

Identificação bioquímica de bactérias patogênicas isoladas de peixes ornamentais no estado do Amazonas

Biochemical identification of pathogenic bacteria isolates of ornamental fish in the state of Amazon

CARVALHO, Eliane^{1*}; BELÉM-COSTA, Andréa²; PORTO, Jorge Ivan Rebelo³

¹Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Manaus, Amazonas, Brasil.

²Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Parasitologia, Manaus, Amazonas, Brasil.

³Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Núcleo de Apoio à Pesquisa no Pará, Santarém, Pará, Brasil.

*Endereço para correspondência: elianekrvalho@hotmail.com

RESUMO

Os peixes ornamentais da Amazônia são exportados em larga escala para os maiores centros de distribuição e venda de peixes ornamentais do mundo localizados nos EUA, Japão e Alemanha e pelo menos oito espécies destacam-se na aquariofilia. Estas espécies são coletadas no médio e alto rio Negro, no município de Barcelos, no Estado do Amazonas, que responde por cerca de 70% das exportações de peixes ornamentais do Brasil e gera lucros anuais de mais de 6 milhões de dólares. Devido ao intenso comércio de peixes ornamentais na região, importadores de peixes do Amazonas questionaram a sanidade dos animais frente a microrganismos, com destaque para bactérias e vírus causadores de enfermidades. As doenças bacterianas e virais podem ocorrer em todas as espécies de peixes mantidas sob condições de exploração, causando perdas econômicas significativas. Neste trabalho objetivou-se, verificar a ocorrência de bactérias potencialmente patogênicas em peixes ornamentais comercializados e exportados do estado do Amazonas. A caracterização bioquímica de bactérias isoladas em cinco espécies de peixes ornamentais permitiu indicar que os isolados pertencem a espécies de quatro gêneros (*Staphylococcus*, *Nocardia*, *Acinetobacter* e *Lactococcus*), cujos gêneros bacterianos englobam importantes patógenos causadores de mortalidades em peixes marinhos e de água doce. Embora a biodiversidade Amazônica seja grande, poucos são os trabalhos para investigar essa complexidade, principalmente relacionados à presença de bactérias causadoras de patologias em peixes

ornamentais. Os resultados obtidos demonstram ocorrência de bactérias patogênicas ou com potencial patogênico atuando em diferentes espécies de peixes ornamentais comercializados e exportados do estado do Amazonas.

Palavras-chave: Amazônia, sanidade, patologias

SUMMARY

Ornamental fish in the Amazon are largely exported to the major centers of distribution and sale of ornamental fish in the world, located in the USA, Japan and Germany and at least eight species stand out as major. These species are collected in the medium and upper Rio Negro, in the municipality of Barcelos, in the state of Amazonas, which accounts for about 70% of exports of ornamental fish from Brazil and generating annual revenues of more than 6 million dollars. Because of the intense ornamental fish trade in the region, importers of fish from the Amazon have questioned the sanity of these animals about microorganisms, especially bacteria and viruses that cause disease in these animals. Bacterial and viral diseases can occur in all species of fish maintained under conditions of exploitation causing significant economic losses. Our goal was to verify the occurrence of potentially pathogenic bacteria in ornamental fishes exported from the state of Amazonas. Biochemical characterization of bacterial isolates from five species of ornamental fish allowed the identification of genus (*Staphylococcus*, *Nocardia*, *Acinetobacter* and *Lactococcus*), with important bacterial species

causing mortalities in marine and freshwater fish. While Amazon has great biodiversity, there are few studies to investigate this complexity, mainly related to the presence of pathogens causing bacterial diseases on ornamental fish. The results demonstrate the occurrence of pathogenical bacteria or with pathogenic potential in different species of ornamental fish traded from the state of Amazonas.

Keywords: Amazon, health, pathogenesis

INTRODUÇÃO

O rio Amazonas apresenta a maior bacia hidrográfica do mundo (FILIZOLA, et al., 2006). Esta região neotropical, que abrange as Américas Central e do Sul, possui a maior diversidade de peixes de água doce do mundo, com aproximadamente 6.000 espécies (REIS et al., 2003). Na região Amazônica ocorre uma complexa diversidade de espécies das quais pelo menos 400 espécies são comercializadas como peixes ornamentais, (CHAO, 1998).

