



<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20170013>

Uma Revisão

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

Zootecnia / Recursos Pesqueiros

***Francisella* spp. em tilápias no Brasil: uma revisão**

Francisella spp. in tilapias in Brazil: a review

**Fernanda Raghianti^{1,2*}, Marina de Mattos Ferrasso³, Marianna Vaz Rodrigues⁴,
Germano Francisco Biondi⁵, Otávio Augusto Martins⁶**

Resumo: O crescimento da tilapicultura nas últimas três décadas tem feito desse grupo de peixes um dos mais cultivados de forma extensiva no mundo. A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie mais cultivada nos parques aquícolas brasileiros, devido a sua rusticidade, rápido crescimento, tolerância a baixa qualidade da água e considerável resistência a doenças. Porém, uma bactéria emergente em aquicultura, *Francisella noatunensis orientalis*, extremamente virulenta, tem sido responsável por mortes de tilápias nos criatórios brasileiros. O diagnóstico através de testes moleculares como a PCR em tempo real (qPCR) tem contribuído na identificação das espécies de *Francisella* envolvidas nos casos de doença granulomatosa nesses peixes. Medidas profiláticas devem ser adotadas no intuito de diminuir o risco de contaminação das pisciculturas por essa bactéria garantindo assim a saúde do plantel e dessa forma, evitando prejuízos aos produtores. O presente estudo tem como objetivo informar sobre a situação da franciselose em tilápias na aquicultura brasileira.

Palavras-chave: Franciselose, tilapicultura, diagnóstico.

Abstract: The growth of tilapicultura in the last three decades has done of this fish group one of the most extensive aquaculture of the world. The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is the most created specie in brazilian fish farms, because of its rusticity, fast growth, low water quality tolerance and considerable diseases resistance. However, an emergente bacteria, *Francisella noatunensis orientalis*, extremely virulent, has been responsible for tilapia deaths in brazilian farms. The molecular diagnosis like real time PCR (qPCR) has contributed to Francisella's species identification involved in granulomatous disease in these fishes. Prevention measures should be applied in order to reduce the *Francisella* contamination risk in fish farms, thus ensuring the squad health, avoiding losses to producers. This study aims to inform about the situation of francisellosis in tilapias in brazilian aquaculture.

Key-words: Francisellosis, tilapicultura, diagnosis.

* Autor para correspondência: E-mail: fernanda.raghianti@iftm.edu.br

Recebido em 12.12.2016. Aceito em 28.03.2017

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro (IFTM), *Campus* Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. *E-mail: fernanda.raghianti@iftm.edu.br

³ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), *Campus* de Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: marinaferrasso@gmail.com

⁴ Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), *Campus* de Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: mvazrodrigues@gmail.com

⁵ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), *Campus* de Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: germano@fmvz.unesp.br

⁶ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), *Campus* de Botucatu, São Paulo, Brasil. oamartins@fmvz.unesp.br

Introdução

A aquicultura, uma arte milenar de origem asiática, é traduzida na atualidade como a atividade do setor primário mais promissora a atender a deficiência de nutrição da população global. Isso se deve não apenas ao fato de fornecer proteína animal de qualidade, mas também por ser uma forma de reduzir a pobreza pela geração de oportunidades de trabalho para pessoas de baixa qualificação profissional (ROCHA & RODRIGUES, 2015).

Nas últimas cinco décadas, a produção global de peixes tem aumentado de forma surpreendente. A oferta alimentar tem crescido em média 3,2 % ao ano, enquanto que a população mundial cresce em torno de 1,6 %. Esse expressivo desenvolvimento da aquicultura deve-se, principalmente a combinação entre aumento da população, aumento da renda *per capita* e à urbanização, com melhora na eficiência dos canais de distribuição (FAO, 2014).

O Brasil apresenta um expressivo potencial para o desenvolvimento da aquicultura, pois comporta aproximadamente 12% da água doce disponível no planeta. São mais de cinco milhões de hectares de lâminas d'água disponíveis em reservatório de usinas

hidrelétricas e bacias particulares e também uma extensa costa marítima, em torno de 8400Km, passível de uso para produção a em cativeiro (CREPALDI et al., 2006). Nos parques aquícolas continentais brasileiros os peixes mais cultivados são tilápia, tambaqui, pacu e pirapitinga (BRASIL, 2016).

Apesar do potencial aquícola do Brasil, o pescado ainda não ocupa papel de destaque da produção de proteína animal no país. O consumo de peixes recomendado pela Organização Mundial da Saúde é de 12 quilogramas/habitante/ano sendo que a população brasileira consome 14,5 quilogramas/habitante/ano, enquanto o consumo *per capita* mundial é de 19,2 quilogramas/habitante/ano (FAO, 2014; BRASIL, 2015).

