

# **PRINCIPAIS PATÓGENOS QUE AFETAM PEIXES CULTIVADOS EM PORTUGAL**



Editores:  
**Susana Ferreira & Teresa Baptista**



# Principais Patógenos que Afetam Peixes Cultivados em Portugal

Editores:

Susana Ferreira & Teresa Baptista

2022

# Ficha técnica

## Título do livro:

Principais Patógenos que Afetam Peixes Cultivados em Portugal

## Editores:

Susana Ferreira & Teresa Baptista

## Autores do texto:

Damiana Pires, Mariana Vaz, Pedro Pires, Ricardo Passos, Beatriz do Carmo, Paulo Santos, Mafalda Tomás, Susana Ferreira & Teresa Baptista

MARE – Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Edifício CETEMARES, Av. Porto de Pesca, 2520-620, Peniche, Portugal

e

Escola de Turismo e Tecnologia do Mar, Politécnico de Leiria, Campus 4 – Rua do Conhecimento n.º 4, 2520-641 Peniche, Portugal

## Impressão e Acabamento:

Rebelo Artes Gráficas, Lda | Estarreja | Portugal

Depósito Legal n.º

ISBN 978-989-53715-5-6

DOI <https://doi.org/10.25766/v17c-6p71>

1ª Edição 2022

Autor da fotografia da capa: Pedro Pires

Autora das fotografias de início de cada capítulo: Susana Ferreira

Autor das fotografias da contracapa: Pedro Pires

# Principais Patógenos que Afetam Peixes Cultivados em Portugal

Editores:

Susana Ferreira & Teresa Baptista

Autores:

Damiana Pires, Mariana Vaz, Pedro Pires, Ricardo Passos, Beatriz do Carmo, Paulo Santos, Mafalda Tomás, Susana Ferreira & Teresa Baptista



Este livro foi escrito e desenvolvido no âmbito do projeto BE4AQUAHEALTH: Rastreamento nacional de patologias de peixes de aquacultura: uma aposta na prevenção (MAR-02.05.01-FEAMP-0013)



Cofinanciado por:



## Lista de autores

**Mestre Damiana Pires**

ORCID 0000-0002-6763-6498

**Mestre Mariana Vaz**

ORCID 0000-0001-6064-0227

**Mestre Pedro Pires**

ORCID 0000-0002-0748-0890

**Mestre Ricardo Passos**

ORCID 0000-0003-4632-4492

**Mestre Beatriz do Carmo**

ORCID 0000-0002-0572-3748

**Mestre Paulo Santos**

ORCID 0000-0003-0812-4529

**Dr. Mafalda Tomás**

ORCID 0000-0002-1898-4779

**Professora Susana MF Ferreira**

E-mail: susana.ferreira@ipleiria.pt

ORCID 0000-0002-9969-2507

**Professora Teresa Baptista**

E-mail: teresa.baptista@ipleiria.pt

ORCID 0000-0003-1168-7461

MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente  
Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar - Politécnico de Leiria  
Rua do Conhecimento 4  
2520-641 Peniche  
PORTUGAL

# Índice

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Introdução</b> .....  | 3  |
| <b>2. Principais patógenos</b> .....                                    | 7  |
| <b>3. Bactérias Gram-negativas</b> .....                                | 15 |
| <b>3.1. <i>Aeromonas</i> sp.</b> .....                                  | 15 |
| 3.1.1. Etiologia .....  | 15 |
| 3.1.2. Epidemiologia .....  | 15 |
| 3.1.3. Lesões patológicas e sintomas .....                              | 15 |
| 3.1.4. Métodos de Diagnóstico .....                                     | 15 |
| 3.1.5. Métodos de controlo e prevenção .....                            | 15 |
| <b>3.2. <i>Edwardsiella tarda</i></b> .....                             | 16 |
| 3.2.1 Etiologia .....   | 16 |
| 3.2.2. Epidemiologia .....  | 16 |
| 3.2.3. Lesões patológicas e sintomas .....                              | 16 |
| 3.2.4. Métodos de diagnóstico .....                                     | 16 |
| 3.2.5. Métodos de controlo e prevenção .....                            | 16 |
| <b>3.3. <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i></b> ..... | 17 |
| 3.3.1. Etiologia .....  | 17 |
| 3.3.2. Epidemiologia .....  | 17 |
| 3.3.3. Lesões patológicas e sintomas .....                              | 17 |
| 3.3.4. Métodos de Diagnóstico .....                                     | 18 |
| 3.3.5. Medidas de controlo e prevenção .....                            | 19 |
| <b>3.4. <i>Pseudomonas anguilliseptica</i></b> .....                    | 20 |
| 3.4.1. Etiologia .....  | 20 |
| 3.4.2. Epidemiologia .....  | 20 |
| 3.4.3. Lesões patológicas e sintomas .....                              | 20 |
| 3.4.4. Métodos de diagnóstico .....                                     | 20 |
| 3.4.5. Métodos de controlo e prevenção .....                            | 21 |
| <b>3.5. <i>Tenacibaculum maritimum</i></b> .....                        | 21 |
| 3.5.1. Etiologia .....  | 21 |
| 3.5.2. Epidemiologia .....  | 21 |

|  |    |
|--|----|
| 3.5.3. Lesões patológicas e sintomas .....   | 21 |
| 3.5.4. Métodos de diagnóstico .....          | 22 |
| 3.5.5. Métodos de controlo e prevenção ..... | 23 |
| <b>3.6. <i>Vibrio</i> spp.</b> .....         | 23 |
| 3.6.1. Etiologia .....                       | 23 |
| 3.6.2. Epidemiologia .....                   | 23 |
| 3.6.3. Lesões patológicas e sintomas .....   | 24 |
| 3.6.4. Métodos de diagnóstico .....          | 25 |
| 3.6.5. Métodos de controlo e prevenção ..... | 25 |
| <b>4. Bactérias Gram-positivas</b> .....     | 29 |
| <b>4.1. <i>Mycobacterium</i> spp.</b> .....  | 29 |
| 4.1.1. Etiologia .....                       | 29 |
| 4.1.2. Epidemiologia .....                   | 29 |
| 4.1.3. Lesões patológicas e sintomas .....   | 29 |
| 4.1.4. Métodos de diagnóstico .....          | 29 |
| 4.1.5. Métodos de controlo e prevenção ..... | 30 |
| <b>4.2. <i>Nocardia</i> spp.</b> .....       | 30 |
| 4.2.1. Etiologia .....                       | 30 |
| 4.2.2. Epidemiologia .....                   | 30 |
| 4.2.3. Lesões patológicas e sintomas .....   | 30 |
| 4.2.4. Métodos de diagnóstico .....          | 31 |
| 4.2.5. Métodos de controlo e prevenção ..... | 31 |
| <b>4.3. <i>Streptococcus</i> spp.</b> .....  | 31 |
| 4.3.1. Etiologia .....                       | 31 |
| 4.3.2. Epidemiologia .....                   | 31 |
| 4.3.3. Lesões patológicas e sintomas .....   | 31 |
| 4.3.4. Métodos de diagnóstico .....          | 32 |
| 4.3.5. Métodos de controlo e prevenção ..... | 32 |
| <b>5. Vírus</b> .....                        | 35 |
| <b>5.1. Vírus do linfoquisto</b> .....       | 35 |
| 5.1.1. Etiologia .....                       | 35 |
| 5.1.2. Epidemiologia .....                   | 35 |
| 5.1.3. Lesões patológicas e sintomas .....   | 35 |

|   |           |
|---|-----------|
| 5.1.4. Métodos de diagnóstico .....                     | 37        |
| 5.1.5. Métodos de controlo e prevenção .....            | 37        |
| <b>5.2. Vírus da necrose eritrocítica (VNE) .....</b>   | <b>37</b> |
| 5.2.1. Etiologia .....                                  | 37        |
| 5.2.2. Epidemiologia .....                              | 37        |
| 5.2.3. Lesões patológicas e sintomas .....              | 37        |
| 5.2.4. Métodos de diagnóstico .....                     | 38        |
| 5.2.5. Métodos de controlo e prevenção .....            | 38        |
| <b>5.3. Vírus da necrose nervosa (VNN) .....</b>        | <b>38</b> |
| 5.3.1. Etiologia .....                                  | 38        |
| 5.3.2. Epidemiologia .....                              | 38        |
| 5.3.3. Lesões patológicas e sintomas .....              | 39        |
| 5.3.4. Métodos de diagnóstico .....                     | 40        |
| 5.3.5. Métodos de controlo e prevenção .....            | 40        |
| <b>5.4. Vírus da septicémia hemorrágica (VSH) .....</b> | <b>41</b> |
| 5.4.1. Etiologia .....                                  | 41        |
| 5.4.2. Epidemiologia .....                              | 41        |
| 5.4.3. Lesões patológicas e sintomas .....              | 41        |
| 5.4.4. Métodos de diagnóstico .....                     | 41        |
| 5.4.5. Métodos de controlo e prevenção .....            | 41        |
| <b>6. Endoparasitas .....</b>                           | <b>45</b> |
| <b>6.1. <i>Cryptosporidium molnari</i> .....</b>        | <b>45</b> |
| 6.1.1. Etiologia .....                                  | 45        |
| 6.1.2. Epidemiologia .....                              | 45        |
| 6.1.3. Lesões patológicas e sintomas .....              | 45        |
| 6.1.4. Métodos de diagnóstico .....                     | 45        |
| 6.1.5. Métodos de controlo e prevenção .....            | 45        |
| <b>6.2. <i>Enteromyxum leei</i> .....</b>               | <b>46</b> |
| 6.2.1. Etiologia .....                                  | 46        |
| 6.2.2. Epidemiologia .....                              | 46        |
| 6.2.3. Lesões patológicas e sintomas .....              | 47        |
| 6.2.4. Métodos de diagnóstico .....                     | 47        |
| 6.2.5. Métodos de controlo e prevenção .....            | 47        |

|   |    |
|---|----|
| <b>6.3. <i>Enteromyxum scopthalmi</i></b> .....     | 47 |
| 6.3.1. Etiologia .....                              | 47 |
| 6.3.2. Epidemiologia .....                          | 48 |
| 6.3.3. Lesões patológicas e sintomas .....          | 48 |
| 6.3.4. Métodos de diagnóstico .....                 | 49 |
| 6.3.5. Métodos de controlo e prevenção .....        | 49 |
| <b>6.4. <i>Kudoa dicentrarchi</i></b> .....         | 49 |
| 6.4.1. Etiologia .....                              | 49 |
| 6.4.2. Epidemiologia .....                          | 49 |
| 6.4.3. Lesões patológicas e sintomas .....          | 50 |
| 6.4.4. Métodos de diagnóstico .....                 | 50 |
| 6.4.5. Métodos de controlo e prevenção .....        | 50 |
| <b>6.5. <i>Sphaerospora testicularis</i></b> .....  | 50 |
| 6.5.1. Etiologia .....                              | 50 |
| 6.5.2. Epidemiologia .....                          | 50 |
| 6.5.3. Lesões patológicas e sintomas .....          | 50 |
| 6.5.4. Métodos de diagnóstico .....                 | 51 |
| 6.5.5. Métodos de controlo e prevenção .....        | 51 |
| <b>6.6. <i>Philasterides dicentrarchi</i></b> ..... | 51 |
| 6.6.1. Etiologia .....                              | 51 |
| 6.6.2. Epidemiologia .....                          | 51 |
| 6.6.3. Lesões patológicas e sintomas .....          | 52 |
| 6.6.4. Métodos de diagnóstico .....                 | 52 |
| 6.6.5. Métodos de controlo e prevenção .....        | 52 |
| <b>7. Ectoparasitas</b> .....                       | 55 |
| <b>7.1. <i>Amyloodinium ocellatum</i></b> .....     | 55 |
| 7.1.1. Etiologia .....                              | 55 |
| 7.1.2. Epidemiologia .....                          | 55 |
| 7.1.3. Lesões patológicas e sintomas .....          | 56 |
| 7.1.4. Métodos de diagnóstico .....                 | 56 |
| 7.1.5. Métodos de controlo e prevenção .....        | 56 |
| <b>7.2. <i>Trichodina spp.</i></b> .....            | 58 |
| 7.2.1. Etiologia .....                              | 58 |

|  |           |
|--|-----------|
| 7.2.2. Epidemiologia .....   | 58        |
| 7.2.3. Lesões patológicas e sintomas .....                                 | 58        |
| 7.2.4. Métodos de diagnóstico .....  | 58        |
| 7.2.5. Métodos de controlo e prevenção .....                               | 59        |
| <b>7.3. <i>Benedenia sciaenae</i></b> .....                                | <b>59</b> |
| 7.3.1. Etiologia .....   | 59        |
| 7.3.2. Epidemiologia .....   | 60        |
| 7.3.3. Lesões patológicas e sintomas .....                                 | 60        |
| 7.3.4. Métodos de diagnóstico .....  | 60        |
| 7.3.5. Métodos de controlo e prevenção .....                               | 60        |
| <b>7.4. <i>Diplectanum aequans</i> e <i>Diplectanum sciaenae</i></b> ..... | <b>60</b> |
| 7.4.1. Etiologia .....   | 60        |
| 7.4.2. Epidemiologia .....   | 60        |
| 7.4.3. Lesões patológicas e sintomas .....                                 | 61        |
| 7.4.4. Métodos de diagnóstico .....  | 62        |
| 7.4.5. Métodos de controlo e prevenção .....                               | 62        |
| <b>7.5 <i>Microcotyle</i> sp.</b> .....                                    | <b>61</b> |
| 7.5.1. Etiologia .....   | 62        |
| 7.5.2. Epidemiologia .....   | 62        |
| 7.5.3. Lesões patológicas e sintomas .....                                 | 62        |
| 7.5.4. Métodos de diagnóstico .....  | 62        |
| 7.5.5. Métodos de controlo e prevenção .....                               | 62        |
| <b>7.6. <i>Sciaenocotyle pancerii</i></b> .....                            | <b>62</b> |
| 7.6.1. Etiologia .....   | 62        |
| 7.6.2. Epidemiologia .....   | 63        |
| 7.6.3. Lesões patológicas e sintomas .....                                 | 63        |
| 7.6.4. Métodos de diagnóstico .....  | 63        |
| 7.6.5. Métodos de controlo e prevenção .....                               | 63        |
| <b>7.7. <i>Sparicotyle chrysophrii</i></b> .....                           | <b>63</b> |
| 7.7.1. Etiologia .....   | 63        |
| 7.7.2. Epidemiologia .....   | 63        |
| 7.7.3. Lesões patológicas e sintomas .....                                 | 64        |
| 7.7.4. Métodos de diagnóstico .....  | 64        |

|  |           |
|--|-----------|
| 7.7.5. Métodos de controlo e prevenção ..... | 64        |
| <b>8. Bibliografia .....</b>                 | <b>69</b> |

