

A EFICÁCIA DAS VACINAS CONTRA *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EM TILÁPIAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Carlos Cicinato Vieira MELO¹
Fábio Raphael Pascoti BRUHN²
Ivan Júnior ASCARI³
Matheus Hernandez LEIRA⁴
Márcio Gilberto ZANGERONIMO⁵
Luciano José PEREIRA⁶
Gláucia Frasnelli MIAN⁷

RESUMO: O objetivo desta revisão sistemática foi avaliar a eficácia das vacinas descritas na literatura para infecções causadas por *S. agalactiae* em tilápia. Uma busca eletrônica foi realizada utilizando o “Web of Science”, “Scopus”, “PubMed” e “CAB bancos de dados diretos”, abrangendo todos os artigos publicados até março de 2014. O delineamento experimental, a qualidade metodológica, tipo de vacina e os resultados dos estudos foram analisados. Foram avaliados protocolos de vacinação com base na administração intraperitoneal, banho de imersão e de alimentação. Esta revisão sistemática sugere que vacinas administradas por via intraperitoneal apresenta maior eficácia contra a infecção por *S. agalactiae*.

ABSTRACT: The aim of this systematic review was to evaluate the efficacy of the vaccines described in the literature for infections caused by *S. agalactiae* in tilapia. An electronic search was made of the "Web of Science", "Scopus", "PubMed" and "CAB direct" databasis in February and March 2014. The experimental design, methodological quality, type of vaccine and results of the studies were analyzed. Were evaluated vaccination protocols based on intraperitoneal routes of administration, immersion bath and feed. This systematic review suggests that vaccines administered intraperitoneally showed better efficacy against infection by *S. agalactiae*.

Key-words: Streptococosis, vaccine protocol, *Oreochromis sp.*

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



INTRODUÇÃO

A intensificação da produção de tilápia caracteriza-se pela elevada densidade na produção, favorecendo o surgimento de doenças. Dentre as que acometem as tilápias, a estreptococose tem assumido posição de destaque em todo o mundo (PASNIK et al., 2005).

Uma das espécies de estreptococos mais frequentes é *Streptococcus agalactiae*, uma bactéria gram positiva, que acomete uma grande variedade de hospedeiros, dentre eles humanos, bovinos e peixes (JOHRI et al., 2006). Essa bactéria tem sido associada a elevadas taxas de morbidade e mortalidade entre espécies de peixe de água doce, estuários e marinhos (EVANS et al., 2002), o que demonstra a grande adaptabilidade do patógeno (EVANS et al., 2006). Na literatura, existem relatos de casos de meningoencefalite e septicemia, causada por *S. agalactiae* em cerca de 20 espécies de peixes (EVANS et al., 2002; DUREMDEZ et al., 2004; SUANYUK et al., 2008), incluindo a tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*.

A estratégia mais comum para o controle de doenças bacterianas é o uso de antibióticos, no entanto, efeitos adversos tem sido relatados (RATTANACHAIKUNSOPON e PHUMKHACHORN, 2009), tais como poluição e degradação do meio ambiente, além de seleção de cepas resistentes e risco à saúde do consumidor (SWAIN et al., 2002; KLESIUS et al., 2004; SERRANO, 2005, p. 15). Devido a estes efeitos, alguns países não aprovam o uso de antibióticos na produção animal e recusam a comercialização de produtos nos quais estes medicamentos foram utilizados (RATTANACHAIKUNSOPON e PHUMKHACHORN, 2009). Por outro lado, estudos tem sido conduzidos com o objetivo de propor uma alternativa profilática em substituição aos antibióticos, com destaque para as vacinas.

O desenvolvimento e melhorias de métodos de vacinação tem auxiliado o combate de algumas doenças infecciosas na aquicultura (HASTEIN et al. 2005). Devido aos benefícios econômicos, as vacinas produzidas a partir de bactérias inativadas são amplamente utilizadas para a proteção dos peixes frente a diferentes doenças bacterianas (DUMRONGPHOL et al., 2009). Os peixes podem ser imunizados pelas vias intraperitoneal, oral e por banho de imersão (LONGHI et al.,

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.

2012). Esses métodos variam quanto ao nível de proteção, efeitos colaterais e praticidade (GOMES et al., 2006).

