

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 23/08/2025.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP – CAUNESP**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIMICROBIANOS E TÓXICOS  
DE ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS DE PLANTAS EM  
BACTÉRIAS PATOGÊNICAS DE PEIXES DE PRODUÇÃO**

**Fernando Cardoso Gomes**  
Médico Veterinário

**JABOTICABAL – SÃO PAULO**  
**FEVEREIRO, 2024**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP – CAUNESP**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIMICROBIANOS E TÓXICOS  
DE ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS DE PLANTAS EM  
BACTÉRIAS PATOGÊNICAS DE PEIXES DE PRODUÇÃO**

**Discente: Fernando Cardoso Gomes**

**Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Pilarski**

**Coorientadora: Profa. Dra. Geovana Dotta**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Aquicultura.**

**JABOTICABAL – SÃO PAULO**

**FEVEREIRO, 2024**

G633a      Gomes, Fernando Cardoso  
Avaliação dos efeitos antimicrobianos e tóxicos de óleos essenciais e extratos de plantas em bactérias patogênicas de peixes de produção / Fernando Cardoso Gomes. -- Jaboticabal, 2024  
iii, 86 p. : il., tabs.; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2024  
Orientadora: Fabiana Pilarski  
Coorientadora: Geovana Dotta  
Banca examinadora: Sílvia Umeda Gallani, Thiago Fernandes Alves Silva, Róberson Sakabe, Simone Aquino  
Bibliografia

1. Microbiologia. 2. Aquicultura. 3. Fitoterapia. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

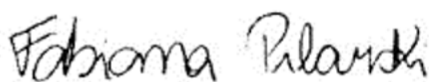
**TÍTULO DA TESE:** AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIMICROBIANOS E TÓXICOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS DE PLANTAS EM BACTÉRIAS PATOGÊNICAS DE PEIXES DE PRODUÇÃO

**AUTOR: FERNANDO CARDOSO GOMES**

**ORIENTADORA: FABIANA PILARSKI**

**COORIENTADORA: GEOVANA DOTTA**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. Fabiana Pilarski  
Centro de Aquicultura da Unesp, Caunesp, Jaboticabal-SP



Profa. Dra. Silvia Umeda Gallani  
Departamento de Medicina Veterinária, UniNilton, Manaus-AM



Prof. Dr. Thiago Fernandes Alves Silva  
Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Delta do Parnaíba



Prof. Dr. Róberson Sakabe  
Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Agrossocioambiental Sustentável, Universidade Federal Fluminense



Profa. Dra. Simone Aquino  
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, FCAV/Unesp, Jaboticabal-SP

Jaboticabal, 23 de fevereiro de 2024

## EPÍGRAFE

“Ninguém é tão grande que não  
possa aprender, nem tão pequeno  
que não possa ensinar”

(Esopo)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus, pela minha vida.

Agradeço imensamente aos meus pais, Leni e Antônio, por todo apoio, suporte, paciência, conselhos e amor que recebi em toda a trajetória da minha vida, sem eles eu não seria nada.

Agradeço muito a minha orientadora, professora Fabiana Pilarski, que desde o mestrado vem confiando em mim e acreditando no meu potencial, e me transmitindo novos conhecimentos e ideias.

A todos os integrantes do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos – LAPOA do CAUNESP, por toda ajuda na realização dos meus trabalhos, e em especial à Daiane, Elielma, Daniel, Lindomar e André, que não mediram esforços para me ajudar, mesmo quando as coisas não seguiam conforme o planejado. Sem eles nada disso teria sido possível.