No rio Negro, um afluente do rio Amazonas, foram registradas 800 espécies de peixes e aproximadamente 70 espécies são exploradas como ornamentais (CHAO et al., 2001). A espécie alvo da aquariofilia, o cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi*, representa entre 76 a 89% do total de peixes exportados por ano no Estado do Amazonas de um total de mais de 20 milhões de peixes vivos exportados anualmente da Amazônia para países como EUA, Japão e da Europa (CHAO et al., 2001).

O município de Barcelos, no Estado do Amazonas, destaca-se como o principal posto de comércio exportando 28 milhões de peixes/ano, o que gera uma renda de 6 milhões de dólares anualmente (TAVARES-DIAS et al., 2009), contribuindo com mais de 60% da renda do referido município (CHAO et al., 2001) e estima-se que cerca de

70% dos peixes exportados do Estado do Amazonas vêm desta região do rio Negro.

As principais espécies comercializadas como ornamentais são pequenos Characiformes, cujos representantes mais conhecidos são o cardinal tetra (*P. axelrodi*), rosáceo (*Hyphessobrycon erythrostigma*), neon verde (*Paracheirodon simulans*), rodóstomo (*Hemigrammus bleheri*), borboleta (*Carnegiella strigata*) e peixe-lápis (*Nannostomus* spp.), segundo Chao et al. (2001), Anjos et al. (2007) e Tavares-Dias et al. (2009).

Comumente associada a patologias em peixes, as manifestações de doenças causadas por bactérias geram altas taxas de mortalidade, tanto em peixes da natureza, quanto em peixes de cultivo e são uma restrição à produção da aquicultura e ao comércio afetando o desenvolvimento do setor (VERSCHUERE et al., 2000). A correta caracterização e identificação da causa de enfermidades e patógenos permite a definição de métodos de controle e profilaxia, uma vez que muitas enfermidades e seus processos mórbidos não foram ainda estudados (COSTA, 2004).

Com base nos resultados de análises bioquímicas para identificação microbiana, este trabalho teve por objetivo, verificar a ocorrência de bactérias potencialmente patogênicas em peixes ornamentais exportados do estado do Amazonas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados bacterianos utilizados neste estudo foram cedidos da Coleção de Culturas de Bactérias Patogênicas de Peixes da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil, onde estavam armazenados. As

amostras microbiológicas foram isoladas a partir do fígado de cinco espécies de peixes ornamentais, capturados no ano de 2007, ano que ocorreu um intenso período de seca causando a morte de muitas espécies ornamentais em igarapés do município de Barcelos no Amazonas (00° 58' 30'' S 62° 55' 26'' W), localizado a mais de 400 quilômetros da capital Manaus. Seis amostras bacterianas de peixes ornamentais (Tabela 1) estocadas em palhetas plásticas contendo caldo de crescimento, extrato de levedura e suplementado com glicerol 10% e mantidas a temperatura de -4°C, foram

reativadas por semeadura em caldo nutriente e mantidos para crescimento microbiano em estufa bacteriológica durante 24 horas com temperatura de 30°C. Após a observação do crescimento bacteriano, foi realizada a purificação das amostras por meio de semeadura por esgotamento, em placas de Petri contendo ágar nutriente. Foram realizados 18 testes bioquímicos (Tabela 2) para a identificação dos isolados bacterianos e os resultados obtidos foram comparados com as tabelas para testes bioquímicos propostas por Frerichs & Millar (1993) e Holt et al. (1994).

