade da aquacultura tanto do ponto de vista social como do ponto de vista económico (Idowu, *et al.*, 2017). Os custos da produção são acrescidos através do investimento perdido devido a morte dos animais cultivados, custos de tratamento, perda de qualidade e quantidade de carne. Tendo em conta a esses impactos e o facto de que muitas doenças estão a emergir, a indústria de aquacultura enfrenta mais desafios para garantir o desenvolvimento sustentável. Os peixes saudáveis possuem resistência adequada contra doenças, podendo se adaptar às alterações moderadas ambientais e desenvolver resistência (Idowu *et al.*, 2017).

Antes da doença se desenvolver no sistema de cultivo, factores ligados a patologia são envolvidos, tais como: a presença de um patógeno no ambiente de cultivo, baixa resistência do peixe e condições ambientais da água desfavoráveis. Nos tanques quando as cargas de patógeno aumentam através dos factores externos, acima dos quais a resistência do peixe é afectada o peixe torna-se vulnerável às infecções e doenças. (Idowu, *et al.*, 2017).

Existe dois tipos de doenças que afectam os peixes, doenças infecciosas e doenças não infecciosas. Doenças infecciosas são causadas por agente biológico – organismo patogénico presente no ambiente de cultivo ou trazido por outros peixes. Os peixes tornam-se vulneráveis a doenças quando são estressados (anormalidade ambientais, deterioração da qualidade de água, alimentação não balanceada ou lesões no corpo), pois o estresse enfraquece a resistência natural do peixe (Idowu, *et al.*, 2017).

As infecções podem ocorrer internamente ou externamente afectando os tecidos, órgãos, e outras partes do corpo. As doenças infecciosas podem ser parasitárias, bacterianas, virais e fúngicas (Idowu, *et al.*, 2017). As bactérias usualmente estão presentes no ambiente aquático, se tornam problema quando os peixes são expostos a agentes estressores, podem ser benéficas, neutras, patogénicas obrigatórias ou oportunistas (Al-Sunaiher *et. al.*, 2010), pelo que o papel bacteriano no tanque também pode variar pelo facto de ser patógeno primário ou invasor oportunista (Idowu, *et al.*, 2017).

As doenças bacterianas são muitas vezes infecções internas, mas também podem ser externas que podem resultar de manipulação brusca e da infecção parasitária (Idowu, *et al.*, 2017). As bactérias podem ser introduzidas na farma piscícola através das fontes alimentares naturais ou artificiais ou através da transmissão vertical dos reprodutores (Al-Sunaiher *et. al.*, 2010). As estirpes de bactérias para causar doença, devem ser virulentas e patogénicas para o hospedeiro, por outro lado a carga bacteriana total deve ser superior a concentração crítica no meio ambiente (Manna, 1998).

Entre as infecções bacterianas comuns nos peixes encontra-se columnariose (*Flexibacter columnaris*, furunculoses (*Aeromonas salmonicida salmonicida*), granuloma de piscina (*Mycobacterium marinum*) e vibrioses (*Vibrio* sp), (Idowu, *et al.*, 2017). Na tabela 1 estão listadas as bactérias responsáveis por doenças nos peixes e os principais sintomas.

As infecções bacterianas são a maior causa de morte de peixes cultivados, geralmente as bactérias da família Vibrionaceae são as que afectam mais os peixes e shellfish. Comumente são isoladas de ambientes marinhos, estuarino e de água doce, e que o seu rápido crescimento domina a flora bacteriana do plâncton e intestinal dos peixes (Al-Sunaiher *et. al.*, 2010).

Estas bactérias podem causar vibrioses tanto em peixes de água salgada como água doce (El-Sayed, 2006). Algumas espécies (*V. vulnificus*, *V. fluvialis*) são responsáveis por mortes de peixes em tanques

de aquacultura. *Vibrio cholerae* e *Vibrio parahaemolyticus* também têm sido isolados em peixes (Chen *et al.*, 2006).

Espécies de *Vibrio* tais como *V. vulnificus*, *V. tubiashii*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, e outras espécies são oportunistas de peixes (West, 2012). *V. alginolyticus* é particularmente virulento para os peixes e responsável por danos substanciais em maricultura (Jun *et al.*, 1999). *V. cholerae* (non-O1 e o139) tem sido isolada em tilápias do nilo doentes (Dong *et al.*, 2015), em *Plecoglossus altivelis* no Japão, no goldfish, nos tubarões (Austin e Austin, 2007) e nos peixes ornamentais (Austin, 2009). *Vibrio parahaemolyticus* foi associado a mortalidades de *Aphanius iberus*, *Chanos chanos* (Austin, 2009).

*V. harveyi* é um sério patógeno de organismos aquáticos, principalmente camarão. Mas já foi isolado em peixes na Ásia e na América do Sul (Austin e Zhang, 2006). *V. alginolyticus* está associado a doenças de vários animais marinhos incluindo peixes, crustáceos e moluscos (Balebona *et al.*, 1998; Kahla-Nakbi *et al.*, 2006; Mustapha *et al.*, 2013) e é considerado um dos agentes patogênicos mais perigosos na aquicultura marinha causando perdas graves entre um grande número de espécies de peixes e mariscos (Austin, 2009).



**Tabela 1:** Principais agentes bacterianos que causam doenças em peixes.

<b>Bactéria</b>	<b>Doença/sintomas típicos</b>
<i>Aeromonas salmonicida</i> ,	Furunculose
<i>A. salmonicida</i> , atypical strain	Eritrodermatites
<i>A. hydrophila</i>	Septicemia hemorrágica, lesões na pele, hidropisia (perda de escamas, distinção do abdómen, acumulação do fluido vermelho, letargia,
<i>Vibrio anguillarum</i> , <i>Vibrio</i> spp.	Vibriose, letargia, perda de apetite, natação errática, exoftalmia
<i>Yersinia ruckeri</i>	Doença entérica da boca vermelha
<i>Renibacterium salmoninarum</i>	Doença renal bacteriana
<i>Edwardsiella tarda</i>	Hemorragia, septicemia
<i>E. ictaluri</i>	Septicemia entérica do bagre de canal
<i>Flexibacter columnaris</i>	Colunariose
<i>Pseudomonas</i> spp.	Septicemia, hemorragia, doença de olhos
<i>Nocardia</i> spp.	Lesões granulomatosas
<i>Mycobacterium</i> spp.	Lesões granulomatosas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doença de olho
<i>Clostridium botulinum</i>	Botulismo

Fonte: Manna,1998; Huicab-Pech *et al.*, 2017

### 2.2.1. Doenças em tilápias

As doenças em tilápias tem merecido uma atenção especial devido a expansão da tilapicultura, ao aumento do uso dos sistemas de cultivo intensivos que podem aumentam as chances da ocorrência de doenças, ao aumento da consciência pública sobre o papel do cultivo dos peixes na propagação de zoonoses, ao aumento da preocupação pública sobre a protecção ambiental, ao aumento global da exportação e importação de tilápia com padrões de alta qualidade (El-Sayed, 2006).

As tilápias são peixes robustos com uma boa resistência a infecções bacterianas quando são mantidas em ambiente adequado. Contudo, os sistemas de cultivo, o estresse resultante das práticas de manuseamento impróprias, exposição a baixa qualidade de água, alta densidade de estocagem que requerem altas taxas de alimentação ou temperaturas fora da faixa óptima podem impactar doenças bacterianas em tilápias (Plumb e Hanson, 2011). Várias bactérias estão implicadas nas doenças das

tilápias, tais como *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium* e *Flexobacter* (El-Sayed, 2006).

### **2.2.1.1. Vibrioses em tilápias**

Vírios são bactérias Gram negativas, encurvadas, móveis com um único flagelo polar, anaeróbicas facultativas, fermentadores, catalase e oxidase positivas, usualmente sensíveis a vibriostáticos O/129, muitos requerem cloreto de sódio para crescer. Habitam naturalmente o ambiente marinho podem-se encontrar na coluna de água, nos sedimentos, plâncton e em associações simbióticas com organismos aquáticos incluindo crustáceos, peixes e bivalves (Austin, 2009; West, 2012), e são comensais no intestino dos peixes (Gomathi *et al.*, 2013). Estes microrganismos podem penetrar e estabelecer uma infecção através da pele, guelras ou trato gastrointestinal (Ringo *et al.*, 2010).

Vibriose é uma das doenças mais prevalente em peixes e outros animais aquáticos cultivados e é responsável por mortes em sistemas de cultivo no mundo. Várias espécies de vírios são reconhecidas na piscicultura pela sua habilidade de causar doenças nos peixes, principalmente nos estágios larvais e podem liderar a mortalidade de toda a população de peixes cultivados (Al-Sunaiher *et al.*, 2010), causando perdas económicas significativas na comercialização do pescado (West, 2012).

Os vírios podem ser um perigo sério para a saúde das tilápias cultivadas. Têm sido reportados, com índices de infecção variados. A susceptibilidade das tilápias à vibrioses depende da espécie de tilápia, espécie e estirpes cepas de bactérias, condições ambientais e sistemas de cultivo (El-Sayed, 2006).

Geralmente na água salgada *V. anguillarum* e *V. vulnificus* estão associados a doenças em tilápias, enquanto na água doce geralmente tem sido *V. mimicus* (Plumb e Hanson, 2011). A mortalidade de tilápias infectadas é usualmente crónica com perdas diárias relativamente baixas (Plumb e Hanson, 2011).

Espécies como *V. vulnificus*, *V. harveyi* e *V. mimicus* tem sido isoladas nas tilápias vermelha, azul e híbridos cultivadas em gaiolas na água salobra, os peixes apresentam lesões em peixes e altas taxas de mortalidade (El-Sayed, 2006). Os sintomas da infecção pelos vírios podem ser necrose intestinal, anemia, hemorragias no músculo, acumulação do líquido na bexiga-natatória (Chatterjee e Haldar, 2012). Na tilápia moçambicana, os sintomas podem ser anorexia, movimento vertical com uma

respiração violenta. A dose letal (LD<sub>50</sub>) em *O. mossambicus* é de 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> ufc/peixes (Raj *et al.*, 2010). Muitos vibrios patogénicos são oportunistas no ambiente natural, podendo causar doença quando os peixes são sujeitos ao estresse (Sharma *et al.*, 2014).

As bactérias do género *Vibrio*, frequentemente causam septicemias nas tilápias, geralmente acometendo peixes com a resistência comprometida após estresses associados ao manejo ou a problemas de qualidade de água (Kubitza, 2008). Os vibrios são indígenas do ambiente marinho e estuarino, comumente associados a peixes e crustáceos. A maioria é mesófila e abundante nas épocas quentes. A distribuição das espécies de *Vibrio* é fortemente afectada pelo pH, salinidade, temperatura bem como a disponibilidade de nutrientes (Thompson *et al.*, 2004).

### **2.3.Zoonoses transmitidas por peixes**

A saúde dos peixes e o controlo de doenças nos últimos anos são revisados em integração com a protecção ambiental, controlo da poluição, saúde humana, tecnologia de aquacultura, saneamento das instalações de cultivo, diagnóstico e tratamento de doenças dos peixes cultivados, formulação e implementação de medidas de controlo reguladoras para controlar a propagação de doenças (El-Sayed, 2006).