A todos funcionários do CAUNESP, que se dispuseram a me ajudar quando precisei.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## SUMÁRIO

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| AGRADECIMENTOS.....                                                | i   |
| RESUMO.....                                                        | ii  |
| ABSTRACT.....                                                      | iii |
| Capítulo 1.....                                                    | 1   |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                 | 1   |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....                                     | 2   |
| 2.1 Patógenos de Importância na Piscicultura .....                 | 2   |
| 2.1.1 Grupo das <i>Aeromonas</i> móveis.....                       | 3   |
| 2.1.2 <i>Citrobacter freundii</i> .....                            | 3   |
| 2.1.3 <i>Flavobacterium oreochromis</i> .....                      | 4   |
| 2.1.4 <i>Francisella orientalis</i> .....                          | 5   |
| 2.1.5. <i>Lactococcus garviae</i> .....                            | 6   |
| 2.1.6 <i>Streptococcus agalactiae</i> .....                        | 7   |
| 2.2 Óleos Essenciais.....                                          | 7   |
| 2.2.1 Citronela ( <i>Cymbopogon nardus</i> ).....                  | 8   |
| 2.2.2 Melaleuca ( <i>Melaleuca alternifolia</i> ).....             | 9   |
| 2.2.3 Tomilho ( <i>Thymus vulgaris</i> ).....                      | 9   |
| 2.2.4 Artemísia ( <i>Artemisia vulgaris</i> ).....                 | 9   |
| 2.2.5 Eucalipto ( <i>Eucalyptus globulus</i> ).....                | 9   |
| 2.2.6 Manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> ).....                   | 10  |
| 2.2.7 Ylang ylang ( <i>Cananga odorata</i> ).....                  | 10  |
| 2.3 Extratos de plantas.....                                       | 10  |
| 2.3.1 Pitanga ( <i>Eugenia uniflora</i> ).....                     | 11  |
| 2.3.2 Tamarindo ( <i>Tamarindus indica</i> ).....                  | 11  |
| 2.3.3 Abacate ( <i>Persea americana</i> ).....                     | 11  |
| 3. OBJETIVOS GERAIS.....                                           | 11  |
| 3.1 Objetivos específicos.....                                     | 11  |
| 4. REFERÊNCIAS.....                                                | 12  |
| Capítulo 2 – Manuscrito nas normas do periódico “Aquaculture”..... | 26  |

|                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMO.....                                                                    | 27 |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                             | 28 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                     | 30 |
| 2.1 Óleos essenciais.....                                                      | 30 |
| 2.2 Composição dos OEs.....                                                    | 30 |
| 2.3 Citotoxicidade.....                                                        | 31 |
| 2.4 Teste de atividade antimicrobiana.....                                     | 31 |
| 2.4.1 Bactéria.....                                                            | 31 |
| 2.5 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> .....                             | 32 |
| 2.6 Interpretação dos Resultados de CIM e CBM.....                             | 33 |
| 2.7 Toxicidade aguda <i>in vitro</i> .....                                     | 34 |
| 3. RESULTADOS.....                                                             | 35 |
| 3.1 Composição dos óleos essenciais.....                                       | 35 |
| 3.2 Citotoxicidade.....                                                        | 35 |
| 3.3 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> .....                             | 36 |
| 3.4 Toxicidade aguda <i>in vivo</i> .....                                      | 37 |
| 4. DISCUSSÃO.....                                                              | 38 |
| 5. AGRADECIMENTOS.....                                                         | 41 |
| 6. BIBLIOGRAFIA.....                                                           | 41 |
| 7. TABELAS.....                                                                | 47 |
| 8. LEGENDAS DAS FIGURAS.....                                                   | 48 |
| Capítulo 3 – Manuscrito nas normas do periódico “Aquaculture” .....            | 52 |
| RESUMO.....                                                                    | 52 |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                             | 54 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                     | 55 |
| 2.1 Extratos de plantas.....                                                   | 55 |
| 2.2 Composição dos extratos.....                                               | 56 |
| 2.3 Produtos comerciais (Virkon®, formaldeído e permanganato de potássio)..... | 56 |
| 2.4 Teste de Citotoxicidade.....                                               | 57 |
| 2.5 Teste de atividade antimicrobiana.....                                     | 58 |

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.5.1 Microrganismos utilizados.....                                                    | 58 |
| 2.5.2 Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima (CIM e CBM)..... | 58 |
| 3. RESULTADOS.....                                                                      | 59 |
| 3.1 Composição dos extratos.....                                                        | 59 |
| 3.2 Teste de Citotoxicidade.....                                                        | 60 |
| 3.3 Teste de atividade antimicrobiana (CIM e CBM).....                                  | 61 |
| 4. DISCUSSÃO.....                                                                       | 62 |
| 5. AGRADECIMENTOS.....                                                                  | 65 |
| 6. BIBLIOGRAFIA.....                                                                    | 65 |
| 7. TABELAS.....                                                                         | 72 |
| 8. LEGENDAS DAS FIGURAS.....                                                            | 76 |

