



Enfermidades Bacterianas de Peixes

M.Sc. Eduardo Makoto Onaka

M.Sc. Fabiana Pilarski

M.Sc. Fabiana Garcia

Prof. Dr. Flávio Ruas de Moraes

Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos-LAPOA-Caunesp

Centro de Pesquisas em Sanidade Animal-CPPAR

Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal-SP Brasil

onakaem@caunesp.unesp.br fruas@fcav.unesp.br

Introdução

Os notáveis êxitos obtidos na aquicultura, tanto em países desenvolvidos como em países em via de desenvolvimento, tem demonstrado a grande importância das enfermidades das espécies cultivadas, muito mais relevante quando se trata de enfermidades infecciosas (Ceccarelli, 2002).

Estas enfermidades são um fator de singular importância, e que limita consideravelmente o potencial produtivo e a rentabilidade comercial da aquicultura.

As bactérias são caracterizadas como microorganismos microscópicos que vivem e crescem naturalmente em todos os ambientes. Algumas delas desempenham papel importante no ciclo de nutrientes em todos os ecossistemas. Outras são encarregadas da produção de compostos necessários aos animais e as que serão mencionadas neste capítulo causam enfermidades em plantas e animais (Lasee, 1995).

Em um ecossistema balanceado, as bactérias e os animais (incluindo os peixes) podem viver em equilíbrio harmônico (Odum, 1988), o que geralmente não ocorre em um viveiro de piscicultura.

Os peixes, como todos os seres vivos, estão sujeitos a um amplo espectro de enfermidades, cujas causas são as mais diversas possíveis. O termo enfermidade se refere a qualquer desvio do estado normal de saúde, e inclui condições patológicas como resultado de fatores genéticos, fisiológicos, nutricionais, ambientais e a condições infecciosas causadas por patógenos. A disfunção e morte devida à atividade de agentes infecciosos constituem, em espécies cultivadas o conceito predominante de enfermidade.

Geralmente, a combinação de um agente infeccioso e o estresse ambiental eventualmente causa a progressão da enfermidade e conseqüentemente, mortalidade.

Se considerarmos esta última afirmação, é importante salientar que na aqüicultura, muitos processos são estressantes, tais como: a captura, separação por tamanho, transporte, falta ou excesso de alimento, densidade de estocagem etc, a isso devemos adicionar aqueles problemas causados pela qualidade de água inadequada e por trocas ambientais de difícil controle, como é o caso da temperatura.

Microflora Bacteriana da Água

A microflora bacteriana presente na água é a mais variada possível e depende exclusivamente das condições físico-químicas do ambiente aquático, principalmente da temperatura, pH, salinidade e grau de eutrofização do sistema (Austin & Austin, 1989).

Dados encontrados na literatura apontam que uma carga máxima de bactérias será encontrada no ambiente aquático no verão e em ambientes altamente eutrofizados. Conseqüentemente, no inverno, com a deficiência de nutrientes na água ocorre o inverso, ou seja, reduzida carga bacteriana nos corpos de água. Nos viveiros de piscicultura essa condição é exacerbada nos meses de verão, onde os peixes continuamente vivem livremente em um "caldo bacteriano". Isto pode se tornar um problema de sanidade na piscicultura, principalmente se não forem adotadas medidas sanitárias e práticas de manejo adequadas, colocando em risco a saúde dos peixes e das pessoas que trabalham diretamente com o ambiente aquático.

Devido a grande quantidade de matéria orgânica presente nos viveiros de piscicultura a um grande número de bactérias heterotróficas, que se multiplicam rapidamente nesses ambientes, podendo desencadear enfermidades em peixes ou em pessoas com sistema imune debilitado.

As bactérias mais comumente encontradas em viveiros de piscicultura são *Acinetobacter*, *Aeromonas hydrophila*, *Flavobacterium*, *Moraxella* e *Pseudomonas*.

No Brasil as espécies bacterianas encontradas no ambiente aquático não diferem do resto do mundo. Estudos sobre a microflora bacteriana das águas do rio Congonhas/PR, demonstraram a presença de *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, Enterobacteriaceae, *Bacillus* e *Flavobacterium*. O número de UFC variou de $3,1 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^3$. *Flavobacterium* e *Acinetobacter* foram os grupos mais abundantes e, sendo consideradas patógenos oportunistas, podem causar altas taxas de mortalidade aos peixes, quando estes se encontram em estado de estresse (Souza & Silva-Souza, 2001).

