UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ALEX BENICIO DA SILVEIRA

EFEITO DO ANTIBIÓTICO FLORFENICOL SOBRE A MORFOLOGIA E DO FÍGADO E DO INTESTINO MÉDIO DA TILÁPIA DO NILO EM CULTIVO COMERCIAL

Recife
2019

ALEX BENICIO DA SILVEIRA

EFEITO DO ANTIBIÓTICO FLORFENICOL SOBRE A MORFOLOGIA E DO FÍGADO E DO INTESTINO MÉDIO DA TILÁPIA DO NILO EM CULTIVO COMERCIAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco como pré-requisito para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra
Coorientador: Prof. Dr. Diógenes Luiz da Mota
Coorientador: Dr. Janilson Felix da Silva

Recife
2019

Catalogação na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Silveira, Alex Benicio da
Efeito do antibiótico florfenicol sobre a morfologia e do fígado e do intestino médio da Tilápia do Nilo em cultivo comercial / Alex Benicio da Silveira - 2019.
156 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Ranilson de Souza Bezerra
Coorientadores: Diógenes Luiz da Mota
Janilson Felix da Silva
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Tilápia 2. Piscicultura 3. Antibiótico
I. Bezerra, Ranilson de Souza (orient.) II. Mota, Diógenes Luiz da (coorient.) III. Silva, Janilson Felix da IV.Título

597.74 CDD (22.ed.) UFPE/CB-2019-186

ALEX BENICIO DA SILVEIRA

EFEITO DO ANTIBIÓTICO FLORFENICOL SOBRE A MORFOLOGIA E DO FÍGADO E DO INTESTINO MÉDIO DA TILÁPIA DO NILO EM CULTIVO COMERCIAL

ese apresentada ao Programa de Pós-raduação em Ciências Biológicas da niversidade Federal de Pernambuco como é-requisito para a obtenção do grau de outor em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 28/02/2019.

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra /UFPE

_____

Profa. Drª Juliana Ferreira dos Santos/UFRPE-UAST

_____

Prof. Dr. Janilson Felix da Silva/UFPE

_____

Prof ª Betânia Lucena Domingues Hatzlholfer/UFPE

_____

Prof. Thiago Barbosa Cahú/UFPE

À Elizabete Gomes da Silveira e João Benicio da Silveira (*in memoriam*),

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, à minha esposa, Rosiane Maria da Silveira, e aos meus filhos Alex Benicio da Silveira Júnior, João Marcelo B. da Silveira e Nathalia Maria da Silveira e uma pessoa especial na minha vida João Benicio da Silveira meu pai, pela admiração que sempre tiveram por mim. Carinho, respeito e estima.

Ao meu irmão José Carlos Silveira e irmã Edjane Gomes, pela ajuda na minha trajetória não só acadêmica mais também na minha vida.

Ao Professor Orientador Ranilson Bezerra e ao Co-Orientador e acima de tudo um grande amigo Diógenes Luís da Mota, ser humano e profissional que sempre admirei e no qual tenho me espelhado, mentor e incentivador das minha humilde e promissora carreira universitária.

Ao meu grande amigo de infância Evaldo Costa pela força e grande ajuda na produção desse trabalho, Incluo ai outro amigo Rafael Padilha, meus agradecimentos.

Ao co-orientador Dr. Janilson Felix, e também o Mestre Lucas pelo apoio total e irrestrito, meus sinceros agradecimentos.

Ao Professor Raul Manhães de Castro, pelo incentivo e conselhos, ajudando bastante nos meus primeiros trabalhos, principalmente no meu mestrado sendo sempre muito feliz nas suas colocações, fazendo-me enxergar coisas inimagináveis nesse mundo da pesquisa, isso graças à sua capacidade científica. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo de Queiroz Lima, chefe do Laboratório de Citologia e Histologia Quantitativa, facilitando minha vida dentro do setor e com ajuda da Bioquímica Simone da Paz Leôncio Alves, Farmacêutica Bioquímica Viviane do Nascimento e Silva Alencar e Marcia Cristina Pacheco.

As Secretárias do Departamento Fátima e Danielle Naya Hage Gonçalves, aos ex-chefes, Prof. Dr. Dauci José Brondanie o Vice-chefe Prof. Dr. Antônio Rodolfo de faria, meus agradecimentos pela compreensão e a atual chefe Profª Drª Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim de quem sempre tive o apoio e incentivo para o desenvolvimento desse trabalho.

As Professoras do Departamento de Farmácia, Drª. Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo e Drª. Betânia Lucena Domingues Hatzlholfer.

Ao professor e grande amigo Pedro Humberto Ferrer de Moraes a quem devo as minhas primeiras experiências como educador e todos os colegas da Universidade Federal de Pernambuco pelo apoio e colaboração, minha gratidão.

Aos colegas do Departamento de Histologia e Embriologia – CCB - UFPE, destacando o Sr. Paulo técnico em Histologia, a Silvana técnica em Histopatologia do Departamento de Patologia.

Ao meu amigo Roberto Fernandes e a amiga Domitilia Verônica, onde aprendi bastante, ao colega de profissão e amigo do peito Wellington, pela força, amizade e ajuda sempre necessária. Meus sinceros agradecimentos.

Ao meu grande amigo e irmão Heleno Francisco Pereira, e especialmente a Evaldo Costa e família, pelo apoio e incentivo, sempre me valorizando, minha gratidão e profunda amizade.

A estagiária Kallyne Christynne Timóteo da Silva.

PORTAS

Se você abre uma porta, você pode ou não entrar em uma nova sala, não entrar e ficar observando a vida. Mas se você vence a dúvida, o medo, entra e dá um passo, verá que nesta sala vive-se.

Mas também, tem um preço... são inúmeras outras portas que você descobre. Às vezes quebra-se a cara, às vezes curtem-se mil e uma.

O grande segredo é saber quando e qual porta deve ser aberta.

A vida não é perigosa! Ela propicia erros e acertos. Os erros podem ser transformados em acertos quando com eles se aprende. Não existe segurança para o acerto eterno.

A vida é generosa. A cada sala que se vive, descobrem-se tantas outras portas. E a vida enriquece aquele que se arrisca a abrir novas portas. Ela privilegia quem descobre os seus segredos e generosamente oferece afortunadas portas.

Mas a vida também pode ser dura e severa. Se você não ultrapassar a porta, terá sempre a mesma porta pela frente. É a repetição perante a criação, é a monotonia monocromática perante a multiplicidade das cores, é a estagnação da vida...

Para a vida, as portas não são obstáculos, mas diferentes passagens.

Que pode ser do fracasso ou da vitória...

É o que estou fazendo agora... abrindo uma nova porta (TIBA, 2019).

RESUMO

A utilização de antibióticos sem rígido controle tem aumentado entre os piscicultores frente às infecções bacterianas. Técnicas de histologia, histomorfometria e Microscopia Eletrônica de Varredura foram empregadas, para observação das células dos seguintes órgãos: intestino médio e fígado. Para a análise, foram recolhidos exemplares de tilápias divididos em três grupos: um grupo-controle, alimentado apenas com ração; um segundo grupo, tratado com ração/probiótico; e um terceiro tratado com ração/probiótico acrescida de antibiótico, o tratamento com esse fármaco compreendeu duas fases de 10 (dez dias) cada, sendo administrado 2-3 vezes por dia, com um intervalo de uma semana entre estas fases. Após procedimento histotécnico de rotina, cortes histológicos de 6,0 μm de espessura de amostras do fígado e do intestino de dezoito (18) peixes, seis de cada grupo, foram submetidos aos métodos de coloração: hematoxilina-eosina (HE) e tricrômico de Gomori (TG) para análise histológica e histomorfometria. No fígado, avaliou-se a posição do núcleo na célula e a vacuolização citoplasmática em cortes do intestino e do fígado submetidos à técnica histoquímica – ácido periódico de Schiff (PAS) para detecção de mucossubstâncias no intestino e de glicogênio nos hepatócitos. A mucosa intestinal também foi estudada ao microscópio eletrônico de varredura (MEV). Com a metodologia empregada foi possível observar evidentes modificações histológicas, histométricas, histoquímicas e ultraestruturais nos órgãos dos peixes do grupo alimentado com ração/probiótico acrescida de antibiótico. Contudo, a utilização dessas ferramentas, possibilita beneficiar aos piscicultores melhorar sua produção e, assim, alcançar maior lucratividade, investindo em facilitadores orgânicos de nutrientes que aceleram o metabolismo, proporcionando melhor absorção, como por exemplo, os probióticos, bem como beneficiando no tratamento de doenças causadas por microrganismos bacterianos. Tais práticas exigem estudos que medem seu impacto na saúde animal.

Palavras-chave: Mucossubstância. Vacuolização. Hepatócitos. Enterócitos. Ultraestrutura. Histometria.

ABSTRACT

The use of antibiotics without strict control has increased among fish farmers against bacterial infections. Histological techniques, histomorphometry and Scanning Electron Microscopy were used to observe the cells of the following organs: midgut and liver. For the analysis, tilapia specimens were divided into three groups: a control group, fed only with ration; a second group, treated with ration / probiotic; and a third treatment with probiotic plus antibiotic, treatment with this drug comprised two phases of 10 (ten days) each, being administered 2-3 times daily, with a one week interval between these phases. After routine histotechnic procedure, histological sections of 6.0 μm thickness of liver and intestinal samples of eighteen (18) fish, six of each group, were submitted to staining methods: hematoxylin-eosin (HE) and trichrome Gomori (TG) for histological analysis and histomorphometry. In the liver, the position of the nucleus in the cell and the cytoplasmic vacuolization were evaluated in sections of the intestine and liver submitted to the histochemical technique - periodic acid of Schiff (PAS) to detect mucosubstances in the intestine and glycogen in hepatocytes. The intestinal mucosa was also studied by scanning electron microscopy (SEM). With the methodology used it was possible to observe evident histological, histometric, histochemical and ultrastructural modifications in the fish organs of the group fed with ration / probiotic plus antibiotic. However, the use of these tools makes it possible for fish farmers to improve their production and thus achieve greater profitability by investing in organic nutrient facilitators that accelerate the metabolism, providing better absorption, such as probiotics, as well as benefiting in the treatment of diseases caused by bacterial microorganisms. Such practices require studies that measure their impact on animal health.

Key words: Mucosubstance. Vacuolization. Hepatocytes. Enterocytes. Ultrastructure. Histometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção de tilápia do Nilo em viveiro escavado 19

Figura 2 - Fêmea de tilápia do Nilo. Incubação dos ovos de na cavidade bucal por um período de duas semanas 22

Figura 3 - Carne branca de tilápia de textura firme, Fonte - imagem do http://ecofarm.com.br/wpconten/uploads/2016/06/shutterstock .,,,..... 23

Figura 4 - Imagem do viveiro escavado em João Pessoa. A qualidade da água na produção de tilápia encontra-se dentro dos padrões..... 25

Figura 5 - Efeito das bactérias não patogênicas (Probiótico) no trato intestinal 32

Figura 6 - Configuração química do florfenicol que é usado na aquicultura e é licenciado para o controle da septicemia entérica em peixe..... 39

Figura 7 - Foto da tilápia do Nilo em estudo, morfologia externa 42

Figura 8 - Tecido Epitelial (TE). Células caliciformes (Goblet) (CC) das pregas da mucosa do intestino de peixe. Coloração PAS 45

Figura 9 - Estrutura da boca e cavidade do corpo e da tilápia 46

Figura 10 - Estrutura da boca e cavidade do corpo e da tilápia 46

Figura 11 - Intestino de tilápia corado com HE. Mostrando todas as camadas da parede intestinal, desde a serosa (S) até a mucosa, destacando as camadas musculares 47

Figura 12 - Fígado normal de Oreochromis niloticus mostrando dois lobos hepáticos: esquerdo (E) direito (D) lisas (CM) e com a lâmina própria e o epitélio (E) 48

Figura 13 - Fígado hipertrofiado, com fragilidade tecidual, presença de gordura de Oreochromis niloticus mostrando dois lobos hepáticos: esquerdo (E) e direito (D) 49

LISTA DE TABELA

Tabela 1 -	Produção nacional de tilápia entre 2013 e 2015	21
Tabela 2 -	Valores referentes a 100 gr. do alimento composição químicas	23
Tabela 3 -	Produção e valores da piscicultura nordestina por espécie	24
Tabela 4 -	Benefícios gerais proporcionados pelo uso de probióticos	34
Tabela 5 -	Apresentando as doses recomendadas na literatura para o tratamento das doenças bacterianas importantes para peixes tropicais que ocorrem na piscicultura nacional com os antibacterianos licenciados para uso no Brasil	38

LISTAS DE ABREVIATURAS

AB	Alcian blue
AG	Ácido graxo
CE	Cordões de hepatócitos
C	Controle
CA	Conversão Alimentar
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
FFC	Florfenicol
HCL	Ácido clorídrico
H E	Hematoxilina e Eosina
IHS	Índice hepatossomático
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MOS	Mananoligossacarídeo
NH4	Amônia (meio aquoso)
NH3	Amônia (gasosa)
OTC	Oxitetraciclina
FFC	Florfenicol
OD	Oxigênio dissolvido
PAS	Ácido Periódico Schiff
PB	Proteína Bruta
Ph	Potencial Hidrogênico
PpT	Parte por Trilhão
RPA	Ração/Probiótico/Antibiótico
RP	Ração/Probiótico
SMZ	Sulfametazina
TA	Tecido Adiposo
TG	Tricrômico de Gomori
VC	Vacuolização Citoplasmática
VDN	Variação no Deslocamento Nuclear
VM	Valores Médio
VPN	Variação na Posição do Núcleo

LISTA DE SIGLAS

ABPA	Anuário Brasileiro da Pesca e Aquicultura
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia
LIKA	Laboratório de Imunologia Keizo Asami
MA	Ministério da Agricultura
OMS	Organização Mundial da Saúde
PIB	Produto Interno Bruto
PPN	Panorama da Piscicultura do Nordeste
PRB	Population Reference Bureau
SINDAN	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal
UFRP	Universidade Federal Rural de Pernambuco
UNICAMP	Universidade de Campinas

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	**16**
1.1	OBJETIVOS	18
1.1.1	**Objetivo geral**	**18**
1.1.2	**Objetivos específicos**	**18**
2	**REVISÃO DA LITERATURA**	**19**
2.1	A AQUICULTURA NO CENÁRIO MUNDIAL	19
2.2	RELATOS SOBRE A HISTÓRIA E A PRODUÇÃO DA TILÁPIA DO NILO	20
2.3	CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE	22
2.4	PARÂMETROS E FATORES IMPORTANTES PARA O CULTIVO DE TILÁPIA	24
2.5	QUALIDADES DA ÁGUA E ADAPTAÇÃO NA CRIAÇÃO DE TILÁPIA DO NILO	25
2.6	AS CONSEQUÊNCIAS DO ESTRESSE NA PISCICULTURA	28
2.7	PROBIÓTICOS	30
2.7.1	**Probióticos e sua aplicação no cultivo da tilápia**	**30**
2.8	ANTIBIÓTICOS	35
2.8.1	**A utilização dos antibióticos na piscicultura em geral**	**35**
2.8.2	**O antibiótico Florfenicol**	**38**
2.8.3	**A utilização de antimicrobianos (antibióticos) no ambiente aquático**	**39**
2.8.4	**As consequências no uso do antibiótico na aquicultura (antimicrobianos)**	**40**
2.9	ANATOMIA EXTERNA DA TILÁPIA DO NILO	41
2.10	MORFOLOGIA DO CANAL ALIMENTAR	43
2.10.1	**Aspecto histológico geral do tubo digestório**	**43**
2.10.2	**Pregas do Intestino de tilápia do Nilo**	**45**
2.11	FÍGADO (HEPATOPÂNCREAS)	47
2.11.1	**Aspectos morfofisiológicos do fígado do peixe**	48
3	**HISTOLOGIA E HISTOMETRIA DO INTESTINO MÉDIO DA TILÁPIA DO NILO (Oreochromis niloticus) TRATADAS COM**	

RAÇÃO COM PROBIÓTICO E ANTIBIÓTICO EM CULTIVO COMERCIAL 51

4 ANÁLISE MORFOLÓGICA DO EFEITO DA ADIÇÃO DO ANTIBIÓTICO NA ALIMENTAÇÃO SOBRE O FÍGADO DA TILÁPIA DO NILO (Oreochromis niloticus) EM CULTIVO COMERCIAL 74

5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO INTESTINO MÉDIO DE TILÁPIA Oreochromis niloticus ALIMENTADAS COM RAÇÃO COMPOSTA DE PROBIÓTICO E ANTIBIÓTICO 95

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS 134

REFERÊNCIAS 136

1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de pescado no ano de 2014 atingiu a marca de 167 milhões de toneladas, sendo 73,8 milhões de toneladas provenientes da aquicultura. No continente Sul Americano, o Chile produziu 1,2 milhão de toneladas, tornando-se o sétimo maior produtor mundial, seguido pelo Brasil, que passou a ocupar a 13ª posição no ranking geral dos maiores produtores de pescado. A piscicultura brasileira produziu 691.700 toneladas de peixes de cultivo em 2017. (IBGE, 2018).

Em razão da taxa de crescimento, estima-se que a população mundial chegue a 9 bilhões de pessoas no ano de 2050. E a preocupação com a segurança alimentar e com a sustentabilidade ambiental são os principais desafios a serem enfrentados pelos países nas próximas décadas. Para alimentar este número de indivíduos a produção anual de produtos de origem animal precisará aumentar em mais de 200 milhões de toneladas, a fim de alcançar o patamar de 470 milhões necessárias para suprirem a demanda mundial (FAO. 2016),

Em fevereiro de 2018, a Revista Peixe BR lançou a segunda edição do "Anuário Peixe BR" e uma das grandes novidades trazidas foram à revelação que o Brasil já se encontra entre os quatro maiores produtores de tilápia do mundo**,** atrás apenas de China, Indonésia e Egito. Apesar das adversidades climáticas, a Região Sul voltou a liderar as estatísticas nacionais de produção, com 178,5 mil toneladas de peixes produzidas, sendo que o Estado do Paraná é o primeiro na história a ultrapassar a barreira das 100 mil toneladas/ano, exatamente 105.392 toneladas.

São reconhecidas aproximadamente 77 espécies de tilápias, sendo que 22 delas são criadas em escala experimental ou mesmo servindo para a produção comercial. Dentre todas, no presente momento apenas três gêneros de *Tilápias* são descritos: *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilapia.* Entretanto, poucas são as que se destacam na aquicultura mundial, sendo as do gênero *Oreochromis* as mais utilizadas. A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) possuí um diferencial básico, devido ao seu comportamento reprodutivo, alimentar e rusticidade, além de ser mais adaptável ao 'cultivo intensivo' e por este motivo transformou-se em uma das espécies mais cultivadas em todo mundo (KUBTIZA, 2000; RIBEIRO, 2001; ZANIBONI FILHO, 2004).

Tilápia é o nome popular atribuído a espécies de peixes *Ciclídeos* de água doce pertencentes à subfamília *Pseudocrenilabrinae* e em particular ao gênero *Tilapia*. São originárias do continente africano. Contudo, devido à facilidade no seu cultivo e adaptação às condições ambientais, foram levadas e inseridas em diversas regiões da América. Atualmente é muito comum na Flórida, no Texas e em outras áreas do Sudoeste dos Estados Unidos e nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (FARIAS *et al.,* 2000).

No Brasil, a aquicultura vem se desenvolvendo com base nos princípios técnicos em comunhão com os órgãos de pesquisa e se firmando com muito profissionalismo, bem como se considerando a riqueza dos recursos hídricos estimados em 5,3 milhões de hectares de água doce, contando com os reservatórios naturais e os artificiais, além das condições climáticas que são extremamente favoráveis (AYROZA *et al.*, 2006).

O emprego das técnicas de criação de peixes em cativeiro, como observado nos casos do cultivo em tanque escavado, tanques-rede, etc. tem como objetivo aumentar a produtividade por área de cultivo e, por conseguinte, obter maior lucro no comércio do pescado. Entretanto é de fundamental importância promover pesquisas que indiquem caminhos para o aperfeiçoamento da pratica e, consequentemente, permitam aumentar os índices de crescimento e de produção do pescado, tudo isso em combinação com a qualidade do produto a ser alcançado (RESENDE, 2009). O desempenho produtivo depende das características sanitárias e estruturais do animal.

Densidades populacionais fora dos padrões comprometem o desenvolvimento e crescimento de peixes criados principalmente em sistemas de confinamento (MALLAT, 1985) e como consequência a produtividade (SCHMITTOU, 1993). Densidades populacionais elevadas promovem um desequilíbrio de estressores químicos tais como: pH impróprio, baixa concentração de oxigênio, níveis anormais de amônia e nitrito, níveis inadequados de cátions e ânions (MALLAT, 1985; KUBTIZA, 1997; MONTEIRO *et al*., 1999) e também favorecem a proliferação de microrganismos que causam enfermidades virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias acarretando desta forma uma grande ameaça tanto para o ecossistema, para o peixes, assim como para os trabalhadores que estão em contato direto com espécies utilizadas para o cultivo.

As doenças infecciosas estão incluídas na lista das principais preocupações dos produtores e gestores da aquicultura mundial (KUBITZA, 2003; KURCHEVSKI *et al*., 2010; ARAUJO et al., 2009).

As doenças causadas por microrganismos patogênicos têm provocado sérios prejuízos econômicos à piscicultura brasileira (BOSCARDIN, 2008).

A importância econômica e social da piscicultura para países em desenvolvimento é incontestável.

1.1 OBJETIVOS.

1.1.1 Objetivo geral:

Estudar os efeitos da administração na ração com probiótico adicionada de antibiótico florfenicol sobre a histologia, histoquímica, e histomorfometria do intestino médio e do fígado da tilápia do Nilo em cultivo comercial.

1.1.2 Objetivos específicos:

- Analisar a morfologia dos tipos celulares encontrados no epitélio da mucosa intestinal e as suas possíveis alterações frente aos tratamentos usados nos grupos estudados.
- Identificar e caracterizar por intermédio de técnicas histoquímicas seletivo para mucossubstâncias as células caliciformes do epitélio intestinal.
- Analisar o comportamento morfológico dos tipos celulares encontrados no epitélio da mucosa intestinal.
- Avaliar os parâmetros histomorfométricos das pregas da mucosa e da camada muscular do intestino médio.
- Avaliar os parâmetros histomorfométricos do parênquima hepático.
- Detectar, por meio de técnica histoquímica seletiva o glicogênio nos hepatócitos.
- Analisar a estrutura do intestino médio ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A AQUICULTURA NO CENÁRIO MUNDIAL

Evidências indicam que a aquicultura será o setor na produção de alimentos que mais crescerá no mundo. Essa atividade produtiva é praticada em vários países, sendo uma das mais importantes fontes econômicas do planeta, com papel relevante na segurança alimentar (FAO, 2011). Alguns dos principais periódicos na área da aquicultura mundial constatam que o crescimento nessa área alcançou atualmente cerca de 73,8 milhões de toneladas de pescado, ou seja, aproximadamente 44% da produção mundial (FAO, 2016). O potencial para o desenvolvimento da aquicultura no Brasil reside nas suas dimensões continentais e reservas de água doce: 8.400 quilômetros de costa e 5,5 milhões de hectares, o que representa cerca de 12% de toda essa água disponível no planeta (FAO, 2012).

A aquicultura no Brasil é desenvolvida principalmente em águas interiores, os sistemas de produção podem ser classificados de várias maneiras, a classificação em relação à produtividade é dos tipos: intensivo, semi-intensivo e extensivo. O intensivo proporciona alta produtividade, nesse sistema são utilizados tanques-redes ou gaiolas, na maioria das vezes em reservatórios. O sistema semi-intensivo, geralmente utiliza tanques escavados com grau de tecnificação variável, a alimentação geralmente e complementada com ração balanceada. A forma extensiva também pode ser desenvolvida em viveiros escavados que é praticada por diversos produtores. (KUBITZA, 1998; OSTRENSKY; BORGHETTI, 1998; OSTRENSKY; BORGHETTI; SOTO, 2008).

Figura 1- Produção de tilápia do Nilo em viveiro escavado.

Com aumento significativo da produtividade, diferentes métodos de validação do estado sanitário dos organismos aquáticos podem levar à melhoria do desempenho. O diagnóstico histopatológico, integrado com outros fatores componentes do sistema produtivo apresenta-se como ferramentas para a análise e prevenção da sanidade dos organismos cultivados. O pescado, mais especificamente os peixes, tem sido utilizado como fonte de alimento pelo homem há milênios, antigamente alimentava-se para sobreviver, de forma que não havia uma preocupação com a qualidade. Ao longo das últimas décadas, a preocupação do consumidor em relação à qualidade dos alimentos cresceu consideravelmente, tornando-os sinônimos de bem-estar e de redução de riscos de doenças assim como veículos de uma melhor qualidade de vida (PIEDADE, 2007).

O manejo adequado das espécies aquícolas é essencial para se adquirir o sucesso na aquicultura em qualquer parte do mundo. Esse manejo depende muito de alguns fatores importantes monitorando as variáveis como qualidade da água, densidade de estocagem, sanidade, alimentação, que têm como finalidade promover o um ambiente saudável aos peixes em cultivo, com as condições mais favoráveis possíveis para obter o potencial máximo de desenvolvimento (OLIVEIRA e GALHARDO, 2007).

A tilápia possui uma boa aceitação e facilidade na obtenção de alevinos, grande capacidade de reprodução, fácil manipulação hormonal para obtenção de populações masculinas, facilidade em aproveitar alimentos naturais em viveiros; conversão alimentar entre 1 a 1,8; 6, bom crescimento em cultivo intensivo, aproximadamente 5 a 500g em 4 a 5 meses; animal bastante rustico, aceita diversos tipos de alimentos suportando bem o manuseio intenso sem a necessidade de grandes níveis de oxigênio dissolvido na produção e além do que apresenta uma grande capacidade de resistência às doenças causadas por vírus, fungos parasitas e principalmente bactérias (KUBITZA, 2000).

2.2 RELATOS SOBRE A HISTÓRIA E A PRODUÇÃO DA TILÁPIA DO NILO.

Existem relatos pelos antigos egípcios da atividade da pesca e do cultivo da tilápia em tanques para o consumo há aproximadamente dois mil anos antes de Cristo, o cultivo de tilápias em cativeiro remonta à Idade Antiga, contudo o crescimento dessa atividade se intensificou somente a partir do século XX. Atualmente a China, que possui tradição milenar em aquicultura, sem dúvida é o maior produtor de tilápia cultivada do planeta, tendo explorado essa atividade com mais intensidade no início da década de 1970 (FAO, 2014). Isso se deve as suas características e facilidade no manejo, por exemplo: crescimento rápido, passando da fase juvenil para a fase adulta muito rapidamente, tolerância à ampla faixa de condições ambientais (temperatura, salinidade, baixo nível de oxigênio dissolvido), resistência a estresse e doenças, habilidade de reprodução em cativeiro, alimentação no mais baixo

nível trófico e aceitação de alimentos artificiais imediatamente após a absorção do saco vitelino (EL-SAYED, 2006).

A característica reprodutiva da tilápia é bem expressiva, com uma enorme prolificidade e maturidade sexual precoce e desova com muita frequência (parcelada), fazendo com que o controle reprodutivo seja um dos maiores desafios na tilapicultura (TURRA *et al*., 2010). A grande quantidade de tilápias em viveiros de cultivo é consequência da natural característica reprodutiva da espécie, como alta capacidade de reprodução, maturidade sexual precoce, fecundidade relativa elevada e desova frequente, prejudicando a taxa de crescimento dos indivíduos devido à alta densidade. Para minimizar este problema de difícil controle, existem os métodos de inversão sexual, por meio de hormônio masculinizante, adicionados diretamente na ração (BORGES *et al.,* 2005; ZANARDI *et al*., 2011)

No Brasil as regiões Nordeste, Sudeste e Sul (Tabela 1) são responsáveis pelo cultivo da tilápia, sendo que a maior produção ocorre na região Nordeste do Brasil (BOSCARDIN, 2008). Os peixes na sua maioria são cultivados em viveiros escavados (produção semi-intensiva), em tanques-rede (produção intensiva) instalados em grandes reservatórios e em sistemas de fluxo continuo ou raceway (super-intensiva) com geração de empregos diretos e indiretos (KUBITZA, 2000; BORGHETTI e SILVA, 2008; KUBITZA, 2011).

Tabela 1- Produção nacional de tilápia entre 2013 e 2015.

Região /UF	2013	2014	2015	(%)
NORTE	293.550	553.833	527.700	0,2
NORDESTE	48.103.394	57.439.394	52.964.653	24,1
MA	773.596	813.952	917,662	0,4
PI	599.664	1.536.728	1.605.059	0,7
CE	30.634.328	36.275.237	27.889.101	12,7
RN	2.229.848	2.242.679	2.436.215	1,1
PB	951.660	1.482.538	2.245.169	1
PE	3.094.328	4.667.257	6.510.557	3
AL	248.620	1.832.420	2.003.112	0,9
SE	1.373.749	625.761	534.457	0,2
BA	8.197.425	7.972.822	8.823.321	4
C. OESTE	11.254.425	15.477.445	17.785.914	8,1
SUDESTE	45.834.891	48.402.539	57.083.226	26
SUL	63.549.880	76.791.253	90.967.713	41,5
BRASIL	169.306.464	198.664.464	219.329.206	100

Fonte: IBGE (2016).

2.3 CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE.

A tilápia do Nilo é um peixe de origem tropical que prefere águas pouco profundas, os extremos de temperatura letais são 11º a 12ºC até 42ºC; enquanto que a temperatura de conforto está compreendida entre 31º e 36ºC, peixe onívoro que se alimenta de fitoplâncton, plantas aquáticas, pequenos invertebrados, fauna bentônica e detritos bacterianos.

A maturidade sexual ocorre entre os 05 e 06 meses de vida**,** apresenta dimorfismo sexual, os machos são territorialistas e as fêmeas em cada período reprodutivo podem colocar 100g de ovos por 100g de seu peso corpóreo vivo, incubando-os em suas bocas por 01 a 02 semanas (figura 2). Alguns autores afirmam que um exemplar pode viver por 10 anos e ultrapassar 5 Kg de peso. Esta espécie pode suportar água salina e se reproduzir em até 15 % de salinidade, sendo que, a tilápia vermelha e a Moçambicana são as que têm maior tolerância à salinidade e devido a sua característica, elas são muito utilizadas para cultivo em tanque-rede no mar (POPMA e LOVSHIN 1995).

Figura 2- Fêmea de tilápia do Nilo. Incubação dos ovos de na cavidade bucal por um período de 2 semanas.

FONTE: http://criapeixe.blogspot.com/2013/06/reproducao-de-tilapias oreochromis.html.

Baseado nos artigos e revista na área de pesca, observamos que graças a algumas das características pertinentes a esse peixe, a tilápia foi colocada em primeiro lugar entre as principais espécies cultivadas comercialmente, apresentando as seguintes vantagens: a carne é branca, de textura firme, quase sem espinhos, de sabor pouco acentuado e de extremo teor nutritivo (Figura 3).

Sua composição nutricional é fator decisivo na hora de escolher o consumo da tilápia em relação aos demais peixes, mesmo sendo uma espécie de água doce, a tilápia do Nilo apresenta poucas calorias, contudo para manter essa característica o ideal é consumi-lo sem muita modificação nutricional, ou seja, o mais natural possível, pelo menos incluir no seu cardápio duas vezes na semana.

Figura 3- Carne branca de tilápia de textura firme. Disponível em: http://ecofarm.com.br/wpcontent/ uploads/2016/06 shutterstock - 133909355. 2017.

Além de todas essas vantagens, sua carne possui doses de vitaminas A, D, E, K e do complexo B como também de niacina e ácido pantatênico, sódio, magnésio, cálcio, manganês, zinco, ferro e potássio relevantes à saúde**,** temos também o fósforo, que atua na formação dos ossos e dentes. O filé de tilápia se destaca com a presença do selênio, que atua como um antioxidante e auxilia no bom funcionamento do coração. (Nutriciência. 2015)

O crescimento da tilapicultura se deve a facilidade de manejo, a adaptabilidade a diferentes condições de boa comercialização (Wang. 2016). Apesar disso, os consumidores estão cada vez mais exigentes em relação à qualidade nutricional dos alimentos adquiridos. Observar na **tabela 2** a composição química da carne do peixe, essa qualidade depende, especialmente, da composição lipídica muscular, que incluí o teor de colesterol, a concentração e a qualidade dos ácidos graxos (AG) presentes nos filés. (DOBREVA. *et al*. 2017).

Tabela 2- Valores referentes a 100 gr. do alimento composição químicas.

Energia	**96 Kcal**	**Tilápia**
Proteína		20,8g
Gordura monoinsaturada		0,5g
Gordura poli-insaturada		0,4mg
Ferro		0,6mg
Potássio		302 mg
Selênio		42µg
Fósforo		170mg
Zinco		0.3mg
Magnésio		27mg

Fonte - http://nutrociencia.com.br/files-de tilápia-e-de-pescada. 2018.

A tilapicultura hoje em dia, comparando com as demais espécies, chegou a atingir uma rentabilidade que pode variar em média de 15% de lucratividade, no Nordeste. Desta maneira os piscicultores têm investido mais em equipamentos melhorando assim a qualidade da água, e das alimentações Premium, com isso, promovendo mais a automatização elevando assim o cultivo (OSTRENSKY; BOEGER, 1998).

Tabela 3 - Produção e valores da piscicultura nordestina por espécie.

PESCADO	**Produção em (ton.)**			**%**	**Valor da produção (mil R$)**			**%**
	2013	2014	2015		2013	2014	2015	
TAMBACU, TAMBATINGA	6.979	7.262	7.479	8,9	39.944	42.884	47.068	8,8
TAMBAQUI	18.282	20.286	20.635	24,5	110.290	125.761	140.118	26,1
TILÁPIA	48.103	57,439	52.965	63	268.729	334.610	324.928	60,5
DEMAIS PEIXES	3.029	2.903	3.041	3,6	22.074	24.061	24.914	4,6
TOTAL	76,393	87.841	84.119	100	441.037	527.037	527.316	100

Fonte IBGE, (2016).

2.4 PARÂMETROS E FATORES IMPORTANTES PARA O CULTIVO DE TILÁPIA

O cultivo de peixes em viveiros escavados (Figura. 4) pode representar uma grande diminuição na incidência de enfermidades e significar maior sobrevivência no seu desenvolvimento, a contribuição do alimento natural favorece a uma melhor conversão alimentar quando comparado a sistema intensivo em tanques rede (KUBITZA, 2009).

A influência da dieta sobre o desempenho reprodutivo dos peixes permite a escolha de ingredientes em níveis mais adequados aos processos metabólicos do animal. Embora recentes estudos venham sendo conduzidos nessa linha para melhorar o aproveitamento do potencial da piscicultura, embora poucos trabalhos relacionassem nutrição e parâmetros reprodutivos (LUQUET - WATANABE, 1986; FERNÁNDEZ - PALACIOS *et al*., 1995; FERNÁNDEZ - PALACIOS *et, al.*, 1997; NAVARRO *et al*., 2006).

Outro fator importante é a população de peixes em um determinado espaço, a densidade nas quais diferentes espécies podem ser estocadas é uma característica preponderante na determinação do custo de produção. A densidade depende das condições ambientais, fluxo de água, e do nível tecnológico empregado na criação, fatores intrínsecos muitas vezes importantes para cada região. Assim, é necessário determinar a densidade de estocagem ideal para cada situação a fim de obter a

produtividade almejada (BRANDÃO *et al*., 2004). Popma e Lovshin (1995) afirmaram que o rendimento de 50 a 300 kg de tilápia por m3 são possíveis em tanques-rede. Entretanto, El-Khaldi (2010) considerou que as altas densidades de estocagem são estressoras e pode afetar a fisiologia dos peixes em geral, assim uma densidade intermediária tende a aumentar a eficiência do crescimento e diminuir a incidência de doenças.

No Brasil os sistemas de produção encontrados para a criação de tilápias que predominam, são os sistemas em tanques-rede e em viveiros escavados, sendo que o sistema de viveiros escavados seja sem dúvida encontrado com maior frequência nos diferentes ambientes e regiões do país (KUBITZA, 2012). Segundo Trombeta, Trombeta e Mattos (2015), as principais vantagens desse sistema são: disponibilidade de alimentação natural nos viveiros (fitoplâncton) e consequentemente melhor conversão alimentar, possibilidade de correção na qualidade de água, principalmente na incorporação de oxigênio pelo uso de aeradores e maior segurança quanto a furtos, e também pode ser incorporado com relativa facilidade em propriedades rurais de menores relevâncias.

Figura 4- Imagem do viveiro escavado em João Pessoa. A qualidade da água na produção de tilápia encontra-se dentro dos padrões.

2.5 QUALIDADES DA ÁGUA E ADAPTAÇÃO NA CRIAÇÃO DE TILÁPIA DO NILO.

Essa espécie de peixe apresenta um elevado limite de tolerância, elas se adaptam às diversas condições de qualidade e fluxo da água. São animais extremamente tolerantes ao baixo nível de oxigênio dissolvido, podem sobreviver a uma faixa ampla de acidez e alcalinidade, possui uma grande adaptabilidade e chegam se reproduzirem com relativa facilidade em águas salobra e salgada e suportar

elevada concentrações de amônia comparadas à maioria dos peixes criados em cativeiros. Elas suportam a salinidade acima de 32 ppt, água com grande volume de sódio. Outras espécies de tilápias que também se adaptam a essas condições adversas são a tilápia azul e a tilápia do Nilo elas podem ser facilmente adaptadas à água salgada, embora nem tanto quanto as duas citadas anteriormente. (BRANDÃO *et al*., 2004)

A tilápia-do-Nilo pode se reproduzir e adapta-se com facilidade em salinidades de até 15ppt, no entanto se passar desses níveis a reprodução fatalmente não ocorrerá. Seu crescimento chega ao máximo de desenvolvimento corpóreo em um ambiente com salinidade até 10ppt. A tolerância à salinidade aumenta com a idade e tamanho do peixe, já que ao longo do tempo ele vai adquirindo maior resistência. Cada espécie tem sua particularidade, no entanto existem outros fatores que podem afetar a tolerância das tilápias à salinidade, entre muitos desses fatores podemos citar: o fator adaptação ao ambiente, o tempo dos peixes (idade) no momento da transferência, o cuidado com a oxigenação, a prévia exposição de ovos e pós-larvas à água em locais de maior salinidade etc. Para a tilápia do Nilo alevinos com tamanho superior a 5 cm podem suporta a um ambiente com salinidade significativa. (KUBITZA, 2000).

Em relação ao pH da água, pode-se afirmar que é um fator de grande relevância no cultivo de tilápias, esse pH deve ser mantido entre 6 e 8,5, algo fora desse padrão, como por exemplo, um pH inferior a 4,5 ou superior a 10,5 pode levar ao criadouro uma perda total dos animais. Já houve estudos afirmando que os peixes atingem a morte em um período de 24 a 72 hora em água com pH 3, e uma mortalidade de 50% foi registrada após 19 dias em água com pH 4, no momento em que o animal é exposto a um pH baixo foi observado inúmeras consequências. (KUBITZA, 2009)

Em viveiros com excesso de fitoplâncton (águas muito verdes) e baixa alcalinidade, o pH pode alcançar valores acima de 12, isso ao final da tarde em dias muito quente, com um sol escaldante. Este fato pode inibir o consumo de alimento e se ocorrer com frequência, pode afetar o crescimento dos peixes. Quanto maior for o pH, maior será a porcentagem de amônia tóxica no total. O aquicultor deve tomar a devida precaução checando a concentração de amônia não ionizada e observando se a mesma chegaria ao patamar de 0,20 mg/L, esse fato segundo alguns estudos, pode servir como alerta no cultivo dos peixes em geral. (KUBITZA, 2000).

. Outro fator importante é verificar constantemente o nível de oxigênio dissolvido, em algumas regiões os alevinos de tilápia-do-Nilo com peso entre 10 a 25 gramas sobreviveram à exposição ao oxigênio dissolvido entre 0,4 a 0,7mg/litro por aproximadamente de 3 a 5 horas, até quatro manhãs consecutivas, sem registro significativo de mortalidade. (KUBITZA, 2009).

As concentrações subletais de alguns compostos presentes nesse ambiente podem causar redução no crescimento, no consumo alimentar, comprometimento imunológico, além de mudanças

histológicas degenerativas nas brânquias, fígado, rins, baço, cérebro, bem como nos tecidos tireoidianos e sanguíneos, etc. Estes compostos tóxicos supracitados podem atingir níveis letais ou subletais em sistemas de cultivo estáticos ou de recirculação. Por esse motivo, torna-se importante determinar a tolerância dos organismos aquáticos a esses produtos. Igualmente altas concentrações de amônia podem estar presentes em água de ambientes naturais lixiviadas de outras atividades agroindustriais. A utilização de testes de toxicidade permite uma rápida detecção do efeito contaminantes no meio, bem como as respostas dos organismos testados a estes contaminantes e as variáveis ambientais. Além dos referidos testes, outras ferramentas têm sido empregadas para auxiliar a detecção dos efeitos danosos gerados por compostos tóxicos presentes no ambiente. O estudo de tecidos e células por meio da microscopia ótica tem mostrado grande benefício em função da praticidade e da constatação de inúmeros efeitos observáveis (SANTOS SILVA, 2013).