A tilápia do Nilo é uma espécie tropical, originária da bacia do rio Nilo, na África. A temperatura ideal para seu crescimento varia entre 2°C e 30°C, seu desenvolvimento é prejudicado em temperaturas abaixo de 15°C e não resiste a temperaturas em torno de 9°C (AYROZA, 2013). Sua carne é saborosa, com baixo teor de gordura (0,9 %) e de calorias (172 Kcal/100g de carne). Apresenta um rendimento de filé em torno de 30 % a 40 %, o que a torna bastante

interessante para industrialização (NOGUEIRA & RODRIGUES, 2007, RAQUEL et al., 2016).

Por esse motivo, a tilápia vem sendo considerada a espécie ideal para uso em aquicultura, devido também a sua rusticidade, rápido crescimento, tolerância a baixa qualidade da água além da considerável resistência a doenças (LITTLE et al., 2008). Entretanto, assim como outras espécies de peixes, a tilápia tem sido afetada por doenças e sua vulnerabilidade a elas tem aumentado proporcionalmente à densidade desses peixes nos tanques (JEFFERY et al., 2010).

O presente trabalho tem por objetivo apresentar a real situação da aquicultura brasileira no que diz respeito a franciselose em tilápias por meio de uma revisão de literatura.

Metodologia

A metodologia de pesquisa dessa revisão é baseada em livros e artigos científicos. Os artigos científicos foram adquiridos a partir dos sites:

- (a) www.pubmed.com;
- (b) <http://highwire.stanford.edu>;
- (c) www.scholar.google.com;
- (d) www.scielo.br.

Espécies de tilápias

A tilapicultura é originária da Ásia, há mais de quatro mil anos. Seu expressivo crescimento nas últimas três décadas tem feito desse grupo de peixes um dos mais cultivados de forma extensiva no mundo. Nesse âmbito, a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) é a principal espécie cultivada (SOTO et al., 2014).

A chegada da tilápia ao Brasil, data da década de 1950, quando a espécie *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897) foi importada de Élisabethville (Congo Belga), atual República Democrática do Congo – África (GURGEL, 1998), para povoamento dos reservatórios hidrelétricos da empresa Light no Estado de São Paulo. Em 1971, o Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) introduziu essa espécie com o objetivo de povoamento dos reservatórios da região nordeste (OLIVEIRA et al., 2007; BARROSO et al., 2015).

Nesse momento da história da introdução da tilápia no Brasil alguns entraves foram identificados. A baixa taxa de crescimento de *T. rendalli* e a alta prolificidade e consanguinidade de *O. niloticus* causou a disseminação descontrolada da tilápia nos reservatórios brasileiros tendo como resultado baixos índices de produtividade (OLIVEIRA et al., 2007). A partir daí outras espécies foram sendo trazidas da África, dentre elas *Oreochromis aureus* – tilápia azul (Steindachner, 1864), *Oreochromis urolepis hornorum* – tilápia de Zanzibar (Trewavas, 1966) e *Oreochromis mossambicus* – tilápia de Moçambique (Peters, 1852) com o objetivo de repovoamento para práticas de pesca artesanal e segurança alimentar (BARROSO et al., 2015).

***Francisella* spp.**

Dentre as bacterioses encontradas nos cultivos de tilápia destaca-se a franciselose, responsável por perdas econômicas na produção de peixes. Nesse caso, *Francisella*

noatunensis é o principal agente de risco. Essa espécie é responsável por causar granulomas multifocais em órgãos internos como baço, rins e fígado, levando a hiporexia, anorexia e morte (SOTO et al., 2009a; SOTO et al., 2012).

Os micro-organismos pertencentes ao gênero *Francisella* foram isolados pela primeira vez em 1910, na Califórnia, nos Estados Unidos da América (EUA) e posteriormente, em 1922, descritos pelo bacteriologista americano Edward Francis (RYAN & RAY, 2004). Pertencem à família Francisellaceae, são membros do grupo das γ -proteobactérias e são cocobastonetes gram-negativos imóveis, álcool-ácido-resistentes, parasitas intracelulares, anaeróbios facultativos, não formadores de esporos (SOTO et al., 2012; MARTINS et al., 2015).

A taxonomia do gênero *Francisella* spp. está em discussão e revisão. Atualmente, 5 espécies são reconhecidas: *F. tularensis*, *F. philomiragia*, *F. noatunensis*, *F. hispaniensis* e *F. haliotida* (OTTEM et al., 2009; HUBER et al., 2010; BREVIK et al., 2011). A espécie *F. noatunensis* compreende duas subespécies: *Francisella noatunensis noatunensis* e *Francisella noatunensis orientalis* (OTTEM et al., 2009).

Segundo Klinger-Bowen et al. (2012), bactérias do gênero *Francisella* isoladas de peixes não são reconhecidas como sendo zoonóticas, significando que estas não causam doença em humanos.