Tabela 1. Isolados bacterianos de peixes ornamentais utilizados para identificação fenotípica

Isolados bacterianos (PPUFAM*)	Espécie de peixe	Local da coleta	Ano
PPUFAM 149	<i>N. eques</i> (peixe- lápis)	Igarapé Daraquá/Barcelos-AM	2007
PPUFAM 154	<i>P.axelrodi</i> (cardinal)	Barcelos-AM	2007
PPUFAM 162	<i>P.axelrodi</i> (cardinal)	Rio Cuiunini/Barcelos-AM	2007
PPUFAM 167	<i>C. strigata</i> (peixe-borboleta)	Barcelos-AM	2007
PPUFAM 200	<i>H. erythrostroma</i> (rosáceo)	Barcelos-AM	2007
PPUFAM 210	<i>H. bleheri</i> (rodóstomo)	Igarapé Daraquá/Barcelos-AM	2007

*PPUFAM = Patologia de Peixes-Universidade Federal do Amazonas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos seis isolados bacterianos estudados, foi possível identificar quatro isolados com morfologia celular de cocos Gram-positivos, um bacilo Gram-positivo e um bacilo Gram-negativo. As características bioquímicas permitiram caracterizar os isolados como *Staphylococcus*, *Nocardia*, *Acinetobacter* e *Lactococcus*, como demonstrado na Tabela 2.

A identificação de *Staphylococcus* foi baseada na observação das características bioquímicas e morfológicas dos isolados. As chaves taxonômicas para identificação microbiana determinam que todas as espécies do gênero *Staphylococcus* são

bactérias não móveis. Nos resultados obtidos nas amostras PPUFAM 149, PPUFAM 200 e PPUFAM 210, foi possível determinar que as amostras bacterianas possuíam a morfologia celular de cocos Gram-positivos, não móveis, com reações catalase positiva e oxidase negativa, sem ocorrência da produção de H₂S, indol e gás. Os resultados obtidos neste trabalho foram similares com outros relatos já descritos para o gênero *Staphylococcus*. Porém, apesar de características similares a *Staphylococcus*, não foi possível determinar a identificação microbiana a nível de espécies já descritas para este gênero, devido aos distintos resultados nas reações bioquímicas do metabolismo de

glicose, produção de urease e reação em citrato de Simons, pois foram evidentes as semelhanças dos resultados obtidos para cada amostra PPUFAM 149, PPUFAM 200 e PPUFAM 210 com pelo menos duas espécies do gênero *Staphylococcus*. Assim, devido aos processos metabólicos observados, as amostras foram tentativamente

identificadas como *Staphylococcus* sp., não se descartando a hipótese de serem subespécies ou mesmo espécies ainda não descritas do gênero *Staphylococcus*, haja vista que os resultados observados foram semelhantes aos já descritos para as espécies *S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. warneri*.

Tabela 2. Testes bioquímicos realizados nos isolados bacterianos de peixes ornamentais

Testes	Amostras PPUFAM					
	149	154	162	167	200	210
Forma celular	Coco	Bacilo	Bacilo	Coco	Coco	Coco
Coloração de Gram	+	+	-	+	+	+
KOH 40%	-	-	+	-	-	-
Oxidase	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	-	+	+
Oxidação	+	+	+	+	+	+
Fermentação	+	-	-	-	+	+
Motilidade	-	+	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-	-
Gás	-	-	-	-	-	-
Glucose	+	+	-	+	+	+
Urease	-	+	-	+	+	+
Mcconkey	-	-	+ FL	-	-	-
Citrato	+	-	-	+	-	+
Arabinose	+	-	-	-	+	-
Dulcitol	-	-	-	-	-	-
Inositol	+	-	-	-	-	-
Rafinose	+	-	-	-	+	+
Trealose	+	+	-	+	+	+
Bactérias	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>Nocardia</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Lactococcus</i> sp.	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>Staphylococcus</i> sp.

FL = fermentação de lactose = coloração rosa em teste McConkey.

Os primeiros relatos de infecções causadas por este gênero datam dos anos de 1982 e 1983, quando ocorreram mortalidades em cultivos de carpa prateada, *Hypophthalmichthys molitrix*, na Índia. Essas mortalidades foram associadas com doença ocular e verificou-se que a doença era causada por cocos Gram-positivos identificadas como *Staphylococcus aureus* (AUSTIN & AUSTIN, 2007). *Staphylococcus*

aureus, é uma bactéria que realiza fermentação a partir de glicose e é catalase positiva. Similar com os resultados obtidos nas amostras PPUFAM 149, PPUFAM 200 e PPUFAM 210.

