

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/03/2017.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**SEPSE AGUDA POR *Aeromonas hydrophila* EM *Piaractus mesopotamicus*: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E
MICROBIOLÓGICAS**

**Fausto de Almeida Marinho Neto
Médico Veterinário**

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

SEPSE AGUDA POR *Aeromonas hydrophila* EM *Piaractus mesopotamicus*: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E MICROBIOLÓGICAS

Fausto de Almeida Marinho Neto

Orientadora: Profa. Dra. Julieta Rodini Engrácia de Moraes

Coorientadores: Prof. Dr. Flávio Ruas de Moraes

Dr. Gustavo da Silva Claudiano

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área de Patologia Animal.

Marinho-Neto, Fausto de Almeida
M338s Sepse aguda por *Aeromonas hydrophila* em *Piaractus mesopotamicus* : características morfológicas e microbiológicas / Fausto de Almeida Marinho Neto. – – Jaboticabal, 2016
ix, 45 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Julieta Rodini Engrácia de Moraes
Coorientadores: Flávio Ruas de Moraes, Gustavo da Silva
Claudio
Banca examinadora: Rogério Salvador, Laura Satiko Okada
Nakaghi
Bibliografia

1. Aeromonose. 2. Fase aguda. 3. Histopatologia. 4. Microbiologia.
5. Pacu. 6. Septicemia. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:639.3.09

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
e-mail: netoalmarinho@hotmail.com

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Fausto de Almeida Marinho Neto, filho de Vanderli Prael Marinho e José Mário de Melo Marinho, nasceu em 17 de outubro de 1991 em Ourinhos, São Paulo. Ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP, onde se graduou em julho de 2014. Durante a graduação foi bolsista pela Fundação Araucária por três anos e desenvolveu projetos de Iniciação Científica na área de Microbiologia e Imunopatologia de peixes, sob a orientação da Prof. Dr. Rogério Salvador. Em agosto de 2014, ingressou no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (mestrado), área de concentração Patologia Animal no Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/Unesp – Jaboticabal, sob a orientação da Profa. Dra. Julieta Rodini Engrácia de Moraes, concluindo-o em outubro de 2016.

*“O pessimista olha para baixo e tropeça.
O otimista olha para cima e bate a cabeça.
O realista olha para frente e reajusta seu caminho.”*

Ezekiel – The Walking Dead

DEDICO

Ao meu tio Fausto Luís de Melo Marinho (*in memoriam*) que esteve sempre pronto para ajudar a todos. Médico competente, dedicado e atencioso. Obrigado por todos os socorros nas horas mais difíceis e por sempre me receber com aquele abraço acolhedor que só você sabia dar. Estará sempre em meu coração. Te amo!

AGRADECIMENTOS

À força maior que nos rege e move de maneira tão perfeita que nada deixa de acontecer sem que esteja predeterminado.

Aos meus pais, José Mário de Melo Marinho e Vanderli Prela Marinho, por todo o apoio, incentivo e amor. Aos meus irmãos, Juliane Prela Marinho e José Mário de Melo Marinho Junior, pela compreensão e conselhos. Ao meu avô, Fausto de Almeida Marinho, por ser meu exemplo e entender a distância durante esse tempo. Também a todos meus parentes que tanto me incentivaram e se orgulharam de onde cheguei. Amo todos vocês!

À Prof. Dra. Julieta Rodini Engrácia de Moraes por me proporcionar conhecimentos e oportunidades que me fizeram crescer pessoal e profissionalmente. Não só abriu as portas de seu laboratório como também de sua casa, sou e sempre serei muito grato por toda devoção e tempo dispendido em minha orientação. Muito obrigado pela confiança depositada em mim!

Ao meu coorientador Prof. Dr. Flávio Ruas de Moraes por sua alegria, disposição e prontidão em ajudar. Obrigado por todos os ensinamentos e risadas.

Ao meu também coorientador Dr. Gustavo da Silva Claudiano, que dividiu comigo a possibilidade de trabalhar nesse projeto, já que o presente trabalho é uma parte de sua tese de doutorado. Muito obrigado pelos ótimos momentos de aprendizagem, companheirismo, trabalho em equipe e amizade.

Aos meus amigos e colegas de equipe, os quais tive contato nesse tempo de mestrado: Paulo, Jefferson, Victor Alexander, Marina, Thalita, Thiago, Silas, Dayanne, Lygia, Isabela.

Aos amigos que fiz nessa jornada que tive em Jaboticabal e com certeza levarei para o resto de minha vida: Branca, Ana Cláudia, Victor Yunes, Nathan Cruz, Mayara Gonçalves, Jéssica Lage, Paulo Henrique (Pê), Maria Eduarda (Duda), Andresa, Marcela, Danilo Almeida, Rafael Peterossi, Gisele Valdetaro, Mayara Luzzi e tantos outros. Vocês todos são muito especiais fazem parte das minhas maiores conquistas nessa etapa da vida.

À minha amiga-irmã, Karina Kobashigawa (Tcháina), que entrou na minha vida só para acrescentar maravilhas. Obrigado por todos os momentos juntos, por

todas as conversas da vida, por todas as gordices, por não medir esforços em me fazer bem. Essa conexão inexplicável que temos estreitará qualquer distância.

Aos meus bons e velhos amigos de todas as épocas e lugares que estiveram presentes nessa etapa e torceram para que tudo desse certo.

Ao Rogério Salvador pela amizade e incentivo em seguir nessa área.

Aos membros das bancas de pré-qualificação, qualificação e defesa pelas sugestões e ensinamentos.

Aos técnicos do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV, Edgar, Theo, Francisca e às secretárias Moema e Mabel, pela simpatia e disposição para ajudar.

