

**UNIVERSIDADE DE MARÍLIA**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**ÁREAS: SAÚDE ANIMAL, PRODUÇÃO E AMBIENTE**

**ÁREA: SAÚDE ANIMAL**  
**CATEGORIA: DISSERTAÇÃO**

**ANÁLISE DE EFICÁCIA DE UMA VACINA AUTÓGENA DIANTE DE  
UMA VACINA COMERCIAL PARA TILÁPIAS (*Oreochromis  
niloticus*) CONTRA *Streptococcus agalactiae* SOROTIPO 1B EM  
TESTE DE CAMPO**

**RENAN SILVA DE ROSSI**

**UNIVERSIDADE DE MARÍLIA**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ANÁLISE DE EFICÁCIA DE UMA VACINA AUTÓGENA DIANTE DE  
UMA VACINA COMERCIAL PARA TILÁPIAS (*Oreochromis  
niloticus*) CONTRA *Streptococcus agalactiae* SOROTIPO 1B EM  
TESTE DE CAMPO**

ALUNO: RENAN SILVA DE ROSSI  
ORIENTADOR: PATRICIA CINCOTTO DOS SANTOS BUENO  
CO-ORIENTADOR: CARLO ROSSI DEL CARRATORE

Trabalho de conclusão de Mestrado Profissional apresentado à Universidade de Marília – UNIMAR, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE em CIÊNCIAS – Área Saúde Animal.

MARÍLIA-SP

Dezembro

2022

**UNIVERSIDADE DE MARÍLIA**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO: ANÁLISE DE EFICÁCIA DE UMA VACINA AUTÓGENA DIANTE DE  
UMA VACINA COMERCIAL PARA TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)  
CONTRA *Streptococcus agalactiae* SOROTIPO 1B EM TESTE DE CAMPO**

**AUTOR: RENAN SILVA DE ROSSI**

**ORIENTADOR: PATRICIA CINCOTTO DOS SANTOS BUENO**

**CO-ORIENTADOR: CARLO ROSSI DEL CARRATORE**

Aprovado como parte das exigências para a obtenção do Título de MESTRE –  
ÁREA SAÚDE ANIMAL OU PRODUÇÃO E AMBIENTE pela Comissão  
Examinadora:

Dr.

Dr.

Dr.

Data da realização: 08 de dezembro de 2022

---

Presidente da Comissão Examinadora  
Dr. (orientador)

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**RENAN SILVA DE ROSSI** – Nascido em 16 de abril de 1997, na cidade de Marília, Estado de São Paulo, Brasil, é Médico Veterinário formado pela Universidade de Marília em dezembro de 2020, possui diploma de Programa de Mobilidade Internacional pela Universidad Andrés Bello (Chile) em Engenharia em Aquicultura. Atua como Gerente Nacional da Unidade de Negócios Aqua na INATA Biológicos desde 2021.

# ANÁLISE DE EFICÁCIA DE UMA VACINA AUTÓGENA DIANTE DE UMA VACINA COMERCIAL PARA TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) CONTRA *Streptococcus agalactiae* SOROTIPO 1B EM TESTE DE CAMPO

## RESUMO

Com o avanço da tilapicultura brasileira nos últimos anos surgiram também novos desafios sanitários, os problemas ocasionados com infecção dos peixes pelo *Streptococcus agalactiae* com certeza é o mais preocupante neste aspecto. Vacinas de diversos tipos e com diferentes tecnologias vem sendo desenvolvidas para ajudar no combate frente a este patógeno, dentre elas as mais usadas atualmente são as vacinas comerciais, fabricadas com cepas heterólogas e as vacinas autógenas, fabricadas com cepas homólogas da propriedade. Para o experimento, foram analisados dados de três grupos: o grupo controle, o grupo CM (vacinados com vacina comercial) e o grupo AU (vacinados com vacina autógena). Todos eles continham cinco repetições de 5.500 peixes, totalizando 27.500 animais por grupo. Os animais foram alojados com 1,5 grama em média, permaneceram no cultivo até atingirem uma média de 50,6 gramas, onde foram vacinados, contados, pesados e classificados pelo seu peso. Do alojamento ao fim da análise do experimento, todos os grupos e repetições foram tratados de maneira igual. O presente estudo avaliou e comparou em um teste de campo vários parâmetros de ambas as vacinas, uma comercial usada no Brasil e uma vacina autógena feita com o isolado da propriedade do teste e concluiu que o grupo AU exige um investimento 20% maior que o grupo CM e 100% maior do que o grupo controle, no entanto aumentou a sobrevivência dos animais em 2,9% quando comparada ao grupo CM e em 6,6% quando comparada ao grupo controle, o ganho de peso médio do grupo AU foi 10,6% maior quando comparados aos animais do grupo CM e 12% maior quando comparados ao grupo controle, a receita média por tanque do grupo AU foi 10,49% maior que o grupo CM e 14,94% maior que grupo controle. Foi deduzido também que os animais vacinados com a vacina autógena possuem menor conversão alimentar aparente que os outros dois grupos e que consequentemente a produtividade por m<sup>3</sup> é maior com o uso da vacina autógena.

