

# ISOLAMENTO E SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ORIUNDAS DE LESÕES CAUSADAS POR ICTIO EM JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Daiane CARVALHO<sup>1</sup>; Hiran Castagnino KUNERT-FILHO<sup>1</sup>; Kelly Cristina Tagliari de BRITO<sup>1</sup>; Andréa Ferretto da ROCHA<sup>2</sup>; Marcia Regina STECH<sup>2</sup>; Lissandra Souto CAVALLI<sup>1</sup>; Benito Guimarães de BRITO<sup>1</sup>

## RESUMO

*Ichthyophthirius multifiliis* é a causa de uma doença parasitária que acomete peixes de água doce, sendo um dos grandes problemas o aparecimento de lesões cutâneas secundárias causadas por bactérias. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi identificar as bactérias presentes nas lesões cutâneas de jundiás infectados por ictio e verificar a suscetibilidade antimicrobiana destes isolados. Foram coletadas porções de pele de animais infectados, seguindo-se com o plaqueamento direto em ágar sangue de carneiro 8% e MacConkey com identificação complementar para Gram positivos e Gram negativos. Foram isoladas *Escherichia coli* (1/10), *Burkholderia pseudomallei* (2/10), *Morganella morganii* (2/10) e *Aeromonas hydrophila* (5/10). Dentre os antibióticos testados, verificou-se resistência apenas para a ampicilina. Em conclusão, os agentes isolados podem comprometer os índices zootécnicos dos animais de produção. Ainda, sugerem um risco para a saúde pública no que diz respeito ao consumo de carne com substâncias tóxicas ou com micro-organismos resistentes a antibióticos importantes na medicina humana.

**Palavras-chave:** jundiá, *Ichthyophthirius multifiliis*, infecção bacteriana secundária, antibióticos na aquicultura, resistência bacteriana

## ISOLATION AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF BACTERIA FROM INJURIES CAUSED BY ICTIO IN JUNDIA (*Rhamdia quelen*)

### ABSTRACT

*Ichthyophthirius multifiliis* is the cause of a parasitic disease that affects freshwater fish, being one of the major complications the rise of secondary lesions caused by bacteria. In this context, the aim of this study was to identify the micro-organisms present in the skin lesions of jundias (*Rhamdia quelen*) infected by ictio and verify the antimicrobial susceptibility of the isolates. Infected skin portions were collected, followed by direct plating on 8% sheep blood agar and MacConkey with further identification in gram-positive and gram-negative bacteria. *Escherichia coli* (1/10), *Burkholderia pseudomallei* (2/10), *Morganella morganii* (2/10), and *Aeromonas hydrophila* (5/10) were isolated. Among the antimicrobials tested, resistance was only observed to ampicillin. In conclusion, the agents isolated in this study can compromise the performance parameters of fish production. In addition, the presence of such micro-organisms suggests a risk to public health with respect to the consumption of meat containing toxic substances or microorganisms resistant to important antimicrobial classes in human medicine care.

**Keywords:** South American silver catfish, *Ichthyophthirius multifiliis*, bacterial infection, antimicrobials in aquaculture, antimicrobial resistance

---

### Nota Científica: Recebido em 04/03/2015 - Aprovado em 30/10/2015

<sup>1</sup> Fepagro Saúde Animal, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), Laboratório de Saúde das Aves & Inovação Tecnológica, 92990-000, Eldorado do Sul, RS, Brasil. e-mail: daicarvalho\_vet@hotmail.com; hiran\_veterinario@hotmail.com; tiela.trapp@gmail.com; kelly\_tagliari@hotmail.com; liscavalli@gmail.com; benitobrito@gmail.com (autor correspondente)

<sup>2</sup> Fepagro Aquicultura e Pesca, Centro de Pesquisa Herman Kleerekoper, BR 101, km 53, CEP 95535-000, Terra de Areia, RS, Brasil. e-mail: andreaferrocha@hotmail.com; marciareginastech@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Dentre as espécies nativas, o jundiá caracteriza-se por ser a mais frequentemente utilizada na piscicultura do sul do Brasil (BALDISSEROTTO, 2009), podendo ser encontrado desde o sul do México até a Argentina Central (BORBA *et al.*, 2007). Os índices zootécnicos desta espécie garantem uma posição privilegiada frente às demais. O manejo facilitado, crescimento rápido, alimentação onívora, aceitação de ração na primeira alimentação, carne com alto paladar e sem presença de espinhos intramusculares e crescimento durante o inverno, proporcionam ao jundiá um alto interesse para sua produção (CARNEIRO *et al.*, 2005).