## Índice de figuras

- Figura 1** – Exemplar de dourada *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 exibindo sinais clínicos de pasteurolose, com escurecimento do corpo e esplenomegalia [Autoria de: Teresa Baptista, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. .....18
- Figura 2** – Histopatologia de órgãos internos de dourada *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 infetada experimentalmente com *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* McDonell & Colwell, 1986, técnica de coloração Hematoxilina-Eosina (H&E). **(A)** Fígado com áreas de necróticas (asterisco), alguns hepatócitos apresentam núcleos necróticos (setas pretas) e congestão sanguínea, ampliação total de 400x **(B)** Ativação dos centros de melanomacrófagos (círculo vermelho) e células epiteliais nos túbulos renais com núcleos necróticos (setas pretas) no rim anterior, ampliação total de 400x [Autoria de: Damiana Pires, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. .....19
- Figura 3** – Exemplar de robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) exibindo sinais clínicos de tenacibaculose, causada por *Tenacibaculum maritimum* Suzuki, Nakagawa, Harayama & Yamamoto, 2001. (A) Erosão e hemorragia das/nas barbatanas (B) Apodrecimento da cauda [Autoria de: Marina Machado, A2S Saúde Animal e Aquacultura CIIMAR – Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Portugal]. .....22
- Figura 4** – Hemorragias na boca, nas barbatanas pélvicas e peitorais, num robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), infetado com *Listonella anguillarum* (Bergeman, 1909) MacDonell & Colwell, 1985 (antigamente designada como *Vibrio anguillarum* Bergeman, 1909) [Autoria de: Teresa Baptista, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. .....24
- Figura 5** – Histopatologia de órgãos internos de robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) infetado experimentalmente com *Listonella anguillarum* (Bergeman, 1909) MacDonell & Colwell, 1985 (antigamente designada como *Vibrio anguillarum* Bergeman, 1909), técnica de coloração Hematoxilina-Eosina (H&E), ampliação total de 200x. **(A)** Fígado com degeneração associada a esteatose e hemorragias (cabeça de seta). **(B)** Presença de centro de melanomacrófagos (círculos vermelhos) e acumulação de hemossiderina no baço [Autoria de: Damiana Pires, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. .....25
- Figura 6** – Evidências de iridovirose, também designada por linfoquisto ou LDV. **(A)** Quistos semelhantes a “couve-flor”, em toda a superfície da pele e barbatanas de *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 infetada com vírus do linfoquisto [Autoria de: Teresa Baptista, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. **(B)** Corte histológico que mostra células epiteliais hipertrofiadas. Coloração Hematoxilina-Eosina (H&E), ampliação total de 400x [Autoria de: Teresa Baptista, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal; publicada em Costa *et al.*, 1998]. .....36
- Figura 7** – Exemplar de robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) juvenil infetado experimentalmente com vírus da necrose nervosa (VNN), apresentando sinais externos de exoftalmia e

opacidade ocular: **(A)** vista lateral e **(B)** vista dorsal [Autoria de: Mariana Vaz, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. .....39

**Figura 8** – Histopatologia do cérebro de robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) infetado experimentalmente com vírus da necrose nervosa (VNN), técnica de coloração Hematoxilina-Eosina (H&E). **(A)** Mesencéfalo (*tectum* ótico) com neurónios necróticos e vacuolização (setas), vasos hiperémicos (cabeça de seta) e pequenas hemorragias (asterisco), ampliação total de 100x **(B)** Metencéfalo (*cerebellum*) com degeneração e vacuolização de neurónios (setas), ampliação total de 400x [Autoria de: Mariana Vaz, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. .....40

**Figura 9** – Observação a fresco de *Amylodinium ocellatum* (E. Brown) E. Brown & Hovasse, 1946 em brânquias de dourada *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 [Autoria de: Florbela Soares, IPMA - Instituto Português do Mar e da Atmosfera, Portugal]. .....57

**Figura 10** – Presença de *Trichodina* spp. em robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), observados a fresco, ao microscópio óptico composto e evidenciados por círculos vermelhos. **(A)** *Trichodina* spp. livre em meio aquoso, ampliação total de 400x. *Trichodina* spp. fixos na superfície do epitélio das lamelas branquiais de robalo, **(B)** ampliação total de 100x e **(C e D)** 400x [Autoria de: Susana MF Ferreira, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. .....59

**Figura 11** – Presença de *Diplectanum* spp. em robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), observados a fresco, ao microscópio óptico composto. **(A)** *Diplectanum* spp. na superfície do epitélio das lamelas branquiais de robalo, ampliação total de 50x. **(B)** Região anterior do corpo de *Diplectanum* spp., ampliação total de 100x. **(C)** Pormenor das estruturas cefálicas de *Diplectanum* spp., ampliação total de 400x [Autoria de: Susana MF Ferreira, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. .....61

## Lista de abreviaturas e acrónimos

°C – Grau Celsius

% - Percentagem

AO-M - *Anacker-Ordal agar – marinho*

ELISA - Ensaio de imunoabsorção enzimática

F&LG - *Feulgen-light green*

FMM - Meio *Flexibacter maritimus*

H&E – Hematoxilina e Eosina

HIS – Hibridização *in situ*

HRMA – Análise de perfis de dissociação em alta resolução

IHQ - Imunohistoquímica

LAMP - Amplificação isotérmica mediada em *loop*

LBN – Meio Luria-Bertani

MA – Agar Marinho

MECA – Agar marinho enriquecido para *Cytophaga*

MLST – Tipagem por sequenciamento multilocus

MS MALDI-TOF - Espectrometria de massa – MALDI-TOF

NaCl – Cloreto de sódio

NEV – Necrose eritrocítica viral

NNV – Necrose nervosa viral

PAS - *Periodic acid-Schiff*

PCR – Reação em cadeia da polimerase

*Phdp* - *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*

*Phdd* - *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*

PNT - Teste de Neutralização em placa

RGNNV - Vírus da necrose nervosa de *Epinephelus akaara* (Temminck & Schlegel, 1842)

RT-PCR - Reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa

RT-qPCR – Reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa quantitativa

TCBS – Tiosulfato Citrato Sais de BÍlis Sucrose Agar

TSA - Trypticase Soja Agar

VNE - Vírus da necrose eritrocítica

VNN – Vírus da necrose nervosa

VSH – Vírus da septicemia hemorrágica

---

# Introdução

---





## 1. Introdução

A mortalidade de peixes que ocorre nas explorações aquícolas, devida à ação de agentes patogénicos, constitui ainda um dos maiores entraves ao desenvolvimento económico do sector. Tendo em conta a sua origem, as doenças podem subdividir-se em não infecciosas e infecciosas, sendo estas últimas as de maior importância e a principal causa de perdas económicas elevadas. As doenças infecciosas agrupam-se em três categorias, de acordo com a sua etiologia viral, bacteriana e parasítica. Estas doenças são muitas vezes indicadoras de condições fisiológicas e patológicas, resultantes de alimentação inadequada, infeções subclínicas, ou condições ambientais adversas. Quando simultaneamente existem condições favoráveis para a multiplicação do patógeno e condições adversas para os peixes, observa-se o desenvolvimento da doença. Entre as condições adversas que podem diminuir a resposta imune dos peixes cultivados, provocando uma maior predisposição aos patógenos, enumeram-se: densidade elevada, baixos níveis de oxigénio, stress alimentar, stress provocado pelo transporte, acumulação de compostos azotados, alterações de pH, entre outros. Estas situações, tendo em conta as consequências, merecem uma atenção redobrada por parte dos aquicultores.

Para além do impacto direto provocado pela mortalidade dos peixes, as doenças têm outros custos associados, nomeadamente: os custos dos tratamentos, da ração medicada, a diminuição da taxa de conversão alimentar que causa atrasos no crescimento, o custo da recolha e destino dos peixes mortos, além da proibição de comercialização dos peixes durante o intervalo de segurança imposto pela legislação, após administração de medicamentos veterinários.

Com este manual pretende-se descrever as principais patologias de origem bacteriana, viral e parasítica que afetam as espécies de peixe mais produzidas em aquacultura, em Portugal, nomeadamente pregado *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758), dourada *Sparus aurata* Linnaeus, 1758, robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), linguado senegalês *Solea senegalensis* Kaup, 1858 e corvina *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). Serão descritos os agentes infecciosos causadores de doença, bem como os principais sinais clínicos, métodos de diagnóstico e medidas de controlo e prevenção.

Relativamente às medidas de controlo e prevenção, poderão ser referidas algumas substâncias e metodologias frequentemente utilizadas na erradicação do agente patológico, especialmente no que diz respeito a ectoparasitas. É de salientar que estas deverão ser sempre executadas mediante recomendação, prescrição e controlo veterinário, assim como deverá ser respeitada toda a informação constante na legislação em vigor.



---

# Principais patógenos

---





## 2. Principais patógenos

Os principais patógenos, que afetam cada uma das espécies de peixes abordadas neste livro, encontram-se enunciados na Tabela 1.

A presença de patógenos bacterianos é uma forte ameaça para o sector da aquacultura, pelo facto de serem ubíquos, e pela forma como podem ser transmitidos por muitas espécies de peixes selvagens assintomáticos, que vivem nas imediações das instalações aquícolas. O principal sintoma, provocado por este grupo heterogéneo de doenças, é uma súbita anorexia observada nas populações afetadas por bactérias patogénicas. Este sintoma representa o maior obstáculo para a intervenção terapêutica, pois é normalmente realizada através de uma dieta suplementada com substâncias ativas adequadas para eliminar o patógeno. Outro problema associado ao tratamento é o tempo necessário para obter a dieta medicada, depois de definido o diagnóstico. Por outro lado, também existem consequências ambientais e zootécnicas, induzidas pela administração oral de um medicamento veterinário numa população de peixes de cultivo.

Além do potencial risco de desenvolvimento de resistência a antibióticos, por parte das bactérias, e de contaminação ambiental, geralmente associados ao continuado e repetido uso dos mesmos numa determinada exploração, há ainda que considerar as consequências económicas que resultam do intervalo de segurança a respeitar para a venda dos animais, sobretudo no final do ciclo de produção. O sucesso do controlo de um surto patológico, provocado por bactérias, depende de um rápido diagnóstico e de uma correta estratégia de gestão da doença.

O conhecimento epidemiológico do local e a existência de um registo de doenças na exploração aquícola são essenciais para a deteção de sintomas típicos que precedem um surto bacteriano. Assim sendo, é crucial a prevenção destas doenças através de medidas profiláticas. Estas podem ser efetuadas através de um controlo rigoroso dos animais que entram na exploração e, indiretamente, através de estratégias de vacinação e imunoestimulação para as populações de maior vulnerabilidade.

Há muitos erros associados ao tratamento de uma doença bacteriana, sendo os principais: início tardio da terapia, escolha errada do antibiótico ou da sua dosagem, duração inadequada do tratamento, utilização de antibióticos para o tratamento de um surto de doença viral e utilização frequente dos mesmos agentes quimioterápicos em dosagens ineficazes. Um plano de saúde tem por base a prevenção e a monitorização. Dever-se-á recorrer a ferramentas de diagnóstico modernas para uma monitorização do estado de saúde dos juvenis, antes da sua introdução na exploração aquícola e como rastreio de saúde periódico do *stock*.

As doenças virais podem disseminar-se rapidamente e são difíceis de controlar, para além das dificuldades associadas ao seu correto diagnóstico. Assim sendo, a contenção deste tipo de doenças deve focar-se na aplicação de protocolos estabelecidos num plano de biossegurança. Entre as medidas para reduzir a possibilidade de introdução de patógenos de origem viral numa aquacultura, é essencial ter conhecimento do fornecedor dos juvenis e da condição de saúde dos animais, fazendo uma avaliação do estado sanitário dos peixes antes da sua introdução nas novas instalações de produção. Com estes

procedimentos é possível avaliar a presença de patógenos, mesmo quando presentes em forma latente ou assintomática, que podem despoletar surtos depois do stress provocado pelo transporte.

O ambiente de aquacultura é particularmente propício para o estabelecimento de parasitas, em particular as instalações que se caracterizam por terem densidade elevada de produção, um *stock* de peixes com diferentes idades, contacto com espécimes selvagens que habitem nas imediações, elevada concentração de matéria orgânica como resultado da alimentação e de fezes.

As doenças parasitárias têm um impacto negativo nas aquaculturas e a observação de um único macro ou microparásita durante o exame patológico interno e externo, não implica que se faça o correto diagnóstico da doença. Nos estudos de populações selvagens e de peixes de cultivo, a presença de parasitas pertencentes a várias espécies é considerada absolutamente normal. Muitos peixes selvagens, particularmente os maiores, estão sujeitos a diferentes níveis de infeção. Contudo vivem, na maior parte dos casos, em equilíbrio com esses parasitas, sem adoecerem ou manifestarem sintomas de doença. Ainda assim, é completamente diferente quando os peixes de cultivo são sujeitos a condições típicas de um ciclo de produção intensiva. O tipo de parasita, a sua prevalência (percentagem de peixes hospedeiros infetados) e intensidade (número de parasitas por hospedeiro infetado), a resistência do hospedeiro e as condições de cultivo representam alguns elementos que, muito embora estejam equilibrados com o peixe, na maior parte dos casos limitam o seu desempenho zootécnico. As consequências negativas de infestações parasíticas provocam um dano indireto na economia da aquacultura, que muitas vezes é mais importante do que os danos diretos. Muitas doenças provocadas por parasitas caracterizam-se por uma aparente baixa patogenicidade e raramente causam um surto de mortalidade no *stock* afetado. Além disso, há ainda que salientar a extrema dificuldade em aplicar procedimentos terapêuticos direcionados para eliminar parasitas, ou as suas consequências, na maioria dos sistemas de cultivo. O controlo de doenças provocadas por parasitas, em aquacultura, requer uma abordagem baseada no conhecimento sobre o ciclo de vida do parasita, o modo de transmissão e fatores bióticos e abióticos que possam alterar as interações hospedeiro-parasita. Cada grupo de parasitas pode tornar-se um problema, com graves consequências para os cultivos, e todos colocam complexos problemas profiláticos e de gestão. Para algumas unidades de produção, alguns dos parasitas ainda representam o principal problema de doença e são a principal causa de perdas económicas por danos diretos (mortalidade) e, na sua maioria, indiretos (custos do tratamento, etc.). Portanto, é essencial a aplicação de medidas de biossegurança para diminuir os riscos de infeção e surto de doenças provocadas por parasitas.

**Tabela 1** - Principais patógenos que afetam as diferentes espécies de peixes produzidos em Portugal.

| Hospedeiro  | Bactérias  | Vírus   | Parasitas   | Referências   |
|---|--|---|---|---|
| <p>Pregado<br/><i>Scophthalmus maximus</i></p>          | <p><b>Gram-negativas:</b><br/> <i>Aeromonas salmonicida salmonicida</i><br/> <i>Edwardsiella tarda</i><br/> <i>Pseudomonas anguilliseptica</i><br/> <i>Tenacibaculum maritimum</i><br/> <i>Vibrio</i> spp.</p> <p><b>Gram-positivas:</b><br/> <i>Mycobacterium</i> spp.<br/> <i>Nocardia</i> spp.<br/> <i>Streptococcus parauberis</i></p> | <p>Vírus da necrose eritrocítica<br/> Vírus da septicemia hemorrágica<br/> Vírus da necrose nervosa</p> | <p><b>Endoparasitas:</b><br/> <i>Enteromyxum scophthalmi</i><br/> <i>Philasterides dicentrarchi</i></p> <p><b>Ectoparasitas:</b><br/> <i>Amyloodinium ocellatum</i><br/> <i>Trichodina</i> spp.</p> | <p>Durán et al., 1991; Dragesco et al., 1995; Lamas et al., 1995; Iglesias et al., 2001; Dos Santos et al., 2002; Coscelli et al., 2014a; Toranzo et al., 2005; Saraiva, 2011; Park et al., 2012; Vennerström, 2015; Pereiro et al., 2016; Yolanda et al., 2018; Bandín e Souto, 2020</p> |
| <p>Linguado senegalês<br/><i>Solea senegalensis</i></p> | <p><b>Gram-negativas:</b><br/> <i>Aeromonas salmonicida</i><br/> <i>Edwardsiella tarda</i><br/> <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i><br/> <i>Tenacibaculum maritimum</i><br/> <i>Vibrio</i> spp.</p>  | <p>Linfoquistos<br/> Vírus da septicemia hemorrágica<br/> Vírus da necrose nervosa</p>                  | <p><b>Endoparasitas:</b><br/> <i>Enteromyxum scophthalmi</i></p> <p><b>Ectoparasitas:</b><br/> <i>Amyloodinium ocellatum</i><br/> <i>Trichodina</i> spp.</p>  | <p>Arijo et al., 2005; Magariños et al., 2011; Eiras, 2016; Mabrok et al., 2016; Núñez-Díaz et al., 2017; Buján et al., 2018a; Bandín e Souto, 2020</p>   |