Devido à escassez de resultados de vacinas para *S. agalactiae*, não há consenso sobre qual protocolo de vacinação resultaria em uma proteção efetiva em tilápia do Nilo. Alguns estudos foram realizados com diferentes rigores metodológicos e seus resultados podem, portanto, apontar diversos níveis de evidência científica. As revisões sistemáticas utilizam métodos baseados em escores para realizar uma pesquisa bibliográfica completa, o que permite uma visualização mais clara dos resultados e oferece sugestões imparciais sobre os melhores protocolos a serem utilizados.

O objetivo do presente estudo foi avaliar sistematicamente a eficácia das vacinas descritas na literatura para infecções causadas por *S. agalactiae* na tilápia do Nilo e quando possível, sugerir qual protocolo vacinal apresenta melhor resultado.

MATERIAL E MÉTODOS

ESTRATÉGIA DE PESQUISA

Uma pesquisa eletrônica na base de dados "Web of Science", "Scopus", "PubMed" e "CAB direct" foi realizada em fevereiro e março de 2013, com as seguintes palavras: ("fish" OR "tilapia") AND "Streptococcus agalactiae" AND "Vaccine".

SELEÇÃO DOS TRABALHOS

Apenas estudos em que as vacinas inativadas foram testadas *in vivo* e relacionados com eficácia da vacina contra o *S. agalactiae* em tilápia (*Oreochromis sp.*) foram avaliados. Todos os tipos de vacinas foram selecionados a fim de determinar os efeitos de diferentes protocolos à resposta imune e proteção após o desafio experimental. Revisões de literatura não foram utilizadas. Não houve restrições na data dos estudos, número de animais utilizados e idioma.

EXTRAÇÃO DOS DADOS

Três pesquisadores realizaram a pesquisas separadamente e, em seguida, reuniu-se para verificar o número de artigos selecionados bem como os critérios de inclusão (Tabela 1).

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



Tabela 1. Estudos sobre a vacina contra *Streptococcus agalactiae* em tilápias segundo diferentes protocolos

Autores	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Evans et al., 2004	3	30	26	100	Não	Não	Não	Sobrevivência	Maior sobrevivência	Sim	Homologa	Fresca intraperitoneal (IP)	70,0
	4	30	32	80	Não	Não	Não	Sobrevivência	Maior sobrevivência	Sim	Heterologo	Fresca IP	80,0
	6	30	32	22	Não	Não	Não	Sobrevivência	Sobrevivência igual	Sim	Heterologo	Fresca por banho de imersão, uma aplicação durante 20 minutos	35,0
Pasnik et al., 2005 (2)	45	30	45	Não	Elisa	Não	Sobrevivência e imunidade humoral	Maior sobrevivência e resposta imune humoral	Sim	NI	Fresca IP	49,0	
Pasnik et al., 2005	30	30	45	Não	Elisa/western blotting e sds-page	Sim	Sobrevivência e imunidade humoral	Sobrevivência igual e maior resposta imune humoral	Sim	NI	Conservada (4°C na forma aquosa) e fresca (fresca só para análise de resposta de anticorpo), IP	29	
Pasnik et al., 2006	104	30	15	Não	Elisa	Sim	Sobrevivência e imunidade humoral	Maior sobrevivência e resposta imune humoral	Não	NI	Fresca IP	65	
Firdaus-Nawi et al., 2012	100	Não informou (NI)	72	Não	Elisa	Sim	Sobrevivência, desenvolvimento de tecidos linfóides associados ao intestino (GALT), imunidade humoral	Maior sobrevivência, resposta imune humoral	Sim	NI	Fresca na ração, uma dose com reforço após 14 dias	75,0	
Chen et al., 2012	58	28	30	Sim	Não	Sim	Sobrevivência	Maior sobrevivência	Sim	Homologa e heterologa	Fresca IP	77,1	
Preto-Giordano et al., 2010	20	26	137	Não	Não	Sim	Sobrevivência	Maior sobrevivência	Sim	Homologa	Fresca IP	83,6	
Evans et al., 2004 (2)	39	30,5	10	Não	Não	Não	Sobrevivência e níveis de glicose	Maior sobrevivência e menor nível de glicose	Sim	NI	Fresca IP	83,4	
Pasnik et al., 2008	15,3	29,7	60	Não	Não	Não	Sobrevivência e níveis de glicose	Maior sobrevivência e níveis de glicose iguais	Não	NI	Fresca IP	100,0	
Longhi et al., 2012	38,4	23,5	141	Não	Não	Sim	Sobrevivência	Maior sobrevivência com duas aplicações	Sim	NI	Fresca por banho de imersão, uma e duas aplicações (intervalo de 25 dias)	23,5	
Firdaus-Nawi et al., 2011	150	32,6	60	Não	ELISA	Não	Imunidade humoral e celular e tamanho dos GALT's	Maior resposta imune humoral, celular e tamanho do GALT	Não	NI	Fresca na ração, uma, duas e três vezes durante uma semana, com reforço após 14 dias	-	
Salvador et al., 2012	125	28	21	Não	Não	Não	Imunidade celular e sobrevivência	Maior resposta imune celular e sobrevivência igual	Sim	Homóloga	Fresca IP	72,4	