Segundo Austin & Austin (2007), outras bactérias do gênero *Staphylococcus* também causam patogenias em peixes, como a espécie *S. epidermidis*. Os únicos relatos sobre esta espécie,

causando patogenias em peixes, foi no Japão, onde ocorreram nos anos de 1976 e 1977 graves epizootias por essa bactéria. As principais características que descrevem esta espécie, incluem: bactérias fermentativas, catalase positiva e produtoras de β -galactosidase e fosfatase, mas que não realizam coagulase, nem produzem H_2S , indol, lisina ou oxidase. São bactérias produtoras de urease, mas que não degradam amido nem citrato de sódio, frutose, galactose, inulina, maltose, ribose, manose, sacarose ou trealose. Em contraste, nenhum ácido é produzido aerobicamente ou anaerobicamente a partir de lactose, rafinose, ramnose, xilose ou xilitol (HUANG et al., 1999; AUSTIN & AUSTIN, 2007). Os resultados para os testes de catalase, urease, H_2S , indol e lactose de PPUFAM 200 e PPUFAM 210, foram similares a espécie *S. epidermidis*, porém o metabolismo de glicose em rafinose e trealose foi distinto desta espécie. Em PPUFAM 200 e PPUFAM 210 observou-se reações positivas na produção de ácido a partir destes compostos.

Os resultados observados em PPUFAM 200 e 210 também foram similares com os processos metabólicos descritos para espécie *S. warneri*, principalmente na produção de urease, catalase e ácido a partir de trealose. No entanto produzem lactose e ácido a partir de rafinose, ao contrário do metabolismo descrito para *S. warneri*. Sabe-se que as bactérias da espécie *S. warneri* são anaeróbias facultativas, catalase-positivas, oxidase-negativas que produzem arginina dihidrolase, β -glicosidase e urease, mas não alcalinizam fosfatase e não reduzem nitratos. Produzem ácido a partir de sacarose e trealose, mas não de L-arabinose, lactose, manitol, manose, rafinose, ribose ou xilose (AUSTIN & AUSTIN, 2007).

Os resultados obtidos no diagnóstico metabólico e morfológico de PPUFAM 167, indicam que foram similares com descrições para espécies do gênero *Lactococcus*, sendo determinada a espécie *Lactococcus* sp. As características, morfológica e de coloração, como observado na Tabela 2, foram de cocos Gram-positivos, não móveis, com reações positivas para citrato, urease, glucose e trealose. Porém, sem produção de catalase, oxidase, lactose e gás, não ocorrendo também o processo de fermentação. Estas características bioquímicas foram similares com as características descritas na literatura para a espécie *Lactococcus garvie*, porém mais testes são necessários para tal confirmação.

Estudos taxonômicos indicam que pelo menos seis espécies diferentes de bactérias cocos Gram-positivos estão associadas a doenças em peixes e as principais espécies são: *Streptococcus parauberis*, *Streptococcus iniae*, *Streptococcus difficile*, *Lactococcus piscium*, *Vagococcus salmoninarum*, e *Lactococcus garvieae* (ELDAR et al., 1999). Os processos de septicemia causados por cocos Gram-positivos foram descritos pela primeira vez no final da década de 50 no Japão em produções intensivas de truta arco-íris. (VENDRELL et al., 2006).

Alguns patógenos são bem adaptados a um determinado hospedeiro e *L. garvieae* é um dos principais cocos Gram-positivo patogênico para peixes. É considerado um problema sério no cultivo de peixes marinhos e de água doce, como o “yellowtail” (truta amarela, charuto, amberjack japonês), *Seriola quinqueradiata*, no Japão e a truta arco-íris, *Onchorynchus mykiss*, na Europa e Austrália (ELDAR et al., 1999).

