

MICOBACTERIOSE EM PEIXES

[Fish mycobacteriosis]

Carlos Massatoshi ISHIKAWA^{1,5}, Eliana Reiko MATUSHIMA², Clovis Wesley Oliveira de SOUZA³, Jorge TIMENETSKY⁴, Maria José Tavares RANZANI-PAIVA¹

¹ Pesquisador Científico – Centro de Pesquisa em Aqüicultura - Instituto de Pesca , São Paulo, SP

² Professora Doutora – Departamento de Patologia – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo, São Paulo

³ Professor Doutor – Departamento de Morfologia e Patologia – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP

⁴ Professor Doutor – Departamento de Microbiologia – Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

⁵ Endereço/Address – Av. Francisco Matarazzo, 455, CEP 05001-900, São Paulo - SP cmishikawa@ig.com.br

RESUMO

A micobacteriose é uma doença que pode afetar várias espécies de peixes, incluindo-se as espécies utilizadas em criações comerciais. É uma doença crônica, granulomatosa, denominada tuberculose ou, simplesmente, micobacteriose de peixes. Nos últimos anos, é crescente o interesse pela piscicultura em razão da sensível redução nos estoques pesqueiros. No entanto, a intensificação da criação favorece o desenvolvimento de enfermidades como a micobacteriose, causando prejuízos, principalmente, por se tratar de doença crônica, que não pode ser facilmente notada. Além disso, as micobactérias são ubíquas, sendo encontradas na água, solo e poeira. A micobacteriose é conhecida desde 1863, quando Vilemin relatou a tuberculose em peixes e alguns invertebrados, porém pouco se conhece a respeito dessa doença em peixes considerando-se o grande número de espécies. Uma das espécies causadoras de micobacteriose em peixes pode provocar em humanos o granuloma de piscina, doença considerada de origem ocupacional ou recreacional. Este estudo reúne alguns trabalhos sobre micobacterioses, para melhor compreendê-las, e assim contribuir para a sua prevenção e preservação da saúde do plantel aquícola brasileiro, assim como da saúde humana.

Palavras-chave: micobacteriose, *Mycobacterium marinum*, granuloma, peixes

ABSTRACT

Mycobacteriosis affects various species of fish, including those cultured with commercial purposes. It is a chronic systemic with granuloma forming disease known as fish tuberculosis or mycobacteriosis. In the last few years the interest of fish culture has been increasing due to the reduction of the natural fish stock. However the intensification of the fish cultures has been collaborated to the development of diseases such as mycobacteriosis, causing losses due to the chronic characteristics and difficult diagnosis. Moreover, the aetiological agents of mycobacteriosis are ubiquitous, being encountered in water, soil and dust. The mycobacteriosis has been known since 1863, when Vilemin reported the tuberculosis in fish and some invertebrates; however little is known about this disease in fish, considering the large number of species in this group. Human may be infected by these bacteria, both in the workplace or recreational facilities, with the development of cutaneous granuloma known as swimming pool granuloma. This study makes a review of a number of papers on mycobacteriosis in order to increase the comprehension of the disease, contributing to the prevention of its establishment in the aquatic facilities, and thus, preserving cultured fish as well as human beings from infection.

Key words: mycobacteriosis, *Mycobacterium marinum*, granuloma, fish

Introdução

O termo micobacteriose refere-se à toda associação entre qualquer espécie de micobactéria e um hospedeiro (LEPPER e CORNER, 1983; HINES; KREEGER; HERRON, 1995). Entretanto, é comumente

utilizado para representar apenas infecções associadas a micobactérias atípicas (VASCONCELLOS, 1979), ou seja, aquelas micobactérias que não pertencem às espécies *Mycobacterium leprae*, *M. lepraemurium* ou às do complexo *M. tuberculosis* (MTC – *Mycobacterium tuberculosis* Complex) (HINES;

KREEGER; HERRON, 1995; THOEN e SCHLISSER, 1984).

As micobactérias pertencem à família Mycobacteriaceae e caracterizam-se como bacilos delgados, retos ou ligeiramente curvos, aeróbios, de crescimento lento, imóveis e não esporulados. Apresentam-se como bactérias álcool-ácido-resistentes quando submetidas à coloração de Ziehl-Neelsen, podendo adquirir coloração Gram positiva. Estes microrganismos possuem elevado teor de lipídios na parede celular e produzem ácidos graxos conhecidos como ácidos micólicos (WAYNE e KUBICA, 1986).

O gênero *Mycobacterium* foi proposto por Lehmann e Neumann (1896), *apud* GOODFELLOW e WEINE (1982), para agrupar os agentes causadores da hanseníase (lepra) e da tuberculose, classificados anteriormente como *Bacterium leprae* e *B. tuberculosis*, respectivamente.

A primeira espécie de micobactéria foi descrita em 1870 correspondendo ao agente etiológico da hanseníase. Em 1882, Koch isolou o agente da tuberculose, e, até o final do século XXI, já haviam sido descritas micobactérias de bovinos, aves, répteis, peixes e as micobactérias saprófitas (WOLINSKY, 1979). GOODFELLOW e MAGEED (1988) registram 71 espécies de micobactérias identificadas.

As micobactérias não pertencentes às espécies *M. tuberculosis* e *M. bovis* podem provocar lesões semelhantes às de tuberculose humana, sendo, no entanto, chamadas de atípicas, não classificadas, anônimas, MOTT (Mycobacteria Other Than Tubercle) ou não tuberculosas (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1988). A denominação “atípica”, apesar da larga utilização, não é adequada, pois estas micobactérias são típicas dentro de sua espécie (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1988). Assim, recomenda-se caracterizar a micobacteriose com a identificação da espécie causadora (THOEN e SCHLISSER, 1984).

Em 1959, Runyon propôs, para as micobactérias atípicas, uma divisão em quatro grupos, baseando-se no tempo de formação de colônias e em sua cromogenicidade. O grupo I inclui micobactérias de crescimento lento e fotocromógenas, que se apresentam sem pigmentos no escuro, adquirindo coloração amarelada quando expostas à luz. O grupo II compreende aquelas de crescimento lento e escotocromógenas, com coloração amarelo-alaranjada, mesmo desenvolvendo-se no escuro. No grupo III estão as espécies de crescimento lento e não cromógenas e o grupo IV, as de crescimento rápido.

Posteriormente foram propostos vários esquemas

de classificação, baseados em características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, enzimáticas e sorológicas, caracterizando-se, desta maneira, uma variedade de espécies, sub-espécies e tipos, dentro de cada um dos quatro grupos de Runyon (WAYNE; DOUBEK; RUSSEL, 1964; VESTAL e KUBICA, 1967; TSUKAMURA, 1969, WAYNE *et al.*, 1989; WILLETT, 1988).

A partir de 1965, o Grupo Internacional de Trabalho sobre Taxonomia de *Mycobacterium* coordenou estudos utilizando a taxonomia numérica computadorizada, confirmando várias espécies já descritas, caracterizando micobactérias de crescimento lento não definidas e classificando novas espécies (KUBICA; SILCOX; HALL, 1973; MEISSNER *et al.*, 1974; SAITO *et al.*, 1977; DAVID *et al.*, 1978).