**Palavras-chave:** Aquicultura, tilápia, vacinação, vacina, vacina autógena.

# EFFECTIVENESS ANALYSIS OF AN CUSTOM MADE VACCINE VS A COMMERCIAL VACCINE FOR TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) AGAINST *Streptococcus agalactiae* SEROTYPE 1B IN FIELD TEST

## ABSTRACT

With the advancement of Brazilian tilapia farming in recent years, new health challenges have also emerged, the problems caused by fish infection by *Streptococcus agalactiae* are certainly the most worrying in this regard. Vaccines of different types and with different technologies have been developed to help combat this pathogen, among them the most used currently are commercial vaccines, manufactured with heterologous strains, and custom made vaccines, manufactured with homologous strains of the farm. For the experiment, data from three groups were analyzed: the control group, the CM group (vaccinated with commercial vaccine) and the AU group (vaccinated with custom made vaccine). They all contained five replicates of 5.500 fish, totaling 27.500 animals per group. The animals were housed with an average of 1.5 grams, remained in the farm until they reached an average of 50.6 grams, where they were vaccinated, counted, weighed and classified by their weight. From housing to the end of experiment analysis, all groups and replicates were treated equally. The present study evaluated and compared in a field test several parameters of both vaccines, a commercial one used in Brazil and a custom made vaccine made with the isolate from the test farm, and concluded that the AU group requires an investment 20% more expensive than the CM group and 100% higher than the control group, however it increased the survival of the animals by 2.9% when compared to the CM group and by 6.6% when compared to the control group, the average weight gain of the UA group was 10.6% higher when compared to animals in the CM group and 12% higher when compared to the control group, the average revenue per tank in the AU group was 10.49% higher than the CM group and 14.94% higher than the control group. It was also deduced that the animals vaccinated with the autogenous vaccine have lower apparent feed conversion than the other two groups and that consequently the productivity per m<sup>3</sup> is higher with the use of the autogenous vaccine.

**Keywords:** Aquaculture, tilapia, vaccination, vaccine, custom made vaccine.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Colaborador da propriedade utilizando o aplicador para a injeção da vacina em peixe.....17

**Figura 2:** Momento exato dos animais sendo vacinados, logo depois de terem sido classificados, contados e pesados.....19

**Figura 3:** Frasco de vacina autógena na propriedade em que foi realizado o experimento.....19

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Médias e desvio padrão de peso inicial, peso final, ganho de peso e porcentagem de ganho de peso.....20

**Tabela 2:** Análise estatística de porcentagem de mortalidade e saldo de animais dos grupos experimentais .....21

**Tabela 3:** Análise estatística de custo de vacinação, receita por tanque e diferença entre custo e receita obtida.....21



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	11
3. OBJETIVOS.....	15
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	15
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	24
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

## 1. INTRODUÇÃO

Compreende-se como aquicultura, o cultivo de animais aquáticos de água salgada ou água doce sob condições controladas. Atualmente esta atividade é responsável por produzir mais da metade dos moluscos e peixes consumidos pela população mundial e além de contribuir para a alimentação mundial, movimenta o crescimento econômico estando em crescente desenvolvimento e estabilidade (FAO, 2018).

Em nosso país, o cultivo de animais aquáticos tem crescido em média 30% ao ano, superando a média global de 10%, um sinal positivo de que o Brasil possui afinidade com a atividade da aquicultura (SCHULTER; VIEIRA, 2017). A tilapicultura, cultivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*), tem mudado o cenário brasileiro de aquicultura, pois após os anos 2000 em que a atividade crescia de forma discreta e pouco profissionalizada, houve uma melhoria na demanda, qualidade dos seus produtos e investimento de grandes empresas no setor, profissionalizando a atividade e melhorando assim o cenário da antiga tilapicultura, intensificando os cultivos, elevando o Brasil para o nível dos maiores produtores de tilápias do mundo e consolidando o crescimento com qualidade da atividade (RENATA et al. 2018).

Porém, essa intensificação dos cultivos para atender as demandas do mercado é a mesma responsável por produzir fatores estressantes para os peixes, o que favorece a permanência e disseminação de agentes potencialmente patogênicos no ambiente de cultivo (LEIRA, 2017). As bactérias, neste cenário, entram como importantes patógenos potenciais na piscicultura intensiva, pois possuem uma facilidade na disseminação e tem caráter oportunista.

A vacinação é uma estratégia importante para proteger as espécies de aquicultura das principais doenças, e vários estudos recentes demonstraram com sucesso os efeitos imunoprotetores das vacinas contra patógenos bacterianos de peixes, incluindo o *S. agalactiae* (WANG et al., 2019). O manejo vacinal é um método eficaz para controlar a infecção por *S. agalactiae* e prevenir a mortalidade em massa em tilápias (LIU et al., 2016).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

As bactérias que apresentam maior impacto econômico no cultivo de tilápias no Brasil são as do gênero *Streptococcus*, especialmente a espécie *Streptococcus agalactiae* (WANG, 2018). *Streptococcus agalactiae* é um agente global e o principal patógeno causador da sepse e meningoencefalite em peixes ósseos (EVANS et al., 2006). Os surtos provocados por essa bactéria desencadeiam altas taxas de morbidade e mortalidade em peixes, resultando em sérios prejuízos econômicos para as propriedades (ZAMRI-SAAD et al. 2010). A mortalidade nos lotes pode atingir um índice de 90% justamente na fase final de cultivo da tilápia, período este onde o animal já consumiu a maior quantidade de ração durante sua criação (ABUSELIANA et al. 2010).