Anteriormente denominado *Enterococcus seriolicida*, a bactéria *L.*

garvieae é uma bactéria não móvel, anaeróbia facultativa com morfologia de cocos Gram-positivos em curtas cadeias e que não produzem catalase, H₂S, indol ou oxidase. Produz ácido a partir de uma ampla gama de carboidratos, incluindo D-frutose, galactose, trealose, mas não produz ácido a partir de adonitol, arabinose, glicerol e rafinose (AUSTIN & AUSTIN, 2007). Estas características são similares aos resultados observados para PPUFAM 167. Sabe-se que esta espécie infecta viveiros de peixes principalmente durante o verão, quando a temperatura da água é superior a 20°C (TSAI et al., 2013). A ocorrência de patogenias em águas com temperaturas muito altas sugere uma possível ocorrência desta ou outra espécie do gênero *Lactococcus*, causando mortalidades em peixes ornamentais amazônicos, principalmente pela ocorrência da seca Amazônica no período de coleta das amostras deste estudo.

No Brasil, a primeira identificação e caracterização de *L. garvieae*, foi feita por Evans & Shoemaker em 2009, em isolados de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* e pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (EVANS & SHOEMAKER, 2009). Cepas de *L. garvieae* também já foram isoladas de seres humanos e de camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii*, em Taiwan. Todos esses fatos indicam a importância crescente de *L. garvieae* (TSAI et al., 2013). O diagnóstico para *L. garvieae*, com base em provas bioquímicas e características antigênicas são incertas para diferenciar *L. garvieae* de *L. lactis* isoladas de peixes doentes. O teste de clindamicina e ensaios de PCR são os únicos testes capazes de diferenciá-los definitivamente (ELDAR et al., 1999). Por isto, acreditamos que testes moleculares para confirmação da espécie neste gênero podem auxiliar na melhor caracterização

de PPUFAM 167. As características bioquímicas observadas em PPUFAM 154 indicam que é uma bactéria Gram-positiva em forma de bacilo e em análise microscópica observou-se que os bacilos formavam de hastes de ramificação. Não produz ácido a partir de arabinose, dulcitol, inositol e rafinose, produzindo somente a partir de trealose, não metaboliza citrato, não produz gás ou H₂S. Os resultados observados em PPUFAM 154 foram compatíveis com descrições de bactérias do gênero *Nocardia*. De acordo com as características propostas por Inglis et al. (1993) e Austin & Austin (2007), o gênero *Nocardia* inclui espécies de bactérias Gram-positivas, embora a reação Gram-positiva seja fraca, são bactérias aeróbias, que formam hastes de ramificação. Com isto, a espécie de PPUFAM 154 foi definida como *Nocardia* sp.

Cocos e bastonetes Gram-positivos têm recebido grande atenção dos microbiologistas de peixes, principalmente por causa da gravidade das doenças comumente causadas por representantes patogênicos. Há nove gêneros importantes causadores de patogenias em peixes. São eles *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Planococcus*, *Rhodococcus*, *Renibacterium* e *Staphylococcus* (AUSTIN & AUSTIN, 2007). Apesar de PPUFAM 154 possuir padrões fenotípicos similares ao gênero *Nocardia*, mais análises devem ser realizadas para confirmação da espécie.

De acordo com Inglis et al. (1993) e Austin & Austin (2007), o primeiro relato de infecção por *Nocardia*, em peixes tropicais de água doce foi feito por Valdez & Conroy em 1963, isoladas a partir do neon (*Paracheirodon innesi*), também peixe ornamental amazônico, assim como *C. strigata*, espécie da qual a amostra PPUFAM 154 foi isolada.

A espécie *Nocardia* sp. é comumente encontrada na água e no solo de viveiros e a via de infecção por esse patógeno não é conhecida, mas é possível que os peixes sejam infectados diretamente no ambiente natural, causando grandes problemas de mortalidade tanto em peixes de água doce quanto marinhos. Alimentos e peixes contaminados podem atuar como fonte de infecção e os primeiros sinais de infecção incluem anorexia, inatividade, descoloração da pele e emagrecimento (INGLIS et al., 1993; AUSTIN & AUSTIN 2007).