As micobactérias podem ser ainda agrupadas sob outros pontos de vista. Assim, KAZDA (1983) classifica as micobactérias em saprófitas, potencialmente patogênicas, patogênicas facultativas e patogênicas obrigatórias.

A tuberculose é uma das mais antigas moléstias infecciosas, podendo ser encontrada em todos os grupos de vertebrados (IPPEN, 1964). Existe referência de ocorrência desta enfermidade na antiguidade, através de observações de lesões tuberculosas em algumas múmias do Egito (KARLSON, 1980). Nos animais, a tuberculose foi a primeira doença micobacteriana reconhecida e é provável que tenha afetado outros animais antes de sua descrição no homem (LEPPER e CORNER, 1983).

Micobacterioses em peixes

Nos peixes, as infecções micobacterianas são chamadas de tuberculose ou micobacteriose de peixes, independentemente da espécie envolvida (INGLIS; ROBERTS; BROMAGE, 1993; WOLKE e STROUD, 1978).

A tuberculose de peixes e de alguns invertebrados foi relatada por Villemin em 1868, porém, como não se conhecia a etiologia das doenças tuberculosas (IPPEN, 1964), a primeira descrição é atribuída a Bataillon; Dubard; Terre (1897), *apud* INGLIS; ROBERTS; BROMAGE, (1993). Estes autores isolaram bacilos álcool-ácido-resistentes de carpas (*Cyprinus carpio*) contaminadas por dejetos de humanos portadores de tuberculose, gerando suspeitas de que o bacilo de origem humana tenha infectado os peixes. Identificações posteriores levaram à descoberta de uma espécie distinta, denominada *Mycobacterium piscium* (Bataillon; Moeller; Terre, 1902, *apud* MATUSHIMA, 1994).

Outros autores, como Alexander (1913) e

Sutherland (1922), *apud* INGLIS; ROBERTS; BROMAGE (1993), descreveram a tuberculose em peixes. Entretanto a primeira descrição de *Mycobacterium marinum*, já devidamente estabelecido, foi realizada por ARONSON (1926), através de estudos realizados em vísceras de peixes tropicais marinhos do Aquário da Filadélfia, nos Estados Unidos.

O nome *M. marinum* veio de acreditar-se que estes organismos acometiam apenas peixes marinhos. Todavia testes bioquímicos realizados por ROSS (1960), aliados a aspectos morfológicos e de patogenicidade já descritos, sugerem que o *M. piscium* isolado de peixes de água doce seja, na realidade *M. marinum*, considerado atualmente ubiqüitário (INGLIS; ROBERTS; BROMAGE, 1993).

Em 1942, BAKER e HAGAN isolaram *Mycobacterium platipoecilus* de “platis mexicanos” (*Platipoecilus maculatus*), e, em 1949, BESSE isolou *Mycobacterium anabanti* de “peixes de briga” (*Betta splendens*), mas ambos são considerados sinônima de *M. marinum*.

Outra espécie causadora de micobacteriose em peixes foi isolada pela primeira vez em “neon tetra” (*Hyphessobrycon innesi*) por NIGRELLI (1953), posteriormente caracterizado por ROSS e BRANCATO (1959) como *Mycobacterium fortuitum*.

Na África do Sul, *M. fortuitum* foi isolado de três espécie de peixes ornamentais, “oscar” (*Apistogramma ocellatus*), “lebiste” (*Lebistes reticulatus*) e “disco” (*Symphysodon aequifasciatus*), por BRAGG; HUCHZERMAYER; HANISCH (1990). Testes de sensibilidade a antibióticos demonstraram a resistência destes microrganismos às drogas utilizadas, levando os autores a recomendar a destruição do estoque contaminado e desinfecção do local antes de uma nova criação.

ROSS (1960) isolou, de salmonídeos, bactérias semelhantes ao *M. fortuitum*, porém, como não apresentavam crescimento a 37°C e nem eram patogênicas para camundongos, foram denominadas de *Mycobacterium salmoniphilum*, posteriormente reclassificada por GRANGE (1981) como *Mycobacterium chelonae*.

PARISOT e WOOD (1960) observaram que a resposta inflamatória típica de tuberculose dos vertebrados superiores não ocorria nos salmonídeos e sugeriram o termo micobacteriose para a tuberculose dos peixes. Entretanto, NIGRELLI e VOGEL (1963) consideram válida a utilização do termo “tuberculose” ou “micobacteriose” para infecções causadas por micobactérias, pois aquela reação atípica, descrita por PARISOT e WOOD (1960), não é

comum nos peixes em geral, nos quais ocorrem os tubérculos típicos e outras reações clássicas.

NIGRELLI e VOGEL (1963) apresentaram uma lista de 151 espécies de peixes marinhos e de água doce com diagnóstico de micobacteriose. Esta lista ampliou-se de tal forma, que levou DULIN, em 1979, a afirmar que qualquer espécie de peixe é suscetível a esta enfermidade.

CLARK e SHEPARD (1963) estudaram o efeito da variação da temperatura na infecção de camundongos, gambás, morcegos e várias espécies de animais ectotérmicos (peixes, anfíbios e répteis) por *M. marinum*. Concluíram que os mamíferos desenvolviam lesões, no local da inoculação, quando mantidos em temperaturas de aproximadamente 34°C, e que não havia disseminação via sangüínea, enquanto que nos animais ectotérmicos, a temperatura ótima para o desenvolvimento da infecção era de 30°C.

Apesar do reconhecimento da tuberculose como causa de enfermidades e mortalidade em peixes, existiam dúvidas quanto a sua patogênese, principalmente em relação à participação de células gigantes, presentes em lesões tuberculosas de animais superiores (TIMUR; ROBERTS; MCQUEEN, 1977).

Essas células gigantes são descritas em outras lesões inflamatórias de peixes, e ocorrem em resposta a uma ampla variedade de estímulos, como aqueles provocados por fungos causadores de micoses sistêmicas (WOOD; YASUTAKE; LEHMAN, 1956), por depósito de cálcio metastáticos (DUNBAR e HERMAN, 1971) e por etiquetas de marcação (ROBERTS *et al.*, 1973).

TIMUR; ROBERTS; MCQUEEN (1977) estudaram experimentalmente a patogênese da tuberculose em “plaice” (*Pleuronectes platessa*), enfatizando o desenvolvimento de células gigantes, e observaram que, após a inoculação de *Mycobacterium* (NCMB 1484) isolado de lesões de *Hippoglossoides hippoglossus*, desenvolviam-se reações granulomatosas típicas, formadas por células epitelióides, com a presença de células gigantes somente do tipo Langhans. Algumas lesões apresentaram centro necrótico com grande número de linfócitos e plasmócitos no estroma dos granulomas. As células gigantes foram descritas, também, por MATUSHIMA (1994), em processo granulomatoso induzido experimentalmente em tilápia do Nilo (*O. niloticus*) pela inoculação de Vacina BCG (Bacilo Calmette-Guerin, cepa Moreaux).