Como já foi visto anteriormente, existem estudos relatando que mesmo com um número elevado de peixes em um viveiro a tilápia tolera oxigênio zero (anoxia), apesar desta grande capacidade em sobreviver algumas horas sem O^2 e quando expostas ao baixo nível de oxigênio dissolvido na água ficam mais susceptíveis às doenças e apresentam pouca produtividade, no entanto quando a concentração de oxigênio dissolvido atinge 45 a 50% da saturação (3 a 3,5 mg/litro, a 28-30°C), a tilápia-do-Nilo perde quase que totalmente sua atividade e consume pouquíssimo oxigênio. Este parece ser um mecanismo regulador do consumo de oxigênio, compensando assim a redução dessa molécula na água. A concentração crítica de oxigênio pouco favorável para as tilápias está entre 20 a 10% da saturação a temperaturas entre 26 a 35°C, ou seja, entre 1,6 a 0,7mg/litro. (KUBITZA, 2000).

Nos polos de maior tecnologia, observa-se o uso de aeradores que aumentam significativamente quantidade de oxigênio na água, alimentadores automáticos, classificadores e contadores, permitindo a criação de um maior número de animais no mesmo espaço, (PORTAL BRASIL, 2017).

As tilápias sofrem menos estresse quando são bem alimentadas, mesmo com a má qualidade da água, se misturada com diversos componentes orgânicos, elas toleram todo tipo de manuseio até com temperatura inferior a 22ºC, todavia, para alguns estudiosos, em temperaturas altas, ou seja, superior a 32°C e inferior a 27°C, pode ocorrer diminuição do apetite do peixe, interferindo visivelmente no seu desenvolvimento, a temperatura chegando a um limite inferior a 20°C diminui ainda mais sua vontade de ingerir alimento, ficando completamente susceptível a diversas enfermidades. Segundo alguns autores, quando a temperatura atinge um patamar inferior a 14°C o índice de mortalidade pode chegar a 100%. A criação de peixes em tanques-rede caracterizada pelas altas densidades de estocagem e níveis elevados de arraçoamento aumenta as situações de estresse e consequentemente pode ocorrer

inibição das funções digestivas, reprodutoras, imunes e de desenvolvimento, levando a surtos de enfermidades causadas por agentes patogênicos e oportunistas. As interações biológicas como as de dominância entre os indivíduos são característica entre as tilápias do Nilo; peixes hierarquicamente subordinados podem desenvolver danos anatômicos como crescimento reduzido e alterações patológicas no tecido gastrintestinal podendo ser minimizados com boas práticas de manejo na criação dos peixes (FRANCI, 2005 e OBA, 2009).

2.6 AS CONSEQUÊNCIAS DO ESTRESSE NA PISCICULTURA

Com o avanço da indústria aquícola, resulta no aumento do volume de peixes vivos a serem transportados, o tempo que se leva para o deslocamento desses animais ainda com vida é muito variado em virtude do local a ser destinado, o transito entre propriedades, a distribuição a estabelecimentos voltados à pesca esportiva, o abatedouro, todos esses processos deveram ser realizados com todo o cuidado possível (FAGUNDES, 2005).

Silveira, Lagato e Pontes (2009) assinalaram que quando o individuo não é capaz de permanecer em um estágio fisiológico normal ou constante, em virtude de fatores denominados estressantes, podemos afirmar que esse é o conceito de estresse. Já Galhardo e Oliveira (2006) complementam afirmando que o estresse pode ser considerado um conjunto de respostas não específicas do organismo a situações que ameaçam desequilibrar a sua homeostase. Os causadores de estresse em peixes podem se apresenta de diversas formas, entre elas podemos citar: a natureza física, como exemplos: o transporte, o confinamento e o manuseio. Os de natureza química como já vimos anteriormente, exemplos: os contaminantes, o baixo teor de oxigênio ou pH da água: ácido ou alcalino, reduzido ou elevado e também o percepcionados pelo peixe, como a presença de predadores. Todos esses fatores referentes a estresse podem interferir amplamente na qualidade do pescado.

O monitoramento de variáveis físico-químicas e biológicas de qualidade da água, da qualidade dos sedimentos e da fauna macrobentônica, associado a técnicas de monitoramento do desempenho zootécnico, a avaliação de biomarcadores fisiológicos e a dinâmica de contaminantes nos diferentes sistemas são partes da organização espacial e da dimensão manejo, nutrição e sanidade na aquicultura (SAMPAIO *et al.,* 2013) que pode minimizar os efeitos de uma situação de estresse num empreendimento aquícola.

O fato de transportar peixes ainda com vida é uma das ações mais delicada e inspira muito cuidado no sistema de cultivo. Segundo Gomes *et al*. (2003), o transporte de peixes jovens com peso entre um e dois kg vem aumentando bastante e os principais objetivos são os seguintes: comércio de peixe vivo em feiras livres e em mercados para consumo, fornecimento para fazendas, sítios de pesque

pague, e formação de plantel de reprodutores. Devido à importância que se dá ao transporte para a piscicultura, vêm sendo cuidadosamente estudados métodos para diminuição de estresse, (TAKAHASHI, *et al.,* 2000). Pelo fato do estresse em peixe promover mudanças nos constituintes bioquímicos, tais como aumento da glicose, elevação da permeabilidade da brânquia fazendo com que o animal perca íons para o ambiente, essas alterações prejudicam o desenvolvimento do animal (INOUE, *et. al*., 2005)

Para diminuir a mortalidade e facilitar o manejo dos peixes, evitando assim maior possibilidade de estresse, os anestésicos são bastante administrados na piscicultura intensiva, são várias as substancias química que podem ser utilizados nesse sentido, como por exemplo: a benzocaína (ethyil-paminobenzoato), extratos de plantas, o óleo de cravo e o mentol, dentre esses, a benzocaína é o anestésico mais utilizado no Brasil por ser de fácil obtenção, baixo custo e não causar risco ao animal (GIMBO *et al*. 2008). Segundo Carneiro, Urbinati e Martins, (2002), estudando o estresse em matrinxã (*Brycon cephalus*), o uso da benzocaína não reduziu o estresse causado pelo transporte, atuando, inclusive, como agente estressor adicional. O eugenol é uma substância ativa presente no óleo de cravo da Índia, cuja eficácia como anestésico vem sendo demonstrada por apresentar concentrações eficientes e seguras para os peixes (VIDAL, *et al.,* 2007). O uso de eugenol vem crescendo no setor piscícola por ser uma substância fácil de ser adquirido, pelo baixo custo, pela boa velocidade de ação, diminui os efeitos do estresse causado pelo manejo e ainda apresentar baixos valores residuais na carne. Esse composto vem sendo utilizado como anestésico não só para peixe, mais também para outras espécies diferentes de animais (INOUE, *et al.,* 2004).

Estudiosos na área de pesca como Oba, Mariano e Romagueira (2009) afirmam que as brânquias, o intestino e o fígado são órgãos que refletem as principais ações do hormônio cortisol nos peixes, influenciando no balanço hidromineral e no metabolismo energético. O cortisol interfere também na redução do crescimento, na supressão do sistema reprodutivo e imune. Outra característica desse hormônio é de interferir também no número de peixes vivos transportados.

Os peixes permanecendo em ambientes cujos fatores como a variação na qualidade da água, manejo inapropriado, podem conduzi-los a uma situação de estresse resultando em depleção do sistema imunológico, baixo crescimento e na sobrevivência (ADAMANTE, *et al*., 2008). Quando os peixes são submetidos à captura, seja ela realizada por redes, anzóis ou puçás, eles tendem à fuga, passam por posterior exposição aérea, resultando, entre outras respostas, no aumento da concentração de lactato e íons H no músculo, substâncias que podem ser detectadas na circulação sanguínea, aumentando também concentrações de cortisol e glicose (INOUE, *et al*., 2008). Fatores como intensidade luminosa e até a cor da luz podem influenciar no comportamento dos peixes (FAGUNDES, 2005).

O estresse está sempre presente na piscicultura, provocando queda no sistema produtivo e imunológico e consequente surgimento de doenças. As principais causas de estresse são as práticas de manejos, atitudes que precisam ser realizadas com muito cuidado. Para minimizar o problema, todo produtor tem que procurar obter bastantes informações sobre esse processo, para que possa realizar o manejo de forma adequada e consequentemente se beneficiar da produção com maior rentabilidade. Além de todos esses cuidados, recomenda-se a utilização de dieta suplementada com níveis adequados de vitaminas para cada espécie cultivada. (DINIZ; N; M HONORATO. A.C., 2012).

O alimento oferecido é de vital importância para o cultivo intensivo dos peixes, é essencial observar a qualidade do alimento, a frequência, quantidade que são oferecidas aos animais, um animal pouco nutrido ficará estressado, prejudicando a homeostase do organismo (OBA; MARIANO; ROMAGUEIRA, 2009).

Em virtude do alto estresse que os animais são submetidos durante a produção de alevinos, os mesmos ficam com extrema facilidade de contrair doenças, acarretando um elevado grau de mortalidade e prejuízos econômicos na atividade. Com o objetivo de minimizar ou mesmo resolver esses tipos de problemas, vários estudos estão sendo realizados nos últimos anos, visando à substituição dos antibióticos elevando ainda mais a utilização de um produto alimentar (probióticos) na produção animal, especialmente em cultivos de organismos aquáticos (NAYAK, 2010).

2.7 PROBIÓTICOS

2.7.1 **Probióticos e sua aplicação no cultivo da tilápia**

O probiótico é uma palavra derivada do latim e do grego, significa “pró-vida” ou “para vida”, existem ainda várias outras definições desde a sua descoberta (KARKOW, 2007). “A Organização Mundial de Saúde (OMS) define probióticos como ”organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro” (FAO, 2009). Estes benefícios são adquiridos em virtudes da inibição da proliferação de agentes como microrganismos prejudiciais ao epitélio de revestimento da mucosa intestinal e existem evidências da melhora no desempenho zootécnico graças a uma melhoria na digestibilidade e facilidade na absorção de nutrientes (NAYAK, 2010 a,b.).

Das diversas definições que temos dos probióticos podemos destacar as de Fuller 1989; Sanders 1998; Irianto & Austin 2002, eles afirmam que “probióticos são como aditivos alimentares

compostos por uma ou mais culturas de microrganismos que beneficiam a saúde do hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal".

Torres *et al* (2014), em suas pesquisas constatou que os efeitos das bactérias não patogênica, fizeram um delineamento dos principais benefícios na utilização dos probióticos nos animais (**figura. 5)**. Ela demostra que alimentando os peixes com probióticos na aquicultura auxilia de maneira expressiva no controle de infecções, além de melhorar a conversão de alimentos em peso animal. A contribuição mais importante e significativa destes tipos de alimentos é de estimular todo o sistema imune dos animais.

Figura 5- Efeito das bactérias não patogênicas (Probiótico) no trato intestinal

Fonte: Torres (2014)

Neste sentido, em relação às funções exercitadas pelos probióticos, Vendrell *et al*., (2008) definiu de forma ampla e ainda mais completa, onde os mesmos seriam microrganismos benéficos ao hospedeiro que além de favorecer o desenvolvimento e a estabilidade da microbiota, inibindo a colonização de patógenos, estimulariam componentes específicos e inespecíficos do sistema imunológico.

Para a utilização do probiótico deve-se fazer uma seleção criteriosa, pois se o produtor empregar os microrganismos inadequados, os efeitos podem ser indesejados ao hospedeiro, levando em consideração que independente de sua fonte, esses organismos vivos devem ser capazes de estabelecer-se, colonizar e multiplicar-se no trato digestório do hospedeiro, assim o produtor deve ter o máximo de cuidado com os agentes patológicos (GOMEZ; GIL e ROQUE, A. 1998).

A partir do momento em que os piscicultores se confrontam com o aparecimento de determinadas patologias, muitos recorrem às drogas antimicrobianas (KESARCODI e WATSON *et*

al., 2008). Porem esse método não deve ser o único a ser utilizado como meio de prevenção (AMABILE e CUEVAS *et al*., 1995; GRAM, *et al.*, 2001), pois pode por consequência proporcionar imunidade contra um numero ilimitado de doenças, contudo, ainda não foram desenvolvidas vacinas contra um número grande de patógenos e assim poder atender os anseios dos aquicultores. Um dos artifícios muito utilizados hoje em dia são os imunoestimulantes, pois eles elevam resistência às infecções por intermédio da indução da imunidade não específica. A utilização destes indutores torna-se um meio eficaz para aumentar o quadro imunológico e promover maior resistência aos peixes. Pesquisas nesta área estão se acentuando cada vez mais e se desenvolvendo com relativa velocidade e muitos desses produtos estão sendo bastante utilizado na indústria aquícola (SAKAI, 1999). Os imunoestimulantes que fazem parte desse grupo são: vitaminas, agentes químicos, traços minerais, componentes bacterianos, polissacarídeos, fatores nutricionais, citoquinas e produtos derivados de plantas e animais. (SIWICKI *et al*. 1990; SAKAI, 1999). Dietas com probióticos melhoram a resistência ao estresse e consequentemente às infecções de etiologias variadas devido ao incremento das respostas de defesa (VAL *et al*., 2006). Estes produtos são definidos como suplementos alimentares constituídos a partir de microrganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal (FULLER, 1989; GATESOUPE, 1999).

Existem inúmeras outras funções atribuídas aos probióticos, experimentos sugerem que as ingestões de microrganismos inofensivos (probióticos) promovem um efeito benéfico na flora intestinal (TANNOCK, 1999). Quando adicionados à dieta, são capazes de modificar ou manipular as comunidades microbianas, aumentando o crescimento e a sobrevivência de espécies criadas (HOROWITZ e HOROWITZ, 2000).

Para uso em alimentos, os probióticos não devem ter apenas como característica principal a de ter a possiblidade de sobreviver à passagem pelo trato digestivo, precisam também ter a capacidade de proliferar no intestino ao ser consumido, a fim de permitir sua sobrevivência durante essa passagem (OLIVEIRA, 2007). As principais cepas utilizadas como probióticos são as pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (BADARÓ *et al.* 2008), e o uso da terapia com probióticos, até o momento, tem uma vantagem que é a inexistência de efeitos adversos (MARTINS *et al.*, 2005).

Alguns probióticos possuem funções bastante significativas na redução dos níveis de nitrogênio e fósforo, sendo importante no papel de decompor matéria orgânica, além de controlar diversas substâncias químicas no organismo, como; a quantidade de amônia, nitrito e sulfeto de hidrogênio (BOYD e MASSAUT, 1999).

Desses indutores que promovem o desenvolvimento físico e atuam na melhoria da saúde do animal, podemos citar: os hormônios, os antibióticos, ionóforos, sais e microrganismos, esses atualmente são os mais utilizados (FULLER, 1992). O uso de quimioterápicos para o controle de

doenças e principalmente de indutores que estimulam o desenvolvimento corpóreo vem sendo cuidadosamente combatido (RAWLING *et al.,* 2009), contudo, buscam-se alternativas mais viável para este fim.

Neste contexto, nos últimos anos estudos que compreendem o uso de substancias e alimentos funcionais, que podem induzir melhoras na eficiência alimentar e no desempenho dos peixes, vem aumentando significativamente (SANDERS, 1998; SAKAI, 1999, NAYAK, 2010), exemplo maior desses suplementos são os probióticos que cada vez mais vem sendo aprimorados.

Tabela 4 - Benefícios gerais proporcionados pelo uso de probióticos.

Potenciais, valores nutritivos e terapêuticos de alimentos funcionais contendo probióticos.	
Melhor digestibilidade	Degradação de proteínas, lipídios e hidrato de carbono.
Melhor valor nutritivo	Níveis elevados de vitaminas do complexo B e de alguns aminoácidos como: metionina, lisina e triptofano.
Melhor utilização da lactose	Níveis reduzidos de lactose no produto e maior disponibilidade de lactase.
Ação antagônica contra agentes patogênicos entéricos	Distúrbio como: diarreias, colite mucosa, colite ulcerosa, diverticulite, inibição de adesão a patógenos.
Colonização do intestino	Sobrevivência no ácido gástrico, resistência à lisozima e a tensão baixa intestinal, adesão ao epitélio intestinal.
Ação anti-carcinogênica	Conversão de potenciais pré-carcinogênicos em compostos menos perniciosos, ação inibitória perante alguns tipos de cancro: cancro do trato gastrointestinal por degradação dos pré-carcinogênicos.
Ação hipocolesterolêmica	Produção de inibidores da síntese de colesterol, utilização do colesterol por assimilação e precipitação com sais biliares desconjugados.
Modulação imunitária	Melhor produção de macrófagos, estimulação de células supressoras e G-interferão

Fonte: Revista - Probiótico e prebióticos, o estado da arte, USP

Estudos mostram que os efeitos benéficos causados pelos probióticos estejam relacionados ao fato de que a microbiota intestinal pode evitar que os indivíduos adquiram algum tipo de infecções e o descontrole desses microrganismos pode aumentar a possiblidade do animal contrair doenças. Assim, o ecossistema bacteriano intestinal em condições normais é sinônimo de uma barreira efetiva em oposição aos microrganismos patogênicos e oportunistas (KARKOW, 2007).

Segundo Amores *et al.* (2004) alguns dos mecanismos que caracteriza a atuação dos probióticos são: competição com os microrganismos patogênicos por nutrientes e espaço físico,

competição por sítios de ligação, produção de substâncias antimicrobianas como bacteriocinas, ácidos graxos de cadeia curta, peróxido de hidrogênio e ácido lático e estímulo ao sistema imune.

Dentre os mecanismos de ação mais importantes dos probióticos destaca-se a "exclusão competitiva", através da qual as bactérias probióticas impedem a colonização na mucosa por microrganismos potencialmente patogênicos, por meio de competição por sítios de adesão na mucosa, competição por nutrientes, e através da produção de compostos antimicrobianos (GUARNIER; MALAGELADA, 2003). Os efeitos benéficos dos probióticos são baseados no conhecimento de que a microbiota intestinal pode proteger os indivíduos contra infecções e que o distúrbio dessas populações de microrganismos pode aumentar a suscetibilidade às infecções. Os efeitos dos microrganismos são específicos de cada linhagem (cepa) e podem atuar tanto na modulação da microbiota intestinal como no sistema imunológico (LARAYER, 2005).

Nas últimas décadas, as pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de alimentos funcionais e de substâncias químicas que promovam o aumento da eficiência alimentar e da taxa de crescimento dos peixes, tem se intensificado bastante (OLIVEIRA *et al.*, 2002), a elevação da resistência do peixe às doenças infecciosas (BARBOSA *et al.*, 2005) e na redução do uso de fármacos como os antibióticos, (KESARCODI-WATSON *et al*., 2008).

A forma de atuação dos imunoestimulantes pode ocorrer pela competição por locais de adesão ao aparelho digestório (WATKINS & MILLER, 1983; YAN *et al.*, 2002), pela exclusão competitiva (OZAWA *et al.*, 1978), por maior produção de ácido lático (FULLER, 1977), pode ocorrer também atuando na diminuição da produção de aminas tóxicas com aumento da disponibilidade de aminoácidos nos locais de absorção (KOZASA, 1989), por economia de energia e por aumento da disponibilidade de vitaminas e enzimas (FULLER, 1989). E se tratando da digestão dos alimentos, ela pode ser afetada em virtude do funcionamento ideal das células das vilosidades intestinais, que absorvem os nutrientes com maior eficiência quando bactérias benéficas estão presentes em peixes. (SILVA, 2008; HISANO *et al*., 2006)

Existe possibilidade que as bactérias aeróbicas associadas ao trato gastrointestinal de peixes produzirem enzimas digestivas que facilitam a digestão do alimento (BAIRAGI *et al.*, 2002). De todas as principais características benéficas que os probióticos possuem, podemos destacar como fator fisiológico principal, promover redução da colonização de bactérias prejudiciais à mucosa intestinal inibindo sua aderência aos enterócitos por meio da ligação com o glicocálix, esta ligação promove a exclusão competitiva de bactérias indesejáveis por meio da aderência aos sítios de ligação dos enterócitos, nos diferentes segmentos do intestino, talvez essa seja a mais importante (FURLAN. 2005).

O uso convencional de drogas como antimicrobiano tem limitado o sucesso na prevenção e cura de doenças de organismos aquáticos (SUBASINGHE, 1997). No entanto, os testes com probiótico

na aquicultura vêm apresentando resultados promissores na criação de larvas e pós-larvas e formas jovens de peixes, moluscos, crustáceos e rãs (PLANAS & CUNHA; 1999; DIAS *et al.*, 2008; KESARCODI-WATSON *et al*., 2008).

Na medicina veterinária, quando a utilização do probiótico é insuficiente se torna comum utilizar os antimicrobianos para o tratamento de infecções em animais, apesar da obediência de um período de carência a ser estabelecido, diante dessas preocupações tem sido levantado com relação à saúde pública sobre a ocorrência de antimicrobianos na cadeia alimentarem. (KAN: MEIJER, 2007). Estes resíduos podem incluir na sua forma original metabolitos e/ou conjugados (CHAFER – PERICAS. 2010).

2.8 ANTIBIÓTICOS.

2.8.1 **A utilização dos antibióticos na piscicultura em geral:**

No Brasil, em aquicultura apenas a tilapicultura e a truticultura são autorizados para a utilização do antibiótico florfenicol nas unidades de produção (GASTALHO *et al.*, 2014)

É amplamente reconhecido que o uso extensivo de antibióticos na produção de animais em cativeiro contribui para o desenvolvimento de microrganismos patógenos resistentes a antibióticos e que essas bactérias podem infectar humanos e animais domésticos (KHACHATOURIANS, 1998; AMERICAN ACADEMY OF MICROBIOLOGY, 1999; WEGENER *et al*., 1999; WILLIS, 2000).

Mesmo que não exista dados oficiais calculando os prejuízos econômicos provenientes de doenças existentes nas pisciculturas brasileiras (BOSCARDIN, 2008), a presença desses microrganismos patogênicos no ambiente de cultivo pode se tornar um grande perigo para os peixes à medida que os negócios aumentam e os sistemas de cultivo se intensificam (SHOEMAKER *et al.*, 2000; LIMA, 2007; EVANS, 2009; DELLA FLORA, *et al.*, 2009).

Com o objetivo de melhorar o ganho de peso e o índice de conversão alimentar (CA), a utilização de antibióticos ocorreu inicialmente de forma discreta, evoluindo posteriormente para a utilização ampla e generalizada na indústria de alimentação animal (FLEMMING, 2005). Em todo o mundo está se desenvolvendo muito a restrição ao uso de antibióticos em doses sub - terapêuticas como aditivos na nutrição animal, devido à possibilidade de proporcionar resistência bacteriana aos consumidores. Para diminuir o consumo de antibióticos na dieta animal, uma das alternativas é o uso da levedura do gênero *Saccharomyces cerevisae*, organismos, encontrados com muita frequência em frutas cítricas, cereais e vegetais. (FURLAN *et al.*, 2004)

Um elevado número de microrganismos que causam enfermidades virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias, pode representar uma grande ameaça tanto para o pescado em geral como para o ambiente, também para os trabalhadores que estão em contato direto com espécies utilizadas para o cultivo e para o ecossistema no qual se encontram. As doenças infecciosas estão incluídas na lista das principais preocupações dos produtores e gestores da aquicultura mundial (KUBITZA, 2003; KURCHEVSKI *et al.,* 2010; ARAUJO *et al.,* 2009).

Atualmente o grande desafio para garantir o sucesso na criação de peixes seria diminuir ou mesmo extinguir o surgimento de doenças causadas por bactérias, tais como: *Aeromonas* spp, *Vibrio* spp. *Streptococcus* spp. *Pseudomonas* spp. e *Flavobacterium* spp. A regulação e o controle do uso de antimicrobianos na aquicultura mundial variam muito de um país para outro. Em países desenvolvidos, como os pertencentes à União Européia, Estados Unidos, países como o Canadá e Noruega, obedecem a um número limitado de produtos farmacêuticos registrados, e o controle regulatório é rigoroso e eficiente; somado a estas condições, temos ainda melhorias na gestão de produção e desenvolvimento de vacinas mais eficazes, resultando numa diminuição do uso de antimicrobianos (AKINBOWALE; PENG; BARTON, 2006). No entanto, 90% da produção aquícola ocorre em países em desenvolvimento, onde a regulamentação no uso de medicamentos e os controles são ineficientes e a utilização de antimicrobianos pelos produtores está cada vez mais difundida.

A utilização de antimicrobianos em peixes, que podem servir de fontes de alimento para o homem tem gerado bastantes preocupações, pois a administração sem controle destes medicamentos pode levar ao surgimento de bactérias patogênicas de grande resistência a esses fármacos. Desde o século passado vem ocorrendo um aumento considerável no consumo de peixes, ao mesmo instante ocasionando uma elevação na produção aquícola, caracterizado pela grande densidade de peixe por tanque e a utilização de alimentos contendo antimicrobianos, (GARCIA *et al*., 2013).

O Ministério da Agricultura (MA) autoriza o uso de aproximadamente 35 antimicrobianos como aditivos na alimentação para fins terapêuticos, muitos dos quais são de uso comum entre as diversas espécies animais, como bovinos, suínos, aves, cães, caprinos e peixes (BRASIL, 2013).

A produção de tilápia do Nilo em tanques rede no Brasil tem como característica as altas densidades de estocagem (80 a 120 kg m-3) enquanto nos outros países a densidade varia entre 2 a 50 kg m-3 (OUATTARA *et al* 2003). Nestas condições o risco de doenças aumenta muito, tornando o sistema muito mais dependente de insumos químicos, principalmente os antimicrobianos (GARCIA *et al.* 2013). Levando-se em consideração que o tratamento de doenças em peixes possibilita uma grande discussão a respeito da dificuldade de encontrar fármacos licenciados para utilização na aquicultura, o que obriga muitos piscicultores a administrar medicamentos não legislados para espécies diferentes ou mesmo os remédios não legalizados, fazendo com que essa prática errônea se torne um problema

mundial. Isto se justifica devido à carência de estudos clínicos e de pouco conhecimento teórico e prático relacionado com fármacos em organismos aquáticos (TELES e REYES 2014).

As drogas mais utilizadas na aquicultura são os antimicrobianos, desinfetantes, pesticidas e outras substancias químicas onde não se pode ter a convicção de um resultado positivo, isso devido aos diversos efeitos negativos que causam ao ambiente aquático e outros organismos, como peixes e humanos (VALLADÃO; GALLANI e PILARSKI, 2015).

As bactérias patógenas estão sempre em contato direto com os peixes no meio ambiente, e as doenças causadas por elas proporcionam enormes perdas econômicas (SHOEMACKER e KLESIUS, 1997). As enfermidades mais comuns de origem bacteriana que afetam os peixes em qualquer ambiente aquático, tanto água doce como salobra são motivadas pelas espécies *Streptococcus iniae* e *Aeromonas hydrophila* (BUCHANAN *et al.,* 2005; ALY *et al.,* 2008a; HARIKRISHNAN *et al.,* 2010, WU et al., 2010; AL-HARBI, 2011). Todas essas causam doenças septicêmicas (FIGUEIREDO et al., 2006), letargia (SHELBY *et al*., 2002; MCNULTY et al., 2003), natação errática, escurecimento da pele, opacidade ocular e anorexia (SHELBY *et al*., 2002), promovendo também elevadas taxas de mortalidades, causando grandes baixas na produção piscícola (SHOEMACKER & KLESIUS, 1997; KLESIUS *et al*., 2000, SALVADOR *et al*., 2005; RUSSO *et al.*, 2006).

As doenças causadas pelo *Streptococcus iniae* que originam um elevado índice mortalidade entre os peixes (BUCHANAN *et. al*., 2005; HARIKRISHNAN *et. al.,* 2010, AL-HARBI, 2011) essa é uma bactéria morfologicamente esférica e utiliza oxigênio como aceptor final sendo de respiração aeróbica (PIER e MADIN, 1976). A septicemia causada pelas bactérias do gênero *Streptococcus sp*: afetam todos os tipos de peixes, tanto os criados em cativeiros quanto os de vida livre (AUSTIN e AUSTIN, 1999). Tratamento com antibióticos para infecções por *Streptococcus iniae* não tem tido muito sucesso (KLESIUS *et al*., 2000), por essa razão fármacos de outros grupos químicos vêm sendo pesquisados no sentido de desenvolver terapias alternativas.

Os primeiros relatos de infecções em peixes foram realizados em trutas arco-íris (HOSHINO *et al*., 1958) e após este fato, estudos mais profundos procuram identificar espécies de microrganismo que causam enfermidades, tais como: *S. disgalactiae, S. agalactiae, S. parauberis e S. iniae* (DOMEÉNECH *et al.*, 1996).

O *Streptococcus iniae* é uma bactéria capaz de causar doenças invasivas, é de natureza Gram-positiva, pode promover epidemias no ambiente da piscicultura, (WEINSTEIN *et al*., 1997; AL-HARBI, 2011). A infecção causada pelos *Streptococcus iniae* em tilápias resulta em um decréscimo no hematócrito e consequentemente diminui o número de hemácias (MCNULTY *et al*., 2003), proporcionando um número maior de mortalidade e redução no desenvolvimento do animal (SHOEMAKER e KLESIUS, 1997; PERERA *et al*., 1994). Além disso, peixes sem sintomas da

doença podem transmitir a infecção e comprometer toda a produção (SHOEMAKER *et al.*, 2001; BUCHANAN *et al.*, 2005). Uma das espécies de peixe mais susceptíveis a esta bactéria comprovadamente é a tilápia do Nilo (SHOEMAKER e KLESIUS, 1997; PERERA *et. al.*, 1994).

Hoje na aquicultura os antibióticos que tem autorização dos órgãos competentes e que podem ser utilizados são os seguintes: oxitetraciclina, florfenicol, sarafloxacina, eritromicinas e sulfonamidas potencializados com trimetropim e ormetropim (FAO, 2012). Os piscicultores brasileiros dispõem apenas de dois ingredientes antimicrobianos ativos, disponíveis e licenciados para a criação de peixes; o florfenicol e o oxitetraciclina, contudo apenas o florfenicol é recomendado, especialmente para a criação de tilápia, (SINDAM, 2016).

Tabela 5- Apresentando as doses recomendadas na literatura para o tratamento das doenças bacterianas importantes para peixes tropicais que ocorrem na piscicultura nacional com os antibacterianos licenciados para uso no Brasil.

Antibacteriano	Patógeno	Dose	Período de Tratamento	Referência
Florfenicol	*Streptococcus agalactiae*	20 a 40 mg/kg	10 dias	Oliveira et al., 2017
	Streptococcus iniae	15mg/kg	10 dias	Gaunt et al., 2010a
	Francisella. noatunensis subsp. *orientalis*	15mg/kg	15 dias	Soto et al., 2010
	Flavobacterium columnare	10mg/kg	10 dias	Gaunt et al., 2010b
	Aeromonas spp.	10mg/kg	10 dias	Noga, 2010
	Edwardsiella tarda	10mg/kg	10 dias	Austin et al., 2012
	Edwardsiella ictaluri	10mg/kg	10 dias	Austin et al., 2012
Oxitetraciclina	*S. agalactiae*	100mg/kg	10 dias	Darwish et al., 2002
	S. iniae	100mg/kg	10 dias	Darwish et al., 2002
	F. columnare	100mg/kg	10 dias	Noga, 2010
	A. hydrophila	100mg/kg	10 dias	Noga, 2010
	Edwardsiella tarda	55mg/kg	10 dias	Austin et al., 2012
	Edwardsiella ictaluri	55mg/kg	10 dias	Austin et al., 2012

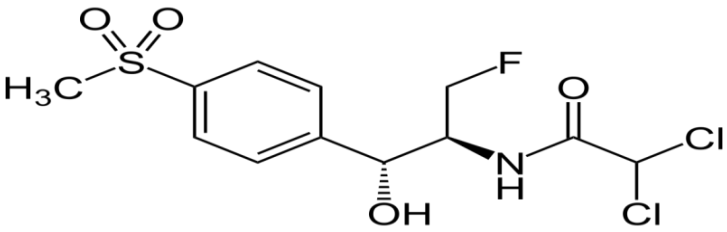
Fonte: Panorama da aquicultura - 2015

Uma equipe de pesquisadores da EMBRAPA Meio Ambiente (SP) e da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) determinou o tempo necessário para que o antibiótico sulfametazina (SMZ) seja eliminado do músculo (filé) da tilápia de cultivo (*Oreochromis niloticus).* As análises determinaram que após o tratamento por 11 dias, o nível máximo de bioacumulação de SMZ em músculo de tilápia foi de 1,6 mg/kg. Em cerca de 15 dias o animal elimina praticamente a totalidade do medicamento do organismo e, em dez dias, já apresenta níveis aceitáveis pela Comunidade Europeia. Publicado em abril no periódico holandês Chemosphere, o trabalho recebeu destaque na imprensa especializada internacional Feed Navigator, Aquahoy. (CAÑADA-CAÑADA, *et al* 2009). Na literatura até agora não houve esse tipo de teste com o florfenicol.

2.8.2 **O antibiótico Florfenicol**

O Florfenicol é um antibiótico sintético com atividade bacteriostática por meio da inibição da síntese proteica dos microrganismos susceptíveis, ele é indicado a animais de pequeno, médio e grande porte. É um produto muito utilizado no tratamento de infecções gastrointestinais (diarreias), infecções respiratórias (pneumonias), pododermatites, metrites e ceratoconjuntivite infecciosa. Deve-se tomar precaução com os devidos ajustes de acordo com o peso do animal e sua enfermidade. O ideal é utiliza-lo com ajuda de um profissional da área, um veterinário que possa orientar na aplicação desse fármaco, caso contrário poderá acontecer consequências irreversíveis principalmente na criação de peixes.

Figura 6 – Configuração química do florfenicol que é usado na aquicultura e é licenciado para o controle da septicemia entérica em peixe.



Fonte: UNINOVE, (2010).

2.8.3 **A utilização de antimicrobianos (antibióticos) no ambiente aquático.**

No momento em que produtores se deparam com o surgimento de doenças, a grande maioria recorre às drogas antimicrobianas (KESARCODI-WATSON *et al.,* 2007). Diversos fármacos são utilizados para tratar doenças infecciosas na aquicultura. No entanto a incidência de microrganismos resistentes a drogas tem se tornado um grande problema para a piscicultura mundial (AOKI, 1992).

A forma mais comum na administração de agentes antimicrobianos na aquicultura é o uso de antimicrobianos misturado à ração ou colocando os compostos diretamente na água, esse processo é denominado de terapia de imersão. Estas práticas podem resultar numa administração exagerada de agentes antimicrobianos e transferência de grande quantidade desses antibióticos não só para os animais, mas também para o meio ambiente, consequentemente o uso de agentes antimicrobianos na aquicultura resulta em um amplo impacto sobre as bactérias ambientalmente relevantes.

As substâncias potencialmente tóxicas podem ser degradadas na natureza de duas maneiras, pelos

processos abióticos e processos bióticos fato esses que ocorrem normalmente. Contudo várias dessas bactérias tem uma capacidade muito grande de resistência a esses processos de degradação, por esse motivo são capazes de persistirem nesse ambiente por longos períodos de tempo. O descarte contínuo no ambiente de uma substância persistente pode levar à sua acumulação em níveis ambientais suficientes para resultar em ecotoxicidade (COSTA *et al*., 2008).

Existe uma estimativa que 70 a 80% das drogas administradas na aquicultura possuí a capacidade de atingir o meio ambiente. Os antibióticos utilizados na ração dos animais poucos são absorvidos na sua totalidade. Entre peixes não saudáveis é comum a taxa de ingestão ser ainda mais baixa devido à reduzida palatabilidade da dieta. (LUTZHOFT *et al.* 1999)

O possível risco à saúde do ser humano por consequência do emprego de medicamentos veterinários em alimentos que podem estar associados à falta de cumprimento das leis, permitindo que os mesmos (antibióticos, por exemplo) atinjam aos níveis acima dos limites máximos recomendados pelas autoridades competentes. Isto pode ocorrer quando o indivíduo adota o produto e não prioriza as boas práticas de utilização de medicamentos veterinários, fato este, quando o piscicultor não segue as especificações determinada de uso. Os antibióticos utilizados na aquicultura com a finalidade do controle de infecções têm se mostrado limitados quanto à prevenção ou cura, sendo que sua utilização expressiva tem elevado a pressão de seleção sobre os microrganismos do sistema aquícola, tornando-os mais resistentes (VERSCHUERE *et al*., 2000a).

Temos alguns exemplos de interações comuns entre alimentos e medicamentos, as quais podem resultar em mudanças nos efeitos farmacológicos ou na biotransformação dos fármacos, modificando a utilização dos nutrientes, comprometendo a eficácia terapêutica dos medicamentos e a manutenção do estado nutricional do indivíduo. Medicamentos ácidos fracos, como o ácido acetilsalicílico, os aminoglicosídeos, barbitúricos, diuréticos, penicilinas e sulfonamidas, outro nutriente que pode afetar a ação de alguns medicamentos é a tiramina, essa substância se encontra presente em alguns alimentos, como por exemplo, queijos fermentados, iogurte. (MOURA, *et al*. 2002).

2.8.4 **As consequências no uso do antibiótico na aquicultura (antimicrobianos).**

Os resíduos antimicrobianos podem causar uma alta toxidade ou até mesmo promover reações alérgicas em alguns animais hipersensíveis, além disso, alimento consumido por longos períodos contendo baixa concentração de antimicrobianos pode levar o individuo a criar resistência aos medicamentos e também eles se caracterizam em grupos, tomando como base sua estrutura química ou seu mecanismo de ação (FERNANDEZ TORRES *et al.* 2011),

Quimicamente os antimicrobianos podem ser divididos em diferentes subgrupos: os beta-lactanos, os quinolonas, as tetraciclinas, sulfonamidas entre outros. São moléculas de extrema complexidade e muitas vezes podem apresentar diferentes funções químicas dentro da mesma molécula, portanto sob diferentes condições de pH. Os antimicrobianos possuem características neutras, catiônicas, aniônicas ou zwitteriônicas (KUMMERER, 2009a).

O exagero na utilização de antibióticos na produção animal vem resultando numa elevação do número de bactérias comensais e patogênicas resistentes a agentes antimicrobianos, esse fato vem demostrando em um dos principais problemas para a saúde pública em todo o mundo (SORUM e ABÉE-LUND, 2002; RIVERA-TAPIA, 2003). Os diversos tipos de bactérias que passaram a se tornar resistentes a antibióticos são encontrados em diferentes nichos ecológicos. Dentre esses, podemos citar o ambiente aquático, que é considerado como um dos mais eficientes para a seleção de populações bacterianas resistentes, assim como a troca de genes de resistência (ALI ABADI e LEES, 2000; WEGENE e MOLLER, 2000).

Foi observado em alguns trabalhos nessa área, que ao consumir o peixe tratado com antibióticos, a principal preocupação seria o fato do surgimento de bactérias resistentes e consequentemente serem transferidas para o homem, e como respostas poderia acarretar provavelmente as seguintes consequências diretas: aumento da frequência da ineficiência dos medicamentos no tratamento do indivíduo, aumento da severidade das infecções, prolongamento no tempo de duração das doenças no hospedeiro, aumento do tempo de hospitalização e da mortalidade, uma maior permanência do microrganismo na corrente sanguínea, são fatores que servem de alerta a toda comunidade científica.

2.9 ANATOMIA EXTERNA DA TILÁPIA DO NILO.

Anatomicamente a tilápia do Nilo possui o corpo dividido em três regiões: cabeça, tronco e cauda. A cabeça estende-se da extremidade da boca até a abertura do opérculo, o tronco vai do opérculo até o orifício anal, a partir daí se tem o início da cauda. A boca encontra-se na posição terminal, e em cada lado da cabeça contém um olho, os quais não possuem pálpebras. Atrás dos olhos existe uma placa em forma de meia-lua, o opérculo, que serve como tampa para a cavidade branquial. *Oreochromis niloticus* apresenta quatro pares de brânquias, cada uma, formada por um arco branquial, onde se inserem os filamentos branquiais. No meio das brânquias estão às fendas branquiais, local de passagem da água.

É um peixe de escamas, corpo elevado e comprimido, possui coloração verde-oliva prateada, com sombras verticais negras, a cor da nadadeira dorsal também é verde-oliva, com uma linha

vermelha e branca até cinza-escuro com pontos oblíquos, já a nadadeira caudal é ponteada na porção dorsal vermelha ou amarela na porção ventral, esse peixe pode atingir em média 45 cm de comprimento e 2,5 kg de peso. Além de mostrar diferentes adaptações evolutivas dos peixes ao meio aquático, as características externas destes animais, algumas internas, como exemplo, o número de vértebras, são fatores importantes para a sua classificação. A forma do corpo dos peixes "típicos" basicamente fusiforme, é uma das suas melhores adaptações à locomoção dentro d'água. A maioria dos peixes pelágicos, especialmente os que formam cardumes ativos esses apresentam esta forma característica. No entanto, há bastantes variações a esta forma típica, principalmente entre os demersais e nos peixes abissais (que vivem nas regiões mais profundas dos oceanos), nestes últimos, o corpo pode ser globoso e apresentar excrescências que servem para atrair as suas presas. A variação mais dramática do corpo dos peixes encontra-se nos *Pleuronectiformes*, ordem a que pertencem os linguados e as solhas, nestes animais, adaptados a viver escondido em fundo de areia, o corpo sofre mudança durante o seu desenvolvimento, de forma que os dois olhos ficam do mesmo lado do corpo, direito ou esquerdo, de acordo com a família. Muitos outros peixes demersais têm o corpo achatado dorsoventral é uma forma de defesa para melhor se confundirem com o fundo. Alguns, como os góbios, que são peixes muito pequenos que vivem em estuários, e possuem as nadadeiras exclusivamente localizadas na região ventral de seu corpo, transformadas num botão adesivo, para evitarem serem arrastados pelas correntes de maré, os Anguilliformes (enguias, congros e moreias) têm o corpo em forma de serpente, assim como algumas outras ordens de peixes. (FIGUEIREDO *et al.* 2008).

Figura 7 - Foto da *tilápia do Nilo* em estudo, morfologia externa.