Aos animais utilizados nesse experimento, sem eles nada disso teria se concretizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos no período de setembro de 2014 a abril de 2015.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – Campus Jaboticabal, em especial ao programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária pela oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pela concessão da bolsa (Edital/Processo: 2015/01024-6) e fomento à pesquisa com o auxílio 2015/14289-8, além de todo suporte para realização deste trabalho.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para que a elaboração desta dissertação fosse possível.

SUMÁRIO

Página

	CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	iii
	RESUMO	iv
	ABSTRACT	v
	LISTA DE ABREVIATURAS	vi
	LISTA DE FIGURAS	vii
1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1	<i>Piscicultura</i>	2
2.2	<i>Aeromonose</i>	3
2.3	<i>Processo séptico</i>	4
2.4	<i>Aspectos morfológicos de doenças de peixes</i>	5
3	OBJETIVO	6
4	MATERIAL E MÉTODOS	6
4.1	<i>Peixes e condições de manutenção</i>	6
4.2	<i>Cepa bacteriana</i>	7
4.3	<i>Determinação da dose letal de 50 % (DL50%)</i>	7
4.4	<i>Delineamento experimental e indução da sepse</i>	8
4.5	<i>Coleta do material biológico</i>	8
4.6	<i>Exame clínico e alterações macroscópicas</i>	9
4.7	<i>Exames microbiológicos</i>	9
4.8	<i>Exame histopatológico</i>	9
4.9	<i>Exame ultraestrutural</i>	10
4.10	<i>Mortalidade</i>	10
4.11	<i>Análise estatística</i>	10
5	RESULTADOS	10
5.1	<i>Exame clínico e alterações macroscópicas</i>	10
5.2	<i>Exames microbiológicos</i>	14
5.3	<i>Exame histopatológico</i>	17
5.4	<i>Exame ultraestrutural</i>	25
5.5	<i>Mortalidade</i>	29

6	DISCUSSÃO	30
7	CONCLUSÃO	36
8	REFERÊNCIAS.....	36



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 01471/15 do trabalho de pesquisa intitulado “Caracterização estrutural e ultraestrutural da infecção por *Aeromonas hydrophila* em *Piractus mesopotamicus*”, sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Julieta Rodini Engrácia de Moraes está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 02 de fevereiro de 2015.

Jaboticabal, 02 de fevereiro de 2015.


Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

**SEPSE AGUDA POR *Aeromonas hydrophila* EM *Piaractus mesopotamus*:
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E MICROBIOLÓGICAS**

RESUMO – Bactérias do gênero *Aeromonas* causam infecção caracterizada por septicemia, sendo a forma aguda desta afecção a mais prevalente em peixes. Esta bacteriose é responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade, ocasionando grandes perdas no setor de produção aquícola. Deste modo, o entendimento de sua fisiopatogenia é de suma importância ao desenvolvimento de estratégias voltadas à intervenção e controle da aeromonose em peixes. Este trabalho visou caracterizar por meio de estudos morfológicos e microbiológicos a fase aguda do processo séptico em diferentes tecidos de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*. Para isso, 160 pacus com peso médio de 250g foram inoculados por via celomática com *A. hydrophila* ($1,78 \times 10^9$ UFC/mL) e nos tempos pré-estipulados de 0 (controle), 1, 3, 6 e 9 horas pós-inoculação (hpi) os animais foram anestesiados e o material biológico coletado para realização de exames microbiológicos, histopatológicos e ultraestruturais. Foi evidenciada a presença de necrose, processos degenerativos, alterações vasculares e associação da bactéria a essas lesões nos tecidos estudados, principalmente 6 e 9 horas após a inoculação.

Palavras-chaves: aeromonose, fase aguda, histopatologia, microbiologia, pacu, septicemia

ACUTE SEPSIS CAUSED BY *Aeromonas hydrophila* IN *Piaractus mesopotamicus*: MORPHOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION

ABSTRACT – *Aeromonas* bacteria cause infection characterized by septicaemia and acute septicemic form of this disease is the most prevalent in fish. This bacteriosis is responsible for high morbidity and mortality rates, causing considerable losses in the aquaculture sector. Thus, understanding its pathophysiology is crucial to the development of strategies for intervention and control of fish aeromonosis. This study aimed to characterize by morphological and microbiological studies the acute phase of septic process in different tissues of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. Hence, 160 pacus weighing approximately 250g were inoculated via coelomic route with *A. hydrophila* (1.78×10^9 CFU / mL) and pre-operative times of 0 (control), 1, 3, 6, and 9 hours post-inoculation (hpi) the animals were anesthetized and the biological material collected for performing microbiological, histopathological and ultrastructural analysis. They showed the presence of necrosis, degenerative processes, vascular damage and close association of the bacteria to these lesions in tissues, mainly 6 and 9 hours after inoculation.

Keywords: aeromonosis, acute phase, histopathology, microbiology, pacu, septicaemia

LISTA DE ABREVIATURAS

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
cm – Centímetro
Cppar – Centro de Pesquisas em Sanidade Animal
CM – Célula morta
CV – Célula viva
°C – Graus Celsius
DL50% – Dose letal de 50%
DNA – Ácido desoxirribonucleico
EB – Energia bruta
FCAV – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
g – Grama
g – Giros
hpi – horas pós-inoculação
HE – Hematoxilina e Eosina
IL – Interleucina
kcal – quilocaloria
kg – Quilograma
L – Litro
LPS – Lipopolissacarídeo
M – Molar
MC – Membrana citoplasmática
MET – Microscopia eletrônica de transmissão
mg – Miligrama
min – minuto
mL – Mililitro
mm – Milímetro
MN – Membrana nuclear
MN-E – Edema de membrana nuclear
MT – Mitocôndria
MT-E – Edema de mitocôndria
N – Núcleo
PB – Proteína bruta
pH – Potencial hidrogeniônico
RE – Retículo endoplasmático
RE-E – Edema de retículo endoplasmático
RNA – Ácido ribonucleico
SIRS – Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
TNF – Fator de necrose tumoral
TSA – Ágar trípico de soja
UFC – Unidade formadora de colônia
μL – Microlitro
μm – Micrômetro
μs – Microsiemens
USP – Universidade de São Paulo
Unesp – Universidade Estadual Paulista