**Tabela 1** - Principais patógenos que afetam as diferentes espécies de peixes produzidos em Portugal (continuação).

| Hospedeiro                            | Bactérias   | Vírus  | Parasitas  | Referências   |
|---------------------------------------|---|--|--|---|
| Dourada<br><i>Sparus aurata</i>       | <p><b>Gram-negativas:</b><br/> <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i> (Phdp)<br/> <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>damsela</i> (Phdd)<br/> <i>Pseudomonas anguilliseptica</i><br/> <i>Tenacibaculum maritimum</i><br/> <i>Vibrio</i> spp.</p> <p><b>Gram-positivas:</b><br/> <i>Mycobacterium</i> spp.<br/> <i>Streptococcus agalactiae</i></p> | <p>Linfoquistos<br/> Vírus da necrose nervosa</p>                  | <p><b>Endoparasitas:</b><br/> <i>Cryptosporidium molnari</i><br/> <i>Enteromyxum leei</i></p> <p><b>Ectoparasitas:</b><br/> <i>Amyloodinium ocellatum</i><br/> <i>Diplectanum aequans</i><br/> <i>Microcotyle</i> spp.<br/> <i>Sparycotyle chrysophrii</i><br/> <i>Trichodina</i> spp.</p>   | <p>Doménech et al., 1997;<br/> Evans et al., 2002; Toranzo et al., 2005; Ibarz et al., 2010; Reid et al., 2010; Francis-Floyd e Floyd, 2011; Jun, 2015; Vennerström, 2015; Eiras, 2016; Bandín e Souto, 2020; Davidovich et al., 2020</p>   |
| Robalo<br><i>Dicentrarchus labrax</i> | <p><b>Gram-negativas:</b><br/> <i>Aeromonas salmonicida</i><br/> <i>Edwardsiella tarda</i><br/> <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i><br/> <i>Pseudomonas anguilliseptica</i><br/> <i>Tenacibaculum maritimum</i><br/> <i>Vibrio</i> spp.</p> <p><b>Gram-positivas:</b><br/> <i>Mycobacterium</i> spp.<br/> <i>Streptococcus iniae</i></p>            | <p>Vírus da necrose eritrocítica<br/> Vírus da necrose nervosa</p> | <p><b>Endoparasitas:</b><br/> <i>Cryptosporidium molnari</i><br/> <i>Enteromyxum leei</i><br/> <i>Kudoa dicentrarchi</i><br/> <i>Sphaerospora testicularis</i><br/> <i>Philasterides dicentrarchi</i></p> <p><b>Ectoparasitas:</b><br/> <i>Amyloodinium ocellatum</i><br/> <i>Diplectanum aequans</i><br/> <i>Microcotyle</i> spp.<br/> <i>Trichodina</i> spp.</p> | <p>Sitjà-Bobadilla et al., 1992, 1993; Dragesco et al., 1995; Iglesias et al., 2001; Toranzo et al., 2005; Aamri et al., 2010; Reid et al., 2010; Francis-Floyd e Floyd, 2011; Park et al., 2012; Andreoni et al., 2013; Jun, 2015; Vennerström, 2015; Eiras, 2016; Bandín e Souto, 2020; Davidovich et al., 2020</p> |

**Tabela 1** - Principais patógenos que afetam as diferentes espécies de peixes produzidos em Portugal (continuação).

| Hospedeiro                                      | Bactérias  | Vírus | Parasitas   | Referências   |
|---|--|-------|---|---|
| <p>Corvina</p> <p><i>Argyrosomus regius</i></p> | <p><b>Gram-negativas:</b></p> <p><i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i> (Phdp)</p> <p><i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>damsela</i> (Phdd)</p> <p><i>Tenacibaculum maritimum</i></p> <p><i>Vibrio</i> spp.</p> <p><b>Gram-positivas:</b></p> <p><i>Mycobacterium</i> spp.</p> <p><i>Nocardia</i> spp.</p> |       | <p><b>Ectoparasitas:</b></p> <p><i>Amyloodinium ocellatum</i></p> <p><i>Benedenia sciaenae</i></p> <p><i>Diplectanum sciaenae</i></p> <p><i>Microcotyle</i> spp.</p> <p><i>Sciaenocotyle pancerii</i></p> | <p>Elkesh et al., 2013; Avsever e Ün 2015; Costa et al., 2017; Dingtürk e Tanrikul, 2018; Soares et al., 2018</p> |



---

# Bactérias Gram-negativas

---





## 3. Bactérias Gram-negativas

### 3.1. *Aeromonas* sp.

#### 3.1.1. Etiologia

São bactérias Gram-negativas anaeróbicas facultativas, que pertencem ao género *Aeromonas* Stanier, 1943, e causam a furunculose – uma doença patológica septicémica.

#### 3.1.2. Epidemiologia

Os peixes juvenis e adultos são os mais afetados pela forma crónica de furunculose, com elevadas taxas de mortalidade. Surtos desta doença foram identificados em linguado senegalês, pregado e robalo (Tabela 1).

A doença pode ocorrer sob uma vasta gama de condições ambientais, mostrando a capacidade de adaptação deste grupo de patógenos – *Aeromonas* sp..

#### 3.1.3. Lesões patológicas e sintomas

Os peixes apresentam hemorragias cutâneas na base das barbatanas dorsais e ventrais, necrose das barbatanas, úlceras na superfície ventral, necrose dos tecidos moles, exoftalmia e palidez das brânquias. Os organismos afetados pela forma aguda desta patologia, apresentam escurecimento da pele. Pode ocorrer mortalidade, sem apresentação de sinais clínicos.

#### 3.1.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico da furunculose é geralmente feito por isolamento do patógeno, a partir de lesões cutâneas ou rins de peixes doentes, e é realizado pelo cultivo em agar sangue, ou TCBS, a 22-25°C, durante 48 horas.

Depois de realizados testes bioquímicos, a confirmação pode ser feita através do teste de aglutinação com soro específico e/ou métodos moleculares.

#### 3.1.5. Métodos de controlo e prevenção

O controlo da furunculose por agentes quimioterápicos é muito limitado, devido ao reduzido número de antibióticos licenciados para uso em aquacultura, além do rápido desenvolvimento de resistências dos agentes patógenos a estes antibióticos.

As vacinas comerciais para proteger os peixes contra a furunculose geralmente consistem em *Aeromonas salmonicida* (Lehmann & Neumann, 1896) Griffin, Snieszko & Friddle, 1953 inativada com formaldeído. Também há vacinas polivalentes, incluindo *Vibrio* Pacini, 1854, vírus da necrose pancreática infecciosa, antígenos de *Moritella viscosa* (Lunder et al., 2000) Benediksdóttir et al., 2000 e *A. salmonicida*. A vacinação contra a furunculose é usada há mais de 30 anos na Europa e tem desempenhado um papel essencial na produção em aquacultura, sendo a principal medida preventiva.

## 3.2. *Edwardsiella tarda*

### 3.2.1 Etiologia

*Edwardsiella tarda* Ewing and McWhorter, 1965 é uma bactéria Gram-negativa, flagelada, em forma de bastonete, móvel, anaeróbia facultativa, catalase-positiva. É o agente etiológico da edwardsielose, que provoca septicemia bacteriana.

### 3.2.2. Epidemiologia

A taxa de mortalidade em pregado infetado com esta bactéria é superior em adultos (90-95%), relativamente a juvenis (70-80%). Foram relatados surtos desta doença também em linguado senegalês, pregado e robalo (Tabela 1). Normalmente, condições ambientais desequilibradas (como temperatura elevada da água, má qualidade da água e elevado teor orgânico) são propícias à ocorrência de edwardsielose.

### 3.2.3. Lesões patológicas e sintomas

Os peixes afetados demonstram comportamento anormal, como: movimento em espiral, natação à superfície da água, perda de pigmentação na pele, brânquias pálidas, exoftalmia, opacidade dos olhos, hemorragia petequiral nas barbatanas e pele.

### 3.2.4. Métodos de diagnóstico

Para diagnosticar uma infecção por *E. tarda*, faz-se o isolamento a partir de rim e baço, em placas com meio Luria-Bertani (LBN) suplementado com 1,5% de NaCl, incubando as placas a 28°C, durante 48 horas.

Outros métodos de diagnóstico incluem métodos serológicos, [como testes de aglutinação, ELISA (Ensaio de imunoabsorção enzimática)], e já estão disponíveis protocolos de PCR para a identificação rápida e específica das espécies do género *Edwardsiella*, a partir de tecidos de peixe e culturas puras.

### 3.2.5. Métodos de controlo e prevenção

Para prevenir o aparecimento de surtos associados a *E. tarda* deve recorrer-se a medidas profiláticas. Ainda não existem vacinas comerciais disponíveis para linguado, pregado e robalo. Por isso, a melhor forma de controlar a edwardsielose é monitorizar constantemente a presença desta bactéria nas aquaculturas.

Quanto à terapia a adotar na presença de uma infecção por *E. tarda*, podem ser utilizados antibióticos. No entanto, a resistência aos antibióticos é um problema. Há estudos com imunoestimulantes que têm demonstrado ser eficazes na redução da mortalidade dos peixes.

### 3.3. *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*

#### 3.3.1. Etiologia

*Photobacterium damsela* Love, Teebken-Fisher, Hose, Farmer III, Hickman & Fanning, 1981 está dividida em duas subespécies: *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* McDonell & Colwell, 1986 (*Phdp*) e *Photobacterium damselae* subsp. *damsela* corrig. (Love et al., 1982) Smith et al., 1991 emend. Kimura et al., 2000 (*Phdd*).

*Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, uma bactéria anaeróbia facultativa, nitrato e urease-negativa, sem mobilidade e halofílica. É o agente causador da pasteurelose, também conhecida como fotobacteriose, que é uma septicémia bacteriana.

#### 3.3.2. Epidemiologia

As bactérias *P. damsela* subsp. *piscicida* (*Phdp*) e *P. damsela* subsp. *damsela* (*Phdd*) possuem uma distribuição geográfica global, uma elevada gama de hospedeiros e causam elevada mortalidade. A pasteurelose/fotobacteriose pode afetar os peixes durante todo o ciclo de produção, nomeadamente corvina, dourada, linguado e robalo (Tabela 1).

As formas mais graves ocorrem quando a temperatura da água é superior a 22-23°C. As espécies hospedeiras são mais sensíveis a este patógeno durante a fase larvar, podendo ocorrer taxas de mortalidade superiores a 50% do *stock* afetado. A doença ocorre na forma aguda durante as fases iniciais do ciclo de vida dos animais, que se caracterizam por densidade elevada e temperatura superior a 18°C nos tanques de cultivo, juntamente com desenvolvimento incompleto do sistema imunitário dos peixes.

A presença de várias fontes de infeção (reservatórios naturais, novo *stock*, etc.) e a curta memória imunitária dos *stocks*, que tiveram contacto anterior com este patógeno, contribuem para que a doença se torne endémica, provocando vários surtos durante o ciclo de produção, em zonas com muitas explorações aquícolas.

#### 3.3.3. Lesões patológicas e sintomas

A pasteurelose causada pela *Phdp* pode ocorrer de forma crónica, em que os peixes afetados apresentam poucos ou nenhuns sinais clínicos. Mas, na forma aguda, os sinais clínicos variam consoante a espécie afetada, a temperatura da água e com a administração prévia (ou não) de antibiótico. Na maior parte das vezes, os peixes não exibem comportamentos anormais e a resposta à alimentação é geralmente boa. Muitas vezes, os peixes mortos têm o estômago e o intestino cheios de alimento. A forma aguda desta patologia manifesta-se através de uma septicémia severa, predominante em peixes mais jovens. Pode observar-se regiões hemorrágicas nas brânquias e cabeça, erosão das barbatanas, escurecimento do corpo, esplenomegalia (aumento do tamanho do baço; Figura 1). A forma crónica é caracterizada pela presença de estruturas nodulares brancas, que consistem em nódulos granulomatosos, com cerca de 0,3-0,5 mm de diâmetro, nalguns órgãos internos.



**Figura 1** – Exemplar de dourada *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 exibindo sinais clínicos de pasteurolose, com escurecimento do corpo e esplenomegalia [Autoria de: Teresa Baptista, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal].

As alterações histopatológicas em organismos infetados incluem: a presença de aglomerados bacterianos no parênquima e lúmen do baço, fígado e rim; necrose e hemorragias em vários órgãos; agregação de melanomacrófagos; presença de células inflamatórias; ativação de centros de melanomacrófagos; e congestionamento dos vasos sanguíneos no baço.

Em douradas infetadas experimentalmente com *Phdp* foram observadas alterações em três órgãos internos (Figura 2). No fígado foi possível observar congestão nos vasos sanguíneos, zonas necróticas e alguns hepatócitos com núcleos necróticos (Figura 2A). No rim anterior, as células epiteliais dos túbulos renais apresentavam núcleos necróticos (Figura 2B). No baço foram observadas hemorragias (Figura 2C). A ativação dos centros de melanomacrófagos foi observada no rim anterior e no baço de dourada infetadas com este patógeno (Figura 2B e 2C).

#### 3.3.4. Métodos de diagnóstico

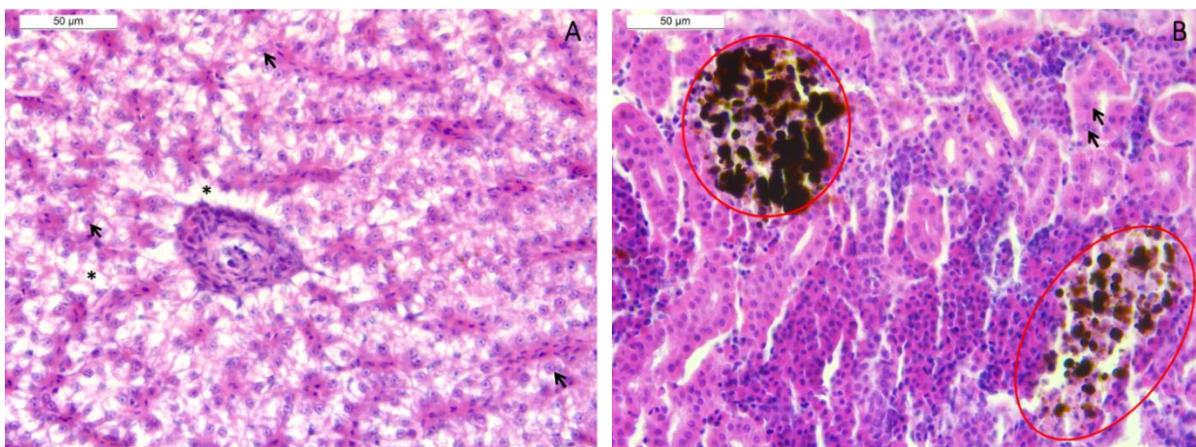
O diagnóstico é feito usando métodos microbiológicos clássicos, baseados no isolamento do patógeno a partir do rim, fígado e baço de peixes infetados, em meios como TSA com 1-3% de NaCl, incubados a 20-25°C, durante 48 horas. Testes bioquímicos, como os sistemas API20E [código 2005004 (*Phdp*) e 2015004 (*Phdp* e *Phdd*)], são geralmente utilizados para uma identificação da subespécie *piscicida*. A confirmação serológica, como aglutinação ou ELISA, também podem ser utilizados para identificar a bactéria. No entanto, é essencial distinguir as duas subespécies. A identificação de *Phdp* continua a ser um grande desafio de diagnóstico, porque existem sequências idênticas de 16S rRNA. No entanto, a distinção entre estas duas subespécies pode ser efetuada a partir do gene *ureC*. Numa análise de PCR, este gene é amplificado na subespécie *Phdp*, mas não na subespécie *Phdd*.

### 3.3.5. Medidas de controlo e prevenção

Ainda não existem vacinas comerciais disponíveis para corvina e linguado, mas já estão disponíveis para dourada e robalo. As vacinas convencionais [bactérias inativadas (por calor ou formaldeído) e antígenos solúveis (lipopolissacarídeos e formulações ribossomais)] têm demonstrado ser eficazes na prevenção da fotobacteriose em juvenis de dourada e robalo. Também estão disponíveis vacinas divalentes, que conferem proteção contra *Phdp* e *Vibrio anguillarum*, que podem ser administradas por imersão ou injeção intraperitoneal.