## RESUMO

Os compostos vegetais de origem vegetal como óleos essenciais (OEs) e extratos de plantas são utilizados pelos seres humanos há milhares de anos, tendo apresentado propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, anestésicas e imunoestimulantes já comprovados em diversos trabalhos científicos. Suas propriedades antimicrobianas são interessantes na tentativa de substituir produtos comerciais e antimicrobianos convencionais utilizados em pisciculturas, principalmente levando em consideração a problemática envolvendo a presença de resistência à antimicrobianos convencionais nos microrganismos patogênicos comuns neste meio. No presente trabalho foram testados óleos essenciais comerciais e extratos de plantas frente a bactérias patogênicas que são comumente encontradas em pisciculturas comerciais. No primeiro estudo foi testado o potencial antimicrobiano *in vitro* dos OEs de *Cymbopogon nardus*, *Melaleuca alternifolia*, *Thymus vulgaris*, *Artemisia vulgaris*, *Eucalyptus globulus*, *Ocimum basilicum* e *Cananga odorata* de forma isolada ou combinada frente à *Flavobacterium oreochromis*, bactéria que acomete principalmente pele e nadadeira de peixes, através dos testes de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM). Foram também realizados o teste de citotoxicidade *in vitro* frente a eritrócitos de tilápia-do-Nilo e o teste de toxicidade aguda *in vivo* com a combinação de óleos que apresentaram os melhores resultados de CIM e CBM. Os OEs que apresentaram o maior potencial antimicrobiano de forma isolada foram os de *Ocimum basilicum* e *Cymbopogon nardus*, já de forma combinada a melhor resposta obtida foi decorrente da combinação dos OEs de *Cymbopogon basilicum* com *Cananga odorata*. No teste de citotoxicidade os resultados observados foram dose dependente, sendo que nas concentrações observadas nos testes de CIM e CBM a citotoxicidade se apresentou baixa. Já no teste de toxicidade aguda *in vivo* foram observados efeitos tóxicos aos animais a partir da concentração de 22,67 µl/L. A partir destes resultados foi concluído neste primeiro trabalho que a combinação de OEs se apresenta como uma alternativa ao uso de desinfetantes comerciais contra a bactéria utilizada no estudo. No segundo estudo foram verificados os potenciais antimicrobianos através dos testes de CIM e CBM de extratos de folhas de *Eugenia uniflora*, *Tamarindus indica* e *Persea americana*, juntamente com produtos comerciais Virkon®, formaldeído e permanganato de potássio frente à 9 bactérias patogênicas de importância em pisciculturas comerciais, sendo elas *Aeromonas veronii*, *Aeromonas caviae*, *Flavobacterium oreochromis*, *Francisella orientalis*, *Lacotococcus garvieae* e *Streptococcus agalactiae* sorotipos Ib e III. Foi também realizado o teste de citotoxicidade frente a hemácias de tilápia-do-Nilo com todos os extratos e produtos utilizados. Os extratos de plantas utilizados apresentaram efeito antimicrobiano contra a maioria dos patógenos, enquanto os produtos comerciais com os melhores resultados de CIM e CBM foram o Virkon® e formaldeído. Os extratos e produtos comerciais apresentaram baixa citotoxicidade em suas concentrações de CIM e CBM. De forma geral os melhores resultados foram observados com o Virkon® e o extrato de *Persea americana*. Apesar dos resultados satisfatórios ainda se faz necessário o teste *in vivo* para assegurar o uso destes produtos junto aos animais de produção. Sem esta informação o recomendado é que sejam utilizados como desinfetantes ambientais, sem contato direto com os animais.