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Alterações macroscópicas de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) Peixe controle (sem alterações externas), barra. (B) Hemorragia cutânea (setas). (C) Hemorragia em nadadeiras (seta) e em opérculo (asterisco). (D) Brânquias normais (seta). (E) Congestão branquial (seta). (F) Hifema (seta). Barras A e B: 4 cm e barras C-F: 1 cm.12
- Figura 2 – Alterações macroscópicas de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) Parede celomática normal. (B) Hemorragia petequial em parede celomática e serosa dos órgãos (setas), congestão de vasos (asterisco) e presença de líquido serosanguinolento em celoma (cabeça de seta). (C) Fígado (asterisco), baço (cabeça de seta) e intestino (seta) normais. (D) Congestão hepática e hepatomegalia (seta), presença de líquido serosanguinolento em celoma (cabeça de seta). (E) Congestão esplênica e esplenomegalia (seta), presença de líquido serosanguinolento em celoma (cabeça de seta). (F) Enterorragia (seta branca). Barras: 1 cm.13
- Figura 3 – Frequência do isolamento de *Aeromonas hydrophila* nos tecidos de *Piaractus mesopotamicus*. As colunas verticais expressam os percentuais de isolamento positivo para *A. hydrophila* presente nos tecidos de *P. mesopotamicus* (n=10) em diferentes tempos de infecção (hpi=horas pós-inoculação).14
- Figura 4 – População bacteriana nos órgãos e sangue de *Piaractus mesopotamicus* infectados por *Aeromonas hydrophila*. As colunas verticais dos gráficos representam a população bacteriana em log de unidades formadoras de colônia (UFC) por g/mL de cada grupo nos diferentes tempos de avaliação. As barras verticais representam o erro padrão da média (n=10). Colunas com letras em comum não diferem entre si pelo teste de Dunn (5%).16
- Figura 5 – Fotomicrografias de coração e baço de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) Tecido cardíaco normal. (B) Necrose de cardiomiócitos ventriculares e infiltrado leucocitário (asterisco). (C) Colônias bacterianas aderidas ao pericárdio e presença de infiltrados circundando essas áreas (seta). (D) Tecido esplênico normal. (E) Congestão de vasos do baço (setas). (F) Colônias bacterianas aderidas à cápsula esplênica (asterisco) e presença de infiltrado leucocitário (setas). Coloração de HE, barras A-F: 20 µm.18
- Figura 6 – Fotomicrografias de pâncreas de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) Tecido pancreático normal. (B) Congestão de grandes vasos (asterisco). (C) Áreas de necrose (asteriscos) com vaso dilatado e presença de leucócitos em seu interior

e tecido circunjacente (setas). (D) Colônia bacteriana (seta) e área de necrose adjacente (asterisco). Coloração HE, barras A-C: 20 µm e barra D: 10 µm.19

Figura 7 – Fotomicrografias de rim e encéfalo de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) Túbulos renais normais. (B) Melanomacrófagos no interstício dos túbulos renais (setas). (C) Hemorragia intersticial em tecido renal (asterisco). (D) Necrose com núcleos em cariólise (setas) e perda da delimitação citoplasmática entre as células epiteliais dos túbulos renais (asterisco). (E) Capilar de tecido nervoso sem congestão (seta). (F) Discreta congestão capilar em tecido nervoso (seta). Coloração HE, barras A e D: 10 µm e barras B, C, E e F: 20 µm... ..20

Figura 8 – Fotomicrografias de fígado de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) Tecido hepático normal. (B) Congestão de capilares sinusóides (setas). (C) Hemorragia (asterisco). (D) Morte celular e desorganização da arquitetura do tecido hepático em região perivascular (setas). (E) Cápsula hepática normal (seta). (F) Colônias bacterianas aderidas à cápsula hepática (seta) com infiltrado leucocitário e necrose dos hepatócitos (asterisco). Coloração HE, barras A e B: 20 µm, barra C: 50 µm, barra D: 100 µm e barras E e F: 10 µm.....22

Figura 9 – Fotomicrografias de brânquia e intestino de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) Filamentos branquiais e lamelas secundárias normais. (B) Destacamento de células epiteliais da base das lamelas que se apresentam adelgaçadas (setas) e congestão de grande vaso (asterisco). (C) Congestão de lamelas secundárias (setas). (D) Edema de lamelas secundárias (seta). (E) Vilosidades e mucosa intestinal normais (seta). (F) Necrose das vilosidades e mucosa intestinal (seta). Coloração HE, barras A-C: 20 µm, barra D: 50 µm e barras E e F: 200 µm.24

Figura 10 – Eletromicrografias de células de baço de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) Núcleo normal (N). (B) Núcleo em cariólise (N). (C) Núcleo picnótico (N). (D) Núcleo em cariorrexe (N). Barras: 1 µm.26

Figura 11 – Eletromicrografias de rim e coração de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) Célula de túbulo renal apresentando mitocôndrias (MT), retículos endoplasmáticos (RE) e núcleo (N) normais. (B) Célula de túbulo renal com perda da integridade das membranas e dissolução de mitocôndrias (MT) e retículos endoplasmáticos (RE). (C) Retículo endoplasmático (RE) com ribossomos aderidos (setas) de cardiomiócitos normais. (D) Dilatação e destacamento de ribossomos (setas) dos retículos endoplasmáticos (RE) de cardiomiócitos alterados. Barras: 1 µm.27

