



<http://dx.doi.org/>

<http://www.higieneanimal.ufc.br>

Artigo Científico

Medicina Veterinária

Presença de *Aeromonas* em ambiente de cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na região nordeste do Brasil

Presence of *Aeromonas* in a Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture environment in the northeastern region of Brazil

Deborah Oliveira Amarante ^{1*}, Raquel Cavalcante Soares ², Maria Tereza Martins Sousa ³, Fátima Cristiane Teles de Carvalho ⁴, Célio Henrique Alexandrino Cavalcante ⁵, Francisca Gleire Rodrigues de Menezes ⁶

Resumo: Com o aumento das densidades de estocagem nos cultivos de peixes, também cresceu a quantidade de enfermidades, em especial as ocasionadas por bactérias. Dos microrganismos comumente encontrados, pode-se destacar o gênero *Aeromonas*, sendo associados a existência de doenças, podendo acarretar elevada mortalidade aos peixes cultivados. Assim, o objetivo do presente trabalho foi identificar cepas suspeitas de *Aeromonas* isoladas da água de cultivo e do muco da tilápia do Nilo usando testes fenotípicos e genotípicos. Foram realizados os testes bioquímicos: oxidase, fermentação de glicose, resistência à O/129, Voges-Proskauer, motilidade, produção de gás sulfídrico, produção de indol e esculina, seguido de identificação genotípica. Foi possível isolar 28 cepas Gram-negativas, com características morfológicas suspeitas de *Aeromonas*, das quais 24 eram de muco e 4 de água. Com base nos resultados bioquímicos, as cepas foram classificadas nas espécies: *Aeromonas veronii* biovar *sobria* (n = 23), *A. caviae* (n = 3) e *Aeromonas veronii* biovar *veronii* (n = 2). Todos confirmados genotipicamente. Concluiu-se que a espécie *Aeromonas veronii* biovar *sobria* é dominante no cultivo de tilápias, merecendo atenção devido a sua alta patogenicidade.

Palavras-chave: peixes, enfermidades, fenotípico, genotípico.

Abstract: As stocking densities in fish farms have increased, so have the number of diseases, especially those caused by bacteria. Of the microorganisms commonly found, the *Aeromonas* genus stands out, as it is associated with diseases and can cause high mortality in farmed fish. The aim of this study was to identify suspected strains of *Aeromonas* isolated from

farmed water and the mucus of Nile tilapia using phenotypic and genotypic tests. The following biochemical tests were carried out: oxidase, glucose fermentation, resistance to O/129, Voges-Proskauer, motility, sulphide gas production, indole and esculin production, followed by genotypic identification. It was possible to isolate 28 Gram-negative strains with morphological characteristics suspicious of *Aeromonas*, of which 24 were from mucus and 4 from water. Based on the biochemical results, the strains were classified into the following species: *Aeromonas veronii* biovar *sobria* (n = 23), *A. caviae* (n = 3) and *Aeromonas veronii* biovar *veronii* (n = 2). All confirmed genotypically. It was concluded that the *Aeromonas veronii* biovar *sobria* species is dominant in tilapia farming and deserves attention due to its high pathogenicity.

Keywords: fish, diseases, phenotypic, genotypic.

<http://dx.doi.org/>

Autor para correspondência. E-mail: deborahamarante98@gmail.com

Recebido em 12.03.2025. Aceito em 30.6.2025

Parte da tese de doutorado da primeira autora, financiada pela CAPES.

Trabalho apresentado no I Simpósio de Animais Marinhos e Aquáticos (SIPAMAR), promovido pela Liga Acadêmica de Animais Marinhos, Aquáticos e Ambientes Costeiros (LAMAAC), realizado nos dias 10, 11 e 12 de Março de 2025, das 8:00 às 17:00, com o tema: “Águas de Março: Desafios Climáticos e a Saúde da Vida Aquática”, no auditório da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (UECE).

^{1*,2}Doutoranda em Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, Brasil, email: deborahamarante98@gmail.com

³ Mestranda em Ciências Marinhas Tropicais, UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil. email: tereza.martins023@gmail.com

⁴ Pós doutora do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), UFC. email: ctcarvalho@yahoo.com.br

⁵ Mestre em Engenharia de Pesca, UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil. email: celiohac@hotmail.com

⁶ Professora da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil. email: gleiremenezes@ufc.br

Introdução

As doenças de origem bacteriana são um problema nas pisciculturas, causando grandes obstáculos econômicos à atividade (SENTHAMARAI *et al.*, 2023).

Nesse contexto, as bactérias do gênero *Aeromonas* são consideradas

patógenos emergentes em peixes cultivados (YOUNIS *et al.*, 2020), estas destacam-se por crescerem facilmente em águas doces tropicais e serem organismos notavelmente oportunistas (SEMWAL *et al.*, 2023).