Zoonoses são doenças infecciosas de animais capazes de serem transmitidas para o homem. As Infecções nos humanos, causadas por microorganismos transmitidos por peixe ou ambiente aquático, têm sido frequentes, dependendo da época do ano, contacto do paciente com o peixe ou ambiente, hábitos alimentares e do estado imunológico do indivíduo exposto. O facto de o peixe estar envolvido na veiculação de doenças para os humanos é datado desde há muito tempo. Por exemplo, na década de 50 do século XX, foi evidenciado que a endemicidade da cólera estava relacionada com o consumo de peixe “hilsa” (Hisa fish) na Índia. Na Tailândia os casos de cólera foram relacionados muitas das vezes com o consumo de peixe cruo. Também a cólera foi associada ao consumo de peixe salgado, sardinhas no Oceano Pacífico; o consumo do peixe seco na Tanzânia foi relacionado com o risco de cólera. Na Nigéria, casos de infecção foram registados em indivíduos que manuseavam e processavam o peixe (Halpern e Izhaki, 2017).

O potencial da contaminação biológica dos produtos de aquacultura pode ocorrer através das bactérias, vírus, parasitas e biotoxinas. A localização da farma, as espécies a serem cultivadas, a temperatura de água, sistema de cultivo, processamento pós-colheita, hábitos na preparação de alimentos e consumo são entre os principais factores que influenciam o risco de saúde humana associado aos animais aquáticos e seus produtos. A fonte das infecções zoonóticas pode ser por contacto com animais aquáticos ou seus derivados ou por ingestão de produtos aquáticos contaminados, crus ou mal cozidos (Haenen *et al.*, 2013).

Os patógenos podem ser indígenas ao ambiente aquático ou ocorrem como resultado de contaminação do meio ambiente devido a localização das farmas em locais contaminadas, o uso de excretos como fertilizantes, efluentes fecais oriundos de dejectos humanos (Haenen *et al.*, 2013). Os peixes jogam um papel importante na transmissão de agentes patogénicos para os humanos (Praveen *et al.*, 2016).

Víbrios são naturalmente activos nos ambientes estuarinos e nos oceanos (Harvell *et al.*, 1999). A actividade humana também contribui na carga de patógeno nos oceanos, primeiramente através de descarga de efluentes municipais e dejectos humanos e animais. Nas águas costeiras os patógenos podem persistir e infectar os humanos através do consumo do peixe contaminado (Harvell *et al.*, 1999). A maior abundância dos víbrios no ambiente aquático conduz a sua presença nos produtos de pesca, especialmente nas regiões temperadas e tropicais. A provável abundância no pescado cruo faz destes produtos um dos veículos apropriados para sua disseminação e objecto de estudo para a segurança de alimento (Paydar, 2013).

### **2.3.1. Vibrioses nos humanos**

Os víbrios são desde a muito tempo relacionados com doenças em humanos, principalmente por estarem envolvidos nos casos de diarreias. Cerca de 12 espécies de bactérias do género *Vibrio* são patogénicas para o homem, *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. cincinnatiensis*, *V. hollisae*, *V. vulnificus*, *V. furnissii*, *V. damsela*, *V. metshnikovii*, e *V. carchariae* (Drake *et al.*, 2007). As espécies *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificu* e *V. mimicus*, são espécies comumente relacionadas com diarreias e infecções em humanos (Drake *et al.*, 2007).

#### ***V. cholerae***

*V. cholerae*, é agente causador da cólera, habita no ambiente aquático, a sua proliferação está associada principalmente a crustáceos (Senderovich *et al.*, 2010). Os peixes também são considerados como reservatórios e vectores de *V. cholerae* (Senderovich *et al.*, 2010). A cólera é transmitida pela ingestão de alimentos ou água contaminada (Traoré *et al.*, 2014). Segundo Senderovich *et al.* (2010), a cólera também está associada ao consumo de peixe salgado, sardinhas, peixe seco e outras dietas de peixes em diferentes partes do mundo. Estudos mostram que várias espécies de peixe contêm *V. cholerae* no seu trato digestivo (Senderovich *et al.*, 2010).

O ambiente estuarino é propício para a sobrevivência e persistência do *V. cholerae* (Traoré *et al.*, 2014). Cólera é doença diarreica que ameaça a vida, continua a matar milhões de pessoas anualmente. Existem vários serotipos de *V. cholerae*, mas apenas os serotipos O1 e O139 estão relacionados com epidemias e pandemias. Os serotipos Non-O1 e Non-O139 estão associados a gastroenterites não endêmicas. Geralmente os sintomas associadas a doença consistem em diarreia, cólicas abdominais, febre, com vômitos e náuseas, aparecimento de sangue e muco nas fezes (Senderovich *et al.*, 2010). Os serotipos non-O1/non-O139 podem causar diarreia e infecções extra-intestinais em humanos (Traoré *et al.*, 2014). Os genes *ctxA* e *zot*, responsáveis pela produção da toxina têm sido identificados *V. cholerae* proveniente de águas marinham (Austin, 2009).

### ***V. parahaemolyticus***

*V. parahaemolyticus* é um patógeno humano que pode causar gastroenterites devido a ingestão de pescado cruo ou mal cozido contaminados. Devido a sua abundância no pescado tem maior implicação na comercialização do pescado (Paydar, 2013; Austin, 2009). Os factores de virulência são proteases,  $\beta$ -hemolisina, adesinas e expressa genes de virulência de *V. cholerae* (Austin, 2009).

### ***Vibrio vulnificus***

*Vibrio vulnificus* é uma bactéria Gram negativa, móvel, encurvada em forma de bastonete. Possui um flagelo polar. Tem capacidade de fermentar a lactose, habita ambiente estuarino. É capaz de causar septicemia, infecções sérias nas feridas e muitas vezes severas (Strom e Paranjpye, 2000).

As infecções podem ser adquiridas através do consumo produtos de pesca crus ou mal cozidos ou através do contacto com água. Tem sido isolado em águas onde a temperatura ronda entre 9-31°C, prolifera-se em meses em que a temperatura excede 18°C (Strom e Paranjpye, 2000). Pode ser isolado em água com salinidade que varia de 1ppm a 34 ppm, sendo que a salinidade óptima é de 15-25 pp. A salinidade superior a 25 ppm afecta a sobrevivência desta bactéria. Segundo Strom e Paranjpye (2000). *V. vulnificus* podem se encontrarem nos sedimentos mas sob forma não cultivável.

São reconhecidos dois biótipos de *V. vulnificus* (Dalsgaard *et al*, 1999; Strom e Paranjpye, 2000), sendo que o biótipo 1 é indol e ornitina positivos, geralmente está associado a moluscos bivalves e biótipo 2 é indol e ornitina negativos, relacionado com doenças em vertebrados marinhos, podendo causar perdas significativas e ambos são responsáveis por doenças em humanos (Strom e Paranjpye, 2000).

*V. vulnificus* é um patógeno emergente, detectado pela primeira vez em 1964 nos EUA. É um importante patógeno em idosos, imunocomprometidos, em diabéticos (Shikongo-Nambabi *et al.*, 2012), e em indivíduos com problemas de fígado (Strom e Paranjpye, 2000). A bactéria é mais prevalente no verão quando as temperaturas atingem 26-29°C (Shikongo-Nambabi *et al.*, 2012). Segundo Austin (2009), os casos relacionados com esta bactéria em humanos estão a aumentar.

### ***V. alginolyticus***

É cosmopolita encontrando-se distribuído principalmente em águas do mar e estuarinas, sendo que o aumento da temperatura como resultado de aquecimento global tem contribuído na sua disseminação bem como no aumento da frequência deste patógeno durante todas as épocas do ano (Sganga *et al.*, 2009; Gomathi *et al.*, 2013).

Encontra-se livre na água e nos sedimentos, podendo sobreviver no ambiente com estresse de nutrientes. É flora normal dos moluscos filtradores, e também tem sido isolado em peixes e vários produtos de pesca. É mais halofílico que *V. cholerae*. Estudos mostram que contém alguns genes de *V. cholerae* e de *V. parahaemolyticus*. *V. alginolyticus*, bioquimicamente diferencia-se de *V. parahaemolyticus* pelo facto de fermentar a sacarose (Mustapha *et al.*, 2013).

Tem sido isolado em amostras clínicas, causando infecções sérias em indivíduos vulneráveis tais como idosos e indivíduos imunodeprimidos (Mustapha *et al.*, 2013). Geralmente está associado a infecções nas feridas, no ouvido, gastroenterites e septicemias, intoxicação dos alimentos, hemorragias, úlceras na pele e causa danos económicos enormes. Infecções relacionadas com *V. alginolyticus* incluem diarreia em pacientes com AIDS, conjuntivites, infecção carinal pós traumática (Gomathi *et al.*, 2013, Mustapha *et al.*, 2013).

Além disso causa infecções sistémicas em indivíduos imunocomprometidos, com queimaduras profundas, ou indivíduos que abusam o álcool. É também importante na deterioração de pescado produzindo histaminas através da descarboxilação de histidina. As estirpes patogénicas de *V. alginolyticus* contem collagenase e genes ToxR (Shikongo-Nambabi *et al.*, 2012).

### **Outros vibrios**

*V. mimicus* assemelha-se a *V. cholera* porém, *V. mimicus* não produz ácido a partir de sacarose e é negativo ao teste de Voges–Proskauer. É responsável por, febres, diarreias, náuseas, vômitos e cólicas abdominais em humanos (Davis *et al.*, 1981; Lee *et al.*, 2002). É uma bactéria não halofílica que pode causar episódios esporádicos de gastroenterite aguda e infecções no ouvido. Produz uma enterotoxina VMH, termolábil, e uma hemolisina termoestável, Vm-TDH que causa disenteria (Silveira *et al.*, 2016). *V. harveyi* é de vida livre na coluna de água e no intestino dos animais marinhos (Ransangan *et al.*, 2012).

*V. fluvialis* é uma bactéria halofílica, comumente reconhecida por causar gastroenterites e infecções extra-intestinais (bacteriemia, infecção do tracto biliar), principalmente em imunocomprometidos. É transmitido por alimentos. Tem sido isolado em água doce bem como salgada, fezes humanas, fezes de animais, esgotos e produtos de pesca (Bhattacharjee *et al.*, 2010; Igbiosa e Okoh, 2010; Ramamurthy *et al.*, 2014). *V. cincinnatiensis* é uma bactéria halofílica e tolera 6% de NaCl, mas não tolera 8%. As colónias são amarelas em TCBS (Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose) Agar (Brayton *et al.*, 1986). *V. hollisae* raramente cresce em TCBS. Causa gastroenterite aguda após a ingestão de mariscos crus ou mal cozidos, também causa bacterémia (Shorr *et al.*, 1997).

*V. furnissii* é uma bactéria semelhante a *V. fluvialis*, porém diferem-se pelo facto de produz gás ao fermentar açúcares. Tem sido isolado em amostras clínicas. Causa gastroenterites, produz citolisina e hemolisina como factores de virulência. Geralmente a doença ocorre depois de ingestão de mariscos crus ou mal cozidos ou depois de estar em contacto com água do mar ou estuarina (Derber *et al.*, 2011). *V. damsela* é um patógeno oportunista, causa infecções nas feridas. Tem sido isolado em peixes como damselfish, tubarão, tartaruga marinha (Fouz *et al.*, 1992). *V. metschnikovii* causa peritonites e bacterémia, os factores de virulência estão associados a presença de hemolisinas e verotoxinas. Tem sido isolado nos peixes. *V. carchariae* tem sido isolado em feridas nos humanos (Austin, 2009).