Porém, a produção de jundiás em cativeiro pode ser facilmente comprometida, devido à alta susceptibilidade dos alevinos ao protozoário *Ichthyophthirius multifiliis*, conhecido como “ictio”. A infecção resulta em alta mortalidade e prejuízo para os produtores devido a elevada disseminação deste protozoário (BORBA *et al.*, 2007).

A doença dos “pontos brancos”, ou simplesmente ictio, se caracteriza por ter um ciclo rápido, acometer principalmente a pele e as brânquias dos peixes provocando lesões e alimentando-se de suco tissular, secreções, fragmentos de células epidérmicas e sangue. As lesões na pele são portas de entrada para infecções secundárias potencializando assim a ocorrência de maiores índices de mortalidade (PAVANELLI *et al.*, 1998). Porém há uma carência de informações na literatura com relação à presença de outros gêneros bacterianos nas lesões ocasionadas pelo ictio, e que possam ter importância na saúde animal ou humana. Neste contexto, a caracterização de agentes isolados destas lesões torna-se de grande importância, já que alguns deles podem apresentar potencial patogênico.

Visando o tratamento de infecções bacterianas ou até mesmo a sua prevenção, a utilização de antibióticos vem tornando-se cada vez mais rotineira na aquicultura (PATHAK e GOPAL, 2005; CABELLO, 2006; LI e GATLIN, 2005). Este fato é de grande relevância, já que o aparecimento de isolados multirresistentes vem

ocorrendo com grande frequência (HEUER *et al.*, 2009). É sabido que bactérias aquáticas não são diferentes de outros tipos de bactérias quanto à resposta a exposição a antimicrobianos, portanto, são aptas a transferir e receber genes de resistência (AKINBOWALE *et al.*, 2007). Outro aspecto importante é a possível presença de resíduos de antibióticos no ambiente de criação, o que pode comprometer a saúde animal e humana.

Em relação ao exposto, este estudo teve como objetivo identificar os micro-organismos presentes nas lesões de pele de jundiás naturalmente infectados pelo protozoário *Ichthyophthirius multifiliis*, bem como verificar a suscetibilidade antimicrobiana destes isolados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Isolamento bacteriano*

O estudo foi conduzido nas unidades de Saúde Animal e de Aquicultura e Pesca da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO) com jundiás (peso médio de  $73,44 \pm 14,85$  g e comprimento total médio de  $20,03 \pm 1,34$  cm) mantidos em tanques de polietileno circulares preenchidos com 200 L de água natural (água doce e temperatura média de  $26,4$  °C), na densidade de  $0,1$  juvenil  $L^{-1}$  e alimentados com ração extrusada (42% PB) a uma taxa de 2% da biomassa ao dia.

Alguns dos exemplares cultivados começaram a apresentar sinais de infestação por *Ichthyophthirius multifiliis* (presença de pontos brancos na pele) e, possivelmente, infecção bacteriana associada (aspecto hemorrágico da região), sendo selecionados dez exemplares para coleta de pele e brânquias. A presença do parasita nas lesões foi confirmada através da visualização em exame microscópico dos raspados de pele. Os animais utilizados no estudo foram anestesiados com óleo de cravo comercial (200 ppm) e sacrificados através de secção da medula espinhal. Foi coletada uma amostra de pele (2cm x 2cm) da região lateral afetada de cada peixe. O arco branquial era coletado apenas quando evidenciado a presença de lesões. O material foi devidamente identificado, acondicionado em sacos