Estudos epidemiológicos determinaram a existência de 13 diferentes biótipos de *Streptococcus agalactiae* isolados de tilápia em diferentes partes do mundo (OLIVARES-FUSTER et al. 2008). Os estreptococos patogênicos apresentam características de adesão à superfície epitelial, invasão de células epiteliais e endoteliais e dano tecidual direto, que são algumas das consequências das infecções, que contribuem para sua virulência (NIZET ; RUBENS 2000). A principal via de transmissão é pelo contato com peixes e/ou alimentos contaminados e pelo contato indireto mediado pela água no sistema de cultivo (LIM ; WEBSTER 2006). As bactérias são excretadas das fezes de peixes infectados e podem sobreviver em corpos d'água, aumentando a possibilidade de transmissão fecal-oral (NGUYEN et al. 2001). Outra via muito importante é a via oral pelo canibalismo, que leva à propagação de doenças para animais saudáveis se alimentando de animais mortos ou moribundos (WONGSATHEIN, 2012). A transmissão vertical do *Streptococcus agalactiae* em tilápias naturalmente infectadas não foi confirmada, Jiménez et al. (2011) não detectaram a bactéria nas larvas dos peixes progenitores infectados.

Os principais sinais clínicos incluem anorexia, escurecimento da pele, natação irregular, letargia, curvatura corporal, olhos protuberantes com opacidade da córnea e/ou hemorragia intraocular unilateral ou bilateral, sufusões no opérculo e base da nadadeira, úlceras epidérmicas e morte. As lesões internas são caracterizadas por hiperemia branquial, hepatomegalia e esplenomegalia, acompanhada de hiperemia, ascite e encefalomalacia (SALVADOR et al. 2003). A gravidade da doença em tilápias está relacionada a fatores como: cepa do *Streptococcus agalactiae*, dose de infecção, temperatura da água, biomassa e

manejo da criação dos animais (CHANG; PLUMB 1996). Condições de alta densidade, baixa qualidade da água e manejo inadequado podem levar à liberação de cortisol, que é um indicativo de estresse em peixes. Animais sob condições de estresse apresentam anorexia, esgotamento dos estoques de glicogênio e imunossupressão, reduzindo assim sua resistência a patógenos (EVANS et al., 2002).

A fisiopatologia das infecções causadas por *Streptococcus agalactiae* não é totalmente compreendida, mas as pesquisas se iniciaram com a associação da presença de colônias bacterianas com danos ao baço, fígado, rim e tecido cerebral em peixes naturalmente infectados (ZAMRI-SAAD et al. 2010). O *Streptococcus agalactiae* causa necrose local, invadindo e se multiplicando nos macrófagos, estes, que podem ser usados como transportadores para invadir a corrente sanguínea e se espalhar para vários órgãos, incluindo o cérebro, ultrapassando a barreira hematoencefálica, levando a septicemia (MUSA et al. 2009).

Em tilápias vermelhas (*Oreochromis niloticus*) foram observadas lesões de necrose focal, congestão hepática grave e área infartada, petéquias, necrose e vasculite associada a colônias bacterianas no baço, congestão grave das guelras e intestinos, rim hiperêmico com processo inflamatório significativo e espessamento das meninges devido ao infiltrado inflamatório acentuado (ZAMRI-SAAD et al. 2010).

Quando naturalmente infectados com *Streptococcus agalactiae*, devido à hemorragia e infiltração inflamatória mononuclear da cadeia de cocos, dilatam gravemente o espaço subaracnoide no cérebro, processo caracterizado como meningoencefalite (ELDAR et al., 1995).

Os efeitos imunoprotetores provindos do manejo de vacinação dos animais é considerado uma estratégia importante para a proteção das espécies na aquicultura diante das infecções bacterianas, o que inclui o *Streptococcus agalactiae* (WANG et al, 2019).

As vacinas inativadas são as mais utilizadas por serem mais fáceis e baratas de produzir e ecologicamente mais seguros do que vacinas vivas (MUNANG'ANDU et al., 2014).

Peixes teleósteos têm um sistema imunológico inato bem desenvolvido, consistindo em barreiras físicas como a pele e químicas como lisozimas séricas e o muco, elas cobrem a pele e as mucosas, além de envolver os embriões, formando uma barreira protetora contra patógenos ambientais. Além da lisozima, existem moléculas do sistema imunológico como a proteína C-reativa, macrófagos

e outros fagócitos, neutrófilos e trombócitos (WATTS et al. 2001).

A resposta imune inata ou não específica é uma forma de resposta inflamatória a um antígeno no primeiro contato ao contrário da resposta imune adaptativa, que requer um contato prévio com o antígeno sendo específica e direcionada contra ele durante a segunda exposição, que é mais rápida e mais forte, o que geralmente elimina a infecção e protege o hospedeiro de uma reinfecção (FEARON; LOCKSLEY, 1996).

Algumas vacinas baseadas em células mortas com formalina (FKCs) foram desenvolvidas anteriormente e mostraram altos níveis de eficácia. As vacinas FKC ativam o sistema imunológico e induzem a secreção de imunoglobulina M (IgM) como primeira linha de defesa. Além disso, fatores pró-inflamatórios podem induzir uma resposta inflamatória ao regular a expressão de outras citocinas (Wang et al., 2019).

Métodos físicos tradicionais como aquecimento, luz ultravioleta (UV), sonicação, e métodos químicos, como o uso de formaldeído, solventes e detergentes são os mais usados para inativação de bactérias (MUNANG'ANDU et al., 2014).

No entanto, poucas vacinas comerciais estão disponíveis para *S. agalactiae* e estas são produzidas a partir de cepas pré-definidas e escolhidas pelos fabricantes, uma cepa mais abrangente em um nível local e não utilizam uma cepa específica para cada propriedade (DADAR et al., 2017).