¹peso médio animais (g); ²temperatura da água (°C); ³n/grupo; ⁴utilizou mais de uma cepa da bactéria; ⁵diagnóstico molecular para avaliar resposta imune humoral; ⁶avaliação da infecção anterior a vacinação; ⁷variáveis dependentes; ⁸resultados obtidos com a vacinação em relação ao grupo controle; ⁹avaliação da infecção posterior ao desafio; ¹⁰desafio com cepas homologas, heterologas ou NI; ¹¹vacina fresca ou conservada e via de administração; ¹²porcentagem de sobrevivência relativa - RPS (%) na última avaliação realizada no experimento. Médias entre os diferentes grupos de tilápias vacinadas

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.

CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DOS ARTIGOS

Após a seleção dos trabalhos, uma análise de qualidade foi conduzida e uma pontuação foi atribuída de acordo com critérios estabelecidos, como descrito na Tabela 2. Os parâmetros foram classificados como adequado (escore 3), claro / parcialmente adequado (escore 2) ou menos adequado (escore 1). Alguns parâmetros foram classificados apenas como adequado (escore 2) ou menos adequado (escore 1) (Pereira et al, 2011). Foram classificados como se segue:

- Número da amostra: Estudos contendo um número da amostra por grupos com menos de 45 peixes, receberam escore 1, estudos contendo 45 a 80 peixes por grupo, receberam escore 2 e estudos com mais de 80 peixes, receberam escore 3;
- Avaliação da exposição prévia: Estudos em que os animais foram submetidos à avaliação da exposição prévia ao *S. agalactiae* receberam escore 2 e estudos em que os animais não foram submetidos a avaliação da exposição prévia receberam escore 1;
- Avaliação da infecção posterior ao desafio: Estudos em que os animais foram submetidos à avaliação da infecção posterior ao desafio com *S. agalactiae* receberam escore 2 e estudos em que os animais não foram submetidos a avaliação da infecção posterior ao desafio receberam escore 1;
- Avaliação da resposta imune humoral e celular: Estudos em que os animais foram submetidos à avaliação da resposta imune humoral e celular receberam escore 3, estudos em que os animais foram submetidos apenas a avaliação da resposta humoral receberam escore 2 e estudos em que nenhuma resposta imune foi mensurada receberam escore 1;
- Avaliação da glicemia de estresse após vacinação: Estudos em que houve avaliação dos níveis de glicose no sangue após vacinação receberam escore 2, estudos que não avaliaram receberam escore 1;
- Utilização de vacinas com cepas homologas e heterólogas: Estudos em que os animais foram submetidos a vacinação com cepas homologas e heterólogas receberam escore 3, estudos em que os animais foram submetidos a vacinação com cepas apenas homologas ou heterólogas receberam escore 2, estudos que não informaram o tipo de cepa receberam escore 1;

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



- Taxa de sobrevivência: Estudos em que ocorreu uma maior taxa de sobrevivência do grupo vacinado em relação ao grupo controle receberam escore 2, ausência de diferença entre os grupos receberam escore 1.

O score máximo possível foi de 15 pontos.