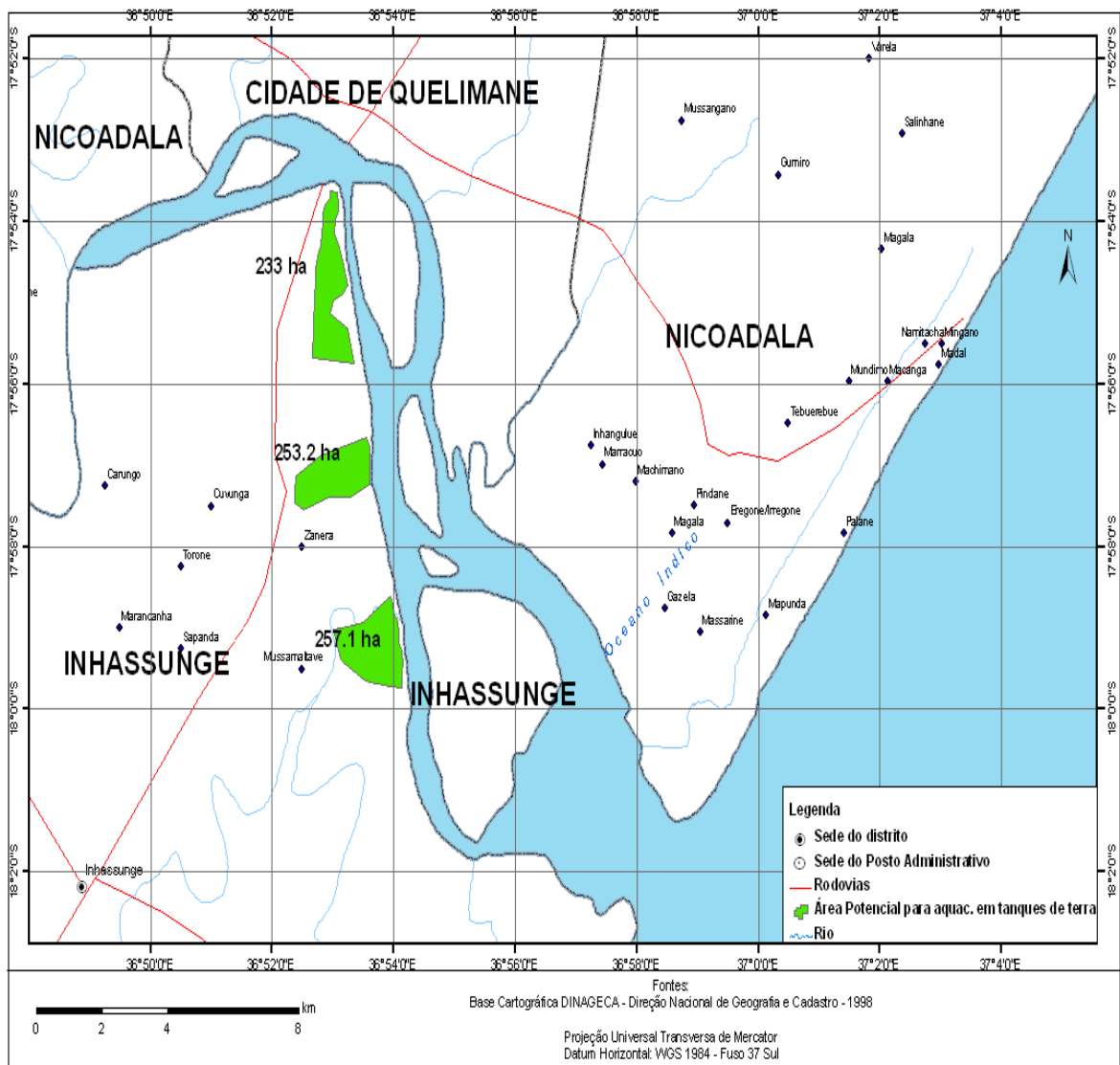


### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Descrição da Área de Estudo**

O distrito de Inhassunge situa-se na região sul da provincial da Zambézia, entre paralelos 16° 52' 30" e 18° 11' 30" Sul e o meridiano 18° 03' 30" e 36° 58' Leste. Possui um potencial em termos de área para aquacultura em estimado em 743 hectares (Fig. 4).

É neste distrito onde está instalada uma das maiores farmas cuja sua actividade principal é o cultivo de camarão marinho, também tem se dedicado ao cultivo da tilápia *O. mossambicus* na água salobra como actividade secundária (Mabote, comunicação pessoal, 2017).



**Figura 4:** Mapa do Distrito de Inhassunge ilustrando potenciais áreas de aquacultura (coloração esverdeada).

### 3.2. Tamanho de amostra

O tamanho da amostra foi determinado com base na seguinte fórmula:

$$n = \frac{Z^2 \times P \times Q \times N}{e^2 \times (N-1) + Z^2 \times P \times Q} \text{ (Fontelles et al., 2010)}$$

Onde: Z = Nível de Confiança (95%); P = Quantidade de Acerto esperado (95%); Q = Quantidade de Erro esperado (5%); N = População Total (Estimada 600 peixes); e = Nível de Precisão (5%)

### 3.3. Condições de cultivo e Monitoramento dos parâmetros ambientais

De acordo com os registos da farma o tanque foi calado com óxido de cálcio (CaO) na quantidade de 50kg/ha, não foram usados antibióticos durante o cultivo. Os peixes eram alimentados com ração balanceada. Estes parâmetros do ambiente de cultivo foram monitorados duas vezes ao dia pela farma, e foram considerados os valores médios. Não houve renovação de água antes e durante o período de estudo.

### 3.4. Coleta de amostra

No período em que decorreu o estudo os peixes estavam sendo cultivados em hapas instaladas num tanque escavado de 800 m<sup>2</sup> com peixes de várias idades, entre alevinos, juvenis de e adultos, a densidade de estocagem foi de 5-8 peixes por m<sup>2</sup>. Com auxílio de um puçá de mão foram pescados 65 peixes de peso compreendido entre 50-120 gramas nos meses de Abril e Junho de acordo com a tabela 1. O tamanho da amostra e o calendário de amostragem foram condicionados por capacidade do laboratório, disponibilidade de reagentes e meios de cultura. Os peixes foram colocados individualmente em plásticos estéreis previamente codificados (data e código de amostra) e acondicionados em caixas térmicas contendo blocos de gelo foram transportadas imediatamente até ao laboratório do Instituto Nacional de Inspeção do Pescado - Zambézia (INIP) para análise. Onde foram tirados os dados comprimento total, comprimento padrão e pesos individuais dos peixes.

**Tabela 2:** Plano de amostragem

<b>Data de amostragem</b>	<b>Número de peixes</b>		
	Hapa 1	Hapa 2	Hapa 3
<b>16/04/2016</b>	7	7	6
<b>30/04/2016</b>	5	5	5
<b>04/06/2016</b>	5	5	5
<b>20/06/2016</b>	5	5	5
<b>Total</b>		65	

### **3.5. Análises microbiológicas**

#### **3.5.1. Preparação e enriquecimento da amostra**

A preparação de amostra decorreu numa bancada de aço inox previamente desinfectada com etanol a 70% e ao redor da chama de bico de Búsen para evitar a contaminação (PTM 05, 2015). Os peixes foram sacrificados através da comoção cerebral, de seguida foram banhados com etanol a 70% de forma a reduzir flora bacteriana não desejada.

Foram colhidas assepticamente 20 gramas do músculo incluindo o cérebro do peixe para uma bolsa de “stomcacher” estéril e adicionou-se 200 ml de água alcalina peptonada (APA) com pH=  $8.6 \pm 0.2$  (Fig. 5) e foi colocada em incubadora a  $41.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$  durante  $18 \pm 2$  horas para o enriquecimento dos víbrios, de acordo com (PTM05, 2015).



**A:** Desinfecção dos peixes



**B:** Corte do músculo do peixe



**C:** Retirada do cérebro do peixe



**D:** Pesagem e adição de APA

**Figura 5:** Fases de preparação e enriquecimento da amostra.

### **3.5.2. Isolamento das bactérias**

Após a incubação, foram seleccionadas as bolsas com multiplicação bacteriana, indicada pelo aumento da turbidez do meio, onde foi retirado o inóculo com auxílio de alça bacteriológica de níquel-cromo e semeado na superfície do meio de cultura agar TCBS (Ortigosa *et al.*, 1994; Baffone *et al.*, 2005; Kahla-Nakbi *et al.*, 2006; Noriega-Orozco *et al.*, 2007), contido em placas de Petri de 90mmx15mm em triplicados previamente identificadas e incubados a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $24\pm 3$  horas.

O agar TCBS agar é um meio ideal para o isolamento selectivo e purificação de víbrios. As estirpes capazes de usar sacarose formam colónias amarelas e as que não conseguem formam colónias verdes (Thompson *et al.*, 2004). Após o período de incubação, todas as colónias amarelas, verdes e verde-azuladas foram transferidas para o Nutriente agar e incubadas a  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $18\pm 2$  horas.

### **3.5.3. Identificação das espécies de bactérias**

A identificação das bactérias foi feita através do teste bioquímico API 20E e outros testes complementares (motilidade, oxidase, catalase, crescimento em diferentes concentrações de sal, oxidação fermentativa), retirou-se o inóculo das colónias frescas ( $18\pm 2$  horas) provenientes de Nutriente agar para a realização dos testes.

#### **3.5.3.1. Teste API 20E**

API 20E é um conjunto de testes bioquímicos que visa identificar as espécies de enterobactérias. Foi realizado conforme as indicações do fabricante. As espécies foram identificadas com base nos códigos fornecidos pelas combinações dos resultados de testes bioquímicos obtidos.

#### **3.5.3.2. Testes bioquímicos complementares de identificação**

##### **Teste da catalase**

A catalase (hidroperoxidase), é uma enzima intracelular pertencente a subclasse das enzimas oxirredutases, que usam o peróxido como receptor e doador de electrões. Actua sobre a água oxigenada desdobrando-a em oxigénio e água. O teste consiste na detecção da enzima catalase produzida por bactérias. A reacção positiva caracteriza-se pelo borbulhamento ou efervescência ocasionados pelo oxigénio molecular liberado na reacção da catalase (Silva *et al.*, 2003).

Uma gota de solução aquosa de peróxido de hidrogénio a 3% (v/v) foi depositada numa placa de Pectri e em seguida, com auxílio de alça de platina-níquel, colónias crescidas em Nutriente agar durante  $37.0 \pm 1^\circ\text{C}$   $18 \pm 2$  horas, foram colocadas sobre a gota. As colónias que apresentaram bolhas de ar foram consideradas catalase positiva, isto é, possuidores de enzima catalase.

### **Teste de Oxidase: citocromo-oxidase**

O teste é baseado na produção intracelular da enzima oxidase pelas bactérias. Distingue bactérias não fermentadoras (oxidase positivas) de bactérias fermentadoras (oxidase negativas) (Brasil, 2004b). Para o teste de oxidase foram usadas fitas de oxidase, e foi feito de acordo com as instruções do fabricante, onde as colónias foram espalhadas com auxílio de alça bacteriológica de platina-níquel. O desenvolvimento de coloração azul intensa foi observada por aproximadamente 30 segundos, caracterizando teste positivo.