4

2.10 MORFOLOGIA DO CANAL ALIMENTAR.

2.10.1 **Aspecto histológico geral do tubo digestório.**

Nos peixes teleósteos o canal alimentar apesar de ser considerado mais simples que os demais vertebrados superiores realizam com êxito várias funções. Um dos principais requisitos para o bom desenvolvimento da piscicultura é o conhecimento adequado da biologia da espécie utilizada no cultivo (SILVEIRA, *et al* 2009)

O trato digestório é o tubo que vai da boca ao ânus pelo qual passam os alimentos. Anatomicamente ele é subdividido em: cavidade oro-branquial, Intestino anterior representado pelo esôfago e estômago, intestino médio o propriamente dito, intestino posterior onde encontramos o reto. Os vários tecidos e órgãos relacionados estão envolvidos com a apreensão, mastigação e deglutição, seguidas da digestão, absorção dos nutrientes e excreção. (GROSELL et al., 2011).

Os peixes apresentam um esôfago com tubo curto e reto de paredes espessas, ligando a faringe até o estômago ou ao intestino, dependendo da espécie. Anatomicamente o esôfago é projetado principalmente para a passagem de alimentos. A transição do esôfago/estômago não é claramente demarcada anatomicamente em teleósteos, existe uma diferença no tipo de fibras musculares, passando de fibras musculares estriadas no esôfago para fibras musculares lisas do estômago (GROSELL *et al.*, 2011). Outra característica na morfologia que pode apresentar seria observada com o surgimento de glândulas gástricas, no entanto esta transição se dá de forma gradual, revelando a zona de transição entre os dois órgãos (KAPOOR *et al*., 1975). Após passar pelo esôfago, o alimento entra no estômago onde se observa três regiões distintas: a região cardíaca, a região fúndica e a região pilórica onde se encontra um musculo histologicamente modificado no final do órgão denominado esfíncter que tem a função idêntica aos mamíferos (GROSELL *et al*., 2011).

O estômago armazena o alimento desempenhando funções mecânicas misturando o conteúdo estomacal promovendo a digestão dos alimentos. Histologicamente esse órgão apresenta uma mucosa com várias células glandulares endócrinas e secretoras exócrinas, células que produz muco e células que secretam o pepsinogênio, ácido clorídrico e enzimas digestivas (RUST, 2002; ROTTA, 2003). Logo em seguida vem o intestino é um tubo relativamente simples, iniciando na válvula pilórica e terminando no reto, não sendo separado, como nos animais superiores em intestino delgado do intestino grosso, como nos mamíferos onde a mucosa intestinal de peixes teleósteos tem inúmeras projeções ou pregas da mucosa, sendo equivocadamente denominadas de “vilos” **(Figura. 9)**, sem criptas na base e que possuem células indiferenciadas, sofrem sucessivas mitoses para formação das células epiteliais do “vilo” (JOBLING, 1995). Além da função de digestão e absorção, o intestino pode

desempenhar outras funções, como auxiliar na osmorregulação ou na respiração. Há uma ampla variedade de estruturas especializadas encontradas no intestino de diferentes espécies de peixes.

O desempenho produtivo depende das características sanitárias e estruturais do animal, um peixe sem alterações morfológicas teciduais pode representar: ganho em peso, menor tempo de crescimento e melhor aproveitamento do alimento. O manejo, como densidades populacionais é específico para cada tipo de sistema de produção e condição ambiental podendo levar a modificações estruturais de órgãos de uma determinada quantidade de peixes, principalmente em sistemas de confinamento como tanques-rede, que, em primeira instância pode não mostrar alterações na produtividade (MALLAT, 1985; MONTEIRO *et. al*. 2005).

Para estudarmos melhor sobre o aspecto da piscicultura em geral, é importante que saibamos sobre sua organização morfológica estrutural e os principais órgãos envolvidos no comportamento fisiológico das espécies. O conhecimento da estrutura histológica do canal alimentar dos peixes é importante para fornecer informações para os estudos sobre a nutrição, de forma a atender às exigências nutricionais para adequado desempenho e saúde dos peixes. (JOBLING, 1995).

A avaliação de novos ingredientes para alimentação depende primeiramente das respostas zootécnicas dos animais nutridos por determinados produtos (BENGSTON, 1993). As variações no desenvolvimento dos peixes podem ser atribuídas às diferenças interespecíficas das características de seu trato digestório e à eficiência com que o alimento ingerido é capaz de ser assimilado e digerido. A habilidade dos peixes em processar os alimentos é essencial para seu desenvolvimento e depende da estrutura do epitélio e das “vilosidades intestinais”, do perfil enzimático de seu canal alimentar e de sua capacidade adaptativa (KUPERMAN e KUZ’MINA, 1994).

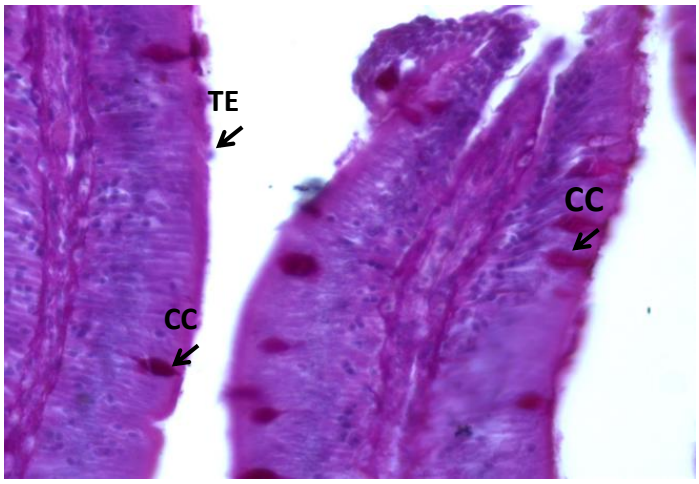
Estudos mais detalhados empregando a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) revelaram que tais “vilosidades” são na verdade projeções da mucosa. O desenvolvimento eficiente e saudável dos animais passa obrigatoriamente pelo fornecimento de uma dieta que satisfaz as necessidades básicas de crescimento, contendo concentrações próximas do ideal e seus diversos componentes, aliados a tecnologia de preparação. A estocagem, a concentração de vitaminas e minerais, a biodisponibilidade dos nutrientes são exemplos de parâmetros que interferem no desenvolvimento do animal (NAVARRO *et al.,* 2007).

As lesões histológicas são indicadores da saúde e estresse ambiental (SANTOS, 2010), ambiente que pode resultar em estressores químicos, físicos ou biológicos induzem reações nos tecidos causando distúrbios circulatórios, como congestão, telangiectasia, vasos finos superficiais cutâneos, edema e a proliferação de células como a hiperplasia epitelial e de células mucosas, além de processos inflamatórios que podem levar à necrose dos tecidos (GARCIA-SANTOS *et al.,* 2007)

Na tentativa de aperfeiçoar o aproveitamento dos ingredientes ingeridos, os peixes apresentam capacidade de adaptação dos processos digestivos, tais como: perfil e secreção enzimáticos; absorção e transporte de nutrientes. O estudo morfológico revela o desempenho no processo digestivo, absortivo e metabólico nos diferentes animais (LUNDSTEDT; 2003), além de ser uma barreira seletiva que permite absorção de nutrientes e exclui muitas substâncias tóxicas (BUDDINGTON; KROGDAHAL; BAKKEMCKELLEP, 1997) pode também revelar as diferentes adaptações do trato digestório em função a dieta ofertada (LIQUORI, *et al*. 2007 & DOMENEGHINI, *et al*. 2005). Portanto, o estudo histológico é essencial para a tomada de decisão quanto ao tipo de fonte de alimento que pode ser recomendada para alimentação de peixes (EVANS, *et al.* 2005; ROMARHEIM, 2008).

O conhecimento histológico do sistema digestório dos peixes tem extrema importância na elaboração de dietas que atendam as exigências nutricionais dos peixes, pois as modificações no sistema digestório estão relacionadas com o hábito alimentar (SILVEIRA, *et al.* 2009).

Figura 8- Tecido Epitelial **(TE).** Células caliciformes (Goblet) **(CC)** das pregas da mucosa do intestino de peixe. Coloração PAS.



2.10.2 **Pregas do Intestino de tilápia do Nilo**

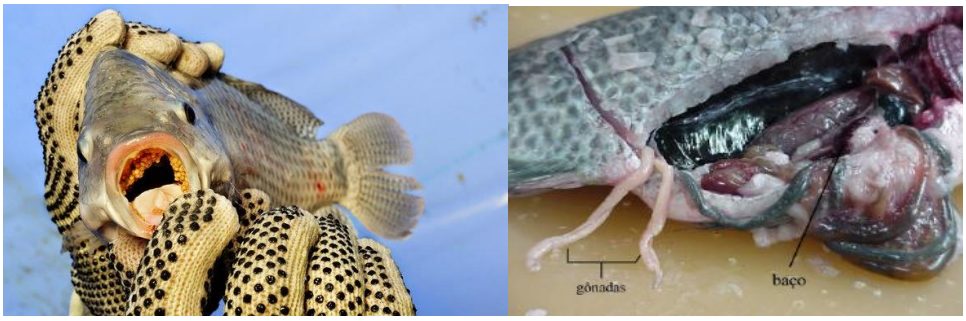
Anatomicamente o sistema digestório entre espécies de uma mesma família de peixe são muito parecidos, mesmo havendo algumas exceções, sabe-se que a digestão é uma ação coordenada por atividades de inúmeros fatores, tais como: físicos, químicos, biológicos etc. que tem início quando o alimento penetra na cavidade bucal e termina quando é excretado nas fezes através do ânus (RUST 2002). A organização do aparelho digestório nos peixes se relaciona com sua nutrição e habitat, provocando variações morfológicas de caráter permanente, como evolução filogenética ou caráter

temporário modificações no ciclo ontogenético. Os ciclídeos podem se caracterizar por apresentarem dentes na mandíbula, na maxila e na faringe, sendo estes fatores importantes na taxonomia desta família (GOLDSTEIN, 1988).

Morfologicamente a boca da tilápia do Nilo possui dentes bem rudimentares, sendo classificada como onívora-planctófaga, mostrando que sua dieta se baseia em organismos fitoplanctônicos e zooplanctônicos que é característico ao tipo de dente (CÂMARA e CHELLAPPA. 1996). As tilápias possuem de um a cinco fileiras de dentes mandibulares juntamente com os dentes faringianos que promovem a trituração dos alimentos em fragmentos menores nessa região, facilitando assim sua digestão (BOWEN, 1982).

O tubo digestório é relativamente simples, tendo início na região da válvula pilórica e terminando no reto. Esse órgão possui glândulas digestivas e é irrigado por inúmeros vasos sanguíneos e linfáticos, onde se completa a digestão iniciada no estômago (ROTTA, 2003). Uma característica básica do intestino de peixes teleósteos é a presença de dois segmentos intestinais: o intestino superior, onde se observa como característica principal a presença de uma moderada quantidade de células de Goblet (do inglês cálice ou taça) em relação ao intestino inferior, este por sua vez possui uma túnica muscular mais delgada em comparação com o superior. Outra característica básica é a diferença de um epitélio cilíndrico de células secretoras e de células absortivas na mucosa do intestino superior para um epitélio de células cilíndricas ou prismáticas que sintetizam quase que exclusivamente muco no intestino inferior. De um modo geral, as porções intestinais que apresentam células mais complexas estão envolvidas com processos absortivos (SMITH, 1989).

Figuras 9 e 10- Estrutura da boca e cavidade do corpo e da tilápia.



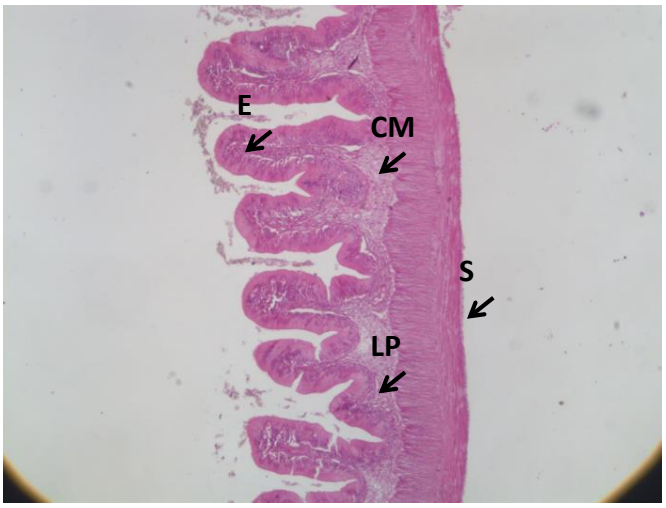
Fonte: Atlas de dissecação de vertebrados, INTERNET. 2006.

A mucosa do intestino da tilápia apresenta um epitélio do tipo simples cilíndrico com borda estriada e numerosas células caliciformes, seguido por uma lâmina própria de tecido conjuntivo e uma camada muscular da mucosa bem definida. Em todo o intestino observou-se a presença de uma muscular da mucosa separando a lâmina própria da submucosa. A camada muscular é composta por

uma camada circular interna e outra longitudinal externa de músculo liso, a serosa está presente em todo o intestino, consistindo de uma camada única de células planas (mesotélio).

As tilápias não apresentam cecos pilóricos, mas em compensação possuem um intestino que pode variar de 7 a 14 vezes o comprimento do corpo, o qual pode compensar a ausência dos mesmos (POPMA e LOVSHIN, 1995).

Figura 11 - Intestino de tilápia corado com HE. Mostrando todas as camadas da parede intestinal, desde a serosa (**S**) até a mucosa, destacando as camadas musculares lisas **(CM)** e com a lâmina própria e o epitélio **(E)**.



2.11 FÍGADO (HEPATOPÂNCREAS)

O fígado é um órgão importante que pode ser fisiologicamente sobrecarregado na utilização de determinados fármacos, ele se localiza na região central da cavidade do corpo, desempenhando inúmeras funções vitais para o metabolismo básico dos vertebrados (ARIAS et al., 1998; GINGERICH e DALICH, 1982), dentre as quais se inclui a capacidade de acumulação, biotransformação e excreção de compostos xenobióticos (MEYERS e HENDRICKS, 1985). Os hepatócitos podem ser considerados alvos primários da toxicidade de uma substância, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental (ZELIKOFF, 1998).

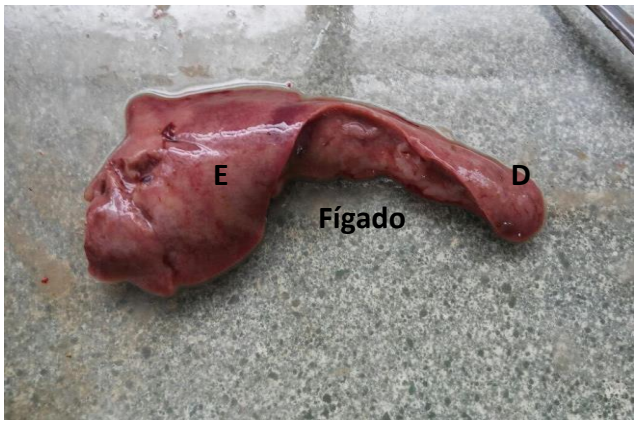
Existem algumas funções exercidas pelo fígado que são de vital importância, destacam-se como exemplo: produção de proteínas para atuar em diversas partes do corpo, ureia para a retirada da amônia como efeito detoxificante, síntese de diversos aminoácidos e formação de proteínas plasmáticas (HONORATO *et al*. 2013). Assim, uma disfunção hepática grave, causada por várias etiologias, se estendendo por um longo período, poderá promover danos irreversíveis (RAŠKOVIĆ *et*

al. 2011), como uma evidente diminuição da taxa de crescimento e até mesmo morte do animal. Contudo, o conhecimento da histologia do fígado de peixes é de interesse comercial e de grande importância para a compreensão das alterações neste órgão, seja patológica, ou relacionada a doenças infecciosas, seja proporcionada por sobrecarga ou deficiência de nutrientes nas dietas administrada. (HONORATO, 2013). Uma das mais importantes funções do fígado é de filtrar e eximir o sangue que vem do intestino, de qualquer substância estranha ou poluente sendo assim, um dos possíveis métodos para se avaliar os efeitos de poluentes e outros agentes em peixes de água doce é o exame dos órgãos para verificação de mudanças morfológicas (SALEH, 1982).

O fígado (hepatopâncreas) da tilápia do Nilo apresenta funções idênticas aos mamíferos, dentre as mais importantes podemos destacar: a produção de bile, desintoxicação de substâncias prejudicial ao organismo, assimilação de nutrientes, manutenção da homeostase metabólica do animal, síntese e processamento de carboidratos, proteínas, lipídios e vitaminas. O fígado possui um grande papel na síntese de proteínas plasmáticas, como; produção da albumina e do fibrinogênio. Histologicamente o fígado possui diferenças entre as várias espécies, mas também existem características comuns que estão presentes na maioria delas, contudo estruturalmente o fígado pode variar muito de acordo com o sexo, idade e o tipo alimentação disponível (especialmente no que diz respeito ao conteúdo de carboidrato e gordura), ou mesmo temperatura, com intervenção do sistema endócrino fortemente ligado ao meio ambiente influenciados pelas condições de criação (GENTEN *et al*., 2009).

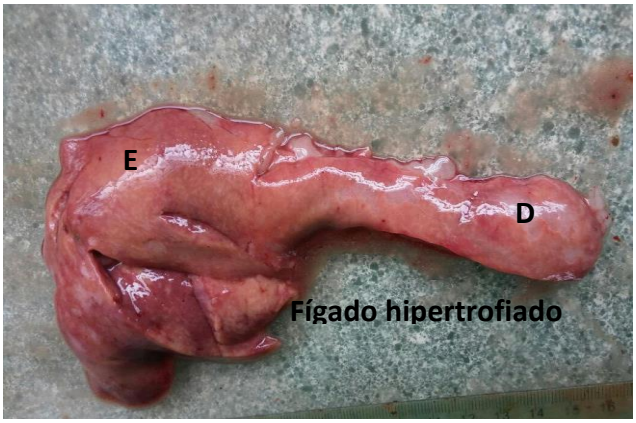
2.11.1 **Aspectos morfofisiológicos do fígado do peixe**.

Figura 12 - Fígado normal de *Oreochromis niloticus* mostrando dois lobos hepáticos: esquerdo (E) direito (D).



O parênquima do hepatopâncreas é formado por tecido pancreático exócrino intra-hepático, com arranjo de ácinos, sendo que a maior parte dele é constituída pelos hepatócitos e apresenta também um sistema de condutos que drenam a bile. Hepatócitos são células poliédricas, idêntica aos mamíferos e bastante volumosa, apresenta um núcleo central e nucléolo evidente característico, histologicamente se arranjam como cordão maciço dispostos em duas camadas celulares, lateralmente encontra-se vasos capilares (sinusóides). Os ductos biliares são geralmente vistos próximos a veia porta e são revestidos por epitélio cúbico simples (VICENTINI *et. al.*, 2009; TORRES *et al*., 2010).

Figura 13 - Fígado hipertrofiado, com fragilidade tecidual, presença de gordura de *Oreochromis niloticus* mostrando dois lobos hepáticos: esquerdo (E) e direito (D).



No interior do parênquima hepático o pâncreas é separado por cordões de hepatócitos e por meio de uma camada delgada de septos de tecido conjuntivo, formando uma massa de células acinosas serosas em forma de pirâmide, o núcleo das células é esférico e o citoplasma contendo grânulos de zimogênio (GENTEN et al., 2009)

No Fígado (hepatopâncreas) observou-se a presença de ductos biliares com epitélio cilíndrico simples, (Figura 12) com células altas, citoplasma de coloração acidófila e núcleo ovalado basófilo situados na base das células, sendo acompanhados por arteríolas e envolvidos por tecido conjuntivo frouxo. A porção pancreática apresentou-se distribuída por toda a extensão do fígado. No entanto, apenas a porção exócrina foi identificada com células acinosas, citoplasma com tendência à coloração basófila e núcleo oval também basófilo. Estas células organizavam-se em pequenos grupamentos circulares, com ductos pancreáticos ao redor. Foi possível a visualização de grânulos de zimogênio os quais se apresentaram eosinófilos, por fim, havia uma camada serosa circundando o órgão, composta por tecido conjuntivo frouxo e epitélio pavimentoso simples. (GROSELL *et al*., 2011).

As alterações histopatológicas podem ser o resultado de mudanças bioquímicas e fisiológicas adversas em um organismo. Assim sendo, a histopatologia pode indicar rapidamente órgãos-alvo, tecidos, células e organelas que estejam afetadas, em muitos casos são possíveis distinguir lesões induzidas por substâncias tóxicas originada de lesões provenientes de doenças infecciosas. Hinton e Laurén (1990) e Bernet *et al.* (1999) descreveram que dentre as estruturas indicadas para o estudo histopatológico em peixes, destacam-se principalmente órgãos expostos permanentemente a potenciais agentes tóxicos no ambiente aquático é o caso dos rins e o fígado por serem órgãos essenciais ao metabolismo, a excreção de metabólitos e a osmorregulação.

O fígado é um órgão responsável pelo metabolismo da grande maioria das substâncias tóxicas podendo sofrer alterações estruturais e metabólicas mediante a exposição de poluentes, alimentos, toxinas, parasitos e diversos micro-organismos (ARELLANO *et al*., 1999; GERNHÖFER *et al.*, 2001; FANTA *et al*., 2003; AU, 2004; BOMBONATO *et al.*, 2007). Essas alterações podem refletir em uma variedade de processos patológicos com possibilidade de levar até a morte do animal (HIBIYA, 1982).

Os hepatócitos podem ser considerados alvos primários de substância tóxicas, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental (ZELIKOFF, 1998). Alterações como vacuolização dos hepatócitos, redução do estoque de glicogênio, inflamação, alteração no formato dos capilares sinusóides e neoplasmas, podem ser interpretados como respostas ao estresse ambiental, sendo considerados indicadores histopatológicos dependendo da qualidade do ambiente (TEH *et al*.,1997).

De acordo com Rotta (2003) o pâncreas da maioria dos teleósteos é difuso e não pode ser facilmente observado durante uma dissecação total. Smith (1989) e Rotta (2003) afirmam que o pâncreas pode se apresentar em uma estrutura individualizada, ou de forma difusa, com nódulos pancreáticos espalhados no tecido adiposo, no mesentério, fígado, ducto biliar, vesícula biliar, cecos pilóricos, intestino, etc. (GROSELL *et al.*, 2011).

3 HISTOLOGIA E HISTOMETRIA DO INTESTINO MÉDIO DA TILÁPIA DO NILO (Oreochromis niloticus) TRATADAS COM RAÇÃO COM PROBIÓTICO E ANTIBIÓTICO EM CULTIVO COMERCIAL.

HISTOLOGIA E HISTOMETRIA DO INTESTINO MÉDIO DA TILÁPIA DO NILO *(Oreochromis niloticus)* TRATADAS COM RAÇÃO COM PROBIÓTICO E ANTIBIÓTICO EM CULTIVO COMERCIAL.

.

Alex B, da Silveira[1]; Diógenes L. da Mota[3;], Janilson Felix da Silva2; Alex B. da Silveira Jr[2]; Rudã Fernandes Brandão Santos[2] ; Carlos Eduardo de L. Queiroz[1]; Ranilson de Souza Bezerra[2]

1 -Departamento de Farmácia – CCS - Universidade Federal de Pernambuco;
2 -Departamento de Farmácia – CCS - Universidade Federal de Pernambuco;
2- Departamento de Bioquímica – CCB - (Universidade Federal de Pernambuco)
2 - Departamento de Bioquímica – CCB - (Universidade Federal de Pernambuco)
3- Departamentos de Histologia e Embriologia - CCB - (Universidade Federal de Pernambuco)

Endereço: Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 50670-901, Av. Prof. Moraes Rego.

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar os aspectos histológicos, histoquímicos e morfométricos do intestino de tilápia do Nilo tratada com a utilização do probiótico acrescido de antibiótico inserido na dieta. *Oreochromis niloticus é* amplamente disseminado nas regiões tropicais e subtropicais, sendo considerado atualmente um dos peixes mais produzidos no Brasil. A utilização de antibióticos sem critérios rigorosos na aquicultura, tem provocado o desenvolvimento de resistência bacteriana em animais e humanos. Por outro lado, as infecções bacterianas vêm se tornando um dos principais fatores limitantes no sistema de criação/produção de tilápias provocando altas taxas de morbidade e/ou mortalidade de peixes, acarretando elevados prejuízos econômicos ao setor pesqueiro. Para observação, foi utilizado um total de 28 peixes adultos criados em viveiros escavados. Em alguns desses viveiros detectou-se um surto de estreptococose que foi tratado com o antibiótico Florfenicol (adicionados à ração/probiótico). Para análise das estruturas tecidual do intestino foram utilizadas técnicas histológicas rotineiras (Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gomori). Para estudos dos parâmetros morfométricos utilizou-se o programa IMAGE J e, para detecção de carboidratos, a técnica histoquímica empregada foi o Periodic Acid Schiff (PAS). No grupo tratado com antibiótico, ocorreram alterações histológicas importantes como: descaracterização das células epiteliais da mucosa e intensa erosão destas células principalmente na porção apical das pregas. Quanto às camadas musculares da parede intestinal (longitudinal externa e circular interna), observou-se uma discreta redução na sua espessura. Estes resultados demonstraram que o emprego de antibioticoterapia pode acarretar alterações histológicas e morfométricas extremamente importantes até mesmo com protocolos já estabelecidos com critérios rigorosos embora se reconheça os efeitos positivos para a piscicultura.

Palavras-chave: Tilápia, intestinos, histologia, histoquímica, histomorfométricas, Probióticos, Estreptococo.

SUMMARY

This work aims to evaluate the histological, histochemical and morphometric aspects of the intestine of Nile tilapia treated with the use of probiotic plus antibiotic inserted in the diet. Oreochromis niloticus is widely disseminated in tropical and subtropical regions, being considered currently one of the most produced fish in Brazil. The use of antibiotics without strict criteria in aquaculture has led to the development of bacterial resistance in animals and humans. On the other hand, bacterial infections have become one of the main limiting factors in the tilapia breeding / production system causing high rates of fish morbidity and / or mortality, causing high economic losses to the fishing industry, also providing structural alterations in the gut of fish submitted to the mentioned treatments, and with that interfering significantly in the metabolism of these animals. Twenty-eight adult fish were used for observation in raised nurseries. In some of these nurseries an outbreak of streptococcosis was treated with the antibiotic Florfenicol (added to the feed / probiotic). For the analysis of the intestinal tissue structures, routine histological techniques (Hematoxylin-Eosin and Gomori Trichrome) were used to study morphometric parameters. The IMAGE J program was used to detect carbohydrates and the histochemical technique used Periodic Acid Schiff (PAS). The methodology used revealed that in the group treated with antibiotic important histological alterations such as: decharacterization of epithelial cells of the mucosa, intense erosion of these cells mainly in the apical portion of the folds. As for the muscular layers (longitudinal external and internal circular) a slight reduction in its thickness was observed. These results demonstrated that the use of antibiotic therapy can cause extremely important histological and morphometric alterations even with protocols already established with strict criteria although the positive effects for fish culture are recognized.

Key words: Tilapia, Intestines, Histology, histochemistry, morphometry, Probiotics, Glycogen, histochemistry, morphometry, Probiotics, Glycogen, *Streptococcus.*

INTRODUÇÃO

A quantidade exagerada de peixes em viveiros escavados degrada o ambiente, aumentando visivelmente a possibilidade do surgimento de infecções de diversas naturezas (SAKAI, 1999). Esta situação levou ao uso de probióticos que previnem doenças que podem acometer os peixes (VERSCHUERE *et al.* 2000). Utiliza-se probióticos na ração para impedir a proliferação de patógenos que causam danos no epitélio de revestimento da mucosa intestinal e que dificultam a absorção de nutrientes pelos peixes (NAYAK, 2010 a, b).

A ração representa aproximadamente de 50 % a 70 % do custo total efetivo na produção de tilápias do Nilo. Em se tratando de sistemas semi-intensivos em viveiros escavados verifica-se modesta redução da participação da ração no custo total de produção. De qualquer forma a ração é considerada o agente direcionador do custo variável de produção, representando, em média, 52,1 % do custo de produção da tilápia cultivada em viveiros escavados em uma piscicultura de grande porte. Bolívar *et al* (2006) constataram que no manejo nutricional normal contínuo, a ração representou em torno de 73 % do custo total de produção de tilápias cultivadas sob sistema semi-intensivo em viveiros escavados.

Existe uma estreita relação de interdependência entre a nutrição, o habitat e a organização do aparelho digestivo, se manifestando especialmente por adaptações e modificações. Essas são variações morfológicas provocadas pela ação de fatores do ambiente sobre o organismo, podendo ser de caráter permanente, produzidas na evolução filogenética, como no caso das adaptações, ou de caráter temporário, produzidas no ciclo ontogenético do indivíduo, chamadas de modificações. Portanto, a dieta é um dos principais fatores, se não o mais importante que confere aos órgãos do sistema digestório características funcionais, anatômicas e morfométricas próprias para cada regime alimentar (ROTTA, 2003).

A intensificação da criação acarreta alguns problemas, que prejudicam o desempenho, pois ocasiona a diminuição da qualidade da água, que aliada a outros fatores, como o estresse causado pelo manejo zootécnico, torna os animais susceptíveis a infecções bacterianas e a ocorrência de surtos epizoóticos com grande mortandade de peixes, acarretando grandes prejuízos ao produtor, nesses casos, o uso da antibioticoterapia é comum, entretanto esta prática pode atuar selecionando bactérias resistentes e provocar o desequilíbrio da microbiota do intestino do animal (GARCIA, 2008; YOUSEFIAN & AMIRI, 2009).

Este fato aumentou a preocupação com o uso de antibióticos, provocando a proibição da administração em doses sub-terapêuticas na Europa, e a restrição no processo de regularização da

aplicação destes produtos nos EUA e outros países. Devido impacto dessas exigências políticas na aquicultura, surge o interesse em desenvolver estratégias alternativas para controlar as doenças (GATLIN III *et al*., 2006), dentre elas a suplementação alimentar estratégica.

Durante o processo evolutivo dos peixes, conforme a natureza do alimento ingerido e os hábitos alimentares da espécie desenvolveu-se um mecanismo muito aprimorado para a obtenção do alimento, demonstrado no comportamento alimentar (FANTA, 1998; MEYER e FANTA, 1998; FANTA *et al*., 1994), associado às modificações morfológicas e fisiológicas do aparelho digestório (DZHUMALIYEV, 1982).

As doenças bacterianas são responsáveis por perdas econômicas severas na aquicultura (WANG *et al.,* 2008) o que tem levado ao emprego da antibioticoterapia para controlar os microrganismos patogênicos. Entretanto, o uso indiscriminado destes fármacos acarreta importantes mudanças na microbiota dos sistemas de aquicultura bem como do ambiente circundante, causando uma das mais sérias consequências a denominada resistência bacteriana (RESENDE *et al*., 2012) e até mesmo afetando bactérias benéficas naturais (HE *et al*., 2010, 2011, 2012). Portanto, é importante buscar e combater esses patógenos com o desenvolvimento de métodos alternativos.

Um método alternativo para isso é o uso de microrganismos probióticos que podem restringir o crescimento de patógenos (GATESOUPE, 1999). A maioria dos probióticos comerciais utilizados na aquicultura é obtida de animais terrestres (NAYAK, 2010). Assim, a atividade aquícola pode introduzir espécies bacterianas incomuns em ambientes aquáticos, sem se conhecer com profundidade as consequências dessa ação. Neste sentido, há necessidade de se obter bactérias probióticas autóctones, originárias do ambiente nativo (ALY *et al*., 2008a; EL-RHMAN et al., 2009; JATOBÁ et al., 2008). Contudo, o processo de isolamento, identificação e teste do potencial bacteriano probiótico é trabalhoso e demorado (BALCÁZAR *et al*., 2006; FARZANFAR, 2006; KESARCODI-WATSON *et al*., 2008; VERSCHUERE *et al*., 2000b).

Os probióticos mais utilizados e submetidos a estudos em peixes são os que na sua composição apresentam *Bacillus subtilis,* os quais são extremamente benéficos quando adicionados às rações, pois promovem a imuno-estimulação e aumentando a resistência a diversas enfermidades (CEREZUELA *et al*. 2012). Para um aumento sustentável da produção de peixes, probióticos derivados do intestino de diferentes tipos de animais vem sendo intensivamente estudados. É uma das diversas maneiras alternativas de controlar doenças infecciosas bacterianas (KESARCODI-WATSON *et al*., 2008) e para responder às limitações e efeitos adversos dos antibióticos (NAYAK, 2010). Entre os probióticos, os *Lactobacilli* são os mais conhecidos e ainda são ingredientes mais comuns das preparações destinadas ao consumo por seres humanos e animais de criação (FULLER, 1989; GATESOUPE, 1999).

A microbiota bacteriana intestinal de organismos aquáticos é constituída, predominantemente por bactérias Gram negativas (GOMEZ-GIL *et al*., 2000) e pode variar de acordo com o ambiente, com a escassez de nutrientes ou pelo uso de bactérias probióticas (GATESOUPE, 2008). Em tilápias, a bactéria Vibrio sp., normalmente dominam a microbiota intestinal (JATOBÁ *et al.*, 2008),

As doenças mais comuns de origem bacteriana que acometem os peixes em qualquer ambiente aquático são as provocadas por bactérias das espécies *Streptococcus iniae,* e *Aeromonas hydrophila* (BUCHANAN *et al.*, 2005; ALY *et al*., 2008a; HARIKRISHNAN *et al.*, 2010, WU *et al*., 2010; AL-HARBI, 2011). O emprego de antibióticos na aquicultura de forma criteriosa é fundamental para o controle e tratamento de infecções bacterianas que levam a uma diminuição na produção, em consequência da elevada mortalidade dos peixes (MONTEIRO *et. al*. 2004).

O intestino é um órgão relacionado com importantes funções fisiológicas, sendo a região mais envolvida no processo de digestão e absorção dos nutrientes (CABALLERO *et al.* 2003). O aumento do comprimento das vilosidades significa uma ampliação da área de superfície epitelial para melhor absorção dos nutrientes disponíveis (CASPARY 1992). Pesquisas com probióticos para animais aquáticos têm avaliado os efeitos positivos sobre a morfologia intestinal dos animais, como benefícios na estrutura das microvilosidades e do restante da superfície absortiva (MELLO *et al*. 2013).

A etapa final do processo da digestão ocorre no intestino e depende de um conjunto de diversos mecanismos tais como: ação proteolítica do suco pancreático, do complexo multienzimático existente nas microvilosidades dos enterócitos e do auxílio de mucinas (KAPOOR, B. G.; SMITH, H.; VERIGHINA, I; (1975) A presença de células caliciformes no intestino de peixes geralmente esta relacionada com as seguintes condições: proteção contra a atividade bacteriana (TIBBETTS, I. R.1997), proteção do epitélio intestinal neutralizando a acidez do bolo alimentar proveniente do estômago. A secreção das células caliciformes é influenciada pelo componente proteico da dieta (RUNGRUANGASK, K.; UTNE, F. 1981), que provavelmente pode alterar a estrutura de digestão e absorção.

PROCEDIMENTO METODOLOGICO

GRUPO AMOSTRAL

A coleta dos órgãos destinados aos estudos histológico, histoquímico e morfométrico ocorreu nas dependências de uma piscicultura do Estado da Paraíba, no Nordeste do Brasil, nas quais os animais capturados com rede em viveiros escavados eram trazidos para o abate e procedimentos de comercialização. Neste estudo foi utilizado um total de e dezoito (18) tilápias (*Oreochromis niloticus*) adultas pesando em média 1.300kg e medindo cerca de 32 cm.

Os viveiros escavados (1000 m^2) eram abastecidos continuamente com água proveniente do Rio Paraíba, com renovação de 20 vezes ao dia e aeração constante. A qualidade da água apresentou às médias de oxigênio dissolvido (OD) de 10 a 2 mg/L. mensurado com um oxímetro F-1050 YSI. A temperatura aferida periodicamente manteve-se em torno de 26 ºC, aferida com um termômetro da marca INCOTERM – 136127 sendo o pH de 6,5 obtido com um pHmetro portátil Master F-1002, salinidade de 1,7 g/kg. Estes parâmetros de qualidade da água encontravam-se dentro dos padrões para o cultivo de peixes neotropicais como preconizados por Sipauba-Tavares (1995). A alimentação dos animais era feita com ração e probiótico. Após 60 dias de permanência aproximadamente observou-se que em alguns viveiros as tilápias apresentavam ulcerações cutâneas na região cefálica. Ao exame clínico-veterinário e laboratorial constatou-se infecção por *streptococcus sp*. Iniciou-se imediatamente a antibioticoterapia para os animais destes viveiros empregando-se o antibiótico Florfenicol adicionado à ração, para cada tanque de um hectare: 1 litro de óleo, 50 gramas antibióticos e 50 quilos da ração. O tratamento com esse antibiótico compreendeu duas fases de 10 (dez dias) cada, sendo administrado 2-3 vezes por dia, com um intervalo de uma semana entre estas fases, de acordo com a preconização veterinária para piscicultura. Ao final do tratamento observou-se o desaparecimento completo das ulcerações.

COLETA DO MATERIAL PARA ESTUDO

Os peixes foram disponibilizados imediatamente após os procedimentos rotineiros para comercialização e as vísceras de cada um foram coletadas. Após a excisão do intestino médio, realizou-se um exame macroscópico, não sendo observadas quaisquer lesões aparentes nestes órgãos. De um total de 18 peixes coletados, desses, dezoito (18). Foi separado o grupo I constituído por seis

espécimes que foram alimentadas apenas com ração, sendo este usado como grupo controle. O grupo II, também formado por seis tilápias, as quais foram alimentadas com ração acrescida de probiótico (Phibro-Bioplus) e o grupo III com seis (6) tilápias tratadas com ração/probiótico adicionados com o antibiótico, para cada tanque de um hectare: 1 litro de óleo, 50 gramas antibióticos e 50 quilos da ração, 2 ou 3 vezes ao dia durante 10 dias. Todas foram submetidas aos mesmos procedimentos de captura e abate e cada grupo tratadas em dependência isolada.

HISTOLOGIA, HISTOQUÍMICA E MORFOMETRIA.

As análises histológicas, histoquímica e morfométrica do intestino foram realizadas no Laboratório de Citologia Clínica e Histologia Quantitativa do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

HISTOLOGIA E HISTOQUÍMICA

Após a abertura da cavidade abdominal do peixe, o tubo digestório com auxílio de tesoura, pinças e bisturi, foi retirado na sua totalidade, em seguida fotografado, e com uma seringa e agulha (13 X 0,45mm) injetou-se no lúmen do órgão a solução fixadora de Bouin até o preenchimento completo do mesmo, para tanto as extremidades foram obliteradas com fio cirúrgico. O intestino foi imerso em um recipiente de vidro contendo 300 ml do mesmo fixador e neste permaneceu por 24h. Decorrido este período e uma vez identificada a sua porção média (situada aproximadamente cerca de 20 cm após a junção (gastrointestinal), fragmentos de 2cm de comprimento foram obtidos através de secções transversais com bisturi, em seguida lavados em solução salina e imersas em solução de etanol a 70%, permanecendo até o início do experimento. O processamento histológico para inclusão em parafina foi realizado de acordo com os métodos convencionais (PROPHET *et al.,* 1992). Foram obtidas através da microtomia cortes de 5,0 μm de espessura os quais foram posteriormente corados empregando-se as técnicas: Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gomori de acordo com BUCHERL (1962) e pela técnica histoquímica: Ácido Periódico-reativo de Schiff (PAS) de acordo com McManus (1948) método clássico para detecção geral de glicoconjugados. Os dados foram incorporados em um quadro que relaciona a intensidade da coloração (qualitativamente/escore) comparando-se os grupos.