WADA *et al.* (1993) descreveram, em “napoleão fish” (*Cheilinus undulatus*), uma infecção, provocada pela ação simultânea de *Mycobacterium* sp. e fungos,

com a presença de lesões granuloma-tosas semelhantes às anteriormente descritas, mas com ausência de células gigantes. Essas células também não foram notadas por GIAVENNI *et al.* (1980), BUCKE (1980), HATAI *et al.* (1988), SOUZA (1993) e GÓMEZ *et al.* (1993). Segundo BUCKE (1980), essa ausência de células gigantes em peixes é uma condição de tuberculose bem definida, pois acredita-se que haja formação dessas células e que após 24 a 48 dias, o seu número diminua rapidamente. No entanto, ISHIKAWA (1998) inoculou experimentalmente *M. marinum* ATCC 927 em tilápias do Nilo (*O. niloticus*), observou o resultado após 1, 3, 7, 14, 21, 28, 42, 56 e 84 dias, não encontrando células gigantes em nenhum tempo experimental.

ASHBURNER (1977) relatou, pela primeira vez, a infecção provocada por *M. chelonae*, em “salmão chinook” (*Oncorhynchus tshawytscha*), na Austrália, e notou a similaridade desta bactéria com *M. salmoniphilum*. Observou também que os salmonídeos poderiam não apresentar sinais clínicos externos, mostrando apenas alteração da coloração, interrupção do crescimento, retardo do desenvolvimento sexual e morte. Estes aspectos clínicos foram também observados por ABERNETHY e LUND (1978).

Ainda, de salmonídeos do Pacífico, ARAKAWA e FRYER (1984) isolaram *M. chelonae*, subespécie *pisciarum*, que foi considerado diferente de *M. salmoniphilum*, apesar de ter a mesma origem geográfica, não apresentar crescimento a 37°C e não ser patogênico para camundongos. No entanto, quando se empregam técnicas com utilização de anticorpos específicos, *M. salmoniphilum* não apresenta reação diferente de *M. chelonae*, sendo portanto incluído neste grupo.

LUND e ABERNETHY (1978) estudaram lesões tuberculosas em órgãos internos de peixes da espécie *Prosopium williamsoni* (“mountain whitefish”), colhidos no rio Yakima, em Washington, EUA. Nestes peixes, as lesões granulomatosas apresentavam-se com algumas diferenças morfológicas em relação a peixes tropicais. As características morfotintoriais das micobactérias no citoplasma dos macrófagos não permitiram que a micobacteriose, nestes peixes, fosse confundida com outras doenças granulomatosas, como as provocadas por *Ichthyophonus hoferi*, *Nocardia* sp., *Flavobacterium* sp., ou parasitos.

Ainda, ABERNETHY e LUND (1978) mantiveram em laboratório exemplares de “mountain whitefish” (*P. williamsoni*) capturados no rio Yakima e notaram que a micobacteriose ocorria em 8% da população estudada,

sem distinção entre os sexos, e que as lesões se apresentavam mais severas nos animais de maior idade.

Peixes marinhos tropicais mantidos em aquário foram estudados por GIAVENNI *et al.* (1980), que observaram lesões tuberculosas em espécimens pertencentes a dezessete gêneros. Nestes animais, observaram sinais clínicos, como dispnéia, imobilidade, pele com lesões focais e escurecimento, nódulos, úlceras, necrose de nadadeiras, mutilações e, algumas vezes, exoftalmia. Macroscopicamente, os órgãos internos, como fígado, coração, baço e ovários, apresentavam lesões nodulares opacas ou translúcidas, que, em alguns casos, provocavam o aumento de volume do órgão. Histologicamente, havia formação de granulomas focais, isolados ou coalescentes, com centro necrótico e células epitelióides, sem formação de células gigantes e com melanócitos espalhados entre as células epitelióides ou próximo à cápsula de tecido conectivo. As bactérias apresentaram melhor crescimento a 25°C, em meio IUTM (International Union against Tuberculosis for the cultivation of *Mycobacterium tuberculosis*), Petragnani e Middlebrook 7H10 e, após testes específicos, foram identificadas como *M. marinum*.

Além dos sinais descritos por GIAVENNI *et al.* (1980), outros, como emaciação, perda de escamas, letargia, perda de coordenação, caquexia e deformação do corpo, são apontados como sinais que caracterizam a micobacteriose (CONROY, 1970; ROSS, 1970; DULIN, 1979; MAJEED e GOPINATH, 1983; CHINABUT; LIMSUWAN; CHANRATCHAKOOL, 1990; BRAGG; HUCHZERMEYER; HANISCH, 1990; STOSKOPF, 1993; LANSDEL *et al.*, 1993; GÓMEZ *et al.* 1993; NOGA, 1996).

Flavobacterium provoca lesões granulomatosas em peixes, denominadas pseudotuberculose (KLUGE, 1965; BULLOK; CONROY; SNIEZKO, 1971). MAJEED; GOPINATH; JOLLY (1981) descreveram os aspectos morfológicos da pseudotuberculose e da tuberculose em peixes, através de exames histopatológicos que revelaram a presença de tubérculos com, apenas, histiócitos e células epitelióides, envolvidos por uma cápsula fibrosa, e sem área central necrótica, os quais foram denominados granulomas duros. Os tubérculos com área central necrótica, rodeada por histiócitos, células epitelióides e tecido fibroso envolvendo a lesão, foram denominados granulomas moles. Os granulomas duros e moles presentes em alguns peixes, com detecção de bacilos álcool-ácido-resistentes, evidenciados pela coloração de Ziehl-Neelsen, caracterizaram a micobacteriose. Outros animais apresentaram apenas o granuloma do tipo mole, sem

a presença bacilos álcool-ácido-resistentes, mas de bacilos Gram negativos, indicando um quadro compatível com infecções por *Flavobacterium* sp.

Para entender a patogenicidade das micobactérias atípicas, MEISSNER (1981) avaliou a utilização de modelo animal no estudo das infecções por elas provocadas. Inicialmente acreditava-se que as micobactérias atípicas tivessem a patogenicidade diminuída nos animais de laboratório, sendo estes utilizados para diferenciá-las de *M. tuberculosis* e *M. bovis*. Com a evolução dos testes bioquímicos, a utilização de animais foi abandonada, sendo estes atualmente utilizados para outros fins, como o estudo da patogenia, da sensibilidade natural dos animais e o desenvolvimento de agentes quimioterápicos e vacinas.

BARTOS e SOMMER (1981) desenvolveram estudos demonstrando, em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) a reação de hipersensibilidade tardia em imunizações experimentais com *M. tuberculosis*.

Em 1983, MAJEED e GOPINATH descreveram a ocorrência de tuberculose cutânea em carpa, *Cyprinus carpio*, sem alterações macroscópicas nas vísceras. As lesões de pele observadas por estes autores foram similares às relatadas por DULIN (1979) e CONROY (1970). A ausência de lesões viscerais contraria os achados de MAJEED; GOPINATH; JOLLY (1981) e ROSS (1970). GIAVENNI *et al.* (1980) sugerem que as alterações nas manifestações da patogenia devem-se a diferenças nas espécies hospedeiras ou amostras das micobactérias envolvidas.