individuais estéreis e mantido em caixa isotérmica a aproximadamente 8°C até o encaminhamento ao laboratório para o processamento. Realizou-se o plaqueamento direto das áreas com lesões em ágar sangue de carneiro 8% e ágar Mac Conkey, seguido de incubação em estufa bacteriológica a 37°C ± 1°C por 18-24 horas. Posteriormente as colônias sofreram triagem através dos testes de Gram, catalase e oxidase. Os micro-organismos Gram-negativos foram submetidos ao teste bioquímico convencional (prova da descarboxilação da lisina, citrato de Simmons, sulfito motilidade indol, prova do tríplice açúcar e hidrólise da ureia e incubação nas mesmas condições descritas. Para as amostras com resultado inconclusivo nas provas bioquímicas convencionais, utilizou-se o sistema Bactray®, o qual tem por princípio a identificação de bacilos Gram-negativos a partir de uma bateria de testes bioquímicos complementares.

#### *Ensaio para avaliação da susceptibilidade antimicrobiana*

Para cada amostra identificada foi realizado o teste de disco difusão de acordo com a metodologia descrita pelo Comitê Nacional para Padrões Clínicos Laboratoriais (CLSI, 2012). Primeiramente, para cada cepa foi preparado o inóculo de uma a duas colônias em três mL de solução salina estéril 0,1% de modo que se atingisse um grau de turvação de 0,5 na escala de Mac Farland (aproximadamente 10<sup>8</sup> UFC/mL), seguindo-se com a semeadura com suabe estéril em placa de ágar Mueller Hinton. Sobre a superfície da placa colocou-se, com o auxílio de uma pinça estéril, os discos com os seguintes antibióticos: ciprofloxacina (5µg), enrofloxacin (5 µg), florfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg), ácido nalidíxico (30 µg), neomicina (30 µg), nitrofurantoína (300 µg), sulfa (300 µg), tetraciclina (30 µg), ampicilina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), norfloxacina (10 µg), doxiciclina (30 µg) e a associação de sulfonamida e trimetoprim (25 µg). Após, todas as placas foram incubadas a 37°C ± 1°C por 18- 24 horas e realizada a leitura com régua milimetrada, aferindo-se o halo de inibição incluindo o diâmetro do disco. Os valores encontrados foram interpretados classificando-se as amostras como sensíveis, intermediárias ou resistentes.

Para cada isolado, o Índice de Resistência Múltipla aos Antibióticos (IRMA) (KRUMPERMAN, 1983) foi calculado pela seguinte fórmula: IRMA = número de antibióticos para os quais a amostra foi resistente ÷ número total de antibióticos testados. Como controle de qualidade do teste foi utilizada a cepa de *E. coli* ATCC 25922.

## RESULTADOS

Ao total, foram isolados 10 micro-organismos. Desses, uma amostra foi caracterizada como *Escherichia coli* (1:10), duas como *Burkholderia pseudomallei* (2:10) e duas como *Morganella morganii* (2:10), sendo todas essas obtidas de lesões cutâneas ao longo do corpo dos animais. Isolaram-se também cinco amostras de *Aeromonas hydrophila* (5:10), sendo quatro de lesões dispersas pelo corpo e uma de brânquia. Infecções mistas foram observadas em dois animais: um deles foi acometido por *Morganella morganii*, *Burkholderia pseudomallei* e *Aeromonas hydrophila*; e outro por *Escherichia coli* e *Aeromonas hydrophila*, simultaneamente. Em três peixes, dos 10 coletados, não houve crescimento bacteriano no plaqueamento direto das áreas com lesões. Não se evidenciou, neste estudo, a presença de micro-organismos Gram-positivos.