Tabela 2. Escores dos critérios de avaliação dos experimentos com vacinas contra *Streptococcus agalactiae* em tilápias (*Oreochromis sp.*)

Artigos	Numero médio de animais por grupo ¹	Deteção dos peixes negativos antes do experimento ²	Avaliação da infecção posterior ao desafio ³	Avaliação da sobrevivência e resposta imune ⁴	Avaliação da glicemia de estresse após vacinação ⁵	Vacina contra cepas homologas e heterologas da bactéria ⁶	Total
Evans et al., 2004	3	1	2	1	1	2	10
	4	1	2	1	1	2	9
	6	1	2	1	1	2	8
Firdaus-Nawi et al., 2012	2	2	2	3	1	1	11
Pretto-Giordano et al., 2010	3	2	2	1	1	2	11
Chen et al., 2012	1	2	2	1	1	3	10
Longhi et al., 2012	3	2	2	1	1	1	10
Pasnik et al., 2005	2	2	2	2	1	1	10
Pasnik et al., 2005 (2)	2	1	2	2	1	1	9
Salvador et al., 2012	1	1	2	2	1	2	9
Evans et al., 2004 (2)	1	1	2	1	2	1	8
Firdaus-Nawi et al., 2011	2	1	1	2	1	1	8
Pasnik et al., 2006	1	2	1	2	1	1	8
Pasnik et al., 2008	2	1	1	1	2	1	8

Foram comparadas, por meio da ANOVA e Teste t de *student*, as médias de peso (g) dos animais e RPS (%) dos grupos observados nos experimentos compilados na presente revisão entre os diferentes protocolos de avaliação da eficácia da vacinação,

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



considerando a via de aplicação da vacina (intraperitoneal, banho de imersão e ração) e tipo de desafio (cepas homólogas ou heterólogas). Foram aplicados os testes de normalidade de Shapiro-wilk e homocedasticidade de Levene para a verificação dos pressupostos do teste paramétrico utilizado. Apenas um artigo científico avaliou a RPS dos peixes vacinados via ração, assim como um avaliou a eficácia da vacina conservada. Dessa forma não foi possível comparar esses parâmetros quanto a RPS com os demais protocolos de vacinação.

RESULTADOS

A busca nas bases de dados "Web of Science", "Scopus", "PubMed" e "CAB direct" resultaram em 55 artigos científicos, sendo 11 repetidos entre as bases. Quatro artigos foram excluídos por não estarem estudando a tilápia, 25 por não avaliarem vacinas anti *S. agalactiae* e três por serem resumos de congressos. Assim, um total de 12 artigos científicos foram selecionados para esta revisão sistemática, sendo que todos avaliaram a eficácia da vacina inativada em tilápias vivas, após desafio experimental com o agente. Seis artigos comprovaram a ausência da infecção pela bactéria nos peixes anterior ao desafio. Quanto à vacina, apenas um artigo estudou mais de um tipo de cepa bacteriana na vacinação. Já em relação ao desafio, três avaliaram apenas cepas homólogas e dois apenas cepas heterólogas da bactéria. Um avaliou a associação de uma cepa homóloga com uma heteróloga e seis não informaram o tipo de cepa utilizada. Três não avaliaram o sucesso do desafio experimental.

Todos os estudos avaliaram vacinas frescas, sendo que destes apenas um avaliou também a eficácia da vacina conservada. Dois artigos estudaram o efeito da vacinação aplicada via ração, dois por meio de banho de imersão e oito via intraperitoneal nos peixes. De 10 artigos que avaliaram a aplicação de uma dose da vacina intraperitonealmente, apenas um (vacina conservada por um ano na sua forma freca) não observou maior sobrevivência, porem verificou que a resposta imune celular foi maior que entre os peixes do grupo controle. Os outros nove artigos verificaram maior sobrevivência, dois também menores níveis de glicose e três também maior produção de anticorpos contra *S. agalactiae*. Nestes experimentos, o numero de peixes

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



por grupo experimental utilizado variou de 10 a 137, o peso médio de 15,3 a 125,0 g e a temperatura da água de 26 a 32°C. As RPS (%) observadas variaram de 29,0 a 100%.

O fornecimento da vacina via ração foi feito em dois artigos, sendo que verificou-se maior eficácia da vacina tanto na sobrevivência quanto na resposta imune humoral e celular. Nesses protocolos via ração, o número de peixes por grupo experimental utilizado variou de 60 a 72 e o peso médio de 15,3 a 125,0 g. A temperatura da água não foi informada em um dos dois artigos, sendo que no outro foi de 32,6°C, assim como em um deles não foi avaliada a sobrevivência. No outro a RPS (%) observada foi de 75%.