SAKANARI; REILLY; MOSER (1983) relataram, pela primeira vez, lesões tuberculosas em “striped bass” (*Morone saxatilis*) da costa do Pacífico dos Estados Unidos, com prevalência de 25 a 68% na Califórnia e 46% no Oregon. A bactéria não foi isolada, mas as lesões granulomatosas apresentavam centro necrótico, com bacilos álcool-ácido-resistentes e hemossiderina. A área central era envolvida por camadas de fibras colágenas e uma camada de células epitelióides. Os tubérculos antigos não apresentavam a camada epitelióide e consistiam de detritos na parte central e camadas concêntricas centrais. Essas características e o encontro de bacilos álcool-ácido-resistentes não filamentosos e não ramificados nas lesões permitiram aos autores diferenciá-los de *Nocardia* sp., suspeitando-se de *Mycobacterium* sp. Todavia, esta inferência não pode ser tomada como absoluta, uma vez que não foi possível a caracterização bacteriológica dos bacilos observados sob microscopia de luz comum.

Ainda em “striped bass” (*M. saxatilis*), HEDRICK; McDOWELL; GROFF (1987) observaram mortalidade

causada por *M. marinum* em peixes jovens criados intensivamente. A perda foi de aproximadamente metade do lote e, dentre os animais sobreviventes, 80% estavam infectados.

HATAI *et al.* (1988) inocularam *Mycobacterium* sp. em “peixe rei” (*Odontheistes bonariensis*), que apresentaram alterações clínicas, como natação no fundo do tanque, sentido de orientação alterado, flutuação, perda de coloração e morte. Nos peixes inoculados com suspensão bacteriana de 10 mg/mL, o desenvolvimento do granuloma foi mais rápido do que nos inoculados com 1 mg/mL. Os sinais clínicos foram similares aos observados por GIAVENNI *et al.* (1980) e VAN DUIN (1981) em peixes tropicais marinhos. Ao exame histopatológico, o granuloma focal típico observado era semelhante ao encontrado em “peixe rei” contaminado naturalmente, descrito por HATAI *et al.* (1993).

DAOUST; LARSON; JOHNSON (1989), estudando “yellow perch” (*Perca flavescens*) do lago Sandy (Alberta, Canadá), com lesões granulomatosas de pele, e do lago Wolfe (Alberta, Canadá), com peritonite granulomatosa severa acompanhada de hepatite, verificaram que, apesar da diferença de localização geográfica, tratava-se de infecção por *M. chelonae*, não se esclarecendo no entanto a origem da infecção. A natureza da reação inflamatória sugeriu a existência de imunodepressão em ambos os casos.

SHAMSUDIN *et al.* (1990) examinaram as características bioquímicas e fisiológicas do agente causador de micobacteriose em peixes ornamentais, “peixe dourado” (*Carassius auratus*) e “red eyed tetra” (*Moenkhausia sanctaefilomenae*) da Malásia. A bactéria isolada foi considerada semelhante a *M. chelonae* subespécies *chelonae* e *abcessus*, *M. parafortuitum* e *M. vaccae*, mas mostrou-se diferente em algumas características. Entre elas, a porcentagem de guanina-citosina no DNA (62,6% G-C), aliada a outras 65 provas, permitiu concluir que a bactéria isolada fosse *M. chelonae*, porém de uma provável nova subespécie.

O primeiro relato clínico patológico de micobacteriose em *Channa striatus*, espécie de peixe de respiração aérea, de alto valor econômico na Tailândia e Indonésia, foi realizado por CHINABUT; LIMSUNAN; CHANRATCHAKOOL (1990). Embora as lesões observadas tenham sido similares às produzidas por micobactéria, não foi obtido o isolamento de bacilos álcool-ácido-resistentes em meio Dorset's egg incubado a 25 – 30° C, durante sete a dez dias. Sendo o *Channa striatus* uma espécie predadora, que se alimenta de carcaças e restos de

peixes processados, a contaminação é atribuída a este tipo de alimentação, como já descrito por Ross (1970) em salmonídeos nos Estados Unidos.

Exemplares adultos de *Oreochromis mossambicus* (tilápia mossambica) criados em aquário e que apresentavam úlceras que não cicatrizavam e outros sinais clínicos de micobacteriose, foram estudados por NOGA; WRIGHT; PASSARELL (1990). Nesses animais, os autores observaram focos melanóticos na pele e baço, fato este nunca descrito na literatura referente à micobacteriose.

KAWAKAMI e KUSUDA (1990) estudaram a eficiência de medicamentos como a rifampicina, estreptomicina e eritromicina no tratamento de infecções induzidas experimentalmente com *Mycobacterium* sp., em “yellowtail” (*Seriola quinqueradiata*). Os resultados mostram que o total controle da micobacteriose em criações de “yellowtail” com as drogas testadas não é possível, mas a sobrevivência aumenta com a utilização de rifampicina.

LANSDELL *et al.* (1993) isolaram cinco espécies de *Mycobacterium* de peixes ornamentais de água doce, “acará” (*Cichlasoma bimaculatum*), “peixe dourado” (*Carassius auratus*), “fire mouth cichlid” (*Cichlasoma meeki*). Dentre as espécies isoladas, *Mycobacterium simiae* e *Mycobacterium scrofulaceum* ainda não haviam sido descritas em peixes.

GÓMES *et al.* (1993) desenvolveram estudos morfológicos das lesões provocadas pela tuberculose em peixes, utilizando técnicas histológicas e imunocitoquímicas. Observaram que a técnica imunocitoquímica foi eficaz na detecção de infecções, mesmo quando as colorações convencionais não atuavam ou detectavam apenas pequeno número de bacilos.

A imunohistoquímica é útil em patologia animal, pois permite detectar antígenos em tecidos fixados, principalmente de animais que adoecem em regiões afastadas dos laboratórios de diagnóstico. Esta técnica é eficiente para detectar organismos de difícil diagnóstico por isolamento. Assim, GÓMEZ *et al.* (1996) utilizaram anticorpos policlonais contra *M. bovis* e contra *M. paratuberculosis* e anticorpos monoclonais contra *M. avium* e constataram a validade da técnica da imunohistoquímica para diagnóstico de micobacteriose de peixes em espécimens fixados em formalina.

MCCORMICK; HUGHES; MCLOUGHLIN (1995), identificaram *M. chelonae* em “oscar” (*Astronotus ocellatus*), pela técnica da Reação em Cadeia pela

Polimerase (PCR), concluindo que esta técnica é capaz de identificar correta e rapidamente bactérias álcool-ácido-resistentes isoladas de ciclídeos, podendo ser utilizada diretamente no tecido colhido, dispensando o cultivo da bactéria, facilitando o diagnóstico e, assim, rapidamente indicar tratamentos apropriados desta infecção em animais e humanos.

A fim de conhecer o curso das infecções causadas por micobactérias, TALAAT *et al.* (1997) notaram que *M. marinum* inoculado experimentalmente em peixes da espécie *Carassius auratus*, em concentrações de 10^9 e 10^8 u.f.c. por animal, provocou doenças agudas, com morte dos espécimens em 17 dias. Em inoculações com 10^7 u.f.c., a doença seguiu um curso crônico, havendo declínio na recuperação de bactérias 8 semanas após a inoculação, atribuindo-se esta queda à imunidade sistêmica. Entretanto ISHIKAWA (1998) observou que inoculações de 10^9 u.f.c. de *M. marinum* em tilápia do Nilo (*O. niloticus*) não provocaram morte no decorrer dos 86 dias de experimento.