- Figura 12 – Eletromicrografia do rim de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila* evidenciando uma célula renal na porção superior direita da imagem, com núcleo (N), membrana nuclear (MN) e retículos endoplasmáticos (RE) normais. Separada pela membrana citoplasmática (MC), outra célula situada na porção inferior esquerda da imagem, apresenta edema de retículo endoplasmático (RE-E), membrana nuclear (MN-E) e mitocôndrias (MT-E), barra: 1 μm28
- Figura 13 – Eletromicrografia de fígado de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila* revelando a presença das bactérias (setas) associadas uma célula morta ou em processo de morte (CM), ao seu lado pode se visualizar o citoplasma de uma célula viva (CV), barra: 1 μm29
- Figura 14 – Curva de mortalidade de *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila* (n=28), grupo desafio, e injetados com salina (0,65%) estéril, grupo controle (n=28), durante o período total de observação de cinco dias (120 horas)30

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas cinco décadas a produção mundial de peixes cresceu o dobro do crescimento populacional, aumentando também como o consumo mundial *per capita* de peixe, o qual passou de 9,9 kg em 1960 para 20,1 kg em 2014 (FAO, 2016). No Brasil, o pacu faz parte das seis espécies ou grupos de peixes mais criados em águas continentais, que juntos representaram 92 % da produção nacional de piscicultura no ano de 2015 (IBGE, 2015).

O crescimento e a intensificação da produção de peixes favorecem o aumento da incidência e severidade de doenças, principalmente as infecciosas de origem bacteriana, como a aeromonose causada por *Aeromonas* spp., que tem grande significado em criações intensivas por suas altas taxas de mortalidade (MORAES; MARTINS, 2004).

Dentre as *Aeromonas* móveis, as cepas de *A. hydrophila* são consideradas as mais virulentas para teleósteos (CYRINO et al., 2004; HOLLIMAN, 1993;), além de ser zoonose que provoca diarreia e septicemia em humanos (BORCHARDT; STEMPER; STANDRIDGE, 2003; DEODHAR; SARASWATHI; VARUDKAR, 1991). Em peixes, a infecção por *Aeromonas* spp. causa ruptura de pequenos vasos sanguíneos provocando hemorragias cutâneas e nas nadadeiras, progredindo para ulcerações com perda de epitélio, anemia, anorexia, letargia, sepsse hemorrágica e morte (BOIJINK; BRANDÃO, 2001; DUNG et al., 2008; WOO; BRUNO, 2003).

Os efeitos deletérios causados por bactérias Gram negativas como *A. hydrophila* são consequência da liberação de endotoxinas que desencadeiam a sepsse ou endotoxemia, síndromes complexas definidas pela presença de resposta inflamatória sistêmica (SIRS) (CLAUDIANO, 2015; RAU et al., 2007). A consequência desta resposta inflamatória exacerbada e descontrolada é a evolução do quadro para síndrome da insuficiência múltipla dos órgãos, que é acompanhada de alta mortalidade (SALLES et al., 1999).

Altas taxas de mortalidade e lesões hemorrágicas internas pronunciadas são manifestações comuns nas formas superaguda e aguda da aeromonose causada por *A. hydrophila* em peixes (MCDANIEL, 1979). Carnevia et al. (2010) identificaram em peixes ornamentais *A. hydrophila* e *Pseudomonas fluorescens* como os

principais agentes da septicemia hemorrágica bacteriana, sendo a manifestação aguda da doença a mais prevalente.

Reforçando a importância das manifestações clínicas da fase aguda da aeromonose septicêmica, Claudiano (2015) observou, em um estudo de infecção experimental com *A. hydrophila* em pacus, que o início da mortalidade ocorreu 9 horas após a inoculação celomática da suspensão bacteriana. Da mesma forma, Carriero et al. (2016) relataram as primeiras mortes de pacus depois de 8 horas do desafio com *Aeromonas dhakensis*, antiga *A. hydrophila* subespécie *dhakensis*.

Deste modo, o presente trabalho visou caracterizar por meio de estudos morfológicos e microbiológicos a fase aguda do processo séptico em diferentes tecidos de pacus infectados experimentalmente com *A. hydrophila*.

7 CONCLUSÃO

Os achados morfológicos e microbiológicos mostraram necrose, processos degenerativos, alterações vasculares e estreita associação da bactéria com essas lesões, principalmente 6 e 9 horas após a inoculação, demonstrando os mecanismos de ação dos fatores de virulência da *Aeromonas hydrophila* na fisiopatogenia da fase aguda da aeromonose septicêmica em órgãos de pacus. Baço, fígado e rim foram os órgãos mais afetados, podendo ser indicados como órgãos alvo da infecção, o que pode auxiliar no diagnóstico de casos agudos de dessa afecção em pacus.

8 REFERÊNCIAS

- AAMRI, F. E.; CABALLERO, M. J.; REAL, F.; ACOSTA, F.; DÉNIZ, R.; ROMÁN, L.; PADILLA, D. *Streptococcus iniae* in Gilthead Seabream (*Sparus aurata*, L.) and Red Porgy (*Pagrus pagrus*, L.): Ultrastructural Analysis. **Veterinary Pathology**, v. 52, p. 209-212, 2015.
- ABDULLAH, S.; OMAR, N.; YOSOFF, S. M.; OBUKWHO, E. B.; NWUNUJI, T. P.; HANAN, L.; SAMAD, J. Clinicopathological features and immunohistochemical detection of antigens in acute experimental *Streptococcus agalactiae* infection in red tilapia (*Oreochromis* spp.). **Springerplus**, v. 2, n. 286, p. 01-07, 2013.
- ABEYTA JÚNIOR, C.; KAYSNER, C. A.; WEKELL, M. M.; STOTT, R. F. Incidence of motile aeromonas from United States west coast shellfish growing estuaries. **Journal Food Protection**, v. 53, n. 10, p. 849-855, 1990.
- AGIUS, C.; ROBERTS, R. J. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. **Journal of Fish Diseases**, Oxford, v. 26, n. 9, p. 499-509, 2003.
- AGUADO-URDA, M.; RODRÍGUEZ-BERTOS, A.; HERAS, A. I.; BLANCO, M. M.; ACOSTA, F.; CID, R.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F.; GIBELLO, A. Experimental *Lactococcus garvieae* infection in zebrafish and first evidence of its ability to invade non-phagocytic cells. **Veterinary Microbiology**, v. 171, p. 248-254, 2014.
- ALBERT, M. J.; ANSARUZZAMAN, M.; TALUKDER, K. A.; CHOPRA, A. K.; KUHN, I.; FARUQUE, A. S. G.; ISLAM, M. S.; SACK, R. B.; MOLBY, R. Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* sp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and the environment. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.38, p. 3785-3790, 2000.