O fornecimento da vacina por banho de imersão também foi utilizado em dois artigos, sendo que esta via se mostrou mais eficaz em aumentar a sobrevivência dos peixes em comparação ao controle apenas quando em duas aplicações. O número de peixes por grupo experimental submetido ao banho de imersão nos estudos variou de 22 a 141, o peso médio de 30,0 a 38,4 g e a temperatura da água de 29,7 a 30,0°C. As RPS (%) observadas foram de 23,5 e 35,0%

Alem da sobrevivência, cinco artigos avaliaram a resposta imune humoral, destes dois também a celular, e um avaliou apenas a resposta imune celular. Dois trabalhos avaliaram os níveis de glicose dos peixes após o fornecimento de vacina fresca e conservada, pela via intraperitoneal. Em todos os artigos foi verificada uma melhor resposta imune humoral e celular, e em apenas um, menor nível de glicose do grupo vacinado após o desafio com *S. agalactiae*. O número de peixes por grupo experimental nesses artigos variou de 10 a 72, o peso médio de 30,0 a 150,0 g e a temperatura da água de 23,5 a 32,6°C. As RPS (%) observadas variaram de 29,0 a 100%.

No presente estudo, não foi verificada diferença estatisticamente significativa na média de RPS observada entre os grupos desafiados com cepas homólogas (75,3% ± 5,9) e heterólogas (64,3% ± 25,4), assim como no peso entre os grupos vacinados via intraperitoneal (51,8g ± 38,1), banho de imersão (34,2g ± 5,9) e ração (58,2g ± 43,1). Já em relação à sobrevivência entre os diferentes protocolos de vacinação, foi observada diferença nas médias da RPS ($p=0,002$) entre os grupos vacinados via intraperitoneal (75,5% ± 14,1) e banho de imersão (29,2% ± 8,1).

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



Os melhores protocolos de vacinação contra *S. agalactiae* verificados na presente revisão são aqueles utilizados nos estudos que apresentaram os maiores *scores* em relação aos critérios de qualidade (Tabela 2).

DISCUSSÃO

As revisões sistemáticas utilizam métodos explícitos para realizar uma pesquisa bibliográfica completa, permitindo uma visualização mais clara dos resultados e oferecendo sugestões imparciais sobre os melhores protocolos a serem utilizados ou estudados (PEREIRA et al., 2011). A presente revisão sistemática sobre o efeito protetor da vacina contra a estreptococose causada por *S. agalactiae* foi realizada para determinar quais protocolos alcançaram os melhores resultado. Os critérios foram definidos com o objetivo de avaliar a qualidade metodológica dos estudos selecionados. É importante destacar que, apesar das extensas buscas realizadas nas principais bases de dados da área existentes, é possível que alguns artigos publicados podem não ter sido encontrados devido a possíveis diferenças nas palavras-chave. Além disso, destaca-se que a avaliação da qualidade metodológica e critérios foram definidos com base em pesquisas anteriores e na experiência dos próprios autores.

A randomização é um processo necessário em experimentos, uma vez que diferenças relacionadas aos indivíduos amostrados são minimizadas, permitindo assim a obtenção de resultados mais confiáveis. Em todos os estudos avaliados nesta revisão sistemática, a alocação dos indivíduos entre os grupos foi randomizada. Mesmo assim, grandes variações foram verificadas nos tipos de cepas usadas nos desafios (homologas ou heterologas, e muito não informaram) e quantidade de bactérias utilizadas no desafio, além da dose de vacina administrada, temperatura da água e peso dos animais entre os experimentos. Apesar disso, a maior parte dos protocolos vacinais utilizados nos estudos apresentou resultados estatisticamente melhores no efeito protetor sobre a mortalidade dos peixes em relação aos grupos controle, justamente pela melhor resposta imune humoral e celular conferida pela vacina.