As micobactérias têm despertado grande interesse, pois fazem parte de um grupo de bactérias emergentes, que causam danos nos humanos principalmente devido aos processos imuno-depressivos. Assim, TALAAT *et al.* (1998) utilizaram o peixe dourado (*Carassius auratus*) como modelo animal para o estudo da patogenia de *M. marinum*. Esses autores observaram que a histopatologia dos granulomas caseosos nos peixes dourados é similar à observada em humanos imunocompetentes infectados com *M. tuberculosis*. Nos modelos utilizando camundongos inoculados com *M. tuberculosis*, os granulomas apresentaram menor caseificação. Assim, concluíram que o peixe é um modelo conveniente, pois permite a utilização de uma bactéria que, além de ter um crescimento mais rápido, pode ser manuseada em laboratórios de biossegurança menos sofisticados do que os utilizados em estudos com *M. tuberculosis*.

Ainda, no estudo da patogenia das micobactérias, SOUZA (1998) desenvolveu um modelo experimental com *M. marinum* ATCC 927, através do qual pode-se observar a adesão e a invasão desta bactéria, utilizando técnica de “immunogold silver staining” (IGSS), associada à coloração de Ziehl-Neelsen em células Hep-2 e microscopia eletrônica.

Micobacteriose de peixes em humanos

Em humanos, *M. marinum* pode causar lesões cutâneas (GIAVENNI *et al.*, 1980; LANSDELL *et al.*, 1993), denominadas granuloma de piscina (JOLLY e

SEABURY, 1972; MEISSNER, 1981; SAKANARI; REILLY; MOSER, 1983; THOEN e SCHLISSER, 1984; COLLINS *et al.*, 1985; WOLINSKY, 1992).

A micobacteriose humana é conhecida desde 1886, quando Richl e Poltauf relataram uma forma de tuberculose cutânea, denominando-a “tuberculosis cutis verrucosa” (COLLINS *et al.*, 1985). O primeiro estudo relacionando micobactérias, infecções cutâneas em humanos e o meio ambiente foi realizado por LINELL e NORDEN (1954), que isolaram o *M. marinum* de lesões de pele e da água da piscina utilizada pelos pacientes. Estes autores realizaram uma autoinoculação e recuperaram a bactéria, confirmando o postulado de Koch. Este fato contribuiu para distinguir a tuberculose clássica da infecção por micobactérias oportunistas, comprovando a capacidade de sobrevivência destes microrganismos no meio ambiente, assim como aquela de invadir o hospedeiro como agente oportunista. Entretanto a micobacteriose humana não é regularmente transmitida por contato entre pessoas (ANRAKU, 1995).

Posteriormente, outras micobacterioses em humanos foram relatadas por MOLLOHAN e ROMER (1961); ZELIGMAN (1972); EVAN PAZ *et al.* (1976); LORIA (1976); COLLINS *et al.* (1985).

A ocorrência de micobacteriose em humanos geralmente está associada com alguma atividade aquática, como natação, pesca, navegação ou aquarismo (COLLINS *et al.*, 1985).

Várias outras formas de transmissão são descritas, a saber, manuseio de aquários ou tanques com peixes contaminados, mordidas de golfinho em cativeiro, ferimentos provocados por nadadeiras de peixes, manuseio de motor de barco e outras (COLLINS *et al.*, 1985; BRAGG; HUCHZERMAYER; HANISCH, 1990).

No estudo sobre micobacterioses em peixes tropicais marinhos, GIAVENNI *et al.* (1980) notaram que um funcionário, responsável pelo manejo dos peixes contaminados, desenvolveu lesões nodulares de pele.

Através dos dados de contaminações via aquário e atividades na indústria pesqueira, FALKINHAM III (1996) afirma que a água pode ser considerada como via de transmissão de *M. marinum* para o homem.

RAMAKRISHNAN *et al.* (1997), durante experimento com infecções experimentais em *Rana pipens*, propondo um novo modelo experimental para o estudo da patogenia deste grupo de microrganismos, relata o desenvolvimento de nódulo em mão de pesquisador que desenvolvia experimentos com *M. marinum*.

M. fortuitum também pode provocar lesões em seres humanos, havendo relatos de doenças

pulmonares causadas por ela (NIGRELLI e VOGEL, 1963). O isolamento desta micobactéria em várias espécies de peixes ornamentais na África do Sul é um dado importante, pois existe a possibilidade de infecções em humanos através do manuseio de aquários contaminados (BRAGG; HUCHZERMAYER; HANISCH, 1990).

IREDELL; WHITBY; BLACKLOCK (1992) fizeram um estudo da epidemiologia do *M. marinum* em Queensland, Austrália, no período de 1971 a 1990, com 29 pacientes, observando taxa de micobacteriose entre homens e mulheres de 3,1:1 e média de idade de 47,4 anos. Entre os primeiros sintomas e a consulta decorreram aproximadamente cinco meses, e foram gastos mais 4,4 meses para o diagnóstico. A cura foi aparente em 22 dos 23 casos, sendo que o tratamento medicamentoso com apenas um produto foi adequado em 11 pacientes. O tratamento com drogas associadas foi eficaz em 8 pacientes e o cirúrgico, em 3 pacientes. Concluíram também que exposições ocupacionais e recreativas em água doce ou salgada foram as causas mais comuns.

Micobacteriose em animais ectotérmicos no Brasil

No Brasil são poucos os trabalhos sobre a micobacteriose em animais ectotérmicos. Em anfíbios, MOK e CARVALHO (1984) descreveram a ocorrência de *M. chelonae* em anuros (*Bufo marinus* e *B. granulatus*) da região Amazônica. BARROS *et al.* (1988), MAGALHÃES *et al.* (1991) e MORAES *et al.* (1996) relatam surtos de micobacterioses em criações de rãs. SOUZA (1993), também estudando surtos de micobacterioses em criações de rãs, observou que 100% dos baços de rãs touro (*R. catesbeiana*) apresentavam lesões, seguidos pelo fígado (78,7%) e rim (62,3%). Em répteis, RAMOS (1997) estudou o processo inflamatório crônico induzido pela inoculação de *M. marinum* vivo e morto pelo calor. Nos peixes o interesse pelos estudos sobre micobacteriose é recente, encontrando-se apenas um trabalho sobre infecção experimental em tilápia, *O. niloticus*, realizado por ISHIKAWA (1998).

Conclusões

Este trabalho reúne informações sobre a micobacteriose, com o objetivo de auxiliar na melhor compreensão desta doença.

Ainda que existam vários trabalhos sobre a micobacteriose em peixes, pode-se notar que essa área ainda carece de estudos, levando-se em consideração o grande número de espécies de peixes.

Pode-se notar também que o conhecimento desta enfermidade é antigo e que, em relação aos trabalhos estrangeiros, as publicações nacionais são em número bastante reduzido, com início bem mais recente.

Desta forma, mais estudos deverão ser realizados, para prevenção desta doença e, conseqüentemente preservação da saúde do plantel aquícola assim como do homem.

