

## INOCULAÇÃO DE SUSPENSÃO BACTERIANA DE *Plesiomonas shigelloides* EM JUNDIÁ, *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI: PIMELODIDAE)<sup>1</sup>

### INOCULATION OF BACTERIAL SUSPENSION OF *Plesiomonas shigelloides* IN JUNDIÁ, *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI: PIMELODIDAE)

Cheila de Lima Boijink<sup>2</sup> Deodoro Atlante Brandão<sup>3</sup> Agueda Castagna de Vargas<sup>4</sup>  
Mateus MatiuZZi da Costa<sup>5</sup> Andreia Vilella Renosto<sup>5</sup>

#### RESUMO

Com o crescimento da aquicultura mundial e intensificação da criação de peixes, os animais ficam sujeitos às enfermidades bacterianas e outras. Com o objetivo de avaliar a patogenicidade da *Plesiomonas shigelloides* para jundiás (*Rhamdia quelen*), diferentes concentrações bacterianas ( $3 \times 10^8$  e  $9 \times 10^8$  UFC – Unidade Formadora de Colônia/ml) foram inoculadas por via intraperitoneal. Foram utilizados 84 jundiás juvenis com peso e comprimento médios de  $24,37 \pm 4,28$ g e  $14,42 \pm 1,62$ cm, respectivamente. Os animais inoculados foram mantidos durante 21 dias, em caixas d'água de amianto, em condições semelhantes de temperatura, pH, alcalinidade e dureza. Os jundiás foram sacrificados a cada dois dias para contagem de UFC/ml de tecido renal. Por observações diárias, constatou-se que a inoculação intraperitoneal de *Plesiomonas shigelloides* não ocasionou nenhuma alteração nos jundiás, independente da concentração inoculada. As contagens das bactérias nos rins dos jundiás mantiveram-se entre  $10^5$  e  $10^6$  UFC/ml até o 21º dia, quando o experimento foi finalizado.

**Palavras-chave:** *Rhamdia quelen*, *Plesiomonas shigelloides*, peixe, inoculação.

#### SUMMARY

As worldwide aquaculture has grown, and intensification in fish raising, the animals are subject to bacterial diseases and others. With the aim of evaluating pathogenicity of *Plesiomonas shigelloides* for "jundiá" (*Rhamdia quelen*), different bacterial concentrations ( $3 \times 10^8$  e  $9 \times 10^8$  CFU –

Colony Former Unit/ml) were inoculated via peritoneum. Eighty four juvenile "jundiá" averaging  $24.37 \pm 4.28$ g of weight and  $14.42 \pm 1.62$ cm of length were utilized. The inoculated animals were maintained for 21 days, in asbestos water tanks, at similar temperature, pH, alkalinity and hardness conditions. The "jundiás" were slaughtered every other day for counting UFC/ml renal tissue. For daily inspections, it was observed that intraperitoneal inoculation of *Plesiomonas shigelloides* did not cause any change in the catfishes, regardless inoculated concentration. Bacteria counting in "jundiás" kidneys was maintained between  $10^5$  and  $10^6$  UFC/ml until the 21<sup>st</sup> day, when the experiment was ended.

**Key words:** *Rhamdia quelen*, *Plesiomonas shigelloides*, fish, inoculation.

#### INTRODUÇÃO

A produção mundial de peixes cultivados tem apresentado crescimento rápido nas últimas décadas (KINKELIN *et al.*, 1985). Segundo RADÜNZ NETO (1981), o jundiá (*Rhamdia sp.*), peixe nativo de boa aceitação pelo mercado consumidor e boa produtividade em açudes, tornou-se ótima opção para o fomento em piscicultura. Paralelamente ao desenvolvimento da piscicultura e da criação intensiva, diversos problemas são observa-

<sup>1</sup>Projeto financiado pela CAPES.