Para o tratamento com antibióticos apenas está disponível um limitado número de substâncias ativas autorizadas. Além disso, é comum ocorrerem surtos recorrentes, em locais onde a doença é endémica.

A melhor prática para prevenir a fotobacteriose é o rastreio sanitário dos animais para povoamento, antes de entrarem nas explorações aquícolas. Evitar repovoar durante os meses de verão, período mais propício ao desenvolvimento da doença. É crucial minimizar qualquer forma de stress no *stock* afetado e retirar os peixes mortos do tanque diariamente, e até várias vezes por dia.



**Figura 2** – Histopatologia de órgãos internos de dourada *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 infetada experimentalmente com *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* McDonell & Colwell, 1986, técnica de coloração Hematoxilina-Eosina (H&E). **(A)** Fígado com áreas de necróticas (asterisco), alguns hepatócitos apresentam núcleos necróticos (setas pretas) e congestão sanguínea, ampliação total de 400x. **(B)** Ativação dos centros de melanomacrófagos (círculo vermelho) e células epiteliais nos túbulos renais com núcleos necróticos (setas pretas) no rim anterior, ampliação total de 400x [Autoria de: Damiana Pires, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal].

## 3.4. *Pseudomonas anguilliseptica*

### 3.4.1. Etiologia

*Pseudomonas anguilliseptica* Wakabayashi & Egusa, 1972 é uma bactéria aeróbia, Gram-negativa, citocromo-oxidase e catalase positiva, em forma de bastonete, originalmente descrita como o agente etiológico da doença da mancha vermelha, uma septicemia hemorrágica também denominada *Sekiten-bio*, que ocorreu na enguia-Japonesa *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel, 1846, cultivada no Japão.

### 3.4.2. Epidemiologia

No inverno de 1995-1996, num surto de doença de inverno em douradas cultivadas em Espanha e em Portugal, foi isolada *P. anguilliseptica* em amostras de cérebro. Surtos desta doença já foram reportados em dourada, pregado e robalo (Tabela 1). A síndrome da doença de inverno tem duas fases: a primeira é chamada de "primeiro inverno" e está associada à mortalidade crónica (cumulativa até 5%), de dezembro a fevereiro-março, principalmente a temperaturas inferiores a 12°C; a segunda é conhecida como "segundo inverno" e está relacionada com a presença de infeções com *P. anguilliseptica*, em que ocorrem surtos agudos de mortalidade nos primeiros meses de primavera (março e abril), quando há um aumento da temperatura da água para 15-17°C. Esta doença afeta dourada entre 100-400 g.

### 3.4.3. Lesões patológicas e sintomas

Os peixes afetados com a doença da mancha vermelha apresentam natação lenta e errática, de lado, à superfície da água, antes de irem para o fundo do tanque. Morrem 1-2 dias após o aparecimento deste comportamento. Podem apresentar também distensão abdominal (observando-se líquido ascítico na cavidade geral), fígado pálido, rim hemorrágico, intestino congestionado com exsudado amarelo, petéquias hemorrágicas na pele e nos órgãos internos.

As principais alterações histopatológicas são observadas no fígado (desde esteatose – acumulação de gordura no interior das células - à degeneração dos hepatócitos), pâncreas (atrofia, degeneração, e infiltração de granulócitos), músculo (degeneração granular e necrose), intestino (hiperplasia da mucosa intestinal, edema na lâmina própria, aparecimento de áreas inflamadas e/ou mesmo necróticas) e, em alguns casos, também no rim (hipoplasia do tecido hematopoiético). As lesões também podem ser encontradas no cérebro (presença de meningite e gliose no *tectum opticum*) na fase do "segundo inverno".

### 3.4.4. Métodos de diagnóstico

Para diagnosticar uma infeção por *P. anguilliseptica* são usados procedimentos microbiológicos clássicos. No entanto, o diagnóstico é difícil porque esta bactéria cresce lentamente, apenas em meios com sangue, a 15-20°C, após 3-4 dias de incubação.

Os testes bioquímicos (como os sistemas comerciais API20NE e APIZYM) podem ser utilizados para identificar *P. anguilliseptica*. Além disso, técnicas moleculares (como o PCR) são utilizadas para o diagnóstico específico.

### 3.4.5. Métodos de controlo e prevenção

Normalmente, o tratamento é feito com recurso a antibióticos. Contudo, alguns estudos têm sugerido a utilização de imunostimulantes, como medida profilática para evitar o uso de antibióticos e contrapor a falta de apetite dos peixes. Relativamente à vacinação, ainda não existem vacinas comerciais disponíveis para as espécies afetadas.

## 3.5. *Tenacibaculum maritimum*

### 3.5.1. Etiologia

*Tenacibaculum maritimum* Suzuki, Nakagawa, Harayama & Yamamoto, 2001 é uma bactéria Gram-negativa, aeróbia obrigatória, filamentosa, catalase e oxidase-positiva. É o agente etiológico da tenacibaculose, anteriormente denominada de flexibacteriose marinha.

### 3.5.2. Epidemiologia

*Tenacibaculum maritimum* foi descrita pela primeira vez num surto epizoótico em pargo-japonês *Pagrus major* (Temminck & Schlegel, 1843) e sargo-dourado *Acanthopagrus schlegelii* (Bleeker, 1854), em Hiroshima, Japão. Afeta principalmente larvas e juvenis de várias espécies de peixes cultivados, mas pode afetar também adultos numa escala menor. Esta patologia afeta todas as espécies cultivadas em Portugal, que serviram de base para o trabalho publicado neste livro (Tabela 1).

Relativamente a fatores ambientais, a prevalência e a severidade da doença aumentam quando a temperatura excede 15-16°C. Além disso, a doença também é influenciada por vários fatores, tais como: a carga microbiana do meio aquático, o pH e a salinidade. Relativamente ao hospedeiro, a sua resistência e a condição geral dos exemplares afetados devem ser avaliadas.

Muito importante são também todos os outros fatores associados à atividade produtiva, nomeadamente as manipulações, muito frequentes nas primeiras fases do cultivo. Particularmente, operações que ocorrem durante os primeiros meses do processo de cultivo (tais como: seleção, transferência e transporte), podem provocar lesões, que se tornam num ponto de entrada ideal para esta bactéria. O transporte dos peixes representa um dos momentos com maior risco, englobando a carga e a descarga de juvenis nos tanques.

### 3.5.3. Lesões patológicas e sintomas

Uma infeção com *T. maritimum* é caracterizada principalmente por lesões externas, que são erosivas e ulcerativas, tendo diferentes características dependendo da espécie afetada e do seu tamanho (Figura 3). Podem enumerar-se erosão e hemorragias à volta da boca, barbatanas erodidas (Figura 3A) e apodrecimento da cauda (Figura 3B). Estas lesões na pele, que são típicas da tenacibaculose, frequentemente representam a porta de entrada para outras bactérias e parasitas. Se a infeção se tornar sistémica, vários órgãos internos podem ser afetados.

Pregados infetados mostraram alterações histopatológicas, tais como: necrose nas matrizes musculares superficiais, úlceras, escamas separadas com células inflamatórias e líquido edematoso, perda de epiderme, derme e hipoderme.

Robalos infetados mostraram hiperemia, miocitose intersticial e degeneração miofibrilar da pele e músculo branco, descamação epitelial, hemorragia nos arcos branquiais, edemas e infiltrações de células inflamatórias.



**Figura 3** – Exemplar de robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) exibindo sinais clínicos de tenacibaculose, causada por *Tenacibaculum maritimum* Suzuki, Nakagawa, Harayama & Yamamoto, 2001. **(A)** Erosão e hemorragia das/nas barbatanas. **(B)** Apodrecimento da cauda [Autoria de: Marina Machado, A2S Saúde Animal e Aquacultura CIIMAR – Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Portugal].

#### 3.5.4. Métodos de diagnóstico

Esta patologia pode ser diagnosticada através de vários métodos, nomeadamente: observação de preparações frescas de brânquias ou lesões, ao microscópio ótico composto. Também pode ser feita através do isolamento a partir de lesões cutâneas de peixes infetados em meio FMM (meio *Flexibacter maritimus*), MECA (agar *Cytophaga* marinho enriquecido), MA (agar marinho), após incubação a 19-25°C, durante 48-72 horas e em AO-M (agar Anacker-Ordal marinho), a 15-34°C, durante 2-5 dias.

Para o diagnóstico da tenacibaculose podem ser utilizados testes bioquímicos, como as galerias [API-ZYM, API 20E (código 000200410) e API 50CH] e técnicas moleculares (como PCR).

### 3.5.5. Métodos de controle e prevenção

O uso de banhos com desinfetante é a prática comum para o tratamento destas bactérias *T. maritimum* externas. A esterilização da água, o desenvolvimento de técnicas de produção, cuidados de manejo reforçados, juntamente com a aplicação de regras de higiene podem contribuir para uma redução da incidência desta doença bacteriana. Isto porque, na maioria das vezes, estes episódios surgem após o transporte e descarga de peixes, em explorações caracterizadas por teor elevado de matéria orgânica e temperaturas elevadas da água. Nestes casos, a doença surge alguns dias depois da translocação dos peixes e as lesões concentram-se sobretudo no pedúnculo caudal, podendo levar à total erosão da cauda. Mais uma vez, a remoção dos animais moribundos e dos mortos é essencial para evitar a disseminação da infecção para os outros peixes. A forma mais eficaz de prevenção contra este patógeno é a manipulação correta dos peixes, de forma a evitar a formação de lesões traumáticas, que são o primeiro fator predisponente para a colonização.

Ainda não existem vacinas comerciais disponíveis para corvina, dourada, linguado e robalo. Para pregado, existe a ICTHIOVAC TM, uma vacina injetável com *T. maritimum* inativado.

## 3.6. *Vibrio* spp.

### 3.6.1. Etiologia

As bactérias do género *Vibrio* Pacini, 1854 - os principais agentes etiológicos da vibriose - são bactérias Gram-negativas, bastonetes em forma de vírgula, móveis, com flagelo polar. São cosmopolitas nos ecossistemas marinhos e estuarinos, bem como em explorações aquícolas. Existem várias espécies na família Vibrionaceae, que afetam os peixes marinhos cultivados no sul da Europa, especialmente *Vibrio anguillarum* Bergeman, 1909 [cujo nome científico agora aceite é *Listonella anguillarum* (Bergeman, 1909) MacDonell & Colwell, 1985], *Vibrio alginolyticus* (Miyamoto, Nakamura & Takizawa, 1961) Sakazaki, 1968, *Vibrio harveyi* (Johnson & Shunk, 1936) Baumann & Baumann, 1981 e *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino, Okuno, Nakada, Aoyama, Fukai, Mukai & Ueho, 1951) Sakazaki, Iwanami & Fukumi, 1963.

No que respeita a *L. anguillarum*, foram identificados um total de 23 serotipos, mas apenas os serotipos O1, O2 e O3 (com menor frequência) foram descritos como sendo patogénicos para os peixes.

### 3.6.2. Epidemiologia

A vibriose pode afetar peixes em todas as fases do seu ciclo de vida. Esta patologia afeta todas as espécies descritas neste livro (Tabela 1). A doença é caracterizada por estar associada a mortalidade elevada, sobretudo na fase juvenil. Mas, pode ser um problema económico grave, quando afeta peixes no final do ciclo de produção.

Tal como acontece com outras doenças, um surto de vibriose está relacionado com imunossupressão, em sequência de uma situação de stress. Um dos fatores que despoleta a doença é a oscilação da temperatura no ambiente aquático, que ocorre mais frequentemente em determinadas alturas do ano (primavera e outono). Em zonas com uma elevada densidade de explorações aquícolas, pode ocorrer reinfeção contínua, ou infeção subclínica (pronta para se tornar em clínica, como consequência de um evento muito stressante).

### 3.6.3. Lesões patológicas e sintomas

Os principais sinais clínicos de vibriose consistem em lesões hemorrágicas no corpo, sendo visíveis hemorragias na base das barbatanas peitorais e boca (Figura 4). Internamente, observam-se hemorragias hepáticas, esplenomegalia com congestão, escurecimento do órgão e enterite hemorrágica.



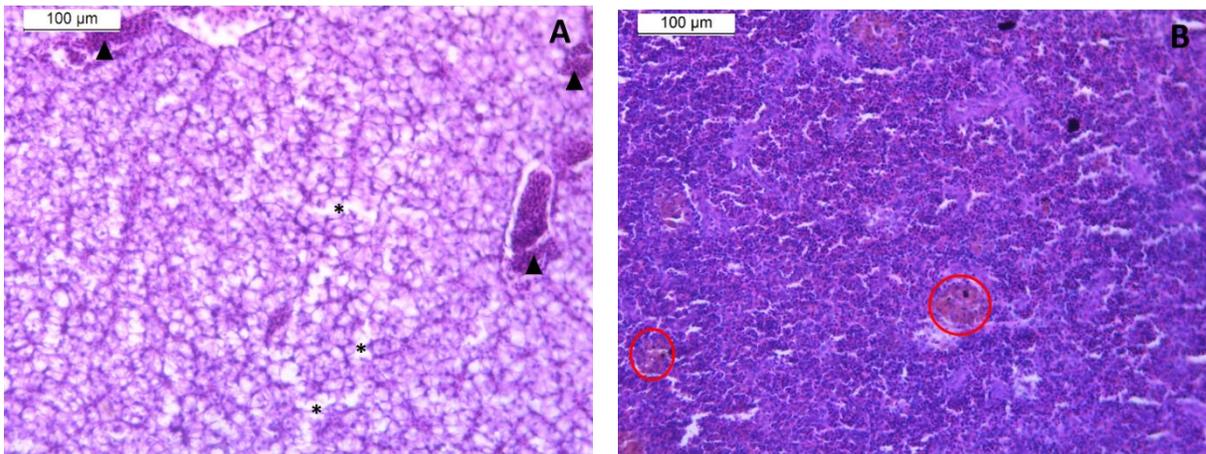
**Figura 4** – Hemorragias na boca, nas barbatanas pélvicas e peitorais, num robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), infetado com *Listonella anguillarum* (Bergeman, 1909) MacDonell & Colwell, 1985 (anteriormente designada como *Vibrio anguillarum* Bergeman, 1909) [Autoria de: Teresa Baptista, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal].

As lesões histológicas típicas causadas pelas espécies de *Vibrio* incluem necrose hemorrágica, que afeta particularmente o fígado e o rim. Normalmente, congestão, hemorragias e ectasia vascular podem ser observadas no fígado. No rim, observa-se a degeneração tubular, hemorragias e a infiltração de células inflamatórias. Na Figura 5 estão representadas alterações histopatológicas no fígado e no baço de robalo infetado experimentalmente com *L. anguillarum*. No fígado é possível observar uma degeneração associada a esteatose e hemorragias (Figura 5A), enquanto no baço observa-se a presença de centros de melanomacrófagos e acumulação de hemossiderina (que é um pigmento resultante da degradação de hemácias; Figura 5B).

### 3.6.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico tradicional da vibriose inclui a observação de sinais clínicos. O isolamento desta bactéria é feito a partir de órgãos internos, como o baço, fígado rim, cultivados em TCBS, após 48 horas de incubação a 20°C.

Os testes bioquímicos podem ser realizados com API 20E (404712456/ 404712457–*V. alginolyticus*; 434612557–*V. harveyi*; 414610657–*V. parahaemolyticus*). São utilizados métodos serológicos e moleculares para diagnóstico.



**Figura 5** – Histopatologia de órgãos internos de robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) infetado experimentalmente com *Listonella anguillarum* (Bergeman, 1909) MacDonell & Colwell, 1985 (antigamente designada como *Vibrio anguillarum* Bergeman, 1909), técnica de coloração Hematoxilina-Eosina (H&E), ampliação total de 200x. **(A)** Fígado com degeneração associada a esteatose e hemorragias (cabeça de seta). **(B)** Presença de centro de melanomacrófagos (círculos vermelhos) e acumulação de hemossiderina no baço [Autoria de: Damiana Pires, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal].