## ABSTRACT

Plant-derived compounds such as essential oils (EOs) and plant extracts have been utilized by humans for thousands of years, exhibiting proven antimicrobial, anti-inflammatory, anesthetic, and immunostimulant properties in various scientific studies. Their antimicrobial properties are of interest in attempting to replace commercial and conventional antimicrobial products used in aquaculture, especially considering the issue of resistance to conventional antimicrobials in common pathogens in this environment. In the present study, commercial essential oils and plant extracts were tested against pathogenic bacteria commonly found in commercial aquaculture settings. In the first study, the in vitro antimicrobial potential of EOs from *Cymbopogon nardus*, *Melaleuca alternifolia*, *Thymus vulgaris*, *Artemisia vulgaris*, *Eucalyptus globulus*, *Ocimum basilicum*, and *Cananga odorata*, either alone or in combination, was tested against *Flavobacterium oreochromis*, a bacterium that mainly affects the skin and fins of fish, through minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) tests. In vitro cytotoxicity testing was also conducted against Nile tilapia erythrocytes, and acute toxicity testing was performed in vivo with the combination of oils that showed the best MIC and MBC results. The EOs that exhibited the highest antimicrobial potential individually were those of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon nardus*, while the best response obtained from combined EOs was due to the combination of *Cymbopogon basilicum* with *Cananga odorata*. Cytotoxicity testing results were dose-dependent, with low cytotoxicity observed at the concentrations tested in the MIC and MBC tests. However, in vivo acute toxicity testing revealed toxic effects on animals starting from a concentration of 22.67 µl/L. Based on these results, it was concluded in this initial study that the combination of EOs presents an alternative to the use of commercial disinfectants against the bacterium used in the study. In the second study, the antimicrobial potentials of leaf extracts of *Eugenia uniflora*, *Tamarindus indica*, and *Persea americana*, along with commercial products Virkon®, formaldehyde, and potassium permanganate, were tested against 9 pathogenic bacteria of importance in commercial aquaculture, including *Aeromonas veronii*, *Aeromonas caviae*, *Flavobacterium oreochromis*, *Francisella orientalis*, *Lactococcus garvieae*, and *Streptococcus agalactiae* serotypes Ib and III, through MIC and MBC tests. Cytotoxicity testing was also performed against Nile tilapia erythrocytes with all extracts and products used. The plant extracts tested exhibited antimicrobial effects against most pathogens, while the commercial products with the best MIC and MBC results were Virkon® and formaldehyde. Both extracts and commercial products showed low cytotoxicity at their MIC and MBC concentrations. Overall, the best results were observed with Virkon® and the *Persea americana* extract. Despite the satisfactory results, in vivo testing is still necessary to ensure the use of these products with production animals. Without this information, it is recommended that they be used as environmental disinfectants, without direct contact with the animals.

## CAPÍTULO 1

### 1. INTRODUÇÃO

A piscicultura no Brasil é um setor que vem crescendo de forma constante desde que foi implantada como atividade comercial no país, não só em volume como também em valor de venda, sendo que em 2022 o país produziu 617,3 mil toneladas de pescado, faturando 5,7 bilhões de reais (IBGE, 2023).

Na busca por manter o crescimento da produção aquícola, os produtores frequentemente priorizam o aumento do volume de produção sem necessariamente considerar os cuidados essenciais e o bem-estar dos animais. Esta abordagem pode resultar em problemas que afetam a saúde dos animais, conforme observado por Garcia et al. (2013). Dentre os fatores que afetam diretamente a saúde dos peixes, podemos citar a extrapolação da densidade de estocagem suportada pelo sistema, alimentação e qualidade de água inadequadas, excesso de matéria orgânica, pontos de poluição próximos à piscicultura, como indústrias, dentre outros (Derome et al., 2016).

Com os animais estressados, existe maior probabilidade de infecção por diversos agentes patogênicos, dentre eles as bactérias, que são um problema na cadeia produtiva do pescado em todo o mundo. Os gêneros bacterianos que comumente causam doença e afetam as pisciculturas são *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Edwardsiella*, *Francisella* e *Streptococcus* (Türe e Alp, 2016; Abdelsalam et al., 2022). Estima-se que em 2017, as doenças bacterianas e parasitárias em criações comerciais de peixes no Brasil causaram a perda anual direta e indireta de aproximadamente 84 milhões de dólares (Tavares-Dias e Martins, 2017). Na tentativa de conter surtos de doenças e evitar perdas na produção, o produtor utiliza antimicrobianos, muitas vezes de uso autorizado para outras espécies animais, colocando em risco o ambiente aquático e a saúde do consumidor, já que não foram realizados estudos quanto a doses seguras e tempo de carência para animais aquáticos.