<sup>2</sup>Biólogo, Aluno do curso de Mestrado em Zootecnia, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

<sup>3</sup>Biólogo, PhD, Professor Titular do Departamento de Zootecnia, CCR, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS. E-mail: dabrandão@pro.viars.com.br. Autor para correspondência.

<sup>4</sup>Médico Veterinário, MSc, Professor Assistente do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM.

<sup>5</sup>Acadêmico do curso de Medicina Veterinária, UFSM, bolsista CNPq/PIBIC.

dos, entre eles, a crescente incidência de enfermidades infecciosas nos peixes (KINKELIN *et al.*, 1985). As bactérias são os microrganismos de maior potencial patogênico no cultivo intensivo de peixes (POST, 1987; THUNE *et al.*, 1993). Conforme POST (1987), as doenças infecto-contagiosas podem determinar índices elevados de mortalidade, podendo em certos casos alcançar 100%. Segundo LINHARES & GEWANDSZNAJDER (1983), as bactérias são encontradas nos mais variados ambientes e algumas podem ocasionar enfermidades no homem e animais. No ambiente aquático, diversas bactérias fazem parte da flora normal da água, sendo consideradas como patógenos oportunistas, visto que provocam infecções nos peixes, somente quando estes se encontram em condições desfavoráveis (BARJA & ESTEVES, 1988). Na criação intensiva, as enfermidades bacterianas ocorrem devido a fatores como superpopulação, variação brusca da temperatura, baixo nível de oxigênio dissolvido na água, elevação do dióxido de carbono, decomposição da matéria orgânica, manejo e transporte inadequados. (WALTERS & PLUMB, 1980).

SHAMA *et al.* (2000), ao avaliar a ocorrência de bactérias com potencial patogênico em jundiás criados em tanques, encontraram com maior frequência a bactéria *Plesiomonas shigelloides*. Esse microrganismo é normalmente encontrado na água, no organismo de peixes e aves, principalmente nas regiões de clima tropical e subtropical (HERNANDES & GARCIA, 1997), sendo causa de intoxicações alimentares em humanos (CARTER & CHENGAPPA, 1991). Em peixes, causa fraqueza, lesões avermelhadas na superfície corporal, exsudação amarelada no ânus, petéquias na cavidade peritoneal e necroses hepáticas (MACHADO CRUZ *et al.*, 1986).

Tendo em vista a expansão da piscicultura, a boa aceitação comercial do jundiá e o alto risco de infecções por bactérias patogênicas nesses animais, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da inoculação intraperitoneal de suspensões de *P. shigelloides* em jundiá (*R. quelen*).

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e no Laboratório de Ictiopatologia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Para

cumprir os objetivos propostos, foram utilizados 84 jundiás, *Rhamdia quelen*, com peso médio de  $24,37 \pm 4,28$ g e comprimento médio de  $14,42 \pm 1,62$ cm, sendo provenientes de criatório da região de Não-me-Toque, RS. Os animais foram divididos em seis grupos de 14 peixes e cada grupo foi mantido isoladamente durante 21 dias em caixas de cimento amianto com capacidade de 250 litros, abastecidas com água de poço artesiano. Os parâmetros aquáticos foram: temperatura ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ), oxigênio ( $7,0 \pm 2,8$ mg/l), amônia total ( $0,8 \pm 0,2$ mg/l), pH ( $7,5 \pm 0,6$ ), alcalinidade ( $28 \pm 2$ mg/l) e dureza ( $36 \pm 2$ mg/l). Para alimentação dos jundiás, foi utilizada ração comercial, contendo 42% de proteína bruta, na proporção de 3% do peso vivo, três vezes ao dia.