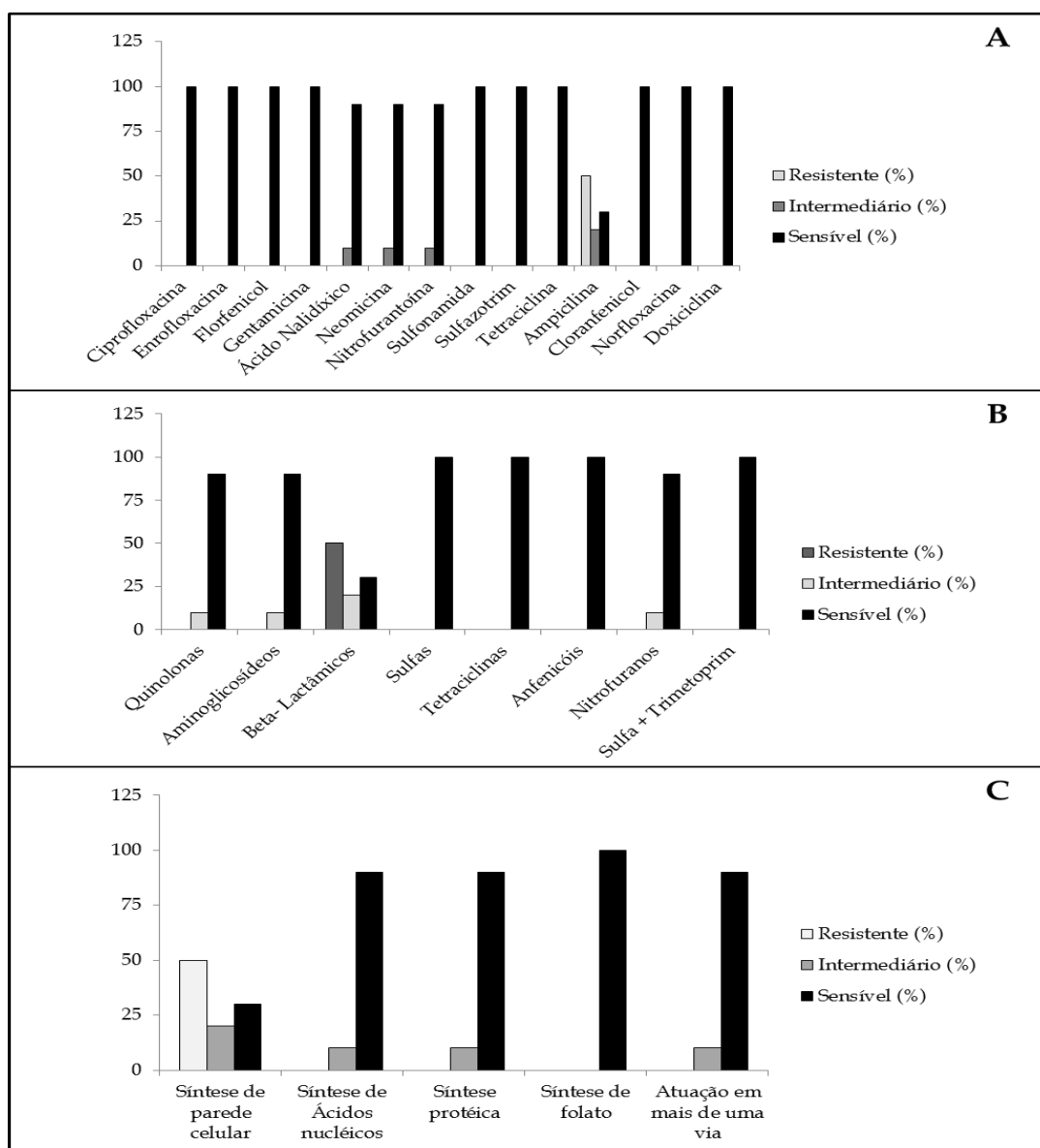
Observou-se que apenas para a ampicilina os isolados apresentaram-se resistentes, sendo desses uma amostra de *Burkholderia pseudomallei*, duas de *Aeromonas hydrophila* e as duas de *Morganella morganii* (Figura 1A). O IRMA destas bactérias foi de 0,07 (resistência a apenas um antimicrobiano). A *Escherichia coli* e uma amostra de *Aeromonas hydrophila* foram sensíveis a todos os princípios ativos testados (IRMA=0).