Microbiota Bacteriana do Peixe

A microbiota bacteriana do peixe está diretamente relacionada à microflora do ambiente, pois estes estão continuamente banhados por uma suspensão aquosa de microorganismos. Geralmente a população bacteriana, segundo Horsley (1973), é em torno de 10^2 - 10^3 bactéria/cm² de pele de peixe.

Já a quantidade de bactérias encontradas no músculo de peixes saudáveis é uma incógnita para os microbiologistas (Evelyn & McDermott, 1961).

Grande ênfase tem sido dada ao trato intestinal de peixes de água doce e marinhos. Há uma densa população microbiana encontrada no intestino dos peixes, onde o número de bactérias é muito maior do que a população bacteriana encontrada na água, indicando a presença de nichos ecológicos favoráveis para os microorganismos no trato intestinal. Aproximadamente 10^8 bactérias heterotróficas têm sido isoladas dos intestinos de peixes de água doce. As bactérias encontradas mais comumente no intestino dos peixes são: *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* e *Serratia*.

Há evidência da flutuação sazonal, com a quantidade máxima e mínima verificadas no verão e no inverno, respectivamente.

Uma possibilidade para a proporção de bactérias encontradas no intestino é que elas derivam dos alimentos. Trust (1971) verificou população bacteriana aeróbica heterotrófica entre 10^3 e 10^7 bactéria/g em ração comercial de peixes vendidas na América do Norte.

Já na superfície corporal dos peixes e nas brânquias as bactérias mais comumente presentes incluem: *Acinetobacter*, *Aeromonas hydrophila*, *Alcaligenes piechaudii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Flexibacter* spp., *Micrococcus luteus*, *Moraxella* spp., *Pseudomonas fluorescens* e *Vibrio fluvialis*.

As possibilidades de localização bacteriana nos peixes segundo Austin & Austin (1989) são variadas, entre elas encontramos:

- As Bactérias encontram-se intimamente associadas com a superfície externa do peixe, podendo colonizar a superfície, tornando-se parte da microbiota residente. Esta microbiota pode inibir a chegada e a subsequente colonização por outros microorganismos;
- As bactérias podem ser inibidas por compostos antimicrobianos que são produzidos pelos peixes. Por exemplo, a presença de compostos inibitórios de crescimento bacteriano presente no muco;
- As bactérias podem ser atraídas ou acidentalmente chegar a um local danificado, como por uma abrasão;
- As bactérias podem se instalar nas brânquias. Se o ambiente é favorável, elas podem ser incorporadas e se tornar microbiota residente;
- As bactérias podem penetrar pela boca, através da ingestão de água ou partículas de alimento e alcançar o trato digestivo. Possivelmente algumas torna-se microbiota residente e outras podem ser destruídas pela ação digestiva ou atravessar o intestino e ser eliminadas pelas fezes;
- As bactérias podem ser atraídas ativamente (como por quimiotaxia) onde vão ter contato acidental com os peixes.

Relação entre Doença/Peixe (Estresse/Saúde)

O equilíbrio do meio ambiente em seus variados parâmetros é essencial para a homeostase dos seres que o habitam, permitindo seu crescimento saudável e sua reprodução. Quando o estresse ambiental aumenta, os animais podem passar por alterações da homeostase que se traduzem na adaptação a um novo patamar de equilíbrio, que faz com que possam suportar esse novo nível de relação com o ambiente. Se as alterações do ambiente que se constituem em estresse forem condizentes com a capacidade de adaptação o organismo poderá sobreviver, manifestando um conjunto de sinais morfológicos, bioquímicos e fisiológicos, independentemente da espécie animal considerada, seja de vertebrados terrestres ou aquáticos.

Em 1950, Selye definiu o estresse como sendo “a somatória das reações de determinado organismo para tentar manter ou restabelecer seu metabolismo normal frente às agressões externas”. As alterações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas resultantes do estresse constituem o que Selye (1950) denominou de Síndrome Geral

de Adaptação (SGA). Os eventos que compõe a SGA incluem três fases: a) a fase de alarme na qual o organismo sente o estímulo estressante; b) a de resistência, na qual o organismo sofre modificações na tentativa de se adaptar ao estresse, atingindo um novo patamar de equilíbrio; c) a fase de exaustão, na qual o organismo perde a capacidade de adaptação com quebra da homeostase orgânica. Então é a partir desse momento que os animais sofrem profundas alterações fisiológicas e bioquímicas sobrevivendo freqüentemente as enfermidades parasitárias e infecciosas.