As bactérias do gênero *Aeromonas* são caracterizadas por possuírem forma de

bastonetes curtos, Gram-negativas, oxidase-positivas e a capacidade de fermentar glicose.

Além disso, esses microrganismos são capazes de causar septicemia hemorrágica, associada a lesões cutâneas hemorrágicas em diferentes regiões do corpo, lesões cutâneas típicas de erosões, natação lenta e falta de apetite (EL-MAGD *et al.*, 2019).

A patologia pode se tornar grave, dependendo do estado imunológico do peixe cultivado, afetando diferentes órgãos e causando alta mortalidade (RAHMAN *et al.*, 2022).

Em vista disso, o objetivo deste estudo foi identificar cepas suspeitas de *Aeromonas* isoladas da água de cultivo e do muco da tilápia do Nilo usando testes fenotípicos e genotípicos.

Material e Métodos

Este estudo utilizou 28 cepas suspeitas de *Aeromonas*, de amostras de água e muco superficial de peixes *Oreochromis niloticus* com sinais de infecção. Os espécimes de tilápia do Nilo e a água de cultivo foram obtidos em um sistema de tanques-rede de uma piscicultura na represa do rio Mal cozinhado (cidade de Cascavel, Ceará, Brasil). Os animais apresentaram sinais clínicos suspeitos de

aeromonose: letargia, exoftalmia e lesões na pele.

A partir dos swabs (muco do peixe) e da gaze (filtrado da água), foram feitas diluições seriadas e alíquotas plaqueadas em ágar seletivo para *Pseudomonas Aeromonas* (GSP - adicionado de 20 µg/mL de ampicilina), utilizando a técnica *spread plate*. E alíquotas foram plaqueadas em Plate Count Agar (PCA), usando a técnica *pour plate*. As colônias isoladas foram submetidas à coloração de Gram para confirmação morfológica.

As culturas puras foram submetidas a testes bioquímicos presuntivos seguindo as chaves de identificação descritas em Janda & Abboult (2010), que incluíram: teste de oxidase, fermentação de glicose, teste de resistência à O/129, teste de Voges-Proskauer, motilidade, produção de gás sulfídrico, produção de indol e teste de esculina.

O DNA foi extraído usando o kit comercial Promega®, de acordo com as recomendações do fabricante. A confirmação das cepas pertencentes ao gênero *Aeromonas* (16S rRNA) e às espécies *A. caviae* (gyrB), *A. media* (gyrB), *A. hydrophila* (gyrB) e *A. veronii* (rpoB) (Persson *et al.*, 2015), considerando os *primers* descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - *Primers* usados na identificação do gênero *Aeromonas*.

Gene	Primer	Sequência	Produto (bp)
<i>A. caviae</i> (<i>gyrB</i>)	A-cav F	5'-TGCTGCTGACCATCCGC-3'	70
	A-cav R	5'-GGTGCCTGCGGCTCG-3'	
<i>A. media</i> (<i>gyrB</i>)	A-med F	5'-GGCCAAGCGTCTGCGT-3'	99
	A-med R	5'-CGCCCTCGTAGCAGAAGTGA-3'	
<i>A. hydrophila</i> (<i>gyrB</i>)	A-hyd F	5'-AGTCTGCCCCGCCAGTGGC-3'	144
	A-hyd R	5'-CRCCCATCGCCTGTTCG-3'	
<i>A. veronii</i> (<i>rpoB</i>)	A-See F	5'-CGTGCCGGCTTTGAAGTC-3'	224
	A-See R	5'-GATCACGTACTTGCCTTCTTCAATA-3'	
<i>Aeromonas</i>	A-16S F	5'-CGACGATCCCTAGCTGGTCT-3'	461
<i>Universal (16S rRNA gene)</i>	A-16S R	5'-GCCTTCGCCACCGGTAT-3'	

Resultados e Discussão

Na presente pesquisa, foram isoladas 28 cepas Gram-negativas, com características morfológicas suspeitas de *Aeromonas*, das quais 24 eram de muco e 4 de água. Com base nos resultados bioquímicos, as cepas foram classificadas nas espécies: *Aeromonas veronii* biovar *sobria* (n = 23), *Aeromonas veronii* biovar *veronii* (n = 2) e *A. caviae* (n = 3). Todos esses resultados foram confirmados genotipicamente (Tabela 2).