### **Teste de Motilidade**

A prova da motilidade indica indirectamente a existência de flagelos. Não é uma prova bioquímica propriamente dita, mas indica uma característica fisiológica, que auxilia a identificação das bactérias (UFBA, 2005; Paydar, 2013; Meyer, 2000).

A prova foi efectuada com a inoculação em linha recta, em 2/3 de um meio semi-sólido (produzido no laboratório com base na composição de Nutriente Agar), através de técnica de punctura (com agulha). Foram consideradas positivas as estirpes que apresentaram o crescimento difuso, além da linha de inoculação e, negativas quando os microrganismos ficaram restritos à linha de inoculação.

### **Crescimento em diferentes concentrações de sal**

Os v́brios têm capacidade de crescerem em diferentes concentrações de sal, sendo que a tolerância depende de cada espécie. Usando alça bacteriológica, cada cultura foi inoculada em tubos de ensaio contendo 10 ml de caldo triptone a 0%, 3%, 6%, 8% e 10% de NaCl (Noriega-Orozco *et al.*, 2007), e incubou-se a  $37.0 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $24 \pm 3$  horas. Após este período fez-se a leitura sendo que os tubos que apresentavam turbidez foram considerados positivos e os que não evidenciavam o crescimento foram considerados negativos.

### **Teste de Oxidação e fermentação**

É usado para verificar a capacidade do microrganismo em utilizar os carboidratos pela via oxidativa ou fermentativa. É utilizado para diferenciar bacilos Gram negativos quanto ao tipo de metabolismo de carbono utilizado. O indicador de pH, usado no meio, é o azul de bromotimol. O teste foi realizado em dois tubos segundo as instruções do fabricante do “OF Medium” (BioMérieux). Onde transferiu-se colônias provenientes de uma cultura de 18±2 horas em nutriente Agar com auxílio de uma alça bacteriológica para tubos de ensaios contendo “OF Medium” e incubou-se durante 24±3 horas a 37.0 ± 1.0 °C. Após este período fez-se a leitura tendo em conta as reacções apresentadas em cada par de tubos. Os pares que apresentaram, além do crescimento bacteriano, a mudança da cor do meio nos dois tubos foram considerados como OF positivos.

### **Teste de Hidrólise de esculina**

O teste de esculina serve para isolar e identificar bactérias capazes de hidrolisar esculina na presença da bile. Algumas espécies do género *Vibrio* têm a capacidade de hidrolisar esculina (Choopun *et al.*, 2002). Com auxílio de alça de platina-níquel sem argola, inoculou-se nos tubos de ensaios contendo Bile esculina agar e incubou-se durante 24 ±3 horas durante 37°C±1 °C, os tubos negativos foram re-incubados durante 48 ±4 horas. Os tubos positivos apresentam uma cor castanho-escuro a preto que difunde-se na inclinação.

### **Prevalência de *Vibrio* em tilápias**

A prevalência das bactérias isoladas foi calculada de acordo com Tao *et al* (2012). A prevalência é a frequência relativa de peixes cujos foi confirmada a presença de bactérias espécies de *Vibrio*, de acordo com a fórmula abaixo indicada.

$$\% \text{ Prevalência} = \frac{\text{número de peixes infectados}}{\text{número total de peixes examinados}} \times 100$$



### **3.6. Análise de dados**

Os dados foram introduzidos num programa estatístico Excel. Calculou-se as frequências relativas dos peixes infectados. Também foram calculadas as médias dos valores de parâmetros físico-químicos no ambiente de cultivo (temperatura, oxigénio dissolvido e salinidade).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Condições de cultivo e dados biométricos dos peixes

Os dados da temperatura, oxigénio dissolvido e salinidade durante o período de amostragem estão sumarizados na tabela 3. Os peixes analisados tinham em média o comprimento padrão  $12.92 \pm 1.43$  cm, o comprimento total  $15.44 \pm 1.68$  cm e peso individual  $69.86 \pm 18.06$  g.

**Tabela 3:** Parâmetros ambientais da água no tanque de cultivo.

Meses	Temperatura (°C)	Salinidade (ppm)	Oxigénio dissolvido (mg <sup>-1</sup> )
Abril	27.8±1.4	14.1±3.0	6.1±0.6
Maio	27.9±3.6	22.6±1.6	6.6±0.7
Junho	25.9±3.5	25.2±1.4	6.1±0.9

<sup>a</sup> Média ± desvio padrão

### 4.2. Isolamento e identificação das bactérias do género *Vibrio* spp:

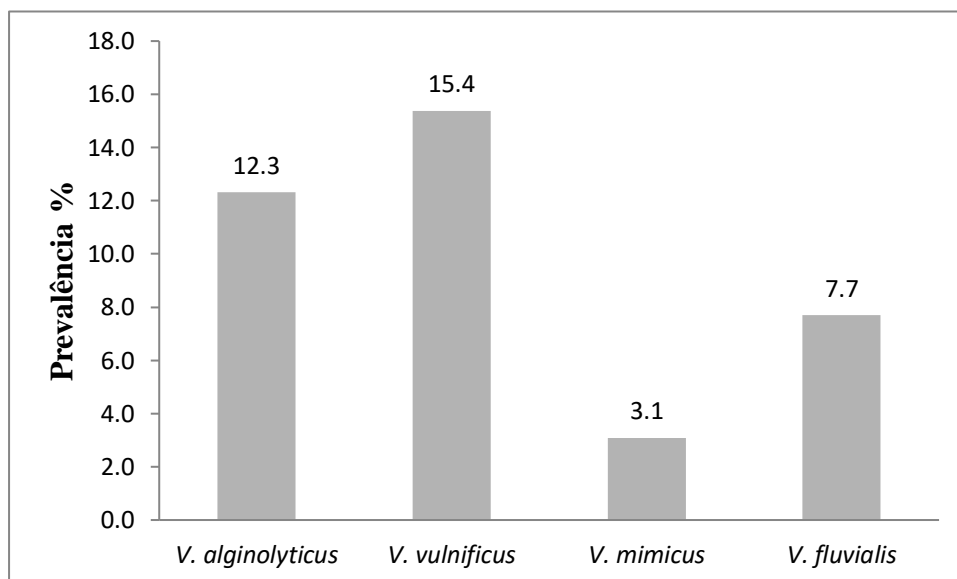
Entre os peixes examinados, nenhum apresentou sinais de doença. Foram identificadas as seguintes espécies de víbrios: *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. mimicus* e *V. fluvialis*. Além destas bactérias foram também identificadas *Aeromona salmonicida salmonicida* e *Shewanella putrefaciens*. Na tabela 4 estão descritas as características bioquímicas das espécies de bactérias isoladas neste estudo.

**Tabela 4:** Características bioquímicas das bactérias isoladas.

Tipo de teste		<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>A. salmonicida salmonicida</i>	<i>S. putrefaciens</i>
Colónias		Amarelas	Verde, amarelo esverdeado	Verde	Verde	Verde pálido	Verde
Oxidase		+	+	+	+	+	+
Catalase,		+	+	+	+	+	+
OF		-	-	+		-	-
Hidrolise de esculina		-	- +	-	-	+	+
[ NaCl ]	0	-	-	+	+	-	
	3	+	+	+	+	+	
	6	+	+	-	+	+	
	8	+	-	-	+	-	
	10	-	-	-	-	-	
TSI		V/V	V/A	A/A		V/A	
Motilidade		+	+	+	+	+	+
API 20E		4042125 (1) 4142124 (3) 4146125 (4)	0146005(1) 5146105 (9)	50102104	3000105	00461004	0400004

#### 4.3. Prevalência de *Vibrio* spp em tilápia *Oreochromis mossambicus*

A prevalência total de bactérias do gênero *Vibrio* isoladas em tilápia *Oreochromis mossambicus* foi de 38.5%. Entre as espécies de vîbrios identificadas, a prevalência de *V. vulnificus* foi de 15.4%, *V. alginolyticus* (12.3%), *V. fluvialis* (7.7%) e *V. mimicus* (3.1%), conforme a figura 3.



**Figura 6:** Prevalência de espécies de bactéria do gênero *Vibrio* isoladas de *Oreochromis mossambicus* cultivada em água salobra.

## 5. DISCUSSÃO

Os peixes examinados na presente pesquisa não apresentaram sinais de doença. Este facto provavelmente pode ser explicado pela qualidade da água, alimentação, manejo e densidade de estocagem que foram adequadas para o cultivo de *O. mossambicus*. A alimentação regular com ração balanceada, a estocagem de 5-8 peixes/m<sup>2</sup>, os parâmetros ambientais tais como a temperatura, salinidade e oxigénio dissolvido monitorados foram adequados para o cultivo da tilápia moçambicana (tabela 3), o que terá contribuído para que os peixes não desenvolvam sintomas de doença. As espécies de bactérias identificadas neste estudo são as mesmas encontradas por Zago (2012), estas bactérias normalmente habitam os sistemas aquáticos e convivem em pleno equilíbrio com os peixes, até o momento em que algum distúrbio ambiental ou pressão de manejo os predispõe ao ataque de organismos patogénicos. Younes *et al.* (2016), afirmam que as cargas bacterianas na água do cultivo e nos sedimentos dependem da qualidade de água e influenciam no desenvolvimento das doenças. Quando a carga microbiana é baixa pode ser tolerada pelas tilápias. A carga bacteriana nos peixes também contribui na patogenicidade das bactérias. Contudo, nesta pesquisa as colónias de bactérias não foram quantificadas. Younes *et al.* (2016), ao estudarem a patogenicidade de *V. alginolyticus* em tilápia do nilo (*O. niloticus*) constataram que esta bactéria foi patogénica a LD<sub>50</sub> 1x10<sup>6</sup> UFC. Azad *et al.* (2004) ao estudarem a virulência e patogenicidade de “*Vibrio anguillarum-like*” em *O. mossambicus* experimentalmente infectado encontraram a LD<sub>50</sub> de 10<sup>5.47</sup>UFC/ml e a 10<sup>3</sup> UFC/ml a mortalidade foi de 0%.

A presença e a diversidade de vários géneros bacterianos variam de acordo com o crescimento de organismos, o consumo de alimentos e à qualidade da água (Huicab-Pech *et al.*, 2017). A prevalência total de bactérias isoladas em tilápia *O. mossambicus* foi de 43.1%, As bactérias do género *Vibrio* nesta pesquisa foi isolada em 38.5% de tilápia *O. mossambicus*. Estes resultados são similares aos de Tao *et al.* (2012), pois encontraram uma prevalência de 37% de *Vibrio* spp em peixes selvagens.

Porém esta prevalência é inferior quando comparada com os trabalhos feitos por Balebona *et al.*, (1998) e Zorrilla *et al.* (2003a) nos órgãos internos (cérebro, fígado e rim) de *Sparus aurata* L cerca de 68 % das bactérias isoladas em pertenciam ao género *Vibrio*. Al-Harbi e Uddin (2005), analisado intestino de tilápias do Nilo cultivada em água salobra na Arabia Saudita encontraram uma prevalência de *Vibrio* spp superior a 10%. Neste presente trabalho, os víbrios foram pesquisados apenas no músculo do peixe.