Quanto à classificação das bactérias considerando os antibióticos agrupados por classe, constatou-se que 20% dos isolados, sendo esses de *Aeromonas hydrophila*, apresentaram suscetibilidade intermediária para o grupo dos beta-lactâmicos, em função da ampicilina; 10% (*Morganella morganii*) para o grupo das quinolonas, em função do ácido nalidíxico; 10% (*Aeromonas hydrophila*) para os aminoglicosídeos, em função da neomicina; e 10% (*Burkholderia pseudomallei*) aos nitrofuranos, em função da nitrofurantoína. Todos os isolados foram

sensíveis ao grupo das sulfas, tetraciclina, anfenicóis e a associação da sulfonamida + trimetoprim. Observou-se também que o grupo dos Beta-lactâmicos foi o único para o qual as amostras apresentaram-se resistentes (50%) (Figura 1B), da mesma forma que para o grupo que atua inibindo a síntese de parede celular (50%), cuja representante também é a ampicilina (Figura 1C).

Os antibióticos que agem inibindo a síntese de ácidos nucléicos (enrofloxacina, norfloxacina,

ciprofloxacina e ácido nalidíxico) e de proteínas (gentamicina, neomicina, tetraciclina, doxiciclina, cloranfenicol e florfenicol), bem como aquele que atua sobre mais de uma via (nitrofurantoína), apresentaram grau intermediário de resistência para 10% das amostras. Para os antimicrobianos que atuam bloqueando a síntese de folato (sulfonamida e a associação sulfa + trimetoprim), os isolados apresentaram sensibilidade de 100% (figura 1B).



**Figura 1** - A: Classificação das 10 amostras originárias de lesões de pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) quanto à suscetibilidade a 14 antimicrobianos. B: Classificação das 10 amostras originárias de lesões de pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) quanto à suscetibilidade as diferentes classes químicas de antimicrobianos. C: Classificação das 10 amostras originárias de lesões de pele de jundiás (*Rhamdia quelen*) quanto à suscetibilidade aos diferentes antimicrobianos agrupados por mecanismo de ação.

## DISCUSSÃO

A *Morganella morganii* é um organismo componente da microbiota normal do trato gastrointestinal dos peixes. Este patógeno pertence à família *Enterobacteriaceae*, da qual também fazem parte outros agentes produtores de histamina, como bactérias do gênero *Shigella* sp., *Proteus* sp. e *Escherichia* sp. (PROCÓPIO, 2010). Em humanos, a histamina é provavelmente a principal causa de intoxicações relacionadas a peixes (LEHANE and OLLEY, 2000).

Sendo a *Morganella morganii* considerada um potencial produtor desta substância, cabe ressaltar a importância do seu isolamento para a saúde pública.

A *Escherichia coli* não é considerada um micro-organismo da microbiota endógena dos peixes, porém vem sendo frequentemente isolada do intestino desses animais (GUZMÁN *et al.*, 2004). Neste estudo, tal achado possivelmente ocorreu em função da sua presença na água dos tanques (AGNESE *et al.*, 2001), já que a água utilizada era proveniente de uma lagoa sem tratamento prévio.

A *Aeromonas hydrophila* é o agente causador da septicemia hemorrágica, enfermidade que causa grande impacto econômico à piscicultura. As perdas na produção são geradas tanto pela alta mortalidade dos animais quanto pelo aumento a susceptibilidade a outros patógenos (BOIJINK e BRANDÃO, 2001). XU *et al.*, (2012) realizaram um estudo cujo um dos objetivos foi verificar se o parasitismo por ictio aumenta a invasão de *Aeromonas* sp. nos diferentes tecidos. Os autores observaram que a presença desta bactéria na pele de peixes com concomitante infestação por ictio é significativamente maior do que nos animais não acometidos pelo protozoário. Da mesma forma, LIU e LU (2004), já haviam observado a importância do ictio na infecção por *Aeromonas hydrophila*, demonstrando que o trauma causado pelo protozoário serve como porta de entrada para esta bactéria. Além da importância da *Aeromonas* sp. na sanidade dos animais, este patógeno tem grande impacto sobre a saúde humana, já que é causador de quadros de gastroenterite, pneumonia, meningite, infecção de tecidos

moles, osteomielite e artrite séptica (JANDA e ABBOTT, 2010; HAENEN *et al.*, 2013). SHAMA *et al.*, (2000) também observou a presença de *Aeromonas* sp. dentre os isolados lesões de pele em jundiás, sendo esse gênero isolado em seis dos 100 animais amostrados.