Referências bibliográficas

- ABERNETHY, C. S. e LUND, J. E. 1978 Mycobacteriosis in mountain whitefish (*Prosopium williamsoni*) from the Yakima river, Washington. *Journal of Wildlife Diseases*, 14: 333–336.
- ANRAKU, M. M. 1995 *Estudo da cinética de infecção por Mycobacterium fortuitum isolados de humanos e de águas, utilizando como modelo experimental camundongos suíços*. São Paulo, SP. 90 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista.
- ARAKAWA, C. K. e FRYER, J. L. 1984 Lesions and characterization of new subspecies of *Mycobacterium chelonae* infectious of salmonid fish. *Helgolander Meeresuntersuchungen*, 37: 329-342.
- ARONSON, J. D. 1926 Spontaneous tuberculosis in salt water fish. *Journal of Infectious Diseases*, 39: 315-320.
- ASHBURNER, L. D. 1977 Mycobacteriosis in hatchery-confined chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum) in Australia. *Journal of Fish Biology*, 10: 523-528.
- BAKER, J. A.; HAGAN, W. A. 1942 Tuberculosis of the mexican platyfish (*Platyopocilus maculatus*). *Journal of Infectious Diseases*, 70: 248–252.
- BARROS, G. C.; LANGENEGGER, C. H.; LANGENEGGER, J.; PEIXOTO, P. V. 1988 Surto de micobacteriose em criação de rãs (*Rana catesbeiana*) causado por *Mycobacterium marinum*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 8 (3/4): 75-80.
- BARTOS, J. M. e SOMMER, C. V. 1981 *In vivo* cell mediated immune response to *M. tuberculosis* and *M. salmoniphilum* in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Developmental and Comparative Immunology*, 5: 75-83.
- BESSE, P. 1949 Epizootie à bacilles acido-résistants chez de poisson exotique. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 23: 151-154.
- BRAGG, R. R.; HUCHZERMEYER, H. F. A. K.; HANISCH, M. A. M. 1990 *Mycobacterium fortuitum* isolated from three species of fish in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 57: 101-102.
- BUCKE, D. 1980 A note on acid-alcohol-fast bacteria in mackerel *Scomber scombrus* L. *Journal of Fish Diseases*, 3: 173–175.
- BULLOK, G. L.; CONROY, D.; SNIEZKO, S. 1971 Mycobacterial, Nocardial, and Streptomyces Diseases. In: *Diseases of fishes*, Book 2 A, Jersey City: TFH Publication, 1971, p. 105 - 106.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS 1988 *Bacteriologia de la tuberculosis humana y animal*. Martínéz. 63 p. (Serie de monografias científicas y técnicas, 11).
- CHINABUT, S.; LIMSUWAN, C.; CHANRATCHAKOOL, P. 1990 Mycobacteriosis in the snakehead, *Channa striatus* (Fowler). *Journal of Fish Diseases*, 13:531– 535.
- CLARK, H. F.; SHEPARD, C. C. 1963 Effect of environmental temperature on infection with *Mycobacterium marinum* (Balnei) of mice and a number of poikilothermic species. *Journal of Bacteriology*, 86: 1057-1069.
- COLLINS, C. H.; GRANGE, J. M.; NOBLE, W. C.; YATES, M. D. 1985 *Mycobacterium marinum* infections in man. *Journal of Hygiene*, 94: 135 – 149.
- CONROY, D. A. 1970 Piscine tuberculosis in the sea water environment. In: SYMPOSIUM ON DISEASES OF FISHES AND SHELLFISHES (Ed. By S. F. Snieszko), *American Fisheries Society*, Special Publication, n. 5, p. 273 - 278.
- DAOUST, P. Y.; LARSON, B. E.; JOHNSON, G. R. 1989 Mycobacteriosis in yellow perch (*Perca flavescens*) from two lakes in Alberta. *Journal of Wildlife Diseases*, 25 (1): 31–37.
- DAVID, H. L.; JAHAN, M.; JUMIN, A.; GRANDY, J.; LEHMAN, E.H. 1978 Numerical taxonomic analysis of *Mycobacterium africanum*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 28: 412 - 472.
- DULIN, M. P. 1979 A review of tuberculosis (mycobacteriosis) in fish. *Veterinary Medicine/Small Animal Clinician*, 74: 731-735.
- DUNBAR, C. E.; HERMAN, R. L. 1971 Visceral granuloma in Brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *J. Nutr.*, 101: 1445-1451.

- EVAN PAZ, Z.; HASS, H.; SACKS, I.; ROSENMAN, E. 1976 *Mycobacterium marinum* skin infections mimicking leishmaniasis. *British Journal of Dermatology*, 94: 435-442.
- FALKINHAM III, J. O. 1996 Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 9 (2): 177-215.
- GIAVENNI, R.; FINAZZI, M.; POLI, G.; GRIMALDI, E. 1980 Tuberculosis in marine tropical fishes in an aquarium. *Journal of Wildlife Diseases*, 16 (2): 161-168.
- GÓMEZ, S.; BERNABÉ, A.; GÓMEZ, M.A.; NAVARRO, J.A.; SÁNCHEZ, J. 1993 Fish mycobacteriosis: morphopathological and immunocytochemical aspects. *Journal of Fish Diseases*, 16: 137-141.
- _____; NAVARRO, J. A.; GÓMEZ, M. A., SÁNCHEZ, J.; BERNABÉ, A. 1996 Comparative study of immunohistochemical methods to diagnose mycobacteriosis in swordtail *Xiphophorus helleri*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 24: 117-120.
- GOODFELLOW, M.; MAGEED, J. G. 1988 Taxonomy of mycobacteria. In: GANGADHARAM D.R.J.; JENKINS, P. A. *Mycobacteria: I basic aspects*. New York: Chapman & Hall, p. 1 - 71.
- _____; WEINE, L. G. 1982 Taxonomy and nomenclature. In: RATLEDGE, C.; STANFORD, J. *The biology of the mycobacteria*. London: Academic Press, v. 1, p. 471 -521.
- GRANGE, J. M. 1981 *Mycobacterium chelonae*. *Tubercle*, 62: 273-276.
- HATAI, K.; LAWHAVINIT, O.; KUBOTA, S. S.; TODA, K.; SUZUKI, N. 1988 Pathogenicity of *Mycobacterium* sp isolated from pejerrey, *Odontheistes bonariensis*. *Fish Pathology*, 23 (3): 155 - 159.
- _____; LAWHAVINIT, O.; TODA, K.; SUGOU, Y. 1993 *Mycobacterium* infection in pejerrey, *Odontheistes bonariensis* Cuvier & Valenciennes. *Journal of Fish Diseases*, 16: 394-402.
- HEDRICK, R.P.; MC DOWELL, T.; GROFF, J. 1987 Mycobacteriosis in cultured striped bass from California. *J. Wildlife Diseases*, 23 (3): 391-395.
- HINES, M. E.; KREEGER, J. M.; HERRON, A. J. 1995 Mycobacterial infections of animals: pathology and pathogenesis. *Laboratory Animal Science*, 45 (4): 334-351.
- INGLIS, V.; ROBERTS, R. J.; BROMAGE, N.R. 1993 *Bacterial diseases of fish*. Cambridge: The University Press. 312 p.
- IPPEN, R. 1964 Vergleichende pathologische untersuchungen über die spontane und experimentelle tuberkulose der kaltblüter. *Abhandlungen Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Klasse für Medizin*, 1: 1 - 90.
- IREDELL, J.; WHITBY, M.; BLACKLOCK, Z. 1992 *Mycobacterium marinum* infection: epidemiology and presentation in Queensland 1971 - 1990. *The Medical Journal of Australia*, 157 (2): 596-598.
- ISHIKAWA, C.M. 1998 *Quantificação bacteriana e avaliação das lesões em peixes da espécie Oreochromis niloticus (tilápia do Nilo) inoculados experimentalmente com Mycobacterium marinum ATCC 927*. São Paulo, SP. 59 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
- JOLLY, H. W.; SEABURY, J. H. 1972 Infections with *Mycobacterium marinum*. *Archives of Dermatology*, 106: 32 - 36.
- KARLSON, A. G. 1980 Género *Mycobacterium*. In: MERCHANT, I.A.; PACKER, R.A. *Bacteriologia y virologia veterinarias*. 3. ed. Zaragoza: Acribia, Louis: Mosby-Year Book, Inc., p. 156-158: Mycobacteriosis (Tuberculosis).
- KAWAKAMI, K.; KUSUDA, R. 1990 Efficacy of rifampicin, streptomycin and erythromycin against experimental mycobacterium infection in cultured yellowtail. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 56 (1): 51 - 53.
- KAZDA, J.F. 1983 The principles of the ecology of mycobacteria. In: RATLEDGE, C.; STANFORD, J. *The biology of the mycobacteria*. London: Academic Press, 2. p. 323 - 341.
- KLUGE, J. P. 1965 A granulomatous disease of fish produced by Flavobacteria. *Pathology Veterinarian*, 2: 545.
- KUBICA, G. P.; SILCOX, V. A.; HALL, E. 1973 Numerical taxonomic analysis of some slowly growing mycobacteria using hypothetical median strain pattern. *J. Gen. Microbiol.*, 74: 149 - 158.
- LANSDELL, W.; DIXON, B.; SMITH, N.; BENJAMIN, L. 1993 Isolation of several *Mycobacterium* species from fish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 5: 73 - 76.