HISTOMORFOMETRIA

Foram analisadas em cortes transversais de intestino médio de tilápia, seis preparações histológicas (lâminas), cada uma com seis cortes de 5 µm de espessura. Foram mensuradas seis (6) pregas da mucosa (por corte) em quatro (4) áreas distintas, perfazendo um total de 24 leituras por lâmina de cada grupo. A altura das projeções foi aferida a partir de sua base até o ápice, utilizando-se objetiva de 20X. A espessura do epitélio foi medida nas regiões: basal, média e apical das pregas da mucosa, com objetiva de 40X. Desta maneira um total de 36 amostras por espécimen foram analisadas. Em resumo, os seguintes parâmetros foram mensurados: altura da prega, espessura do epitélio e também a espessura total das 2 camadas musculares: longitudinal externa e circular interna. A análise histomorfométrica do intestino médio foi realizada utilizando-se um Microscópio Óptico (Axio Imager- M2m, ZEISS) com uma câmera acoplada da marca AxioCam HRc (LIKA/UFPE). Para calibração de cada objetiva empregou-se uma ocular micrométrica (Zeiss). As mensurações foram realizadas com auxílio de software de análise de imagem ***IMAGE J*** (Version 4.5, Media Cybernetics, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

HISTOLOGIA

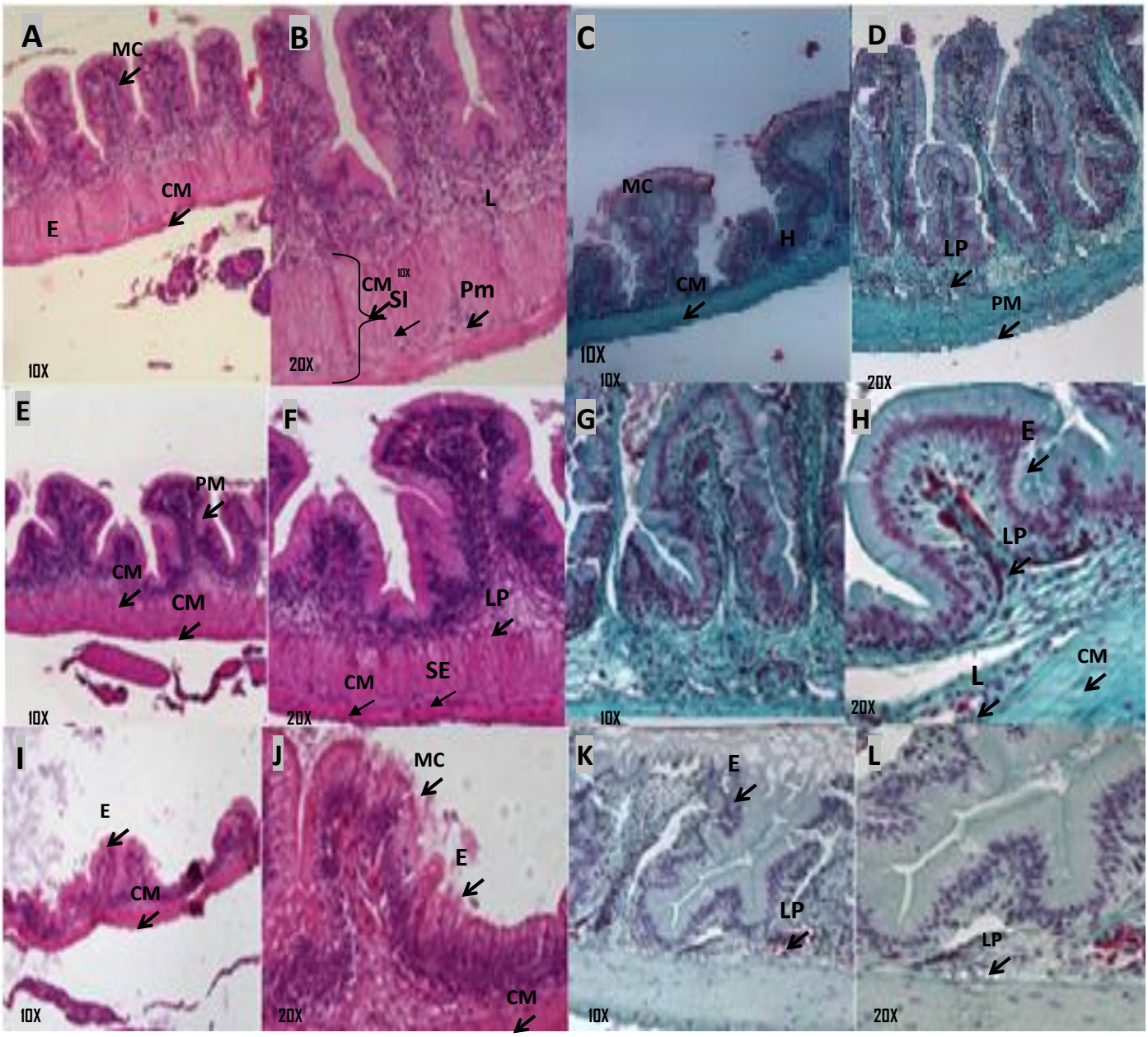
A análise ao microscópio óptico do intestino médio de tilápia do Nilo mostrou que ele é constituído de 3 camadas concêntricas dispostas na seguinte ordem (de dentro para fora): a- mucosa, b- muscular, c-serosa. A camada mucosa é composta por tecido epitelial (epitélio simples prismático) localizado na superfície e por tecido conjuntivo frouxo situado imediatamente abaixo, sendo denominado nesta situação de lâmina própria (fig. 1D)

O epitélio do intestino médio da tilápia do Nilo é composto por uma única camada de células absortivas ou enterócitos, que são predominantes (figs. 1 F e H). São células que quando seccionadas longitudinalmente, caracterizam-se por serem altas, além de apresentarem núcleo elíptico alongado, eucromático, situado geralmente mais próximo da região basal. A superfície apical destas células exibe uma estrutura chamada de borda em escova ou borda estriada. (fig. 1 C), que apresenta - se intensamente corada.

Além dos enterócitos e das células caliciformes foram observados entre estes linfócitos que se apresentam como pequenas células arredondadas, intensamente coradas e localizadas em níveis variáveis da camada epitelial.

A camada muscular por sua vez é constituída por duas subcamadas: uma interna, mais espessa, com células musculares lisas orientadas circularmente e outra externa, mais delgada, cujas células se dispõem longitudinalmente (fig. 1 B). Entre essas camadas estão presentes pequenos grupos de neurônios (gânglios) que compõe o plexo mioentérico (fig. 3 B) A serosa é uma membrana constituída por epitélio pavimentoso, denominado mesotélio, e por uma pequena quantidade de tecido conjuntivo que se liga à camada muscular**.** Observe uma descaracterização das células epiteliais da mucosa, com intensa erosão destas células na porção apical do epitélio, com ligeira redução na espessura das camadas musculares. (figs. 1 I, J,)

Figura. 1 - Intestino médio de tilápia do Nilo tratada apenas com ração. É possível observar as principais camadas de tecido que constituem esse órgão: A Mucosa **(MC)** constituída pelo epitélio **(E)** e pela lâmina própria **(LP)** se apresenta sob a forma de projeções denominadas pregas da mucosa **(PM**); camada muscular **(CM)** constituída de duas subcamadas: interna **(SI)** e externa **(SE),** entre essas duas se observa um pequeno grupo de neurônios componente do plexo mioentérico **(Pm)** e a serosa **(S)**. Observam-se as pregas da mucosa **(PM**); Epitélio **(E**); Lâmina Própria **(LP**) com grupos de linfócitos **(L)**. Nas **figs. I, J, K, L.** Mucosa **(MC)** apresentando um epitélio com intensa erosão (**E**), redução na camada muscular **(CM).** H.E **e TG**. OBJ. 10X e 20X.



MORFOMETRIA DO INTESTINO MÉDIO DE TILÁPIA DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

A análise histomorfométrica foi realizada em estruturas da mucosa intestinal e na túnica muscular. Foram aferidos os seguintes parâmetros: altura das pregas, espessura do epitélio e espessura da túnica muscular dos animais pertencentes aos grupos alimentados com ração probiótico e antibiótico (RPA), alimentado com ração (R) e com ração e probiótico RP. Os referidos parâmetros se apresentaram reduzidos no grupo RPA quando comparados aos dos animais do grupo R e os do grupo RP, sendo que as diferenças foram ligeiramente significativas após a análises com um Microscópio Óptico (Axio Imager- M2m, ZEISS) com uma câmera acoplada da marca AxioCam HRc (LIKA/UFPE). Para calibração de cada objetiva empregou-se uma ocular micrométrica (Zeiss). As mensurações foram realizadas com auxílio de software de análise de imagem - IMAGE J (Version 4.5, Media Cybernetics, USA).

Figura 2- Pregas da mucosa do intestino de tilápia do Nilo. Coloração: Tricrômico de Gomori. Parâmetros aferidos: Altura (h); Espessura do epitélio (e) e da camada muscular (m). Objetivas. 40 e 20x.

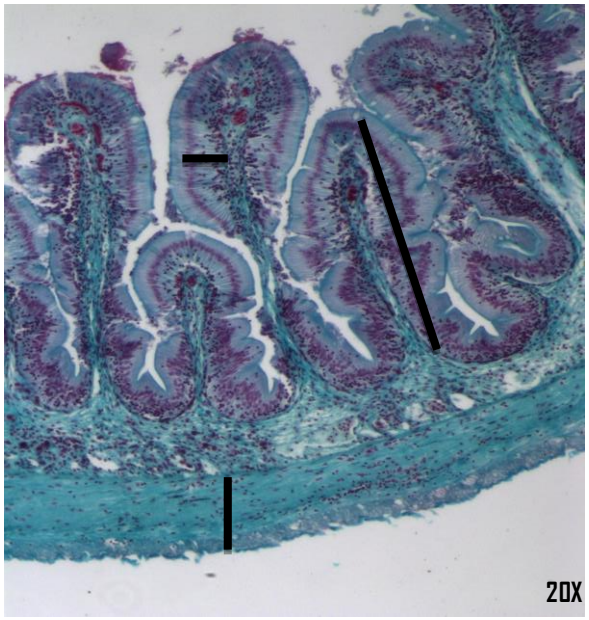


Tabela 1- Valores médios (VM) e desvio padrão (DP): altura das pregas, espessura do epitélio e espessura da camada muscular.

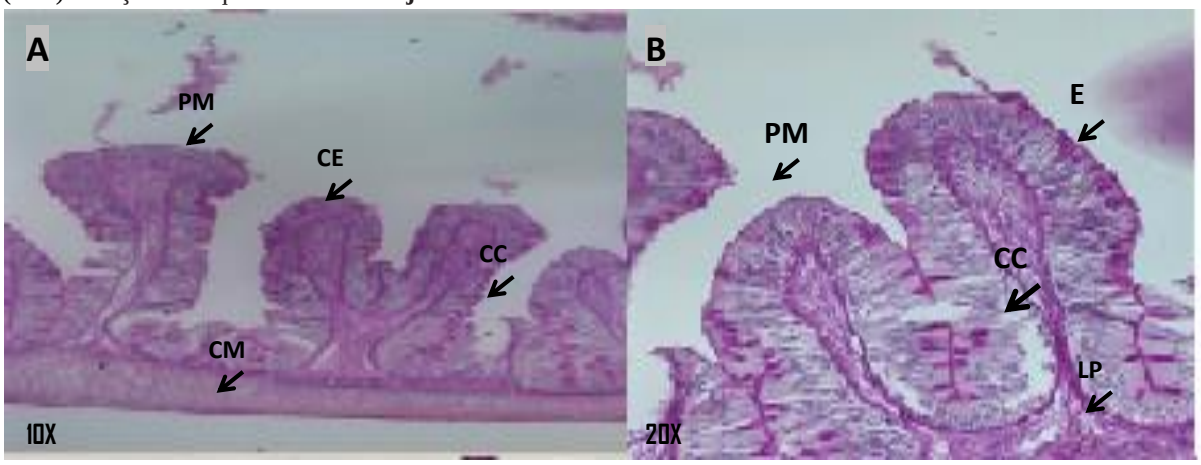
	PARÂMETROS		
TRATAMENTO	**ALTURA (COMPRIMENTO) DAS PROJEÇÕES DA MUCOSA**	**ESPESSURA DAS CAMADAS MUSCULARES**	**ESPESSURA DO EPITÉLIO**
C	451,73 ± 81,45	121,47 ± 33,25	41,58 ± 1,151
RP	450,73 ± 104,03	92,26 ± 25,54	41,85 ± 5,103
RPA	244,23 ± 61,57	69,44 ± 38,86	31,26 ± 6,416

Controle- C, Ração/Probiótico- RP, Ração/Probiótico/Antibiótico- RPA

HISTOQUÍMICA

Empregando-se a técnica de MacManus observaram-se três estruturas que apresentaram reação positiva ao PAS. A primeira encontra-se ao nível da borda estriada (formada pelo conjunto de especializações da membrana celular denominada microvilosidades); a reação positiva neste local evidencia o glicocálice (carboidratos que fazem parte de proteínas e lipídeos da membrana plasmática). A seguir observa-se a reação positiva no citoplasma das células caliciformes, as quais são secretoras de mucinas (figs. 3 A e B). Finalmente temos ração positiva na membrana basal apresentou-se fracamente detectada pela reação, a especialização de membrana apical evidenciada pelo *limbus striatu* (borda estriada), positivamente marcado pela reação ao PAS (figs. 3 e 4). Já os peixes alimentados com a dieta contendo florfenicol, a mucosa exibiu um epitélio prismático simples composto por enterócitos entremeados por células caliciformes PAS (positivo), exibindo uma discreta tonalidade das glicoproteínas e a camada muscular bem mais delgada em relação aos dos grupos tratados apenas com ração e ração/probiótico (figs. 5 E e F).

Figura 3- A e B. Corte transversal do Intestino médio de tilápia do Nilo alimentada apenas com ração. Prega da mucosa (P**M**), Lâmina própria (LP), Epitélio (**E)** e numerosas células caliciformes (**CC**) Camada muscular (**CM**). Reação histoquímica **PAS. Objs. 10X e 20X.**



F**igura 4-** observa-se em **C e D** Tilápia do Nilo alimentada com ração/probiótico. Pregas da mucosa (PM) intestinal. Epitélio (**E**), lâmina própria (**LP**), células caliciformes (CC) intensamente coradas apresentando o citoplasma com reação positiva em cor magenta. Borda estriada (BE) - PAS. Camada muscular (CM). Reação histoquímica PAS. Objs. 10X e 20X.

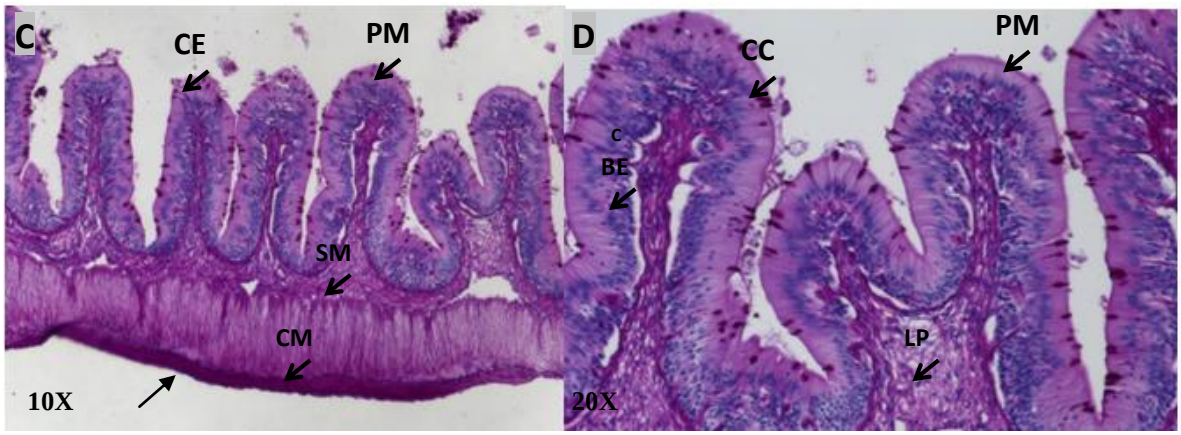


Figura 5- Em **E e F** Tilápia do Nilo alimentada com ração/ probiótico acrescida de antibiótico. Pregas da mucosa **(PM),** epitélio **(E)**, células caliciformes (CC), lâmina própria (LP) e camada muscular mais delgada (CM). Reação histoquímica PAS. Objs. 10X e 20X.

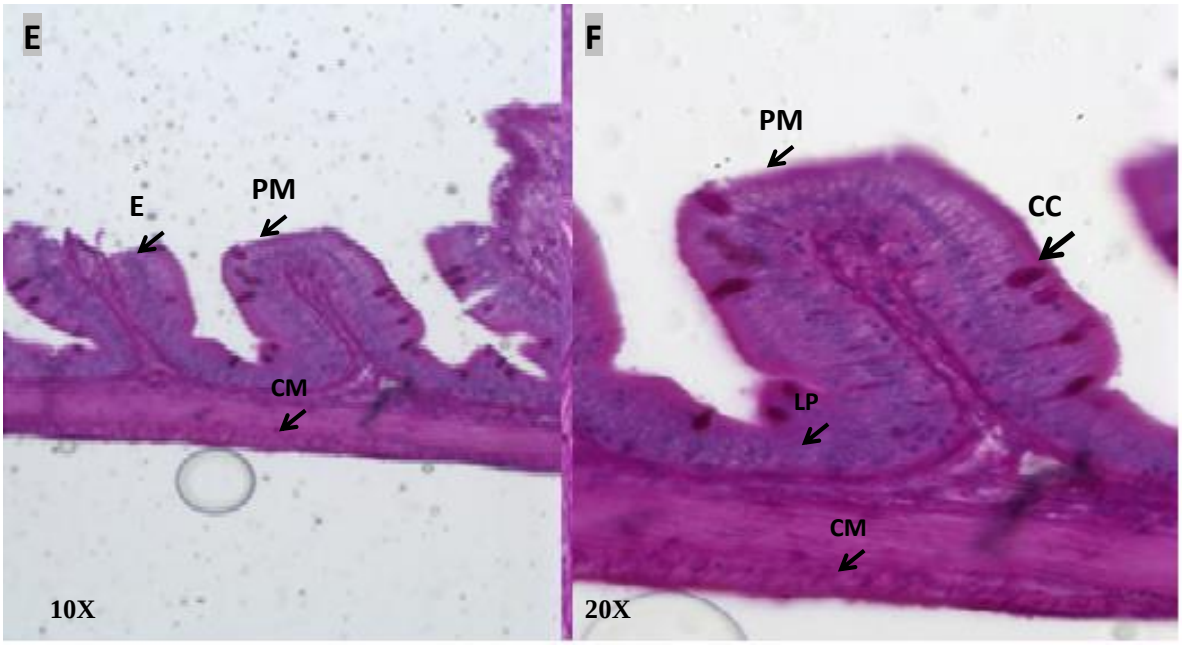


Tabela apresentando a intensidade da reação nas principais estruturas presente na região da mucosa da tilápia do Nilo (avaliação qualitativa) *****após o emprego da técnica de MacManus (PAS) de mucossubstância sintetizada pelas células caliciformes ao longo do intestino médio. Para coloração histoquímica utilizada. Grau de Intensidade: reação fraca (+) reação intermediária (++) e reação forte (+++).

Tabela 2- Peixe: Controle (C); Ração e probiótico (RP); Ração/probiótico/antibiótico (RPA), Borda estriada (BE) Células caliciforme (CC) Membrana Basal (MB) * Avaliação quantitativa da intensidade de reação nas estruturas da prega intestinal após o emprego da técnica de Periodi Acid Schiff. (PAS) para mucossubstância.

HISTOQUÍMICA PARA DETECÇÃO DE GLICOCONJUGADOS (PAS)									
GRUPOS	**C**			**RP**			**RPA**		
	BE	**CC**	**MB**	**BE**	**CC**	**MB**	**BE**	**CC**	**MB**
GRAU DE INTENSIDADE DA REAÇÃO	++	+	+	++	++	+++	+	++	++

DISCUSSÃO

Intestino de tilápia tratada com antibioticoterapia constatou-se que o mais importante morfologicamente foi à presença de uma mucosa descaracterizada, desorganização do tecido conjuntivo, uma discreta atrofia nas camadas musculares, uma camada serosa sem alterações significativas. A tilápia do Nilo alimentada com ração contendo probiótico/antibiótico demonstram alterações nas estruturas morfológicas e na síntese de secreção.

O equilíbrio entre a renovação e perda de células que ocorre normalmente no intestino implica numa constante renovação epitelial, conservando a altura das projeções da mucosa e por consequência mantendo uma boa capacidade de digestão e absorção. Contudo, quando alguns fármacos ou mesmo microrganismos ao entrarem em contato com a mucosa intestinal podem desencadear um desequilíbrio na microbiota e interferir nesta renovação celular, modificando a altura das pregas da mucosa com a redução da espessura do epitélio. Estas alterações morfológicas provocam consequentemente uma modificação na função. Neste estudo observou-se após a análise morfométrica do intestino que a altura e espessura da mucosa intestinal não diferiram significativamente.

A integridade da mucosa intestinal pode ser avaliada por histomorfometria dos componentes da mucosa em peixes (NUNES, 2013). A análise histomorfométrica da camada muscular deve ser considerada neste tipo de estudo, pois também contribui para uma melhor compreensão da sua capacidade contrátil.

A digestão promovida pelo intestino depende da secreção de substâncias glicoproteicas das células caliciformes, protegendo da ação proteolítica do suco pancreático e também da digestão intracelular associada à presença de glândulas gástricas. As células caliciformes encontradas no intestino de peixes estão relacionadas a diferentes condições de alimentação e à proteção contra a atividade bacteriana, principalmente as patógenas, protegendo o epitélio (fluxo laminar) contra alimentos rico em enzimas digestivas e com pH acentuadamente ácido (KOPOOR, B. G *et al*. 1975).

Essas células são facilmente reconhecidas ao microscópio óptico por apresentarem na superfície apical a forma de um cálice voltado para o lúmen intestinal e possui uma quantidade considerável de muco, seu núcleo localiza-se na região basal. No presente estudo é possível observar as diferenças morfológicas determinadas pela intensidade da secreção, em cada um dos tratamentos presentes nessas células. Ao longo do intestino médio as células caliciformes tiveram reações de média a forte, frente à coloração histoquímica “Reativo de Schiff” (PAS), evidenciando a secreção regular de mucossubstância neutra. A camada mucosa onde se localiza a borda em escova presente no ápice dos enterócitos, a lâmina própria, a submucosa e a serosa, todas essas estruturas apresentaram afinidade ao Periodic acid Schiff (PAS), adquirindo uma cor magenta.

Pesquisa com probióticos em animais aquáticos vem resultando em efeitos positivos sobre a morfologia intestinal dos peixes, trazendo benefícios na estrutura das pregas intestinais e superfície absortiva (CARVALHO et al. 2011, MELLO *et al*. 2013) É de conhecimento científico que os probióticos interferem nas características anatômicas do trato gastrointestinal, pois promovem uma elevação na área de absorção da mucosa, proporcionando um aumento no comprimento das pregas intestinais e melhorando o desempenho (SILVA e NÖRNBERG 2003). Segundo Bujard (1908, 1909) a forma das vilosidades sofre influência da dieta e depende da digestibilidade dos alimentos. Nos carnívoros elas são altas e estreitas, contudo nos herbívoros são curtas e foliáceas, o número e as dimensões dos vilos variam de acordo com a espécie animal, do hábito alimentar e da posição do intestino. As vilosidades são estruturas características do intestino delgado dos mamíferos.

Monteiro *et. al*. 2004, analisou a ocorrência de 12 diferentes antibióticos na água, sedimentos e peixes, além da resistência bacteriana nos peixes de um determinado ambiente aquático. Os antimicrobianos (antibióticos) estudados foram oxitetraciclina, tetraciclina, clortetraciclina, ciprofloxacina, enrofloxacina, sarafloxacina, norfloxacina, florfenicol, cloranfenicol, sulfatizol, sulfadimetoxina e sulfametazina. Chegou à seguinte conclusão, que apesar da utilização do antibiótico ser algo necessário para a produção de pescado, é possível utilizá-lo de maneira sustentável, seguindo boas práticas de manejo e de produção, minimizando os impactos que estes antibióticos podem causar na natureza.

CONCLUSÃO

O resultado obtido neste estudo permite concluir que o tratamento com o antibiótico Florfenicol adicionado a ração utilizada causou alterações histológicas, histomorfométricas e histoquímicas importantes e evidentes no intestino médio. Tais alterações provocaram mudanças na morfologia, as quais têm consequências sobre a morfofisiologia do processo digestivo-absortivo. Embora o uso de antibióticos seja eficiente no tratamento das infecções por *Streptococcus sp*, como já se encontra bem estabelecido, é lícito sugerir, considerando os resultados apresentados neste estudo, uma reavaliação quanto ao uso de antibióticos e a sua via de administração em peixes criados em viveiros escavados. Os dados aqui apresentados poderão contribuir com os já existentes para um melhor entendimento sobre o uso adequado e seguro de antibióticos na cultura da tilápia e ao mesmo tempo mostra a necessidade de novas pesquisas que aprofundem o conhecimento das inter-relações morfofuncionais que ocorrem no sistema digestório desta espécie.

REFERÊNCIAS

AL-HARBI, A.H. 2011. **Molecular characterization of Streptococcus iniae isolated from hybrid tilapia (Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus)**. Aquaculture, v.312, p.15-18.

ALY, S., ABD-EL-RAHMAN, A., JOHN, G., MOHAMED, M., 2008a. **Characterization of some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotic**. aquaculture 277, 1–6.

ARIAS, I.M.; JAKOBY, W.B.; POPPER, H.; SCHACHTER. D.; SCHAFRITZ, D.A. 1998 **the liver: biology and pathobiology**. New York: Raven Press.

BALCÁZAR, J., BLAS, I., RUIZ-ZARZUELA, I., CUNNIGHAM, D., VENDRELL, D., MÚZQUIZ, J., 2006. **The role of probiotic in aquaculture**. Veterinary Microbiology 114, 173–186.

BOLIVAR, R.B.; JIMENEZ, E.T.; BROWN, C.L. (2003). **Tilapia feeding strategies in semiintensivepond culture: the PD/A CRSP on-farm trials**. Paper presented at the 2nd Tilapia Congress. Bulwagan Arayat, Wow Philippines Hilaga, City of San Fernando, Pampanga. 13-14 November, 2003, 13 pp.

BUCHANAN, J.T.; SIMPSON, A.J.; AZIZ, R.K.; LIU, G.Y.; KRISTINA, M.K.; FERAMISCO, J.; NIZET, V. 2005. **DNase expression allows the pathogen group A Streptococcus to escape killing in neutrophil extracellular traps.** Current Biology, v.16, p.396-400. Chemosphere, Oxford, v. 75, n. 4, p. 417-434, 2009a. **Contamination and Toxicology**, New York, v. 36, n. 1, p. 1-6, 1999. Departamento de Química, Faculdade de Ciências, Universidade Estadual Paulista, CP 473, 17033-360 Bauru-SP.

BUCHERL, W. **Técnica Microscópica**. São Paulo: Polígono, 1962. 164 p

BUJARD, E. **Vilosités intestinales, Tipes anatomiques. Variations experimentales**. Anat. Ans., **32** : 212 – 22, 1908.

CABALLERO M.J., IZQUIERDO M.S., KJØRSVIK E., SOCORRO D.J.M., FERNANDEZ A.J. & ROSENLUNDG. 2003. **Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources.** Aquaculture 225:325-340.

CASPARY W.F. 1992. **Physiology and pathophysiology of intestinal absorption**. Am. J. Clin. Nutr. 55:299-308.

CEREZUELA R., GUARDIOLA F.A., GONZÁLEZ P., MESEGUER J. & ESTEBAN M.A. 2012. **Effects of dietary Bacillus subtilis, Tetraselmischuii, and Phaeodactylum tricornutum, singularly or in combination, on the immune response and disease resistance of sea bream (Sparus aurata L.). Fish and Shellfish Immun**. 33:342-349.

DORST, J. **Apparels digest et annexes**. In: Traité de zoologie. Direction Pierre-P. Grassé. Paris, Masson, 1973. v. 16. t 5. Pt 1. P. 250.

EL-RHMAN, A., KHATTAB, Y., SHALABY, A., 2009. **Micrococcus luteus and Pseudomonas species as probiotic for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, Oreochromis niloticus**. Fish & Shellfish Immunology 27, 175–180. Epstein, S., Rossel, J., 1995. **Enumeration of sandy sediment bacteria: search for optimal protocol**. Marine Ecology Progress Series 117, 289–298.

FANTA, E. **Laboratory tests on feeding interactions of some Antarctic fish from Admiralty Bay** (King George Island, South Shetlands). Polish Polar Res., 1998.

FANTA, E.; MEYER, A. A. **Behavioural strategies for feeding of the Antarctic fishes Notothenia neglecta, Notothenia coriiceps, Trematomus bernachii, Pagothenia borchgrewinki, Lepidonotothen nudifrons and Pleuragrama antarctica (Pisces, Nototheniidae).** Nankioku Shiriô (Antarctic Record), Tokio, 1998.

FANTA, E.; MEYER, A. A.; GROTZNER, S. R.; LUVIZOTTO, M. F. **Comparative study on feeding strategy and activity patterns of two Antarctic fish:** Trematomus newnesi Boulenger, 1902 and Gobionotothen gibberifrons Lonnberg, 1905 (Pisces, Nototheniidae) under diferent light conditions. Tokyo: Antarct. Rec., Tokio, v. 38, n. 1, p. 13-29, 1994.

FARZANFAR, A., 2006. **The use of probiotics in shrimp aquaculture**. FEMS Immunology and Medical Microbiology 48, 149–158.

FULLER, R., 1989. **Probiotics in man and animals**. Journal of Applied Bacteriology 66, 365–378.

FURUYA, W.M. 2010. **Performance and hepatic morphology of Nile tilapia juveniles fed methionine and choline supplemented diets**. Pesquisa Agropecuária Brasileira 45: 376-381 (in Portuguese, with abstract in English).

GARCIA, F. **Suplementação alimentar com β-glucano e mananoligossacarídeo para tilápias do Nilo em tanques-rede.** 2008. 100 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2008.

GATESOUPE, F. J. **Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: Natural occurrence and probiotic treatments**. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, v. 14, n. 1-3, p. 107-114, 2008.

GATESOUPE, F.J., 1999. **The use of probiotics in aquaculture**. Aquaculture 180, 147–166

GATLIN III, D.M.; LI, P.; WANG, X.; BURR, G.S.; CASTILLE, F.; LAWRENCE, A.L. **Potencial application of prebiotics in aquaculture**. In: Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 8., 2006, Monterrey. Avances em nutrición acuícola: memórias. Monterrey, p. 371-376, nov. 2006.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M.S. **Effect of chemotherapy, vaccines and immunostimulants on innate immunity of goldfish infected with Aeromonas hydrophila.** Diseases of Aquatic Organisms**.** v.46, p.47-55. 73, 1993.

HE, S., ZHOU, Z., LIU, Y., CAO, Y., MENG, K., SHI, P., YAO, B., RINGØ, E., 2012. **Do dietary betaine and the antibiotic florfenicol influence the intestinal autochthonous bacterial community in hybrid tilapia (Oreochromis niloticus ♀ × O. aureus ♂)?.** World Journal of Microbiology and Biotechnology 28, 785–791.

JATOBÁ, A., VIEIRA, F., BUGLIONE-NETO, C., SILVA, B., MOURIÑO, J., JERÔNIMO, G., DOTTA, G., MARTINS, M., 2008. **Lactic-acid bacteria isolated from the intestinal tract of Nile tilapia utilized as probiotic.** Pesquisa Agropecuária Brasileira 43, 1201–1207

KESARCODI-WATSON, A., KASPAR, H., LATEGAN, M.J., GIBSON, L., 2008. **Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes.** Aquaculture 274, 1–14.

KOPOOR, B. G.; SMITH, H.; VERIGHINA, I. A. **The alimentary canal and digestion in teleostets.** Advanced Marine Biology , v. 13, p. 109-139, 1975.

MCMANUS, J. F. A. **Histological and histochemical uses of periodic acid**. Stain Tech., 23, 99-108, 1948.

MELLO H., MORAES J.R.E., NIZA I.G., MORAES F.R., OZÓRIO R.O.A., SHIMADA M.T., ENGRACIA FILHO J.R. & CLAUDIANO G.S. 2013. **Efeitos benéficos de probióti-cos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo.** Pesq. Vet. Bras. 33:724- 730.

MONTEIRO, S.M.; FONTAINHAS FERNANDES, A.; SOUSA, M. **Caracterização morfológica e ultraestrutural do epitélio branquial de peixes teleósteos**. Rev. Port. Zootec. V.XI, p.13-36, 2004.

NAYAK, S. 2010. **Probiotics and immunity: a fish perspective**. Fish Shellfish Immunol, 29: 2-14.

NUNES A.L. **Probiótico na dieta de surubins *Pseudoplatystoma spp***. Dissertação de Mestrado em Zootecnia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, MS. 99p 2013

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B; SOBIN, L.H. Laboratory Methods in Histotechnology. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1992. 279p

RESENDE, J., SILVA, V., FONTES, C., SOUZA-FILHO, J., OLIVEIRA, T., COELHO, C., CESAR, D., DINIZ, C., 2012. **Multidrug-resistance and toxic metals tolerance of medically important bacteria isolated from an aquaculture system.** Environmental Microbiology. http:// dx.doi.org/ 10.1264/jsme 2.ME12049.

ROTTA, M.A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura.** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 49 p.il. Embrapa Pantanal. Boletim de Pesquisa, 53.

RUNGRUANGASK, K.; UTNE, F. **Effect of different acidified wet feeds on protease activities in the digestive tract and on the growth rate of rainbow trout** (Salmo gairdneri Richarson). Aquaculture, v. 22, p. 67-79, 1981.

SAKAI M. **Current research status of fish immunostimulants**. Aquaculture 1999; 172:63–92.

SILVA L.P. & NÖRNBERG J.L. 2003. **Prebióticos na nutrição de não ruminantes**. Ciência Rural 33:983- 990.

SIPAUBA-TAVARES, L.H. 1995. **Imunologia aplicada à aquicultura**. Boletim Técnico FUNEP, São Paulo, 1: 1-72.

TIBBETTS, I. R. **The distribution and function of mucous cells and their secretions in the alimentary tract of Arrhamphus sclerolepis krefftii**. Journal of Fish Biology, v. 50, n. 4, p. 809-820, 1997.

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W 2000. **Probiotic bacteria as biological control agents in aquiculture. Microbiology and Molecular.** Biology Review, v.64, n.4, p. 655-671.

WANG, Y.-B., LI, J.-R., LIN, J., 2008. **Probiotics in aquaculture**: **challenges and outlook**. Aquaculture 281, 1–4.

WU, C.C.; LIU, C.H.; CHANG, Y.P; HSIEH, S.L. 2010. **Effects of hot-water extract of Toona sinensis on immune response and resistance to Aeromonas hydrophila in Oreochromis mossambicus.** Fish and Shellfish Immunology, v.29, p.258-26.

YOUSEFIAN, M.; & AMIRI, M. S. **The review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp Mehdi**. Kouzestan, I.R. Iran. African Journal of Biotechnology v.8 (25), p.7313-7318, 29 ISSN 1684–5315 © 2009 Academic Journals

4 ANÁLISE MORFOLÓGICA DO EFEITO DA ADIÇÃO DO ANTIBIÓTICO NA ALIMENTAÇÃO SOBRE O FÍGADO DA TILÁPIA DO NILO (Oreochromis niloticus) EM CULTIVO COMERCIAL.

ANÁLISES MORFOLÓGICAS DO EFEITO DA ADIÇÃO DO ANTIBIÓTICO NA DIETA SOBRE O FÍGADO DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) EM CULTIVO COMERCIAL.

Alex B, da Silveira[1]; Diógenes L. da Mota[3]; Janilson Felix da Silva2, Alex B. da Silveira Junior[2]; Roldan Fernandes B. Santos[2]; Carlos Eduardo de L. Queiro[1]; Ranilson de Souza Bezerra[2.]
1 -Departamento de Farmácia – CCS - Universidade Federal de Pernambuco;
2 -Departamento de Farmácia – CCS - Universidade Federal de Pernambuco;
2- Departamento de Bioquímica – CCB - (Universidade Federal de Pernambuco)
2 - Departamento de Bioquímica – CCB - (Universidade Federal de Pernambuco)
3- Departamentos de Histologia e Embriologia - CCB - (Universidade Federal de Pernambuco)

Endereço: Laboratório De Enzimologia, Departamento De Bioquímica, Universidade Federal De Pernambuco – UFPE, 50670-901, Av. Prof. Moraes Rego.

RESUMO

A aquicultura teve um impulso bastante significativo em várias partes do planeta nos últimos anos. No entanto, a contaminação do meio ambiente, a alimentação inadequada e a ocorrência de bactérias resistentes devido ao uso intensivo de antimicrobianos são motivo de preocupação crescente para quem avalia os riscos relacionados com a questão da sanidade animal e humana. Muitas classes de antibióticos estão sendo usadas para tratar infecções causadas por *Streptococcus* sp. Com o objetivo de medir o impacto destas práticas, desenvolveu-se o presente estudo o qual foram analisados três grupos de tilápias do Nilo: um grupo alimentado apenas com ração; um segundo grupo com ração/ probiótico e um terceiro com ração/probiótico acrescida de antibiótico na proporção para cada tanque de um hectare: 1 litro de óleo, 50 gramas antibióticos e 50 quilos da ração, 2 ou 3 vezes ao dia durante 10 dias procurando identificar possíveis alterações no fígado sobre aspectos histológicos, histoquímicos e morfométricos. Foram utilizados peixes adultos provenientes de piscicultura comercial no Estado da Paraíba. Em alguns desses viveiros, foi detectado um surto de microrganismo (*Streptococcus* sp) que foi tratado com Florfenicol. Para estudar as estruturas teciduais hepáticas foram utilizadas as técnicas de coloração tricrômico de Gomori e Hematoxilina-Eosina para análises histológicas e a técnica histoquímica PAS (Periodic Acid-Schiff), utilizada para detectar o glicogênio. A análise do microscópio óptico revelou que no grupo tratado com antibiótico houve desorganização no arranjo dos hepatócitos, vacuolização citoplasmática, deslocamento do núcleo e depleção de glicogênio. Esses resultados demonstraram que o uso de antibioticoterapia causou alterações importantes na estrutura histológica do fígado de *Oreochromis niloticus* submetidas ao Florfenicol.

Palavras-chave: aquicultura, histologia, histoquímica, morfométrica, histoquímica, hepatócitos.

SUMMARY

Aquaculture has had a very significant boost in several parts of the planet in recent years. However, contamination of the environment, food and the occurrence of resistant bacteria due to the intensive use of antimicrobials are a reason for growing concern among fish farmers. Many classes of antibiotics are being used to treat infections caused by *Streptococcus* sp. The present study analyzed three groups of Nile tilapia: a group fed only with feed; one with ration / probiotic and one third with ration / probiotic / antibiotic. The objective of this study was to analyze the possible alterations in the liver on histological, histochemical and morphometric aspects. Adult fish obtained from commercial fish farming in the State of Paraiba were used. In some of these nurseries, an outbreak of the microorganism that was treated with Florfenicol was detected. Hematoxylin-Eosin and Gomori trichromic staining techniques were stained for hepatic tissue structures, and histochemical technique PAS (Periodic Acid-Schiff) was used to detect glycogen. Optical microscope analysis revealed that in the antibiotic treated group there was disorganization in the arrangement of hepatocytes, cytoplasmic vacuolization, nucleus displacement and glycogen depletion. These results demonstrated that the use of antibiotic therapy caused important alterations in the histological structure of the liver of Oreochromis niloticus submitted to Florfenicol.

Key words: aquaculture, histological, histochemical, morphometric, histochemistry, hepatocytes, vacuolization

INTRODUÇÃO

Dentre os países com maior potencial para a aquicultura, o Brasil tem papel de destaque, em especial por sua disponibilidade hídrica, clima favorável e ocorrência natural de espécies aquáticas que compatibilizam interesse zootécnico e mercadológico (BRASIL, 2013a). Contudo, a produção aquícola nacional ainda apresenta números incipientes se comparada à dos maiores produtores mundiais, como a China, a Índia, o Vietnã e a Indonésia (FAO, 2014).

A piscicultura brasileira mostra relevância especialmente pela criação da tilápia em tanques-rede em açudes do Ceará e nos reservatórios do rio São Francisco em áreas da Bahia, Pernambuco e Alagoas, bem como em viveiros escavados no Maranhão, Piauí, Sergipe e Bahia. Os principais polos da região foram o Lago de Itaparica nos estados da Bahia e de Pernambuco e os açudes do Castanhão, de Orós e de Sítios Novos no Ceará. Os canais de comercialização mais expressivos os atacadistas ou intermediários (KUBITZA, CAMPOS, ONO & ISTCHUK, 2012A; KUBITZA, CAMPOS, ONO & ISTCHUK, 2012b; BRASIL, 2013a; BRASIL, 2013b).

Dentre as espécies de peixes mais procuradas e cultivadas, a tilápia vem demostrando uma excelente alternativa por sua facilidade de adaptação em viveiros, tolerando os desafios que lhe são impostos decorrentes de manejos frequentes. Outra característica importante refere-se ao produto final, muito apreciado pela carne firme sem odores fortes ou presença de espinhos entre as fibras musculares, que por muito tempo foram motivos de rejeição à carne de peixe.

A intensificação dos sistemas de produção de peixes é acompanhada pelo elevado adensamento populacional, diminuição da qualidade da água que aliada a outros fatores, como o manejo zootécnico que não corresponde aos sistemas intensivos de produção, proporcionam estresse aos animais, tornando-os susceptíveis a infecções bacterianas, prejudicando o ganho de peso e o crescimento dos peixes (TORRECILAS *et al*., 2007). Como estratégias para minimizar as perdas por doenças bacterianas durante o ciclo de produção, recorre-se ao uso de drogas antimicrobianas como probióticos com o auxílio dos antibióticos, etc. tanto para combater esses agentes infecciosos como para promover o crescimento, sendo adicionada a ração ou diretamente na água. Entretanto esta prática pode atuar selecionando bactérias resistentes e provocar o desequilíbrio bacteriano no intestino do animal. (YOUSEFIAN & AMIRI, 2009; BELEM-COSTA; CYRINO, 2006). O uso sem controle rigoroso de antimicrobianos para o tratamento de infecções pode acarretar consequências graves para diversos órgãos, sendo o fígado um dos mais atingidos uma vez que é um órgão central para executar numerosas funções vitais relacionadas com o metabolismo básico dos vertebrados (ARIAS *et. al*., 1998; GINGERICH e DALICH, 1982). Suas células são consideradas as que primeiro sofrem

alterações fisiológicas com a toxicidade de uma substância, e tal fato o caracteriza como um órgão biomarcador da poluição ambiental (ZELIKOFF, 1998).

Alterações na morfologia dos hepatócitos tais como vacuolização, depleção de glicogênio, inflamação, alteração na morfologia dos vasos sinusóides e o desenvolvimento de neoplasias, podem ser interpretadas como respostas ao estresse ambiental, sendo, desta forma, considerados como indicadores histopatológicos (THOMAS e KÖHLER, *et. al.,* 1992; TEH *et. al*., 1997).