CARNEVIA *et al.*, (2010) já haviam relatado a presença de *Burkholderia pseudomallei* em peixes no Uruguai. Este micro-organismo tem uma ampla gama de hospedeiros, desde cavalos, gatos e cães (CHENG e CURRIE, 2005), até peixes, cobras e crocodilianos, sendo responsável por desencadear quadros de melioidose (SPRAGUE e NEUBAUER, 2004). Assim como a *Aeromonas hydrophila*, a *Burkholderia pseudomallei* possui grande potencial zoonótico (CARNEVIA *et al.*, 2010).

É importante ressaltar que as infecções causadas por patógenos transmitidos através de peixes ou ambientes aquáticos são bastante comuns dependendo da época do ano, contato do homem com os animais e o ambiente relacionado, hábitos alimentares e *status* imunológico do indivíduo exposto. Uma das principais formas de infecção para o homem é através do contato com o animal infectado durante procedimentos de manejo ou através do contato com a água do ambiente de criação, onde a pele injuriada geralmente serve como porta de entrada para patógenos. A ingestão de peixes infectados ou seus produtos também constituem uma das formas de infecção para humanos (ACHA e SZYFRES, 2003).

Neste estudo não foram observados micro-organismos Gram-positivos dentre os isolados. Apesar da maioria das bactérias relacionadas a infecções de pele em peixes corresponder a Gram-negativos, alguns autores já relataram a presença de Gram-positivos, como o gênero *Mycobacterium* sp. (WOLF and SMITH, 1999), *Streptococcus* sp. (WEINSTEIN *et al.*, 1996) e *Erysipelothrix* sp. (CHATTOPADHYAY, 2000). Entretanto, cabe ressaltar que não foram encontrados relatos na literatura associando a infestação por ictio ao isolamento destes agentes nas lesões cutâneas.

Quanto à suscetibilidade dos isolados frente aos antibióticos testados, observou-se resistência apenas para a ampicilina. Este achado vai de encontro ao que foi verificado em estudos

anteriores, nos quais a resistência de *Aeromonas hydrophila* e *Morganella morganii* isoladas de animais aquáticos ocorreu não só para este integrante do grupo dos beta-lactâmicos, mas também para antimicrobianos de outras classes, como as quinolonas (COSTA *et al.*, 2008; FOTI *et al.*, 2009). Não foram encontrados relatos na literatura de suscetibilidade a antibióticos em amostras de *Burkholderia pseudomallei* isoladas de peixes. Com relação à *Escherichia coli*, diferentemente do resultado encontrado no presente trabalho, BARBOSA *et al.*, (2014) verificaram resistência para isolados de pele para oito dos nove antibióticos testados. Das cinco amostras de *Aeromonas hydrophila*, duas delas foram resistentes a ampicilina. A resistência a este antimicrobiano também foi reportada por OROZOVA *et al.*, (2010) em um estudo avaliando isolados de *Aeromonas* sp. na água para consumo e em amostras de peixes de criações de países da Europa.

Com exceção da ampicilina, a sensibilidade para os demais antibióticos testados neste estudo foi superior a 90%, sendo que para 10 dos antimicrobianos chegou a 100%. Este resultado não era esperado, haja vista que o uso de antibióticos vem crescendo consideravelmente na aquicultura, levando a níveis cada vez maiores de resistência. Uma possível explicação para os resultados de suscetibilidade encontrados é o fato de que os exemplares mantidos em tanques no laboratório não foram expostos à terapia antimicrobiana, favorecendo a sensibilidade dos micro-organismos daquele ecossistema. Porém, segundo HEUER *et al.*, (2009) a resistência a ampicilina é um achado de grande importância, haja vista que este fármaco é muito utilizado na medicina humana. Sendo os organismos isolados neste estudo causadores de zoonoses ou produtores de substâncias tóxicas, a baixa sensibilidade à ampicilina passa a ter ainda maior relevância no âmbito da saúde pública.