Mesmo que apenas dois trabalhos tenham avaliado o fornecimento da vacina na ração, e um tenha utilizado vacina conservada, ambos demonstraram que essas formas de apresentação e administração da vacina também são adequadas contra *S. agalactiae*

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



em tilápias do Nilo. Ressalta-se que um dos artigos (FIRDAUS-NAWI et al. 2012) que utilizaram ração foi o que apresentou maior escore, enquanto o que usou vacina conservada (PASNIK et al., 2005) também apresentou um alto escore no presente estudo. De acordo com Firdaus-Nawi et al. (2012) a vacinação oral é vantajosa, pois reduz o custo de mão de obra, despesas com agulhas e seringas e estresse sobre o peixe durante a vacinação. Rombout et al. (1986), trabalhando com carpa (*Cyprinus carpio*), afirmou que a vacinação via ração induz a imunidade da mucosa, porém uma menor imunidade sistêmica. Evensen (2009, p. 179) também afirmou que, quando vacinados via oral, os peixes apresentam menor período de proteção, quando comparado a injeção e imersão.

Por outro lado, a vacina administrada por banho de imersão, avaliada em dois artigos, foi menos eficaz. Nos trabalhos (EVANS et al., 2004; LONGHI et al., 2012) em que foi testado apenas um banho, a sobrevivência do grupo vacinado não foi estatisticamente diferente da observada entre os animais do grupo controle. Por outro lado, quando fornecida em dois banhos (LONGHI et al., 2012), com intervalo de 25 dias, a vacina apresentou um efeito protetor maior que o grupo controle, mas semelhante ao grupo de peixes submetido a apenas um banho. Em função disso e pelo fato de que neste estudo a mortalidade dos peixes ter sido alta em todos os grupos (aproximadamente 43%), os autores sugerem que o banho de imersão apresenta baixa eficácia contra *S.agalactiae* em tilápias do Nilo. Esse resultado foi confirmado no presente estudo, uma vez que a média de sobrevivência entre os peixes vacinados via intraperitoneal nos diferentes experimentos foi maior ($p=0,002$) que aquela observada entre as tilápias vacinadas via banho de imersão. Essa baixa eficiência também foi observada em vacinas de *S. iniae* inativada, administrada por banho de imersão em trutas arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) de 4 a 10g (NAKANISHI, et al. 2002). Já para o catfish (*Edwardsiella ictaluri*), uma melhor eficácia da vacina contra a infecção por *S.agalactiae* administrada por banho de imersão foi verificada (KLESIUS et al., 1999; SHOEMAKER et al., 2002).

Em relação à vacina conservada a 4°C na forma aquosa, esta não apresentou maior efeito protetor contra a mortalidade, porém demonstrou maior efeito na produção de anticorpos que o grupo controle. Porém é importante ressaltar que, mesmo que a

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



imunidade humoral dos peixes vacinados tenha sido maior, ainda sim foi menor que a observada normalmente quando tilápias são vacinados com vacinas frescas, o que segundo os autores (PASNIK et al., 2005), provavelmente causou a baixa proteção da vacina conservada.

Aparentemente o tamanho do peixe interfere nos resultados da vacinação de *S. agalactiae* por injeção intraperitoneal, mas não pelo banho de imersão (ZAPATA et al., 1997; EVANS et al. 2004). Por outro lado, Klesius e Shoemaker (1999) não encontraram qualquer associação entre a idade de tilápia e/ou tamanho e eficácia da vacina para *S. iniae*. Neste sentido, é importante ressaltar que a idade em que a tilápia adquire completa capacidade imunológica é pouco elucidada, porém acredita-se que seja a partir dos 21 dias de idade. Assim, peixes de 30 g, como os estudados em alguns experimentos avaliados nesta revisão, já seriam imunocompetentes (EVANS, et al. 2004).

É importante ressaltar que, apesar da vacina via banho de imersão em apenas uma aplicação, ou a utilização de vacinas conservadas tenham apresentado resultados não satisfatório, a maior parte desses artigos apresentaram escores metodológicos elevados. Apenas disso, apenas um experimento foi conduzido nas suas avaliações, enquanto que de 10 experimentos que avaliaram a aplicação da vacina via intraperitoneal, também um não apresentou efeito protetor contra mortalidade dos peixes (SALVADOR et al., 2012). Isso indica que a repetibilidade na pesquisa, além das características produtivas locais, devem ser consideradas na avaliação dos melhores protocolos vacinais.

Assim, é importante ressaltar que os resultados negativos encontrados nesta revisão sistemática não invalidam a utilização de alguns protocolos, pois se sabe que diferentes condições experimentais, ou mesmo possíveis erros aleatório, podem influenciar nos resultados. Por outro lado, podem servir como indicativo de eficácia, o que valida sua utilização de acordo com as diferentes características produtivas das pisciculturas.