ANDRADE, J. A. B.; FREYMÜLLER, E.; FAGUNDES-NETO, U. Pathophysiology of enteroaggregative *Escherichia coli* infection: an experimental model utilizing transmission electron microscopy. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 47, p. 306-312, 2010.

AVCI, H.; BIRINCIÖGLÜ, S. S.; TANRIKUL, T. T.; EPIKMEN, E. T.; METIN, N.; AVSEVER, M. L. Experimental *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792: a comparative histopathological and immunohistochemical study. **Journal of Fish Diseases**, v. 37, p. 481-495, 2014.

BAKKEMO, K. R.; MIKKELSEN, H.; BORDEVIK, M.; TORGERSEN, J.; WINTHER-LARSEN, H. C.; VANBERG, C.; OLSEN, R.; JOHANSEN, L. H.; SEPPOLA, M. Intracellular localisation and innate immune responses following *Francisella noatunensis* infection of Atlantic cod (*Gadus morhua*) macrophages. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 31, p. 993-1004, 2011.

BARBOSA, H. M. R.; SILVA, M.; FERRO, E. A. V.; MINEO, J. R. Ultrastructural study of the TG180 murine sarcoma cell invasion by *Toxoplasma gondii*: comparison between *in vivo* and *in vitro* cell cultures. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 265-270, 2000.

BEAZ-HIDALGO, R.; FIGUERAS, M. J. *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. **Journal of Fish Diseases**, v. 36, p. 371-388, 2013.

BOIJINK, C. L.; BRANDÃO, D. A. Alterações histológicas e comportamentais provocadas pela inoculação de suspensão bacteriana (*Aeromonas hydrophila*) em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v. 31, p. 687-694, 2001.

BONE, R. C. The pathogenesis of sepsis. **Annals of Internal Medicine: Journal**, v. 115, p. 457-469, 1991.

BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A.; BITTENCOURT, F.; CANZI, C. **Manual Técnico: Criação de pacu em tanque-rede para produção de carne mecanicamente separada (CMS)**, Toledo-PR, 50p, 2010.

BORCHARDT, M. A.; STEMPER, M. E.; STANDRIDGE, J. H. *Aeromonas* Isolates from Human Diarrheic Stool and Groundwater Compared by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, p. 224-228, 2003.

BOYD, C. E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Alabama: Auburn University, p. 482, 1990.

BRICEÑO, A. L.; CONTRERAS, Z. P.; VERA, D. D.; BRICEÑO, R. V. M.; PRÜ, E. P. Effects of *Aeromonas caviae* co-cultured in mouse small intestine. **Interciencia**, v. 31, p. 446-450, 2006.

BRICEÑO, A. L.; CONTRERAS, Z. P.; VERA, D. D.; BRICEÑO, R. V. M.; PRÜ, E. P. Experimental toxicity of *Aeromonas* spp. in mouse's small intestine: ultrastructural aspects. **Interciencia**, v. 33, p. 457-460, 2008.

BRUDAL, E.; LAMPE, E. O.; REUBSAET, L.; ROOS, N.; HEGNA, I. K.; THRANE, I. M.; KOPPANG, E. O.; WINTHER-LARSEN, H. C. Vaccination with outer membrane vesicles from *Francisella noatunensis* reduces development of francisellosis in a zebrafish model. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 42, p. 50-57, 2015.

CARNEVIA, D.; LETAMENDIA, M.; PERRETTA, A.; DELGADO, E. Caracterización de septicemia hemorrágica bacteriana (SHB), diagnosticadas en peces ornamentales de Uruguay. **Veterinaria (Montevideo)**, v. 46, p. 27-31, 2010.

CARRASCHI, S. P.; CRUZ, C.; MACHADO-NETO, J. G.; IGNÁCIO, N. F.; BARBUIO, R.; MACHADO, M. R. F. Histopathological biomarkers in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) infected with *Aeromonas hydrophila* and treated with antibiotics. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 83, p. 115-120, 2012.

CARRIERO, M. M.; MENDES MAIA, A. A.; MORO SOUSA, R. L.; HENRIQUE-SILVA, F. Characterization of a new strain of *Aeromonas dhakensis* isolated from diseased pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*) in Brazil. **Journal of Fish Diseases**, v. 39, p. 01-11, 2016.

CERESER, N. D.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; MARTINELI, T. M.; SOUZA, V.; RODRIGUES, L. B.; CARDOZO, M. V. *Aeromonas* no processamento de queijos tipos minas frescal e colonial. **Ars Veterinária**, v. 29, n. 1, p. 23-29, 2013.

CHEN, D. F.; WANG, K. Y.; GENG, Y.; WANG, J.; HUANG, X. L.; HE, M. Pathological changes in cultured channel catfish *Ictalurus punctatus* spontaneously infected with *Streptococcus iniae*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 95, p. 203-208, 2011.

CHONG, R. S. M.; SHINWARI, M. W.; AMIGH, M. J.; AVARENA-ROMAN, M.; RILEY, T. V. First report of *Erysipelothrix rhusiopathiae*-associated septicemia and histologic changes in cultured Australian eels, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner, 1867) and *A. australis* (Richardson, 1841). **Journal of Fish Diseases**, v. 38, p. 839-847, 2015.