Quando exposto ao agente agressor, o organismo desencadeia a SGA que representa um conjunto de respostas endócrinas mediadas, entre outros, pelo eixo hipotálamo-pituitária-interrenal culminando com a hipersecreção de cortisol pelo tecido interrenal, adrenalina e noradrenalina pelas células cromafins (Mazeaud & Mazeaud, 1981). Essas respostas são consideradas primárias e interferem na mobilização e utilização de reservas energéticas e no equilíbrio hidromineral (Eddy, 1981). Liberadas na circulação estas substâncias irão provocar os efeitos secundários do estresse, dentre eles a depressão dos mecanismos de defesa devido a alta concentração de cortisol circulante.

No caso dos peixes e da piscicultura o estresse está sempre presente como conseqüência do manejo zootécnico a que os animais são submetidos e também graças ao desequilíbrio do ambiente. De qualquer modo, as respostas ao estresse podem ser consideradas como alterações do equilíbrio orgânico que colocam em risco a saúde dos animais (Wedemeyer, 1970, 1997). Mas, dentre as respostas ao estresse, também são desencadeados fenômenos que permitem que o organismo animal sofra a adaptação ao fator estressante e volte à sua condição normal, desde que cessado o estímulo adverso (Robertson et al., 1987). Estímulos estressantes severos e de longa duração podem resultar em desfalque das reservas de corticosteróides e como conseqüência, acelerar a passagem do organismo à terceira fase da SGA, qual seja, a exaustão (Mazeaud et al., 1977).

Todas as situações acima mencionadas desencadeiam o que chamamos de "Enfermidade ou Doença". Mais o que essa palavra significa? O termo enfermidade se refere a qualquer desvio do estado normal de saúde, e inclui condições patológicas como resultado de fatores genéticos, fisiológicos, nutricionais, ambientais e a condições infecciosas provocadas por patógenos. A disfunção e morte devido à atividade de agentes infecciosos constituem, em espécies cultivadas, o conceito predominantemente de enfermidade. No entanto, na maioria das vezes é a combinação

de um agente infeccioso e o estresse ambiental, o que eventualmente causa a progressão da enfermidade e às vezes mortalidade.

As razões para a ocorrência de surtos de enfermidade são variadas, representando interações complexas entre o hospedeiro e a situação que provocou a enfermidade. No caso de interações hospedeiro-patógeno, o princípio da enfermidade representa a diminuição da resistência do hospedeiro (estado fisiológico adverso), como ocorre, por exemplo, em estágios do ciclo reprodutivo ou como resultado do fenômeno conhecido como estresse ambiental e/ou a virulência do patógeno envolvido (Austin & Austin, 1989).

Outra causa comum de enfermidade são interações sinérgicas de dois ou mais organismos (Kinne, 1980). Porém, é muito difícil determinar quando o organismo encontrado é o causador da enfermidade ou um invasor secundário do tecido danificado, um membro da microbiota normal ou ainda um contaminante.

Entretanto, não devemos esquecer a grande importância dos microorganismos oportunistas nos viveiros de piscicultura, pois estes são problemas emergentes, que provocam um grande número de mortalidade e grande prejuízo aos piscicultores.

BACTERIOSES DE IMPORTÂNCIA NA AMÉRICA DO SUL

Bactérias Gram Positivas Aeróbias

Essas bactérias têm recebido muita atenção dos microbiologistas de peixes devido a seriedade de enfermidades que provocam. Essencialmente quatro gêneros serão considerados neste capítulo: *Coryneforms*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*.

a) *Corynebacterium*

Essa bactéria é identificada infectando salmões e trutas em todo o mundo. Porém essa bactéria é muito confundida com a doença bacteriana do rim, cujo agente etiológico é a *Renibacterium salmoninarum*. Austin et al. (1985) reconheceu um microorganismo com características típicas de *Renibacterium salmoninarum* em análise microbiológica de trutas arco-íris saudáveis, porém as culturas após caracterização bioquímica foram identificadas como pertencentes ao gênero *Corynebacterium*. Suas principais características são: não motilidade, medem cerca de 0,75 x 1,5-3,0 um e contém grânulos intracelulares quando coradas. Quanto a patogenicidade do microorganismo, experimentos com infecções experimentais demonstraram que a

inoculação de cepas na dosagem de $1,25 \times 10^6$ células causa mortalidade de grande número de peixes em poucos dias.

b) *Lactobacillus* spp.