A presença de vacuolizações citoplasmáticas, que aumentam o volume dos hepatócitos, indica a existência de regiões com provável concentração de lipídeos e glicogênio, ou a combinação de agentes tóxicos com lipídeos intracitoplasmáticos (SANTOS *et al*., 2004). O acúmulo de lipídeos e a diminuição de glicogênio no citoplasma dos hepatócitos prejudicam as atividades metabólicas. As alterações dos hepatócitos encontradas são semelhantes às observadas por Santos *et al*., 2004

Alterações na estrutura histológica do fígado de peixes criados em sistemas de elevada densidade populacional semelhantes aos viveiros escavados e também alimentados com probiótico, têm sido relatadas por Pelicano *et al*. (2003).

O principal objetivo desse estudo foi avaliar no fígado, o efeito do antibiótico no tratamento de um surto de estreptococose ocorrido em uma tilapicultura utilizando ração com probióticos e antibióticos, cultivadas comercialmente em viveiros escavados. Para tal, foram utilizadas ferramentas na área de morfologia, histologia e histoquímica do tecido hepatopancreático.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

GRUPO AMOSTRAL

A coleta dos órgãos destinados aos estudos histológico, histoquímico e histomorfométrico ocorreu nas dependências de uma Piscicultura no Estado da Paraíba, nas quais os animais capturados com rede em viveiros escavados eram trazidos para o abate e procedimentos de comercialização e o fígado cedido para o experimento. Foi utilizado para observação um total de dezoito (18) tilápias (*Oreochromis niloticus*) adultas pesando em média 1.300kg e medindo cerca de 32 cm. de comprimento. Os viveiros escavados (1000 m^2) eram abastecidos continuamente com água proveniente do Rio Paraíba, com renovação de 20 vezes ao dia e aeração constante. A qualidade da água apresentou às médias de oxigênio dissolvido (OD) de 10 a 2 mg / L. mensurado com um oxímetro F-1050 YSI. A temperatura aferida periodicamente manteve-se em torno de 26 ºC, aferida com um termômetro da marca INCOTERM – 136127 sendo o pH de 6,5 obtido com um pHmetro portátil Master F-1002, salinidade de 1,7 g/kg (Akso). Estes parâmetros de qualidade da água encontravam-se dentro dos padrões para o cultivo de peixes neotropicais como preconizados por Sipauba-Tavares (1995).

COLETA DO MATERIAL PARA ESTUDO

Os peixes foram disponibilizados imediatamente após os procedimentos rotineiros para comercialização e as vísceras de cada um foram coletadas. Após a excisão do fígado, realizou-se um exame macroscópico, não sendo observadas quaisquer lesões aparentes neste órgão, contudo apresentou uma relativa hipertrofia hepática. O grupo I foi constituído por seis (6) espécimes que foram alimentadas apenas com ração, sendo este usado como grupo controle. O grupo II, também formado por seis (6) tilápias, as quais foram alimentadas com ração acrescida de probiótico e o grupo III com seis (6) tilápias tratadas com ração/probiótico adicionados com o antibiótico, para cada tanque de um hectare: 1 litro de óleo, 50 gramas antibióticos e 50 quilos da ração, 2 ou 3 vezes ao dia durante 10 dias. Todas foram submetidas aos mesmos procedimentos de captura e abate e cada grupo tratadas em dependência isolada. Os animais destes grupos pesavam em média 1,300 Kg e mediam 32 cm de comprimento.

HISTOLOGIA, HISTOQUÍMICA E MORFOMETRIA.

As análises histológicas, histoquímica e histomorfométrica do fígado foram realizadas nas dependências do Departamento de Ciências Farmacêuticas no Laboratório de Citologia Clínica e Histologia Quantitativa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

HISTOLOGIA E HISTOQUÍMICA

Logo após a remoção, o fígado (porção mediana do lobo direito) de cada um dos animais utilizados, foi seccionado com auxílio de bisturi, retirando-se amostras (fragmentos medindo 2cm X 2cm X 2cm aproximadamente) as quais foram imersos imediatamente em líquido de Bouin (BEHMER, 1976), sendo mantidos neste fixador por 24 horas. Após este período as peças foram desidratadas em uma série crescente de etanol (NEON, Ref. 03467 P.A.) e clarificadas em xilol (NEON, Ref. 02345 P.A.) para posterior inclusão em parafina histológica (Dinâmica, cod. 1025 - Químicas Contemporâneas Ltda.) de acordo com os métodos convencionais (PROPHET *et al*., 1992) e obtenção de blocos os quais foram submetidos à microtomia (Micrótomo rotativo Spencer - AO).

Os cortes resultantes com 5µm de espessura foram desparafinizados e hidratados para serem submetidos ao processo de coloração pelas técnicas histológicas: Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gomori de acordo com BUCHERL (1962), e histoquímica para identificação seletiva de carboidratos, fez-se uso da técnica histoquímica Ácido Periódico-reativo de Schiff (PAS) de acordo com McManus (1948).

HISTOMORFOMETRIA

A análise histomorfométrica dos hepatócitos foi realizada utilizando-se um Microscópio Óptico (Axio Imager- M2m, ZEISS) com uma câmera acoplada da marca AxioCam HRc (LIKA/UFPE). Para calibração de cada objetiva empregou-se uma ocular micrométrica (Zeiss). As mensurações foram realizadas com auxílio de software de análise de imagem *Image Pro Plus*® (version 4.5, Media Cybernetics, USA).

Os parâmetros aferidos foram: Área total do citoplasma do hepatócito; área do citoplasma ocupada por vacúolos (Vacuolização) e posição do núcleo no interior da célula. Foram utilizadas 2 lâminas por animal, cada uma dessas lâminas com 6 cortes das quais foram obtidas 12 imagens/ peixe perfazendo um total de 72 imagens por grupo, e assim considerando-se os 3 grupos atingiu-se o

número de 216 imagens. Cada uma dessas imagens foi obtida dentro de uma área previamente determinada e padronizada pelo aparelho microscópio, medindo 2.121.60mμ² do parênquima hepático.

RESULTADOS

ANALISE ANATÔMICA DO FÍGADO

O exame macroscópico do fígado dos espécimes utilizados mostrou que o mesmo é constituído por dois lobos, sendo o lobo esquerdo maior e ocupando grande parte da cavidade corporal e o lobo direito menor e alongado (Fig. 1). Nos animais dos Grupos 1 e 2 anatomicamente o órgão apresentava coloração vermelha brilhante, consistência firme e superfície lisa, contudo nos animais do grupo 3 (ração/probiótico/antibiótico) verificou-se uma coloração de tonalidade opaca além de uma acentuada hipertrofia e friabilidade ao tato **(Figura. 2**).

Figura. 1 - Fígado normal de tilápia do Nilo controle – Apenas com ração e ração com probiótico, mostrando 2 lobos: esquerdo (E) e direito (D) Fonte – autor

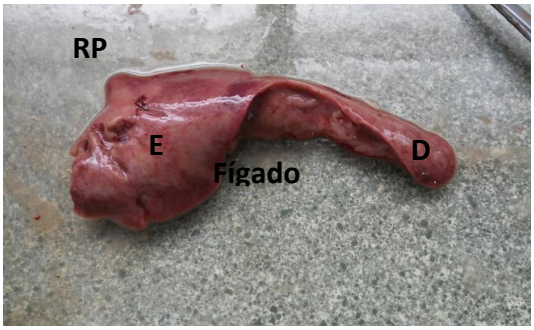
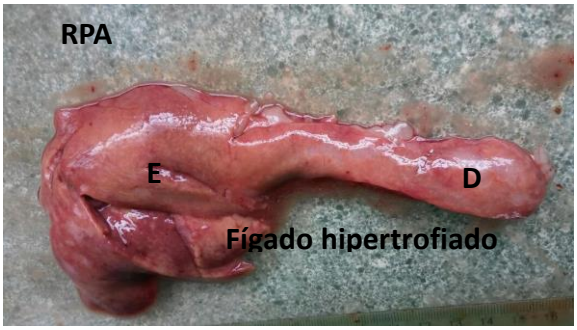


Figura. 2 - Fígados hipertrofiados de tilápia do Nilo – ração com probiótico e antibiótico, mostrando 2 lobos, esquerdo (E) e direito (D), com fragilidade tecidual, presença de gordura.



O ÍNDICE HEPATOSSOMÁTICO

O fígado é o principal sítio de armazenamento de glicogênio e de gordura que pode ser acumulada nesse órgão. Variações na quantidade de gordura e/ou glicogênio presente influencia significativamente no seu peso, alterando assim a relação hepatossomático (HEIDINGER & CRAWFORD 1977). A diminuição do peso do fígado pode estar relacionada com a mobilização das reservas energéticas para diversos processos fisiológicos. (QUEROL; QUEROL; GOMES, 2002).

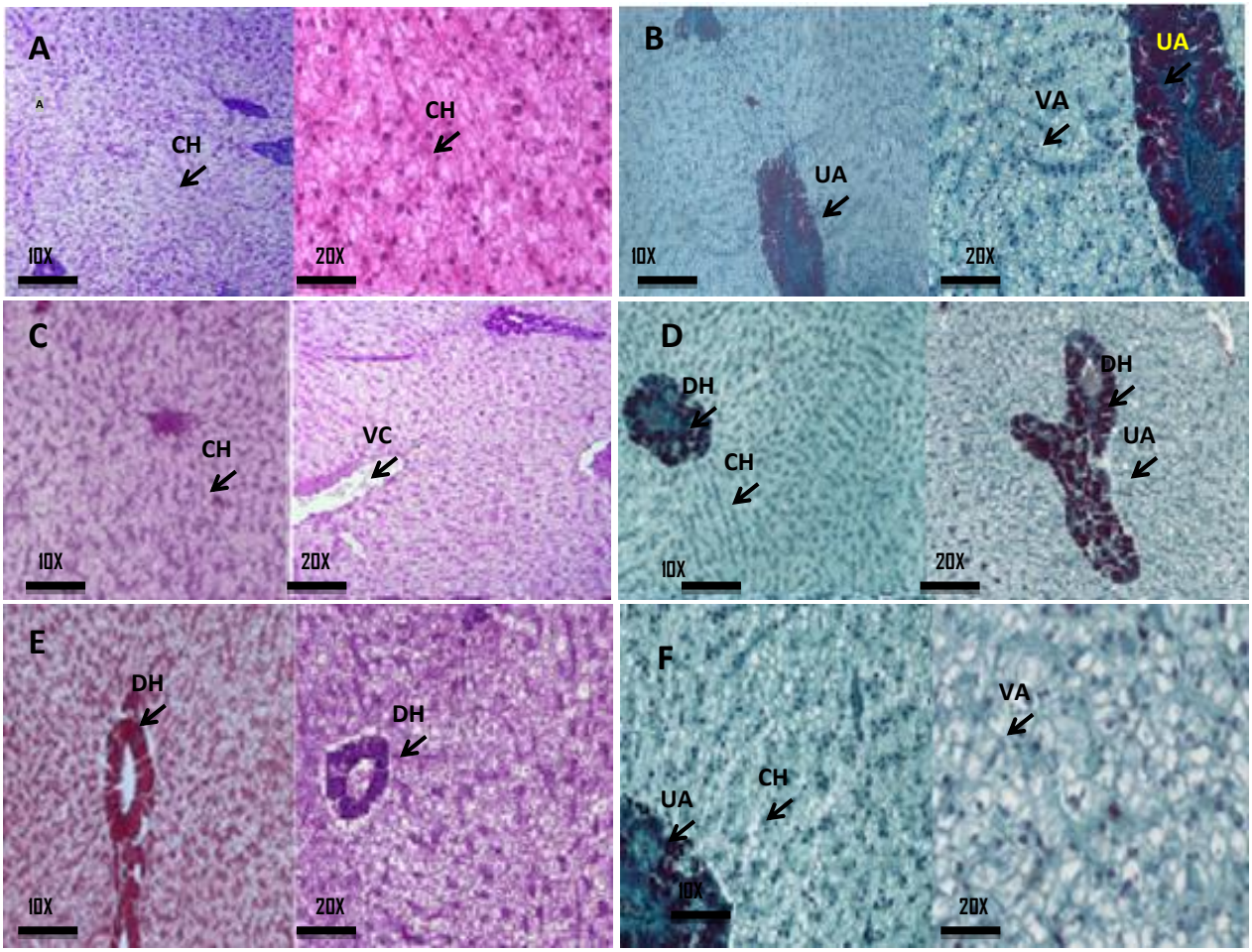
Tabela. 1 - Índice hepatossomático da tilápia do Nilo

FÍGADO IHS		
GRUPOS	**MÉDIA**	**(DESVIO PADRÃO)**
Controle (C)	**2,0**	**± O,1**
Probiótico (RP)	**2,6**	**± 0,6**
Antibiótico (RPA)	**2,4**	**± 0,6**

ANALISE HISTOLÓGICA:

As técnicas histológicas de coloração rotineiras hematoxilina/eosina (HE) e Tricrômico de Gomori (TG) ao corte histológico, o fígado se apresenta basicamente sem alterações nos grupos controle e ração /probiótico, sendo formado por hepatócitos dispostos como uma dupla camada celular ao redor de sinusóides (fig. 3 C). Os hepatócitos eram poliédricos, com bordos distintos, amplo citoplasma com diferentes graus de vacuolização. O núcleo dos hepatócitos é único, arredondado, basófilo e geralmente central ou levemente periférico. Nos casos em que a vacuolização era mais acentuada, o núcleo apresentava-se deslocado para a periferia da célula. O exame microscópico mostrou a presença de tecido pancreático exócrino intra-hepático, disposto difusamente e sob a forma de ácinos (figs. 3 B e D).

Figura 3- Fotomicrografias mostrando o parênquima hepático de *O. niloticus*, onde se observa: nas **Figs. A, B, C, D,** tilápias alimentadas apenas com ração e ração/probiótico praticamente sem alterações morfológicas. Hepatócitos dispostos em cordões **(CH),** veia central **(VC)** e unidade acinosa **(UA)** do pâncreas exócrino intra-hepático com vacuolização discreta, **(VA)** mais bem visível nos hepatócitos, presença dos ductos hepáticos **(DH)** alguns núcleos aparentemente normais**. Figs. E e F.** Tilápias tratadas com ração/probiótico/antibiótico**.** Observa-se severa desorganização dos cordões de hepatócitos **(CH),** uma acentuada vacuolização nos hepatócitos **(VA),** núcleos picnóticos e deslocado para a periferia da célula indicando possível presença de gordura **(NP).** Coloração: **HE e TG - Objs. 10X e 20X.**



O nível alto de vacuolização dos hepatócitos explica o deslocamento do núcleo para a periferia, próximo ao plasmalema (figs. 3 E e F), sugerindo a presença de gorduras no fígado dos peixes.

Foi avaliada a intensidade da vacuolização ao final dos tratamentos, sendo classificada por sistema de cruzes em uma escala de um (+) a três (+++), onde uma cruz (+) representa menor intensidade de vacuolização e três (+++) maior (LI et al. 2003).

Tabela. 2 - Variações da intensidade de vacuolização durante o cultivo e tratamento das tilápias.

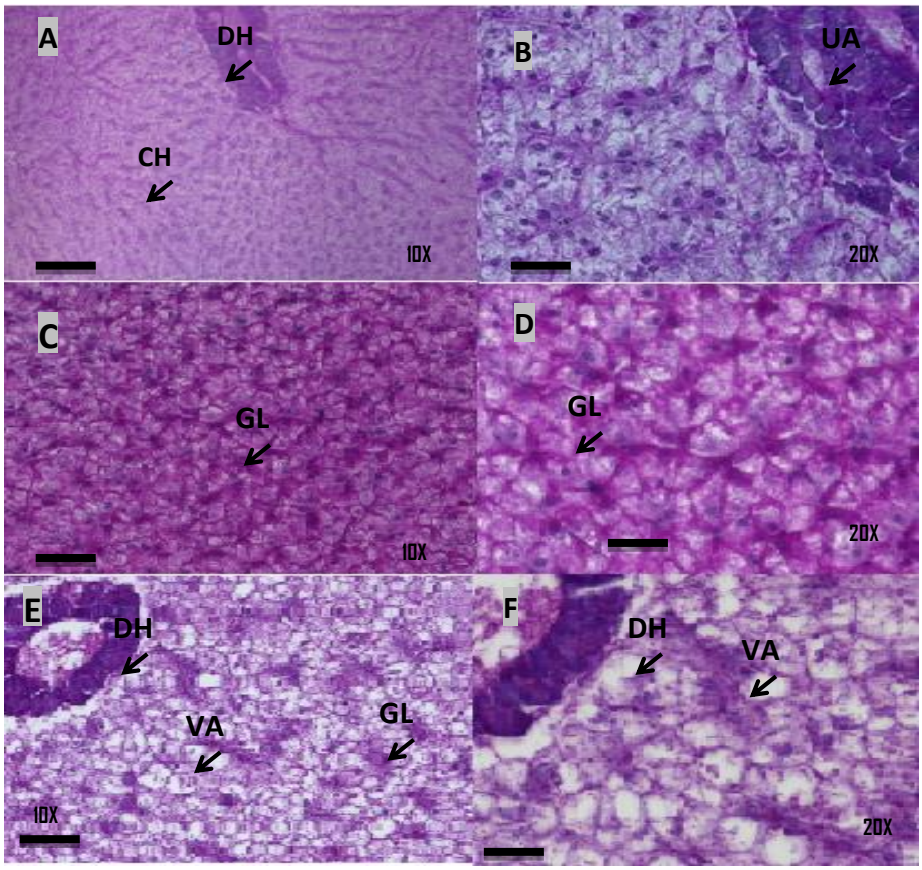
FÍGADO	**GRUPOS**		
Nível de vacuolização	**C**	**RP**	**RPA**
Valores (+)	++	+	+++
Média	**37,50**	**21,38**	**60,60**

Legenda: (+) discreto; (++) moderado; (+++) acentuada.

Os vacúolos encontrados no interior do citoplasma dos hepatócitos foi o mais presente no fígado dos peixes que receberam a ração, probiótico e o antibiótico florfenicol em comparação aos peixes tratados apenas com ração e ração/probiótico.

A reação do PAS no fígado das tilápias tratadas com antibioticoterapia do grupo III (RPA) apresentou- se negativa em quase toda extensão do parênquima hepático. Poucas e diminutas áreas positivas foram vistas, contrariamente aos achados do grupo controle I (C) e grupo com ração e probiótico II (RP) que não receberam antibiótico. A reação negativa ao PAS indica assim uma depleção quase total do glicogênio no tecido hepático dos animais. Nesse grupo III (RPA) ocorreu um percentual mais elevado de vacuolização nos hepatócitos, (figs. 3 E e F**).**

Figura 4- Fotomicrografias de fígado de tilápias do Nilo, Análise Histoquímica. Nas **figuras. A, B, C** e **D** tilápias alimentadas apenas com ração e ração/probiótico, apresentando áreas do citoplasma dos hepatócitos PAS positivas, evidenciando a presença de glicogênio **(GL).** Discretos vacúolos citoplasmáticos (**VA**) resultantes do processamento histotécnico. Nas **Figuras. 4 E e F -** Fígados de tilápia-do-Nilo alimentada com ração/probiótico, adicionada com antibióticos, ducto hepático **(DH)** difuso no parênquima observa-se severa desorganização dos cordões de hepatócitos **(CH).** Numerosos vacúolos no interior dos hepatócitos **(VA)** indicando possível presença de gordura, e comprometimento no teor de glicogênio, núcleo periférico, presença do ducto hepático **(DH).** Reação histoquímica - Periodic Acid Schiff **(PAS) Objs. 10X e 20X.**



Na implantação do experimento, utilizando o método semiquantitativo, observou-se que grande parte dos peixes tratados com antibióticos apresentava uma vacuolização extensa nos hepatócitos e os núcleos localizados mais perifericamente. Ao final do experimento, verificou-se que houve diferenças significativas entre os tratamentos nos níveis de vacuolização dos hepatócitos, fato esse sugere uma grande influência no metabolismo hepático.

Tabela 3 - Valores médios (VM) em % desvio padrão (DP) da vacuolização citoplasmática, deslocamento nuclear.

Parâmetros (área total por imagem 2.121.60 mµ2 com obj. 20 X) em (%)		
	Núcleo Central	**Núcleo Periférico**
Tilápia	**(NC)**	**(NP)**
C	**33,70a ± 14,80**	**16,70a ± 5,40**
RP	**36,60b ± 16,10**	**16,60a ± 5,50**
RPA	**17,80c ± 7,200**	**25,5b ± 6,00**

C –Controle RP- ração/probiótico RPA – ração/probiótico/antibiótico.

DISCUSSÃO

Foi observada revestindo o órgão, uma fina cápsula de tecido conjuntivo denso, entretanto não foram vistos septos nem trabéculas. O parênquima mostrou-se formado por hepatócitos dispostos em cordões celulares maciços, entremeados por capilares sinusóides, tendo este conjunto um arranjo radial a partir da veia central. Os hepatócitos apresentavam uma forma poligonal, sendo o citoplasma levemente acidófilo com pequenas áreas de aspecto vacuolado, os núcleos eram arredondados, basófilos e na sua grande maioria localizada centralmente Em casos de um procedimento nutricional ou medicamentoso inadequado, observam-se alterações histológicas no fígado, sendo comumente reconhecidos vacuolização dos hepatócitos, degeneração gordurosa do fígado, alterações no parênquima hepático, até mesmo na atividade metabólica (RAŠKOVIÉ *et al.,* 2011).

Embora a antibioticoterapia seja eficiente no tratamento das infecções por *Streptococcus sp*, a utilização desse medicamento sem controle facilita o surgimento de bactérias resistentes. Entretanto, esta caracterização microscópica proporcionou informações que permitirão corroborar com trabalhos relacionados a distúrbios morfológicos orgânicos com o uso do antibiótico, procurando informar e auxiliar no desenvolvimento da piscicultura da Região Nordeste. Com base no presente estudo, vê-se a necessidade de novas pesquisas que elucidem de forma mais concreta que a utilização do probióticos acrescida de antibióticos na dieta interfere no metabolismo e na saúde do peixe.

Nos hepatócitos de um número elevados de peixes, ocorre uma característica clássica que é o alto teor de glicogênio, ocupando a maior parte do seu citoplasma. Contudo, comparado com as células dos mamíferos, hepatócitos de peixes não apresentam a mesma capacidade metabólica de produção de glicogênio (HAMPTON *et al*., 1985; GONZÁLEZ *et al*.1993). O peixe Robalo submetido a jejum prolongado mostrou o lúmen dos ductos excretores mais estreitos e reduzido atividade celular demonstrada pela escassez de grânulos de zimogênio. Por outro lado, peixes intensivamente alimentados foram vistos possuindo uma atividade celular aumentada e uma maior quantidade de grânulos de zimogênio, esses grânulos eletrondensos foram abundantes em *tilápia do Nilo*. Eles eram geralmente localizados na porção apical da célula, apresentando um retículo endoplasmático bem desenvolvido se mostrando morfologicamente organizado. (BECCARIA *et al*.1992)

A variação no teor do glicogênio pode prejudicar as atividades metabólicas desempenhadas pelos hepatócitos. A estrutura do citoplasma dos hepatócitos pode apresentar diversos aspectos, variando de acordo com o estado nutricional do animal (SÁ, 1998). Nos peixes, entre as inúmeras funções do fígado, citamos a capacidade desse órgão para armazenar glicogênio e lipídios. O glicogênio é armazenado de forma mais dispersa no citoplasma, enquanto que os lipídios são armazenados sob a

forma de gotículas claras e de contorno bem definido (TAKASHIMA E HIBIYA, 1995; GRACIANO *et al.*, 2010).

Estudos anteriores indicaram que nos teleósteos, o tecido pancreático exócrino se desenvolve ao redor da veia porta durante ontogênese, podendo permanecer com a localização extra-hepática ou penetrar no parênquima hepático e aí se estabelecer definitivamente, dependendo das espécies, vimos como em *Ictalurus punctatus* kendall e Hawkin; Hinton e Pool, 1975, *Pimelodus maculatus* Marconi Stipp *et al*., 1980, Micropogon *undulatus* e Gonzalez *et al*., 1993. O tecido pancreático pode se distingui do tecido hepático, pelo seu arranjo acinar, além disso, um fino envoltório de tecido conjuntivo frouxo separa as células pancreáticas exócrinas dos hepatócitos (BRUSLE e ANADON, 1996).

Monteiro *et. al.* 2004, analisou a ocorrência de 12 diferentes antibióticos na água, sedimentos e peixes, além da resistência bacteriana nos peixes de um determinado ambiente aquático. Os antimicrobianos (antibióticos) estudados foram oxitetraciclina, tetraciclina, clortetraciclina, ciprofloxacina, enrofloxacina, sarafloxacina, norfloxacina, florfenicol, cloranfenicol, sulfatizol, sulfadimetoxina e sulfametazina. Chegou à seguinte conclusão, que apesar da utilização do antibiótico ser algo necessário para a produção de pescado, é possível utilizá-lo de maneira sustentável, seguindo boas práticas de manejo e de produção, minimizando os impactos que estes antibióticos podem causar.

CONCLUSÃO

A análise morfológica do fígado de tilápia do-Nilo, *Oreochromis niloticus,* com as técnicas empregadas neste estudo permite identificar alterações histológicas, histométricas e histoquímicas evidentes no parênquima hepático de tilápias alimentadas com ração/probiótico acrescida do antibiótico florfenicol.

Embora a eficiência da antibioticoterapia no tratamento das infecções por *Streptococcus sp*, bem como dos seus efeitos colaterais, já se encontrem bem estabelecidos, é lícito sugerir, considerando os resultados apresentados neste estudo, uma reavaliação quanto ao uso de antibióticos da classe do florfenicol e da sua via de administração em peixes criados em viveiros escavados. Os dados aqui obtidos poderão contribuir com os já existentes possibilitando um melhor entendimento sobre o uso seguro de antibióticos na cultura da tilápia e ao mesmo tempo mostra a necessidade de novas pesquisas que aprofundem o conhecimento da ação destes fármacos sobre a morfofisiologia hepática de peixes criados em sistemas de cultivo semelhantes.

REFERÊNCIAS

ARIAS, I.M.; JAKOBY, W.B.; POPPER, H.; SCHACHTER. D.; SCHAFRITZ, D.A. 1998. **The liver: biology and pathobiology**. New York: Raven Press.

BECCARIA, C.; DIAZ, J. P. & CONNES, R. **Effects of dietary conditions on the exocrine pancreas of the sea bass, Dicentrarchus labrax L. (Teleostei)**. Aquaculture, 101: 163-76, 1992.

BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS NETO, A.G. 1976. **Manual techniques for normal and pathological histology = Manual de técnicas para histologia normal e patológica.** EDUSP, São Paulo, SP, Brazil. (in Portuguese).

BUCKE, D.; WATERMANN, B.; FEIST, S. **Histological variations of hepato-splenic organs from the North Sea dab, *Limanda limanda* (L.)**. Jour. of Fish Dis., v. 7, p. 255 – 2689, 1984.

CAVICHIOLO, F. 2009**. Histology: relevant tool for studies in cultured fish = Histologia: ferramenta relevante para estudos em peixes cultivados.** p. 602-324. In: Tavares Dias, M., ed**. Management of Health and Safety in Fish Farming** - Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo. EMBRAPA, Macapá, AP, Brazil (in Portuguese).

FAO - **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. (2014b). Fishery and aquaculture statistics 2012. Roma: FAO yearbook.

FAO. 2012. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. (2014b). Fishery and aquaculture statistics. Roma: FAO yearbook.

FAO. 2012. **State of world fisheries and aquaculture**. Rome, 2009, .State of world fisheries and aquaculture. Rome, 230 p.

GINGERICH, W.H. e DALICH, G.M. 1982. **An evaluation of liver toxicity in rainbow trout following treatment with monochlorobenzene**. Proc. West Pharmacol. Soc., 21: 475-480.

GONZALEZ, G.; CRESPO, S. & BRUSLE, J. **Histocytological study of the liver of the cabrilla sea bass, Serranus cabrilla (*Teleostei, Serranidae*), an available model for marine fish experimental studies**. J. Fish Biol., 43:363- 73, 1993.

GRACIANO, T.S.; NATALI, M.R.M.; VIDAL, L.V.O.; MICHELATO, M.; RIGHETTI, J.S.; FURUYA, W.M. 2010. **Performance and hepatic morphology of *Nile tilapia* juveniles fed**

methionine and choline supplemented diets. Pesquisa Agropecuária Brasileira 45: 376-381 (in Portuguese, with abstract in English).

HAMPTON, J. A.; MCCUSKEY, P. A.; MCCUSKEY, R. S. & HINTON, D. E. **Functional units in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) liver: arrangement and histochemical properties of hepatocytes**. Anat. Rec., 213:166-75, 1985.

HElDlNGER, R.c. & S.O. CRAWFORD. 1977. **Effect of temperature and feeding rate on the liver-somaticindex ofthe Largemouth Bass, Microplerus salmoides**. Jour. Fish Res. Board 34: 633-638.

KENDALL, M.W. & HAWKINS, W. E. **Hepatic morphology and acid phosphatase localization in the channel catfish (*Ictalurus punctatus*).** J. Fish. Res. Bd. Can., 32:1459- 64, 1975.

KUBITZA, F., CAMPOS, J. L., ONO, E. A. & ISTCHUK, P. I. (2012a**). Panorama da piscicultura no Brasil: estatísticas, espécies, polos de produção e fatores limitantes à expansão da atividade.** Panorama da Aquicultura, 22(132): 14-25.

KUBITZA, F., CAMPOS, J. L., ONO, E. A. & ISTCHUK, P. I. (2012b). Panorama da piscicultura no Brasil: **Espécies cultivadas, sistemas de produção, perfil tecnológico e de gestão e os principais canais de mercado da piscicultura**. Panorama da Aquicultura, 22(133): 16-31.

MARCONI STIPP, A. C.; FERRI, S. & SESSO, A. **Fine structural analysis of a teleost exocrine pancreas cellular components –A freeze-fracture and transmission electron microscopic study**. Anat. Anz., 147:60-75, 1980.

MCMANUS, J. F. A**. Histological and histochemical uses of periodic acid.** Stain Tech., 23, 99-108, 1948.

MONTEIRO, S.M.; FONTAINHAS FERNANDES, A.; SOUSA, M. **Caracterização morfológica e ultraestrutural do epitélio branquial de peixes teleósteos.** Rev. Port. Zootec., V.XI, p.13-36, 2004.

NAVARRO M. P, BARROSO D. E, CASTILLO S. M, BLANCO D. A, LOZANO M, ARTILES H. J. L., CHESA P. N. **An analysis of our experience in cryopreservation of semen from cancer patients.** Actas Urológicas Española, Madri, v. 1, n. 34. p. 101 – 105. 2010.

PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; OBAB, A.; NORKUS, C.E.A.; KODAWARAC, L.M.; LIMA, T.A**. Morfometria e ultraestrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos,** 1998**.**

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B; SOBIN, L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology.** Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1992. 279p

QUEROL, M V M; QUEROL, E; GOMES NNA. **Fator de condição gonadal, índice hepaticossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichtthys platymetopon* (*Osteichyes Loricariidae*), bacia do Rio Uruguai médio sul do Brasil**. Iheringia, série Zoologia. Porto Alegre, v 92, n. 3, p1 – 112, 2002

RAHIMAN K.M.M., JESMIM Y., THOMAS A.P. & HATHA A.A.M. 2010**. Probiotic effect of Bacillus NL110 and Vibrio NE17 on the survival, growth perfor-mance and immune response of *Macrobrachium rosenbergii* (**de Man). Aquac. Res. 41:120-134.

SÁ, O.R. 1998 **Toxicidade do herbicida Roundup (Glifosato) e do *Acaricida omite* (Propargito) nas fases iniciais da ontogenia do bagre, *Rhamdia hilarii* (*Valenciennes, 1840) (Pimelodidae, Siluriformes)***. São Carlos. 307p. (Tese de Doutoramento. Universidade Federal de São Carlos).

SAINT-PAUL, U. 1984. **Investigations on the seasonal changes in the chemical composition of liver and condition from a neotropical characoid fish *Colossoma macropomum* (*Serrasalmidae*)**. Amazoniana 9 (1): 147-158.

SANTOS, A.A.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; FELIZARDO, N.N.; RODRIGUES, E. de L. **Análise histopatológica de fígado de *tilapia-do-Nilo, Oreochromis niloticus,* criadas em tanque-rede na represa de Guarapiranga,** São Paulo, SP, Brasil. Boletim do Instituto de Pesca, v.30, p.141-145, 2004.

SHOEMAKER, C., KLESIUS, P. 1997. **Streptococcal disease problems and control e a review.** In: Fitzsimmons K, editor. Tilapia aquaculture, vol. 2. Ithaca, NY: Northeast Regional Agricultural Engineering Service; 1997. p. 671 e 82.

TAKASHIMA, F. E HIBIYA, T. 1995. **An atlas of fish histology: normal and pathological features**. 2. ed. Tokyo: Kodanska / Stuttgart: Fischer Verlag. 195p.

TEH, S.J.; ADAMS, S.M.; HINTON, D.E. 1997. **Histopathological biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress**. Aquatic Toxicology 37: 51-70.

THOMAS, P. KÖHLER., 1992; TEH et al., 1997: **Molecular and Biochemical Responses of Fish to Stressors and Their Potential Use in Environmental Monitoring**. Amer. Fish. Soc. Symp., v. 8, p. 9 – 28, 25.

TORRECILAS, S.; MAKOL, A.; CABALLERO, R.J.; MONTERO, D.; ROBAINA, L.; REAL, F.; SWEETMAN, J.; TORT, L.; IZQUIERDO, M.S. **Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides**. Fish & Shellfish Immunology. v.23, p.969-981, 2007.

VAZZOLER, A. E. A. DE M. 1981. **Manual de métodos para estudos biológicos de população de peixes.** Reprodução e crescimento. Brasília, CNPq – Programa Nacional de Zoologia. 108p.

VAZZOLER, A. E. A. DE M. 1996. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá, EDUEM. 169p.

YOUSEFIAN, M.; & AMIRI, M. S. **The review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp Mehdi**. Kouzestan, I.R. Iran. **African Journal of Biotechnology** v.8 (25), p.7313-7318, 29 ISSN 1684–5315 © 2009 Academic Journals

ZELIKOFF, J.T. 1998 **Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals?** Toxicology, 129 (1): 63-71

5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO INTESTINO MÉDIO DE TILÁPIA Oreochromis niloticus ALIMENTADAS COM RAÇÃO COMPOSTA DE PROBIÓTICO E ANTIBIÓTICO.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO INTESTINO MÉDIO DE TILÁPIA *Oreochromis niloticus* ALIMENTADAS COM RAÇÃO COMPOSTA DE PROBIÓTICO E ANTIBIÓTICO.

Alex B, da Silveira[1]; Diógenes L. da Mota[3]; Janilson Felix da Silva2; Alex B. da Silveira Jr[2]; Márcia Cristina Pinho Sodré Pacheco[1]; Carlos Eduardo de Queiroz Lima[1]; Ranilson de Souza Bezerra[2].

1 -Departamento de Farmácia – CCS – (Universidade Federal de Pernambuco);
2 -Departamento de Farmácia – CCS – (Universidade Federal de Pernambuco);
2- Departamento de Bioquímica – CCB - (Universidade Federal de Pernambuco)
2 - Departamento de Bioquímica – CCB - (Universidade Federal de Pernambuco)
3- Departamentos de Histologia e Embriologia - CCB - (Universidade Federal de Pernambuco)

Endereço: Laboratório De Enzimologia, Departamento De Bioquímica, Universidade Federal De Pernambuco – UFPE, 50670-901, Av. Prof. Moraes Rego.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar ao Microscópio Eletrônico de Varredura (M.E.V) as possíveis alterações estruturais do intestino de tilápias do Nilo que foram submetidas a antibioticoterapia com Florfenicol a fim de tratar processo infeccioso causado por *Stretoccocus ssp*.
Os peixes foram agrupados de acordo com a seguinte distribuição: grupo (G1) - alimentados apenas com ração, grupo (G2) tratado com ração/probiótico e grupo (G3) com ração/probiótico acrescida com antibiótico (Florfenicol) perfazendo um total de nove peixes adultos, 3 por grupo sendo os do G 3, provenientes de um viveiro no qual ocorreu o surto de estreptococose. Pequenos fragmentos (2cm X 2cm X 2cm) foram fixados em solução de Karnovsky e após os procedimentos de rotina para MEV as amostras foram analisadas em um Microscópio Eletrônico de Varredura EVO LS15 – Zeiss. A mucosa intestinal é constituída principalmente de enterócitos e células caliciformes. A estrutura superficial do intestino médio da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foi investigada, com relativa profundidade tendo o auxílio e o poder de resolução do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). A mucosa do intestino possui numerosas pregas longitudinais maiores e menores que exibem um padrão de disposição em ziguezague, equipado com muitas projeções mucosas primárias ou secundárias. Observa-se que concavidades estão presentes entre as projeções mucosas maiores e menores, no caso do intestino, a concavidade está presente entre duas pregas mucosas principais. Dobras mucosas longitudinais principais ou primárias que exibem um padrão de disposição em ziguezague, equipado com muitas dobras mucosas secundárias. Observou-se que a mucosa do peixe que foi alimentado com a ração probiótico adicionada de antibiótico em relação aos peixes tratado apenas com ração e ração/probiótico apresentou uma desorganização no interior da mucosa, com intensa erosão destas células na porção apical, numerosos poros, presença de substância mucosa. A utilização da ração com probiótico adicionada com antibiótico florfenicol alterou consideravelmente a morfologia da mucosa intestinal das tilápias estudadas e com isso uma possível alteração no metabolismo do animal.

Palavra chave: Antibioticoterapia, Florfenicol, probiótico, mucosa, enterócitos, caliciforme.

SUMMARY

The objective of this work was to analyze the Scanning Electron Microscope (M.E.V) the possible structural alterations of the intestine of Nile tilapia that were submitted to antibiotic therapy with Florfenicol in order to treat infectious process caused by Streptoccocus ssp. The fish were grouped according to the following distribution: group (G1) - fed with ration only, group (G2) treated with ration / probiotic and group (G3) with ration / probiotic plus antibiotic (Florfenicol) making a total of nine adult fish, 3 per group being those of G3 from a nursery in which the outbreak of streptococcus occurred. Small fragments (2cm X 2cm X 2cm) were fixed in Karnovsky's solution and after routine procedures for SEM the samples were analyzed in an EVO Scanning Electron Microscope LS15 - Zeiss. The intestinal mucosa consists mainly of enterocytes and goblet cells. The surface structure of the midgut of the Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) was investigated, with relative depth having the aid and resolving power of the Scanning Electron Microscope (SEM). The intestinal mucosa has numerous larger and smaller longitudinal folds which exhibit a zigzag pattern, equipped with many primary or secondary mucosal projections. It is observed that concavities are present between the major and minor mucosal projections, in the case of the intestine; the concavity is present between two main mucosal folds. Primary or primary longitudinal mucosal folds that exhibit a zigzag pattern, equipped with many secondary mucosal folds.

Key words: Antibiotic, therapy, Florfenicol, probiotic, mucosa, enterocytes, goblet.

INTRODUÇÃO

As relações entre morfologia e os hábitos alimentares em peixes têm despertado um grande interesse nas três últimas décadas objetivando a elucidação dos mecanismos adaptativos importantes nos padrões evolutivos e ecológicos dentre as numerosas espécies tanto de água doce como de água salgada. Incremento considerável tem sido observado no número de pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de alimentos funcionais e de substâncias químicas que promovam a elevação da eficiência alimentar e da taxa de desenvolvimento anatômicos dos peixes (OLIVEIRA *et al*., 2002), e a redução do uso de antibióticos como promotor de crescimento (KESARCODI-WATSON *et al.,* 2008).

As maneiras mais comuns de administração de agentes antimicrobianos na aquicultura são o uso de ração contendo antimicrobianos e adicionando os compostos diretamente à água (terapia de imersão). Estas práticas podem resultar na utilização intensa de agentes antimicrobianos e transferência de grande quantidade, não apenas para os animais, mas, também, para o ambiente. Consequentemente, o uso de agentes antimicrobianos na aquicultura resulta em um amplo impacto sobre as bactérias ambientalmente relevantes (HEUER *et al*., 2009).

Os antibióticos têm sido utilizados em produção animal, incluindo aquicultura, para prevenção e tratamento de doenças infeciosas. A sua administração tem impacto sobre o ambiente e pode conduzir ao aparecimento de resistência antimicrobiana, tanto em bactérias comensais do intestino humano e animal, como em bactérias do meio ambiente, com a possível disseminação de genes de resistência entre diversas populações bacterianas. (GASTALHO S, *et. al.* 2014).

A estreptococose é uma das infecções bacterianas mais importantes que afetam as tilápias e evoluiu de uma infecção emergente para uma doença marcante e muito bem identificada e estabelecida. Essa enfermidade tem sido relatada em diversos locais de todo globo terrestre, acometendo basicamente inúmeras espécies em todos os tipos de ambientes (CONROY. 2009). A estreptococose em tilápias cultivadas já foi notificada em pelo menos 12 países do continente americano (CONROY. 2009). Esse tipo de microrganismo foi isolado pela primeira vez em 1976, em botos de água doce da Amazônia (*Iniae geoffrensis*) que viviam em aquários nos Estados Unidos da América (PIER & MADIN, 1976). Esses animais apresentaram lesões cutâneas as quais foram diagnosticadas como causadas por uma nova espécie de *streptococcus*, agentes etiológicos da meningoencefalite aguda que comprometia o cultivo de tilápias em países da Ásia e América (ELDAR *et al*., 1994 e 1995a), provocando um alto índice de mortalidade nos peixes dessas regiões. Inicialmente essa bactéria foi chamada de *Streptococcus shiloi*, em seguida passou a ser identificada precisamente como *Streptococcus iniae* devido ao emprego de técnicas avançadas de análises fenotípica e genotípica (ELDAR *et al*., 1995b).