O registro de novos produtos veterinários de natureza farmacêutica no país é complexo, uma vez que requer diversos relatórios em conformidade com várias portarias e instruções normativas. Dentre os temas que devem constar nestes relatórios podemos citar aqueles que comprovem a eficácia para as indicações contidas nas rotulagens e também que comprovem a segurança para as espécies alvo. Desta forma, a adoção de medidas preventivas, como o uso de aditivos alimentares como os imunoestimulantes, probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais se mostram como alternativas interessantes ao uso de antimicrobianos convencionais (Bondad-Reantaso et al., 2023).

No Brasil estão licenciadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento apenas duas moléculas para uso em aquicultura: o florfenicol e a oxitetraciclina, sendo que em tilápias-do-Nilo somente o florfenicol tem autorização para ser utilizado (SINDAN, 2022). A utilização incorreta destes produtos, como o uso profilático pode desencadear reações negativas, como por exemplo a seleção de bactérias resistentes e multirresistentes, situação que vem crescendo exponencialmente nos últimos anos em todo o mundo (Hossain et al., 2022). Porém, este fenômeno também pode ocorrer de forma natural pela pressão de seleção aumentada pelos

antimicrobianos. Ainda, é possível a transmissão de genes de resistência entre as bactérias até mesmo de diferentes espécies, através de plasmídeos e dos mecanismos de conjugação, transformação ou transdução (Larsson e Flach, 2022; Wang et al., 2020).

Tudo isso pode resultar em maiores problemas, não apenas para a produção de peixes, mas pode afetar inclusive a saúde humana, uma vez que estes genes de resistência podem ser transmitidos a patógenos de importância na saúde humana. Isso pode ocorrer já que esta transferência de genes de resistência ultrapassa a barreira de espécies bacterianas, de forma que bactérias patogênicas de importância na saúde humana podem receber genes de resistência de espécies de bactérias patogênicas para peixes por exemplo. Agregado ao fato de que a produção destes animais ocorre na água, ambiente rico em diversos microrganismos e que faz parte do uso básico dos seres humanos, temos um problema de escala global (Gomes et al., 2020).

Cada dia mais os consumidores estão cientes destes problemas e riscos, e vem exigindo alternativas mais sustentáveis do mercado, como o uso de vacinas, prebióticos, probióticos, terapias com fagos e uso de óleos essenciais (Barrett et al., 2021). Essa linha de pensamento vai de encontro ao conceito de Saúde Única (One Health) que vem crescendo em importância nos últimos anos (Tiedje et al., 2019). Este termo foi inicialmente utilizado entre os anos de 2003 e 2004, período em que houve o surgimento de uma síndrome respiratória aguda ligada ao vírus influenza aviário H5N1, e que deixou clara a ligação entre saúde animal e saúde humana (Hernando-Amado et al., 2019). Inicialmente o conceito era ligado à questão de doenças infecciosas e zoonoses, porém evoluiu de forma a incluir outros problemas que podem afetar negativamente a saúde de seres vivos de um modo geral, como por exemplo a problemática envolvendo a crescente resistência bacteriana a antimicrobianos convencionais (Mackenzie et al., 2019).

Os óleos essenciais têm um grande apelo, por serem produtos naturais, renováveis e sustentáveis. São conhecidos há tempos por terem propriedades bactericidas, virucidas, fungicidas, antioxidantes, anti-inflamatórias, sedativas, analgésicas etc. Atualmente, são conhecidos aproximadamente 3000 tipos de óleos essenciais, sendo que 300 deles tem importância comercial, principalmente para a indústria farmacêutica, agrônômica e cosmética (Bakkali et al., 2008). As suas composições variam, mas a maioria dos óleos essenciais possuem dois ou três compostos majoritários, que aparecem em maior quantidade, e outros compostos em menores quantidades, podendo chegar até 60 componentes no total (Dhifi et al., 2016).