Há poucos relatos sobre infecções de peixes pela bactéria *Lactobacillus* spp. Esta bactéria se manifesta principalmente em trutas e provoca uma enfermidade conhecida como pseudodoença do rim, porém, não está claro qual a significância patológica desta enfermidade, pois em laboratório, as culturas foram incapazes de reproduzir a infecção.

Ainda não está claro se a bactéria compõe parte da microflora normal da água dos viveiros ou se os peixes são somente seus hospedeiros. O primeiro surto desta bacteriose foi verificado na Califórnia em 1967.

Em pisciculturas de trutas arco-íris localizados no Canadá, a bactéria *Lactobacillus* spp juntamente com a bactéria *Aeromonas hydrophila* e *Pseudomonas fluorescens* foram responsáveis por inúmeras mortalidades nesses peixes, sendo a *Lactobacillus* spp o patógeno primário. Assim, deve salientar que essa bactéria é um verdadeiro patógeno de peixes.

Características da doença

A bactéria tem sido isolada do rim de trutas enfermas. O abdômen dos peixes doente torna-se distendidos devido a presença de fluído ascítico, entretanto, admite-se que mortalidades podem não ser atribuídas diretamente ao patógeno. Geralmente a bactéria afeta peixes com mais de um ano de idade, ou seja, peixes que sofrem constantemente manejo reprodutivo. Outros sinais da doença incluem septicemia, distensão do abdômen, abscessos na musculatura e hemorragia interna.

Diagnóstico da enfermidade

O diagnóstico positivo é realizado mediante a presença de coco-bacilos gram positivos nos tecidos dos peixes enfermos e a habilidade da cepa crescer em TSA a 22-24° C.

Controle da enfermidade

Medidas de controle efetivas ainda não foram bem definidas, mais em laboratório tem sido constatado que a bactéria é sensível a ampicilina, ao cloranfenicol e a tetraciclina.

c) *Mycobacterium* spp

Características da Doença

Micobacteriose afeta várias espécies de peixes de água doce e marinha, mais particularmente peixes de aquário. Esta é uma doença sistêmica crônica com formação de granulomas tanto no epitélio quanto nos órgãos internos. Os tratamentos têm eficiência duvidosa e alto custo. O lote doente deve ser destruído, pois estes patógenos são capazes de afetar tanto o homem quanto seus peixes, possuindo importância como zoonose.

Os sintomas mais característicos desta enfermidade dependem da família, sendo os mais comuns: comportamento anormal (certa tendência em nadar pelo fundo), inapetência, emagrecimento crônico e forma côncava do abdômen, exoftalmia, descamação e eriçamento de escamas, encolhimento das nadadeiras e perda de cor. Em peixes jovens pode provocar deformações ósseas na mandíbula e na coluna vertebral. Tem sido observado inchaço do ventre, cujas paredes se tornam frágeis e quebradiças.

A transmissão pode ocorrer pela ingestão de cadáveres infectados diretamente da água ao remover o fundo contaminado. Em ovovivíparos o contato pode realizar-se durante o desenvolvimento embrionário se a fêmea estiver enferma. Em todos os casos é importantíssimo a capacidade de defesa dos indivíduos.

d) *Nocardia* spp.

Há muita confusão para distinguir infecções causadas por *Mycobacterium* e *Nocardia*, pois as duas são bactérias ácido-resistentes. O gênero *Nocardia* também infecta tanto peixes de água doce quanto marinha.

Características da doença

Os sintomas são similares aos provocados pela *Mycobacterium*. Peixes de todas as idades podem ser infectados com os sintomas sendo caracterizados por pequenos pontos brancos presentes na derme, musculatura, brânquias e órgãos internos.

BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS

Aeromonas hydrophila

Dentre as enfermidades causadas por bactérias, tem sido descrito espécies patogênicas em uma variedade de grupos bacterianos, representando os bacilos gram negativos a porcentagem mais elevada (Pellitero *et al.*, 1988).