O inóculo foi preparado pela cultura, em ágar sangue, de isolado de *Plesiomonas shigelloides* obtido de jundiá. As colônias foram suspensas em solução salina estéril, sendo a turvação ajustada segundo a escala 1 ( $3 \times 10^8$ UFC/ml) e 2 ( $9 \times 10^8$ UFC/ml) de MacFarland (VANDEPITTE *et al.*, 1993). Os jundiás foram inoculados com as duas concentrações (tratamentos) de *P. shigelloides* (T1:  $9 \times 10^8$  UFC/ml e T2:  $3 \times 10^8$ UFC/ml), sendo T3 o grupo controle, no qual os animais receberam apenas solução salina estéril (T3: solução salina). No T1 e T2, foram utilizados 28 peixes para cada tratamento, dos quais 24 inoculados com suspensão bacteriana e quatro inoculados com solução salina. Esses últimos serviram como sentinelas (marcados) para verificar a contaminação por *P. shigelloides* provenientes dos peixes inoculados com essa bactéria. No T3, foram utilizados 28 peixes inoculados com solução salina. Cada jundiá, foi inoculado com 1ml da respectiva suspensão, por via intraperitoneal, entre a nadadeira ventral e anal.

A água do fundo das caixas foi sifonada diariamente. Nessa oportunidade, foram verificadas possíveis alterações comportamentais e morfológicas, bem como a morbidade e mortalidade ocasionada pela *P. shigelloides*. Semanalmente, foram realizadas a cultura e a identificação de bactérias presentes na água das caixas segundo método de BARJA & ESTEVES (1988). Após 24 horas de inoculação um jundiá de uma das repetições do T1, T2 e T3 foi sacrificado a cada dois dias, durante sete dias para determinação do "clearance" bacteriano pelos peixes. Os sentinelas inoculados com salina do T1, T2 e T3 foram sacrificados a cada três dias, a partir do 11º dia para observar a contaminação des-

ses animais por *P. shigelloides*. Ao final de 21 dias, os peixes foram novamente pesados e medidos.

As contagens bacterianas foram feitas com 100µl da amostra do rim ou da água das caixas, coletada com alça calibrada, colocada em 900µl de solução salina e realizadas diluições decimais até 10<sup>8</sup>, com o auxílio de micropipeta e semeadas em meio Ágar Padrão de Contagem (PCA), incubada a 27°C, por 48 horas para posterior contagem de cada UFC/ml (BERGEY & HOLT, 1994). Essas amostras, também, foram semeadas em ágar sangue (AS) para confirmação da presença de *P. shigelloides*. Os dados obtidos foram analisados pelo pacote estatístico SAS (SAS, 1995). Para o experimento, foram realizados a análise de variância e o teste T com nível de significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os jundiás inoculados com *P. shigelloides* não apresentaram alterações comportamentais ou morfológicas. As contagens bacterianas, realizadas nos jundiás durante a primeira semana após inoculação (Tabela 1), demonstraram aumento do número de bactérias presentes no tecido renal (T1 e T2), embora não ultrapassando 10<sup>6</sup> UFC/ml. No T3, a quantidade de bactérias permaneceu inalterada em relação a contagens realizadas nos peixes antes da inoculação (aproximadamente 10<sup>3</sup> UFC/mL). O aumento da quantidade de bactérias nos rins dos jundiás, sem o desenvolvimento de manifestações clínicas e patológicas nestes, reflete a ausência de patogenicidade da bactéria, quando inoculada

isoladamente e por via intraperitoneal. Outros pesquisadores, como MARTINS & MACHADO (1994), aplicaram por via intramuscular uma suspensão de 3,0 x 10<sup>8</sup> células/ml de *Flavobacterium columnare* e obtiveram como resultado mortalidade em 24 horas. SANTOS *et al.* (1991), através da inoculação intraperitoneal de 10<sup>2</sup> a 10<sup>8</sup> células de *Aeromonas hydrophila*, comprovaram a virulência deste microrganismo para diferentes espécies de peixe. PRIETRO *et al.* (1993) demonstraram a virulência de *A. hydrophila* para alevinos de *Oreochromis aureus*.