Os probióticos são produtos preparados com *Lactobaccillus acidophillus, Streptococcus faecium, Bacillus subtilis,* e em alguns casos, leveduras (VERSCHUERE *et al*., 2000; Wang *et al*., 2008). A definição de probióticos para organismos aquáticos necessitou da inclusão dos benefícios causados pelos organismos que interagem com o ambiente.

Verschuere *et al.* (2000) propuseram a definição de que probióticos são: "microrganismos vivos", que tem efeito benéfico pela modificação do hospedeiro associado ou comunidade microbial do ambiente, assegurando o aumento do uso alimentar ou valor nutricional, aumentando a resposta do hospedeiro sobre a doença, ou pelo aumento da qualidade do ambiente", prevendo também a interação do animal com o seu ambiente e ampliando a aplicabilidade do conceito na aquicultura. O mecanismo de ação dos probióticos pode ocorrer pela exclusão competitiva (OZAWA *et al*., 1978; VINE *et al*., 2004), pela competição por locais de adesão no aparelho digestório (WATKINS & MILLER, 1983; YAN *et al*., 2002), por estímulo da imunidade (INOOKA *et al*., 1986; SON *et al*., 2009), por maior produção de ácido lático (FULLER, 1977), pela diminuição da produção de aminas tóxicas, pelo aumento da disponibilidade de aminoácidos nos locais de absorção (KOZASA, 1989), por economia de energia e por aumento da disponibilidade de vitaminas e enzimas (FULLER, 1989). A quantidade de proteína da dieta depende de inúmeros fatores inerentes ao peixe, às condições ambientais de criação e à própria dieta. Vários estudos têm buscado o melhor regime de alimentação quanto à qualidade e aos níveis proteicos, com o objetivo de redução dos custos com alimentação, sem causar danos metabólicos aos peixes (RIGHETTI *et al*., 2011; LOUM *et al*., 2013).

A caracterização da morfologia do trato digestório dos peixes principalmente no que se refere ao segmento intestinal, é de fundamental importância, pois está relacionada com a sua dieta, as características do local de alimentação e o estádio de desenvolvimento do indivíduo (SEIXAS FILHO *et al.*, 2003; BECKER *et al*., Qualquer mudança que venha beneficiar a morfologia da mucosa, como o aumento do comprimento das vilosidades aumentando a área de superfície epitelial para melhor absorção dos nutrientes disponíveis é de grande importância pra saúde do peixe. (CASPARY. 1992).

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

GRUPO AMOSTRAL

Os peixes utilizados no presente estudo foram criados em viveiros escavados (1000 m^2) os quais seu volume era abastecido continuamente com água proveniente do Rio Paraíba, sendo renovada 20 vezes ao dia. A qualidade da água apresentou às médias de oxigênio dissolvido (OD) de 10 a 2 mg / L, mensurado com um oxímetro F-1050 YSI. A temperatura manteve-se em torno de 26 ºC, e foi aferida periodicamente com um termômetro da marca INCOTERM – 136127. O pH manteve-se em torno de 6,5 medido com um pHmetro portátil Master F-1002 e a salinidade manteve-se em 1,7 g/kg (Akso).

Os animais foram alimentados com ração e probiótico. Após 60 dias de permanência aproximadamente observou-se que em alguns viveiros as tilápias apresentavam ulcerações cutâneas na região cefálica. Ao exame clínico-veterinário e laboratorial, constatou-se infecção por *Streptococcus sp*. Iniciou-se imediatamente a antibioticoterapia para os animais destes viveiros adicionando-se à ração Florfenicol (50g de antibiótico/50 kg de ração/viveiro – Lab. - Referência: 0003136). O tratamento compreendeu duas fases de 10 (dez dias) cada, sendo administrado 2-3 vezes por dia, com um intervalo de uma semana entre estas fases, de acordo com a preconização veterinária para piscicultura. Ao final do tratamento observou-se o desaparecimento completo das ulcerações.

COLETA E ANÁLISE

A coleta do órgão destinado ao estudo para microscopia eletrônica de varredura ocorreu nas dependências de uma Piscicultura no Estado da Paraíba, onde os animais capturados com rede oriundos do viveiro escavado eram trazidos para o abate e procedimentos de comercialização. As vísceras foram removidas e o intestino foi devidamente separado para o experimento. Foi utilizado para o estudo um total de nove (9) tilápias (*Oreochromis niloticus*) adultas pesando em média 1.300g e medindo cerca de 32 cm. Dentre estas, nove foram selecionadas aleatoriamente e separadas em 3 grupos para o estudo da MEV. Após a concessão das vísceras, o intestino médio foi separado e em seguida seccionado com bisturi em fragmentos medindo cerca de 2 cm X 2 cm x 2cm e imediatamente lavados em solução tampão (Cacodilato de Sódio pH 7,2/0,1M) e imersos em solução fixadora de Karnovsky preparada com o mesmo tampão , sendo posteriormente processados de acordo com protocolo de rotina para Microscopia Eletrônica de Varredura. As peças foram desidratadas em série crescente de etanol. A secagem foi alcançada com gás carbônico no aparelho de ponto crítico (HITACHI), em seguida as peças foram montadas em bases metálicas e então passaram pela etapa

(sputtering) de metalização (mistura coloidal de ouro e paládio), a qual foi realizada no aparelho FINE COAT-ION SPUTTER 11000-JEOL (camada de 25nm de ouro-espessura). Para a análise e documentação do material empregou-se o Microscópio Eletrônico de Varredura – EVO LS15 – Zeiss do LME (Laboratório de Microscopia Eletrônica do LIKA– UFPE).

RESULTADOS

ULTRAMICROSCOPIA DE VARREDURA (Imagem com disposição transversal)

A análise morfológica ao microscópio eletrônico de varredura do intestino médio de tilápia do Nilo com disposição transversal mostrou ser constituído por três camadas concêntricas dispostas na seguinte ordem, partindo da luz para a região externa do órgão: apresenta projeção ou prega da mucosa, formada por um epitélio: uma lâmina própria, duas camadas musculares e a serosa.

O epitélio é revestido por uma única camada de células absortivas ou enterócitos, que são predominantes, são células que quando seccionadas longitudinalmente, caracterizam-se por ser prismática ou cilíndrica alta, a superfície apical destas células exibe um muco esbranquiçado. (fig. 1 C), Entre os enterócitos são encontradas as células caliciformes, responsáveis pela produção de parte do muco presente nessa região**,** essas células secretam mucossubstâncias neutras. A lâmina própria formada por tecido conjuntivo frouxo, apresentando-se logo abaixo do epitélio (fig. 1 B). A camada muscular por sua vez é constituída por duas subcamadas de células musculares lisas: uma interna, sendo mais espessas orientadas circularmente, outra externa, mais delgada, cujas células se dispõem longitudinalmente (fig. 1 D). A serosa é uma membrana formada por um epitélio simples pavimentoso e por uma pequena quantidade de tecido conjuntivo que se liga à camada muscular. (fig. 1 C)

ULTRAMICROSCOPIA DE VARREDURA (Imagem da superfície da mucosa)

A mucosa do intestino médio apresenta numerosas dobras ou pregas longitudinais primárias (PP) e secundárias (PS) mostrando um padrão de disposição em ziguezague e entre elas depressões (fig. 2 A e B). As células caliciformes secretoras de muco e as células epiteliais colunares ou prismáticas com microvilosidades (borda em escova) estão presentes em grande número constituindo a camada epitelial disposta na superfície. Uma delgada camada de muco (Mu) encontra-se espalhada sobre as principais pregas mucosas e os poros (P) minúsculos (fig. 2 H) bem definidos são visíveis e através destes as células mucosas descarregam seu produto de secreção. O peixe alimentado com ração/probiótico com adição de antibiótico na dieta apresentou uma descaracterização da mucosa, com intensa erosão destas células na porção apical, numerosos poros e presença de substância mucosa (**Fig. 4)**.

Figura 1- Intestino médio de tilápia do Nilo, microfotografia de varredura nas (**Figs. 1A, B**,) peixe controle (C) e alimentada só com ração. É possível observar da luz do órgão para a camada mais externa: A mucosa com suas pregas

(PM) bem definidas, Lâmina própria **(LP)**. Células epiteliais cilíndricas ou prismáticas **(CE)**, a chave indicando o limite entre a camada muscular **(CM)** e a lâmina própria **(LP)** e a serosa **(S)** morfologicamente sem alterações.

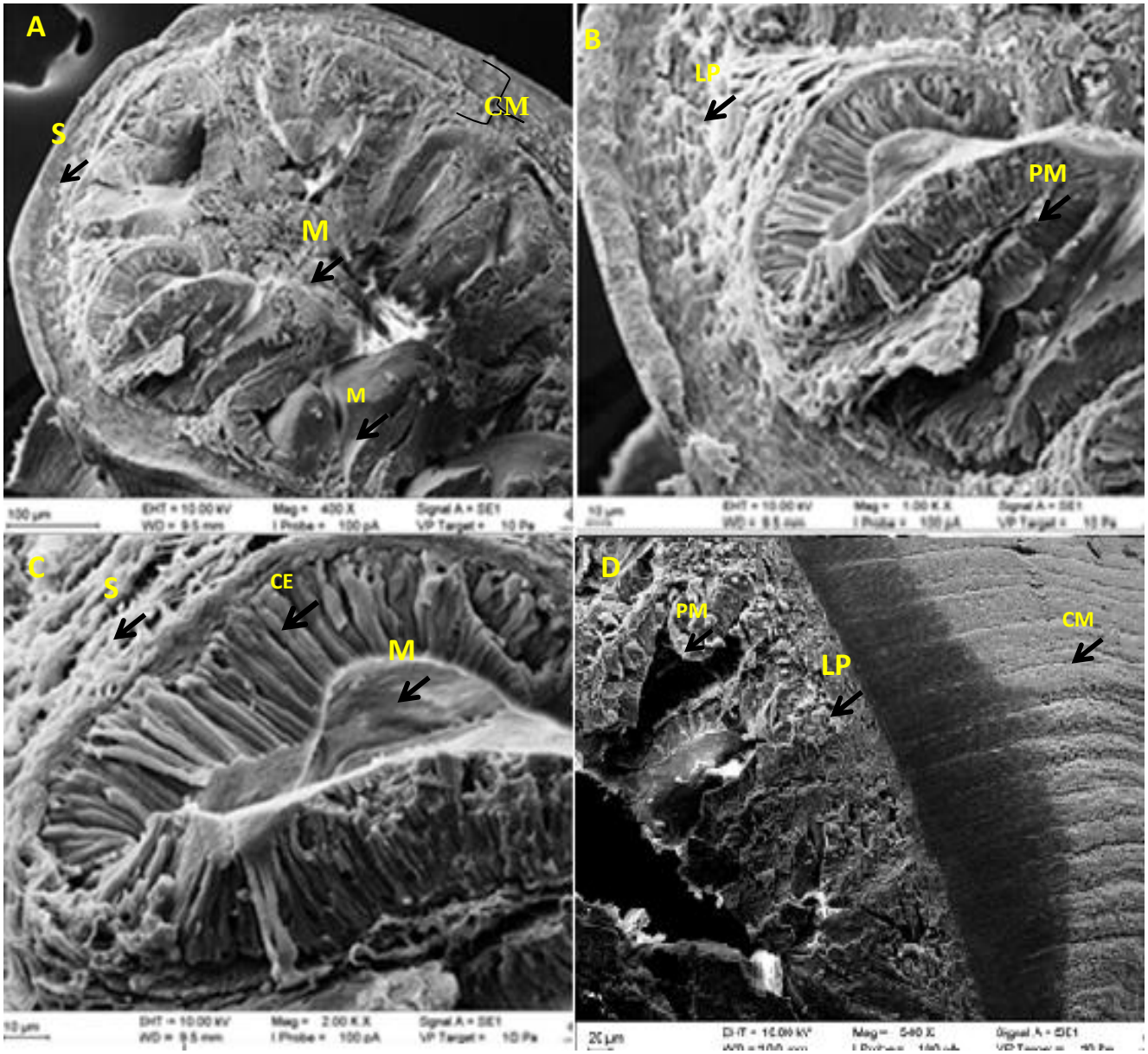


Figura. 2- Intestino médio de tilápia do Nilo, microfotografia eletrônica de varredura- MEV peixe controle **(C).** Nas **Figs. 2A, B,** e alimentada só com ração é possível observar no fragmento total do intestino sobre o suporte, a mucosa **(M)** apresentando pregas longitudinais primárias **(PP)** mostrando um padrão de disposição em ziguezague **figs**.2**A e D**. Entre as pregas observamos depressões **(DP).** A superfície da mucosa morfologicamente se mostra sem alterações.

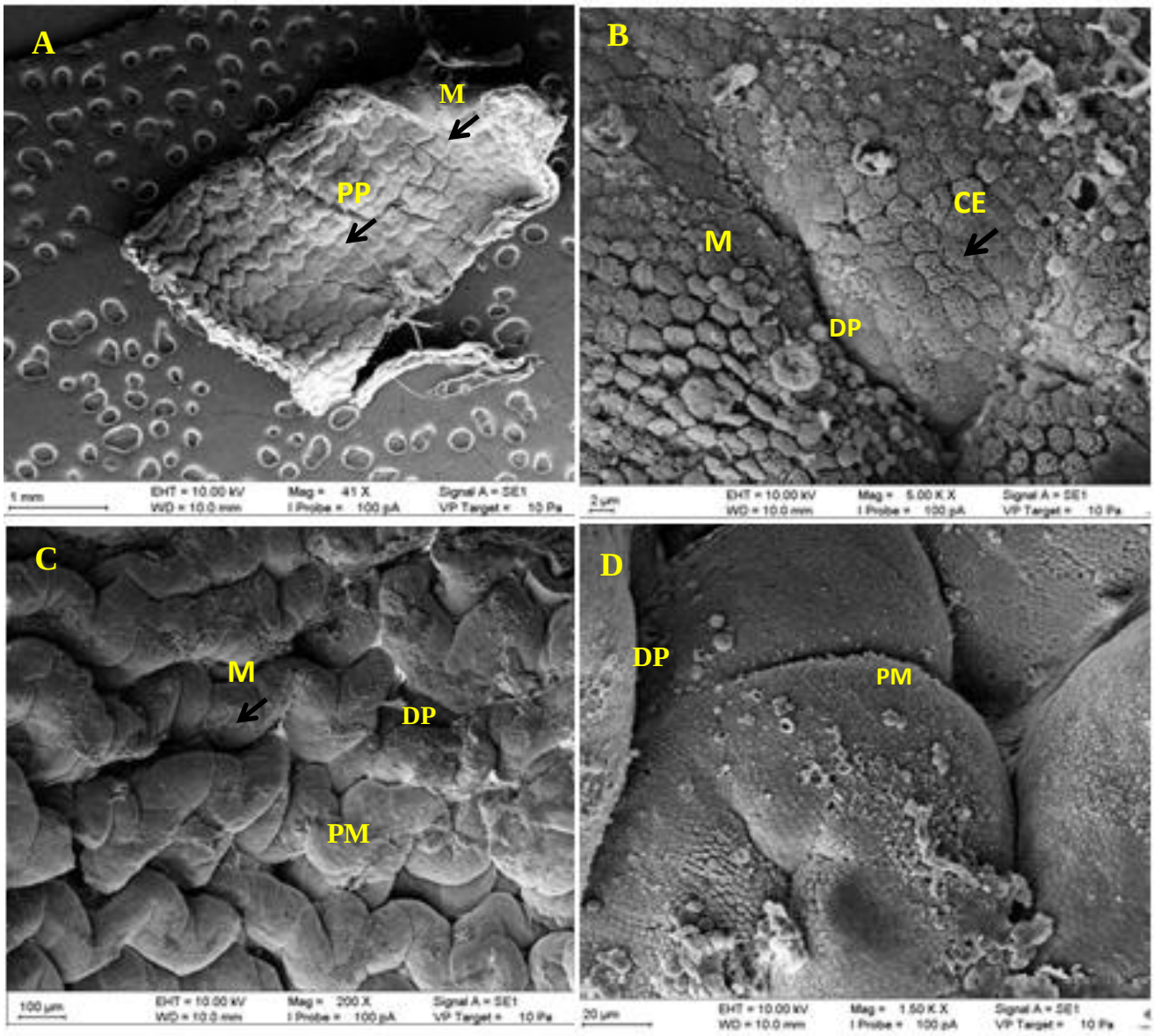


Figura 3- Intestino médio de tilápia do Nilo tratada com ração/probiótico **(RP)**. - Microfotografia Eletrônica de Varredura. Nas Figuras. 3 **A, B, C, D** é possível observar projeções ou pregas da mucosa **(PM)** bem definidas, morfologicamente sem alterações, com aspecto tecidual bem preserva, presença de leveduras **(L),** Mucossubstância **(Mu),** depressões **(DP)** entre as pregas da mucosa**.**

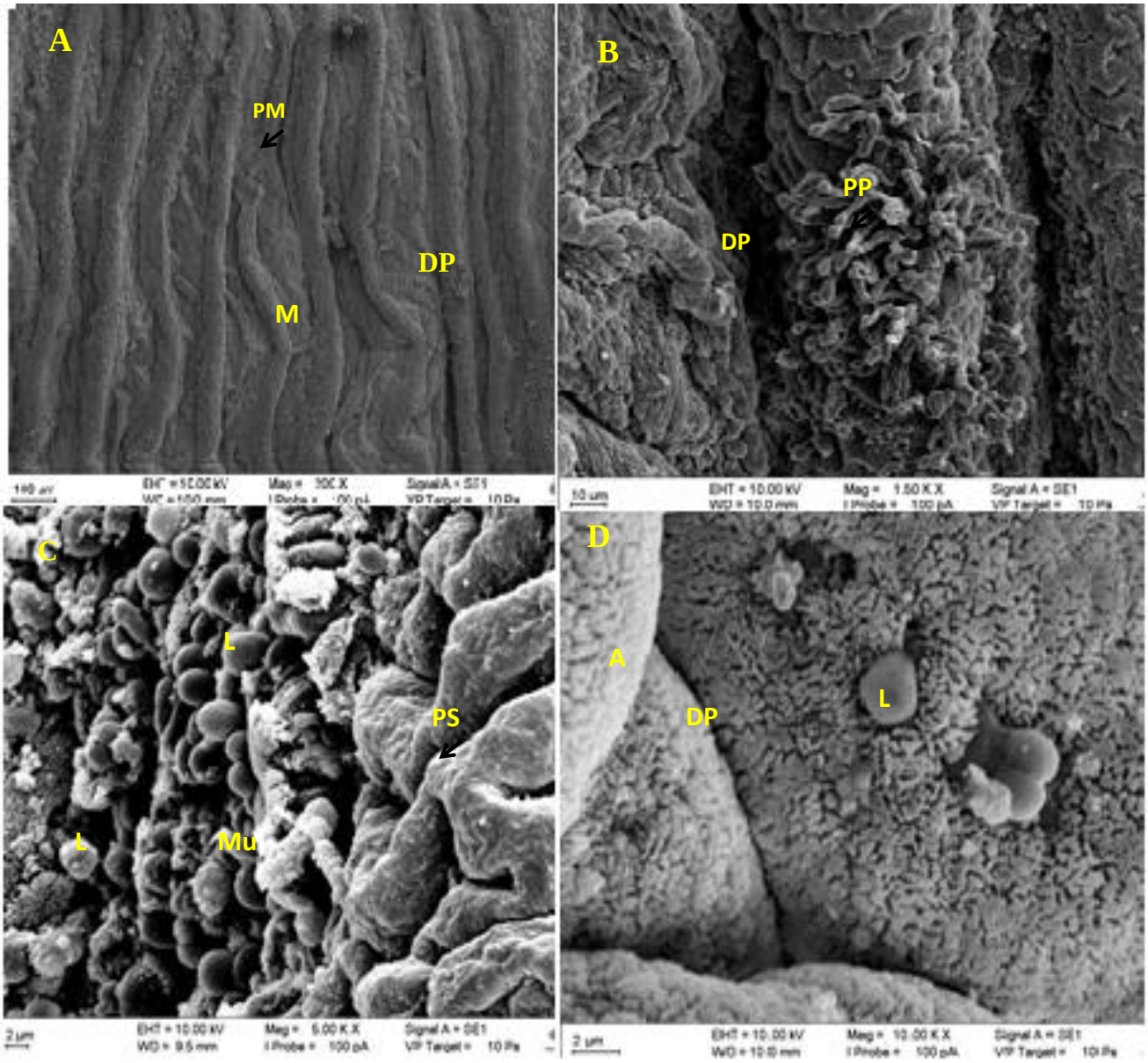
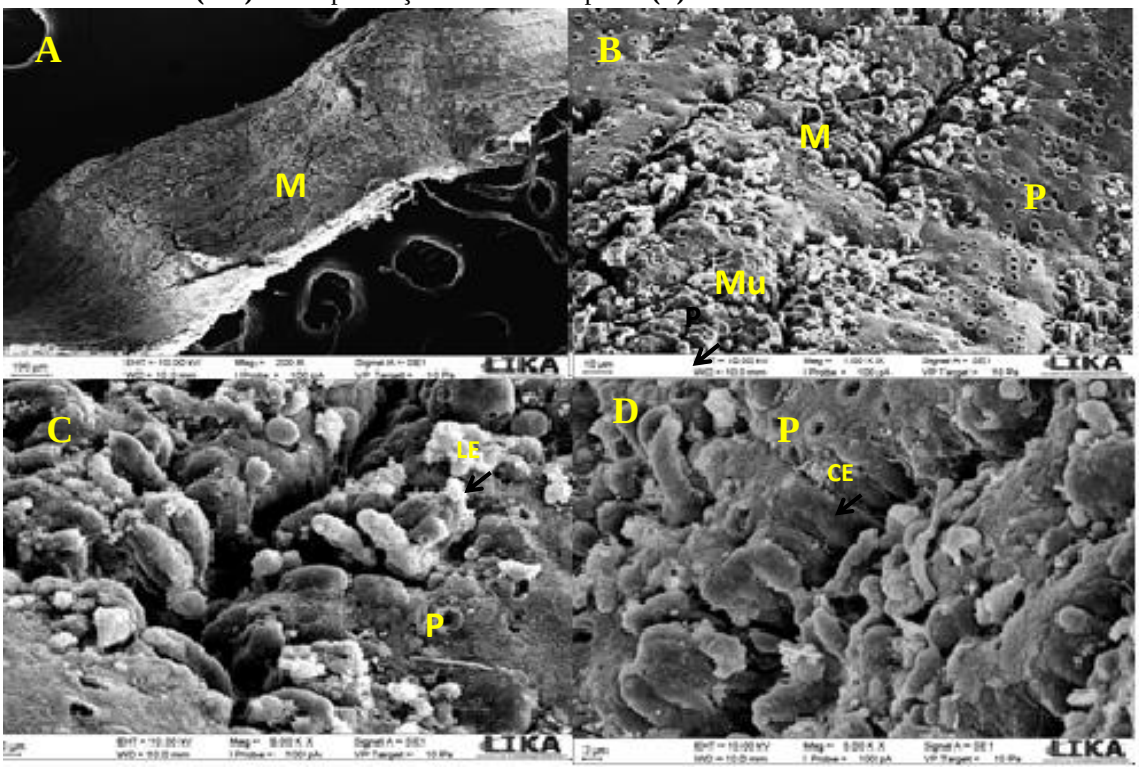


Figura 4- Micrografia eletrônica de varredura - Intestino médio de tilápia do Nilo tratado com ração/probiótico/antibióticos (**RPA**)*:* Fragmento total do intestino sobre o suporte: Mucosa **(M),** descaracterizada desorganizada e observe as células epiteliais **(CE),** presença de leveduras **(LE)** com suas projeções sem definição, morfologicamente bastante alterada, a mucosa coberto de mucina ou mucossubstância **(Mu)** com a presença de numerosos poros **(P).**



DISCUSSÃO

Os estudos empregando M.E.V têm mostrado uma acentuada variação na morfologia da mucosa e está diretamente relacionada com a diversidade nos hábitos alimentares observada dentre os milhares de espécies de peixes, portanto a caracterização da morfologia (anatomia, histologia) e da fisiologia do trato digestório dos peixes é de importância basilar, pois permite estabelecer as inter-relações dieta - habitat - e o estádio de desenvolvimento do indivíduo (SEIXAS FILHO *et al*., 2003)

Essas projeções (pregas da mucosa) com orientação única pode ser longitudinal, transversal ou destes dois tipos, encontram-se também projeções dispostas em forma de ziguezague. No entanto, observa-se que essas pregas intestinais são bastante complexas. Essas observações estão de acordo com aquelas anteriormente relatadas em teleósteos (CACECI, 1984). Entretanto em estudo anatômico clássico, antes mesmo do desenvolvimento do Microscópio Eletrônico de Varredura, Al-Hussaini (1949) descrevera em teleósteos da família *Cyprinidae*, que as pregas da mucosa intestinal são orientadas em diferentes direções, e em outras regiões do trato digestivo podem se apresentar de forma predominantemente transversais, contudo algumas com padrão em ziguezague estão presentes. As dobras intestinais da mucosa estão relacionadas com o aumento da área de superfície, podendo auxiliar na mistura dos alimentos que passaram pelo estômago e lá sofreram ação do ácido clorídrico (HCl), com o suco digestivo hepatopancreático, com as mucinas neutras, sendo assim, essencial na manutenção do pH ótimo para a funcionamento adequado de várias enzimas. A presença de grandes pregas mucosas ajuda a aumentar a superfície absortiva do intestino, ao passo que as cavidades distintas entre as pregas mucosas servem para reter os alimentos ingeridos por períodos mais longos, tonando-se essenciais para o efetivo funcionamento deste órgão. A presença de células mucosas é uma característica comum no trato intestinal de teleósteos. O muco secretado por estas células difere de espécie para espécie ao longo do trato intestinal. Ao passo que a presença dessas células no trato digestório é sugestiva pelo fato de que a mucina segregada por elas mantém a umidade elevada e proporciona uma boa lubrificação ao alimento permitindo maior facilidade no transporte do material ingerido além de servir de proteção ao epitélio evitando possíveis lesões as células. Normalmente as dobras da mucosa são cobertas com uma fina camada de mucina e repleta de poros como já foi descrito, através dos quais as células expelem seus conteúdos, esse fato tem sido relatado por vários pesquisadores em diferentes tipos de peixes (Kapoor, 1958; Khanna, 1964, 1968; Moitra e Sinha, 1971, 1972; Sinha e Moitra, 1975, 1976; Moitra e Ray, 1977, 1979).

Segundo Mansfield *et al.* (2010), nos animais terrestres a complexa comunidade microbiana do ambiente intestinal exerce importantes funções na digestão, na exclusão de patógenos e no desenvolvimento e maturação do sistema imune. As funções da microbiota intestinal dos peixes não se

encontram tão bem estudadas como para humanos e outros animais homeotérmicos (HOVDA *et al*., 2007)

Navarrete *et al*. (2010) afirmaram que, em peixes, mesmo a microbiota intestinal não sendo tão populosamente densa, tal como nos animais terrestres e homeotérmicos, presume-se que ela desempenhe funções semelhantes na saúde e no crescimento do hospedeiro, pois em contraste com os animais terrestres os peixes possuem um estreito contato com a microbiota ambiental, devido ao habitat aquático (SILVA *et al*., 2005)

Araújo *et al*. (2007) relatam que os resultados de pesquisas com probióticos até o momento, são bastante contraditórios quanto à sua eficiência, essa contradição observada entre os trabalhos justificasse mediante os dados obtidos em relação à idade do animal, tipo de probiótico utilizado, viabilidade de microrganismos a serem agregados às rações e suas condições de armazenamento. Faria *et al*. (2009), afirmam que vários aspectos como dosagem inadequada dos microrganismos que compõem os probióticos, falta de desafio sanitário em condições experimentais e uma possível competição com o hospedeiro por nutrientes, podem contribuir para a não expressão de respostas favoráveis ao desempenho quando da utilização de probióticos.

Segundo Radecki & Yokoyama (1991) os probióticos adicionados à dieta estimulam o crescimento e a estabilidade de populações bacterianas que ao fermentá-las, produzem ácidos orgânicos reduzindo o pH do lumem do aparelho digestório e inibindo a proliferação de bactérias nocivas ao epitélio pois são produtoras de sulfito, amônia e toxinas feólicas, que contribuem para a redução do processo de descamação.

De acordo com Seixas Filho *et al.* (2001) a disposição dos órgãos digestivos está diretamente relacionada com a forma da cavidade peritoneal e consequentemente com a forma do corpo. Na literatura disponível foi possível verificar que as pregas da mucosa intestinal podem ser mais ou menos elaboradas. Menin & Mimura. 1992 observaram que algumas espécies possuíam a túnica muscular e a serosa mais espessa para uma maior economia de espaço na cavidade peritoneal. Como se observa, os peixes alimentados com ração contendo o probiótico mostraram diferenças significativas quanto à constituição estrutural do epitélio das pregas da mucosa, quando comparado ao observado nos peixes do tratamento controle. Sabe-se, com base em dados já bem estabelecidos, que a renovação celular do epitélio se dá a partir de células tronco localizadas no próprio epitélio de revestimento e este processo pode ser ativado por diversas vias de estimulação incluindo-se dentre elas aquelas promovidas pelos probióticos que favorecem a renovação do epitélio intestinal (MEDRI *et al.*,1999). O intestino é um órgão de extrema importância quando relacionado com processos fisiológicos, sendo o local mais envolvido no processo de digestão e absorção das moléculas nutricionais (CABALLERO *et al.* 2003).

A presença de células mucosas é uma característica comum no trato intestinal de teleósteos. O muco secretado por estas células difere de espécie para espécie ao longo do órgão. Ao passo que a presença dessas células no trato digestório é sugestiva pelo fato de que a mucina segregada por elas mantém a umidade elevada e proporciona uma boa lubrificação ao alimento permitindo maior facilidade no transporte do material ingerido além de servir de proteção ao epitélio evitando possíveis lesões as células. A integridade das pregas da mucosa poderá ser analisada de acordo com os graus de perda de epitélio estabelecidos por Gomide Jr. *et al*. (2004). Tamanho, número, integridade e proteção dos vilos, conjuntamente, determinam as áreas de digestão e absorção intestinais (Cera *et al*.,1988)

CONCLUSÃO

Pode-se concluir a partir da presente investigação que a arquitetura da mucosa intestinal, revelada pela MEV, elucida as severas modificações no epitélio da mucosa e as características morfológicas das diversas células que revestem o intestino com o uso do probiótico acrescida de antibiótico na ração**.** Variações na estrutura de células epiteliais colunares podem estar relacionadas ao tratamento empregado. A utilização da ração com probiótico adicionada com antibiótico florfenicol alterou consideravelmente a morfologia intestinal das tilápias estudadas.

REFERÊNCIAS

AL-HUSSAINI, A.H., 1949. **On the functional morphology of the alimentary tract of some fishes in relation to differences in their feeding habits: Anatomy and histology**. Q. J. Micrscopical Sci., 90: 109-139.

AQUICULTURA, 1. 1998, Recife Anais... Recife: SIMBRAq, 1998. p. 349-364.

CABALLERO M.J., IZQUIERDO M.S., KJØRSVIK E, SOCORRO D.J.M., FERNANDEZ A.J. & ROSENLUNDG. 2003. **Morphological aspects of intestinal cells from gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources.** Aquaculture 225:325-340.

CACECI, T. **Scanning electron microscopy of goldfish, *Carassius auratus,* intestinal mucosa**. Journal of Fish Biology, London, v. 25, p. 1-12, 1984.

CASPARY W.F. 1992. **Physiology and pathophysiology of intestinal absorption**. Am. J. Clin. Nutr. 55:299-308.

CERA, K.R.; MAHAN, D.C.; CROSS, R.F. *et al*. **Effect of age, weaning and post weaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young suine.** *J. Anim. Sci.*, v.66, p.574-584, 1988.

CONROY, G. **Prevalence of Streptococcus in Latin America**. The Fish Site 2009

ELDAR, A.; BEJERANO, Y.; BERCOVIER, H. ***Streptococcus shiloi* and *Streptococcus diffcile:* two new streptococcal species causing a meningoencephalitis in fish**. Current Microbiology, New York, v.28, p.139-143, 1994.

ELDAR, A.; FRELIER, P. F.; ASSENTA, L.; VARNER, P. W.; LAWHON, S.; BERCOVIER, H. ***Streptococcus shiloi*, the name for an agent causing septicemic infection in fish, is a junior synonym of *Streptococcus iniae***. International Journal of Systematics Bacteriology, Reading, v.45, p.840- 842, 1995

FAO F. **The state of world fisheries and aquaculture**. Rome; 2012. 209

FARIA, D.E.; HENRIQUE, A.P.F.; FRANZOLIN NETO, R.; MEDEIROS,A.A.; JUNQUEIRA,O.M., FARIA FILHO, D.E. **Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de Crescimento para frangos de corte:** 1. Probióticos. Ciência Animal Brasileira, v.10, n.1, p.18-28, 2009.

FULLER, R. (1977). **The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop**. Brazilian Poultry Science, 18(1):85-94.

FULLER, R. (1989). **Probiotics in man and animals: a review**. Journal of Applied Bacteriology, 66:365-78.

GASTALHO S. DA SILVA G.J, RAMOS F. **Antibiotics in aquaculture and bacterial resistance: Health care impact.** 2014

GOMIDE JUNIOR, M.H.; STERZO, E.V.; MACARI, M. **Use of scanning electron microscopy for the evaluation of intestinal epithelium integrity.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.33, p.1500-1505, 2004.

HOVDA, M.B.; BJORN, T.L.; FONTANILLAS, R**. Molecular characterization of the intestinal microbiota of farmed Atlantic salmon *(Salmon salar L.)*.** Aquaculture, v.272, p.581-588, 2007. INOOKA, S.; UEHARA, S. & KIMURA, M. (1986). **The effect of Bacillus natto on the T and B-lymphocytes from spleens of feeding chickens.** Poultry Science, 65(6):1217-19.

KAPOOR, B.G., 1958. **The anatomy and histology of the digestive tract of a cyprinoid fish, *Catla catla* (Ham.). Ann. Mus**. Civico. Stor. Nat. Genova, 70: 100-115.

KARNOVSKY, M.J. (1965) **A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscop**y. Journal of Cell Biology, 27, 137-138A.

KESARCODI-WATSON, A.; KASPAR, H.; LATEGAN, M.J. & GIBSON, L. (2008). **Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes**. Aquaculture, 274(1):1-14

KHANNA, S.S., 1964. **Histology of the digestive tract of a teleost *Clarias batrachus*.** J. Zool. Soc. India, 16: 53-58.

KHANNA, S.S., 1968. **The structure and distribution of taste buds and mucous secreting cells in the buccopharynx of some Indian teleosts**. Studies, 5: 144-148

KNUTTON, S. **Electron microscopical methods in adhesion.** Meth. Enzymol., v.253, p.145-158, 1995.

KOZASA, M. (1989). **Probiotics for animal use in Japan.** Technique de La Office Internacional des Epizooties**,** 8(2):517-31.

LOUM, A.; SAGNE, M.; FALL, J.; NDONG, D.; DIOURF, M.; SARR, A.; THIAW, O.T. **Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and survival rate of fry monosex *Nile tilapia, Oreochromis niloticus*, reared under re-circulating system**. Journal of Biology and Life Science, v.4, p.13-22, 2013. DOI: 10.5296/jbls.v4i2.3043.

MANSFIELD, G.S.; DESAI, A.R.; NILSON, S.A. et al. **Characterization of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) intestinal microbiota and inflammatory marker gene expression in recirculating aquaculture system**. Aquaculture, v.307, p.95-104, 2010

MEDRI V., PEREIRA G.V., LEONHARDT J.H., PANINI M.S. & DIETZEL S. 1999. **Avaliação sensorial de filés de tilápias alimentadas com diferentes níveis de levedura alcooleira**. Acta Scient. 21(2):303-308

MENIN, E. & MIMURA, O.M**. Anatomia comparativa do intestino de duas espécies de peixes teleósteo de hábitos alimentares distintos.** Rev. Ceres 39 (224): p. 308-341, 1992.

MOITRA, S.K. AND A.K. RAY, 1977**. Morpho-histology of the alimentary canal of an Indian freshwater perch, *Colisa fasciata* (Bloch), in relation to food and feeding habits**. Ant. Anz., 141: 37-58.

MOITRA, S.K. AND A.K. RAY, 1979. **The comparative morpho-histology and anatomy of the digestive system of two Indian freshwater perches, *Ambassis nama* (Ham.) and *Ambassis ranga* (Ham.) in relation to their food and feeding habits**. Zool. Jb. Anat., 102: 142-169.

MOITRA, S.K. AND G.M. SINHA, 1971. **Studies on the morpho-histology of the alimentary canal of a carp, *Chagunius chagunio* (Ham.) with reference to the nature of taste buds and mucous cells.** J. Inland Fish Soc. India, 3: 44-56.

MOITRA, S.K. AND G.M. SINHA, 1972. **The structure, distribution and probable function of taste buds and mucous cells in the alimentary tract during the life history of a freshwater major carp, *Cirrhinus mrigala* (Ham.).** J. Inland Fish Soc. India, 4: 103-114.

NAVARRETE, P.; MAGNE, F.; MARDONES, P. et al. **Molecular analysis of intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss).*** FEMS Microb. Ecol., v.71, p.148-156, 2010.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO J.H.A. & SAAD, S.M.I. (2002). **Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 38 (1):1-21.

OZAWA, K.; YABU-UCHI, K. & YAMANAK, K. (1978**). Antagonistic effects of Bacillus natto and *Streptococcus faecalis* on growth of *Candida albicans*.** Microbiology Immunology, 23(12):1147-56.

PIER, G. B.; MADIN, S. H. ***Steptococcus inae* sp. nov a beta hemolytic streptococcus isolated from an Amazon freshwater dolphin, *Inia geoffrensis*.** International Journal of Systematics Bacteriology, Reading, v.26, p.545- 553, 1976.

RADECKI S.V. & YOKOYAMA M.T. 1991. **Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition,** p.439-447. In: Miller E.R., Duane E.U. & Lewis A.J. (Eds), Swine Nutrition. Butterworth-Heinemann, Boston. Revista Brasileira de Zootecnia, v.40, p.469-476, 2011. DOI: 10.1590/S1516 359820110003 00002.

RIGHETTI, J.S.; FURUYA, W.M.; CONEJERO, C.I.; GRACIANO, T.S.; VIDAL, L.V.O.;

SEIXAS FILHO, J. T., BRAS, J. M., GOMIDE, A. T. M. *et al.* **Functional Anatomy and Morphometry of the Intestine of Fresh Water Teleoste (Pisces) Surubim (*Pseudoplatystoma coruscans* - Agassiz, 1829)**. **Rev. Bras. Zootec**., v.30, n.6, p.1670-1680, Nov./Dec, 2001.

SEIXAS-FILHO, J. T., BRÁS, J. M., GOMIDE, A. T. M., OLIVEIRA, M. G. A., DONZELE, J. L.; MENIN, E**. Anatomia funcional e morfometria do intestino do Teleostei (Pisces) de água doce surubim (*Pseudoplatystoma coruscans, Agassiz*,** 1829). Revista Brasileira Zootecnia, 30 (6): 01-13, 2003.

SILVA, F.C.P.; BRITO, M.F.G.; FARIAS, L.M. et al. **Composition and antagonistic activity of the indigenous intestinal microbiota of *Prochilodus argenteus Agassiz***. J. Fish Biol., v.67, p.1686-1698, 2005.

SINHA, G.M. AND S.K. MOITRA, 1975. **Functional morpho-histology of the alimentary canal of an Indian freshwater major carp, *Labeo rohita* (Ham.), during its different life history stages.** Anat. Anz., 138: 222-239.

SINHA, G.M. AND S.K. MOITRA, 1976. **Studies on the morpho-histology of the alimentary canal of freshwater fishes of India. I. The alimentary canal of young *Cirrhinus reba* (Ham.) with a comparison with that of the adult in relation to food.** Vestn. Spol. Zool., 40: 221-231.

SON, V.M.; CHANG, C.C.; WU, M.C.; GUU, Y.K.; CHIU, C.H. & CHENG, W. (2009). **Dietary administration of probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides***. Fish & Shellfish Immunology, 26(5):691-8.

VERSCHUE RE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P. & VERSTRAETE, W. (2000). **Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture.** Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64(4):655-71.

VINE, N.G.; LEUKES, W.D.; KAISER, H.; DAYA, S.; BAXTER, J. & HECHT, T. (2004). **Competition for attachment of aquaculture candidate probiotic and pathogenic bacteria on fish intestinal mucus.** Journal of Fish Diseases, 27:319- 26.

WATKINS, B.A. & MILLER, B.F. (1983). **Competitive gut exclusion of avian pathogens by *Lactobacillus acidophillus* in gnotobiotic chicks.** Poultry Science, 61(9):1772-9

YAN, L.; BOYD, K.G. & BURGESS, J.G. (2002**). Surface attachment induced production of antimicrobial compounds by marine epiphytic bacteria using modified roller bottle cultivation**. Marine Biotechnology, 4(4):356- 66.

ADAMANTE, W. B. **Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of transportation**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 755-761, 2008.

AKINBOWALE, O.; PENG, H.; BARTON, M. 2006. **Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia**. Journal of Applied Microbiology, Oxford, v. 100, n. 5, p. 1103 1113,

AL-HARBI, A.H. 2011. **Molecular characterization of Streptococcus iniae isolated from hybrid tilapia (Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus)**. Aquaculture, v.312, p.15-18.

ALY, S.M,; MOHAMED, M.F.; JOHN, G. 2008. **Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia niloticus (Oreochromis niloticus).** Aquaculture Research, v.39, i.6, p.647-656.

AMABILE-CUEVAS, C., GARDENAS-GARCIA, M., LUDGAR, M. 1995. **Antibiotic resistance**. American Science, v.83, p.320–329.

AMERICAN ACADEMY OF MICROBIOLOGY. (1999). **Antimicrobial Resistance, an Ecological Perspective**. Washington, DC: American Society for Microbiology.