- LEPPER, A. W. D.; CORNER, L. A. 1983 Naturally occurring mycobacterioses of animals. In: RATLEDGE, C.; STANFORD, J. *The biology of the mycobacteria*. London: Academic Press, 2. p. 417 - 521.
- LINELL, F. e NORDEN, A. 1954 *Mycobacterium balnei*. A new acid-fast bacillus occurring in swimming pools and capable of producing skin lesions in humans. *Acta Tuberculosea Scandinavica*, 33: 1 - 85.
- LORIA, P. R. 1976 Minocycline hydrochloride treatment for acid-fast infection. *Archives of Dermatology*, 112: 517 - 519.
- LUND, J. E. e ABERNETHY, C. S. 1978 Lesions of tuberculosis in mountain whitefish (*Prosopium williamsoni*). *Journal of Wildlife Diseases*, 14: 222 - 228.
- MAGALHÃES, H.; CARNEIRO, G. M.; PIRES, A. R.; MEDEIROS, M. I. M.; GONÇALVES, W. M.; SILVA, M. C.; FONSECA, L. S.; SANTIAGO, S. S. F.; MELLO, S.C.R.P. 1991 Micobacteriose em rãs-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw, 1802). *Revista de Microbiologia*, 22 (3): 204.
- MAJEED, S. K. e GOPINATH, C. 1983 Cutaneous tuberculosis in the carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, 6: 313 - 316.
- _____; _____; JOLLY, D.W. 1981 Pathology of spontaneous tuberculosis and pseudotuberculosis in fish. *Journal of Fish Diseases*, 4: 507 - 512.
- MATUSHIMA, E.R. 1994 *Avaliação do processo inflamatório crônico granulomatoso induzido experimentalmente através da inoculação de BCG em peixes da espécie Oreochromis niloticus - Tilápia-do-Nilo*. São Paulo. 110 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
- MCCORMICK, J. I.; HUGHES, M. S.; McLoughlin, M. F. 1995 Identification of *Mycobacterium chelonae* in a cichlid oscar, *Astronotus ocellatus* Cuvier, by direct cycle sequencing of polymerase chain reaction amplified 16S rRNA gene sequences. *Journal of Fish Diseases*, 18: 459 - 461.
- MEISSNER, G. 1981 The value of animal models for study of infection due to atypical mycobacteria. *Reviews of Infectious Diseases*, 3 (5): 953 - 959.
- _____; SCHRODER, K.H.; AMADIO, G.E.; ANZ, E.; CHAPARAS, S.; ENGEL, H.W.B.; JENKINS, P. A.; KAPPLER, W.; KLEEGER, H. H.; KUBALA, E.; KUBIN, M.; LAUTERBACH, D.; LIND, A.; MAGNUSSON, M.; MIKOYA, Z.D.; PATTYN, S. R.; SCAEFER, W.B.; STANFORD, J.L.; TSUKAMURA, M.; WAYNE, L.G.; WILLERS, L.; WOLINSKY, E. 1974 A cooperative numerical analysis of nonphotochromogenic slowly growing mycobacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 83: 207 - 235.
- MOK, W.Y. e CARVALHO, C.M. 1984 Ocurrence and experimental infection of Toads (*Bufo marinus* and *B. granulatus*) with *Mycobacterium chelonae* subsp. abscessus. *Journal of Medical Microbiology*, 18: 327 - 333.
- MOLLOHAN, C.S. e ROMER, M.S. 1961 Public health significance of swimming pool granuloma. *American Journal of Public Health*, 51: 883 - 891.
- MORAES, J.R.E; TORRES, H.A.; MARTINS, M.L; SOUZA, V.N.; MORAES, F.R. 1996 Tuberculose em *Rana catesbeiana* Shaw, 1802, em ranários comerciais diagnosticados pelo Centro de Aquicultura da UNESP. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 4, Pirassununga, Resumos.... p. 28.
- NIGRELLI, R.F. 1953 Two diseases of the Neon Tetra, *Hyphessobrycon innesi*. *Aquarium Journal*, San Francisco, 24: 203 - 208.
- _____; VOGEL, H. 1963 Spontaneous tuberculosis in fishes and other cold-blooded vertebrates with special reference to *Mycobacterium fortuitum* Cruz from fish and human lesions. *Zoologica: New York Zoological Society*, 48 (9): 131 - 144.
- NOGA, E. J. 1996 *Fish disease - Diagnosis and Treatment*. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc. p. 156 - 8: Mycobacteriosis (Tuberculosis).
- _____; WRIGHT, J.F.; PASSARELL, L. 1990 Some unusual features of mycobacterioses in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Comparative Pathology*, 102 (3): 335 - 344.
- PARISOT, T. J. 1958 Tuberculosis of fish. *Bacteriological reviews*, 22: 240-245.
- _____; WOOD, E.M. 1960 A comparative study of a mycobacterial disease of salmonid fishes (*Oncorhynchus tshawytscha*) and a comparison of the staining characteristics of the fish disease with leprosy and human tuberculosis. *American Review of Respiratory Diseases*, 82: 212 - 222.
- RAMAKRISHNAN, L.; VALDIVIA, R.H.; MCKERROW, J.H.; FALKOW, S. 1977 *Mycobacterium marinum* causes both long-term subclinical infection and acute disease in the leopard frog (*Rana pipiens*). *Infection and Immunity*, 65 (2): 767-773.