## CONCLUSÕES

Observou-se que o parasitismo de *Rhamdia quelen*, por *Ichthyophthirius multifiliis* pode servir como porta de entrada para micro-organismos patogênicos, entre eles *Aeromonas hydrophila*, *Morganella morganii*, *Escherichia coli* e *Burkholderia pseudomallei*. Estes agentes podem comprometer

os índices zootécnicos dos animais de produção, causando prejuízos econômicos e sociais à piscicultura. Da mesma forma, esses dados tem impacto para a saúde humana uma vez que os micro-organismos isolados apresentaram resistência ou suscetibilidade intermediária a antibióticos amplamente utilizados na medicina humana.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Proc. 458299/2012-0; 312126/2013-1; 312575/2013-0) e a FAPERGS (Proc. 825-2551/2013-9) pela concessão de bolsas e auxílio financeiro.

## COMITÊ DE ÉTICA

O estudo foi previamente aprovado pelo comitê de ética para uso de animais protocolo nº 27/2012 (CEUA-IPVDF).

## REFERÊNCIAS

- ACHA, P.N. and SZYFRES, B. 2003. Bacterioses and mycoses. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. 3 ed. *Scientific and Technical Publication*. Pan American Health Organization. 384p.
- AGNESE, A.P.; OLIVEIRA, V.M.; SILVA, P.P.O.; OLIVEIRA, G.A. 2001. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e numeração de coliformes totais e fecais em peixes frescos comercializados no município de Seropédica-RJ. *Higiene Alimentar*. 15: 67-70.
- AKINBOWALE, O.L.; PENG, H.; BARTON, M.D. 2007. Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from aquaculture sources in Australia. *Journal Applied Microbiology*. 103: 2016-2025.
- BALDISSEROTTO, B. 2009. Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. *Ciência Rural*. 39: 291-299.
- BARBOSA, M.M.C.; PINTO, F.R.; RIBEIRO, L.F.; GURIZ, C.S.L.; FERRAUDO, A.S.; MALUTA, R.P.; RIGOBELLO, E.C.; ÁVILA, F.A.; AMARAL, L.A. 2014. Serology and patterns of antimicrobial susceptibility in *Escherichia coli* isolates from pay-to-fish ponds. *Food Safety. Arquivos do Instituto Biológico*. 81: 43-48.