CHOPRA, A. K.; HOUSTON, C. W. Enterotoxins in *Aeromonas*-associated gastroenteritis. **Microbes and Infection**, v.1, n.13, p.1129-1137, 1999.

CHOPRA, A. K.; XU, X. J.; RIBARDO, D.; GONZALEZ, M.; KUHL, K.; PETERSON, J. W.; HOUSTON, C. W. The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* induces proinflammatory cytokine production and activates arachidonic acid metabolism in macrophages. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 5, p. 2808-2818, 2000.

CIPRIANO, R. C. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. **Fish Disease Leaflet**, v. 68, p. 1-25, 2001.

CLAUDIANO, G. S. **Aspectos da fisiopatologia da sepse em *Piaractus mesopotamicus* induzida por *Aeromonas hydrophila***. 2015. 95 f. Tese – Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Robbins - Patologia Estrutural e Funcional. In: COLLINS, T. **Inflamação aguda e crônica**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 44-78.

CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva. **TecArte**, p. 533, 2004.

DAS, A.; SAHOO, P. K.; MOHANTY, B. R.; JENA, J. K. Pathophysiology of experimental *Aeromonas hydrophila* infection in *Puntius sarana*: Early changes in blood and aspects of the innate immune-related gene expression in survivors. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.142, p. 207-218, 2011.

DAVIS, B. D.; DULBECCO, R.; EISEN, H.; GINSBERG, H. S. **Microbiology**. New York, 4. ed. Philadelphia: Kyoto, cap. 27, p. 561-587, 1990.

DEL CORRAL, F.; SHOTTS, E. B.; BROWN, J. Adherence haemagglutination and cell surface characteristics of motile aeromonads virulent for fish. **Journal of fish Diseases**, v. 13, p. 255-268, 1990.

DEODHAR, L. P.; SARASWATHI, K.; VARUDKAR, A. *Aeromonas* spp. and their association with human diarrheal disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, p. 853-856, 1991.

DUNG, T. T.; NGOC, N. T. N.; THINH, N. Q.; THY, D. T. M.; TUAN, M. A.; SHIN, A.; CRUMLISH, M. Common diseases of pangasius catfish farmed in Vietnam. **Global Aquaculture Advocate**, v.11, p.77-78, 2008.

FAÍLDE, L. D.; LOSADA, A. P.; BERMÚDEZ, R.; SANTOS, Y.; QUIROGA, M. I. *Tenacibaculum maritimum* infection: Pathology and immunohistochemistry in experimentally challenged turbot (*Psetta maxima* L.). **Microbial Pathogenesis**, v. 65, p. 82-88, 2013.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **The State of World Fisheries and Aquaculture 2016**, Roma, 200p, 2016.

FARTO, R.; MILTON, D. L.; BERMÚDEZ, M. B.; NIETO, T. P. Colonization of turbot tissues by virulent and avirulent *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* strains during infection. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 95, p. 167-173, 2011.

FEHR, A.; ESHWAR, A. K.; NEUHAUSS, S. C. F.; RUETTEN, M.; LEHNER, A.; VAUGHN, L. Evaluation of zebrafish as a model to study the pathogenesis of the

opportunistic pathogen *Cronobacter turicensis*. **Emerging Microbes and Infections**, v. 4, p. 01-09, 2015.

FICHI, G.; CARDETI, G.; COCUMLLI, C.; VENDRAMIN, N.; TOFFAN, A. ELENI, C.; SIEMINI, N.; FISCHETTI, R.; SUSINI, F. Detection of Cyprinid herpesvirus 2 in association with na *Aeromonas sobria* infection of *Carassius carassius* (L.), in Italy. **Journal of Fish Diseases**, v. 36, p. 823-830, 2013.

FOGELSON, S. B.; PETTY, B. D.; REICHLEY, S. R.; WARE, C.; BOWSER, P. R.; CRIM, M. J.; GETCHELL, R. G.; SAMS, K. L.; MARQUIS, H.; GRIFFIN, M. J. Histologic and molecular characterization of *Edwardsiella piscicida* infection in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 28, n. 3, p. 338-344, 2016.

FRACASSO, J. F. Contribuição ao entendimento da patogenia da sepse. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, p. 119-127, 2008.

FREUNDENBERG, M. A. The fate of lipopolisaccharides in rats: evidence for chemical alteration in the molecule. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 6, p. 483-487, 1984.

FÜLÖP, G. M. I.; McMILLAN, D. Phagocytosis in the spleen of the sunfish *Lepomis* spp. **Journal of Morphology**, Hoboken, v. 179, n. 2, p. 175-195, 1984.

GALLETI, S. R. Introdução à microscopia electronica. **Biológico**, v. 65, p. 33-35, 2003.

GARCIA, F.; MORAES, F. R. Hematologia e sinais clínicos de *Piaractus mesopotamicus* infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*. Acta Scientiarum. **Biological Sciences**, v. 31, p. 17-21, 2009.

GARCIA LEME, J. **Hormones and Inflammation**, CRC Press, Boca Raton, 1989. p. 1-238

GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. **Atlas of fish histology**. 2009. Ed. Science publishers, 211p.

GUDMUNDSDOTTIR, B. K.; GUDMUNDSDOTTIR, S.; GUDMUNDSDOTTIR, S.; MAGNADOTTIR, B. Yersiniosis in Atlantic cod, *Gadus morhua* (L.), characterization of the infective strain and host reactions. **Journal of Fish Diseases**, v. 37, p. 511-519, 2014.

HOLLIMAN, A. The veterinary approach to trout. In: BROWN. L. (Ed.). **Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine**, Oxford: Pergamon Press, 1993. cap. 14, p. 223-247.