CONCLUSÃO

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



A vacinação intraperitoneal, em uma ou duas aplicações, contra a infecção por *S. agalactiae*, apresenta melhores resultados em comparação ao banho de imersão, o que indica que essa forma de administração pode ser usada na prevenção da estreptococose causada por *S. agalactiae* em tilápias. Porém, mais estudos são necessários para a avaliação e comparação dos resultados entre outros protocolos, principalmente relacionados ao fornecimento da vacina via ração e banho de imersão.

REFERÊNCIAS

- Chen, M., Wang, R., Li, L., Liang, W., Li, J., Huang, Y., Lei, A., Huang, W., Gan, X., 2012. Screening vaccine candidate strains against *Streptococcus agalactiae* of tilapia based on PFGE genotype. **Vaccine**. 30, 6088–6092.
- Duremdez, R., Al-Marzouk, A., Qasem, J.A., Al-Harbi, A., Gharabally, H., 2004. Isolation of *Streptococcus agalactiae* from cultured silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen), in Kuwait. **J Fish Dis**. 27, 307–310.
- Dumrongphol, Y., Hirota, T., Kondo, H., Aoki, T., Hirono, I., 2009. Identification of novel genes in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) head kidney up-regulated after vaccination with *Streptococcus iniae* formalin-killed cells. **Fish and Shellfish Immunology**. 26, 197–200.
- Evans, J.J., Klesius P.H., Glibert, P.M., Shoemaker C.A., Al Sarawi, M.A., Landsberg, J., Duremdez, R., Al Marzouk, A., Al Zenki, S., 2002. Characterization of beta-haemolytic group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* (L.) and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day), in Kuwait. **J Fish Dis**. 25, 505–513.
- Evans, J.J., Klesius P.H., Glibert, P.M., Shoemaker C.A., 2004. Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration. **Vaccine**. 22, 3769–3773.
- Evans, J.J., Klesius P.H., Shoemaker C.A., Fitzpatrick, B.T., 2004b. *Streptococcus agalactiae* Vaccination and Infection Stress in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of Applied Aquaculture**. 16, 105–114.
- Evans, J.J., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., 2006. Streptococcus in warm water. **Aquaculture Health International**. 7, 10–13.

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



- Evensen O., 2009. Development in fish vaccinology with focus on delivery methodologies, adjuvants and formulations. **Options Mediterraneennes**. 86, 177–186.
- Firdaus-Nawi, M., Noraini, O., Sabri, M.Y., Siti-Zahrah, A., Zamri-Saad, M., Latifah, H., 2011. The Effects of Oral Vaccination of *Streptococcus agalactiae* on Stimulating Gut-associated Lymphoid Tissues (GALTs) in Tilapia (*Oreochromis* spp.). **Pertanika J. Trop. Agric. Sci.** 34, 137–143.
- Firdaus-Nawi, M., Yusof, M.S., Yusof, H., Siti-Zahrah, A., Zamri-Saad, M., 2012. Efficacy of feed-based adjuvant vaccine against *Streptococcus agalactiae* in *Oreochromis* spp. in Malaysia. **Aquaculture Research**. 1–10.
- Gomes, S., Afonso, A., Gartner, F., 2006. Fish vaccination against infections by Streptococcal species and the particular case of Lactococcosis. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. 101, 25–35.
- Hastein, T., Gudding, R., Evensen, O., 2005. Bacterial vaccines for fish-an update of the current situation worldwide. **Developments in Biologicals**, 121, 55–74.
- Longhi, E., Pretto-Giordano, I. G., Müller, E. E., 2012. Avaliação da eficácia de vacina autóctone de *Streptococcus agalactiae* inativado aplicada por banho de imersão em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Semina: Ciências Agrárias**. 33, 3191–3200.
- Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., 1999. Development and use of modified live Edwardsiella ictaluri vaccine against enteric septicemia of catfish. **Advances in veterinary medicine**. 41, 523–537.
- Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., Evans. J.J., 1999. Efficacy of a killed *Streptococcus iniae* vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Bull Eur Ass Fish Pathol**. 19, 38–41.
- Klesius, P. H., Evans, J. J., Shoemaker, C. A., 2004. Warmwater fish vaccinology in catfish production. **Animal Health Research Reviews**. 5, 305–311.
- Johri, A. K., Paoletti, L. C., Glaser, p., Dua, M., Sharma, P. K., Grandi, G., Rappuoli., 2006. Group B *Streptococcus*: global incidence and vaccine development. **Nature**. 4, 932–942.
- Nakanishi, T., Kiryu, I., Ototake, M., 2002. Development of a new vaccine delivery method for fish: percutaneous administration by immersion with application of a multiple puncture instrument. **Vaccine**. 20, 3764–3769.