As 39 cepas de *Streptococcus agalactiae* isoladas em surtos de estreptococcose no Brasil foram submetidas ao Gegennes comparando as similaridades de conteúdos de genomas inteiros através da porcentagem de identidade Blastn e assim, diferenciando as cepas brasileiras de *Streptococcus agalactiae* em quatro grandes grupos filogenômicos, dentro do sorotipo 1b eles foram diferenciados três grupos genômicos distintos entre si, mesmo sendo de sorotipos idênticos. Dois grupos destes três apresentaram ocorrência no país todo, o que não é um fato surpreendente, pois sabe-se que o *Streptococcus agalactiae* é transmitido através do contato entre animais. Já foi demonstrado por meio de genômica comparativa que o *Streptococcus agalactiae* possui um genoma estruturado com um “back-bone” estável e que outros elementos são responsáveis pelas diferenças entre muitas linhagens. Portanto, pequenas diferenças entre os genomas provavelmente ocorrem devido a polimorfismos nas sequências dos genes. As características genômicas dos isolados brasileiros de *Streptococcus agalactiae* mostraram um número de pseudogenes variando de 98 a 320 entre os

isolados e mesmo dentro de cada linhagem genômica. Sabe-se que as cepas do sorotipo B estão passando por uma evolução reductiva, sendo comum observar uma alta porcentagem de pseudogenes, acima de 10% do genoma, o que se acredita ser uma estratégia adaptativa desses hospedeiros (GUSTAVO et al., 2017).

Contornando este entrave, existem as vacinas autógenas que são aquelas preparadas a partir de patógenos isolados de animais infectados pertencentes ao próprio rebanho que receberá a vacinação com o intuito de proteger os possíveis acometidos pela infecção e estimular a imunidade dos demais animais do rebanho (CARVALHO, 2007).

As vacinas autógenas foram introduzidas na medicina humana há mais de 100 anos. O bacteriologista e imunologista Sir Almroth Wright foi a força motriz por trás do uso desta vacina para o tratamento e prevenção de vários tipos de infecções crônicas e recorrentes (NOLTE, 2009). Seus primeiros pacientes foram pessoas com abscessos cutâneos recorrentes que o procuraram para se vacinar, assim como ele foi vacinado contra a febre tifoide na época. Wright isolou estafilococos de cada paciente e preparou uma "vacina morta pelo calor". Várias doses da vacina foram dadas a seus pacientes, e todos eles se recuperaram (Smith, 1970). Seguindo o trabalho de Wright, o uso de vacinas autógenas para o tratamento de abscessos cutâneos e outras infecções crônicas aumentou consideravelmente no Reino Unido e nos Estados Unidos da América (SMITH, 1970).

Quando consideramos as vacinas autógenas para uso veterinário, podemos classificá-las em dois grupos distintos, sendo o primeiro grupo classificado como autovacinas, ou seja, aquelas que foram fabricadas a partir do isolamento de um patógeno de um indivíduo e este mesmo indivíduo é vacinado com o produto, como é no caso de animais de companhia. O segundo grupo compreende as vacinas fabricadas para um rebanho, que são produzidas a partir de agentes patogênicos isolados de animais doentes que pertencem a um grupo de animais, sendo posteriormente utilizadas em animais que fazem parte ou farão parte do rebanho (CARVALHO, 2007).

Este tipo de vacina é muito estratégica para aplicar medidas de controle evitando a disseminação de linhagens bacterianas específicas, uma vez que a eficácia da vacina de *S. agalactiae* para tilápia do Nilo parece estar ligada à especificidade da cepa (BARONY et al., 2017).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVOS GERAIS**

O trabalho teve como objetivo avaliar e mensurar economicamente e tecnicamente a eficácia de uma vacina autógena diante de uma vacina comercial.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar a eficácia através de parâmetros zootécnicos e o real custo-benefício da adoção de uma vacinação com uma vacina comercial ou uma vacina autógena contra *Streptococcus agalactiae* sorotipo 1b em propriedades produtoras de tilápias.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Em uma propriedade localizada no interior do estado de São Paulo, no rio Paranapanema foram analisados dados de três grupos de cultivo pelo período de 206 dias no ano de 2021.

Inicialmente foram alojados na propriedade em torno de 100.000 peixes da espécie tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), provindos da cidade de Ilhota-SC, clinicamente saudáveis e com média de peso de 1,5 gramas. Durante a classificação, 69 dias após o alojamento, com peso médio de 50,6 gramas, os animais foram anestesiados, contidos e vacinados por via intracelomática individualmente (Figura 01), e depois contados simultaneamente dividindo-os em três grupos onde cada grupo era composto por 5 tanques de 5.500 animais em média, totalizando 27.500 animais em média por grupo. Cada grupo então, recebeu um tratamento, sendo:

- Grupo **CONTROLE** – Composto por 27.500 animais, divididos em 5 tanques de 5.500 animais em média, que receberam dose única de 0,05mL de solução salina placebo via intracelomática.
- Grupo **CM** – Composto por 27.500 animais, divididos em 5 tanques de 5.500 animais em média, que receberam dose única de 0,05mL de vacina comercial via intracelomática.
- Grupo **AU** – Composto por 27.500 animais, divididos em 5 tanques de 5.500 animais em média, que receberam dose única de 0,05mL de vacina autógena (Figura 03) via intracelomática.

Durante o processo de classificação, foi realizada a biometria com 300 animais de cada tanque nos 15 tanques experimentais (denominados tanques origem), permitindo saber o peso médio no dia 69 do experimento (1º dia de vacinação) em cada tanque e uma média de cada grupo (Figura 02).