### 3.6.5. Métodos de controlo e prevenção

As vacinas contra a vibriose são, na sua maioria, bacterinas (emulsão de bactérias) inteiras inativadas para administração por imersão ou injeção intraperitoneal.

Existe uma vacina de imersão comercial para pregado, a ICTHIOVAC VR, à base dos serotipos O1, O2 $\alpha$  e O2 $\beta$  inativados.

Atualmente, existem várias vacinas para robalo, como: ALPHA DIP 2000, AQUAVAC VIBRIO PASTEURILLA e ICTHIOVAC VR/PD - vacinas divalentes que conferem proteção contra *L. anguillarum* e *Phdp* e que podem ser administradas por imersão ou por injeção intraperitoneal; ALPHA DIP VIB - administrada por imersão ou por injeção intraperitoneal; ALPHA JECT 2000 - administrada por injeção; AQUAVAC VIBRIO ORAL - administrada oralmente; e VIBRI-FISHVAX - vacina divalente que confere proteção contra *L. anguillarum* e

## Bactérias Gram-negativas

*Vibrio ordalii* Scheiwe, Trust & Crosa, 1981, e que pode ser administrada por imersão ou por injeção intraperitoneal (e que também pode ser administrada em dourada).

Ainda não existem vacinas comerciais disponíveis para corvina e linguado.

---

# Bactérias Gram-positivas

---





## 4. Bactérias Gram-positivas

### 4.1. *Mycobacterium* spp.

#### 4.1.1. Etiologia

*Mycobacterium* spp. são bactérias Gram-positivas aeróbicas imóveis, em forma de bacilos pleomórficos (embora a forma varie de acordo com o ciclo de vida). Estas são causadoras da micobacteriose, uma doença crónica progressiva. É uma doença zoonótica, ou seja, transmissível ao Homem através da água contaminada e animais infetados. Apenas três espécies de *Mycobacterium* spp. foram descritas em peixes: *Mycobacterium marinum* Aronson, 1926, além de outras duas que recentemente mudaram de posição taxonómica e respetivo nome científico [*Mycolicibacterium fortuitum* (da Costa Cruz, 1938) Gupta et al., 2018 e *Mycobacteroides chelonae* (Bergey et al., 1923) Gupta et al., 2018].

#### 4.1.2. Epidemiologia

O primeiro caso de micobacteriose foi descrito em 1897, em carpa *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758. Atualmente sabe-se que esta patologia afeta corvina, dourada, pregado e robalo (Tabela 1).

Condições ambientais e fatores de stress (como: elevadas densidades de produção, redução de pH e níveis reduzidos de oxigénio dissolvido na água) contribuem para o desenvolvimento desta infeção, o que provoca perdas significativas em aquacultura.

A transmissão pode ocorrer através de canibalismo de peixes infetados e também através de lesões abertas na pele dos peixes.

#### 4.1.3. Lesões patológicas e sintomas

A micobacteriose por vezes não manifesta sinais clínicos. Mas quando o faz, podem ser observados nos olhos, brânquias, órgãos viscerais, musculatura e barbatanas. Estes sinais clínicos são menos evidentes na forma crónica de infeção.

A lesão típica causada é uma inflamação granulomatosa. Microscopicamente, estes granulomas são caracterizados por uma área central necrótica, englobada por macrófagos, células epiteliais e tecido conjuntivo fibroso. Estes granulomas são encontrados principalmente no baço, fígado e rim. No entanto, podem espalhar-se para todos os órgãos, em casos mais avançados. Os sinais clínicos externos incluem lesões dérmicas, alterações de pigmentos, emaciação, exoftalmia, comportamento natatório anormal, perda de escamas, problemas reprodutivos e ascites.

#### 4.1.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico de micobacteriose, é feito pelo cultivo a partir de tecidos infetados em meios de cultura (como Middlebrook 7H10 ou Lowenstein-Jensen), sendo o crescimento lento. A confirmação é feita por métodos bioquímicos, imunohistoquímica e por PCR. Este último permite um diagnóstico rápido desta patologia.

#### 4.1.5. Métodos de controlo e prevenção

A estratégia mais utilizada para controlar a micobacteriose consiste na eliminação de todo o *stock* de peixes afetado e na desinfecção das instalações. Contudo, algumas desinfecções podem não ser bem-sucedidas no controlo desta doença, devido à resistência das micobactérias aos desinfetantes comuns.

Ainda não existem vacinas comerciais disponíveis para corvina, dourada, pregado e robalo.

## 4.2. *Nocardia* spp.

### 4.2.1. Etiologia

*Nocardia* spp. são bactérias patogénicas Gram-positivas, aeróbicas, catalase-positivas, sem mobilidade. Estas podem ser encontradas no solo, água, ar, plantas em decomposição e fezes de animais. Está intimamente relacionada com *Mycobacterium* spp. São as causadoras da nocardiose, uma zoonose infecciosa granulomatosa crónica, vulgarmente conhecida como doença nodular.

### 4.2.2. Epidemiologia

Quatro espécies patogénicas de *Nocardia* Trevisan, 1889 foram isoladas de peixes e moluscos infetados, nomeadamente *Nocardia asteroides* (Eppinger, 1891) Blanchard, 1896, *Nocardia seriolae* Kudo et al., 1988, *Nocardia salmonicida* (ex Rucker, 1949) Isik et al., 1999 e *Nocardia crassostreae* Friedman et al., 1998.

*Nocardia* spp. afetam pregado e corvina.

Fatores (como o stress ou lesões físicas) tornam os peixes mais suscetíveis à nocardiose. Esta doença tem vindo a aumentar em peixes cultivados. No entanto, os mecanismos de disseminação ainda são pouco conhecidos. Estas bactérias podem estar latentes no ambiente e proliferar somente quando os peixes apresentam lesões. Corvinas com 1 e 2 anos apresentaram uma baixa taxa de morbilidade e mortalidade (1-4%).

### 4.2.3. Lesões patológicas e sintomas

Geralmente, os sintomas da nocardiose em peixes não se manifestam numa fase inicial, pelo que a infeção nos tecidos ocorre gradualmente. Contudo, quando ocorre a manifestação de sinais clínicos, estes consistem em natação errática, anorexia e letargia. Além disso, lesões na pele (erosão e ulceração), pequenos nódulos brancos a amarelos, lesões granulomatosas nas brânquias e em órgãos internos (rim, fígado, baço e coração) podem estar presentes em peixes afetados por esta patologia.

Através da histopatologia de peixes infetados com *Nocardia* spp., podem observar-se lesões crónicas sob a forma de granulomas, consistindo em agregações de macrófagos que se diferenciam em células epitelióides. Estas inicialmente demarcam as colónias bacterianas e, à medida que a inflamação progride, a área central torna-se necrótica.

#### 4.2.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico desta doença pode ser realizado por PCR e LAMP, em vez do isolamento e cultura de bactérias a partir de tecidos de peixes infetados.

#### 4.2.5. Métodos de controlo e prevenção

A nocardiose é tratada recorrendo à utilização de antibióticos. No entanto, o uso antibióticos tem desvantagens, como o custo elevado e o desenvolvimento de resistência bacteriana. De momento, não existe nenhuma vacina comercial disponível para as espécies afetadas, nomeadamente corvina e pregado. Assim, a melhor forma para controlar surtos desta patologia é evitar fatores stressantes, optar por boas práticas de produção e fomentar o bem-estar animal.

### 4.3. *Streptococcus* spp.

#### 4.3.1. Etiologia

*Streptococcus* spp. são bactérias Gram-positivas, catalase-negativas, que têm forma de cocos e causam a estreptococose. Estas podem ser  $\alpha$ -,  $\beta$ - ou não hemolíticas. As infeções estreptocócicas devem ser consideradas como um conjunto de doenças semelhantes, que incluem estreptococos, enterococos, lactococos e vagococos.

Nas espécies de peixe produzidas no sul da Europa, apenas algumas estão associadas a doenças, nomeadamente: *Streptococcus iniae* Pier and Madin, 1976 em robalo, *Streptococcus parauberis* Williams and Collins, 1990 em pregado e *Streptococcus agalactiae* Lehmann and Neumann, 1896 em dourada.

#### 4.3.2. Epidemiologia

Esta patologia septicémica foi descrita inicialmente em truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) cultivada no Japão, em 1957. Afeta espécies selvagens e de cultivo, inclusive dourada, robalo e pregado (Tabela 1). Esta patologia tem consequências económicas graves, com mortalidade entre 30-50%. Foi documentado um surto com 10% de mortalidade em dourada. Peixes de todas as idades são sensíveis à infeção. Por isso, os peixes têm de ser protegidos em todas as fases do ciclo de vida, durante todo o processo de cultivo.

As infeções são mais severas durante o verão. Além do aumento da temperatura da água, uma série de stressores e fatores associados ao hospedeiro podem influenciar a ocorrência desta doença. O principal reservatório deste patógeno é o ambiente, em particular, a água e os sedimentos junto às produções aquícolas. Há transmissão horizontal que ocorre através da água, especialmente na presença de microlesões ou abrasões, que alteram a integridade das membranas mucosas.

#### 4.3.3. Lesões patológicas e sintomas

Os sinais clínicos mais frequentes são o comportamento anormal (incluindo natação errática em espiral ou giratória), opacidade dos olhos, exoftalmia, hemorragias externas (à volta do olho, na base das barbatanas e dos opérculos) e hemorragias internas. Algumas espécies de estreptococos colonizam o

cérebro e o sistema nervoso, explicando a frequente natação errática. Os peixes com doença clínica mostram lesões na pele, cobertas com muco esbranquiçado, e até mesmo úlceras cutâneas profundas. A necropsia mostra o estômago vazio, o intestino distendido e cheio com fluido, esplenomegalia e a bexiga gasosa distendida. As brânquias apresentam-se anêmicas, com várias áreas necróticas.

As alterações histológicas dos peixes infetados com *Streptococcus* spp. podem incluir a infiltração de macrófagos nos ventrículos e artéria bulbosa, a infiltração de macrófagos necróticos e precipitação de fibrinos nos tecidos. No cérebro, pode haver congestão, desprendimento das paredes e dilatação dos vasos sanguíneos. No olho, pode observar-se a separação e a rutura das fibras lenticulares, a proliferação de fibroblastos no córtex lenticular e a formação de vacúolos, juntamente com a disseminação de bactérias no músculo oculomotor, tecido adiposo orbital e córnea.

#### 4.3.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico de *Streptococcus* spp. é geralmente feito por isolamento a partir do inóculo dos órgãos internos (baço, rim e cérebro), usando meios como agar sangue, TSA (com a adição de 1% de levedura e 0,5% de glucose) ou BHIA. A incubação é geralmente de 48 horas, a 25-30°C.

*Streptococcus* spp. podem ser identificadas utilizando métodos moleculares como PCR, PCR multiplex, LAMP e MLST (tipagem por sequenciamento *multilocus*).

#### 4.3.5. Métodos de controlo e prevenção

Ainda não existem vacinas comerciais disponíveis para dourada e robalo. Atualmente, apenas está disponível uma vacina comercial, injetável para a aquicultura (ICTHIOVAC STR), e que induz imunidade protetora contra *Streptococcus parauberis* em pregado. As boas práticas de gestão, limpeza e higiene nas unidades aquícolas, juntamente com fornecimento de alimento de elevada qualidade, são condições cruciais para uma profilaxia eficaz. Os tratamentos com antibiótico são frequentemente ineficazes devido à falta de apetite, que caracteriza os peixes afetados, e ao desenvolvimento de resistência bacteriana.

---

---

# Virus





## 5. Vírus

### 5.1. Vírus do linfoquisto

#### 5.1.1. Etiologia

O agente etiológico pertence à família Iridoviridae e ao género *Lymphocystivirus*. Os vírus desta família são grandes icosaedros, com diâmetro entre 200-230 nm, podem ter envelope e possuem DNA de cadeia dupla. Uma das características distintivas desta família é a presença de um gene MCP (proteína capsídica principal), que é o principal componente estrutural das partículas virais.

A doença causada por este vírus é uma iridovirose, designada por linfoquisto ou LDV.

#### 5.1.2. Epidemiologia

Os juvenis são mais os suscetíveis a terem esta doença. Este vírus afeta a dourada e o linguado (Tabela 1). É uma doença autolimitada, em que os indivíduos afetados não têm recorrência dos sinais clínicos depois de terem recuperado da doença.

Pode disseminar-se horizontalmente entre peixes infetados e suscetíveis. Quanto à transmissão vertical, muito embora não tenha sido ainda comprovada cientificamente, pensa-se que os reprodutores portadores possam libertar partículas virais infecciosas, contaminando a água e os gâmetas durante a sua libertação. O desenvolvimento de sinais clínicos, a severidade das lesões, a rapidez da sua formação e o tempo necessário para a remissão dos sintomas são fortemente influenciados tanto por fatores ambientais e zootécnicos (temperatura da água, manipulação dos peixes, stress associado ao transporte, etc.), como por fatores associados ao tamanho dos peixes. Por exemplo, o período de maior suscetibilidade da dourada corresponde a peixes de dimensão entre as 2-10g. A morbilidade é muito variável e é influenciada por todos os fatores referidos. A mortalidade é considerada marginal na ausência de outras complicações ou de outros patógenos. Se concomitantemente estiverem a ser afetados por outro patógeno, por exemplo Phdp, a mortalidade é muito superior.

#### 5.1.3. Lesões patológicas e sintomas

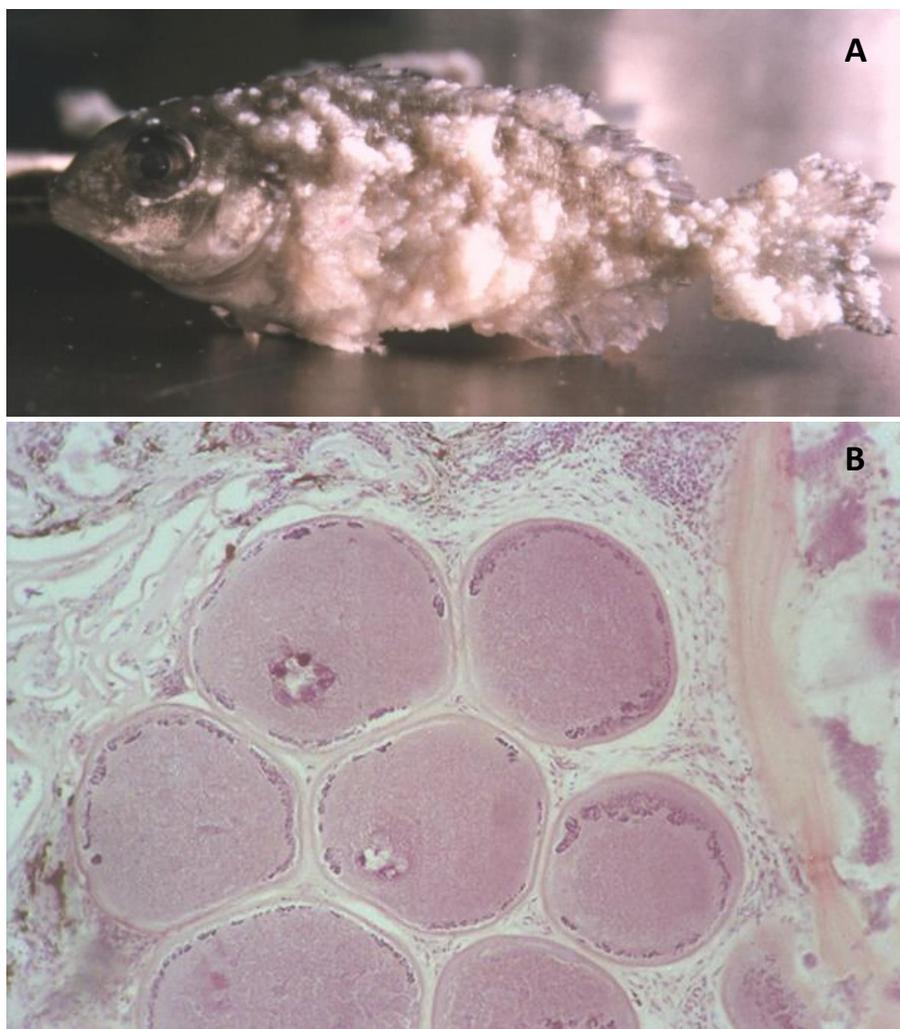
Os peixes afetados apresentam sintomatologia externa - como o aparecimento de nódulos semelhantes a “couve-flor”, constituídos por células dérmicas extremamente hipertrofiadas, separadamente ou em grupos, que geralmente se desenvolvem na superfície da pele e das barbatanas (Figura 6).