Existem poucos relatos na literatura consultada a respeito da inoculação de *P. shigelloides* em peixes. BOIJINK *et al.* (1999), ao inocular *P. shigelloides* por via intramuscular em jundiás mantidos em caixas contendo *Aeromonas sp.*, verificaram que a associação das duas bactérias provocam lesões nesses animais. MACHADO CRUZ *et al.* (1986) descreveram surto de *P. shigelloides* em truta arco-íris, sendo os níveis de mortalidade estimados em 40% e as manifestações apresentadas pelos animais foram fraqueza, lesões avermelhadas na superfície do corpo, exsudação amarelada no ânus, petéquias na cavidade peritoneal e focos necróticos no fígado. Segundo os autores, esse surto ocorreu em decorrência de alterações na qualidade da água, como elevação da temperatura e aumento dos níveis de matéria orgânica, o que poderia explicar alguns dos sinais apresentados pelos animais. Nenhuma das alterações descritas anteriormente foram encontradas no presente trabalho, talvez devido a não interferência de fatores do meio como estresse provocado por condições ambientais desfavoráveis.

Conforme SHAMA *et al.* (2000), o jundiá pode ser portador de bactérias descritas como patogênicas, tais como *P. shigelloides*, *Aeromonas sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia ruckeri*, *Vibrio sp.*, *Micrococcus sp.* e *Acinetobacter sp.* *Pasteurella sp.* Esses

Tabela 1 - Unidades formadoras de colônia/ml e gêneros bacterianos isolados do tecido renal de jundiás (*Rhamdia quelen*) na primeira semana após a inoculação com *Plesiomonas shigelloides* (T1 e T2) e solução salina estéril (T3).

Dias após a inoculação	9 x 10 <sup>8</sup> UFC/ml (T1)	3 x 10 <sup>8</sup> UFC/ml (T2)	Solução salina (T3)
1	6,64 x 10 <sup>5a</sup>	1,30 x 10 <sup>5b</sup>	1,60 x 10 <sup>3c</sup>
3	1,25 x 10 <sup>6a</sup>	2,53 x 10 <sup>5b</sup>	1,05 x 10 <sup>3c</sup>
5	1,52 x 10 <sup>6a</sup>	5,42 x 10 <sup>5b</sup>	1,01 x 10 <sup>3c</sup>
7	2,12 x 10 <sup>6a</sup>	5,05 x 10 <sup>5b</sup>	1,03 x 10 <sup>3c</sup>
Bactérias isoladas	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i>

<sup>a, b, c</sup> Médias nas linhas, seguidas de letras desiguais, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

dados são semelhantes aos encontrados nos jundiás utilizados neste experimento dos quais foram isoladas *P. shigelloides*, *A. hydrophila*, *Acinetobacter sp.* e *Pseudomonas sp.* Esses microrganismos apareceram na água somente após o povoamento com peixes, uma vez que ela não apresentou nenhum crescimento bacteriano prévio; isso sugere que a contaminação da água teve origem dos animais inoculados (Tabelas 1 e 3). Na água dos peixes controles, a *P. shigelloides* não foi isolada, talvez, pelo fato de estarem em menor quantidade em relação aos peixes inoculados e pelo fato da qualidade da água ser mantida em boas condições.

A diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) na quantidade de UFC/ml de tecido renal, no decorrer da primeira semana experimental, entre tratamentos se deve às diferentes quantidades de bactérias inoculadas (Tabela 1). No Japão, ARAI *et al.* (1980) isolaram e identificaram *P. shigelloides* em amostras ambientais e em peixes de água doce.

O isolamento e a diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre a contagem bacteriana nos animais sentinelas inoculados com solução salina, a partir do 11º dia no T1, T2 e T3 (Tabela 2), comprovam a contaminação dos mesmos por bactérias presentes nos peixes inoculados com *P. shigelloides*. Isso, demonstra que as secreções dos peixes influenciam a microbiota aquática. SUGITA *et al.* (1993) observa-

Tabela 3 - Identificação das bactérias encontradas na água dos tanques dos jundiás (*Rhamdia quelen*) inoculados com *Plesiomonas shigelloides* (T1 e T2) e solução salina estéril (T3).