Com a propagação da resistência antimicrobiana em bactérias patogênicas e até mesmo não patogênicas nos setores de produção animal, que pode afetar também a saúde pública, se faz necessário a busca de soluções alternativas a este problema, como o uso dos óleos essenciais, uma possível solução, ou mais um aliado para solucionar este problema e tornar toda a cadeia de produção mais segura e ecologicamente mais sustentável.

## **5. Agradecimentos**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

## **6. Bibliografia**

Adeniyi, O., Olaifa, F., Emikpe, B., Ogunbanwo, S. 2021. Effects of dietary tamarind (*Tamarindus indica* L.) leaves extract on growth performance, nutrient utilization, gut physiology, and susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *International Aquatic Research*, 13(1), 37-51. <https://doi.org/10.22034/IAR.2021.1916077.1115>

Alam, M.N., Ahmed, G.U., Chowdhury, M.B.R. 2014. Performance of herbal extracts on diseased fish. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine* 12, 225-230. <http://dx.doi.org/10.3329/bjvm.v12i2.21299>

- Assane, I.M., Gozi, K.S., Valladão, G.M.R. and Pilarski, F., 2019. Combination of antimicrobials as an approach to reduce their application in aquaculture: Emphasis on the use of thiamphenicol/florfenicol against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 507, 238-245. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.021>
- Assane, I.M., Valladão, G.M.R., Pilarski, F. 2021. Chemical composition, cytotoxicity and antimicrobial activity of selected plant-derived essential oils against fish pathogens. *Aquaculture Research* 52, 793-809. <https://doi.org/10.1111/are.14935>
- Bulfon, C., Volpatti, D., Galeotti, M. 2015. Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquaculture Research* 46 (3), 513-551. <https://doi.org/10.1111/are.12238>
- Castro, S.B., Leal, C.A., Freire, F.R., Carvalho, D.A., Oliveira, D.F., Figueiredo, H.C. 2008. Antibacterial activity of plant extracts from Brazil against fish pathogenic bacteria. *Braz J Microbiol.* 39, 756-760. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000400030>
- Chen, J., Sun, R., Pan, C., Sun, Y., Mai, B., Li, Q.X. 2020. Antibiotics and Food Safety in Aquaculture. *J. Agric. Food Chem.* 68, 11908–11919. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03996>
- Chua, L.Y.W., Chong, C.H., Chua, B.L., Figiel, A. 2019. Influence of Drying Methods on the Antibacterial, Antioxidant and Essential Oil Volatile Composition of Herbs: a Review. *Food Bioprocess Technol* 12, 450–476. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2227-x>
- CLSI, 2020. CLSI guideline VET03. In: Methods for antimicrobial broth dilution and disk diffusion susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2012.01393.x>

Darwish, A.M., Bebak, J.A., Schrader, K.K. 2012. Assessment of Aquaflor®, copper sulphate and potassium permanganate for control of *Aeromonas hydrophila* and *Flavobacterium columnare* infection in sunshine bass, *Morone chrysops* female × *Morone saxatilis* male. *Journal of fish diseases*, 35, 637-647.

Dos Santos, J.F.S., Rocha, J.E., Bezerra, C.F., do Nascimento Silva, M.K., de Matos, Y.M.L.S., de Freitas, T.S., Dos Santos, A.T.L., da Cruz, R.P., Machado, A.J.T., Rodrigues, T.H.S., de Brito, E.S. 2018. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. *Food Chemistry* 261, 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.015>

Ehsan, R., Rahman, A., Paul, S.I., Ador, M.A.A., Haque, M.S., Akter, T., Rahman, M.M. 2023. *Aeromonas veronii* isolated from climbing perch (*Anabas testudineus*) suffering from epizootic ulcerative syndrome (EUS). *Aquaculture and Fisheries* V.8, I.3, 288-295. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.11.005>

FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. <Disponível em: <https://www.fao.org/documents/card/en?details=I9540EN> >