Patogenia

Os mecanismos de patogenicidade da *Francisella noatunensis orientalis* não são totalmente conhecidos. Esses micro-

organismos apresentam uma expressiva taxa de infectividade e notável habilidade em persistir no ambiente (SOTO et al., 2015).

Em tilápias, a franciselose pode se manifestar de forma aguda, apresentando sinais clínicos discretos, porém com alta taxa de mortalidade; ou como uma infecção sub-aguda ou crônica, com sintomas inespecíficos tais como anorexia, náusea errática, anemia e exoftalmia. Em alevinos essa bactéria apresenta alta infectividade e uma notável habilidade em persistir no ambiente ((SOTO et al., 2015; SOTO et al., 2009b).

As lesões mais comumente encontradas em peixes acometidos por franciselose são esplenomegalia, granulomas afetando principalmente o baço e rins, e de forma menos frequente o fígado, intestinos e músculo esquelético. Nos granulomas está contida uma mistura de células epiteliais e macrófagos com um vacúolo citoplasmático contendo bactérias cocóides. As lesões musculares são geralmente granulomatosas e infiltrativas (JEFFERY et al., 2010; COLQUHOUN & DUODU, 2011; CAMUS et al., 2013).

Estudos tem contribuído para um melhor entendimento da atividade imunológica da *Francisella noatunensis* e dos fatores bacterianos envolvidos na doença. Tais pesquisas estão relacionadas com a caracterização do lipopolissacarídeo e β -glucano desse micro-organismo isolado de tilápias (KAY et al., 2006). Há também estudos de identificação de um anticorpo específico de resposta a um constituinte não protéico de 20 kilodaltons, provavelmente

lipopolissacarídeo, de *Francisella noatunensis noatunensis* isolada de bacalhau (COLQUHOUN & DUODU, 2011).

Bactérias do gênero *Francisella* spp. são capazes de penetrar a pele intacta ou injuriada para induzir uma resposta inflamatória local, com formação de pápulas e úlceras *in situ*. Através de dispersão linfohematogênica, os agentes conseguem invadir o tecido parenquimal resultando na formação de granulomas e abscessos (HSIEH et al., 2006).

Klinger-Bowen et al. (2012) relataram que pode haver peixes com granulomatose em surtos de outras doenças que não a franciselose, ou seja, essa lesão por si só não confirma a presença de *Francisella* nas tilápias.

Epidemiologia

Os primeiros relatos reconhecidos de *Francisella noatunensis orientalis* em tilápias (*Oreochromis* spp) aconteceram em Taiwan em 1992 (CHEN et al., 1994; CHERN; CHAO, 1994). Posteriormente, esse micro-organismo foi identificado em outras localidades como os Estados Unidos da América (MAUEL et al., 2005), América Latina (MAUEL et al., 2007), mais especificamente na Costa Rica (SOTO et al., 2009a), Indonésia (OTTEM et al., 2009) e Inglaterra (JEFFERY et al., 2010). Essa bactéria já foi relatada em outras espécies de peixes na Califórnia e no Japão, em peixes importados da China (OSTLAND et al., 2006).

No Brasil, os surtos de doença granulomatosa em tilápias tem ocorrido desde 2012. Porém, o primeiro relato

confirmado de *Francisella noatunensis orientalis* no país foi descrito em 2014, em 44 tilápias (alevinos e juvenis) com sintomatologia clínica para franciselose, cultivadas em sistemas de tanques-rede, provenientes de surtos descritos em 5 regiões distintas do Estado de Minas Gerais, Brasil (LEAL et al., 2014).

A *Francisella noatunensis orientalis* é suspeita de persistir no ambiente mesmo sem a presença de peixes (SOTO ET AL., 2015). Um estudo realizado por Soto et al. (2015) indicou a formação de biofilmes desse micro-organismo em até 24 horas após a inoculação em ambiente controlado, com a água em diferentes temperaturas e níveis de salinidade.

Pelo fato da franciselose ser uma doença crônica na natureza e de alta infectividade, a prevalência de peixes infectados em uma população pode ser alta (ALFJORDEN; RUANE, 2015). Embora, um estudo de Soto et al. (2013a) avaliando a prevalência de *Francisella noatunensis orientalis* em 827 tilápias da ilha de Oahu, no Havaí, obtiveram apenas 8 isolados desse micro-organismo como resultado.

Diagnóstico

A identificação de bacterioses em peixes é realizada através da verificação dos sinais clínicos, isolamento de bactérias, técnicas bioquímicas e moleculares, como por exemplo, reação em cadeia da polimerase (PCR), em especial a PCR em tempo real (qPCR), seguidas de sequenciamento. Para o diagnóstico específico e definitivo são utilizados métodos baseados em análises de sequenciamento da subunidade ribossomal 16S

RNAr (JANDA; ABBOTT, 2007). Esse fragmento do DNA genômico é conservado entre as bactérias, o que permite a identificação acurada entre as espécies de micro-organismos presentes nas amostras (CLARRIDGE, 2004).