HOSSEINI, R.; LAMERS, G. E. M.; HODZIC, Z.; MEJIR, A. H.; SCHZZF, M. J. M.; SPAINK, H. P. Correlative light and electron microscopy imaging of autophagy in a zebrafish infection model. **Autophagy**, v. 10, p. 1844-1857, 2014.

HOWARD, S. P.; BUCKLEY, J. T. Activation of the hole-forming toxin-related factor in cultures of *Aeromonas* species by enzyme-linked immunosorbent assay. **Infection and Immunity**, v. 50, p. 322-323, 1985.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v. 43, 47p, 2015.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 23, p. 35-73, 2010.

KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Diagnosis, treatment and prevention of bacterial diseases of fish and shellfish. **Current Science**, v. 73, n. 3, p. 387-399, 1999.

KNOBEL, E. Fisiopatologia do choque e da disfunção de múltiplos órgãos. In: _____. **Condutas no Paciente Grave**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2006. p. 41-60.

KOZINSKA, A. Dominant pathogenic species of mesophilic aeromonads isolated from diseased and healthy fish cultured in Poland. **Journal of Fish Diseases**, v. 30, p. 293-301, 2007.

KOZINSKA, A.; PEKALA, A. serotyping of *Aeromonas* species isolated from Polish fish farms in relation to species and virulence phenotype of the bacteria. **Bull Veterinary Institute Pulawy**, v. 54, p. 315-320, 2010.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Robbins e Cotran Patologia – **Bases Patológicas das Doenças**. In: _____. **Inflamação aguda e crônica**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p. 49-89.

LIN, B.; CHEN, S.; CAO, Z.; LIN, Y.; MO, D.; ZHANG, H.; GU, J.; DONG, M.; LIU, Z.; XU, A. Acute phase response in zebrafish upon *Aeromonas salmonicida* and *Staphylococcus aureus* infection: Striking similarities and obvious differences with mammals. **Molecular Immunology**, v. 44, p. 295-301, 2007.

LOWRY, R.; BALBOA, S.; PARKER, J. L.; SHAW, J. G. *Aeromonas* Flagella and Colonisation Mechanisms. **Advances in Microbial Physiology**, v. 65, p. 203-256, 2014.

LUNA L. G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3.ed. New York: McGraw/Hill, p. 258, 1968.

MADDEN, N. P.; LEVINSKY, R. J.; BAYSTON, R.; HARVEY, B.; TURNER, M. W.; SPITZ, L. Surgery, sepsis, and nonspecific immune function in neonates. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 24, p. 562-566, 1989.

MATSUYAMA T., IIDA T. Influence of tilapia mast cell lysate on vascular permeability. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 11, p. 549–556, 2001.

McDANIEL, D. **American Fisheries Society: Fish Health Section**. In: Procedures for the detection and identification of certain fish pathogens. Washington: Copyright, 1979. p. 118.

MONAGHAN, S. J.; THOMPSON, K. D.; ADAMS, A.; KEMPTER, J.; BERGMANN, S. M. Examination of the early infection stages of koi herpesvirus (KHV) in experimentally infected carp, *Cyprinus carpio* L. using in situ hybridization. **Journal of Fish Diseases**, v. 38, p. 477-489, 2015.

MORAES, F. R.; MARTINS, M. L. Condições pré-disponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTANGNOLLI, N. (Ed) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**, p. 343-386, 2004.

MORAES, F. R.; MORAES, J. R. E. Nutracêuticos na inflamação e cicatrização de peixes de interesse zootécnico. In: TAVARES-DIAS, M. (Ed.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. p. 625-723.

NAYAK, S. K.; SWAIN, P.; NANDA, P. K.; DASH, S.; SHUKLA, S.; MEHER, P. K. Effect of endotoxin on the immunity of Indian major carp, *Labeo rohita*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 24, p. 394-399, 2008.

NDUKA, O.; PARRILLO, J. E. The Pathophysiology of Septic Shock. **Critical Care Nursing Clinics of North America: Journal**, v. 23, p. 41-66, 2011.

NGUYEN-CHI, M.; PHAN, Q. T.; GONZALEZ, C.; DUBREMETZ, J. F.; LEVRAUD, J. P.; LUTFALLA, G. Transient infection of the zebrafish notochord with *E. coli* induces chronic inflammation. **Disease Models & Mechanisms**, v. 7, p. 871-882, 2014.

NIELSEN, M. E.; HOI, L.; SCHIMDT, A. S.; QIAN, D.; SHIMADA, T.; SHEN, J. Y., LARSEN, J. L. Is *Aeromonas hydrophila* the dominant motile *Aeromonas* species that causes disease outbreaks in aquaculture production in the Zhejiang Province of China? **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 46, p. 23-29, 2001.

OROZOVA, P.; CHIKOVA, V.; KOLAROVA, V.; NEVORA, R.; KONOVSKA, M.; NAJDENSKI, H. Antibiotic resistance of potentially pathogenic *Aeromonas* strains. **Trakia Journal of Sciences**, v. 6, p. 71-77, 2008.

POPOFF, M. III Genus *Aeromonas* Kluyver e van Niel, 1936. In: **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, vol. 1, p. 545–548, 1984.

RAU, S., KOHN, B., RICHTER, C., FENSKE, N., KÜCHENHOFF, H., HARTMANN, K., HÄRTLE, S., KASPERS, B., HIRSCHBERGER, J. Plasma interleukin-6 response is predictive for severity and mortality in canine systemic inflammatory response 86

syndrome and sepsis. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 36, p. 253-260, 2007.

R Development Core Team (2011). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em <<http://www.R-project.org>>.

ROBERTS, R. J. 2001. **Fish Pathology**. W. B. Saunders. London, 472 p.

ROBERTS R. J. Melanin-containing cells of the teleost fish and their relation to disease. In: RIBELIN, W. E.; MIGAKI, G. (Ed.). **The pathology of fishes**. Madison: University of Wisconsin Press, p. 399-428, 1975.

ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and Sedative techniques for Aquatic Animals**. 2^a ed. London: Willey-Blackwell Publishing; 2008.

SALLES, M. J. C.; SPROVIERI, S. R. S.; BEDRIKOW, R.; PEREIRA, A. C.; CARDENUTO, S. L.; AZEVEDO, P. R. C.; SILVA, T. M.; GOLIN, V. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepsis – revisão e estudo da terminologia e fisiopatologia. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, p. 86-92, 1999.

SARKAR, A.; SAHA, M.; ROY, P. Identification and typing of *Aeromonas hydrophila* through 16S rDNA-PCR fingerprinting. **Aquaculture Research and Development**, v.3, n.6, p. 2-4, 2012.

SCOARIS, D. O.; COLACITE, J.; NAKAMURA, C. V.; UEDA-NAKAMURA, T.; ABREU FILHO, B. A.; DIAS FILHO, B. P. Virulence and antibiotic susceptibility of *Aeromonas* spp. isolated from drinking water. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 93, p. 111-122, 2008.

SEN, K; RODGERS M. Distribution of six virulence factors in *Aeromonas* species isolated from US drinking water utilities: a PCR identification. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 97, p.1077- 1086, 2004.

SINHA, S.; SHIMADA, T.; RAMAMURTHY, T.; BATTACARYA, S. K.; YAMASAKY, S.; TAKEDA, Y.; NAIR, G. B. Prevalence, serotype distribution, antibiotic susceptibility and genetic profiles of mesophilic *Aeromonas* species isolated from hospitalized diarrhoeal cases in Kolkata, India. **Journal of Medical Microbiology**, London, v.53, p. 527 -534, 2004.

SHIMADA, M. T.; CLAUDIANO, G. S.; ENGRÁCIA FILHO, J. R.; YUNIS, J.; MORAES, F. R.; MOREIRA, R. G.; MORAES, J. R. E. Hepatic Steatosis in Cage-Reared Young Cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766), in Brazil. **Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis**, v. 3, p. 01-04, 2014.

SHOTTS, E. B.; TSU, T. C.; WALTMAN, W. D. Extracellular proteolytic activity of *Aeromonas hydrophila* complex. **Fish Pathology**, v. 20, p. 37-40, 1985.

SIPAÚBA-TAVARES, L. E.; MORENO, S. Q. Variação dos parâmetros limnológicos em um viveiro de piscicultura nos períodos de seca e chuva. **Revista Unimar**, Marília, v.16, p.229-242, 1994.

SOUZA, V.L.; ORIVES-LUNARDI, L.; VASQUES, L.H.; CASALETI, L.; NAKAGHI, L.S.O.; URBINATI, E.C. Morphometric alterations in hepatocytes and ultrastructural distribution of liver glycogen in pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) during food restriction and refeeding. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 18, n. 1, p. 15-20, 2001.

STOSKOPF, M. K. **Fish medicine**. Philadelphia: Saunders, p. 269-277, 1993.

SUANYUK, N.; ROGGE, M.; THUNE, R.; WATTANAOHIROMSAKUL, M. CHAMPHAT, N.; WIANGKUM, W. Mortality and pathology of hybrid catfish, *Clarias macrocephalus* (Günther) x *Clarias gariepinus* (Burchell), associated with *Edwardsiella ictaluri* infection in Southern Thailand. **Journal of Fish Diseases**, v. 37, p. 385-395, 2014.

TOMÁS, J. M. The Main *Aeromonas* Pathogenic Factors. **ISRN Microbiology**, v. 2012, p. 01-22, 2012.

TRUST, T. J.; BULL, L. M.; CURRIE, B. R.; BUCKLEY, J. T. Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 36, p. 1174-1179, 1974.

VALIENTI, E.; PADRO'S, F.; LAMAS, J.; LLORENS, A.; AMARO, C. Microbial and histopathological study of the vibriosis caused by *Vibrio vulnificus* serovar E in eels: The metalloprotease Vvp is not an essential lesional factor. **Microbial Pathogenesis**, v. 45, p. 386-393, 2008.

VELANDIA, M.L.; PÉREZ-CASTRO, R.; HURTADO, H.; CASTELLANOS, J. E. Ultrastructural description of rabies virus infection in cultured sensory neurons. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 441-447, 2007.

VILCHES, S.; URGELL, C.; MERINO, S. M.; CHACON, R.; SOLER, L.; CASTRO-ESCARPULLI, G.; FIGUERAS, M. J.; TOMAS JUAN, M. Complete type III secretion system of a mesophilic *Aeromonas hydrophila* strain. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 11, p. 6914-6919, 2004.

VILELA, R. C.; BENCHIMOL, M. *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus*: interaction with fibroblasts and muscle cells - new insights into parasite-mediated host cell cytotoxicity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 720-727, 2012.

WEDEMEYER, G.; ROSS, A. J.; SMITH, L. Some metabolic effects of bacterial endotoxin in salmonid fishes. **Journal of Fisheries Research Board of Canada**, Toronto, v. 26, p. 115-122, 1970.

WOO, P. T. K.; BRUNO, D. W (Ed.). Viral, Bacterial and Fungal Infections. **Fish Diseases and Disorders**, CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, U.K., v. 3, p. 874, 2003.

WONG, C. Y. F.; HEUZENROEDER, M. W.; FLOWER, R. L. P. Inactivation of two haemolytic toxin genes in *Aeromonas hydrophila* attenuates virulence in a suckling mouse model. **Microbiology**, v. 144, p. 291-298, 1998.

YOGANANTH, N.; BHAKYARAJ, R.; CHANTHURU, A.; ANBALAGAN, T.; MULLAI NILA, K. Detection of Virulence Gene in *Aeromonas hydrophila* Isolated from Fish Samples Using PCR Technique, **Global Journal of Biotechnology & Biochemistry**, v. 4, p. 51-53, 2009.