Por vezes, as lesões ocorrem também na boca, podendo causar alterações no comportamento alimentar.

A natureza benigna desta doença deve-se ao facto de ser possível a remissão completa dos sintomas, após a fase clínica. Já durante a fase sintomática, pela presença de quistos, os peixes apresentam dificuldades na natação.

Considerando a extrema sensibilidade mostrada na pele dos exemplares afetados, especialmente na fase aguda, todas as formas de manipulação necessárias para um correto manuseio de um *stock* de

douradas juvenis tornam-se praticamente inoportunas. A necessidade de atrasar operações (como triagens, transferência e transporte) inevitavelmente levam a uma grande disparidade dos peixes no *stock*, com canibalismo associado, ou a dificuldades em avaliar a correta taxa de alimentação. O transporte de *stock* afetado, se efetuado durante a fase latente (mas assintomática) da doença, irá manifestar-se na forma de lesões, poucos dias depois dos animais serem transportados, acarretando consigo graves consequências.



**Figura 6** – Evidências de iridovirose, também designada por linfoquisto ou LDV. **(A)** Quistos semelhantes a “couve-flor”, em toda a superfície da pele e barbatanas de *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 infetada com vírus do linfoquisto [Autoria de: Teresa Baptista, MARE – Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal]. **(B)** Corte histológico que mostra células epiteliais hipertrofiadas. Coloração Hematoxilina-Eosina (H&E), ampliação total de 400x [Autoria de: Teresa Baptista, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal; publicada em Costa *et al.*, 1998].

#### 5.1.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico clínico de linfocitose baseia-se na observação macroscópica do crescimento de estruturas na pele, em forma de couve-flor, histologia da pele e isolamento do vírus em linhas celulares. Contudo, os métodos de diagnóstico são todos muito limitados, devido à sua baixa sensibilidade. Geralmente, apenas confirmam a presença do patógeno durante a ocorrência de um surto.

Com os avanços em biotecnologia, já foram desenvolvidos protocolos moleculares (sobretudo PCR) para detectar a presença do patógeno em espécimes assintomáticos, inclusive através da recolha de amostras não invasivas (barbatana).

#### 5.1.5. Métodos de controlo e prevenção

Ainda não existem vacinas comerciais disponíveis para dourada, nem linguado. Nem outras medidas terapêuticas. Então, a solução mais eficaz para a gestão desta patologia baseia-se em medidas de biossegurança, protocolos de avaliação da saúde dos animais em cultivo e gestão de fatores stressantes. A rápida confirmação da presença deste patógeno, obtida através de técnicas moleculares, pode fornecer um suporte técnico-científico para a seleção do *stock*, identificando os animais portadores do vírus.

## 5.2. Vírus da necrose eritrocítica (VNE)

### 5.2.1. Etiologia

O vírus da necrose eritrocítica é um vírus não cultivável. Foi proposto ser incluído num sexto género pertencente à família Iridoviridae, junto com outros vírus eritrocíticos de hospedeiros ectotérmicos – *Iridovirus*. Este vírus é o agente etiológico responsável por induzir uma patologia em peixes marinhos e anádromos, conhecida por necrose eritrocítica viral (VNE, designada também como necrose eritrocítica piscina), que induz anomalias nos eritrócitos.

### 5.2.2. Epidemiologia

Esta doença afeta pregado e robalo (Tabela 1), causando importantes perdas económicas. Peixes infetados com este vírus, podem apresentar vários níveis da doença, relacionados com a intensidade da infeção e também com a suscetibilidade do hospedeiro.

Além disso, a temperatura também pode ser um fator determinante na gravidade da doença por iridovírus. A temperaturas inferiores a 20°C, os vírus da família Iridoviridae podem permanecer inativos nos hospedeiros teleósteos. Normalmente, quando há um aumento da temperatura, ocorre um aumento da mortalidade nos peixes infetados.

Infeções secundárias e stressores ambientais (como baixa salinidade e baixo nível de oxigénio dissolvido) contribuem para um aumento da mortalidade, se ocorrerem em simultâneo com esta infeção.

### 5.2.3. Lesões patológicas e sintomas

Os sinais típicos de VNE consistem em anemia, brânquias pálidas, sangue mais liquefeito e hiperplasia hematopoiética, juntamente com hemossiderose (acúmulo excessivo de depósitos de ferro) dos centros

de melanomacrófagos, e palidez dos órgãos viscerais. Em casos mais graves, o hematócrito pode ser muito baixo (2-10%). É possível observar anomalias graves nos eritrócitos, em esfregaços de sangue.

#### 5.2.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico de VNE pode ser feito com base nos sinais clínicos de anemia e por observação de esfregaços de sangue corados com Giemsa ou Wright, através de microscopia ótica, para procurar a presença de corpos de inclusão citoplasmática em eritrócitos. Estas células sanguíneas podem mostrar lesões nucleares e o organismo de inclusão, ou apenas este último. Os corpos de inclusão não são observados em leucócitos.

Para além disso, podem ser utilizadas ferramentas moleculares para diagnosticar VNE, como PCR convencional e PCR em tempo real.

#### 5.2.5. Métodos de controlo e prevenção

Não existem terapias para esta patologia, nem vacinas comerciais disponíveis para pregado e robalo. Por isso, para controlar e prevenir o aparecimento desta patologia, recomendam-se boas práticas de produção, protocolos de biossegurança, desinfecção e higiene das instalações, monitorização da presença deste patógeno e redução dos fatores stressantes.

### 5.3. Vírus da necrose nervosa (VNN)

#### 5.3.1. Etiologia

A necrose nervosa viral (NNV) - também conhecida como encefalopatia e retinopatia viral (ERV) - é causada pelo vírus da necrose nervosa (VNN), género *Betanodavirus*, que pertence à família *Nodaviridae*. É um vírus de RNA de cadeia simples (ssRNA), sem envelope, com 25-30 nm de diâmetro, constituído por dois segmentos: o RNA1 (que codifica RNA polimerase dependente de RNA) e RNA2 (que codifica a proteína do capsídeo). Foi classificado em cinco genótipos, mas o vírus da necrose nervosa de *red-spotted grouper* (RGVNN) - ou seja, *Epinephelus akaara* (Temminck & Schlegel, 1842) - é o que tem maior distribuição no sul da Europa. Uma das principais características deste patógeno é a sua elevada resistência no ambiente, sendo muito difícil neutralizá-lo.

#### 5.3.2. Epidemiologia

Esta doença foi descrita pela primeira vez, nas Caraíbas e Austrália, no final da década de 1980. Desde então, tem provocado enormes perdas económicas, em muitas espécies produzidas em aquacultura, como robalo, dourada e linguado senegalês (Tabela 1). Já foram registados surtos de elevada mortalidade (cerca de 100%) em todas estas espécies, especialmente nas fases de larva e juvenil. Durante muito tempo, a dourada foi considerada um portador assintomático do vírus. Contudo, já foram relatados surtos com mortalidade elevada na fase larvar.

Os surtos provocados pelo vírus ocorrem em condições de temperatura elevada e após outros eventos particularmente stressantes (como manipulação, transporte e descarga, transferência, etc.).

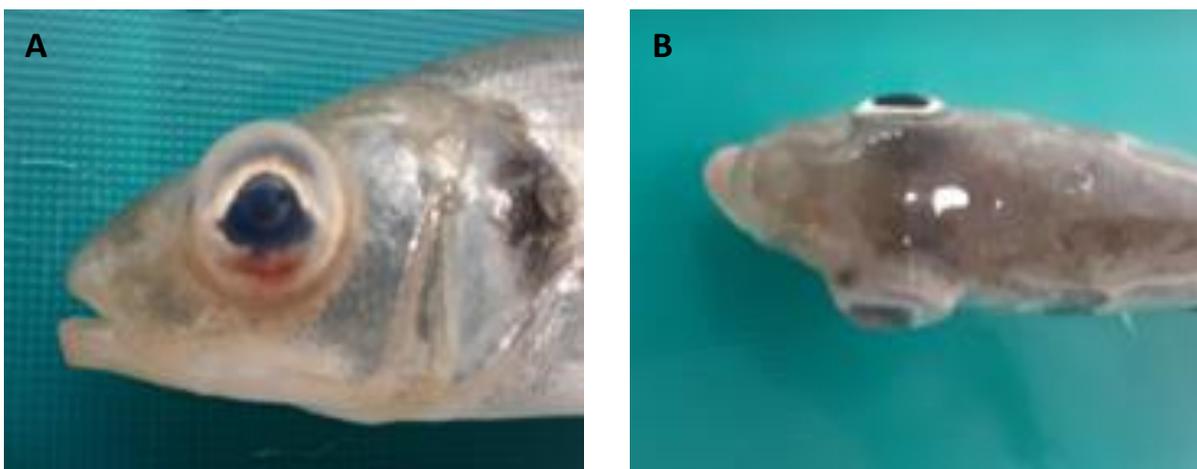
A entrada do vírus pode ocorrer através das células epiteliais que revestem o corpo e/ou barbatanas, brânquias, cavidades nasal e oral. A transmissão vírus da necrose nervosa (VNN) pode ser horizontal ou vertical. Na transmissão horizontal, estão envolvidas as brânquias e/ou a pele. Na transmissão vertical, as gónadas e o intestino são os órgãos envolvidos.

Apesar do vírus da necrose nervosa (VNN) afetar o sistema nervoso dos peixes, a sua presença também é observada noutros tecidos (nomeadamente de órgãos como: brânquias, barbatanas, coração, intestino anterior e posterior, estômago, baço, fígado, rim e gónadas).

### 5.3.3. Lesões patológicas e sintomas

Os sinais clínicos dependem da espécie de peixe, da fase do ciclo de vida dos indivíduos afetados, do decurso da doença e da temperatura da água. Pode ocorrer mortalidade elevada sem sinais clínicos, sobretudo nas fases larvares. Larvas e juvenis podem apresentar sintomas clássicos nomeadamente: comportamento anormal (natação em espiral, rodopio e *looping* rápido), exoftalmia, opacidade ocular (Figuras 7A e 7B), perda de apetite, hiper-insuflação da bexiga gasosa, pigmentação anormal (escura). O principal alvo deste vírus é o sistema nervoso central. A infeção pode levar à ocorrência de lesões no cérebro, retina e medula espinal, com áreas necróticas, degeneração e vacuolização visível.

A nível histológico observam-se vacuolizações citoplásmicas nas células neurais e da retina. As alterações histopatológicas no cérebro de robalo infetado experimentalmente com VNN (Figura 8) foram observadas em duas zonas: mesencéfalo, onde se observa a degeneração do tecido nervoso e hemorragias (Figura 8A) e no metencéfalo, onde é possível ver vacuolização de neurónios e degeneração (Figura 8B).



**Figura 7** – Exemplar de robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) juvenil infetado experimentalmente com vírus da necrose nervosa (VNN), apresentando sinais externos de exoftalmia e opacidade ocular: **(A)** vista lateral e **(B)** vista dorsal [Autoria de: Mariana Vaz, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal].

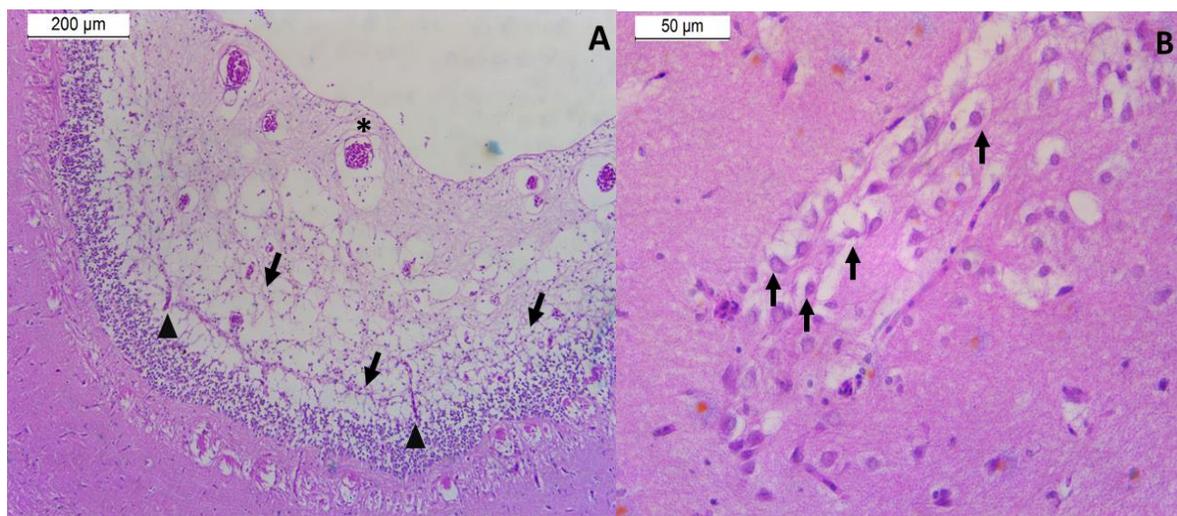
### 5.3.4. Métodos de diagnóstico

A observação de comportamento natatório anormal dos peixes (nomeadamente: natação em espiral, rodopio rápido) é um primeiro sinal para o diagnóstico de necrose nervosa viral (NNV). A confirmação do diagnóstico pode ser feita através de análises histopatológicas e moleculares, baseadas em RT-PCR e RT-qPCR, imunofluorescência (IF) realizada em impressões ou secções congeladas de cérebro, IHQ do cérebro e retina, assim como através do método ELISA.

### 5.3.5. Métodos de controlo e prevenção

No caso de um surto com vírus da necrose nervosa (VNN), as ações a tomar deverão ter como objetivo limitar o nível de stress nos animais, de forma a reduzir a mortalidade e a intensidade do surto. Todas as manipulações devem ser limitadas (ou melhor ainda, evitadas). É extremamente importante retirar os peixes com sintomas da doença e os mortos dos tanques afetados, várias vezes durante o dia. É possível detetar a presença do vírus (mesmo em indivíduos assintomáticos), recorrendo a métodos de biologia molecular.

Ainda não existem vacinas comerciais disponíveis para dourada, linguado e pregado. ALPHA JECT MICRO®1NODA e ICTHIOVAC® VNN induzem defesa protetora contra a necrose nervosa viral (genótipo RGVNN) em robalo juvenil.



**Figura 8** – Histopatologia do cérebro de robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) infetado experimentalmente com vírus da necrose nervosa (VNN), técnica de coloração Hematoxilina-Eosina (H&E). **(A)** Mesencéfalo (*tectum* ótico) com neurónios necróticos e vacuolização (setas), vasos hiperémicos (cabeça de seta) e pequenas hemorragias (asterisco), ampliação total de 100x. **(B)** Metencéfalo (*cerebellum*) com degeneração e vacuolização de neurónios (setas), ampliação total de 400x [Autoria de: Damiana Pires, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal].

## 5.4. Vírus da septicemia hemorrágica (VSH)

### 5.4.1. Etiologia

O vírus da septicemia hemorrágica (VSH) é um agente patogénico que afeta peixes. Pertence ao género *Novirhabdovirus*, da família Rhabdoviridae. Os vírus pertencentes a esta família apresentam uma forma de bala e o seu genoma contém RNA de cadeia simples de sentido negativo.