As vantagens na utilização da PCR para o diagnóstico de doenças como a franciselose reside em sua capacidade de amplificar uma sequência precisa de DNA de forma rápida e precisa, com elevada sensibilidade e especificidade. Porém, há algumas limitações nessa metodologia. Para que sejam sintetizados *primers* específicos, deve-se conhecer a sequência de DNA a amplificar; e ainda, a facilidade de contaminação da amostra por DNA estranho, a limitada extensão da sequência passível de amplificação e a possibilidade de ocorrer incorporação errônea de bases durante a replicação são desvantagens a serem consideradas ao se adotar essa técnica (JORDE et al., 2010).

A PCR é um método qualitativo e como tal, é baseado na amplificação das sequências-alvo seguidas por eletroforese em gel de agarose para detectar o DNA amplificado. Essa metodologia permite a detecção dos produtos de reação apenas ao final de todos os ciclos de termociclagem, quando a amplificação do DNA-alvo encontra-se saturada. Na PCR em tempo real (qPCR) o que ocorre é a detecção ciclo a ciclo, o que permite a verificação da expressão gênica entre as amostras no início da fase exponencial de amplificação, onde ainda não há saturação (NASCIMENTO et al., 2010).

A técnica de PCR para a detecção de *Francisella* spp. em peixes e mamíferos tem sido descrita por Jacob et al. (2011). Kulkarni et al. (2011) isolaram esse gênero em bacalhau e Birkbeck et al. (2007) em diferentes espécies de Salmão no Chile, utilizando essa mesma metodologia.

O diagnóstico de *Francisella* spp. por PCR tem sido indicado em lotes em quarentena para posterior introdução de novos peixes no plantel. Isso tem contribuído na prevenção de surtos de franciselose em tilápias (KLINGER-BOWEN, 2012).

Segundo Camus et al. (2013) para que não ocorra prejuízo na eficácia do teste de PCR para o diagnóstico de *Francisella* sp., as amostras de tecidos não devem ser enviadas fixadas em formol. Porém, em casos em que a cultura desses micro-organismos em meio específico se torna inviável, estes autores sugerem o desenvolvimento de novos protocolos de PCR no intuito de validar essa metodologia em tecidos fixados em formol.

Para a identificação de *Francisella noatunensis orientalis* em tilápias, a utilização de qPCR (SOTO et al., 2013b) tem sido descrita. No caso desta última, sua utilização para identificação de outras espécies anteriormente descritas como sendo *Francisella piscicida*, já foi relatada por Ottem et al. (2008).

Ruane et al. (2015) investigaram um surto de doença granulomatosa em bacalhau utilizando a técnica de qPCR e identificaram bactérias do gênero *Francisella* como sendo a causa do surto.

Soto et al. (2012) confirmaram a presença de *Francisella noatunensis* subespécie *orientalis* e *Francisella noatunensis* subespécie *noatunensis*, utilizando o método de qPCR para detecção do crescimento bacteriano intracelular no locus C (iglC) em tecidos de peixes de diferentes espécies.

A identificação de *Francisella* spp. através da identificação da subunidade 16S RNA ribossomal tem sido estudada (JEFFERY et al., 2010). Brett et al. (2014) investigaram um surto de bacteremia em humanos em Louisiana nos Estados Unidos. Os resultados do sequenciamento apontaram a *Francisella novicida* como agente causador da doença. Os autores realçam a importância desse método para a diferenciação do diagnóstico de doença causada por *Francisella novicida* e *Francisella tularensis* em humanos.

O sequenciamento da porção 16S do ribossomo tem sido utilizado como ferramenta de detecção de *Francisella noatunensis orientalis* (JEFFERY et al., 2010) Lin et al. (2015) isolaram esse micro-organismo no sul da China, através dessa metodologia, em uma investigação de doença granulomatosa em tilápias. Nguyen et al. (2015) também utilizaram essa metodologia para a detecção dessa bactéria em 10 peixes clinicamente doentes, oriundos de duas fazendas de cultivo de tilápias na Tailândia.

Controle e prevenção

Atualmente, não há vacinas comerciais disponíveis para a prevenção da franciselose em peixes (SOTO et al., 2013b). Algumas empresas estão trabalhando no desenvolvimento de vacinas para a doença.

Testes estão sendo realizados em bacalhau na Noruega, mas ainda sem resultados satisfatórios (COLQUHOUN & DUODU, 2011).

Peixes acometidos por *Francisella noatunensis orientalis* tendem a não se alimentarem, por esse motivo, é indicado o uso de antibióticos como medida profilática, sendo a administração dos fármacos realizada dias antes da diminuição da temperatura da água, antecipando assim uma provável infecção (KLINGER-BOWEN, 2012).