- BOIJINK, C.L. e BRANDÃO, D.A. 2001. Alterações histológicas e comportamentais provocadas pela inoculação de suspensão bacteriana (*Aeromonas hydrophila*) em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Ciência Rural*. 31: 687-690.
- BORBA, M.R.; FRACALOSSO, D.M.; FREITAS, F.A. 2007. Efeito da suplementação de vitamina C na dieta sobre a susceptibilidade de alevinos de Jundiá, *Rhamdia quelen*, ao *Ichthyophthirius multifiliis*. *Acta Scientiarum. Animal Science*. 29: 93-99.
- CABELLO, F.C. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the *Environment Microbiology*. 8: 1137-1144.
- CARNEIRO, P.C.F.; SCHORER, M.; MIKOS, J.D. 2005. Tratamentos terapêuticos convencionais no controle do ectoparasita *Ichthyophthirius multifiliis* em jundiá (*Rhamdia quelen*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 40: 99-102.
- CARNEVIA, D., PERRETTA, A.; LETAMENDÍA, M.; DELGADO, E. 2010. Enfermedades diagnosticadas en organismos acuáticos de cultivo en Uruguay. *Agrociencia*. 14: 109-113.
- CHATTOPADHYAY, P. 2000. Fish - catching and handling. In: ROBINSON, R.K. (ed.): *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press. 1547p.
- CHENG, A.C. and CURRIE, B.J. 2005. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology and management. *Clinical Microbiology Reviews*. 18: 383-416.
- COSTA, M.M.; PEIXOTO, R.M.; BOIJINK, C.L.; CASTAGNA, L.; MEURER, F.; VARGAS, A.C. 2008. Sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 28: 477-480.
- CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement*. 15 ed. Document M100-S22, 2012.
- FOTI, M.; GIACOPELLO, C.; BOTTARI, T.; FISICHELLA, V.; RINALDO, D.; MAMMINA, C. 2009. Antibiotic Resistance of Gram Negatives isolates from loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the central Mediterranean Sea. *Marine Pollut Bulletin*. 58: 1363-1366.
- GUZMÁN, M.C.; BISTONI, M.D.L.A.; TAMAGNINI, L.M.; GONZÁLES, R.D. 2004. Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. *Journal of Great Lakes Research*. 38: 2368-2374.
- HAENEN, O.L.M.; EVANS, J.J.; BERTHE, F. 2013. Bacterial infections from aquatic species: potential for and prevention of contact zoonoses. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*. 32: 497-507.
- HEUER, O.E.; KRUSE, H.; GRAVE, K.; COLLIGNON, P.; KARUNASAGAR, I.; ÂNGULO, F.J. 2009. Human Health Consequences of Use of Antimicrobial Agents in Aquaculture. *Clinical and Infectious Disease*. 49: 1248-1253.
- JANDA, J.M. and ABBOTT, S.L. 2010. The genus *Aeromonas*: Taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 23: 35-73.
- KRUMPERMAN, P.H. 1983. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high - risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*. 46: 165-170.
- LEHANE, L. and OLLEY, J. 2000. Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology*. 58: 1-37.
- LI, P. e GATLIN, D.M. 2005. Evaluation of the prebiotic GroBiotic®-A and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. *Aquaculture*. 248: 197-205.
- LIU, Y.J. and LU, C.P. 2004. Role of *Ichthyophthirius multifiliis* in the Infection of *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 51:222-224.
- OROZOVA, P.; CHIKOVA, V.; NAJDENSKI, H. 2010. Antibiotic resistance of pathogenic for fish isolates of *Aeromonas* spp. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 16: 376-386.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. 1998. Doenças de peixes:

Profilaxia, diagnóstico e tratamento. 3.ed. EDUEM. 264p.

PATHAK, S.P. and GOPAL, K. 2005. Occurrence of antibiotic and metal resistance in bactérias from organs of river fish. *Environmental Research*. 98: 100-103.

PROCÓPIO, R.C.O. 2000. *Ocorrência de bactérias formadoras de histamina em tunídeos utilizados para enlatamento. Niterói, Brasil, Rio de Janeiro*. 91f. (Tese de doutorado, Universidade Federal Fluminense). Disponível em: <<http://www.ndc.uff.br/content/biblioteca-digital-de-teses-e-disserta%C3%A7%C3%B5es>>. Acesso em: 18 abril 2014.

SHAMA, S.; BRANDÃO, D.A.; VARGAS, A.C.; COSTA, M.M.; PEDROZO, A.F. 2000. Bactérias com potencial patogênico nos rins e lesões externas de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados em sistema semi-intensivo. *Ciência Rural*. 10: 293-298.

SPRAGUE, L.D and NEUBAUER, H. 2004. Melioidosis in animals: a review on epizootiology, diagnosis and clinical presentation. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 51: 305-320.

WEINSTEIN, M.; LOW, D.; MCGEER, A.; WILLEY, B.; ROSE, D.; COULTER, M.; WYPER, P.; BORCZYK, A.; LOVGREN, M.; FACKLAM, R. 1996. Invasive infection due to *Streptococcus iniae*: a new or previously unrecognized disease - Ontario. *Canada Communicable Disease Report*. 22: 129-131.

WOLF, J.C. and SMITH, S.A. 1999. Comparative severity of experimentally induced mycobacteriosis in striped bass *Morone saxatilis* and hybrid tilapia *Oreochromis spp.* *Diseases of Aquatic Organisms*. 38: 191-200.

XU, D.H.; PRIDGEON, J.W.; KLESIUS, P.H.; SHOEMAKER, C.A. 2012. Parasitism by protozoan *Ichthyophthirius multifiliis* enhanced invasion of *Aeromonas hydrophila* in tissues of channel catfish. *Veterinary Parasitology*. 184: 101-107.