### 5.4.2. Epidemiologia

No sul da Europa, o pregado é a única espécie que é afetada por VSH (Tabela 1). Esta patologia é prevalente em peixes juvenis. No entanto, pode causar infeção e mortalidade em todas as fases do ciclo de vida dos peixes suscetíveis, embora se desconheça se infeta os ovos. Os surtos desta doença ocorrem geralmente a temperaturas da água mais baixas, compreendidas entre 8-15°C.

### 5.4.3. Lesões patológicas e sintomas

Os peixes afetados podem apresentar sinais clínicos não específicos nas primeiras fases da infeção, incluindo coloração escura, hemorragias externas, exoftalmia, palidez das brânquias, letargia, ascite e distensão do abdómen. A forma nervosa da doença caracteriza-se por um comportamento natatório anormal, causado pelo efeito do vírus no cérebro. O padrão das alterações histopatológicas varia com o genótipo do agente patogénico e as espécies hospedeiras. Pregado infetado com o genótipo Ib apresenta lesões cardíacas graves. O fígado e os tecidos hematopoiéticos também são afetados.

### 5.4.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico inicial é feito com base nos sinais clínicos, em alterações histopatológicas e pelo cultivo em linhas celulares. A confirmação do VSH é feita por RT-qPCR, ou por técnicas serológicas, que incluem PNT (teste de neutralização em placa), imunoblot, teste de anticorpos fluorescentes, ELISA e sequenciação do vírus.

### 5.4.5. Métodos de controlo e prevenção

Não existe tratamento, nem vacinas comerciais disponíveis, para VSH.

As boas práticas de cultivo, implementação de protocolos de biossegurança, desinfecções regulares, entre outras medidas, podem ser utilizadas para prevenção e controlo.

Estudos científicos têm obtido resultados promissores na utilização de probióticos e imunoestimulantes, que têm como objetivo o fortalecimento do sistema imunitário dos peixes contra o vírus da septicemia hemorrágica (VSH). Esta será uma estratégia alternativa na prevenção de infeções, principalmente enquanto não há vacinas comerciais disponíveis, nem medidas profiláticas específicas para a VSH.



---

# Endoparasitas

---





## 6. Endoparasitas

### 6.1. *Cryptosporidium molnari*

#### 6.1.1. Etiologia

*Cryptosporidium molnari* Alvarez-Pellitero & Sitja-Bobadilla, 2002 é um protozoário intracelular que infeta as células epiteliais dos sistemas gastrointestinal e respiratório, causando a criptosporidiose.

#### 6.1.2. Epidemiologia

*C. molnari* afeta dourada e robalo (Tabela 1). Este parasita apresenta um ciclo de vida com 5 fases que podem ocorrer num único hospedeiro. O ciclo inicia-se com a ingestão de oocistos (fase não infecciosa) de *C. molnari* pelo hospedeiro, através da água ou alimentos contaminados. Os oocistos infetarão as células epiteliais do trato gastrointestinal dos peixes, transformando-se em trofozóides que se multiplicam assexuadamente. Posteriormente, transformam-se em gamontes, que se reproduzem sexuadamente. Assim, originam-se os oocistos, que serão libertados para a água, através das fezes dos peixes infetados. Ou seja, este parasita pode ser transmitido oralmente, ou através de contacto com organismos infetados.

#### 6.1.3. Lesões patológicas e sintomas

Apenas indivíduos com infeções graves exibem sinais clínicos, como: fezes esbranquiçadas, distensão abdominal e ascite (acumulação de fluido na cavidade abdominal), emaciação e atrofia do músculo esquelético. A acumulação de oocistos nos tecidos induz necrose, vacuolização e perda de estrutura das células epiteliais.

#### 6.1.4. Métodos de diagnóstico

A criptosporidiose pode ser diagnosticada através de esfregaços da mucosa estomacal com coloração Giemsa, para procurar oócitos, estádios epicelulares merogonais e gamogonais. Os danos a nível celular podem ser avaliados através de procedimentos histológicos de secções estomacais coradas com azul toluidina, nas quais se poderá observar vacuolização, perda de estrutura e necrose das células. O parasita também pode ser detetado por PCR e coloração fluorescente-anticorpo direta (que constitui um método mais prático).

#### 6.1.5. Métodos de controlo e prevenção

Não se conhecem medidas de prevenção e controlo específicas para evitar e/ou conter um surto de criptosporidiose. Contudo, minimizar os fatores stressantes que comprometam a imunocompetência dos peixes, manter a boa qualidade da água, rastrear a saúde dos *stocks* de peixes poderão ser algumas medidas essenciais para prevenir o aparecimento deste parasita nas explorações aquícolas.

## 6.2. *Enteromyxum leei*

### 6.2.1. Etiologia

*Enteromyxum leei* (Diamant, Lom & Dyková, 1994) é um parasita mixozoário, responsável pela enteromixiose, uma doença que provoca emaciação.

### 6.2.2. Epidemiologia

*Enteromyxum leei* afeta várias espécies de peixes teleósteos, numa vasta gama de áreas geográficas, nomeadamente dourada, robalo e linguado senegalês (Tabela 1). A sensibilidade do hospedeiro depende da espécie e da idade dos espécimes afetados. Em dourada, a infeção com *E. leei* produz doença crónica em juvenis e adultos. Em robalo e linguado senegalês, os sinais clínicos exibidos são quase imperceptíveis, mas podem transmitir a doença para outras espécies mais sensíveis, que estejam presentes nas instalações. Os principais fatores de risco são: densidade elevada da população hospedeira; baixas taxas de renovação da água e/ou reutilização de água contaminada; ciclos de produção longos; falha na remoção de peixes mortos. A sua eliminação inapropriada e baixas taxas de alimentação que podem levar a um aumento de canibalismo.

*Enteromyxum leei* geralmente localiza-se no trato gastrointestinal dos hospedeiros, particularmente no trato intestinal. Os exemplares geralmente são afetados com peso >100g, mostrando progressiva perda de peso e mortalidade estável.

Apesar de o ciclo de vida dos mixozoários geralmente envolver dois hospedeiros - um peixe e um invertebrado aquático, a transmissão de espécies do género *Enteromyxum* pode ocorrer de peixe para peixe. Na fase proliferativa mixozoária, a transmissão pode ocorrer diretamente entre peixes, através da coabitação, água ou ingestão de material contaminado. O estágio infeccioso não são os mixósporos, mas sim os estágios de desenvolvimento do parasita que são libertados de peixes infetados através das fezes. Esta libertação pode ser elevada no caso de os parasitas causarem inflamação e destruição do epitélio intestinal. Apesar da sobrevivência destas formas infecciosas ser inferior a 24 horas na água do mar, é tempo suficiente para ocorrer transmissão, especialmente quando a densidade é elevada, as trocas de água são pouco frequentes e se os peixes mortos por esta doença não forem removidos com frequência. Os mixósporos são mais resistentes, conseguindo sobreviver longos períodos em água salgada. Assume-se que estes necessitem de um invertebrado adequado (ainda não identificado) para completar o desenvolvimento e reprodução.

A temperatura da água é um fator crítico de risco para a transmissão e desenvolvimento da enteromixiose. Os surtos em explorações aquícolas têm ocorrido a temperaturas >20°C, sendo 20-25°C as temperaturas ótimas para o seu desenvolvimento. O crescimento de *E. leei* é inibido a temperaturas <15°C ou >30°C. Durante uma monitorização do estado de saúde dos animais, efetuada durante o inverno (a temperaturas mais baixas), pode dar-se o caso de os resultados serem negativos para deteção da presença deste patógeno. Porém, estes parasitas podem desenvolver-se e vir a ser a causa de problemas, quando a temperatura da água do mar voltar a aumentar.

### 6.2.3. Lesões patológicas e sintomas

Os parasitas invadem lentamente o epitélio intestinal, criando uma patologia crónica que envolve inflamação intestinal, perda de apetite, baixas taxas de conversão alimentar, o que resulta em anorexia, atraso do crescimento e mortalidade. Observa-se ascite e congestão intestinal. A vesícula biliar mostra uma típica cor acastanhada.

Em dourada, a enteromixiose é caracterizada por anorexia e perda de peso até à emaciação e/ou caquexia. Também se observa a acumulação de fluído ascítico, com bactérias oportunistas, que levam à distensão abdominal. A mortalidade depende do modelo de cultivo, podendo ser muito baixa e contínua ou muito elevada. Na maior parte dos casos, a infeção provoca um significativo atraso do crescimento e a mortalidade de peixes adultos (>100g). Um sinal de alarme é a diminuição da taxa de conversão alimentar (FCR).

### 6.2.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico baseia-se em observações clínicas e patológicas, através da observação de raspagens intestinais e do epitélio do reto (a fresco ou coradas) ao microscópio óptico composto. Os esporos são facilmente reconhecíveis. Como os outros estádios de desenvolvimento do parasita são mais difíceis de identificar, dificultando o diagnóstico, é recomendável recorrer à deteção através de PCR.

### 6.2.5. Métodos de controlo e prevenção

Ainda não estão registados tratamentos eficazes contra *E. leei*, apesar de existirem alguns ensaios a nível experimental com anti-coccídeos. As medidas profiláticas devem ser focadas no controlo sanitário dos peixes antes de serem introduzidos nas explorações e, particularmente, nas espécies de peixes sensíveis que já estejam presentes nas mesmas, de forma a obter um diagnóstico precoce. É possível reduzir o risco de introdução de estágios infecciosos do parasita em sistemas com filtração da água de entrada (<5µm). A regular limpeza regular de canais de água e tubagens pode ser também uma vantagem para controlar e minimizar a colonização por potenciais hospedeiros invertebrados. Sabe-se que os peixes que sobrevivem à enteromixiose são resistentes a uma reinfeção. As douradas afetadas pela enteromixiose podem ser coinfectadas com outros parasitas patogénicos (como *Sparicotyle chrysophrii* (Van Beneden & Hesse, 1863) Mamaev, 1984 e/ou *Enterospora nucleophila* Palenzuela, Redondo, Cali, Takvorian, Alonso-Naveiro, Alvarez-Pellitero & Sitjà-Bobadilla, 2014), e nalguns casos, também com bactérias oportunistas, sendo necessário fazer um diagnóstico correto e eventual terapia com antibiótico.

## 6.3. *Enteromyxum scophthalmi*

### 6.3.1. Etiologia

*Enteromyxum scophthalmi* Palenzuela, Redondo & Alvarez-Pellitero, 2002 é também um parasita mixozoário responsável pela enteromixiose.

### 6.3.2. Epidemiologia

*Enteromyxum scophthalmi* afeta espécies de peixes de grande importância para a aquicultura no sul da Europa, como o linguado senegalês e o pregado (Tabela 1). O ciclo de vida, envolve dois hospedeiros: um peixe e um anelídeo. Contudo, tem a capacidade de poder ser transmitido diretamente de peixe para peixe.

A resposta despoletada pelo parasita provoca a perda de tecido epitelial do intestino e fezes mucosas com estágios do parasita em desenvolvimento, que podem sobreviver na água durante curtos períodos e infectar outros peixes. A transmissão pode ocorrer diretamente entre peixes na fase proliferativa mixozoária, através da coabitação e contacto com efluentes contendo o parasita. A infeção tem um longo período pré-patente (período que decorre entre a entrada do agente infeccioso e o aparecimento das primeiras formas do agente etiológico – oocistos ou ovos). Durante este período, os animais infectados podem libertar um grande número de parasitas e multiplicar exponencialmente a infeção, até todo o *stock* estar afetado.

A temperatura da água é um fator crítico que influencia o estabelecimento da enteromixiose em pregado, nomeadamente a multiplicação do parasita e o conseqüente desenvolvimento de sinais clínicos, assim como a taxa de transmissão. Os surtos geralmente ocorrem a temperaturas entre 14-20°C (desenvolvimento ótimo 18-20°C). O seu desenvolvimento é mais lento a temperaturas mais baixas, cessando a <11-12°C. Todos os tamanhos e classes de idade são sensíveis à infeção. Contudo, em produção aquícola, a doença tende a ser detetável através de mortalidade e sinais clínicos em peixes de maiores dimensões (100-300g), que acumularam mais tempo de exposição à potencial infeção. Os peixes mais jovens (<100g) geralmente são menos afetados, pelo facto de serem mantidos em instalações com tratamento e/ou filtração da água. A infeção pode ter um impacto devastador, resultando em perdas elevadas (até 100% de mortalidade), afetando toda a exploração aquícola.

O linguado senegalês *Solea senegalensis* não exhibe sinais clínicos graves ou mortalidade, apesar de ser sensível à infeção.

A reutilização da água ou recirculação da mesma é um outro fator de risco para o desenvolvimento da doença, pois facilita a multiplicação exponencial do parasita, assim como a sua rápida disseminação para todo o *stock*. Também há outros fatores que contribuem para o aumento do risco de infeção e disseminação dos parasitas, nomeadamente: densidade populacional elevada dos peixes hospedeiros, baixa taxa de renovação da água, acumulação de fezes nos tanques, remoção e descarte inadequados dos peixes mortos, falta de higiene, ausência de protocolos de desinfecção, falta de diagnóstico dirigido e planos de contingência inexistentes ou inadequados.

### 6.3.3. Lesões patológicas e sintomas

*Enteromyxum* spp. invade o epitélio intestinal do pregado. A resposta inflamatória despoletada provoca enterite severa subaguda, levando à rutura e perda da barreira intestinal. Por sua vez, leva a desidratação grave, caquexia (perda de peso, tecido adiposo e tecido muscular) e morte. Os sinais exteriores da doença são a caquexia e morte, sendo usualmente precedido por sinais não específicos (como a perda de peso e letargia).

Nos peixes afetados, observa-se que a parede intestinal é muito fina, frequentemente com congestão e hemorragias, palidez dos órgãos internos e ascite.

#### 6.3.4. Métodos de diagnóstico

O parasita *E. scopthalmi* é difícil de detetar por observação de esfregaços frescos do intestino, a não ser que estejam presentes esporos. Neste caso, a presença do parasita deve ser confirmada com elevada sensibilidade e especificidade, através de PCR quantitativo (qPCR) de uma pequena amostra de tecido (preferencialmente do intestino anterior ou da região dos cecos pilóricos). Em explorações com histórico da doença ou risco elevado da mesma, é recomendável fazer-se a monitorização da infeção por qPCR a todos os lotes de peixes, antes da sua introdução nas instalações e durante o ciclo de produção.

#### 6.3.5. Métodos de controlo e prevenção

Uma estratégia de monitorização proativa dirigida é essencial para detetar rapidamente a infeção e aplicar medidas de controlo, antes do parasita se espalhar por toda a exploração. Por enquanto, a prevenção é a melhor ação contra esta infeção. Em geral, os estádios infeciosos são relativamente sensíveis, não sobrevivendo a medidas de higiene padronizadas. O tratamento da água com filtração mecânica (20-40µm), seguida de passagem por ozono ou luz UV, reduz o risco de introdução do parasita na exploração. Contudo, são medidas que nem sempre podem ser aplicadas. Contenção espacial dos tanques, com separação por lotes e idades, assim como o crescimento tendo por base múltiplas unidades de produção, são medidas que podem evitar contaminações cruzadas e permitir o isolamento de situações problemáticas. A remoção de peixes infetados e mortos, assim como a observação dos mesmos, reforço da desinfeção de todo o material comum usado para a manutenção e manipulação dos animais são as medidas mais assertivas, para evitar a introdução e propagação de *E. scopthalmi*. Ainda não existem tratamentos eficazes para este parasita, apesar de o uso conjugado de alguns antibióticos com compostos anti-coccídeos ter demonstrado ser parcialmente eficaz em ensaios experimentais. Estes tratamentos conseguiram um atraso no estabelecimento da doença, uma diminuição da intensidade de infeção e da severidade das lesões, mas nenhum evitou a progressão da infeção.

## 6.4. *Kudoa dicentrarchi*

### 6.4.1. Etiologia

*Kudoa dicentrarchi* (Sitjà-Bobadilla & Alvarez-Pellitero, 1992) (anteriormente *Sphaerospora dicentrarchi*) é um parasita mixozóico histozóico (que vive nos tecidos do hospedeiro, inter ou intracelularmente).