Dias	Água T1	Água T2	Água T3
7	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i>
14	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i>
21	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i>

ram que, em amostras de água de tanques, a *P. shigelloides* foi isolada com alta frequência (80 a 100%) nos intestinos dos peixes. Os mesmos autores realizaram um levantamento da ocorrência de *P. shigelloides* em diversos tipos de peixes e água dos respectivos tanques. Como resultado encontraram  $2 \times 10^2$  UFC/ml detectados a partir de 29 espécies de peixes e  $2 \times 10^1$  UFC/ml de *P. shigelloides* nas amostras de água.

Verificou-se, ainda, perda de peso nos animais inoculados com *P. shigelloides*. Contudo, não foi significativa a 5%, o que pode ter ocorrido devido ao período reduzido do experimento, que não permitiu análise conclusiva a respeito desses parâmetros.

PLUMB (1994) relata que peixes contaminados por bactérias apresentam perda de peso. Essa redução pode ocorrer devido ao estresse dos animais infectados, que interfere no seu crescimento (WALTERS & PLUMB, 1980). O ganho não significativo dos peixes controles sugere que a redução no peso dos jundiás inoculados poderia ter sido ocasionada pela infecção por *P. shigelloides*.

Tabela 2 - Unidades formadoras de colônia/ml de tecido renal dos sentinelas inoculados com solução salina, a partir do 11º dia após inoculação, e identificação dos gêneros bacterianos isolados.

Dia após a inoculação	Sentinela (T1)	Sentinela (T2)	Sentinela (T3)
11	$1,52 \times 10^6$ <sup>a</sup>	$3,57 \times 10^5$ <sup>b</sup>	$1,19 \times 10^3$ <sup>c</sup>
14	$1,12 \times 10^6$ <sup>a</sup>	$2,05 \times 10^5$ <sup>b</sup>	$1,15 \times 10^3$ <sup>c</sup>
17	$8,38 \times 10^5$ <sup>a</sup>	$1,43 \times 10^5$ <sup>b</sup>	$1,09 \times 10^3$ <sup>c</sup>
20	$1,05 \times 10^6$ <sup>a</sup>	$2,21 \times 10^5$ <sup>b</sup>	$1,13 \times 10^3$ <sup>c</sup>
Bactérias isoladas	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i>

<sup>a, b, c</sup> Médias nas linhas, seguidas de letras desiguais, diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tabela 4 - Peso e comprimento médios de jundiás inoculados com *Plesiomonas shigelloides* (T1 e T2) e solução salina estéril (T3).

	T1	T2	T3
Peso inicial (g)	24,16 <sup>a</sup>	26,65 <sup>a</sup>	24,80 <sup>a</sup>
Peso final (g)	22,42 <sup>a</sup>	24,40 <sup>a</sup>	26,42 <sup>a</sup>
Comprimento inicial (cm)	13,79 <sup>a</sup>	14,41 <sup>a</sup>	13,85 <sup>a</sup>
Comprimento final (cm)	14,15 <sup>a</sup>	14,73 <sup>a</sup>	14,62 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Médias seguidas por letras iguais na linha não apresentaram diferença significativas pelo teste de Tukey (P > 0,05).