Os animais saindo do tanque origem, com o peso médio já coletado, foram alojados nos tanques de destino, ajustando sempre a densidade e o número de peixes através de sua biometria, mantendo sempre a densidade em 10kg/m<sup>3</sup> para



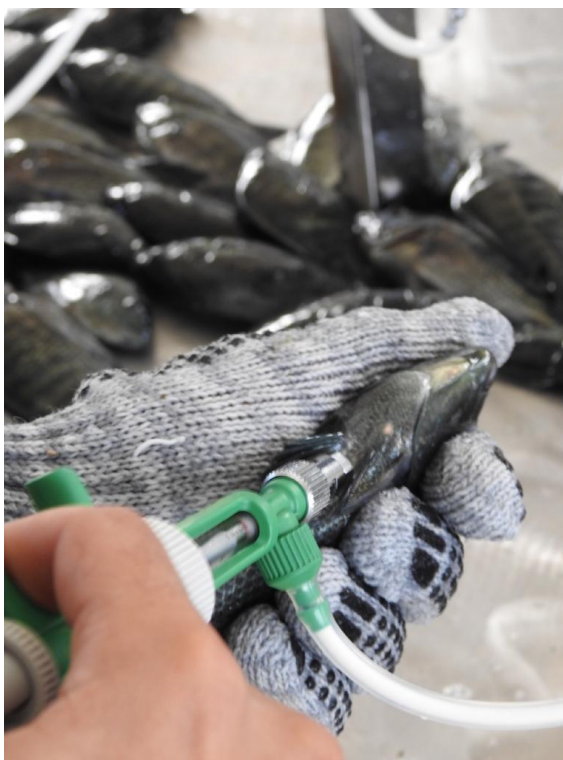
cada tanque, de modo que não houvesse interferência da densidade no estudo.

Os peixes permaneceram nos tanques destino, com densidade inicialmente igualada por um período de mais 77 dias e novamente permaneceram em cultivo até a segunda classificação.

Na segunda classificação, o mesmo processo de pesagem, biometria e ajuste da densidade foi realizado, agora com os grupos já separados. Nesta fase os animais foram alojados em densidade final de 90kg/m<sup>3</sup> em outros respectivos tanques destino, devidamente identificados de acordo com seu grupo experimental.

Ao atingirem o peso médio de 700 gramas, 25 animais de 5 tanques de cada grupo foram pesados, totalizando 375 indivíduos e através de necropsia verificamos se havia ou não a presença de vacina na cavidade celomática, o peso dos animais que não continha marca vacinal foi descartado do experimento, esta pesagem foi considerada como o peso final do experimento.

. Quando próximo das 850 gramas, os animais foram despescados e levados ao frigorífico.



**Figura 1:** Colaborador da propriedade utilizando o aplicador para a injeção da vacina em peixe.  
(Fonte: Arquivo pessoal de Renan Rossi)

Durante o experimento foi adotado o método de contagem da mortalidade através da coleta diária nos tanques e a pesagem foi realizada através das biometrias durante as classificações e na pesagem final através da coleta aleatória nos tanques. Deste modo, obtivemos os seguintes parâmetros de produção:

- **Porcentagem de sobrevivência (%)** =  $100 \times \frac{\text{número de indivíduos final}}{\text{número de indivíduos inicial}}$ .
- **Ganho de peso (g)** =  $\text{Peso final dos indivíduos} - \text{peso inicial dos indivíduos}$

Também foi possível analisar aspectos econômicos dos grupos experimentais, como:

- **Custo de vacinação por lote** =  $\text{custo da dose da vacina} \times \text{número de animais a serem vacinados}$
- **Custo total de produção do lote**
- **Comparação de receitas por lotes**
- **Diferença entre receitas**

Os dados foram compilados durante todo o período de cultivo, desde o alojamento dos lotes até a despesca e foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias entre dois grupos (teste t de Student).

Durante todo este período os animais foram expostos ao manejo alimentar adotado pela propriedade, com ração comercial respeitando e mantendo a decisão nutricional do responsável, ambos os tratamentos foram arraçoados de maneira igual. A mortalidade foi coletada dos tanques e em sequência a mesma foi contabilizada em planilha.



**Figura 2:** Momento exato dos animais sendo vacinados, logo depois de terem sido classificados, contados e pesados. (Fonte: Arquivo pessoal de Renan Rossi)



**Figura 3:** Frasco de vacina autógena na propriedade em que foi realizado o experimento. (Fonte: Arquivo pessoal de Renan Rossi)

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentados os resultados de **ganho de peso**, que é obtido através da diferença do peso médio final dos lotes e do peso médio inicial dos lotes, peso este, obtido através de biometrias nos três tratamentos. A análise estatística comprovou que o grupo AU (autógena) difere-se dos demais grupos quanto a peso inicial, onde observa-se que o grupo AU na primeira classificação, antes da vacinação, apresentou peso médio menor que os outros grupos. Este fator não é uma variável controlável, pois há fatores desde o alojamento inicial até a primeira biometria que podem interferir no crescimento dos peixes, mesmo tendo recebido os mesmo tratamentos e manejos. A tabela mostra também que o ganho de peso do grupo AU foi estatisticamente diferente e maior do que os outros dois grupos.

**Tabela 1:** Médias e desvio padrão de peso inicial, peso final e ganho de peso.

	Autógena	Comercial	Controle
Peso inicial *	35,60±11,99 b	56,60±5,367 a	59,60 ±8,961 a
Peso Final *	735,7±59,09 a	682,6±99,53 ab	675,8±40,10 b
Ganho de Peso*	700,0±53,69 a	625,6±95,65 ab	616,0±33,74 b

Médias seguidas da mesma letra em uma mesma linha não diferem entre si ( $p \leq 0,05$ )

O grupo AU apresentou maior desempenho em relação ao ganho de peso dos animais, pois mesmo o lote iniciando o experimento com peso médio menor, ele foi capaz de atingir pesos maiores no final do experimento e conseqüentemente obteve um ganho de peso maior durante o período experimental.