Nesta pesquisa não foram isolados *V. cholerae* e *Vibrio parahaemolyticus*. Porém estas espécies têm sido isoladas dos intestinos dos peixes. Senderovich *et al.* (2010) encontram nos peixes da aquacultura uma prevalência de 87% de *V. cholerae* e de 60% em peixes provenientes do mar nos intestinos dos peixes. Traoré *et al.* (2014), encontram uma prevalência de 6.3% de *V. cholerae* em tilápias do nilo provenientes do ambiente natural.

Entre as espécies de vîbrios identificadas, a prevalência de *V. vulnificus* foi de 15.4 %, *V. alginolyticus* (12.3 %), *V. fluvialis* (7.7 %) e *V. mimicus* (3.1 %). Younes e seus colaboradores (2016), pesquisando vibrios patogénicas em *O. niloticus* encontraram uma prevalência total de 87.5%. sendo que a prevalência de *V. alginolyticus* foi de 75% (30/40) enquanto a prevalencia total de *V. vulnificus* foi de 12.% (5/40).

A salinidade verificada nesta pesquisa está na faixa óptima (15-25 ppm) para o crescimento de *V. vulnificus*, provavelmente explica a maior prevalência desta bactéria (15.4 %). Segundo Strom e Paranjpye (2000), valores superiores afectam a sobrevivência desta bactéria. Pakingking *et al.* (2015) encontraram uma prevalência de 1,1% e (5,1%) para *V. alginolyticus* e *V. vulnificus* respectivamente nas brânquias de *O. niloticus* cultivadas água salobra nas Filipinas. *V. alginolyticus* (12.3 %), estes resultados coadunam com Balebona *et al.*, 1998, pois encontraram uma prevalência de 13.5% de *V. alginolyticus* em *Sparus aurata* L. cultivada no sudoeste da Espanha. Enquanto Zorrilla *et al.*, 2003a isolaram 21.35% de *V. alginolyticus* na mesma espécie. A elevada percentagem de *V. alginolyticus* é atribuída ao facto desta bactéria ser tolerante a alta salinidade (Adeleye *et al.*, 2010).

As bactérias isoladas nesta pesquisa (*V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. mimicus* e *V. fluvialis*. *Aeromona salmonicida salmonicida* e *Shewanella putrefaciens*), geralmente fazem parte do intestino dos peixes cultivados em águas salobras. No que concerne a importância na saúde dos peixes, os vîbrios podem ter um efeito benéfico nos seus hospedeiros. As bactérias pioneiras que colonizam o intestino das larvas, persistem e desenvolvem-se, fazendo parte da microflora dos adultos. Sendo que a carga bacteriana, a composição da dieta, o ambiente aquático, junto com factores externos também influenciam no desenvolvimento da microflora intestinal dos peixes (Hansen e Olafsen, 1999). Portanto supõe-se que, a presença da população bacteriana indígena torna o trato gastrointestinal relativamente resistente à invasão por espécies não-indígenas, pois algumas espécies secretam substâncias inibidoras que inibem o crescimento das outras (Garcia *et al.*, 1997).

Algumas espécies de vibrios associam-se com os peixes e outros animais aquáticos exercendo várias funções na comunicação, predação, regulação da bioluminescência. Alguns patógenos como *V. anguillarum*, *V. cholerae*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* monitoram a densidade celular de outras bactérias e regulam a expressão de genes de virulência (Thompson *et al.*, 2004). Alguns patógenos oportunistas podem ser usados como probióticos tais como *V. alginolyticus*, porém essas bactérias podem desenvolver patogenicidade (Vine, 2004).

O tracto gastrointestinal dos peixes pode ser via de entrada de patógenos (Garcia *et al.*, 1997). Espécies de *Vibrio* spp têm sido isoladas do trato gastrointestinal de peixes clinicamente normais. Quando o equilíbrio patógeno, peixe e ambiente se rompe no ambiente do cultivo, as bactérias podem ser capazes de atravessar a parede intestinal, resultando em doença sistêmica. Por exemplo, quando o número de partículas infecciosas no meio ambiente aumentar drasticamente, aumenta a chance de peixes expostos ficarem doentes (Reed e Francis-Floyd, 1996).

As bactérias identificadas neste estudo são consideradas por Younes *et al.* (2016) como são agentes patogênicos oportunistas em tilápias e que sob condições súbitas de estresse, de mudança de parâmetros físico-químicos de água ou de cultura intensiva podem causar doenças. De acordo com Fouz *et al* (2002), *V. vulnificus* podem causar surtos de doença esporádica, com mortalidade de 10-20%. Estirpes de *V. alginolyticus* isoladas de (*Sparus aurata* L e *Dicentrarchus labrax*) expressaram a patogenicidades nestes peixes, confirmado a virulência destas bactérias em peixes cultivados (Balebona *et al.*, 1998; Kahla-Nakbi *et al.*, 2006).

*Shewanella putrefaciens* ainda não é muito conhecido como patógeno dos peixes, porém tem sido isolado em carpa comum (*Cyprinus carpio* L), trutas provenientes de aquacultura (Kozínska e Pekala, 2004), peixe-dourado (*Carassius auratus auratus*) (Altun *et al.*, 2014). Embora difícil definir os principais sintomas devido a co-infecção com outras bactérias, destacam-se a descoloração, letargia ou comportamento nervoso (Kozínska e Pekala, 2004). Nos ensaios laboratoriais tem tido índices elevados de mortalidade. É considerado patógeno oportunista que pode causar doenças em peixes submetidos ao estresse (El-Barbary, 2017).

*Aeromonas salmonicida* é agente etiológico de furunculose nos peixes (Ellis, 1999), de acordo com El-Sayed (2006), causou mortalidade massiva de *O. mossambicus* no reservatório de Kalyani na Índia.

Tendo em conta que nenhum dos peixes examinados apresentava sintomas de doença, o manejo adequado do ambiente de cultivo é de extrema importância na manutenção do equilíbrio bactéria-peixe.

As infecções por bactérias tornam-se elementos de predisposição para a ocorrência de outras doenças tal como viroses. Mesmo usando boas práticas de manejo e bom padrão de alimentação, doenças podem ocorrer de vez em quando (Tanekhy, 2015), daí que é sempre bom examinar os animais sempre que necessário.

As espécies de *Vibrio* isoladas nesta pesquisa mostram de certo modo um risco de saúde que pode ser associado ao consumo de tilápias quando as medidas preventivas não forem tomadas.

Geralmente a invasão cutânea da pele por vibrios é através das lesões pois não são capazes de penetrar na pele intacta. Contudo a presença de feridas ou obstruções constitui via de entrada e explica altos índices de infecções relacionados com vibrios em banhistas e pessoas envolvidas em outras actividades marinhas (Sganga *et al.*, 2009).

A informação epidemiológica sugere que muitas estirpes de *V. vulnificus* representa um baixo risco para a população susceptível por causa da sua baixa abundância em amostras marinhas e a reduzidos clínicos casos observados por ano (Tao *et al.*, 2012). Porém as mudanças climáticas reflectidas pelo aumento da temperatura dos corpos de água e a alta plasticidade do genoma dos vibrios fazem com que os vibrios merecem uma atenção especial. Recentemente autores relatam o potencial patogénico de vibrios em causar doenças em humanos que muitas das vezes é associado ao aumento da temperatura de água devido ao aquecimento global (Thompson *et al.*, 2004). Aliás, Collin *et al.*, (2012), reporta septicemia e infecções nas feridas dos indivíduos imunocomprometidos. Esta situação pode contribuir na abundância e patogenicidade de *V. vulnificus* e outras espécies de *Vibrio*.

Alguns autores consideram *Vibrio alginolyticus* como um potencial patógeno para os humanos. Se espécies patogénicas estiverem presentes nos peixes implica um risco para a saúde do consumidor, tal que podem se tornarem maior vector para a contaminação cruzada quando estes não são manuseado de forma adequada (Zorrilla *et al.*, 2003b). Além disso, *V. alginolyticus* pode ser considerado reservatório de muitos genes de virulência encontrados em várias espécies de *Vibrios* (Lafisca *et al.*, 2008, Masini *et al.*, 2007). Esta bactéria tem sido isolada em amostras de peixes comercializados nos mercados, Da



Silva (2007), isolou 15% de *Vibrio alginolyticus* em amostras de peixes comercializadas em São Paulo, Brasil.

As infecções causadas por *V. mimicus* são geralmente de origem ambiental. Foi responsável por 5.3% das infecções causadas por *Vibrio* nos Estados Unidos. Estima-se que a dose infecciosa seja de  $10^4$ - $10^9$  ufc (Guardiola-Avila *et al.*, 2014). Também a presença de *V. fluvialis* representa o risco que o pescado oferece ao consumidor, uma vez que esta bactéria está implicada em causar doenças em humanos.

*Shewanella putrefaciens* tem sido isolado em amostras clínicas. É responsável por infecções e bacteremia. Tem sido isolado também em casos da infecção polimicrobiana. A exposição ao ambiente marinho é um factor de risco para infecções com *Shewanella putrefaciens*. As doenças crónicas facilitam a ocorrência de infecções por este patógeno (Vignier *et al.*, 2013; Sharma e Kalawat, 2010). *Shewanella putrefaciens* é uma bactéria importante na deterioração do pescado e outros produtos de carne, é uma das principais bactérias que causa o apodrecimento dos peixes marinhos conservados a 0°C (Kozínska e Pekala, 2004; Jorgensen e Huss, 1989; El-Barbary, 2017).

Tendo em conta que os víbrios principalmente os que foram isolados nesta pesquisa podem ou não serem virulentas, uma análise de factores de virulência nos víbrios isolados elucidaria melhor o risco de saúde. Portanto, apesar de existir um certo risco ainda não se pode assegurar que estas bactérias sejam capazes de causar doenças. Segundo Massini *et al* (2008), a patogenicidade dos víbrios parece ser influenciada pelos factores físico-químicos do ambiente aquático.

Os indivíduos imunocomprometidos têm um risco acrescido a infecções por víbrios. Nalgumas instituições de saúde em Moçambique, Instituto Nacional de Saúde, tem isolado algumas espécies destas bactérias em pacientes. Mas a maioria das instituições pode não são identificar devido ao uso dos testes rápidos baseados no diagnóstico de *Vibrio cholera* (Da Fonseca, 2007). Também é difícil responsabilizar estas bactérias em casos de infecções ou diarreias visto que são isolados em associação com outras bactérias. Mas existência de relatos de isolamento destas bactérias nas amostras clínicas sugere uma contaminação zoonótica nos humanos.

O isolamento de *Vibrio* spp, mostra que certa atenção deve ser prestada directamente nos pontos de produção e colheita, boas práticas de higiene devem ser tomadas nas farmas e regulamentos devem ser tomadas em conta de forma a evitar perdas causadas por este patógeno e evitar a transmissão de doenças

aos consumidores, também estes devem ser informados o risco que estes correm ao comerem peixes crus ou mal cozidos, porque quando todas as medidas preventivas forem tomadas a bactéria pode se limitar apenas em animais.

## 6. CONCLUSÕES

Foram identificadas 4 espécies de *Vibrio* spp patogénicas, nomeadamente: *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. fluvialis* e *V. mimicus*. A prevalência de *Vibrio* spp em tilápia *Oreochromis mossambicus* foi de 38.5 %. As bactérias isoladas nesta pesquisa podem causar desordens nos tanques de cultivo, podendo liderar altas taxas de mortalidade, principalmente quando os peixes forem estressados, visto que são oportunistas e existem relatos destas bactérias causarem doenças em peixes. A presença víbrios patogénica nos peixes analisados representa um certo risco `a saúde humana e pode afectar a qualidade deste pescado.