Foysal, M.J., Rahman, M., Alam, M.T. 2012. Antibiotic sensitivity and in vitro antimicrobial activity of plant extracts to *pseudomonas fluorescens* isolates collected from diseased fish. *International Journal of Natural Sciences* 1, 82-88. <http://dx.doi.org/10.3329/ijns.v1i4.9733>

Gencer, G., Özdemir, L., Özdemir, Ö., 2020. Detection of genotoxic effect of potassium permanganate by using in vitro micronucleus assay. *Cumhuriyet Medical Journal* 42, 79-85. <http://dx.doi.org/10.7197/cmj.vi.667750>

- Hardi, E.H., Kusuma, I.W., Suwinarti, W., Saptiani, G., Sumoharjo, S., Lusiastuti, A.M. 2017. Utilization of several herbal plant extracts on Nile tilapia in preventing *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. bacterial infection. Nusantara Bioscience 9, 220-228. <http://dx.doi.org/10.13057/nusbiosci/n090219>
- Hossain, A., Habibullah-Al-Mamun, M., Nagano, I., Masunaga, S., Kitazawa, D., Matsuda, H. 2022. Antibiotics, antibiotic-resistant bacteria, and resistance genes in aquaculture: risks, current concern, and future thinking. Environ Sci Pollut Res 29, 11054–11075. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17825-4>
- Islam, M.T., Ali, E.S., Uddin, S.J., Shaw, S., Islam. M.A., Ahmed. M.I., Shill, M.C., Karmakar, U.K., Yarla, N.S., Khan, I.N., Billah, M.M., Pieczynska, M.D., Zengin, G., Malainer, C., Nicoletti, F., Gulei, D., Berindan-Neagoe, I., Apostolov, A., Banach, M., Yeung, A.W.K., Atanasov, A.G. 2018. Phytol: A review of biomedical activities. Food and Chemical Toxicology 121, 82-94. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.08.032>
- Kandpal, R., Gautam, S., 2021. Accidental ocular injury by topical dermatological agent: potassium permanganate (KMnO<sub>4</sub>). Indian dermatology online journal 12, 752. [https://doi.org/10.4103%2Fidoj.IDOJ\\_935\\_20](https://doi.org/10.4103%2Fidoj.IDOJ_935_20)
- Karga, M., Kenanoglu, O.N., Bilen, S. 2020. Investigation of Antibacterial Activity of Two Different Medicinal Plants Extracts Against Fish Pathogens. Journal of Agricultural Production 1, 5-7. <https://doi.org/10.29329/agripro.2020.341.2>
- Kunanusont, N., Punyadarsaniya, D., Jantafong, T., Pojprasath, T., Takehara, K., Ruenphet, S. 2020. Bactericidal efficacy of potassium peroxymonosulfate under various concentrations, organic material conditions, exposure timing and its application on various surface carriers. Journal of Veterinary Medical Science, 82, 320-324. <https://doi.org/10.1292/jvms.19-0562>

- Larsson, D.G., Flach, C.F., 2022. Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20, 257-269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>
- Leal, J.F., Neves, M.G.P.M.S., Santos, E.B.H., Esteves, V.I. 2016. Use of formalin in intensive aquaculture: properties, application and effects on fish and water quality. *Reviews in Aquaculture* 10, 281-295. <https://doi.org/10.1111/raq.12160>
- Liu, X., Steele, J.C., Meng, X.Z. 2017. Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review. *Environmental Pollution* 223, 161-169. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.003>
- Maldonado-Miranda, J.J., Castillo-Pérez, L.J., Ponce-Hernández, A., Carranza-Álvarez, C. 2022. Summary of economic losses due to bacterial pathogens in aquaculture industry. *Bacterial Fish Diseases*, Chapter 19, 399-417. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85624-9.00023-3>
- Mohammed, H.H. Arias, C.R. 2015. Potassium permanganate elicits a shift of the external fish microbiome and increases host susceptibility to columnaris disease. *Veterinary Research*, 46, p.82. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0215-y>
- Mumtaz, M.W., Hamid, A.A., Akhtar, M.T., Anwar, F., Rashid, U., AL-Zuaidy, M.H. 2017. An overview of recent developments in metabolomics and proteomics—phytotherapeutic research perspectives. *Frontiers in life science* 10, 1-37. <https://doi.org/10.1080/21553769.2017.1279573>
- Novosak, M.G., Winnik, D.L., Laczeski, M.E., Quiroga, M.I. 2022. Antibacterial activity of medicinal plants against *Streptococcus agalactiae*. *Nova Biotechnol Chim* 21, 1-11. <http://dx.doi.org/10.36547/nbc.1264>