Por outro lado, o uso de antibióticos para tratamento da franciselose pode não oferecer efeito satisfatório e duradouro, uma vez que a bactéria é intracelular, a doença é caracterizada por alta prevalência e transmissibilidade, baixa dose infectante e causa inapetência em peixes severamente infectados (COLQUHOUN & DUODU, 2011). Porém, alguns estudos demonstram que a oxitetraciclina (CHERN; CHAO, 1994) e a tetraciclina (MAUEL et al., 2005; OSTLAND et al., 2006) demonstraram certo grau de eficácia para o tratamento da franciselose. Soto et al. (2011) verificaram a eficiência do florfenicol no tratamento de tilápias juvenis experimentalmente infectadas com *Francisella* spp. e observaram uma eficiência de 100 % no grupo tratado após 30 dias do desafio, enquanto que no grupo controle, que não recebeu o medicamento, a mortalidade nesse período foi de 70 %.

A FDA (United States Food and Drugs Administration) permite o uso de três antibióticos em ração de peixes: Florfenicol, Oxitetraciclina e Sulfadimetoxina/ormetropim

(FDA, 2016). No Brasil, a Instrução Normativa nº 13 de 15 de julho de 2015 (BRASIL, 2015) dispõe sobre o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes para as cadeias de carnes e estabelece os limites máximos de resíduos de antimicrobianos que podem estar presentes na carne de peixes de cultivo. Nessa normativa, dentre os antibióticos relacionados, constam os autorizados pelo FDA com seus respectivos limites residuais permitidos na carne dos peixes e não há descrição nesta legislação de proibição do uso dos mesmos.

Os imunostimulantes são substâncias químicas, sintéticas ou biológicas que atuam no sistema imune específico, aumentando a atividade fagocítica e bactericida das células de defesa, melhorando a resistência do peixe a doenças infecciosas. Seu uso pode ser uma interessante alternativa a ser aplicada nas boas práticas de manejo no intuito de reduzir ou não utilizar antimicrobianos no ciclo de produção de tilápias (BRICKNELL & DALMO, 2005).

A eficácia dessas práticas está diretamente relacionada à qualidade sanitária dos peixes comercializados. A conscientização

dos produtores em relação aos riscos e da importância desse manejo preventivo são de suma importância na garantia da saúde da população.

Considerações finais

Mais estudos devem ser realizados no intuito de melhorar o conhecimento a respeito da importância da *Francisella* spp. em criatórios de tilápias no Brasil, a compreensão de sua patogenia e o aprimoramento das técnicas moleculares de diagnóstico para que as autoridades possam tomar as medidas cabíveis para o controle e prevenção da franciselose. O desenvolvimento de antibióticos para o tratamento das tilápias requer estudos científicos e práticos sendo que a aplicação dos mesmos exige consciência e cuidados, para que não haja desenvolvimento de resistência por parte dos micro-organismos envolvidos e também, a contaminação do meio ambiente. O uso de imunostimulantes pode ser uma alternativa viável no intuito de se evitar os danos causados pelo uso de antimicrobianos.

Referências

1. ALFJORDEN, A.; RUANE, N. Francisellosis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). **International Council for the Exploration of the Sea (ICES)** - Identification leaflets for diseases and parasites of fish and shellfish, Leaflet No. 64, 4p. 2015.

2. AYROZA, L.M.S. Criação de Tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, em tanques-rede, na Usina Hidrelétrica de Chavantes, Rio Paranapanema, SP/PR. 2013. 104 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP. 2009.

3. BARROSO, R.M.; TENÓRIO, R.A.; PEDROZA FILHO, M.X.; DANIEL CHAVES WEBBER, D.C.; BELCHIOR, L.S. TAHIM, E.F.; CARMO, F.J. MUEHLMANN, L.D. Gerenciamento genético da tilápia nos cultivos comerciais. **Documentos Embrapa Pesca e Aquicultura**. Palmas, TO, 64p. 2015.

4. BIRKBECK, T.H.; BORDEVIK, M.; FROYSTAD, M.K.; BAKLIEN, A. Identification of *Francisella* sp. from Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Chile. **Journal of Fish Diseases**, v.30, p. 505–507. 2007.