## 7. RECOMENDAÇÕES

- Devem ser realizados estudos sobre os factores de virulência, patogenicidade e teste de sensibilidade destas bactérias;
- Pesquisas adicionais e regulares devem ser realizadas para estudar as comunidades bacterianas de água, sedimentos e peixes criados nas farmas piscícolas;
- Devem ser tomadas medidas preventivas tanto pelos piscicultores bem como por consumidores, sendo que os peixes cultivados não devem ser vendidos vivos, devem ser observadas as medidas de biossegurança durante o processamento, manutenção da cadeia de frio durante o processamento;
- Quando o piscicultor tiver lesões cutâneas deve evitar entrar nos tanques de cultivo em águas salgadas.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adeleye, I.A., Daniels, F.V. & Enyinnia V. A. (2010). Characterization and Pathogenicity of *Vibrio Spp.*Contaminating Seafoods in Lagos, Nigeria. Internet Journal of Food Safety, **12**:1-9.
2. Al-Harbi, A. H. & Uddin, N. (2005). Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia. Aquaculture, **250**: 566– 572.
3. Al-Sunaiher, A. E., Ibrahim, A. S.S & Al-Salamah, A.A. (2010). Association of *Vibrio* species with Disease Incidence in Some Cultured Fishes in the Kingdom of Saudi Arabia. World Applied Sciences Journal, **8 (5)**: 653-660.
4. Ansaruzzaman, M., Lucas, M., Deen, J. L., Bhuiyan, N. A., Wang X., Safa, A., Sultana, M., Chowdhury, A., Nair, G. B., Sack, D. A., Seidlein, L. V., Puri, M. K. Ali, M., Chaignat, C., Clemens, J. D. & Barreto. A. (2005). Pandemic Serovars (O3:K6 and O4:K68) of *Vibrio parahaemolyticus* Associated with Diarrhea in Mozambique: Spread of the Pandemic into the African Continent. Journal of Clinical Microbiology, **43 (6)**., 2559–2562.
5. Austin, B. 2009. Vibrios as causal agents of zoonoses. Veterinary Microbiology, **140**: **1-34**
6. Austin B. & Zhang, X-H. (2006). *Vibrio harveyi*: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. Applied Microbiology, **43**: 119–124.
7. Austin, B. & Austin, D. A. Bacterial Fish Pathogens, Disease of Farmed and Wild Fish, 4<sup>th</sup> ed. Springer Praxis, Chichester. 2007. 552 pp.
8. Azad, I.S., Thirunavukkarasu, A.R., Kailasam, M. & Rajan, J.J.S. (2004). Virulence and Histopathology of *Vibrio anguillarum* like (VAL) Bacterium Isolated from Hatchery Produced Juveniles of *Lates calcarifer* (Bloch). Asian Fisheries Science, **17**: 101-110.
9. Baffone, W., Vittoria, E., Campana, R. Citterio, B., Casaroli, A., Pierfelici, L. (2004). Occurrence and expression of virulence-related properties by environmental halophilic *Vibrio* spp. in in vitro and in vivo systems. Food Control, **16**: 451–457.
10. Bhattacharjee, S., Bhattacharjee, S. Bal, B., Pal, R., Niyogi, S. K. & Sarkar, K. (2010). Is *Vibrio fluvialis* Emerging as a Pathogen with Epidemic Potential in Coastal Region of Eastern India Following Cyclone *Aila*. J HEALTH POPUL NUTR. **28(4)**:311-317.

11. Balebona, M. C., Zorrilla, I., Morinigo, M. A., & Borrego., J. J. (1998). Survey of bacterial pathologies affecting farmed gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.) in Southwestern Spain from 1990 to 1996. *Aquaculture*, **166**: 19–35.
12. Bisharat, N. (2002). *Vibrio vulnificus* Infections can be Avoided. *IMAJ*, **4**: 631-633.
13. Boane P. S. (2008). Parasitas de carpa *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 de Moçambique. Tese de Doutoramento. Universidade Porto Lisboa. 153pp.
14. Brayton, P. R., Bode, R. B., Colwell, R. R., Macdonell, M. T. Hall, H. L., Grimes, D. J., West, P. A. & Bryant, T. N. (1986). *Vibrio cincinnatiensis* sp. nov., a New Human Pathogen. *Journal of Clinical Microbiology*, **23** (1): 104-108.
15. Chatterjee, S. & Haldar, S. (2012). *Vibrio* Related Diseases in Aquaculture and Development of Rapid and Accurate Identification Methods. *Marine Science Research & Development*, **1** (002): 7.
16. Chen, C., Chao, C. & Bowser, P. R. (2006). Infection of Tilapia *Oreochromis* sp. by *Vibrio vulnificus* in Freshwater and Low-salinity Environments. *Journal Of The World Aquaculture Society*, **37** (1): 82-88.
17. Choopun, N., Louis, V., Huq, A., Colwell, R. R. (2002). Simple Procedure for Rapid Identification of *Vibrio cholera* from the Aquatic Environment. *Applied and Environmental Microbiology*, **68** (2): 995–998.
18. Collin, B., Rehnstam-Holm, A., Borjesson, S. E., Mussagy, A. & Hernroth, B. (2012). Characteristics of potentially pathogenic vibrios from subtropical Mozambique compared with isolates from tropical India and boreal Sweden. *EMS Microbiology Ecology*, **83**: 255–264.
19. Da Fonseca, G. R. S. 2007. Estudo de uma população adulta na Cidade da Beira (Moçambique). Tese de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
20. Dalsgaard, I., Hoi, L., Seibeling, R. J. & Dalsgaard, A. (1999). Indole-positive *Vibrio vulnificus* isolated from disease outbreaks on a Danish eel farm. *Diseases of Aquatic Organisms*, **35**: 187-194.

21. Da Silva, M.L. (2007). Pesquisa de *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp. e da qualidade sanitária de peixes comercializados na cidade de São Paulo. Tese de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
22. Davis, B.R., Fanning, G.R., Madden, J.M., Steigerwalt, A.G., Bradford Jr., H.B., Smith Jr., H.L., Brenner, D.J. (1981). Characterization of biochemically atypical *Vibrio cholerae* strains and designation of a new pathogenic species, *Vibrio mimicus*. new pathogenic species, *Vibrio mimicus*. Journal of Clinical Microbiology, **14**(6): 631–639.
23. Derber, C., Coudron, P., Tarr, C., Shankaran, S., Gladney, L. & Wong, E. (2011). *Vibrio furnissii*: an Unusual Cause of Bacteremia and Skin Lesions after Ingestion of Seafood. Journal of Clinical Microbiology, **49**( 6): 2348–2349.
24. Drake, S. L., DePaola, A. & Jaykus, L. (2007) .An Overview of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety, **6**: 120-144.
25. Dong, H. T., Nguyen, V. V., Le, H. D., Sangsuriya, P., Jitrakorn, S., Saksmerprome, V. Senapin, S., Rodkhum, C. (2015). Naturally concurrent infections of bacterial and viral pathogens in disease outbreaks in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farms. Aquaculture, **448**: 427–435.
26. El-Barbary, M. I. (2017). First recording of *Shewanella putrefaciens* in cultured *Oreochromis niloticus* and its identification by 16Sr RNA in Egypt. Egyptian Journal of Aquatic Research. **43**: 101–107.
27. Ellis, A. E. (1999). Immunity to bacteria in Fish. Fish & Shellfish Immunology, **9**: 291-308.
28. El-Sayed, A.-B. M. (2006). *Tilapia Culture*. CABI Publishing, Wallingford. 277 pp.
29. El-Sayed, A.-F.M. (2013). Tilapia feed management practices in sub-Saharan Africa. In M.R. Hasan and M.B. New, eds. On-farm feeding and feed management in aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 583. Rome, FAO. pp. 377–405.
30. FAO. 2017a. Regional Review on Status and Trends in Aquaculture Development in Sub-Saharan Africa – 2015. Roma, 29 pp.

31. FAO. (2017b). FAO Fishery Statistics, Aquaculture production. Disponível em <http://www.fao.org/fishery/statistics/en>. Acessado em 23 de Agosto de 2017.
32. FAO. 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.
33. FAO. (2009). Workshop on the Development of an Aquatic Biosecurity Framework for Southern Africa. Fisheries and Aquaculture Report No. 906
34. Fontelles, M. J., Simões, M. G., de Almeida, J. & Fontelles, R. G. S. (2010). Metodologia da Pesquisa: Diretrizes para o Cálculo do Tamanho da Amostra. Revista Paraense de Medicina, **24** (2): 57-64.
35. Fouz B., Alcaide, E., Barrera, R., Amaro, C. (2002). Susceptibility of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to vibriosis due to *Vibrio vulnificus* biotype 2 (serovar E). Aquaculture, **212**: 21–30.
36. Fouz, B., Larsen, J. L., Nielsen, B., Barja, J. L. & Toranzo, A. E. (1992). Characterization of *Vibrio damsela* strains Isolated from turbot *Scophthalmus maximus* in Spain. Diseases of Aquatic Organisms, **12**: 155-166.
37. GAFSP. 2016 Agribusiness Country Diagnostic – Mozambique. Cambridge Economic Policy Associates Ltd. 71 pp.
38. Garcia, T., Otto, K., Kjelleberg, S. & Nelson, D. R. (1997). Growth of *Vibrio anguillarum* in Salmon Intestinal Mucus. Applied and Environmental Microbiology, **63**(3): 1034-1039.
39. Guardiola-Avila, I., Noriega-Orozco, L., Gómez-Gil, B. & Acedo-Félix, E. (2014). Factores de Virulencia de *Vibrio mimicus*. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, **17**(2): 38-49.
40. Gomathi, R.S., Vinothkumar, R. & Arunagiri, K. (2013). Identification Vibrios from marine Seafood Samples. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci., **2**(2):36-43 pp.
41. Haenen, O.L.M., Evans, J. & Berthe, F. (2013). Bacterial infections from aquatic species: potential for and prevention of contact zoonoses. Rev. Sci. tech. Off. int. Epiz., **32** (2): 497-507.