## CONCLUSÕES

Os resultados permitem inferir que, nas condições em que foi realizado este experimento, a *Plesiomonas shigelloides* não é patogênica para juvenis de jundiás *Rhamdia quelen*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAI, T., IKEJIME, N., IOTH, T., *et al.* A survey of *Plesiomonas shigelloides* from aquatic environmental, domestic animals, pets and humans. **Camb**, v.84, p.203-211, 1980.
- BARJA, J.L. ESTEVES, A. T. Enfermidades bacterianas. In: **Patologia acuícultura**. Espanha : Caicyt, 1988. 550p.
- BERGEY, D.H., HOLT, J.G. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Baltimore, Maryland, USA : Copyright, 1994. p.254-255.
- BOIJINK, C.L., COSTA, M.M., VARGAS, A.C., *et al.* Efeito da inoculação de suspensão bacteriana de *Plesiomonas shigelloides* e da presença de *Aeromonas hydrophila* na água de cultivo de jundiá (*Rhamdia quelen*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre : Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999. p.318.
- CARTER, G.R., CHENGAPPA, M.M. **Essentials of veterinary bacteriology and mycology**. 4ed. Philadelphia : Lea & Febiger, 1991. 248p.
- HERNANDES, P., GARCIA, R.R. Prevalence of *Plesiomonas shigelloides* in surface water. **Arch Latinoam Nutr**, v.47, n.1, p.47-49, 1997.
- KINKELIN, P., MICHEL, C.H., GHITTINO, P. **Tratado de las enfermedades de los peces**. Zaragoza : Acribia, 1985. 353p.
- LINHARES, S. V., GEWANDSZNAJDER, F. **Biologia**. São Paulo: Ática, 1983. 448p.
- MACHADO CRUZ, J., SARAIVA, A., EIRAS, J.C., *et al.* An outbreak of *Plesiomonas shigelloides* in farmed rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson, in Portugal. **Bull Eur Ass Fish Pathol**, v.6, p.20, 1986.
- MARTINS, M.L., MACHADO, J.O. Inoculação experimental de suspensão bacteriana e fúngica em alevinos de carpa, *Cyprinus carpio*, LINNAEUS, 1758. **Ars Veterinária**, v.10, n.1, p.65-69, 1994.
- PLUMB, J.A. **Health maintenance of cultured fishes: Principal microbial diseases**. USA: CRC, 1994. 254p.
- POST, G. **Textbook of fish health**. New York : T.F.H., 1987. 228p.
- PRIETRO, A., RODRÍGUEZ, M.C., GARCÍA, M.T., *et al.* Sensibilidade de líneas seleccionadas de *Oreochromis aureus* a bacterias patogenas. **Red Acuicultura Boletín**, v.7, n.2, p.1821, 1993.
- RADÚNZ NETO, J. **Desenvolvimento de técnicas de reprodução e manejo de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Santa Maria-RS, 1981. 77p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 1981.
- SANTOS, Y., BANDÍN, I., NIETO, T.P., *et al.* Cell-surface-associated properties of fish pathogenic bacteria. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.3, p.297-301, 1991.
- SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM) Institute, SAS / STAT. **User's guide: statistics**. 4 ed., Cary, North Caroline : versão 6.08, 1995. 846p.
- SHAMA, S., BRANDÃO, D.A., VARGAS, A.C., *et al.* Ocorrência de bactérias com potencial patogênico em jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados em sistema semi-intensivo. **Ciência Rural**, v.30, n.2, p.293-298, 2000.
- SUGITA, H., NAKAMURA, T., DEGUSHI, Y. Identification of *Plesiomonas shigelloides* isolated from fresh water fish with the microplate hybridization method. **Journal of Food Protection**, v.56, p.949-953, 1993.
- THUNE, R.L., STANLEY, L.A., COOPER, R.K. Pathogenesis of gram-negative bacterial infections in warm water fish. **Annual Rev of Fish Diseases**, v.3, p.37-68, 1993.
- VANDEPITTE, J., ENGBAEK, K., PIOT, P. *et al.* **Métodos básicos de laboratório em bacteriologia clínica**. Genebra: Organização Mundial de Saúde, 1993. 122p.
- WALTERS, G. R., PLUMB, J.A. Environmental stress and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. **Journal of Fish Biology**, v.17, p.177-185, 1980.