AMORES, R.; CALVO, A.; MAESTRE, J. R.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, D. **Probióticos**. Revista Espanhola de Quimioterapia, v.17, n.2, p. 131-139, 2004.

AOKI, T. 1992. **Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan**. In: SHARIFF, M.,SUBASIGHE, R.P., ARTHUR, J.R. Eds. Diseases in Asian Aquaculture**,** v.1., Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 519–529.

ARAUJO, L. O.; SANGIONI, L. A.; BOTTON, A. S.; VOGEL, F. S. F. **Considerações a respeito do controle da difilobotríase, uma importante zoonose de pescado**. Boletim Informativo Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM, v. 3, n. 3, p. 6-8, 2009.

ARELLANO, J.M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. **Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the senegales sole solea senegalensis.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 44, n. 1, p. 62-72, 1999.

AU, D.W.T. **The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review.** Marine Pollution Bulletin, v. 48, n. 9-10, p. 817-834, 2004.

AUSTIN, B., AUSTIN, D.A., 1999. **Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish**. 3a. Ed. Revisada. Ed. Springer- Praxis, Godalming.

AYROZA, L.M.S.; ROMAGOSA, E.; VERANI, J.R.; SALLES, F.A.; AYROZA, D.M.M.R. **Efeito da densidade de estocagem e do nível proteico da ração sobre o peso médio, produção e sobrevivência de *tilápias do Nilo, Oreochromis niloticus* criadas em tanques-rede.** In: AQUACIÊNCIA, 2006, Bento Gonçalves, RS. Anais eletrônicos... Bento Gonçalves: Aquaciência, 2006. 1 CD-ROM.

BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRES, A. P. M.; REZENDE, A. C. V.; STRINGHETA, P. C. **Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana** – parte 1. Nutrir Gerais – Revista Digital de Nutrição, v. 2, n. 3, p. 1-20, 2008.

BAIRAGI, A.; GHOSH, K.S.; SEM, S.K. & RAY, A.K. (2002). **Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts**. Aquaculture International, 10 (2):109- 21.

BARBOSA, T.M.; SERRA, C.R.; RAGIONE, R.M.; WOODWARD, M.J. & HENRIQUES, A.O. (2005). **Screening for Bacillus isolates in the broiler gastrointestinal tract.** Applied and Environmental Microbiology, 71(2):968-78.

BENGSTON, 1993 D. A. **A comprehensive program for the evaluation of artificial diets**. Journal World Aquaculture Society, v. 24, p. 285-293, 1993.- BOLETIM estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2010. Brasília, DF: Ministério da Pesca e Aquicultura, 2012. 129p. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%C3%ADstico%20MPA%202010. pdf>. Acesso em: 10 nov. 2012.

BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W. et al. **Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution.** J. Fish Dis., v.22, p.25-34, 1999.

BORGES, A.M. et al. (2005). **Produção de populações monossexo macho de *tilápia-do-Nilo* da linhagem *Chitralada*.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Rio de Janeiro, v.40, n.2, p. 153-159.

BOMBONATO, M.T.S.; ROCHEL, S.S.; VICENTINI, C.A.; VICENTINI, I.B.F. **Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus***. Acta Scientiarum – Biological Sciences, v. 29, n. 1, p. 81-85, 2007.

BORGHETTI, J. R.; SILVA, U. A. T**. Principais sistemas produtivos empregados comercialmente.** In: OSTRENSKY, Antônio; BORGHETTI, José Roberto; SOTO, Dóris (eds.). Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília, 2008. p. 73-94.

BOSCARDIN, N. R. **A produção aquícola brasileira**. In: OSTRENSKY, Antônio; BORGHETTI, José Roberto; SOTO, Dóris (eds.). Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília, 2008. p. 27-72.

BOWEN, S. H. **Feeding digestion and growth - qualitative considerations**. In: PULLIN, R. S. V.; LOWE-MCCONNELL, R. H. (Eds.). The biology and culture of tilapias: Manila: ICLARM, pp. 141 156. (ICLARM Conferencie Proceedings), 1982.

BOYD C. E, MASSAUT L. (1999). **Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture**. Aquaculture Engeneering, 20, 113-132.

BRANDÃO, F.R.; GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C.; ARAÚJO, L.D. 2004. **Stocking density of tambaqui juveniles during second growth phase in cages**. Pesquisa Agropecuária Brasileira 39: 357 362 (in Portuguese, with abstract in English).

BRASIL 2013. Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011. Ministério da pesca e aquicultura. Disponível em <http://www.mpa.gov.br> Acesso em 14 out. 2017.

BUCHANAN, J.T.; SIMPSON, A.J.; AZIZ, R.K.; LIU, G.Y.; KRISTINA, M.K.; FERAMISCO, J.; NIZET, V. 2005. **DNase expression allows the pathogen group A Streptococcus to escape killing in neutrophil extracellular traps.** Current Biology, v.16, p.396-400. Chemo sp. here, Oxford, v. 75, n. 4, p. 417-434, 2009a. Contamination and Toxicology, New York, v. 36, n. 1, p. 1-6, 1999. Departamento de Química, Faculdade de Ciências, Universidade Estadual Paulista, CP 473, 17033-360 Bauru-SP.

BUDDINGTON, R. K.; KROGDAHAL, A.; BAKKEMCKELLEP, A. M. **The intestine of carnivorous fish: structure, functions, and the relations with diet**. Acta Physiology Scandinavica, v. 638, p. 67 80, 1997.

CÂMARA, M.R.; CHELLAPPA, S. **Regime alimentar e adaptações morfoanatômicas do trato digestivo de três espécies de Ciclídeos (Pisces: *Cichlidae***). Boletim do DOL/CB/UFRN, v.9, pp. 59 66. 1996.

CARNEIRO, P. C.; URBINATI, E. C.; MARTINS, M. L. **Transport with different benzocaine concentrations and its consequences on hematological parameters and gill parasite population of *matrinxã Brycon cephalus* (*Günther,* 1869) (*Osteichthyes, Characidae*).** Acta Scientiarum, Maringá, v. 24, n. 2, p. 555-560, 2002.

GASTALHO, S.; SILVA, G. J. D.; RAMOS, F. **Antibiotics in aquaculture and bacterial resistance: Health care impact.** Acta Farmacêutica Portuguesa, v. 3, n. 1, p. 28-44, 2014.

COSTA, C. et al. **Toxicity in aquatic environments: discussion and evaluation methods quimic**. Nova, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

DELLA FLORA, M. A. L.; MASCHKE, F. S.; DILKIN, P.; SANGIONI, L.A.; BOTTON, S. A. **Ichthyophthirius Multifiliis e Lernaea Cyprinacea, problemas à produção intensiva de peixes**. Boletim Informativo Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM, v. 3, n. 3, p. 9-16, 2009.

DIAS, D.C.; Stéfani., M.V.; Ferreira, C.M. & França, F.M. **Uso de probióticos em ração de rã-touro (*Rana catesbeiana*): desempenho produtivo**. Archivos de Zootecnia, 57(220):449-55. 2008

DINIZ, N. M.; HONORATO, C. A. **Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo** - revisão. Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 149-154, jul. /dez. 2012.

DOBREVA DA, MERDZHANOVA A, MAKEDONSKI L**. Fat soluble nutrients and fatty acids in skin and fillet of farmed rainbow trout.** Bulg Chem Commun. 2017; 49 (G):118-23.

DOMEÉNECH, A.; DERENAÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J.F.; PASCUAL, C.; GARCIA, J.A.; CUTULI, M.T.; COLLINS, M.D.; DOMINGUEZ, L. **Streptococcosis in culture turbot, *Scopthalmus maximus* (L.) associated with *Streptococcus parauberis*.** Journal of Fish Diseases, v. 19, i.1, p.33-38. 1996

DOMENEGHINI, C.; ARRIGHIA, S.; RADAELLI, G.; BOSIA, G.; VEGGETTI, A**. Histochemical analysis of glycoconjugate secretion in the alimentary canal of Anguilla anguilla L**. Acta Histochemical, v. 106, n. 6, p. 477–487, 2005.

EMBRAPA - Pesca e aquicultura - **Estudo avalia tempo necessário para a eliminação de antibiótico por tilápias**, Portal Embrapa (Versão 3.59.1) p.01. 2018

EVANS, J. J.; KLESIUS, P. H.; PASNIK, D. J.; BOHNSACK, J. F. ***Human Streptococcus agalactiae* isolate in *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*).** Emerging Infectious Diseases, v. 15, n. 5, p. 774-776, 2009

EVANS, J. J.; PASNIK, D. J.; PERES, H.; LIM, C.; KLESIUS, P. H. **No apparent differences in intestinal histology of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed heat-treated and non-heattreated raw soybean meal.** Aquaculture Nutrition, v. 11, n. 2, p. 123-129, 2005.

FAGUNDES, M. **Respostas fisiológicas do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) a estressores comuns na piscicultura**. 2005. 66 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

FANTA, E.; RIOS, F.S.; ROMÃO, S.; VIANNA, A.C.C.; FREIBERGER, S. **Histopathology of fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food**. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 54, n. 2, p. 119-130, 2003.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. (2014b). Fishery and aquaculture statistics. Roma: FAO yearbook, 2012.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Global aquaculture production statistics 2009.

FAO. **State of world fisheries and aquaculture**. Rome, 2009, .State of world fisheries and aquaculture. Rome, 2012. 230 p.

FAO. **The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges**. Rome:. 243 p, 2016

FARIAS I.P, ORTI G, SAMPAIO I, SCHNEIDER H E MEYER A. 2000 – **Mitochondrial DNA phylogeny of the family Cichlidae: Monophyly and fast molecular evolution of the Neotropical assemblage.** Journal of Molecular Evolution 48: 703-711.

FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., IZQUIERDO, M., ROBAINA, L., VALENCIA, A., SALHI, M. AND MONTERO, D. **The effect of dietary protein and lipid from squid and fishmeals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*).** Aquaculture, 148: 213-246. 1997

FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., IZQUIERDO, M., ROBAINA, L., VALENCIA, A., SALHI, M. AND VERGARA, J. **Effect of n3 HUFA level in bloodstock diets on egg quality of gilthead seabream *Sparus aurata L***. Aquaculture, 32: 325-337. 1995.

FERNANDEZ-TORRES, R. **Enzymatic-microwave assisted extraction and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of selected veterinary**

antibiotics in fish and mussel samples. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Oxford, v. 54, n. 5, p. 1146-1156, 2011.

FIGUEIREDO, H.C.P.; CARNEIRO, D.O.; FARIA, F.C.; COSTA, G.M. 2006. ***Streptococcus agalactie*** **associado à meningoencefalite e infecção sistêmica em *tilápia do Nilo* (*Oreochromis niloticus*)** no Brasil. Arquivos Brasileiros em Medicina Veterinária e Zootecnia, 58(4): 678-680.

FIGUEIREDO JÚNIOR, C. A.; VALENTE JÚNIOR, A. S. **Cultivo de tilápias no Brasil: origens e cenário atual.** IN: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 46, Rio Branco. Anais... Rio Branco: SOBER, 2008.

FLEMMING, J.S.; **Utilização de Leveduras, Probióticos e Mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. 2005. 109 f. Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

FRANCI, C.R. 2005. Stress: **Process Adaptive and Non-Adaptive = Estresse: Processos Adaptativos e Não-Adaptativos.** In: Antunes, R.J.; Moreira, A.C.; Elias, L.L.K.; Castro, M**. Basic and Applied Neuroendocrinology = Neuroendocrinologia Básica e Aplicada**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, Brazil (in Portuguese).

FULLER, R. (1977). **The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop**. Brazilian Poultry Science, 18(1):85-94.

FULLER, R. (1989). **Probiotics in man and animals: a review**. Journal of Applied Bacteriology, 66:365-78.

FULLER, R., (1992). **History and development of probiotics**. In: Fuller, R. Probiotics: the Scientific Basis, Chapman & Hall, London, 232, 1–18

FURLAN, R.L., MACARI, M., LUQUETTI, B.C. **Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva.** In: 5° SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO. Balneário Camboriú, SC. 2004

FURLAN R.L. 2005. **Avaliação e uso de prebiótico e probióticos.** Anais Simpósio Brasil Sul de Avicultura, Chapecó, p.58-74. (Resumo)

GALHARDO, R.; OLIVEIRA, R. **Bem-estar animal: um conceito legítimo para peixes?** Revista de Etologia, Ribeirão Preto, v. 8, n. 1, p. 51-61, 2006.

GARCIA, F. **Stocking density of *Nile tilapia* in cages placed in a hydroelectric**. 2013

GATESOUPE FJ. **The use of probiotics in aquaculture**. Aquaculture, 180:147-165, 1999.

GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. **Atlas of fish histology**. Science Publishers, Enfield, NH, USA. 2009.

GERNHÖFER, M.; PAWERT, M.; SCHRAMM, M.; MÜLLER, E.; TRIEBSKORN, R. **Ultraestructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams**. Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery, v. 8, n. 3-4, p. 241-260, 2001.

GIMBO, R. Y. **Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do Lambari do Rabo Amarelo (*Astyanax altiparanae*).** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, v. 9, n. 2, p. 350-357, 2008.

GINGERICH, W.H. e DALICH, G.M. **An evaluation of liver toxicity in rainbow trout following treatment with monochlorobenzene.** Proc. West Pharmacol. Soc., 21: 475 480. 1982

GOLDSTEIN, R.J. **Cichlids of the world**. T.F.H. Publications. Neptune City, NJ. 382 p. 1988.

GOMES, L. C. et al. **Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasilia, v. 38, n. 2, p. 283-290, 2003.

GOMEZ-GIL, B.; ROQUE, A. **The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms**. Aquaculture 191, 259–270, 1998

GRAM, L.; LOVOLD, T.; NIELSIN, J.; MELCHIORSEN, J.; SPANGGAARD, B. 2001. **In vitro antagonism of the probionte *Pseudomonas fluorescens* strain AH2 against *Aeromonas salmonicida* does not confer protection of salmon against furunculosis**. Aquaculture, v.199, p.1-11.

GROSELL, M.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. **The multifunctional gut of fish**. In: GROSELL, M.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. Fish Physiology, v.30, 444 p. 2011.

GUARNIER, F.; MALAGELADA, J.R. **Gut flora in health and disease**. The Lancet, v. 360, p. 512-519, 2003.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M.S. **Effect of chemotherapy, vaccines and immunostimulants on innate immunity of goldfish infected with *Aeromonas hydrophila***. Diseases of Aquatic Organisms, v.46, p.47-55. 2010

HEUER, O. et al. **Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture**. Clinical Infectious Diseases, Chicago, v. 49, n. 8, p. 1248-1253, 2009.

HIBIYA, T. **An atlas of fish histology: Normal and pathological features**. New York: Kodansha Tokyo, 1982. 147 p

HINTON, D.; LAURÉN, D**. Integrative histopathological approaches to detecting effects of Environmental stressors on fishes.** Am. Fish. Soc. Symp., v.8, p.51-66, 1990.

HISANO, H.; SILVA, M.D.P.; BARROS, M.M. & PEZZATO, L.E. (2006). **Levedura íntegra e derivada de seu processo em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos**. Acta Scientarum Biology Science, 28(4):311- 8

HONORATO C.A., ALMEIDA L.C. & MORAES G. 2013. PROCESSAMENTO DE DIETA: **Seus efeitos no aproveitamento de carboidratos para peixes.** Revta eletrôns Nutritime 10(5) 2700 – 2715

HONORATO C.A., ASSANO M., CRUZ C., CARNEIRO D.J. & MACHADO M.R.F. 2013. **Histologia do intestino de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteínas**. Nucleus Animalium 5(1):85-92.

HOROWITZ A & HOROWITZ S. **Efficacy of probiotics in grows out systems**. The Adv., 3: 6-12, 2000

HOSHINO, T.; SANO, T.; MORIMOTO, Y. 1958. **A Streptococcus pathogenic to fish.** Journal of the Tokyo University of Fisheries, v.44, p.57-58. in animal feed. Animal Feed Science and Technology, Amstefam, v. 133, n. 1-2, p.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa pecuária municipal. Rio de Janeiro: IBGE, 2013. Disponível em: Acesso em: 28 jun. 2016.

INOUE, L. A. K. A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. **Assessment of 2-phenoxyethanol and benzocaine as anesthetics for field procedures in matrinxa (*Brycon cephalus*)**. Biodiversidade Pampeana, Uruguaiana, v. 2, p. 10-15, 2004.

INOUE, L.A.K.A. et al. **Effects of clove oil on the stress response of matrinxa (Brycon cephalus) subjected to transport.** Acta Amaz. Manaus, v. 35, n. 2, p. 289-295, 2005.

IRIANTO & AUSTIN B. **Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum).** J. Fish Dis., 25: 333-342, 2002.

JOBLING, M. **Environmental biology of fishes.** Fish and Fisheries Series 16. London: CHAPMAN & HALL. 1995. 455p.

KAPOOR, B. G.; SMIT, H.; VERIGHINA, I. A. **The alimentary canal and digestion in teleosts**. Advances in Marine Biology, v. 13, pp. 109–239, 1975.

KARKOW, F.J; FAINTUCH, J**. Probióticos: perspectivas médicas**. Revista da AMRIGS, v. 51, n. 1, p. 38-48, 2007.

KESARCODI-WATSON, A.; KASPAR, H.; LATEGAN, M.J. & GIBSON, L. (2008). **Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes.** Aquaculture, 274(1):1-14.

KHACHATOURIANS, G.G. (1998). **Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria.** Canadian Medical Association Journal, 159, 1129–1136.

KLESIUS, P.H.; SHOEMACKER, C.A.; EVANS, J.J. 2000. **Efficacy of single and combined Streptococcus iniae isolate vaccine administered by intraperitoneal and intramuscular routes in tilapia (*Oreochromis niloticus*).** Aquaculture, v.188, p.237–246.

KOZASA, M. (1989). **Probiotics for animal use in Japan.** Technique de La Office Internacional des Epizooties, 8(2):517-31

KUBITZA, F. **A evolução da tilapicultura no Brasil: produção e mercados**. Panorama da Aquicultura, v.13, n.76, p.25-35, 2003.

KUBITZA, F. Açude de Orós: tilapicultura consolida desenvolvimento econômico e social, mas piscicultores ainda lutam por licenciamento. Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro,v. 21, n. 127, p. 15-21, 2011.

KUBITZA, F. **Tilápias: Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade**. Parte I. Panorama da Aquicultura, v.10 n.59 pp.45-47. 2000

KUBITIZA, F. **Produção de tilápias em tanques de terra estratégias avançadas no manejo**. Revista Panorama da Aquicultura, v. 19, n. 115, pp. 14-21. 2009.

KUBITZA, F., **Qualidade da água na produção de peixes**. Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro, 8 (46): 35-41, 1998.

KUBITZA, F. **Recria e engorda de tilápias em viveiros escavados**. Jundiaí: Acqua Imagem, 2012.

KUMMERER, K.; **Significance of antibiotics in the environment**. J. Antimicrobial. Chemoth, 52 (2009a), pp. 5-7 CrossRefView Record in Scopus

KUPERMAN, B. I.; KUZ'MINA, V. V. **The structure of the intestinal epithelium in fish with different types of feeding**. Journal Fish Biological, v. 44, n. 2, p. 181-193, 1994

KURCHEVSKI, G.; CASIMIRO, A. C. R.; ASHIKAGA, F. Y.; ORSI, M. L. **Espécies introduzidas como vetores de patógenos e parasitas.** Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia, v. 38, n. 1, p. 1-6, 2010.

LARAYER, A. **Introdução ao tema probióticos:** estágio atual das pesquisas no Brasil. In Fibras, Prebióticos e Probióticos. ILSI Brasil: São Paulo, 2005.

LIMA, L. C. **Doenças de importância econômica em piscicultura.** In: SEMINÁRIO DE AVES E SUÍNOS – AVESUI REGIÕES, 7.; SEMINÁRIO DE AQUICULTURA, MARICULTURA E PESCA, 3., 2007, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte, 2007. p. 09-12.

LIQUORI, G. E.; MASTRODONATO, M.; ZIZZA, S.; FERRI, D**. Glycoconjugate histochemistry of the digestive tract of *Triturus carnifex* (*Amphibia, Caudata*).** Journal Morphology Histology, v. 38, n. 3, p. 191-199, 2007.

LUNDSTEDT, L. M. **Aspectos adaptativos dos processos digestivo e metabólico de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) arraçoados com diferentes níveis de proteína e energia**. 2003. 140 f. Tese (Doutorado em Genética e Evolução) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

LUQUET, P.; WATANABE, T. **Interaction "Nutrition-Reproduction" In Fish**. Fish Physiology and Biochemistry, v. 2, 1986. p. 121-129

LUTZHOFT, H.; HALLING-SORENSEN, B.; JORGENSEN, S. **Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming.** Archives of Environmental. 1999.

MALLAT, J. 1985. **Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review.** Canadian Journal of Fisheries e Aquatic Sciences 42: 630-648.

MARTINS, F.S.; TIAGO, F. C.P.; BARBOSA, F.H.F.; PENNA, F.J.; ROSA, C.A.; NARDI, R. M.D.;

NEVES, M.J.; NICOLI, J.R. **Utilização de leveduras como probióticos**. Revista de Biologia e Ciências da Terra, v. 5, n. 2, p.14-20, 2005.

MCNULTY, S.; KLESIUS, P.; SHOEMACKER, C. 2003. **Hematological changes in *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*) infected with *Streptococcus iniae* by nare inoculation**. Journal of the World Aquaculture Society, v.34, n.3, p. 418-422.

MEYERS, T.R. e HENDRICKS, J.D. 1985 Histopathology. In: RAND, G.M. e PETROCELLI, S.R. (Ed.) **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. Washington: Hemisphere Pub. p. 283-331.

MONTEIRO, S.M.; FONTAINHAS FERNANDES, A.; SOUSA, M. 2004. **Caracterização morfológica e ultraestrutural do epitélio branquial de peixes teleósteos**. Rev. Port. Zootec, V.XI, p.13-36.

MONTEIRO, S.M.; MANCERA, J.M.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; SOUSA, M. 2005. **Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of Oerochromis niloticus**. Comparative Biochemistry Physioloy. Part C. Toxicology & Pharmacology 141: 375-383

MOURA. MIRIAN RIBEIRO LEITE E REYES, FELIX GUILLERMO REYES.2002. **Interações entre medicamentos e alimentos Interação fármaco-nutriente**: **uma revisão**. Rev. Nutr. [online]. maio/ago. 2002, vol.15,no.2

NAVARRO, R.D.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; MATTA, S.L.P. DA; SOUZA, M.A. 2007. Níveis de energia digestível da dieta sobre o desempenho de piauçu (*Leporinus macrocephalus*) em fase pós-larval. Acta Scientiaruam. Animal Sciences, v.29, p.109-114.

NAYAK, S. 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. Fish Shellfish Immunol, 29: 2-14.

OBA, E.T.; MARIANO, W.S.; SANTOS, L.R.B. 2009. **Stress in farmed fish: mitigating and aggravating for the profitable management. Estresses em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável.** p. 226-247. In: Tavares-Dias, M., ed. **Management and health of fish farming = Manejo e sanidade de peixes em cultivo.** EMBRAPA, Macapá, AP, Brazil (in Portuguese).

OBA, T. E; MARIANO, S. W.; ROMAGUEIRA, L. **Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável.** Macapá: Embrapa, 2009.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO J.H.A. & SAAD, S.M.I. (2002). **Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, p.38 (1):1-21.

OLIVEIRA, R. F.; GALHARDO, L. **Sobre a aplicação do conceito de bem-estar a peixes teleósteos e implicações para a piscicultura.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 36, suplemento especial, p. 77-86, 2007.

OLIVEIRA et al. **Persistent *Streptococcus agalactiae* infection induced by florfenicol therapy in *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*).** Submetido para publicação, 2007.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo. Guaíba: Agropecuária, 211p, 1998.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D**.** Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília: Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca/FAO, 2008.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, V. Piscicultura: Fundamentos e Técnicas de Manejo. Guaíba: Agropecuária, 1998.

OUATTARA, N.I. *et al*. Aquaculture potential of the black-chinned tilapia, Sarotherodon melanotheron (Cichlidae). Comparative study of the effect of stocking density on growth performance of landlocked and natural populations under cage culture conditions in Lake Ayame. Aquaculture Research, v.34, p.1223-1229, 2003.

OZAWA, K.; YABU-UCHI, K. & YAMANAK, K. (1978**). Antagonistic effects of Bacillus natto and Streptococcus faecalis on growth of *Candida albicans*.** Microbiology Immunology, 23(12):1147-56.

PERERA, R.P.; JOHNSON, S.K.; COLLINS, M.D.; LEWIS, D.H. **Streptococcus iniae associated with mortality of *Tilapia nilotica T. aurea* hybrids**. Journal of Aquatic Animal Health; v.6, p.335-340. 1994

PIEDADE, K. R. **Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) processados.** Piracicaba, 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2007

PIER, G.B.; MADIN, S.H. ***Streptococcus iniae* sp. Nov., a *Beta-Hemolytic Streptococcus* isolated from an Amazon freshwater dolphin, Inia geoffrensis.** International Journal of Systematich Bacteriology, v.26, n.4, p.545-553. 1976.

PLANAS, M. & CUNHA, I. **Larviculture of marine fish: problems and perspectives**. Aquaculture, 177(1):171-90 reservoir. Aquaculture, Amsterdam, v. 410, p. 51-56, 1999.

POPMA T., LOVSHIN L. **Aspectos relevantes da biologia e do cultivo das Tilápias**. Panorama da Aquicultura, v.5. N.22, p.8-13. 1995.

POPMA, T.J.; LOVSHIN, L.L. **Worldwide prospects for commercial production of tilapia.** International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Auburn, AL, USA. 1995.

PORTAL BRASIL, com informações do Ministério da Agricultura. 2013.

RAŠKOVIÉ, B.S.; STANKOVIÉ, M.B.; MARKOVIÉ, Z.Z.; POLEKSIÉ, V.D. 2011. **Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish**. Journal of Agricultural Sciences 56: 87-100.

RAWLING, M. D., MERRIFIELD, D. L., DAVIES, S. J. **Preliminary assess ment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (Oreochromis niloticus) growth performance and health**. Aquaculture, 194, 118-122. 2009

RESENDE, E.K. **Research in network in aquaculture: technological basis for sustainable development of aquaculture in Brazil.** Aquabrasil. Revista Brasileira de Zootecnia 38: 52-57 (in Portuguese, with abstract in English). 2009.

RIBEIRO, R.P. Espécies exóticas. In: MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; ZIMMERMANN, S. (Org.). **Fundamentos da moderna aquicultura**. Canoas: Ulbra, Cap.11, p.91-121. 2001.

RIVERA – TAPIA, J. A. **Antibiotic resistance, public health problem**. An. Med. Hosp. ABC. V. 48, p. 42-47, 2003.

ROMARHEIM, O. H.; ZHANG, C.; PENN, M.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; SKREDE, A.; KROGDAHL, A.; STOREBAKKEN, T. **Growth and intestinal morphology in cobia (Rachycentron canadum) fed extruded diets with two types of soybean meal partly replacing fish meal**. Aquaculture Nutrition, v. 14, n 2, p. 174-180, 2008.

ROTTA, M. A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura.** (Documentos / Embrapa Pantanal), Corumbá - Pantanal, 48 p. 2003.

RUSSO, R.; MITCHELL, H.; YANONG, R, P. E. **Characterization of Streptococcus iniae isolated from ornamental cyprinid fishes and development of challenge models**. Aquaculture, v. 256, p. 105 110. 2006.

RUST, M. B. Nutritional Physilogy. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Ed.). **Fish Nutrition.** New York; Academic Press, pp. 367-452, 2002.

SAKAI M. **Current research status of fish immunostimulants**. Aquaculture; 172:63–92. 1999

SALEH, H. H. **Fish liver as indicator of aquatic environmental pollution**. Bull. Inst. Oceanography. & Fish. v. 8, p. 69 – 79, 1982.

SALVADOR, R.; MULLER, E.E.; FREITAS, J.C.; LEONHARDT, J.H.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; DIAS, J.A. **Isolation and characterization of Streptococcus spp. group B in *Nile tilapias* (*Oreochromis niloticus*) reared in hapas and earth nurseries in the northern region of Paraná State in Brazil.** Ciência Rural, v.35, n.6, p. 1374-1378. 2005.

SAMPAIO, F.G.; LOSEKANN, M.E.; LUIZ, A.J.B.; NEVES, M.C.; FRASCÁ-SCORVO, C.M.D.; RODRIGUES, G.S. 2013. **Environmental monitoring and management of fish farming in cages in reservoirs. Monitoramento e gestão ambiental da piscicultura em tanques-rede em reservatórios**. Informe Agropecuário 34: 1-11 (in Portuguese).

SANDERS, M. E. **Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria.** Internacional Dairy Journal, 8, issue 5-6, 341-347. 1998.

SANTOS SILVA. M.J. **Efeito da amônia e do nitrito em Tilápias *Oriochromis niloticos* mantida em baixa salinidade** – 14-15p. 2013

SANTOS, D.M.S. **Water quality and fishes organs histopatology originated from Itapecuru Mirim, Maranhão fish farm pounds = Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim, Maranhão**. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brazil. Available at: http://www.fcav.unesp.br/download/pg trabs/pan/d/127. PDF Accessed Aug 22, 2011 (in Portuguese). 2010

SCHMITTOU, H.R. **High density fish culture in low volume cages**. American Soybean Association, Singapore, SGP. 1993

SHELBY, R.A.; KLESIUS, P.H.; SHOEMAKER, C.A.; EVANS, J.J. **Passive immunization of tilapia, Oreochromis niloticus (L.), with anti-Streptococcus iniae whole sera.** Journal of Fish Diseases, v. 25, p.1-6. 2002

SHOEMAKER, C., KLESIUS, P. **Streptococcal disease problems and control e a review.** In: Fitzsimmons K, editor. Tilapia aquaculture, vol. 2. Ithaca, NY: Northeast Regional Agricultural Engineering Service;. p. 671 e 82. 1997

SHOEMAKER, C.A.; KLESIUS, P.H.; EVANS, J.J. **Prevalence of Streptococcus iniae in tilapia, hybrid striped bass, ans channel catfish on commercial fish farms in the United States**. American Journal of Veterinary Research, v.62, n.2, p.174-177. 2001

SILVEIRA, U.S; LOGATO, P.V. R; PONTES, E.C.; **Fatores estressantes em peixes**. Revista Eletrônica Nutritime, v.6, n° 4, p.1001 – 1017 julho/agosto, 2009.

SINDAM (2016). Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Saúde Animal. Compêndio de Produtos Veterinários. Disponível em http://www.cpvs.com.br/cpvs/pesquisar.aspx. Acessado em 24/08/2016.

SIWICKI, A.K.; ANDERSON, D.P.; DIXON, O.W. **In vitro immunostimulation of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) spleen cells with levamisole.** Developmental and comparative immunology, v.14, p. 231-237. 1990

SMITH, L. S. In: HALVER, J. E. (Ed.). **Fish Nutrition**, San Diego: Academic press, p. 798, 1989.

SORUM, H.; ABÉE-LUND, T.M. **Antibiotic resistance in food-related bacteria _ a result of interfering with the global web of bacterial genetics.** Int. J. Food Microbiol., v.78, p.43-56. 2002.

SOTO, E; ENDRIS, R.G.; HAWKE, J.P. **In vitro and in vivo efficacy of florfenicol for treatment of *Francisella asiatica* infection in tilapia**. Antimicrob. Agents Chemother. v. 54, p/ 4664-4670, 2008.

SUBASINGHE, R. **Fish health and quarantine**. In: Review of the state of the world aquaculture. Rome: FAO. p.45-9. 1997

TAKAHASHI, S. L. et al**. Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*.** Acta Scientiarum Animal Sciences, Maringá, v. 28, n. 4, p. 469-475. 2000.

TANNOCK GW. **Analysis of the intestinal microflora**: A renaissance. Antonie van Leenwenhoek, 76: 265-278. 1999

TEH, S.J.; Adams, S.M.; Hinton, D.E. 1997. **Histopathological biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress.** Aquatic Toxicology 37: 51-70. ok

TELES, J. A. & REYES, F. G. R. **Antimicrobianos na piscicultura: uso e aspectos regulatórios no Brasil**. In: MADI, R. R.; CAMPOS, C. M.; LIZAMA, M. A. P. TAKEMOTO, R. M. Patologia e Sanidade em Ambientes Aquáticos. Maringá, p. 245- 268. 2014

TORRES, R.G.A.; GONZÁLEZ, P.S.; PEÑA, S.E. **Anatomical, Histological and Ultraestructural Description of the gills and liver of the tilapia (*Oreochromis niloticus*). International.** Journal of Morphology 28: 703-712 (in Spanish, with abstract in English). 2010.

TORRES, D. E.; **Avaliação dos efeitos de microrganismos probióticos sobre o desempenho zootécnico, hematológico e tolerância ao estresse da truta do arco-íris** (2014. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia Industrial, Microbiologia, Universidade de São Paulo, Lorena. 2014

TROMBETA, T. D.; TROMBETA, R. D.; MATTOS, B. O. **Criação de tilápias em viveiros escavados:** guia técnico para empreender na criação de tilápias em viveiros. Brasília: Projeto Aqui Nordeste/SEBRAE, 2015. 96 p.

TURRA, E. M.; OLIVEIRA, D. A. A.; TEIXEIRA, E. A.; LUZ, R. K.; PRADO, S. A.; MELO, D. C.; FARIA, P. M. C.; SOUSA, A. B. **Controle reprodutivo em *tilápias do Nilo* (*Oreochromis niloticus*)**

por meio de manipulações sexuais e cromossômicas. Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.34, n.1, p.21-28, 2010.

VAL, A.L.; MENEZES, A.C.L.; FERREIRA, M.S.; SILVA, M.N.P.; ARAÚJO, R.M.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. **Stress in fish: built for survival and adaptation responses = Estresse em peixes: respostas integradas para a sobrevivência e a adaptação.** p. 211-228. In: Souza-Silva, A.T., ed. **Health of Aquatic Organisms in Brazil** = **Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil**. ABRAPOA, Maringá, PR, Brazil (in Portuguese). 2006

VALLADÃO, G. M. R.; GALLANI, S. U. & PILARSKI, F. 2015. **Phytotherapy as an alternative for treating fish disease.** Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, v. 38, n. 5, p. 417-428

VENDRELL, D.; BALCAZAR, J.L.; DE-BLAS, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; GIRONES, O.; MUZQUIZ, J.L. **Protection of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) from lactococcosis by probiotic bacteria.** Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, 31, 337-345, 2008

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W 2000: **Probiotic bacteria as biological control agents in aquiculture.** Microbiology and Molecular Biology Review, v.64, n.4, p. 655-671.

VICENTINI, C.A.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B.; BOMBONATO, M.T.S.; BERTOLUCCI, B.; LIMA, S.G.; SANTOS, A.S. 2005. **Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus***. International Journal of Morphology 23: 211-216.

VIDAL, L. V. O. **Influência do peso de juvenis de matrinxã (*Brycon cephallus*) e Tambaqui (*Colossoma macropomum*) à ação anestésica do eugenol**. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, v. 8, n. 3, p. 212-216, 2007.

WANG M, LU M. **Tilapia polyculture: a global review**. Aquaculture Research. 2016; 47:2363-74

WATKINS, B.A. & MILLER, B.F. (1983). **Competitive gut exclusion of avian pathogens by *Lactobacillus acidophilus* in gnotobiotic chicks**. Poultry Science, 61(9):1772-9.

WEGENER, H.C., AARESTRUP, F.M., GERNER-SMIDT, P. & BAGER, F. (1999). **Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man.** Acta Veterinarian Scandinavia, Supplementum, 92, 51–57.

WEGENER, H.C; MOLLER, N.F. **Reducing the use of antimicrobial agents in animals and man.** J. Med. Microbial v. 49, p 111 -113. 2000.

WEINSTEIN, M.R.; LITT, M.; KERTESZ, D.A.; WYPER, P.; ROSE, D.; COULTER, M.; MCGEER, A.; FACKLAM, R.; OSTACH, C.; WILLEY, B.M.; BORCZYK, A.; LOW, D.E. 1997. **Invasive infections due to a fish pathogen, *Streptococcus iniae*.** New England Journal of Medicine, v.337, n.9, p.589-594. (1999). Transfer of antibiotic resistant bacteria

WILLIS, C. (2000). **Antibiotics in the food chain: their impact on the consumer**. Reviews in Medical Microbiology, 11, 153–160.

WU, C.C.; LIU, C.H.; CHANG, Y.P; HSIEH, S.L. 2010**. Effects of hot-water extract of *Toona sinensis* on immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Oreochromis mossambicus***. Fish and Shellfish Immunology, v.29, p.258-263

YANG, J. et al, **Simultaneous determination of four classes of antibiotics in sediments of the pearl rivers using RRLC-MS/MS.** Science of the total environment**,** Amisterdam< V. 408, n. 16,p. 3424-3432, 2010

ZANARDI, M. F.; **Fontes de lipídios na reprodução e larvicultura de *tilápia-do-Nilo***. 2011. 100 p. Trabalho de Tese – Universidade estadual de São Paulo - UNESP – CAUNESP, São Paulo, 2011.

ZANIBONI FILHO, E. **Piscicultura das espécies exóticas de água doce**. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.R.; BELTRAME, E. (Org.). Aquicultura: experiências brasileiras. Florianopolis: Multi tarefa, 2004. Cap. XIII, p.309 - 336.

ZELIKOFF, J.T. 1998 **Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals?** Toxicology, 129 (1): 63-71. 84-108, 2007.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A tilápia é a segunda espécie de peixe mais cultivada em água doce e de maior importância na aquicultura mundial, ainda destacando sua boa aceitação no mercado consumidor, sua facilidade na criação em cativeiro, apresentando um crescimento rápido, adaptabilidade bem aceitável, carne de ótima qualidade. Uma piscicultura, localizada no Município de São Miguel de Taipú, Estado da Paraíba, obter no período 5 a 6 meses aproximadamente de 12 a 13 toneladas do pescado por viveiro escavaado, totalizando, uma produção aproximada de 120 a 130 toneladas para serem comercializadas em diversos municípios da Região Nordeste, motivo este da grande importância desse trabalho. Trata-se, portanto, de um alimento consumido por milhões de pessoas, todos os dias, no mundo inteiro. Quanto maior a demanda, maior o interesse de quem produz em dispor de cada vez maiores quantitativos para oferecer, recorrendo para isso a suplementos alimentares que aceleram o crescimento e o ganho de peso. E recorrendo também, é claro, a fármacos para reduzir perdas. Esse trabalho visou estudar o impacto dessas práticas sobre a sanidade dos criatórios. E a estratégia escolhida consistiu em observar em detalhes parâmetros morfológicos do aparelho digestório de espécimes retirados de criatório comercial em viveiro escavado tratados com ração / probiótico com adição de antibiótico.

Com o objetivo de promover saúde, sustentabilidade e segurança alimentar na aquicultura, o uso de probióticos e outros imunoestimulantes na alimentação dos animais de produção, visa à diminuição da utilização de antibióticos e quimioterápicos. O objetivo principal desse pleito é a melhoria da produção e o controle das enfermidades. Os efeitos benéficos promovidos pela adição dos probióticos estão cada vez mais acessíveis aos produtores e são encontrados disponíveis para a grande maioria das espécies de peixes. Além disso, uma ampla diversidade de microrganismos considerados como probióticos já são utilizados na aquicultura e ganham espaço e importância na produção de um alimento rico e saudável.

Algumas propriedades benéficas atribuídas às culturas probióticas necessitam de estudos mais detalhados para serem definitivamente esclarecida, constará se o uso ou não desse suplemento trará realmente benefícios ao animal em estudo. Baseado na gama de informações obtidas deduziu que o programa de profilaxia promovendo a utilização de imunógenos e/ou probióticos permite a obtenção de peixes com melhor qualidade sanitária.

No caso da tilápia, razão da pesquisa, a aplicação do fármaco é controlar doenças que poderiam influir na produção e até mesmo causar mortalidade dos peixes. Se utilizados com consciência e parcimônia, poderão garantir sua eficácia terapêutica por um longo período de tempo e continuar colaborando para expansão da piscicultura. É importante que técnicos e produtores tenham ciência das

implicações produtivas, ambientais e comerciais do uso desses medicamentos. Caso contrário poderão enfrentar problemas hoje ou no futuro. Uma das maiores preocupações com o uso de antibióticos na alimentação do peixe seria o surgimento de bactérias resistentes culminando com a grande possibilidade de serem transferidas para o homem.

Em virtude das poucas informações disponíveis na literatura pertinente ao aspecto estrutural do fígado e principalmente do intestino e seus componentes celulares, após a utilização do probiótico e do antibiótico, considerando que são poucos os critérios utilizados para distinguir com maior precisão a análise morfológica do sistema digestório de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus)*, faz-se necessário o aprofundamento de novas pesquisas buscando alternativas mais seguras tanto para aumentar a produção e a produtividade quanto para garantir a sanidade dos animais criados em tanques escavados, como os que foram focados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

ADAMANTE, W. B. et al. **Stress in Salminus brasiliensis fingerlings due to different densities and times of transportation**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 755-761, 2008.

AKINBOWALE, O.; PENG, H.; BARTON, M. 2006 **Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia.** Journal of Applied Microbiology, Oxford, v. 100, n. 5, p. 1103 1113,

AL-HARBI, A.H. 2011. **Molecular characterization of Streptococcus iniae isolated from hybrid tilapia (Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus)**. Aquaculture, v.312, p.15-18.

ALI-ABADI, F.S.; LEES, P. 2000. Antibiotic treatment for animals: Effect on bacterial population and dosage regimen optimization int J. antimicrobial agents microbial. v. 14, p. 307-314

ALY, S.M,; MOHAMED, M.F.; JOHN, G. 2008. **Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia niloticus (Oreochromis niloticus).** Aquaculture Research, v.39, i.6, p.647-656.