As características observadas na amostra PPUFAM 162, foram compatíveis com descrições encontradas na literatura de bactérias do gênero *Acinetobacter*. Este isolado apresentou-se como um bacilo Gram-negativo, aeróbio, que não produz ácido a partir de arabinose, dulcitol, inositol, rafinose ou trealose, é lactose, catalase e oxidase positiva e também não produz H₂S, indol, urease e citrato. Através das observações das reações bioquímicas de PPUFAM 162, a espécie bacteriana foi definida como *Acinetobacter* sp. De acordo com Austin & Austin (2007), *Acinetobacter* sp. é uma bactéria classificada como catalase e oxidase positiva, não produtora de H₂S, indol, urease ou citrato de sódio, produz ácido a partir de galactose, maltose e manose, mas não produz de arabinose, adonitol, glucose, inositol ou xilose, características observadas em PPUFAM 162.

O gênero *Acinetobacter* compreende um grupo de bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos, amplamente distribuídos na natureza (ZHAN et al., 2011). É caracterizada por causar infecções e destruição dos ovos de peixes (SHAMA et al., 2000). Embora esta espécie não seja considerada importante patógeno em aquicultura, tem sido descrita na contaminação de

camarões e desenvolvimento de doenças em seres humanos (ANDRADE et al., 2010). A ocorrência deste gênero bacteriano, causando patogenias em peixes ornamentais amazônicos, é descrita pela primeira vez neste trabalho.

Os estudos com diagnóstico de doenças em peixes, principalmente na Amazônia, são incipientes e de maneira geral sabe-se que os maiores patógenos envolvidos em doenças de peixes no Brasil são: *Flavobacterium* spp., *Yersinia* spp., *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Edwardsiella* spp. e *Streptococcus* spp. (COSTA, 2004).

Em peixes selvagens capturados, dentre estes, peixes ornamentais amazônicos, diversas doenças bacterianas foram diagnosticadas em todas as espécies mantidas sob diferentes condições de exploração. Os principais patógenos bacterianos encontrados pertenciam as famílias Cytophagacea, Vibrionacea e Mycobacteriaceae (FERRAZ, 1999).

Embora a biodiversidade Amazônica seja relativamente grande, poucos são os trabalhos para investigar essa complexidade, principalmente de bactérias causadoras de patogenias em peixes, as quais são consideradas causas de intensas perdas econômicas no comércio de peixes em muitos países, uma vez que espécies dos gêneros bacterianos encontrados neste trabalho, já são descritas como patógenos de peixes marinhos e de água doce. Porém, estudos moleculares complementares são de fundamental importância para corroborar os resultados obtidos. Acreditamos que há uma grande possibilidade de risco do transporte de patógenos entre diferentes regiões geográficas devido ao intenso comércio exportador na área de aquariofilia entre o Brasil, com destaque para o estado do Amazonas, e diversos países principalmente da Ásia e Europa.

Os resultados demonstram a ocorrência de bactérias patogênicas ou com potencial patogênico atuando em diferentes espécies de peixes ornamentais comercializados e exportados a partir do estado do Amazonas.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, N.P.C.; FILHO, F.M.; CARRERA, M.V.; SILVA, L.J.E.; FRANCO, I.; COSTA, M.M. Microbiota bacteriana do *Macrobrachium amazonicum* do rio São Francisco. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.3, p.176-180, 2010.

ANJOS, H.D.B.; SIQUEIRA, J.A.; AMORIM, R.M.S. Comércio de peixes ornamentais do Estado do Amazonas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ictiologia**, v.87, p.4-5, 2007.

AUSTIN, B.; AUSTIN, A. **Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish**. Ellis Horwood: Chichester, 2007. p.196-224.

BROWN, L. **Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine**. New York: Pergamon Press, 1993. 447p.

CHAO, N.L. A draft of Brazilian freshwater fishes for the hobby - a proposal to IBAMA. **Ornamental Fish International Journal**, v.23, p.11-19, 1998.