A espécie *A. veronii* é encontrada naturalmente em reservatórios de água doce e pode infectar peixes, resultando em perdas para o setor de aquicultura. Além de causar doenças em peixes, ela é capaz de causar doenças em seres humanos, animais domésticos, como cães e gatos, e animais selvagens, como jacarés. Essa espécie é

subdividida em *A. veronii* biovar *veronii* e *A. veronii* biovar *sobria*, que podem apresentar diferenças na caracterização fenotípica e nas enzimas relacionadas à virulência (JANDA & ABBOUTT, 2010). Os *primers* utilizados não diferenciaram as biovars, exigindo testes bioquímicos.

Um estudo realizado por Wang *et al.* (2021) comprovou que *Lateolabrax maculatus* após 2-3 dias de infecção natural com *A. veronii* começaram a nadar lentamente, alguns apresentaram áreas de ulceração na pele, ascite no abdômen, hemorragia de órgãos internos e hepática, inflamação intestinal e escurecimento do baço, resultando em alta mortalidade.

Santos *et al.* (2023) confirmaram que, pela primeira vez, *A. veronii* foi o agente causador de um surto de doença em tilápias cultivadas em gaiolas no Brasil,

embora *A. hydrofila* e *A. jandaei* já tenham sido descritas como causadoras de mortalidade em peixes.

Tabela 2 - Perfil fenotípico e identificação de bactérias do gênero *Aeromonas* isoladas do muco do peixe (*Oreochromis niloticus*) e da água do reservatório.

Origem	Código	Teste Bioquímicos							Identificação		
		Ox	FG	O129	VP	Mot	GSul	I	E	Fenotípica	Genotípica
Muco GSP	Muco_01	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_04	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_05	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_06	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_08	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_09	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_10	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_11	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_12	+	+	+	-	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_15	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_19	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_20	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_21	+	+	+	-	+	-	+	-	<i>A. caviae</i>	<i>A. caviae</i>
	Muco_23	+	+	+	-	+	-	+	-	<i>A. caviae</i>	<i>A. caviae</i>
	Muco_24	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_26	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_27	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_28	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_29	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_31	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_32	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
Muco - PCA	Muco_38	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>A. veronii</i> biovar <i>veronii</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_40	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Muco_41	+	+	+	-	+	-	+	+	<i>A. caviae</i>	<i>A. caviae</i>
Reservatório de Água - PCA	Água_44	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Água_46	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>
	Água_56	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>A. veronii</i> biovar <i>veronii</i>	<i>A. veronii</i>
	Água_58	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>	<i>A. veronii</i>

Ox: Oxidase; FG: fermentação da glicose; O129: resistência à O/129; VP: voges-Proskauer; Mot: motilidade;

GSul: produção de gás sulfídrico; I: Indol; E: Esculina.

Nesse mesmo estudo, destacam-se a alta patogenicidade da *A. veronii* e a multirresistência a antibióticos, enfatizando a importância de programas de saúde eficientes, auxiliando na tomada de decisões assertivas, utilizando estratégias de vacinação e reduzindo o uso de antimicrobianos.

A espécie *A. veronii* bv *veronii* é presença natural em ambientes aquáticos e frequentemente associada a doenças em humanos e peixes (HAVIXBECK *et al.*, 2017).

Cai *et al.* (2012) confirmaram em sua pesquisa que a espécie *A. veronii* bv *veronii* é altamente patogênica para o bagre chinês e é capaz de causar surtos de síndrome ulcerativa em peixes.

Outra espécie causadora de doenças é a *A. veronii* bv *sobria*, esse patógeno oportunista pode afetar a saúde dos peixes de água doce, causando infecções e até mesmo levando à morte dos animais (KURZYLEWSKAA *et al.*, 2020).

Um surto de doença em bagres de canal no Vietnã, com alta mortalidade, isolou 22 cepas e todas foram classificadas como *A. veronii* bv *sobria*, afirmando o potencial patogênico dessa espécie (HOAI *et al.*, 2019).

Por fim, o *A. caviae* é encontrado em ambientes aquáticos e é um patógeno

oportunista associado a doenças em várias espécies de peixes (SHARMA *et al.*, 2022). Eles são capazes de produzir vários fatores de virulência, prejudicando mais uma vez a saúde dos peixes cultivados.

Xue *et al.* (2022) afirmam que essa espécie de bactéria foi responsável por uma grande mortalidade de *Micropterus salmoides*, na China.

Conclusões

A. veronii bv. *sobria* foi identificada em maior prevalência, neste contexto, exige atenção especial devido à sua alta patogenicidade, bem como reforçar a necessidade de medidas adequadas de monitoramento e controle, a fim de mitigar seus impactos negativos.

Literatura citada

CAI, S. H.; WU, Z. H.; JIAN, J. C.; LU, Y. S.; TANG, J. F. Characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* bv. *veronii* associated with ulcerative syndrome from Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris*). **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 382-388, 2012.