AMABILE-CUEVAS, C., GARDENAS-GARCIA, M., LUDGAR, M. 1995. Antibiotic resistance. American Science, v.83, p.320–329.

AMERICAN ACADEMY OF MICROBIOLOGY. (1999). **Antimicrobial Resistance, an Ecological Perspective**. Washington, DC: American Society for Microbiology.

AMORES, R.; CALVO, A.; MAESTRE, J. R.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, D. Probióticos. Revista Espanola de Quimioterapia, v.17, n.2, p. 131-139, 2004.

AOKI, T. 1992. **Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan**. In: SHARIFF, M.,SUBASIGHE, R.P., ARTHUR, J.R. Eds. Diseases in Asian Aquaculture, v.1., Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 519–529.

ARAUJO, L. O.; SANGIONI, L. A.; BOTTON, A. S.; VOGEL, F. S. F. **Considerações a respeito do controle da difilobotríase, uma importante zoonose de pescado.** Boletim Informativo Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM, v. 3, n. 3, p. 6-8, 2009.

ARIAS, I.M.; JAKOBY, W.B.; POPPER, H.; SCHACHTER. D.; SCHAFRITZ, D.A. 1998. **The liver: biology and pathobiology.** New York: Raven Press.

AUSTIN, B., AUSTIN, D.A., 1999. **Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish**. 3a. Ed. Revisada. Ed. Springer- Praxis, Godalming.

AUSTIN, B; AUSTIN, D.A**. Bacterial Fish Pathogens. Diseases of Farmed and Wild Fish,** 4. ed. Chichester: Springer/Prazis Publishing, 2007.

AYROZA, L.M.S.; ROMAGOSA, E.; VERANI, J.R.; SALLES, F.A.; AYROZA, D.M.M.R. **Efeito da densidade de estocagem e do nível proteico da ração sobre o peso médio, produção e sobrevivência de tilápias do Nilo, Oreochromis niloticus criadas em tanques-rede.** In: AQUACIÊNCIA, 2006, Bento Gonçalves, RS. Anais eletrônicos... Bento Gonçalves: Aquaciência, 2006. 1 CD-ROM.

BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRES, A. P. M.; REZENDE, A. C. V.; STRINGHETA, P. C. **Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana – parte 1. Nutrir Gerais** – Revista Digital de Nutrição, v. 2, n. 3, p. 1-20, 2008.

BAIRAGI, A.; GHOSH, K.S.; SEM, S.K. & RAY, A.K. (2002). **Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts**. Aquaculture International, 10(2):109- 21.

BARBOSA, T.M.; SERRA, C.R.; RAGIONE, R.M.; WOODWARD, M.J. & HENRIQUES, A.O. (2005). **Screening for Bacillus isolates in the broiler gastrointestinal tract. Applied and Environmental Microbiology**, 71(2):968-78.

BENGSTON, 1993 D. A. A **comprehensive program for the evaluation of artificial diets.** Journal World Aquaculture Society, v. 24, p. 285-293, 1993.- BOLETIM estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2010. Brasília, DF: Ministério da Pesca e Aquicultura, 2012. 129p. Disponível em:

<http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%C3%ADstico%20MPA%202010. pdf>. Acesso em: 10 nov. 2012.

BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W. *et al*. **Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution.** J. Fish Dis., v.22, p.25-34, 1999

BORGES, A.M. *et al*. (2005). **Produção de populações monossexo macho de tilápia-do-Nilo da linhagem Chitralada.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Rio de Janeiro, v.40, n.2, p. 153-159.

BORGHETTI, J. R.; SILVA, U. A. T. **Principais sistemas produtivos empregados comercialmente.** In: OSTRENSKY, Antônio; BORGHETTI, José Roberto; SOTO, Dóris (eds.). Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília, 2008. p. 73-94.

BOSCARDIN, N. R. **A produção aquícola brasileira**. In: OSTRENSKY, Antônio; BORGHETTI, José Roberto; SOTO, Dóris (eds.). Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília, 2008. p. 27-72.

BOWEN, S. H. **Feeding digestion and growth - qualitative considerations.** In: PULLIN, R. S. V.; LOWE-MCCONNELL, R. H. (Eds.). The biology and culture of tilapias: Manila: ICLARM, pp. 141 156. (ICLARM Conferencie Proceedings), 1982.

BOYD C. E, MASSAUT L. (1999). **Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture.** Aquaculture Engeneering, 20, 113-132.

BRANDÃO, F.R.; GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C.; ARAÚJO, L.D. 2004. **Stocking density of tambaqui juveniles during second growth phase in cages**. Pesquisa Agropecuária Brasileira 39: 357 362 (in Portuguese, with abstract in English).

BRASIL 2013. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011**. Ministério da pesca e aquicultura. Disponível em <http://www.mpa.gov.br> Acesso em 14 out. 2017.

BRUUN, M. S.; MADSEN, L.; DALSGAARD, I**. Efficiency of oxytetracycline treatment in rainbow trout experimentally infected with Flavobacterium psychrophilum strains having different in vitro antibiotic susceptibilities.** Aquaculture, v.215, p.11-20, 2003.

BUCHANAN, J.T.; SIMPSON, A.J.; AZIZ, R.K.; LIU, G.Y.; KRISTINA, M.K.; FERAMISCO, J.; NIZET, V. 2005. **DNase expression allows the pathogen group A Streptococcus to escape killing in neutrophil extracellular traps. Current Biology,** v.16, p.396-400. Chemo sp. here, Oxford, v. 75, n. 4, p. 417-434, 2009a. Contamination and Toxicology, New York, v. 36, n. 1, p. 1-6, 1999. Departamento de Química, Faculdade de Ciências, Universidade Estadual Paulista, CP 473, 17033-360 Bauru-SP.

BUDDINGTON, R. K.; KROGDAHAL, A.; BAKKEMCKELLEP, A. M. **The intestine of carnivorous fish: structure and functions and the relations with diet**. Acta Physiology Scandinavica, v. 638, p. 67 80, 1997.

BUTAYE, P.; CLOECKAERT, A.; SCHWARZ, S. **Mobile genes coding for efflux-mediated antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria.** Int. J. Antimicrob. Agents, v.22, p.205-210, 2003.

CÂMARA, M.R.; CHELLAPPA, S. Regime alimentar e adaptações morfoanatômicas do trato digestivo de três espécies de Ciclídeos (Pisces: Cichlidae). Boletim do DOL/CB/UFRN, v.9, pp. 59 66. 1996.

CARNEIRO, P. C.; URBINATI, E. C.; MARTINS, M. L. **Transport with different benzocaine concentrations and its consequences on hematological parameters and gill parasite population of matrinxã Brycon cephalus (Günther, 1869) (Osteichthyes, Characidae**). Acta Scientiarum, Maringá, v. 24, n. 2, p. 555-560, 2002.

CHAFER-PERICAS, C. et al. **Multiresidue determination of antibiotics in aquaculturefish samples by HPLC-MS/MS.** Aquaculture Research, Oxford, v. 41, n. 9, p. e217- e225, 2010.

COSTA, C. *et al*. **Toxicity in aquatic environments:** discussion and evaluation methods quimic Nova, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

DARWISH, A.M.; GRIFFIN, B.R. **Study shows oxyetracycline controls *Streptococcus* in tilapia**. GAA. v. 5, p. 34-55, 2002.

DE RODRIGANEZ MS, DIAZ-ROSALES P, CHABRILLON M, BALEBONA, MC, SMIDT H, ARIJO S, LEÓN-RUBIO JM, ALARCÓN FJ, MORIÑIGO MA, CARA JB, MOYANO FJ. 2009. **Effect of dietary administration of probiotics on growth and intestine functionality of juvenile Senegalese sole (Solea senegalensis, Kaup 1858).** Aquaculture Nutrition, 15:177–185

DELLA FLORA, M. A. L.; MASCHKE, F. S.; DILKIN, P.; SANGIONI, L.A.; BOTTON, S. A. **Ichthyophthirius Multifiliis e Lernaea Cyprinacea, problemas à produção intensiva de peixes.** Boletim Informativo Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM, v. 3, n. 3, p. 9-16, 2009.

DIAS, D.C.; Stéfani., M.V.; Ferreira, C.M. & França, F.M. **Uso de probióticos em ração de rã-touro (Rana catesbeiana): desempenho produtivo**. Archivos de Zootecnia, 57(220):449-55. 2008

DINIZ, N. M.; HONORATO, C. A. **Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo** - revisão. Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 149-154, jul./dez. 2012.

DOMEÉNECH, A.; DERENAÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J.F.; PASCUAL, C.; GARCIA, J.A.; CUTULI, M.T.; COLLINS, M.D.; DOMINGUEZ, L.. **Streptococcosis in culture turbot, Scopthalmus maximus (L.) associated with Streptococcus parauberis**. Journal of Fish Diseases, v. 19, i.1, p.33-38. 1996

DOMENEGHINI, C.; ARRIGHIA, S.; RADAELLI, G.; BOSIA, G.; VEGGETTI, A. **Histochemical analysis of glycoconjugate secretion in the alimentary canal of Anguilla anguilla L**. Acta Histochemical, v. 106, n. 6, p. 477–487, 2005.

EL KHALDI, A.T.F. 2010. **Effect of different stress factors on some physiological parameters of Nile tilapia (Oreochromis niloticus).** Saudi Journal of Biological Sciences 17: 241-246.

EL-SAYED, A.-F.M. **Tilapia culture. Cambridge:** CABI Publishing, 2006. 277p. DOI: 10.1079/9780851990149.0000.

EMBRAPA - Pesca e aquicultura - **Estudo avalia tempo necessário para a eliminação de antibiótico por tilápias,** Portal Embrapa (Versão 3.59.1) p.01. 2018

EVANS, J. J.; KLESIUS, P. H.; PASNIK, D. J.; BOHNSACK, J. F. **Human Streptococcus agalactiae isolate in nile tilapia (Oreochromis niloticus)**. Emerging Infectious Diseases, v. 15, n. 5, p. 774-776, 2009

EVANS, J. J.; PASNIK, D. J.; PERES, H.; LIM, C.; KLESIUS, P. H. No apparent differences in intestinal histology of channel catfish (Ictalurus punctatus) fed heat-treated and non-heattreated raw soybean meal. Aquaculture Nutrition, v. 11, n. 2, p. 123-129, 2005.

F. CAÑADA-CAÑADA, A.M. PEÑA, A. ESPINOSA; **MansillaAnalysis of antibiotics in fish samples** Anal. Bioanal. Chem., 395 (2009), pp. 987-1008

FAGUNDES, M. **Respostas fisiológicas do pintado (Pseudoplatystoma corruscans) a estressores comuns na piscicultura.** 2005. 66 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014b). Fishery and aquaculture statistics. Roma: FAO yearbook, 2012.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Global aquaculture production statistics 2009.

FAO. **State of world fisheries and aquaculture.Rome, 2009,** .State of world fisheries and aquaculture. Rome, 2012. 230 p.

FAO. **The state of world fisheries and aquaculture:** opportunities and challenges. Rome:. 243 p, 2016

FARIAS I.P, ORTI G, SAMPAIO I, SCHNEIDER H E MEYER A. 2000 – **Mitochondrial DNA phylogeny of the family Cichlidae: Monophyly and fast molecular evolution of the Neotropical assemblage.** Journal of Molecular Evolution 48: 703-711.

FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., IZQUIERDO, M., ROBAINA, L., VALENCIA, A., SALHI, M. AND MONTERO, D. **The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (Sparus aurata).** Aquaculture, 148: 213-246. 1997

FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., IZQUIERDO, M., ROBAINA, L., VALENCIA, A., SALHI, M. AND VERGARA, J. Effect of n3 HUFA **level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream Sparus aurata L**. Aquaculture, 32: 325-337. 1995.

FERNANDEZ-TORRES, R. *et al.* **Enzymatic-microwave assisted extraction and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of selected veterinary antibiotics in fish and mussel samples.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Oxford, v. 54, n. 5, p. 1146-1156, 2011.

FIGUEIREDO, H.C.P.; CARNEIRO, D.O.; FARIA, F.C.; COSTA, G.M. 2006. **Streptococcus agalactie associado à meningoencefalite e infecção sistêmica em tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) no Brasil.** Arquivos Brasileiros em Medicina Veterinária e Zootecnia, 58(4): 678-680.

FIGUEIREDO JÚNIOR, C. A.; VALENTE JÚNIOR, A. S. **Cultivo de tilápias no Brasil: origens e cenário atual.** IN: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 46, Rio Branco. Anais... Rio Branco: SOBER, 2008.

FRANCI, C.R. 2005**. Stress: Process Adaptive and Non-Adaptive = Estresse: Processos Adaptativos e Não-Adaptativos**. In: Antunes, R.J.; Moreira, A.C.; Elias, L.L.K.; Castro, M. Basic and Applied Neuroendocrinology = Neuroendocrinologia Básica e Aplicada. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, Brazil (in Portuguese).

FULLER, R. (1977). **The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance** in the crop. Brazilian Poultry Science, 18(1):85-94.

FULLER, R. (1989**). Probiotics in man and animals:** a review. Journal of Applied Bacteriology, 66:365-78.

FULLER, R., (1992). **History and development of probiotics.** In: Fuller, R. Probiotics: the Scientific Basis, Chapman & Hall, London, 232, 1–18

FURLAN R.L. 2005. **Avaliação e uso de pré e probióticos.** Anais Simpósio Brasil Sul de Avicultura, Chapecó, p.58-74. (Resumo)

GALHARDO, R.; OLIVEIRA, R. **Bem-estar animal: um conceito legítimo para peixes?** Revista de Etologia, Ribeirão Preto, v. 8, n. 1, p. 51-61, 2006.

GARCIA, F. et al. **Stocking density of Nile tilapia** in cages placed in a hydroelectric. 2013

GATESOUPE FJ. **The use of probiotics in aquaculture.** Aquaculture, 180:147-165, 1999.

GAUNT, P. S.; ENDRIS, R., MCGINNIS, A. *et al.* **Determination of florfenicol dose rate in feed for control of mortality in Nile tilapia infected with *Streptococcus iniae*.** J. Aquat. Anim. Health. v. 22, p. 158-166, 2010.

GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. Atlas of fish histology. Science Publishers, Enfield, NH, USA. 2009

GIMBO, R. Y. et al. **Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do Lambari do Rabo Amarelo (astyanax altiparanae).** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, v. 9, n. 2, p. 350-357, 2008.

GINGERICH, W.H. e DALICH, G.M. **An evaluation of liver toxicity in rainbow trout following treatment with monochlorobenzene.** Proc. West Pharmacol. Soc., 21: 475 480. 1982

GOLDSTEIN, R.J. Cichlids of the world. T.F.H. Publications. Neptune City, NJ. 382 p. 1988.

GOMES, L. C. et al. **Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasilia, v. 38, n. 2, p. 283-290, 2003.

GOMEZ-GIL, B.; ROQUE, A. **The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms**. Aquaculture 191, 259–270, 1998

GRAM, L.; LOVOLD, T.; NIELSIN, J.; MELCHIORSEN, J.; SPANGGAARD, B. 2001. **In vitro antagonism of the probionte Pseudomonas fluorescens strain AH2 against Aeromonas salmonicida does not confer protection of salmon against furunculosis**. Aquaculture, v.199, p.1-11.

GROSELL, M.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. **The multifunctional gut of fish. In**: GROSELL, M.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. Fish Physiology, v.30, 444 p. 2011.

GUARNIER, F.; MALAGELADA, J.R. **Gut flora in health and disease**. The Lancet, v. 360, p. 512-519, 2003.

HAARD, N. F. **Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish.** Food Research International, v. 25, n. 4, p. 289-307, 1992.

HARDER, W. Anatomy of Fishes. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, pp.132 612, 1975.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M.S. **Effect of chemotherapy, vaccines and immunostimulants on innate immunity of goldfish infected with Aeromonas hydrophila**. Diseases of Aquatic Organisms, v.46, p.47-55. 2010

HEUER, O. et al. **Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture**. Clinical
Infectious Diseases, Chicago, v. 49, n. 8, p. 1248-1253, 2009. –

HINTON, D.; LAURÉN, D. **Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes**. Am. Fish. Soc. Symp., v.8, p.51-66, 1990.

HISANO, H.; SILVA, M.D.P.; BARROS, M.M. & PEZZATO, L.E. (2006). **Levedura íntegra e derivada de seu processo em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos**. Acta Scientarum Biology Science, 28(4):311- 8

HÖLMSTROM, K.; GRÄSLUND, S.; WAHLSTRÖM, A. et al. **Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health**. Int. J. Food Sci. Technol., v.38, p.255-266, 2003.

HONORATO C.A., ALMEIDA L.C. & MORAES G. 2013. **PROCESSAMENTO DE DIETA: Seus efeitos no aproveitamento de carboidratos para peixes.** Revta eletrôns Nutritime 10(5) 2700 – 2715

HONORATO C.A., ASSANO M., CRUZ C., CARNEIRO D.J. & MACHADO M.R.F. 2013. **Histologia do intestino de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteínas**. Nucleus Animalium 5(1):85-92.

HORN, M. H. Feeding and digestion. In: EVANS, D. H. (Ed.). **The Physiology of Fishes**. CRC Press, Boca Raton, pp. 43–63, 1997.

HOROWITZ A & HOROWITZ S. **Efficacy of probiotics in grows out systems.** The Adv., 3: 6-12, 2000

HOSHINO, T.; SANO, T.; MORIMOTO, Y. 1958. **A Streptococcus pathogenic to fish. Journal of the Tokyo University of Fisheries**, v.44, p.57-58. in animal feed. Animal Feed Science and Technology, Amstefam, v. 133, n. 1-2, p.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa pecuária municipal.** Rio de Janeiro: IBGE, 2013. Disponível em: Acesso em: 28 jun. 2016.

INOUE, L. A. K. A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. **Assessment of 2-phenoxyethanol and benzocaine as anesthetics for field procedures in matrinxa (brycon cephalus).** Biodiversidade Pampeana, Uruguaiana, v. 2, p. 10-15, 2004.

INOUE, L.A.K.A. et al. **Effects of clove oil on the stress response of matrinxa (Brycon cephalus) subjected to transport.** Acta Amaz., Manaus, v. 35, n. 2, p. 289-295, 2005.

IRIANTO & AUSTIN B. **Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum).** J. Fish Dis., 25: 333-342, 2002.

JANKOWSKA, B.; ZAKES, Z.; ZMIJEWSKI, T.; SZCZEPKOWSKI, M.A comparison of selected quality features of the tissue and slaughter yield of wild and cultivated pikeperch Sander lucioperca (L.). European Food Research and Technology, v. 217, n. 5, p. 401-405, 2003

JOBLING, M. **Environmental biology of fishes.** Fish and Fisheries Series 16. London: CHAPMAN & HALL. 1995. 455p.

KAPOOR, B. G.; SMIT, H.; VERIGHINA, I. A. **The alimentary canal and digestion in teleosts. Advances** in Marine Biology, v. 13, pp. 109–239, 1975.

KARKOW, F.J; FAINTUCH, J. **Probióticos: perspectivas médicas.** Revista da AMRIGS, v. 51, n. 1, p. 38-48, 2007.

KESARCODI-WATSON, A.; KASPAR, H.; LATEGAN, M.J. & GIBSON, L. (2008). **Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes.** Aquaculture, 274(1):1-14.

KHACHATOURIANS, G.G. (1998). **Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria.** Canadian Medical Association Journal, 159, 1129–1136.

KLESIUS, P.H.; SHOEMACKER, C.A.; EVANS, J.J. 2000. **Efficacy of single and combined Streptococcus iniae isolate vaccine administered by intraperitoneal and intramuscular routes in tilapia (Oreochromis niloticus).** Aquaculture, v.188, p.237–246.

KOZASA, M. (1989). **Probiotics for animal use in Japan.** Technique de La Office Internacional des Epizooties, 8(2):517-31

KRAMER, D. L.; BRYANT, M. J. **Intestine length in the fishes of a tropical stream: 2 Relationships to diet the long and short of a convoluted issue**. Environmental Biology of Fishes, v. 42, pp.129–141, 1995.

KUBITZA, F. A **evolução da tilapicultura no Brasil**: produção e mercados. Panorama da Aquicultura, v.13, n.76, p.25-35, 2003.

KUBITZA, F. **Açude de Orós: tilapicultura consolida desenvolvimento econômico e social, mas piscicultores ainda lutam por licenciamento.** Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro,v. 21, n. 127, p. 15-21, 2011.

KUBITZA, F. Tilápias: **Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade**. Parte I. Panorama da Aquicultura, v.10 n.59 pp.45-47. 2000

KUBTIZA, F. **Produção de tilápias em tanques de terra estratégias avançadas no manejo**. Revista Panorama da Aquicultura, v. 19, n. 115, pp. 14-21. 2009.

KUBITZA, F., **Qualidade da água na produção de peixes**. Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro, 8 (46): 35-41, 1998.

KUBITZA, F. **Recria e engorda de tilápias em viveiros escavados.** Jundiaí: Acqua Imagem, 2012.

KUMMERER, K.; **Significance of antibiotics in the environment** . J. Antimicrob. Chemoth., 52 (2003), pp. 5-7 CrossRefView Record in Scopus

KUPERMAN, B. I.; KUZ'MINA, V. V. **The structure of the intestinal epithelium in fish with different types of feeding.** Journal Fish Biological, v. 44, n. 2, p. 181-193, 1994

KURCHEVSKI, G.; CASIMIRO, A. C. R.; ASHIKAGA, F. Y.; ORSI, M. L. **Espécies introduzidas como vetores de patógenos e parasitas.** Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia, v. 38, n. 1, p. 1-6, 2010.

LARA-FLORES, M., OVERA-NOVOA, M., GUZMÁN-MENDEZ, B. E. (2003). **Use of bacteria Streptococcus faesciumand Lactobacillus acidophilus, and the yeast Saccharomyces cerevisiaeas growth promoters in Nile tilapia (Oreochromisniloticus)**. Aquaculture, 216, 193-201

LARAYER, A. **Introdução ao tema probióticos: estágio atual das pesquisas no Brasil. In Fibras, Prebióticos e Probióticos**. ILSI Brasil: São Paulo, 2005.

LIMA, L. C. Doenças de importância econômica em piscicultura. In: **SEMINÁRIO DE AVES E SUÍNOS – AVESUI REGIÕES, 7.;** SEMINÁRIO DE AQUICULTURA, MARICULTURA E PESCA, 3., 2007, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte, 2007. p. 09-12.

LIQUORI, G. E.; MASTRODONATO, M.; ZIZZA, S.; FERRI, D. **Glycoconjugate histochemistry of the digestive tract of Triturus carnifex (Amphibia, Caudata).** Journal Morphology Histology, v. 38, n. 3, p. 191-199, 2007.

LUNDSTEDT, L. M. **Aspectos adaptativos dos processos digestivo e metabólico de juvenis de pintado**
(Pseudoplatystoma corruscans) arraçoados com diferentes níveis de proteína e energia. 2003. 140 f. Tese (Doutorado em Genética e Evolução) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

LUQUET, P.; WATANABE, T. **Interaction "Nutrition-Reproduction" In Fish,** Fish Physiology and Biochemistry, v. 2, 1986. p. 121-129

LUTZHOFT, H.; HALLING-SORENSEN, B.; JORGENSEN, S. **Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming.** Archives of Environmental

MALLAT, J. 1985. **Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review.** Canadian Journal of Fisheries e Aquatic Sciences 42: 630-648.

MARTINS, F.S.; TIAGO, F. C.P.; BARBOSA, F.H.F.; PENNA, F.J.; ROSA, C.A.; NARDI, R. M.D.; NEVES, M.J.; NICOLI, J.R. **Utilização de leveduras como probióticos.** Revista deBiologia e Ciências
da Terra, v. 5, n. 2, p.14-20, 2005.

MCNULTY, S.; KLESIUS, P.; SHOEMACKER, C. 2003. **Hematological changes in Nile tilapia (Oreochromis niloticus) infected with Streptococcus iniae by nare inoculation.** Journal of the World Aquaculture Society, v.34, n.3, p. 418-422.

MEYERS, T.R. e HENDRICKS, J.D. 1985 Histopathology. In: RAND, G.M. e PETROCELLI, S.R. (Ed.) **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. Washington: Hemisphere Pub. p. 283-331.

Ministério da Pesca e Aquicultura [MPA]. 2011. **Fisheries and Aquaculture Statistical Bulletin = Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura.** Available at: http://www.mpa.gov.br/index.

php/informacoes-e-estatisticas/estatistica-da-pesca-e-aquicultura. [Accessed Feb 28, 2014] (in Portuguese)

MONTEIRO, S.M.; FONTAINHAS FERNANDES, A.; SOUSA, M. 2004. **Caracterização morfológica e ultraestrutural do epitélio branquial de peixes teleósteos.** Rev. Port. Zootec., V.XI, p.13-36,.

MONTEIRO, S.M.; MANCERA, J.M.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; SOUSA, M. 2005. **Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of Oerochromis niloticus. Comparative Biochemistry Physioloy.** Part C. Toxicology & Pharmacology 141: 375-383

MOURA. MIRIAN RIBEIRO LEITE E REYES, FELIX GUILLERMO REYES.2002**. Interações entre medicamentos e alimentos Interação fármaco-nutriente: uma revisão.** Rev. Nutr. [online]. maio/ago. 2002, vol.15,no.2

NAVARRO, R.D.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; MATTA, S.L.P. DA; SOUZA, M.A. 2007. **Níveis de energia digestível da dieta sobre o desempenho de piauçu (Leporinus Macrocephalus) em fase pós-larval**. Acta Scientiaruam. Animal Sciences, v.29, p.109-114.

NAYAK, S. 2010. **Probiotics and immunity**: a fish perspective. Fish Shellfish Immunol, 29: 2-14.

NAYLOR, R. L. et al. **Effect of aquaculture on world fish supplies**. Nature, v. 405, n. 29, p. 1017-1024, 2000.

NOGA E.J. **Fish Disease: Diagnoses and treatment**. Second edition. Wiley-Blackwell. 2010.

OBA, E.T.; MARIANO, W.S.; SANTOS, L.R.B. 2009. **Stress in farmed fish: mitigating and aggravating for the profitable management. Stresses em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável.** p. 226-247. In: Tavares-Dias, M., ed. Management and health of fish farming Manejo e sanidade de peixes em cultivo. EMBRAPA, Macapá, AP, Brazil (in Portuguese).

OBA, T. E; MARIANO, S. W.; ROMAGUEIRA, L. **Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável**. Macapá: Embrapa, 2009.

OLIVEIRA, M.N. 2008. **Probióticos: seus benefícios a saúde humana.** Nutrição em Pauta, v. 15, n.87, 2007. Oxford, v. 100, n. 5, p. 1103-1113, 2006. p. 1215-1226.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO J.H.A. & SAAD, S.M.I. (2002). **Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, p.38 (1):1-21.

OLIVEIRA, R. F.; GALHARDO, L. **Sobre a aplicação do conceito de bem-estar a peixes teleósteos e implicações para a piscicultura.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 36, suplemento especial, p. 77-86, 2007.

OLIVEIRA et al. **Persistent *Streptococcus agalactiae* infection induced by florfenicol therapy in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*),** Submetido para publicação, 2017.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. **Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo.** Guaíba: Agropecuária, 211p, 1998.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília: Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca/FAO, 2008.

OUATTARA, N.I. *et al*. **Aquaculture potential of the black-chinned tilapia, Sarotherodon melanotheron (Cichlidae). Comparative study of the effect of stocking density on growth performance of landlocked and natural populations under cage culture conditions in Lake Ayame**. Aquaculture Research, v.34, p.1223-1229, 2003.

OZAWA, K.; YABU-UCHI, K. & YAMANAK, K.(1978). **Antagonistic effects of Bacillus natto and Streptococcus faecalis on growth of Candida albicans**. Microbiology Immunology, 23(12):1147-56.

PERERA, R.P.; JOHNSON, S.K.; COLLINS, M.D.; LEWIS, D.H.. **Streptococcus iniae associated with mortality of Tilapia nilotica T. aurea hybrids**. Journal of Aquatic Animal Health; v.6, p.335-340. 1994

PIEDADE, K. R. **Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (Sardinella brasiliensis) processados. Piracicaba,.** 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2007

PIER, G.B.; MADIN, S.H. **Streptococcus iniae sp. nov., a Beta-Hemolytic Streptococcus isolated from an Amazon freshwater dolphin, Inia geoffrensis.** International Journal of Systematich Bacteriology, v.26, n.4, p.545-553. 1976.

PIPER, R. G., I. B. McElwain, L. E. Orme, J. P. McCraren, L. G. Flower, and J. R. Leonard**. Fish hatchery management**. U. S. Fish and Wildlife Service, Washington, D. C. 1982

PLANAS, M. & CUNHA, I. **Larviculture of marine fish: problems and perspectives.** Aquaculture, 177(1):171-90 reservoir. Aquaculture, Amsterdam, v. 410, p. 51-56, 2013.

POPMA T., LOVSHIN L. **Aspectos relevantes da biologia e do cultivo das Tilápias.** Panorama da Aquicultura, v.5. N.22, p.8-13. 1995.

POPMA, T.J.; LOVSHIN, L.L. **Worldwide prospects for commercial production of tilapia. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments**, Auburn, AL, USA. 1995.

PORTAL BRASIL**, com informações do Ministério da Agricultura**. 2013.

RASMUSSEN, R. S. **Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield, and sensory characteristics.** Aquaculture Research, v. 32, n. 10, p. 767–786. 2001.

RAWLING, M. D., MERRIFIELD, D. L., DAVIES, S. J. **Preliminary assess ment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (Oreochromis niloticus) growth performance and health.** Aquaculture, 194, 118-122. 2009

RESENDE, E.K. **Research in network in aquaculture: technological basis for sustainable development of aquaculture in Brazil. Aquabrasil**. Revista Brasileira de Zootecnia 38: 52-57 (in Portuguese, with abstract in English). 2009.

RIBEIRO, R.P. **Espécies exóticas.** In: MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; ZIMMERMANN, S. (Org.). Fundamentos da moderna aquicultura. Canoas: Ulbra, Cap.11, p.91-121. 2001.

RIGOS, G.; TROISI, G.M. **Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: A synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications**. Rev. Fish Biol. Fish, v.15, p.53, 2005.

RIVERA – TAPIA, J. A. **Antibiotic resistance, public health problem.** An. Med. Hosp. ABC. V. 48, p. 42-47, 2003.

ROMARHEIM, O. H.; ZHANG, C.; PENN, M.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; SKREDE, A.; KROGDAHL, A.; STOREBAKKEN, T. **Growth and intestinal morphology in cobia (Rachycentron canadum) fed extruded diets with two types of soybean meal partly replacing fish meal.** Aquaculture Nutrition, v. 14, n 2, p. 174-180, 2008.

ROTTA, M. A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura.** (Documentos / Embrapa Pantanal), Corumbá - Pantanal, 48 p. 2003.

RUSSO, R.; MITCHELL, H.; YANONG, R, P. E. **Characterization of Streptococcus iniae isolated from ornamental cyprinid fishes and development of challenge models. Aquaculture**, v. 256, p. 105 110. 2006.

RUST, M. B. Nutritional Physilogy. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Ed.). Fish Nutrition. New York; Academic Press, pp. 367-452, 2002.

SAKAI M. **Current research status of fish immunostimulants.** Aquaculture; 172:63–92. 1999

SALEH, H. H. **Fish liver as indicator of aquatic environmental pollution**. Bull. Inst. Oceanogr. & Fish., v. 8, p. 69 – 79, 1982.

SALVADOR, R.; MULLER, E.E.; FREITAS, J.C.; LEONHARDT, J.H.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; DIAS, J.A. **Isolation and characterization of Streptococcus spp. group B in Nile tilapias**

(Oreochromis niloticus) reared in hapas and earth nurseries in the northern region of Paraná State in Brazil. Ciência Rural, v.35, n.6, p. 1374-1378. 2005.

SAMPAIO, F.G.; LOSEKANN, M.E.; LUIZ, A.J.B.; NEVES, M.C.; FRASCÁ-SCORVO, C.M.D.; RODRIGUES, G.S. 2013. **Environmental monitoring and management of fish farming in cages in reservoirs. Monitoramento e gestão ambiental da piscicultura em tanques-rede em reservatórios**. Informe Agropecuário 34: 1-11 (in Portuguese).

SANDERS, M. E. **Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria**. International Dairy Journal, 8, tissue 5-6, 341-347. 1998.

SANTOS SILVA. M.J. Efeito da amônia e do nitrito em Tilápias oriochrmis niloticos mantida em baixa salinidade – 14-15p. 2013

SANTOS, D.M.S. **Water quality and fishes organs histopatology originated from Itapecuru Mirim, Maranhão fish farm pounds Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim, Maranhão. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brazil.** Available at: http://www.fcav.unesp.br/download/pg trabs/pan/d/127. PDF Accessed Aug 22, 2011 (in Portuguese). 2010

SAPKOTA, A. et al. Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities. Environment International, New York, v. 34, n. 8.2008.

SCHMITTOU, H.R. **High density fish culture in low volume cages.** American Soybean Association, Singapore, SGP. 1993

SHELBY, R.A.; KLESIUS, P.H.; SHOEMAKER, C.A.; EVANS, J.J. **Passive immunization of tilapia, Oreochromis niloticus (L.), with anti-Streptococcus iniae whole sera**. Journal of Fish Diseases, v. 25, p.1-6. 2002

SHOEMAKER, C., KLESIUS, P. 1997. **Streptococcal disease problems and control e a review. In: Fitzsimmons K, editor. Tilapia aquaculture**, vol. 2. Ithaca, NY: Northeast Regional Agricultural Engineering Service;. p. 671 e82.

SHOEMAKER, C., KLESIUS, P. **Streptococcal disease problems and control e a review.** In: Fitzsimmons K, editor. Tilapia aquaculture, vol. 2. Ithaca, NY: Northeast Regional Agricultural Engineering Service;. p. 671 e 82. 1997

SHOEMAKER, C.A.; KLESIUS, P.H.; EVANS, J.J. **Prevalence of Streptococcus iniae in tilapia, hybrid striped bass, ans channel catfish on commercial fish farms in the United States**. American Journal of Veterinary Research, v.62, n.2, p.174-177. 2001

SILVA, C.R. **Uso de probióticos em rações para frangos de corte: desempenho, digestibilidade e energia metabolizável.** Dissertação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa. 2008.

SILVEIRA, U.S; LOGATO, P.V. R; PONTES, E.C.; **Fatores estressantes em peixes.** Revista Eletrônica Nutritime, v.6, n° 4, p.1001 – 1017 Julho/Agosto, 2009.

SINDAM (2016). **Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Saúde Animal. Compêndio de Produtos Veterinários.** Disponível em http://www.cpvs.com.br/cpvs/pesquisar.aspx. Acessado em 24/08/2016.

SIWICKI, A.K.; ANDERSON, D.P.; DIXON, O.W. In vitro **immunostimulation of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) spleen cells with levamisole**. Developmental and comparative immunology, v.14, p. 231-237. 1990

SMITH, L. S. In: HALVER, J. E. (Ed.). **Fish Nutrition,** San Diego: Academic press, p. 798, 1989.

SORUM, H.; ABÉE-LUND, T.M. **Antibiotic resistance in food-related bacteria _ a result of interfering with the global web of bacterial genetics**. Int. J. Food Microbiol., v.78, p.43-56. 2002.

SOTO, E; ENDRIS, R.G.; HAWKE, J.P. **In vitro and in vivo efficacy of florfenicol for treatment of *Francisella asiatica* infection in tilapia.** Antimicrob. Agents Chemother. v. 54, p/ 4664-4670, 2010.

SUBASINGHE, R. **Fish health and quarantine.** In: Review of the state of the world aquaculture. Rome: FAO. p.45-9. 1997

TAKAHASHI, S. L. et al. **Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, Piaractus mesopotamicus**. Acta Scientiarum Animal Sciences, Maringá, v. 28, n. 4, p. 469-475. 2000.

TANNOCK GW. **Analysis of the intestinal microflora:** A renaissance. Antonie van Leenwenhoek, 76: 265-278. 1999

TEH, S.J.; Adams, S.M.; Hinton, D.E. 1997. **Histopathological biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress.** Aquatic Toxicology 37: 51-70.

TELES, J. A. & REYES, F. G. R.. **Antimicrobianos na piscicultura: uso e aspectos regulatórios no Brasil.** In: MADI, R. R.; CAMPOS, C. M.; LIZAMA, M. A. P. TAKEMOTO, R. M. Patologia e Sanidade em Ambientes Aquáticos. Maringá, p. 245- 268. 2014

TORRES, R.G.A.; GONZÁLEZ, P.S.; PEÑA, S.E. **Anatomical, Histological and Ultraestructural Description of the Gills and Liver of the Tilapia (Oreochromis niloticus)** .International. Journal of Morphology 28: 703-712 (in Spanish, with abstract in English). 2010.

TORRES. Daniel Emanoel. **Avaliação dos efeitos de microrganismos probióticos sobre o desempenho zootécnico, hematológico e tolerância ao estresse da truta do arco-íris** (. 2014. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia Industrial, Microbiologia, Universidade de São Paulo, Lorena. 2014

TROMBETA, T. D.; TROMBETA, R. D.; MATTOS, B. O. **Criação de tilápias em viveiros escavados: guia técnico para empreender na criação de tilápias em viveiros. Brasília:** Projeto AquiNordeste/SEBRAE, 2015. 96 p.

TURRA, E. M.; OLIVEIRA, D. A. A.; TEIXEIRA, E. A.; LUZ, R. K.; PRADO, S. A.; MELO, D. C.; FARIA, P. M. C.; SOUSA, A. B. **Controle reprodutivo em tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus) por meio de manipulações sexuais e cromossômicas. Revista Brasileira Reprodução Animal,** Belo Horizonte, v.34, n.1, p.21-28, 2010.

VAL, A.L.; MENEZES, A.C.L.; FERREIRA, M.S.; SILVA, M.N.P.; ARAÚJO, R.M.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. **Stress in fish: built for survival and adaptation responses - Estresse em peixes:**

respostas integradas para a sobrevivência e a adaptação. p. 211-228. In: Souza-Silva, A.T., ed. Health of Aquatic Organisms in Brazil = Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil. ABRAPOA, Maringá, PR, Brazil (in Portuguese). 2006

VALLADÃO, G. M. R.; GALLANI, S. U. & PILARSKI, F. 2015. **Phytotherapy as an alternative for treating fish disease**. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, v. 38, n. 5, p. 417-428

VENDRELL, D.; BALCAZAR, J.L.; DE-BLAS, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; GIRONES, O.; MUZQUIZ, J.L. **Protection of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) from lactococcosis by probiotic bacteria**. Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, 31, 337-345, 2008

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W 2000: **Probiotic bacteria as biological control agents in aquiculture**. Microbiology and Molecular Biology Review, v.64, n.4, p. 655-671.

VICENTINI, C.A.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B.; BOMBONATO, M.T.S.; BERTOLUCCI, B.; LIMA, S.G.; SANTOS, A.S. 2005. **Morphological study of the liver in the teleost Oreochromis niloticus.** International Journal of Morphology 23: 211-216.

VIDAL, L. V. O. et al. **Influência do peso de juvenis de matrinxã (Brycon cephallus) e Tambaqui (Colossoma macropomum) à ação anestésica do eugenol**. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, v. 8, n. 3, p. 212-216, 2007.

WATKINS, B.A. & MILLER, B.F. (1983). **Competitive gut exclusion of avian pathogens by Lactobacillus acidophilus in gnotobiotic chicks**. Poultry Science, 61(9):1772-9.

WEGENER, H.C., AARESTRUP, F.M., GERNER-SMIDT, P. & BAGER, F. (1999). **Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man**. Acta Veterinaria Scandinavia, Supplementum, 92, 51–57.

WEGENER, H.C; MOLLER, N.F. **Reducing the use of antimicrobial agents in animals and man.** J. Med. Microbial v. 49, p 111 -113. 2000.

WEINSTEIN, M.R.; LITT, M.; KERTESZ, D.A.; WYPER, P.; ROSE, D.; COULTER, M.; MCGEER, A.; FACKLAM, R.; OSTACH, C.; WILLEY, B.M.; BORCZYK, A.; LOW, D.E. 1997. **Invasive infections due to a fish pathogen, Streptococcus iniae. New England Journal of Medicine**, v.337, n.9, p.589-594. (1999). Transfer of antibiotic resistant bacteria

WILLIS, C. (2000). **Antibiotics in the food chain: their impact on the consumer**. Reviews in Medical Microbiology, 11, 153–160.

WU, C.C.; LIU, C.H.; CHANG, Y.P; HSIEH, S.L. 2010. **Effects of hot-water extract of Toona sinensis on immune response and resistance to Aeromonas hydrophila** in Oreochromis mossambicus. Fish and Shellfish Immunology, v.29, p.258-263

YANG, J. *et al*, **Simultaneous determination of four classes of antibiotics in sedimnents of the pearl rivers using RRLC-MS/MS Science of the total environment**, Amisterdam< V. 408, n. 16,p. 3424-3432, 2010

ZANARDI, M. F.; **Fontes de lipídios na reprodução e larvicultura de tilápia-do-nilo**. 2011. 100 p. Trabalho de Tese – Universidade estadual de São Paulo - UNESP – CAUNESP, São Paulo, 2011.

ZANIBONI FILHO, E. **Piscicultura das espécies exóticas de água doce**. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.R.; BELTRAME, E. (Org.). Aquicultura: experiências brasileiras. Florianopolis: Multi tarefa, 2004. Cap. XIII, p.309 - 336.

ZELIKOFF, J.T. 1998 **Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals?** Toxicology, 129(1): 63-71. 84-108, 2007.