42. Hansen, G.H. & Olafsen, J.A. (1999). Bacterial Interactions in Early Life Stages of Marine Cold Water Fish. *Microbial Ecology*, **38**:1-26.
43. Hai, N. V. (2015). Research findings from the use of probiotics in tilapia aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, **45** 592-597.
44. Halpern, M. & Izhaki, I. (2017). Fish as Hosts of *Vibrio cholera*. *Frontiers in Microbiology*, **8**: 1-6.
45. Harvell, C. D., Kim, K ., Burkholder, J. M., Colwell, R . R., Epstein, P. R., Grimes, D. J., Hoffmann, E. E., Lipp, E. K., Osterhaus, A. D.M.E., Overstreet, R. M., Porter, J. W., Smith, G. W. & Vasta, G. R . (1999). Emerging Marine Diseases -Climate Links and Anthropogenic Factors. *Science*, **285**: 1505-1510.
46. Huicab-Pech, ZG., Castaneda-Chavez, M.R. & Lango-Reynoso, F. (2017). . Pathogenic Bacteria in *Oreochromis Niloticus* Var. Stirling Tilapia Culture. *Fisheries and Aquaculture Journal* **8** (2):197.
47. Idowu, T.A., Adedeji, H.A. & Sogbesan, O. A. (2017). Fish Disease and Health Management in Aquaculture Production. *International Journal of Environment & Agricultural Science*, **1**: 1-6.
48. Igbinsola, E. O. & Okoh, A. I. (2010). *Vibrio Fluvialis*: An Unusual Enteric Pathogen of Increasing Public Health Concern. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **7**: 3628-3643.
49. Immanuel, G., Uma, R. P., Iyapparaj, P., Citarasu, T., Peter, S. M. P., Babu, M.M. & Palavesam, A. (2009). Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology*, **74**: 1462–1475.
50. INAQUA. 2010. Notícias D'Aquacultura. Boletim Informativo Mensal, 3<sup>a</sup> ed. 4pp.
51. INAQUA. 2011. Actualização de Zonas Potenciais para Aquacultura Marinha em Moçambique. 177pp.
52. INAQUA. 2012. Balanço do Plano de Acção da Implementação da Estratégia para o Desenvolvimento da Aquacultura em Moçambique.

53. Kahla-Nakbi, A. B., Chaieb, K., Besbes, A., Zmantar, T. & Bakhrouf, A. (2006). Virulence and enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from Tunisian cultured gilthead sea bream and sea bass outbreaks. *Veterinary Microbiology*, **117**: 321–327.
54. Kubitzka, F. 2008. Tilápias na mira dos patógenos. *Sanidade Aquícola. Panorama de aquacultura*, **7** (107): 28-37.
55. Koznińska, A. & Pêkala, A. (2004). First isolation of *Shewanella putrefaciens* from freshwater fish – a potential new pathogen of the fish. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol*, **24**(4): 199-203.
56. Lee, J., Ahn, S., Kim, S., Choi, Y. Park, K. Kong, I. (2002). Characterization of *Vibrio mimicus* phospholipase A (PhlA) and cytotoxicity on fish cell. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **298**: 269–276.
57. López A., G. Garrido, J. Murama A. Chemane. (2013). Projeto da Estratégia de Aquacultura Do Distrito de Caia: Apoio na elaboração de uma estratégia de desenvolvimento da aquacultura nos distritos de caia e gorongosa – Moçambique. INF International Consulting. 62pp.
58. Maote, V. E. 2017. *Aquapesca*.
59. Manna, S. Kr. (1998). Fungal and bacterial diseases of fish diagnosis and therapy. In: *Methods for Diagnosis and Treatment of Fish Disease*. Central Inland Capture Fisheries Research Institute, **84**: 16-23.
60. Masini L., De Grandis, G., Principi, F., Mengarelli, C., & Ottaviani, D. (2007). Research and characterization of pathogenic vibrios from bathing water along the Conero Riviera (Central Italy). *Water Research*, **41**: 4031– 4040.
61. Matte, M. H., Baldassi, L., Barbosa, M. L., Malucelli, M. I.C. Nitrini, S. M.O.O. Matte, G. R. (2007). Virulence factors of *Vibrio metschnikovii* strains isolated from fish in Brazil. *Food Control*, **18**: 747–751.
62. Meyers, T. R. (2000). *Fish Pathology Section, Laboratory Manual*. 2a Edição. Juneau. 195 pp.
63. Morris, J. G. (2003). Cholera and Other Types of Vibriosis: A Story of Human Pandemics and Oysters on the Half Shell. *Clinical Infectious Diseases*, **37**: 272–80.

64. Mustapha, S., Mustapha, E. M., Nozha, C. (2013). *Vibrio alginolyticus*: An Emerging Pathogen of Foodborne Diseases. International Journal of Science and Technology, **2** (4): 302-309.
65. Noriega-Orozco, L., Acedo-Félix, E., Higuera-Ciapara, I., Jiménez-Flores, R. & Cano, R. (2007). Pathogenic and non pathogenic *Vibrio* species in Aquaculture shrimp ponds. Revista Latinoamericana de Microbiologia, **49** (3-4): 60-67.
66. Novotny, L., Dvorska, L., Lorencova, A., Beran, V. & Pavlik, I. (2004). Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. Vet. Med., **49**,(9): 343–358.
67. Ortigosa, M., Garay, E. & Pujalte, M. (1994). Numerical Taxonomy of Vibrionaceae Isolated from Oysters and Seawater Along an Annual Cycle. Systm. Appl. Microbiol. **17**:216-225.
68. Pakingking Jr, R., Usero, R. & Palma, P. (2015). Quantitative and qualitative analyses of the bacterial microbiota of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in earthen ponds in the Philippines. World J Microbiol Biotechnol, **31**:265–275.
69. Paydar, M. (2013). Isolation and Differentiation of *Vibrio* Species from Seafood and Molecular Characterisation of *Vibrio parahaemolyticus*. Dissertação de Mestrado. University Of Malaya, Kuala Lumpur.
70. PDCF. 2013. (Programme Document Common Fund). Support to the Fisheries Sector of Mozambique 2013-2017. 66 pp.
71. Plano Director das Pescas 2010 – 2019. 2012. Maputo.
72. Praveen P. K., Debnath, C., Shekhar. S., Dalai, N., & Ganguly, S. (2016). Incidence of *Aeromonas* spp. infection in fish and chicken meat and its related public health hazards: A review, Veterinary World, **9**(1): 6-11.
73. PTM05. 2015. Detecção e Enumeração de *V. cholerae* e *parahaemolyticus* NMKL N° 156 2<sup>nd</sup> Ed., 1997. LIP. 5 pp.
74. Raj, S. T., Lipton, A. P. & Chauhan, G. S. (2010). Characterization and infectivity evaluation of *Vibrio harveyi* causing white patch disease among captive reared seahorses, *hippocampus kuda*. Indian Journal of Marine Sciences, **39** (1): 151-156.

75. Ramamurthy, T., Chowdhury, G., Pazhani, G. P. & Shinoda, S. (2014). *Vibrio fluvialis*: an emerging human pathogen. *Frontiers in Microbiology*, **5** (91): 1-8.
76. Ransangan, J., Lal, T. M. & Al-Harbi, A. H. (2012). Characterization and experimental infection of *Vibrio harveyi* isolated from diseased Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Malaysian Journal of Microbiology*, **8**(2): 104-115.
77. Reed, P. A. & Francis-Floyd, R. (1996). *Vibrio Infections of Fish*. University of Florida, FA-31. 3 pp.
78. Rodrigues, E. (2007). Pesquisa de *Aeromonas* spp. Em tilápia (*Oreochromis niloticus*), Cultivada no Estado do Rio de Janeiro-Brasil: Isolamento, Identificação de Espécies e Avaliação da Sensibilidade Antimicrobiana. Tese de Doutorado. Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.
79. Sganga, G., Cozza, V., Spanu, T., Spada, P. L. & Fadda, G. (2009). Global Climate Change and Wound care: case Study of an off-season *Vibrio alginolyticus* Infection in a Healthy Man. *Osfomy Wound Management*, **55**(4): 60-62.
80. Sankar, G. P., Saravanan, J., Krishnamurthy, P., Chandrakala, N. & Rajendran, K. (2012). Isolation and Identification of *Vibrio* spp. in diseased *Channa punctatus* from aquaculture fish farm. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* **41** (2):159-163.
81. Sharma, K. K. & Kalawat, U. (2010). Emerging Infections: *Shewanella* – A Series of Five Cases. *Journal of Laboratory Physicians*, **2** (2): 61-65.
82. Sharma, S. R. K., Pradeep, M. A., Loka, J., Sahoo, A. K., Dube, P. N., Sadhu, N. & Philipose, K. K. (2014). Association of *Vibrio harveyi* in mortality of mangrove red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*, Forsskål, 1775) cultured in open sea cages. *Indian J. Fish*, **61**(3) : 118-121.
83. Shikongo-Nambabi, M. N. N. N., Petrus N. P. & Schneid, M. B. (2012). The role, isolation and identification of *Vibrio* species on the quality and safety of seafood. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, **7** (2): 16-30.
84. Shorr, A. F., Moran, K., McEvoy, P. & Chung, R. (1997). *Vibrio holllisae* Bacteremia in an Immunocompetent Host: Case Report and Review. *International Journal of Infectious Diseases*, **1**(4): 215-216.
85. Silveira, D. R., Milan, C., Rosa, J. V. & Timm, C. D. (2016). Fatores de patogenicidade de *Vibrio* spp. de importância em doenças transmitidas por alimentos. *Arq. Inst. Biol.*, **83**: 1-7.

86. Strom, M. S. & Paranjpye, R. N. (2000). Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Microbes and Infection*, **2**: 177–188.
87. Suresh, A. V & Lin, C. K. (1992). Tilapia culture in saline waters: a review. *Aquaculture*, **136**:201-226.
88. Tanekhy, M. (2015). Fish Health and Diseases. ICMALPS. Alexandria University, Egypt. 222-232.
89. Tao, Z., Larsen, A. M., Bullard, S. A., Wright, A. C. & Arias C. R.. (2012). Prevalence and Population Structure of *Vibrio vulnificus* on Fishes from the Northern Gulf of Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, **78** (21):7611–7618.
90. Thampuran N. & Surendran, P.K. (1998). Occurrence and distribution of *Vibrio vulnificus* in tropical fish and shellfish from Cochin (India). *Letters in Applied Microbiology*, **26**: 110–112.
91. Thompson, F. L., Iida, T. & Swings. J. (2004). Biodiversity of Vibrios. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **68**(3): 403–43.
92. Traoré, O., Martikainen, O., Siitonen, A., Traoré, A. S. Barro, N. & Haukka, K. (2014). Occurrence of *Vibrio cholerae* in fish and water from a reservoir and a neighboring channel in Ouagadougou, Burkina Faso. *Infect Dev. Ctries.*, **8**(10):1334- 1338.
93. Uchida, K., Kaneko, T., Miyazaki, H., Hasegawa, S. & Hirano, T. (2000). Excellent Salinity Tolerance of Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*): Elevated Chloride Cell Activity in the Branchial and Opercular Epithelia of the Fish Adapted to Concentrated Seawater. *Zoological Science*, **17**(2): 149-160.
94. UFBA –. 2005. Isolamento, caracterização e identificação de Bactérias. Disponível em: <http://www.microbiologia.ufba.br/aulas/provas%20bioquimicas.doc>.
95. Verner-Jeffreys, D. W., Shields, R. J., Bricknell, I. R., & Birkbeck, T. H. (2003). Changes in the gut-associated microflora during the development of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae in three British hatcheries. *Aquaculture*, **219** 21–42.