EL-MAGD, M.A.; EL-SAIDB, K.S.; EL-SEMLAWYB, A.A.; TANEKHYC, M.; AFIFID, M.; MOHAME, T.M. (2019). Association of MHC IIA polymorphisms with disease resistance in *Aeromonas hydrophila*-challenged Nile tilapia. **Developmental & comparative Immunology**, 96, 126-134. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.03.002>.

HAVIXBECK, J.; RIEGER, A. M.; CHURCHILL, L. J.; BARREDA, D. R. Neutrophils exert protection in early *Aeromonas veronii* infections through the

clearance of both bacteria and dying macrophages. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 67, p. 18–30, 2017.

HOAI, T. D.; TRANG, T. T.; TUYEN, N. V.; GIANG, N. T. H.; VAN, K. V. *Aeromonas veronii* caused disease and mortality in channel catfish in Vietnam. **Aquaculture**, v. 513, article 734425, 2019. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734425>.

JANDA, J. M.; ABBOUTT, S. L. The *Aeromonas* genus: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 1, p. 35-73, 2010.

KURZYLEWSKAA, M.; DWORACZEKA, K.; PEKALA-SAFIŃSKAB, A.; TURSKA-SZEWCZUK, A. Structure of the O-specific polysaccharide of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* strain Pt393 isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), which contains a rarely occurring sugar 4-acetamido-4,6-dideoxy-D-galactose, tomosamine. **Carbohydrate Search**, 493, article 108036., 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2022.108602>.

PERSSON, S.; AL-SHUWELI, S.; YAPICI, S.; JENSEN, J. N.; OLSEN, K. E. Identification of clinical *Aeromonas* species by *rpoB* and *gyrB* sequencing and development of a multiplex PCR method for detection of *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii*, and *A. media*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 2, p. 653-656, 2015. DOI: 10.1128/JCM.01963-14.

RAHMAN, M. M.; RAHMAN, M. A.; HOSSAIN, M. T.; SIDDIQUE, M. P.; HAQUE, M. E.; KHASRUZZAMAN, A. K. M.; ISLAM, M. A. Efficacy of bi-valent whole cell inactivated bacterial vaccine against Motile *Aeromonas* Septicemia (MAS) in cultured catfishes

(*Heteropneustes fossilis*, *Clarias batrachus* and *Pangasius pangasius*) in Bangladesh. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 5, p. 3881-3889, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.012>.

SANTOS, S. B.; ALARCON, M. F.; BALLABEN, A. S.; HARAKAVA, R.; GALETTI, R.; GUIMARÃES, M. C.; NATORI, M. M.; TAKAHASHI, L. S.; ILDEFONSO, R.; ROZAS-SERRI M. First report of *Aeromonas veronii* as an emerging bacterial pathogen of farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Brazil. **Pathogens**, v. 12, article 1020, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens12081020>.

SEMWALL, A.; KUMAR, A.; KUMAR, N.A. (2023). review on pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and its mitigation through medicinal herbs in aquaculture. **Heliyon**, 9, 3, article e14088. doi: 10.1016/j.heliyon. 2023.e14088.

SENTHAMARAI, M.D.; RAJAN, M.R.; BHARATHI, P.V. (2023). Current risks of microbial infections in fish and their prevention methods: A review. **Microbial Pathogenesis**, 185, article 106400. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106400>.

WANG, B.; MAO, C.; FENG, J.; LI, J.; HU, J.; JIANG, B.; GU, Q.; SU, Y. A First Report of *Aeromonas veronii* Infection of the Sea Bass, *Lateolabrax maculatus* in China. **Front. Vet. Sci.**, v. 7, article 600587, 2021. DOI: 10.3389/fvets.2020.600587.

SHARMA, A.; CHANU, T. I.; NAYAK, S. K.; JAHAGEERDAR, S. Pathogenesis of *Aeromonas caviae* in *Clarias magur*. **Microbial Pathogenesis**, v. 169, article 105662, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105662>.

XUE, M.; XIAO, Z.; LI, Y.; JIANG, N.; LIU, W.; MENG, Y.; FAN, Y.; ZENG, L.; ZHOU, Y. Isolation, Identification and Characteristics of *Aeromonas caviae* from Diseased Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). **Fishes**, v. 7, article 7030119, 2022.

YOUNIS, N.A.; ELGENDY, M.Y.; EL-SAMANNOUDY, S.I.; ABDELSALAM, M.; ATTIA, M.M. (2023). *Cyathocotylidae* spp and motile aeromonads co-infections in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) causing mass mortality. **Microbial Pathogenesis**, 174, article 105897. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105897>