Bactérias pertencentes ao gênero *Aeromonas* são as mais comuns entre as gram negativas e móveis encontradas em água doce de todo o mundo. Embora as bactérias pertencentes ao gênero *Aeromonas* móveis tenham sido reconhecidas como patógenos potenciais de peixes, alguns membros são parte normal da microbiota intestinal de peixes saudáveis, que sob condições estressantes anteriormente mencionadas elas podem tornar-se oportunistas e desencadear enfermidades com um grande número de mortalidades. É muito importante salientar que vários pesquisadores considerem a espécie *Aeromonas hydrophila* como patógeno primário de peixes.

Características da Doença

A doença causada pela *A. hydrophila* é a septicemia hemorrágica, caracterizada pela presença de pequenas lesões superficiais, hemorragias locais, particularmente nas brânquias e opérculos, úlceras, abscessos, exoftalmia e distensão abdominal. Internamente, pode haver acúmulo de líquido ascítico, anemia e lesões no fígado e rins. O fígado pode tornar-se pálido ou de coloração esverdeada e o rim aparece friável. O intestino freqüentemente é destituído de alimento e pode apresentar petéquias hemorrágicas. (Austin e Austin, 1987).

Esta doença acomete os peixes que se encontram sob condições de estresse e pode ocorrer associada à infecção por outros patógenos embora não haja evidência da presença de interações sinérgicas em condições exacerbadas da doença.

Flavobacterium columnare

Características da enfermidade

O agente etiológico da columnariose é a bactéria *Flavobacterium columnare*, descrita pela primeira vez por Davis (1923), como *Bacillus columnaris*. Ordal & Rucker (1944) identificaram o agente da columnariose como pertencente ao gênero *Chondrococcus*, espécie *columnaris*.

A columnariose além de ser um grave problema de sanidade, diminui a produção, devido à elevada e rápida mortalidade dos alevinos, chegando até mesmo a dizimar cardumes (Ceccarelli *et al.*, 1990). Apesar deste fato, poucos são os trabalhos existentes na literatura brasileira que abordam a columnariose de peixes tropicais. O estudo dessa bacteriose torna-se de importância uma vez que, o controle e a profilaxia da doença decorrem do conhecimento do agente etiológico.

Pseudomonas

O gênero *Pseudomonas* contém três espécies que tem sido descritas como agentes etiológicos de várias doenças de peixes. São elas: *P. chlororaphis*, *P. anguilliseptica* e *P. fluorescens*.

Neste capítulo vamos nos deter somente a espécie *P. fluorescens*, por ser verificada em espécies de peixes tropicais.

Pseudomonas fluorescens

Essa bactéria faz parte do ecossistema aquático, sendo considerada um contaminante ou um invasor secundário dos tecidos danificados de peixes, ou ainda um patógeno primário. Infecta uma grande variedade de espécies de peixes, por se adaptar aos mais diversos ambientes.

Características de enfermidade

O organismo é associado com a enfermidade conhecida como "podridão das nadadeiras", onde a área afetada é corroída. Em muitas espécies um grande número de mortalidade tem sido relatado, onde os sinais da enfermidade incluem: lesões hemorrágicas na pele e na base das nadadeiras, acúmulo de líquido ascítico na cavidade peritoneal, petéquias hemorrágicas nas brânquias, rim, fígado e no lúmen. Isto é, todos os sinais típicos de uma septicemia hemorrágica.

Controle da enfermidade

O melhor método de controle é a prevenção. Manter um ambiente adequado aos peixes, isto é, com boas práticas de manejo, como: com qualidade de água adequada, uma boa nutrição (balanceada) e evitar manejos desnecessários evitam surtos dessa bacteriose e conseqüente mortalidade.

Se a doença já estiver instalada, recomenda-se a utilização de verde malaquita (1-5 mg/L de água/por 1h) ou cloreto de benzalkonium (1-2 mg/L de água por 1h).

ENFERMIDADES PROVOCADAS POR PATÓGENOS MISCELANEOS

Muitos dos patógenos de peixes podem ser agrupados juntos pelo gênero, através do método da coloração de Gram e de sua morfologia. Os três gêneros mais importantes como patógenos são: *Acinetobacter* sp., *Pasteurella piscicida* e *Plesiomonas shigelloides* (*Proteus*).

Acinetobacter sp.