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



- Pasnik, D.J., Evans, J.J., Panangala, V.S., Klesius P.H., Shelby R.A., Shoemaker C.A., 2005. Antigenicity of *Streptococcus agalactiae* extracellular products and vaccine efficacy. **J. of Fish Dis.** 28, 205–212.
- Pasnik, D.J., Evans, J.J., Klesius P.H., 2005. Duration of protective antibodies and correlation with survival in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* following *Streptococcus agalactiae* vaccination. **Dis Aquat Org.** 66, 129–134.
- Pasnik, D.J., Evans, J.J., Klesius P.H., 2006. Passive immunization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) provides significant protection against *Streptococcus agalactiae*. **Fish & Shellfish Immunology.** 21, 365–371.
- Pasnik, D.J., Evans, J.J., Klesius P.H., 2008. Influence of Tricaine Methanesulfonate on *Streptococcus agalactiae* Vaccination of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Veterinary Research.** 2, 28–33.
- Pretto-Giordano, L.G., Muller, E.E., Klesius, P., Silva, V.G., 2010. Efficacy of an experimentally inactivated *Streptococcus agalactiae* vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in Brazil. **Aquaculture Research.** 41, 1539–1544.
- Pereira, U.P., Oliveira, D.G.S., Mesquita, L.R., Costa, G.M., Pereira, L.J., 2011. Efficacy of *Staphylococcus aureus* vaccines for bovine mastitis: A systematic review. **Vet. Microbiol.** 148, 117–124.
- Rombout, J.H.W.M., Blok L.J., Lamers C.H.J., Engbert E., 1986. Immunization of carp (*Cyprinus carpio*) with *Vibrio anguillarum* bacterin: indications for a common mucosal immune system. **Development and Comparative Immunology.** 10, 341–351.
- Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P., 2009. Prophylactic effect of *Andrographis paniculata* extracts against *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **J. Biosci. Bioeng.** 107, 579–582.
- Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., Evans, J.J., 2002. In ovo method for utilizing the modified live *Edwardsiella ictaluri* vaccine against enteric septicemia in channel catfish. **Aquaculture.** 203, 221–227.
- Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., Bricker, J.M., 1999. Efficacy of a modified live *Edwardsiella ictaluri* vaccine in channel catfish as young as seven days post hatch. **Aquaculture,** 176, 189–193.

1 Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.



- Swain, P., Nayak, S. K., Sahu, A., Mohapatra, B. C., Meher, P. K., 2002. Bath immunization of spawns, fries and fingerlings of Indian major carps using a particulate antigen and determination of age, dose and duration of antigen exposure. **Fish and Shellfish Immunology**. 13, 133–140.
- Serrano, P. H., 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture. **Food and Agriculture Organization (FAO) Fisheries Technical Paper**. 469, 11–38.
- Suanyuk, N., Kong, F., Ko, D., Gilbert, G., L., Supamattaya, K., 2008. Occurrence of rare genotypes of *Streptococcus agalactiae* in cultured red tilapia *Oreochromis* sp and Nile tilapia *O. niloticus* in Thailand – relationship to human isolates? **Aquaculture**. 284, 35–40.
- Salvador¹, R., Toazza, C.S., Moraes, J.R.E., Moraes, F.R., 2012. Inflammatory responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* to *Streptococcus agalactiae*: effects of vaccination and yeast diet supplement. **Dis Aquat Org**. 98, 235–241.
- Zapata, A.G., Torroba, M., Varas, A., Jiménez, E., 1997. Immunity in fish larvae. In: Gudding, R., Lillehaug, A., Midtlyng, P.J., Brown, F., editors. **Fish vaccinology: developments in biological standardization**. 90, 23–32.

¹ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: carloscicinato@hotmail.com; 2, 3, 4,5,6,7 Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil.