5. BRASIL. SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA. Consumo de pescado no Brasil está abaixo do recomendado pela OMS. Publicado em 01 de set. 2015. Disponível em: <http://sna.agr.br/consumo-de-pescado-no-brasil-esta-baixo-do-recomendado-pela-oms/>. Acesso em: 06 de jan. 2016.
6. BRASIL. CORREIO DE UBERLÂNDIA. Produtores querem dobrar a produção de tilápia na região. Publicado em 02 de jan. 2016. Disponível em: <http://www.correiodeuberlandia.com.br/cidade-e-regiao/produtores-querem-dobrar-a-producao-de-tilapia-na-regiao/>. Acesso em: 02 de jan.2016.
7. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 13 de 15 de julho de 2015. Publica o Subprograma de Monitoramento e Subprograma Exploratório do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes – PNCRC de 2015 para as cadeias de carnes bovina, suína, caprina, ovina, equina, coelho, aves, avestruz, de leite, pescado, mel e ovos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 20 jul. 2015. Seção 1, nº136, p. 5-12.
8. BRETT, M.E.; RESPICIO-KINGRY, L.B.; YENDELL, S.; RATARD, R.; HAND, J.; BALSAMO, G.; SCOTT-WALDRON, C.; O'NEAL, C.; KIDWELL, D.; YOCKEY, R.; SINGH, P.; CARPENTER, J.; HILL, V.; PETERSEN, K.M.; MEAD, P. Outbreak of *Francisella novicida* Bacteremia Among Inmates at a Louisiana Correctional Facility. **Clinical Infectious Diseases**, v.59, n.6, p.826–833. 2014.
9. BREVIK, O.J.; OTTEM, K.F.; KAMAISHI, T. WATANABE, K.; NYLUND, A. *Francisella haliotida* sp. nov. a pathogen of farmed giant abalone (*Haliotis gigantea*) in Japan. **Journal Applied of Microbiology**, v.111, p.1044-1056. 2011.
10. BRICKNELL, J.R.; DALMO, R.A. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. **Fish Shellfish Immunology**, v.19, p. 457-472. 2005.
11. CAMUS, A.C.; DILL, J.A.; MCDERMOTT, A.J.; CLAUSS, T.M.; BERLINER, A.L.; BOYLAN, S.M.; SOTO, E. *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* infection in Indo-Pacific reef fish entering the United States through the ornamental fish trade. **Journal of Fish Diseases**, v. 36, n. 681–684. 2013.
12. CHEN, S.C.; TUNG, M.C.; CHEN, S.P.; TSAI, J.F.; WANG, R.S.; CHEN, S.C.; ADAMS, A. Systematic granulomas caused by a rickettsia-like organism in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), from southern Taiwan. **Journal of Fish Diseases**, v. 17, p. 591-599.1994.
13. CHERN, R.S; CHAO, C.B. Outbreaks of a disease caused by *Rickettsia*-like organism in cultured tilapias in Taiwan. **Fish Pathology**, v.29, p. 61-71.1994.
14. CLARRIDGE, J. E. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v.17, p. 840-862. 2004.
15. CREPALDI, D.V.; FARIA, P.M.C.; TEIXEIRA, E.A.; RIBEIRO, L.P.; COSTA, A.P.C.; MELO, D.C.; CINTRA, A.P.R.; PRADO, S.A.; COSTA, F.A.A.; DRUMOND, M.L.; LOPES, V.E.; MORAES, V.E. A situação da aquicultura e da pesca no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, n.3/4, p.81-85.2006.
16. COLQUHOUN, D.J.; DUODU, S. *Francisella* infections in farmed and wild aquatic organisms. **Veterinary Research**, p. 42-47. 2011.
17. FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). **World Review of fisheries and aquaculture, Part I**, p. 4. 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acesso em: 06 de jan. 2016.
18. FDA. UNITED STATES FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION. Aquaculture> approved drugs. Disponível em: <http://www.fda.gov/Animalveterinary/Develop>

mentApprovalProcess/Aquaculture/ucm132954.htm. Acesso em: 12 de fev. 2016.

20. HSIEH, C. Y.; TUNG, M.C.; TU, C.; CHANG, C.D.; TSAI, S.S. Enzootics of visceral granulomas associated with *Francisella*-like organism infection in tilapia (*Oreochromis* spp.). **Aquaculture**, v.254, n.1-4, p.129-138. 2006.

21. HUBER, B.; ESCUDERO, R.; BUSSE, H.J.; SEIBOLD, E.; SCHOLZ, H.C.; ANDA, P.; KAMPFER, P.; SPLETTSTOESSER, W.D. Description of *Francisella hispaniensis* sp. nov., isolated from human blood, reclassification of *Francisella novicida* (Larson et al. 1955) Olsufiev et al. 1959 as *Francisella tularensis* subsp. *novicida* comb. Nov. and emended description of the genus *Francisella*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.60, p. 1887-1896. 2010.

22. JACOB, D.; WAHAB, T.; EDVINSSON, B.; PETERZON, A.; BOSKANI, T.; FARHADI, L.; BARDUHN, A.; GRUNOW, R.; SANDSTRO, G. Identification and subtyping of *Francisella* by pyrosequencing and signature matching of 16S rDNA fragments. **Letters in Applied Microbiology**, v. 53, p.592-595. 2011.

23. JANDA, J.M., ABBOTT, S.L. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, p. 2761-2764. 2007.

24. JEFFERY, K. R.; STONE, D.; FEIST, S. W.; VERNER-JEFFREYS, W. An outbreak of disease caused by *Francisella* sp. in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* at a recirculation fish farm in the UK. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.91, p.161-165. 2010.