A tabela 2 indica por meio de estatística que os três grupos têm diferenças de mortalidade significantes entre si quando comparamos o número de animais mortos através da mortalidade coletada com o número de animais alojados, evidenciando assim uma superioridade dos dois grupos vacinados diante do grupo sem vacina e uma mortalidade menor do grupo AU em relação ao grupo CM.

**Tabela 2:** Análise estatística de porcentagem de mortalidade e saldo de animais dos grupos experimentais

	Autógena	Comercial	Controle
Mortalidade	5,1%± 0,56 a	8%± 0,45 b	11,7%± 0,22 c
Saldo de animais obtido através da subtração da mortalidade coletada	26308 a	25425 b	24393 c

Médias seguidas da mesma letra em uma mesma linha não diferem entre si (p≤0,05)

Os dados evidenciam superioridade dos dois grupos vacinados diante do grupo controle, atestando que a vacina influencia diretamente na sobrevivência dos animais de uma propriedade. Já a superioridade do grupo AU diante do grupo CM indica que mesmo as vacinas contendo o mesmo sorotipo 1B de *Streptococcus agalactiae* a vacina contendo a especificidade genética exata da cepa obteve melhor resultado de sobrevivência.

Na tabela 3 pode-se observar que o investimento realizado para vacinar os lotes com a vacina autógena é maior, pois devido as particularidades de produção, o custo por dose é geralmente mais elevado quando comparado a vacina comercial, que é produzida em maiores quantidades e com uma cepa pré-definida. A não vacinação implica em um custo zerado com a aquisição de vacinas, sendo este grupo o mais econômico em termos de investimento.

**Tabela 3:** Análise estatística de custo de vacinação, receita por tanque e diferença entre custo e receita obtida

	Autógena	Comercial	Controle
Custo por tanque	R\$660,00 c	R\$550,00 b	R\$ 0 a
Receita tanque	R\$ 29.971,38 a	R\$ 26.827,21 a	R\$ 25.490,96 b
Receita - Custo	R\$ 29.839,38 a	R\$ 26.717,21 a	R\$ 25.490,96 b

Médias seguidas da mesma letra em uma mesma linha não diferem entre si (p≤0,05)

O custo da dose utilizado no experimento foi levantado de acordo com as cotações das empresas de vacinas no período de início de experimento, chegando a um valor de R\$0,12 por animal na vacina autógena e R\$0,10 por animal na vacina comercial, este número então foi multiplicado pelo número de animais alojados em cada tanque no início do experimento. De um modo geral, o custo com a aquisição da vacina gira em torno de 1% a 2% do preço final da unidade animal. O custo de vacinação como um todo não foi considerado para este experimento, pois existe uma variação muito grande e um sigilo justo entre os custos fixos de cada propriedade. Para o cálculo do preço do kg do peixe, foi utilizado a tabela CEPEA

na data e região do experimento (R\$ 7,73).

Bwalya et al (2020) em estudo com 460 tilápias do Nilo, vacinadas com 41,5 gramas em média, mostraram que uma vacina autógena feita com células inteiras inativadas diminuiu o reisolamento do patógeno *Lactococcus garviae* de 20% do grupo controle não vacinado para 6% do grupo vacinado com uma vacina autógena fabricada com uma cepa homóloga ao isolado para a fabricação da vacina, os autores mostram que existe proteção através da vacina autógena diminuindo a incidência e infecção dos peixes analisados pós vacinação, assim como esperado em nosso estudo, já que o número reduzido de animais mortos e o maior ganho de peso nos dá indícios de que o patógeno para qual foi desenvolvida a vacina estava ausente e/ou presente em menor número de isolamentos.

Os padrões de produção da vacina autógena utilizada neste estudo são de alto nível e extremamente refinados, podendo atribuir o fato da maior proteção diante dos outros dois grupos estudados também ao processo de fabricação da vacina autógena pela empresa fornecedora, o que também pode justificar o maior investimento por dose apresentado no estudo.

Kornelia et al (2022) relatam que a qualidade e a escolha do material de partida têm um papel importante na segurança e na eficácia do produto. Visto que a combinação certa de antígeno e adjuvantes aumentam as perspectivas de eficácia da vacina. Os materiais usados para a produção de vacinas autógenas precisam estar em conformidade com as disposições regulatórias atuais do país. Todos os materiais e fornecedores precisam ser qualificados. Os isolados usados como sementes para a produção de vacinas devem ser puros. A exclusão de agentes estranhos no material inicial e no produto final deve ser feita preferencialmente por meio de testes estratégicos e avaliações de risco, incluindo análise das etapas de purificação e inativação. Os testes físicos devem ser restritos a agentes estranhos que não podem ser excluídos pela avaliação de risco e, idealmente, devem ser realizados usando testes in vitro. Também ressaltaram que o uso das vacinas autógenas contribui para os esforços atualmente empreendidos para gerenciar doenças emergentes já que são de rápida atualização e produção, também para reduzir o uso de antibióticos, especialmente em animais produtores de alimentos, incluindo a aquicultura, em nosso experimento, a diminuição do uso de antibióticos pode ser considerada, pois com uma sobrevivência maior no grupo vacinado com vacina autógena, espera-se uma redução no tratamento de animais doentes. As vacinas autógenas são um componente aceito em uma abordagem de

Saúde Única, fortalecendo as oportunidades na prevenção de doenças infecciosas.