CHAO, N.L.; PETRY, P.; PRANG, G.; SONNESCHIEN, L.; TLUSTY, M. **Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro basin, Amazonia, Brazil - Project Piaba**. Manaus: Universidade Federal da Amazônia, 2001. 301p.

COSTA, A.B.; Estratégias para o estudo de bactérias potencialmente patogênicas na piscicultura. IN: CYRINO, J.E.; URBINATI, E.C.; FRACOLOSSI, D.M.; CASTOGNOLI, N. (Eds). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. p.387-403.

ELDAR, A.; GORIA, M.; GHITTINO, M.; ZLOTKIN, AMIR. Biodiversity of *Lactococcus garvieae* strains isolated from fish in Europe, Asia, and Australia. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.3, p.1005-1008. 1999.

EVANS, J.J.; KLESIUS, P.H.; SHOEMAKER, C.A. First isolation and characterization of *Lactococcus garvieae* from Brazilian Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and pintado, *Pseudoplathystoma corruscans* (Spix & Agassiz). **Journal of Fish Diseases**, v.32, p.943-951, 2009.

FERRAZ, E. Management and diseases of the ornamental fish exported from the Rio Negro basin. In: VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. (Eds). **Biology of tropical fishes**. INPA: Manaus, 1999. p. 99-111.

FILIZOLA, N.; SILVA, A.V. da; SANTOS, A.M.C. dos; OLIVEIRA, M.A. Cheias e secas na Amazônia: breve abordagem de um contraste na maior bacia hidrográfica do globo. **T&C Amazônia**, v.4, n.9. p.42-49, 2006.

FRERICHS, G.N.; MILLAR, S.D.; **Manual for the Isolation & Identification of fish bacterial pathogens**. Stirling: Pisces Press, 2003, 60p.

HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATHM, P.H.A., STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. **Bergey's manual of determinative**

bacteriology. 9.ed. Baltimore, MD: Williams and Williams, 1994. 787p.

HUANG, S.L.C.; SHEI, M.C.; CHEN, S.N. Studies on Epizootiology and Pathogenicity of *Staphylococcus epidermidis* in Tilapia (*Oreochromis* spp.) Cultured in Taiwan. **Zoological Studies**, p.38, p.178-188, 1999.

INGLIS, V.; ROBERTS, R.J.; BROMAGE, N.R. **Bacterial Diseases of Fish**. Boston: Blackwell Science, 1993. 312p.

REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS JUNIOR, C.J. (Orgs.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. 742p.

SHAMA, S.D.A.B.; VARGAS, A.C.; COSTA, M.M.; PEDROZO, A.F. Bactérias com potencial patogênico nos rins e lesões externas de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados em sistema semi-intensivo. **Ciência Rural**, v.30, p.293-298, 2000.

TAVARES-DIAS, M.; LEMOS, J.R.G.; MARTINS, L.; JERÔNIMO, G.T. Metazoan and protozoan parasites of freshwater ornamental fish from Brazil. In Tavares-Dias. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. 723p.

TSAI, M.A.; WANG, P.C.; YOSHIDA, T.; LIAW, L.L.; CHEN, S.C. Development of a sensitive and specific LAMP PCR assay for detection of fish pathogen *Lactococcus garvieae*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.102, p.225-235, 2013.

VENDRELL, D.; BALCAZAR, J.L.; RUIZ-ZARZUELA, I.; BLAS, I.D.; GIRONES, O.; MÚZQUIZ, J.L. *Lactococcus garvieae* in fish: a review.

Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases, v.29, p.177-198, 2006.

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.64, p.655-671, 2000.

ZHAN, Y.; YAN, Y.; ZHANG, W.; ZHANG, H.; CHEN, M.; LU, W.; PING, S.; PENG, Z.; YUAN, M.; ZHOU, Z.; ELMERICH, C.; LIN, M. Genome Sequence of *Acinetobacter calcoaceticus* PHEA-2, Isolated from Industry Wastewater. **Journal of Bacteriology**, v.193, n.10, p.2672-2673, 2011.

Data de recebimento: 14/11/2013

Data de aprovação: 27/02/2015