25. JORDE, L.B.; CAREY, J.C.; BAMSHAD, M.J. **Medical Genetics**. 5th Edition. Elsevier. 2010.

26. KAY, W.; PETERSEN, B.O.; DUUS, J.O.; PERRY, M.B.; VINOGRADOV, E. Characterization of the lipopolysaccharide and beta-glucan of the fish pathogen *Francisella victoria*. **Federation of European**

Biochemical Society Journal, v. 273, p.m3002 – 3013. 2006.

27. KLINGER-BOWEN, R.E.C.; TAMARU, C.S.; McGOVERN-HOPKINS, K.; FOX, B.K. Francisellosis in Tilapia. **Center for Tropical and Subtropical Aquaculture (CTSA) Publication #158**, 5pp. 2012. Disponível em: http://www.ctsa.org/index.php/publications/cta_publications1. Acesso em: 20 de jan. 2016.

28. KUBITZA, F. Tilápias na mira dos patógenos. **Panorama da Aquicultura**, v.18, n.107, p.28-37.2008.

29. KULKARNI, A.; MARLOWE, A.; CAIPANG, A.; KORSNES, K.; BRINCHMANN, M.F.; KIRON, V. Molecular diagnosis of francisellosis, a systemic granulomatous inflammatory disease in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. **Veterinary Research Communications**, v.35, p.67-77. 2011.

30. LEAL, A.G.;TAVARES, G.C.; FIGUEIREDO, H.C.P. Outbreaks and genetic diversity of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* isolated from farm-raised Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.13, n.3, p.5704-5712. 2014.

31. LIN, Q.; LI, N.; FU, X.; HU, Q.; CHANG, O.; LIU, L.; ZHANG, D.; WANG, G.; SAN, G.; WU, S. An outbreak of granulomatous inflammation associated with *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in farmed tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) in China. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v.33, p.1-7. 2015.

32. LITTLE, D.C.; MURRAY, F.J.; LESCHEN, W.; BOYD, K.; WATTERSON, A.; YOUNG, A. Options for producing a warm water fish in the UK: limits to 'Green Growth'? **Trends in Food Science & Technology**, v.19, p. 255-264. 2008.

33. MARTINS, A.M.C.R.P.F.; CATROXO, M.H.B.; HIPOLITO, M. *Francisella* spp.: a bactéria emergente responsável por massiva mortalidade na aquicultura. **Arquivos do Instituto Biológico**. p. 216. 2015.

34. MAUEL, M.J.; MILLER, D.L.; STYER, E.; POWDER, D.B.; YANONG, R.P.; GOODWIN, A.E.; SCHWEDLER, T.E. Occurrence of Piscirickettsiosis-like syndrome in tilapia in the continental United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.17, p. 601-605. 2005.
35. MAUEL, M.J.; SOTO, E.; MORALIS, J.A.; HAWKE, J. A piscirickettsiosis-like syndrome in cultured Nile tilapia in Latin America with *Francisella* spp. as the pathogenic agent. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 9, p.27-34. 2007.
36. NASCIMENTO, S.; SUAREZ, E.R.; PINHAL, M.A.S. Tecnologia de PCR e RT-PCR em tempo real e suas aplicações na área médica. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 67, p. 7-19. 2010.
37. NGUYEN, V.V.; DONG, H.T.; SENAPIN, S.; PIRARAT, N.; RODKHUM, C. *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*, an emerging bacterial pathogen affecting cultured red tilapia (*Oreochromis* sp.) in Thailand. **Aquaculture Research**, p. 1-6. 2015.
38. NOGUEIRA, A.; RODRIGUES, T. Criação de tilápias em tanques-rede. **SEBRAE**, Salvador, Bahia. 23p. 2007.
39. OLIVEIRA, T.F., SOUZA, L.X., TAVARES, G.C., FIGUEIREDO, H.C.P. & LEAL, C.A.G. Primeiro relato e diversidade genética de amostras de *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* isoladas de surtos em fazendas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **XIII Encontro de Patologistas de Organismos Aquáticos**. Aracajú, SE.2014.
40. OSTLAND, V.E.; STANNARD, J.A.; CREEK, J.J.; HEDRICK, R.P.; FERGUSON, H.W.; CARLBERG, J.M.; WESTERMAN, M.E. Aquatic *Francisella*-like bacterium associated with mortality of intensively cultured hybrid striped bass *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.72, p.135-145. 2006.
41. OTTEM, K.F.; NYLUND, T.E.; ISAKSEN, K.; BERGH, Ø. Occurrence of *Francisella piscicida* in farmed and wild Atlantic cod, *Gadus morhua* L., in Norway. **Journal of Fish Diseases**, v.31, p. 525-534. 2008.
42. OTTEM, K.F.; NYLUND, A.; KARLSBAKK, E.; FRIIS-MØLLER, A.; KAMAISHI, T. Elevation of *Francisella philomiragia* subsp. *noatunensis* Mikalsen et al. (2007) to *Francisella noatunensis* comb. nov. [syn. *Francisella piscicida* Ottem et al. (2008) syn. nov.] and characterization of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* subsp. nov., two important fish pathogens. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, p.1231-1243. 2009.
43. RAQUEL C.T.M., DANIEL M., LIDIANE E., LEANDRO G., ÉVERTON M. DA P., DANILO P. S. Vantagens do cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com mínima liberação de efluentes. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, n.3, p. 447-454, jul -set, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20160036>
44. RYAN. K.J.; RAY, C.G. **Sherris Medical Microbiology**. 4th ed. McGraw Hill. 2004. pp. 488-90.
45. ROCHA, I.; RODRIGUES, J. A aquicultura e a oferta mundial de proteína de origem animal. Associação Brasileira de Criadores de Camarão. Postado em 5 de mar. 2015. Disponível em: <http://abccam.com.br/site/a-aquicultura-e-a-oferta-mundial-de-proteinas-de-origem-animal/>. Acesso em: 05 jan. 2016.
46. RUANE, N.M.; BOLTON-WARBERG, M.; RODGER, H.D.; COLQUHOUN, D.J.; GEARY, M.; McCLEARY, J.; O'HALLORAN, K.; MAHER, K.; O'KEEFFE, D.; MIRIMIN, L.; HENSHILWOOD, K.; GEOGHEGAN, F.; FITZGERALD, R.D. An outbreak of francisellosis in wild-caught Celtic Sea Atlantic cod, *Gadus morhua* L., juveniles reared in captivity. **Journal of Fish Diseases**, v.38, p. 97-102. 2015.
47. SALES, R.O. Processamento, caracterização química e avaliação nutricional da silagem da despesca da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em dietas experimentais com ratos, 1995. 174p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de

Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

48. SCHRALLHAMMER, M.; SCHWEIKERT, M.; VALLESI, A.; VERNI, F.; PETRONI, G. Detection of a Novel Subspecies of *Francisella noatunensis* as Endosymbiont of the Ciliate *Euplotes raikovi*. **Microbial Ecology**, v. 61, p. 455-464. 2011.

49. SOTO, E.; HAWKE, J.P.; FERNANDEZ, D.; MORALES, J.A. *Francisella* sp. an emerging pathogen of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in Costa Rica. **Journal of Fish Diseases**, v.32, p. 713-722. 2009a.

50. SOTO, E.; FERNANDEZ, D.; HAWKE, J.P. Attenuation of the fish pathogen *Francisella* sp by mutation of the *iglC** gene. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 21, p. 140-149. 2009b.

51. SOTO, E.; BAUMGARTNER, W.; WILES, J.; HAWKE, J.P. *Francisella asiatica* as the causative agent of piscine francisellosis in cultured tilapia (*Oreochromis* sp.) in the United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.23, p.821-825. 2011.

52. SOTO, E.; ILLANES, O.; HILCHIE, D.; MORALES, J.A.; SUNYAKUMTHORN, P.; HAWKE, J.P.; GOODWIN, A.E.; RIGGS, A.; YANONG, R.P.; POWDER, D.B.; FRANCIS-FLOYD, R.; ARAUZ, M.; BOGDANOVIC, L.; CASTILLO-ALCALA, F. Molecular and immunohistochemical diagnosis of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n.5, p. 840-845. 2012.

53. SOTO, E.; McGOVERN-HOPKINS, K.; KLINGER-BOWEN, R.; FOX, B.K.; BROCK, J.; ANTONIO, N.; WAAL, Z.; RUSHTON, S.; MILL, A.; TAMARU, C.S. Prevalence of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in cultured tilapia on the island of Oahu, Hawaii. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.25, n.2, p. 104-109. 2013a.

54. SOTO, E.; KIDDA, S.; MENDEZA, S.; MARANCIKC, D.; REVANA, F.; HILTCHIEA, D.; CAMUS, A. *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* pathogenesis analyzed by experimental immersion challenge in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Veterinary Microbiology**, v. 164, p. 77-84. 2013b.

55. SOTO, E., BROWN, N., GARDENFORS, Z.O., YOUNT, S., REVAN, F., FRANCIS, S., KEARNEY, M.T., CAMUS, A. Effect of size and temperature at vaccination on immunization and protection conferred by a live attenuated *Francisella noatunensis* immersion vaccine in red hybrid tilapia. **Fish & Shellfish Immunology**. 41, 2, 593-599.2014.

56. SOTO, E.; HALLIDAY-SIMMONDS,I.; FRANCIS, S.; KEARNEY, M.T.;HANSEN, J.D. Biofilm formation of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*. **Veterinary Microbiology**, v.181, p.313-317.2015.