Essa bactéria foi relatada pela primeira vez em 1978 acometendo salmões de atlântico, quando a temperatura da água estava entre 8-11° C. A bactéria foi então isolada e classificada como *Acinetobacter*.

Características da enfermidade

Durante as primeiras semanas de infecção por essa bactéria as mortalidades chegam a 92%. A enfermidade tem como principais sinais clínicos hiperemia, hemorragia em grande escala, com edema severo da epiderme a base das nadadeiras. As lesões também aparecem no rim, fígado e baço e pequenas hemorragias ocorrem na bexiga natatória e na superfície peritoneal.

Plesiomonas shigelloides

Essa bactéria foi isolada pela primeira vez em 1984 de trutas doentes em Portugal.

Características da doença

Provoca um avermelhamento do ânus com exsudato amarelado, petéquias hemorrágicas na musculatura interna e algumas vezes acúmulo de fluído ascítico na cavidade peritoneal.

Edwardsiella ictaluri

Conhecida como septicemia entérica ou doença do buraco na cabeça do catfish. A doença afeta principalmente catfish, mas já foi isolada de um grande número de espécies de peixes de água doce.

Características da doença

Os peixes nadam na superfície e em círculos ou exibem natação em espiral. Há ainda perda de apetite, petéquias hemorrágicas na pele, exoftalmia, e palidez das brânquias. Alguns peixes desenvolvem uma característica específica de lesão aberta no osso frontal entre os olhos. Internamente ocorre hemorragia e necrose do fígado e acúmulo de fluído ascítico na cavidade abdominal.

Edwardsiella tarda

Essa bactéria é o agente etiológico da chamada doença putrefativa do catfish. Essa doença é cosmopolita e tem sido relatada em uma ampla variedade de espécies de peixes de água doce.

Características da doença

Os principais sintomas são pequenas lesões de aproximadamente 3-5 mm de diâmetro, localizadas na região lateral do corpo. Com a progressão da doença, abscessos se desenvolvem na musculatura e nas nadadeiras e formam gás, que quando rompido libera odor semelhante ao de ovo podre. Os peixes tornam-se letárgicos, nadam na superfície da água ou em espiral. Internamente, nódulos são formados no fígado, rim, baço e intestino.

Yersinia ruckeri

Bacteriose responsável pela infecção sistêmica de trutas arco-íris.

Características da doença

A principal característica dessa doença é o aparecimento de hemorragias subcutâneas, principalmente na boca. Outros sinais externos incluem inflamação e erosão dos maxilares e palato, enegrecimento da pele, hemorragias ao redor das nadadeiras, exoftalmia. Internamente, ocorre hemorragia na musculatura e intestino, que pode conter fluido amarelado. Bacteremia generalizada ocorre nos principais órgãos, com aumento do rim e baço.

BACTÉRIAS GRAM POSITIVAS (COCOS)

Staphylococcus epidermidis

Esse microorganismo é patogênico tanto para espécies marinhas quanto para espécies de água doce.

Características da doença

Os sinais típicos incluem exoftalmia, congestão e úlceras na base das nadadeiras.

Isolamento do patógeno

Ele é isolado em meio BHI (brain heart infusion agar) incubado a 37° C durante 24 horas.

Características do microorganismo

São imóveis, gram positivos, fermentativos, com células esféricas de aproximadamente 0,6-1,8 µm de diâmetro e forma colônias brancas ou amareladas em meio BHI.

BIBLIOGRAFIA

AUSTIN, B.; AUSTIN, D.A. Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish. Chischester: Ellis Horwood, 1989, 364 p.

CARNEY, J.F.; CARTY, C.E.; COLWELL, R.R. Seasonal occurrences and distribution of microbial indicators and pathogens in the Rhode River of Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 30, p. 771-780, 1975.

GILL, O.N.; COGHLAN, J.D.; CALDER, I.M. The risk of leptospirosis in United Kingdom fish farm workers. Results from a 1981 serological survey. *Journal of Hygiene, Cambridge*, v. 94, p. 81-86, 1985.

MAGARIÑOS, B.; COUSO, N.; NOYA, M.; MERINO, P.; TORANZO, A. E.; LAMAS, J. Effect of temperature on the development of pasteurellosis in carrier gilthead seabream (*Sparus auratus*). *Aquaculture*, v. 195, p. 17-21, 2001.