- RAMOS, M.C.C. 1997 *Avaliação de aspectos morfológicos, histoquímicos, imunohistoquímicos e ultra-estruturais do processo inflamatório crônico, induzido experimentalmente pela inoculação de Mycobacterium marinum vivo e morto pelo calor, em tartarugas tracajá Podocnemis unifilis, Troschel, 1848*. São Paulo, SP. 135 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- ROBERTS, R.J.; MCQUEEN, A.; SHEARER, W.M.; YOUNG, H. 1973 The histopathology of salmon tagging. I. The tagging lesion in newly tagged parr. *Journal of Fish Biology*, 5: 497 - 504.
- ROSS, A.J. 1960 *Mycobacterium salmoniphilum* sp. nov. from salmonid fishes. *American Review of Respiratory Diseases*, 81: 241-250.
- _____. 1970 Mycobacteriosis among Pacific salmonid fishes. In: SYMPOSIUM ON DISEASES OF FISHES AND SHELLFISHES, Washington D.C. *Special Publication*, n. 5. Washington D.C. (Ed. By S. F. Snieszko), American Fisheries Society, 1970, p. 279 - 283.
- _____. e BRANCATO, F.P. 1959 *Mycobacterium fortuitum* Cruz from the tropical fish *Hyphessobrycon innesi*. *Journal of Bacteriology*, 78: 392-395.
- SAITO, H.; GORDON, R.E.; JUHLIN, L.; KAPPLER, W.; KWAPINSKI, J.B.G.; MCDURMONT, C.; PATTYN, S.R.; RUNYON, E.H.; STANFORD, J.L.; YTARNOK, I.; TASAKA, H.; TSUKAMURA, M.; WEISZFEILER, J. 1977 Cooperative analysis of rapidly growing mycobacteria: The second report. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 27: 75 - 85.
- SAKANARI, J.A.; REILLY, C.A.; MOSER, M. 1983 Tubercular lesions in Pacific coast population of striped bass. *Transactions of the American Fisheries Society*, 112: 565-566.
- SHAMSUDIN, M.N.; TAJIMA, K.; KIMURA, T.; SHARIFF, M.; ANDERSON, I. G. 1990 Characterization of the causative organism of ornamental fish mycobacteriosis in Malaysia. *Fish Pathol.*, 25 (1): 1-6.
- SOUZA, C.W.O. 1993 *Ocorrência de Mycobacterium sp. em exemplares de Rana catesbeiana, Shaw, 1802, de alguns ranários comerciais do Estado de São Paulo, Brasil*. Florianópolis, SC. 83 p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina.
- _____. 1998 *Modelo experimental de aderência e invasão celular por Mycobacterium marinum*. São Paulo, SP. 56 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Bimédicas, Universidade de São Paulo.
- STOSKOPF, M.K. 1993 Bacterial diseases of freshwater tropical fishes. In: STOSKOPF, M.K. ed. *Fish medicine*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc. p. 559 - 563.
- TALAAAT, A.; DENG, Y.; REIMSCHUESSEL, R.; TRUCKSIS, M. 1997 *Mycobacterium marinum* and Goldfish, *Carassius auratus*, a model system for mycobacterial Pathogenesis. In: GENERAL MEETING, 97, Florida, 1997. *Abstracts...* Florida: American Society for Microbiology, p. 562.
- _____. ; _____.; WASSERMAN, S.S.; TRUCKSIS, M. 1998 Goldfish, *Carassius auratus*, a novel animal for the study of *Mycobacterium marinum* pathogenesis. *Infection and Immunity*, 66 (6): 2938-2942.
- THOEN, C. O. e SCHLIESSER, T. A. 1984 Mycobacterial infections in cold-blooded animal. In: KUBIKA, G. P.; WAYNE, L. G. *The Mycobacteria. A sourcebook*. New York: Marcel Dekker, Inc. p. 1297 - 311. (Microbiology Series B).
- TIMUR, G.; ROBERTS, R. J.; MCQUEEN, A. 1977 The experimental pathogenesis of focal tuberculosis in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Journal of Comparative Pathology*, 87: 83-87.
- TSUKAMURA, M. 1969 Identification of group II scotochromogens and group II nonphotochromogens mycobacteria. *Tubercle*, 50: 51-60.
- VAN DUIN, C. J. 1981 Tuberculosis in fishes. *Journal of Small Animal Practice*, 22: 391-411.
- VASCONCELLOS, S. A. 1979 Epidemiologia da tuberculose. *Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, 3 (1/2): 81 - 89.
- VESTAL, A. L. e KUBICA, G. P. 1967 Differential identification of mycobacteria. III. Use of thiocetazone, thiphen-2-carboxilic acid hidrazide and triphenyltetrazolium chloride. *Scandinavian Journal of Respiratory Diseases*, 48: 142 - 148.
- WADA, S.; HATAI, K.; TANAKA, E.; KITAHARA, T. 1993 Mixed infection of an acid-fast bacterium and an imperfect fungus in a napoleon fish (*Cheilinus undulatus*). *Journal of Wildlife Diseases*, 29 (4): 591 - 595.
- WAYNE, L. G.; DOUBEK, J. R.; RUSSEL, R. L. 1964 Classification and identification of mycobacteria. I. Tests employing tween 80 as substrate. *American Review of Respiratory Diseases*, 90: 588 - 597.

- WAYNE, L.G.; GOOD, R.C.; KRICHEVSKY, M.I.; DAVID, H.L.; DAWSON, D.; GROSS, W.; HAWKINS, J.; JENKINS, P.A.; JUHLIN, I.; KAPPLER, W.; KLEEGERG, H.H.; LÈVY-FREBAUT, V.; MCDURMONT, C.; NEL, E.E.; PORTAELS, F.; RUSCH-GERDES, S.; SCHRODER, K.H.; SILCOX, V.A.; SZABO, I.; TSUKAMURA, M.; VAN DEN BREEN, L.; VERGANANN, B.; YANKRUS, M.A. 1989 Third report of the cooperative open-ended study of slowly growing mycobacteria by the international working group on mycobacterial taxonomy. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39: 267 - 278.
- _____ e KUBICA, G. P. 1986 Mycobacteria. In: SNEATH, P.H.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E.; HOLT, J.G. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 8. Ed. Baltimore: Willians & Wilkins, v. 2. p. 1435 - 57.
- WILLET, H.P. 1988 Mycobacterium. In: JOKLICK, W.K.; WILLET, H.P.; AMOS, D.B.; WILFERT, C.M. *Zinsser microbiology*. 19 ed. Connecticut: Apleton e Lange. p. 423 - 48.
- WOLINSKY, E. 1992 Mycobacterial diseases other than tuberculosis. *Clinical Infectious Diseases*, 15: 1 - 12.
- _____ 1979 Nontuberculous mycobacteria and associated diseases. *American Review of Respiratory Diseases*, 119: 107 -59.
- WOLKE, R. E. e STROUD, R. K. 1978 Piscine mycobacteriosis. In: MONTALI, R. J. *Mycobacterial infections of zoo animals*. Washington: Smithsonian Institution Press: p. 269 – 75.
- WOOD, E. M.; YASUTAKE, W. T.; LEHMAN, W. L. 1956 A mycosis-like granuloma of fish. *Journal of Infectious Disease*, 97: 262 - 267.
- ZELIGMAN, I. 1972 *Mycobacterium marinum* granuloma. A disease acquired in the tributaries of Chesapeake bay. *Archives of Dermatology*, 106: 26 – 31.