Osland, A.M., Vestby, L.K., Nesse, L.L. 2020. The effect of disinfectants on quinolone resistant *E. coli* (QREC) in biofilm. *Microorganisms* 8, p.1831. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111831>

Pereira, M. F. M. 2022. Isolamento e purificação de compostos sesquiterpênicos do óleo essencial das folhas *Eugenia uniflora* L. e avaliação da atividade antimicrobiana. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena.

Razak, R.A., Shariff, M., Yusoff, F.M., Ismail, I.S. 2019. Bactericidal Efficacy of Selected Medicinal Plant Crude Extracts and their Fractions against Common Fish Pathogens. *Sains Malaysiana* 48, 1601-1608. <http://dx.doi.org/10.17576/jsm-2019-4808-05>

Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture* 433, 50-61. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.048>

Santos, J.F.S., Rocha, J.E., Bezerra, C.F, Silva, M.K.N., Matos, Y.M.L.S., Freitas, T.S., Santos, A.T.L., Cruz, R.P., Machado, A.J.T., Rodrigues, T.H.S., Brito, E.D., Sales, D.L., Almeida, W.O., Costa, J.G.M., Coutinho, H.D.M., Morais-Braga, M.F.B. 2018b. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. *Food Chemistry* 261, 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.015>

Santos, L., Ramos, F., 2018a. Antimicrobial resistance in aquaculture: current knowledge and alternatives to tackle the problem. *Int. J. Antimicrob. Agents* 52, 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.03.010>

- Seth, M., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A., Thomas, J. 2021. Pathogenicity of *Edwardsiella tarda* in *Oreochromis mossambicus* and treatment by *Tamarindus indica* seed extract. *Aquacult Int* 29, 1829–1841. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00719-0>
- Silva, C.P., Louros, V., Silva, V., Otero, M., Lima, D.L.D. 2021. Antibiotics in Aquaculture Wastewater: Is It Feasible to Use a Photodegradation-Based Treatment for Their Removal? *Toxics* 9, 194. <https://doi.org/10.3390/toxics9080194>
- Solís-Salas, L.M., Sierra-Rivera, C.A., Cobos-Puc, L.E., Ascacio-Valdés, J.A., Silva-Belmares, S.Y. 2021. Antibacterial Potential by Rupture Membrane and Antioxidant Capacity of Purified Phenolic Fractions of *Persea americana* Leaf Extract. *Antibiotics* 10, 508. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050508>
- Tavares-Dias, M. 2021. Toxicity, physiological, histopathological and antiparasitic effects of the formalin, a chemotherapeutic of fish aquaculture. *Aquaculture Research* 52, 1803-1823. <https://doi.org/10.1111/are.15069>
- Ukwe, I.O.K., Etire, D.I. 2021. The Effects of *Persea americana* leaves on the Enzymes and Organosomatic indices of *Pseudomonas aeruginosa* Infect *Clarias gariepinus*. *Journal of Medical Care Research and Review* 4, 1067–1078. <https://mcrr.info/index.php/mcrr/article/view/178>
- Zhao, X., Su, H., Xu, W., Hu, X., Xu, Y., Wen, G. and Cao, Y., 2021. Removal of antibiotic resistance genes and inactivation of antibiotic-resistant bacteria by oxidative treatments. *Science of The Total Environment* 778, 146348. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146348>
- Zhou, M., Yu, S., Hong, B., Li, J., Han, H., Qie, G. 2021. Antibiotics control in aquaculture requires more than antibiotic-free feeds: A tilapia farming case. *Environmental Pollution* 268, 115854. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115854>