Os estudos de Firdaus et al (2013) mostram que a incorporação de um adjuvante em uma vacina confere maior proteção à tilápia vacinada do que a tilápia imunizada com uma vacina sem adjuvante. Segundo SEPPIC (2019) o adjuvante utilizado na vacina autógena do presente estudo é indicado para injeções intraperitoneais em cardumes contra infecções por *Streptococcus agalactiae*, a vacina autógena incorporada neste adjuvante mostrou-se não nocivo para os lotes do grupo vacinado, a quantidade utilizada não apresentou lesão no local do inóculo. Esse fator é de suma importância, pois a composição vacinal não deve deixar lesões na área vacinada, exceto nos primeiros dias após a vacinação, devido ao processo inflamatório que já é esperado, logo após alguns dias a inflamação desaparece completamente. Assim, no presente estudo, verificou-se que a vacina autógena é atóxica e inofensiva aos animais, provando sua segurança.

Resultados semelhantes aos nossos, foram obtidos por Rivas (2020) que do mesmo modo, mostrou uma vacina bivalente inativada de *A. sobria* e *S. agalactiae*, produzida através de cepas isoladas no estado do Paraná - Brasil e administrada por via intraperitoneal nos peixes estudados que protegeu e estimulou o sistema imune de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) contra as infecções pelas bactérias utilizadas na vacina, no estudo, ele obteve uma RPS de 91%, em condições experimentais, resultados que se assemelham com os dados analisados em nosso estudo, onde se considerarmos um desafio sanitário igual para todos os grupos, teríamos um RPS de 94,9% no grupo vacinado com vacina autógena.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo mostrou em um experimento de campo a eficiência da vacina autógena na prevenção do patógeno isolado da propriedade para qual a vacina foi fabricada. Mostrou-se com clareza e embasamento de campo as diferenças do benefício do uso de uma vacina autógena diante de uma vacina comercial na prevenção das infecções causadas pela bactéria *Streptococcus agalactiae* sorotipo 1b, exibindo ao setor produtivo o quão compensaria em termos econômicos a adoção da vacinação com uma vacina autógena fabricada com a cepa homóloga ao causador do problema sanitário na propriedade.

Com base no levantamento de dados da propriedade em que foi realizada o teste, pode-se concluir que para o produtor a vacina autógena exige maior investimento referente ao custo de aquisição da vacina, que no experimento em questão, atingiu um valor 20% maior do que o custo de aquisição de uma vacina comercial e 100% maior do que o custo de aquisição de vacinas para o grupo controle. Por outro lado, quando utilizada, a vacina autógena aumenta a sobrevivência dos animais em 2,9% quando comparada ao grupo CM e em 6,6% quando comparada ao grupo controle. Quanto ao ganho de peso, os animais vacinados com vacina autógena ganharam 10,6% mais de peso médio quando comparados aos animais do grupo CM e 12% quando comparados ao grupo controle. A receita média por tanque de cultivo do grupo AU foi 10,49% maior quando comparada ao grupo CM e 14,94% maior quando comparada ao grupo controle. Considerando o mesmo tratamento para todos os grupos e repetições, pode-se deduzir que os animais vacinados com a vacina autógena possuem menor conversão alimentar aparente que os outros dois grupos e que a produtividade por m<sup>3</sup> é maior com o uso da vacina autógena.

Em termos de importância econômica, a mortalidade e o ganho de peso refletem diretamente na receita e no lucro das fazendas de peixes, já que o preço é pago por quilo animal e quanto maior a quantidade de animais sobreviventes, maior o peso vivo total final nos tanques.

A análise em tecidos pelo método de imuno-histoquímica, análise de imunoabsorção enzimática (ELISA) e o reisolamento do patógeno em órgãos



poderiam futuramente complementar o estudo com um maior número de métodos de avaliações laboratoriais, assim como a realização do desafio através da inoculação de *Streptococcus agalactiae* sorotipo 1b nos peixes de todos os grupos em condições controladas em laboratório em uma segunda etapa do estudo, trazendo para a discussão maiores embasamentos e dados em outros aspectos que completamente os dados zootécnicos obtidos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amend, D.F. (1981) **Potency Testing of Fish Vaccines**. International Symposium on Fish Biologics: Serodiagnostics and Vaccines. Developments in Biological Standardization, 49, 447-454.

BARONY, G. M; Guilherme C. Tavares, Felipe L. Pereira, Alex F. Carvalho, Fernanda A. Dorella, Carlos A. G. Leal e Henrique C. P. Figueiredo (2017). **Large-scale genomic analyses reveal the population structure and evolutionary trends of Streptococcus agalactiae strains in Brazilian fish farms**. Scientific reports – Published online: 19 October 2017.

Bwalya P, Hang'ombe BM, Gamil AA, Munang'andu HM, Evensen Ø, Mutoloki S (2020) **A whole-cell Lactococcus garvieae autovaccine protects Nile tilapia against infection**. PLoS ONE 15 (3): e0230739. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230739>

CARVALHO, R. S. D. F. S. M. **Enquadramento regulamentar das vacinas autógenas de uso veterinário e caracterização da sua utilização em Portugal**. Dissertação – Universidade de Lisboa/Faculdade de Farmácia, 2007.

CHANG PH e PLUMB JA. 1996. **Effects of salinity on Streptococcus infection of Nile tilapia, Oreochromis niloticus**. Journal of Applied Aquaculture 6: 39-45.

ELDAR A et al. 1995. **Experimental streptococcal meningo-encephalitis in**

**cultured fish.** Veterinary Microbiology 43: 33-40.

EVANS JJ et al. 2002. **Characterization of  $\beta$ -hemolytic group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri*, in Kuwait.** Journal of Fish Diseases 25: 505-513.