96. Verschuere, A., Rombaut, G., Sorgeloos, P. & Verstraete, W. (2000). Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, **64** (4):655-671.
97. Vignier, N., Barreau, M., Olive, C., Baubion, E., Theodose, R., Hochedez, P. & Cabie, A. (2013). Human Infection with *Shewanella putrefaciens* and *S. algae*: Report of 16 Cases in Martinique and Review of the Literature. *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **89**(1): 151–156.
98. VINE, N. G. (2004). Towards The Development of a Protocol for the Selection Of Probiotics in Marine Fish Larviculture. Thesis of Doctor of Philosophy. Rhodes University, South Africa.
99. Younes, A.M., Fares, M.O., Gaafar, A.Y., & Mohamed, L. A. (2016). Isolation of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio vulnificus* Strains from Cultured *Oreochromis niloticus* Around Qarun Lake, Egypt. *Global Veterinaria*, **16** (1): 01-05.
100. Zorrilla, I., Chabrillon, M., Arijo, S., Diaz-Rosales, P. Martinez-Manzanares, E., Balebona, M.C., & Morinigo, M.A. (2003a). Bacteria recovered from diseased cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) in southwestern Spain. *Aquaculture*, **218**: 11 –20.
101. Zorrilla I., Morinigo, M.A., Castro, D. Balebona, M.C. & Borrego, J.J. (2003b). Intraspecific characterization of *Vibrio alginolyticus* isolates recovered from cultured fish in Spain. *Journal of Applied Microbiology*, **95**:1106–1116.

## 9. ANEXOS

**Tabela 1:** Prevalência de *Vibrio* spp isoladas tilapia *Oreochromis mossambicus* proveniente tanque de aquacultura em água salobra.

<i>Vibrio</i> spp (n=65)	No. total de peixes positivos	Prevalência (%)
<i>V. alginolyticus</i>	8	12.3
<i>V. vulnificus</i>	10	15.4
<i>V. mimicus</i>	2	3.1
<i>V. fluvialis</i>	5	7.7
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>38.5</b>

**Tabela 2:** Frequência das espécies de bactérias isoladas por dia de amostragem.

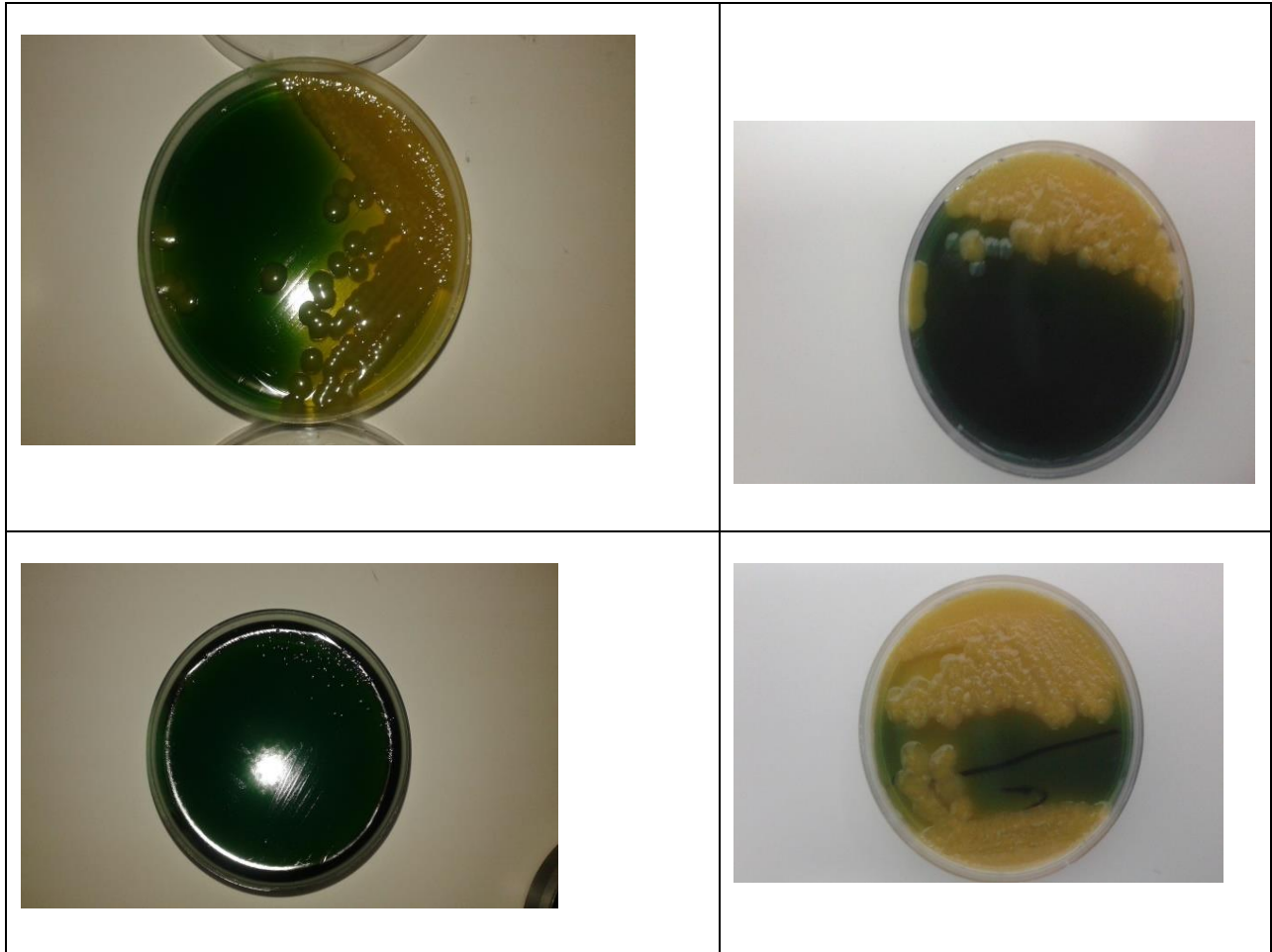
<b>Data da colheita de amostra</b>	<b>Bacterias isoladas</b>	<b>Número de amostras positivas</b>	<b>Número de amostras colhidas</b>
16/04/2016	<i>V. alginolyticus</i>	5.0	20.0
	<i>V. vulnificus</i>	2.0	
	<i>V. mimicus</i>	1.0	
	<i>V. fluvialis</i>	1.0	
	<i>A. salmonicida</i>	1.0	
30/4/2016	<i>V. alginolyticus</i>	2.0	15.0
	<i>V. vulnificus</i>	3.0	
4/6/2016	<i>V. vulnificus</i>	3.0	15.0
	<i>S. putrefaciens</i>	2.0	
20/06/2016	<i>V. fluvialis</i>	4.0	15.0
	<i>V. alginolyticus</i>	1.0	
	<i>V. vulnificus</i>	2.0	
	<i>V. mimicus</i>	1.0	
<b>Total</b>		<b>28.0</b>	<b>65.0</b>



**Tabela 3:** Dados biométricos dos peixes por dia de amostragem

<b>Ordem</b>	<b>Data de colheita</b>	<b>Comprimento padrao</b>	<b>Comprimento total</b>	<b>Peso individual</b>
1	16/04/2016	11.6	14.2	50.1
2		12	15	57.6
3		11	13.5	40.7
4		10.3	13.2	42.4
5		10	12	42.9
6		11.5	14.2	48.4
7		12.2	14.9	57.5
8		11.2	14	50.9
9		11.5	14	47.7
10		11.5	14	58.2
11		10.4	12.5	41.8
12		11.7	13	44.5
13		10	12.2	40.5
14		10.8	13.3	45.5
15		10.8	13.5	46.31
16		11.7	14	44.96
17		12	15	57.6
18		14	16	73.3
19		13	15.6	68.9
20		12	14.9	65
21	30/04/2016	13	16	73
22		12.8	15.1	67.7
23		12.2	14.9	57.5
24		12	15	60.9
25		12.3	15.5	62.1
26		13.2	16.1	66.4
27		12.9	15	67
28		11.5	14	58.2
29		13.1	15.5	73.1
30		12.5	15.2	70.5
31		12.8	14.8	67.5
32		12.5	14.7	62.71
33		12.7	15.9	73.24
34		13.9	16	71.49
35		13.5	16.6	69.59

36	4/6/2016	13.7	10.4	68.37	
37		12.7	15.5	70.37	
38		12	14.5	68	
39		13.7	16.4	65.02	
40		14	16	73.3	
41		13	16	73	
42		13.1	15.5	73.1	
43		13.2	15.7	73.5	
44		4/6/2016	12.7	15.9	73.24
45			13.7	16.5	73.83
46	13.5		16.8	77.2	
47	14.4		17.6	90.6	
48	14		17	79.5	
49	13.5		17	78.7	
50	15		18.5	91.1	
51	20/06/2016	13.7	16.2	90	
52		13.6	16.4	78.6	
53		13.2	15.5	82.2	
54		13.6	15.9	82.1	
55		14.5	16.7	88	
56		14	16.1	85	
57		13.6	16	76.27	
58		14.6	17.4	89.64	
59		13.7	16.5	73.83	
60		16.3	19.5	116	
61		14.2	16.3	92.6	
62		14.7	17.3	103.5	
63		17	19.9	121	
64		15.5	17.5	115	
65		15.2	18	92.49	
<b>Maximo</b>		17	19.9	121	
<b>Minimo</b>		10	10.4	40.5	
<b>Média</b>		12.92	15.44	69.86	
<b>Desvio Padrão</b>		1.43	1.68	18.06	



**Figura 1:** Colónias das bactérias do género *Vibrio* isoladas neste estudo.



**A:** Teste de Oxidação e fermentação



**B:** Teste TSI

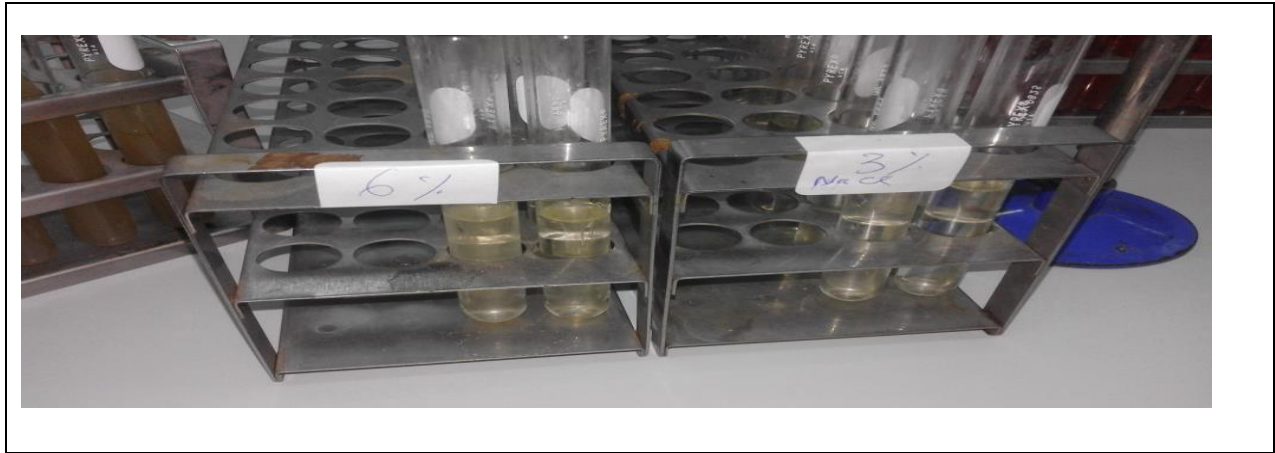


**C:** Teste de hidrólise de esculina



**D:** Teste API20E

**Figura 2:** Resultados dos testes bioquímicos observados neste estudo



**Figura 3:** Teste de crescimento em diferentes concentrações de sal (NaCl)



**Figura 3:** Hapas instaladas no tanque escavado usadas no cultivo de tilápia *Oreochromis mossambicus*.