EVANS JJ et al. 2006. **An overview of *Streptococcus* in warm-water fish.** Aquaculture Health International Journal 7: 10-14.

FAO. 2018. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018.** Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

FEARON, D.T.; LOCKSLEY, R.M. **The instructive role of innate immunity in the acquired immune responses,** Science, v.273, p.50-53, 1996.

FIRDAUS-NAWI, M. et al. **Efficacy of feed-based adjuvant vaccine against *Streptococcus agalactiae* in *Oreochromis* spp. in Malaysia.** Aquaculture Research, v.45, n.1, p.87-96, 2013.

JIMÉNEZ A et al. 2011. **Evaluating a nested-PCR assay for detecting *Streptococcus agalactiae* in red tilapia (*Oreochromis* sp.) tissue.** Aquaculture 321: 203-206.

Kornelia Grein, Carmen Jungbäck, Vaughn Kubiak, **Autogenous vaccines: Quality of production and movement in a common market,** Biologicals.

Volume 76, 2022, Pages 36-41, ISSN 1045-1056,  
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2022.01.003>.

LEIRA, M. H. **Problemas sanitários das pisciculturas brasileiras**. PUBVET v.11, n.6, p.538-544, jun., 2017.

LIM C e WEBSTER CD. 2006. **Tilápia: biology, culture, and nutrition**. Haworth Press: New York. 678p.

LIU, G.; ZHU, J.; CHEN, K.; GAO, T.; YAO, H.; LIU, Y.; ZHANG, Q.; LU, C. **Development of Streptococcus agalactiae vaccines for tilapia**. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 122, n. 2, p. 163-170, 2016.

MUSA N et al. 2009. **Streptococcosis in red hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*) commercial farms in Malaysia**. *Aquaculture Research* 40: 630-632.

MUNANG'ANDU, H.M., MUTOLOKI, S., EVENSEN, Ø., 2014. **Non-replicating vaccines**. In: Gudding, R., Lillehaug, A., Evensen, Ø. (Eds.), **Fish Vaccination**. Wiley Blackwell, UK, F.C. Ramos-Espinoza, et al. *Aquaculture* 528 (2020) 735484 7 pp. 22–30.

NIZET V e RUBENS C. 2000. **Pathogenic mechanisms and virulence factors of Group B Streptococci**. In: FISCHETTI V et al. (Eds.). **Gram-positive pathogens**. Washington: American Society for Microbiology. pp.125-135.

NGUYEN HT et al. 2001. **Immunohistochemical examination of experimental *Streptococcus iniae* infection in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus***. Fish Pathology 36: 169-178

NOLTE, O. (2009). **Therapeutic autogenous vaccination (homologous autovaccination) for the treatment of chronic or recurrent bacterial infections**. Obtido de Autovaccine:

[http://www.autovaccine.de/ND/english/autogenous\\_vaccines.html](http://www.autovaccine.de/ND/english/autogenous_vaccines.html)

OLIVARES-FUSTER O et al. 2008. **Molecular typing of *Streptococcus agalactiae* isolates from fish**. Journal of Fish Diseases 31: 277-283

Q. WANG, X. WANG, X. WANG, R. FENG, Q. LUO, J. HUANG. **Generation of a novel 370 *Streptococcus agalactiae* ghost vaccine and examination of its immunogenicity against 371 virulent challenge in tilapia**. Fish and Shellfish Immunology. 81 (2018) 49-56, 372 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.06.055>.

RENATA MELON BARROSO ... [et al.], autores. **Diagnóstico da cadeia de valor da tilapicultura no Brasil** - Brasília, DF: Embrapa, 2018.

RIVAS, A. V. **Vacina bivalente contra infecção por *Aeromonas sobria* e *Streptococcus agalactiae* em tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) do Oeste do Paraná, Brasil**. Repositório Institucional – UFILA. 2020.

SALVADOR R et al. 2003. **Isolamento de *Streptococcus spp.* de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e qualidade da água de tanques rede na**

**Região Norte do Estado do Paraná, Brasil.** Semina: Ciências Agrárias 24: 35-42.

SEPPIC. (2019). **Fish MONTANIDE™, adjuvant range for fish vaccination.** São Paulo: SEPPIC. Disponível em: <<https://www.seppic.com/fish-vaccines>>

SCHULTER, E. P; VIEIRA, J. E. **Evolução da Piscicultura no Brasil: Diagnóstico e Desenvolvimento da Cadeia Produtiva de Tilápia.** IPEA 2328 – Rio de Janeiro. Agosto de 2017.

SMITH, D. T. (1970). **Autogenous Vaccines in Theory and in Practice - Personal Experience.** Archives of Internal Medicine, 125, 344–350.

WANG, Q., FU, T., LI, X., LUO, Q., HUANG, J., SUN, Y., e WANG, X. (2019). **Cross-immunity in Nile tilapia vaccinated with *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae* vaccines.** Fish & Shellfish Immunology. doi: 10.1016/j.fsi.2019.12.021

WONGSATHEIN D. 2012. **Factors affecting experimental *Streptococcus agalactiae* infection in tilapia, *Oreochromis niloticus*.** Thesis (Doctorate in Aquaculture). Institute of Aquaculture, University of Stirling. Scotland. 169p.

WATTS, M; MUNDAY, B.L; BURKE, C.M. **cDNA sequences and organization of IgM heavy chain genes in two holostean fish.** Developmental and Comparative Immunology, v. 19, p. 153-164, 2001

ZAMRI-SAAD M et al. 2010. **Pathological changes in red tilapias (*Oreochromis spp.*) naturally infected by *Streptococcus agalactiae*.** Journal of Comparative Pathology 143: 227-229.