### 6.4.2. Epidemiologia

*Kudoa dicentrarchi* é frequentemente relatado como sendo prevalente em robalo (Tabela 1). O conhecimento do seu ciclo de vida ainda é muito escasso. Mas suspeita-se que alterne entre dois hospedeiros, um peixe e um anelídeo.

### 6.4.3. Lesões patológicas e sintomas

Geralmente inofensivo, *K. dicentrarchi* pode ser observado na vesícula biliar, intestino, rim, pâncreas, testículos e tecido conjuntivo de peixes. No entanto, os tecidos apresentam-se danificados em infecções crônicas de maior escala, o que pode resultar na redução de crescimento e na mortalidade de hospedeiros juvenis. Além disso, existem evidências de que esta infecção parasitária tem maior prevalência em peixes com mais idade, demonstrando um efeito cumulativo. Este parasita também desempenha um papel na imunodepressão dos peixes, que facilita outros agentes oportunistas a causar surtos infecciosos.

### 6.4.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico é realizado microscopicamente, através de observações histológicas de tecidos corados com PAS, onde aglomerados de esporos podem ser detetados no epitélio, paredes da *muscularis* (fina camada de músculo liso do trato intestinal) ou tecidos conjuntivos. Também pode ser feito através de PCR.

### 6.4.5. Métodos de controlo e prevenção

Não existem medidas profiláticas ou terapêuticas conhecidas para *K. dicentrarchi*. Como tal, as boas práticas na produção de peixes, rastreios regulares e o isolamento de *stocks* infetados constituem algumas medidas para evitar a sua proliferação em cultivos saudáveis, isentos da infecção.

## 6.5. *Sphaerospora testicularis*

### 6.5.1. Etiologia

*Sphaerospora testicularis* Sitjà-Bobadilla & Alvarez-Pellitero, 1990 é um parasita mixosporídeo coelozóico (qua habita a cavidade do corpo do hospedeiro), mas que evidencia tropismo (tendência a deslocar-se) para os túbulos seminíferos.

### 6.5.2. Epidemiologia

À semelhança de *K. dicentrarchi*, o parasita *S. testicularis* também é muito predominante no sul da Europa e afeta robalo (Tabela 1). Como noutros mixozoários, o seu ciclo de vida ainda é pouco conhecido. Geralmente, estes organismos usam um invertebrado como hospedeiro intermediário. No entanto, uma estratégia monóxena (ciclo de vida com um único hospedeiro) é uma possibilidade, devido à transmissão direta entre peixes. Esta ocorrerá através da libertação do parasita para o ambiente durante a reprodução, aquando da libertação dos gâmetas, agravando ainda mais a infecção em cada estação que passa.

### 6.5.3. Lesões patológicas e sintomas

*Sphaerospora testicularis* é considerado altamente patogénico, devido aos danos que pode infligir nos testículos de robalo, causando castração parasitária do hospedeiro. As gónadas infetadas podem apresentar atrofia, endurecimento, cor esbranquiçada ou laranja-amarela, hemorragias e necrose. O fluído seminal apresenta uma cor mais amarela, é menos denso, sem espermatozoides, com células

germinativas testiculares e células de Sertoli substituídas pelos estádios de desenvolvimento do parasita *S. testicularis*.

#### 6.5.4. Métodos de diagnóstico

Existem alguns métodos não letais para identificar a infecção, tais como *stripping* ou canulação de machos maduros. Tem-se por objetivo obter fluído seminal ou tecido testicular, para esfregaços frescos, onde esporos e estádios de desenvolvimento do parasita podem ser detetados. Podem ser utilizados procedimentos histológicos de tecidos corados com H&E (Hematoxilina e Eosina), Cleveland-Wolfe, Giemsa, F&LG (*Feulgen-light green*) ou coloração de Mallory, para avaliar os danos e identificar os mixosporídeos nos túbulos seminíferos.

#### 6.5.5. Métodos de controlo e prevenção

Não existem tratamentos adequados ou medidas profiláticas para este parasita. Portanto, boas práticas na produção em aquacultura, monitorização regular através da remoção de machos maduros infetados, são exemplos de medidas que podem ajudar a prevenir e controlar surtos de *S. testicularis*.

## 6.6. *Philasterides dicentrarchi*

### 6.6.1. Etiologia

*Philasterides dicentrarchi* Dragesco, Dragesco, Coste, Gasc, Romestand, Raymond and Bouix, 1995 é um parasita unicelular ciliado, sendo o agente etiológico que causa a scuticociliatose.

### 6.6.2. Epidemiologia

*Philasterides dicentrarchi* afeta pregado e robalo (Tabela 1), causando mortalidade elevada, que resulta em perdas económicas avultadas para as explorações aquícolas.

Estes parasitas infetam os peixes através de lesões na pele e brânquias. Posteriormente, multiplicam-se no sangue e nos órgãos internos, provocando uma infecção sistémica, que resulta em morte do hospedeiro. *P. dicentrarchi* pode estar presente de duas formas morfológicamente distintas: uma forma ativa de maiores dimensões, que se alimenta de bactérias ou partículas orgânicas; e outra mais pequena, que apenas absorve os nutrientes processados pelo seu hospedeiro.

Geralmente, *P. dicentrarchi* ocorre nos meses de primavera, verão e outono, quando a temperatura da água é >18°C. Os peixes mais pequenos (jovens), especialmente aqueles com o sistema imune inato imaturo, são mais sensíveis que os peixes mais velhos (maiores). Os fatores de risco importantes incluem: a falta de higiene dos tanques (o que leva a valores elevados de matéria orgânica e a um aumento da carga bacteriana na água), o tamanho dos peixes (em que os mais pequenos são mais suscetíveis), a densidade elevada da população de hospedeiros (que pode levar a um aumento de stress e da ocorrência de lesões na pele dos peixes) e temperaturas elevadas. Estas condições são favoráveis à proliferação de *P. dicentrarchi*, que entra nos tanques de cultivo continuamente através da renovação de água.

### 6.6.3. Lesões patológicas e sintomas

Peixes infetados com *P. dicentrarchi* exibem sinais clínicos, como: úlceras cutâneas, pele escurecida ou com descoloração, alterações do comportamento natatório, exoftalmia e/ou distensão abdominal. Relativamente aos sinais internos, o parasita pode invadir a maior parte dos órgãos, incluindo o cérebro e o coração, resultando numa infeção sistémica. Os órgãos e tecidos mostram hemorragias e necrose nas áreas onde o parasita proliferou.

### 6.6.4. Métodos de diagnóstico

Para o diagnóstico da scuticociliatose ser mais fácil, há que ter particular atenção aos animais durante os meses de verão, ou quando a temperatura é  $>18^{\circ}\text{C}$ . *P. dicentrarchi* pode ser obtido de peixes infetados por observações de preparações frescas (esfregaços de tecidos/órgãos frescos ou fluído ascítico) ao microscópio óptico com contraste de fase. Este parasita é um organismo ciliado, móvel e de dimensões maiores do que as células dos tecidos observados. Como tal, são facilmente visíveis e identificáveis. Por outro lado, também podem ser recolhidas amostras de água e de sedimento, para determinar a carga parasitária presente por PCR quantitativo (qPCR).

### 6.6.5. Métodos de controlo e prevenção

Uma vez que *P. dicentrarchi* se alimenta de bactérias ou de matéria orgânica (proveniente do alimento fornecido aos peixes de cultivo, ou ainda do decaimento/decomposição de organismos mortos) é essencial manter uma boa condição higiénica, evitar densidade populacional elevada dos hospedeiros ou excesso de alimento não consumido nos tanques. Em peixes mais pequenos e sensíveis (como larvas e juvenis), o tratamento da água é essencial para evitar a presença de ciliados. Se for possível, é recomendável a vacinação dos peixes com uma autovacina (ou seja, uma que contenha, como antigénio, os serotipos dos ciliados presentes no estabelecimento), como medida preventiva.

Quando *P. dicentrarchi* surge numa exploração aquícola, o tratamento possível consiste em executar banhos de formaldeído, enquanto o parasita permanecer no ambiente externo. Uma vez que *P. dicentrarchi* provoca uma infeção sistémica, reduzir o número de parasitas na água é uma das medidas para diminuir a disseminação do parasita. Para tal, recomenda-se retirar imediatamente os peixes mortos e moribundos dos tanques. Indiretamente, a remoção do excesso de alimento não consumido pelos peixes contribuirá também para a diminuição da proliferação do estágio parasitário que necessita de alimentação exógena.

Não há tratamentos químicos contra esta doença.

---

# Ectoparasitas

---





## 7. Ectoparasitas

### 7.1. *Amyloodinium ocellatum*

#### 7.1.1. Etiologia

*Amyloodinium ocellatum* (E. Brown) E. Brown & Hovasse, 1946 é um protozoário dinoflagelado, pertencente à família Oodiniaceae. Apresenta uma cor castanho-escuro na sua fase parasitária, tem forma oval e é imóvel. *A. ocellatum* é o agente etiológico da amilodiniose.

#### 7.1.2. Epidemiologia

*Amyloodinium ocellatum* é considerado um dos ectoparasitas mais problemáticos em peixes de água salgada. Afeta pregado, dourada, robalo e corvina (Tabela 1). Pode provocar perdas dramáticas, durante os meses em que as águas apreentem temperaturas mais quentes. *A. ocellatum* pode matar o hospedeiro em menos de 12 horas, com mortalidade e morbidade aguda de quase 100%, dependendo das condições de produção na aquacultura, do número de parasitas, da espécie de peixe e do período do ano. O ciclo de vida deste parasita é direto, caracterizado por três fases. A fase parasitária é representada pelo trofonte, em que o parasita tem forma de pêra e é sésil, alimentando-se diretamente das células do hospedeiro (geralmente da pele e das brânquias, mas em infeções mais severas, podem ocorrer também nos olhos e/ou na cavidade orofaríngea) através de rizóides. A fase reprodutiva – o tomonete – ocorre entre 2-6 dias depois, em que assume uma forma esférica, enquista e solta-se do hospedeiro. Após 2-4 dias, os tomonetes produzem assexuadamente até 256 dinósporos (a terceira fase – infectante), com uma morfologia típica de dinoflagelados: uma forma oval, compressa no sentido antero-posterior, com 2 flagelos. Os dinósporos procuram novos hospedeiros, nadando activamente na coluna de água. Após encontrarem um hospedeiro, os dinósporos transformam-se em trofontes após 5 a 20 minutos. Este ciclo pode ser concluído muito rapidamente (em aproximadamente uma semana), se as condições forem favoráveis para o desenvolvimento do parasita, nomeadamente no que respeita à temperatura (23-27°C) e salinidade (30-35). No entanto, *A. ocellatum* pode ocorrer numa ampla gama de valores de temperaturas e salinidades, expressando a sua virulência. Já foram reportados surtos graves a temperatura muito elevada (>35°C) e em águas com salinidades de 46 e 7. Os surtos têm sido observados mais frequentemente nos meses mais quentes do ano, quando a temperatura da água atinge valores elevados (>28°C), o oxigénio dissolvido é reduzido e as trocas de água são pouco frequentes.

Todas as idades no ciclo de produção de peixes são sensíveis à infeção. Contudo, é raro ocorrer em larvas, que são mais sensíveis. Isto porque existem medidas rigorosas de biossegurança implementadas nas maternidades. É pouco provável a ocorrência de surtos em produção intensiva em mar aberto devido à distância a que as redes se encontram do fundo marinho, assim como ao facto de as correntes evitarem a colonização de esporos infecciosos nos peixes. Contrariamente, em sistemas estabelecidos em terra e em explorações em tanques de terra a doença é muito frequente. Tal pode dever-se não só ao movimento de peixes vivos infetados entre explorações, mas também à falta de implementação de

medidas de biossegurança (como controlo parasitológico e quarentena aos peixes rececionados na exploração).

*Amyloodinium ocellatum* pode ser transmitido através de contacto direto, uma vez que a disseminação ocorre: de peixe para peixe (especialmente quando estes são transferidos de um local infetado para um não infetado) e/ou através de água contaminada, bem como de todos os equipamentos, redes e utensílios que tenham contacto com a água. A baixa concentração de oxigénio dissolvido na água pode indiretamente aumentar o impacto negativo da ação do *A. ocellatum*, uma vez que a função respiratória já se encontra comprometida, devido à destruição do epitélio branquial provocada pelos trofontes. Outras formas de transmissão inclui o transporte de dinósporos nas gotas de aerossóis, contaminando tanques na vizinhança. As aves ictiófagas podem também atuar como vetores mecânicos para a disseminação deste dinoflagelado. Quando os peixes hospedeiros morrem, estes constituem um reservatório do parasita. Por isso, é muito importante que os peixes mortos sejam imediatamente removidos dos tanques de cultivo.

### 7.1.3. Lesões patológicas e sintomas

*Amyloodinium ocellatum* afeta principalmente as brânquias (primeiro local de infeção; Figura 9) e a pele, causando danos moderados a graves. Os sintomas mais graves ocorrem nos juvenis, onde é possível observar um tapete aveludado nos tecidos, resultante da presença do parasita. Mas também se observa hiperprodução de muco, natação lenta e à superfície, assim como um aumento da frequência dos movimentos ventilatórios. Além disto, observa-se perda de apetite, grave hiperplasia com fusão de lamelas secundárias nas brânquias e, conseqüentemente, inflamação, hemorragia e necrose da estrutura lamelar das brânquias. Pode causar descamação epitelial, alterações de cor (em que o hospedeiro pode ficar branco ou castanho). Também pode ser responsável por movimentos espasmódicos, ou levar os peixes a esfregarem-se nas paredes do tanque ou no substrato, numa tentativa de se aliviarem e remover o parasita. Não se observam lesões internas específicas relacionadas com a amilodinirose.

### 7.1.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico da infeção tem como base a observação de sinais clínicos causados por *A. ocellatum*. É confirmado por observação de esfregaços frescos de brânquias ao microscópio ótico composto, análise histológica e por métodos moleculares [como PCR e imunohistoquímica (IHQ)].

### 7.1.5. Métodos de controlo e prevenção

Tendo em conta a elevada patogenicidade deste parasita, é necessário atuar rapidamente após a observação dos primeiros sinais da doença (nomeadamente alterações do comportamento dos peixes e, em particular, a ocorrência de dificuldades respiratórias). Devido ao potencial de infeção dos dinoflagelados, a presença de 5-10 trofontes por arco branquial deve ser considerado o limiar para o início do tratamento, de forma a evitar surtos graves.

A prevenção é essencial para evitar que a doença provoque surtos catastróficos, como a morte de 100% dos peixes, num tanque. Podem adotar-se as seguintes medidas de biossegurança de forma a limitar a introdução de *A. ocellatum* e a sua disseminação na exploração aquícola: tratamento da água de entrada com radiação UV, eventualmente combinada com filtração mecânica; controlos parasitários

apropriados especialmente para os novos lotes; quarentena de lotes a serem introduzidos; banhos regulares de água doce durante alguns minutos; separação física de lotes de peixes em diferentes fases do ciclo de vida; limpeza periódica das superfícies dos tanques (particular atenção ao fundo) por procedimentos manuais ou mecânicos, para eliminação dos tomontes enquistados; ter equipamentos separados para cada tanque ou seção, ou então lavar com água doce abundante antes de usar noutros tanques; aplicar protocolos de desinfecção do equipamento e adequada gestão da exploração aquícola; fazer vazio sanitário, deixando os tanques ou o fundo dos mesmos a secar ao sol, antes de introduzir novos peixes no sistema; colocar redes anti-aves; se for possível regular a temperatura da água e a salinidade durante os períodos de maior risco. Os peixes que sobrevivem à amilodiniose desenvolvem alguma imunidade, indicando que há potencial para o desenvolvimento de uma vacina.

Os tratamentos contra este patógeno consistem na utilização de tratamento químico, maioritariamente dirigidos contra os dinósporos, tal como sulfato de cobre. No caso de ser possível regular a salinidade da água, a sua diminuição pode retardar a infeção. Uma diminuição da temperatura pode também parar a progressão da doença.

Todos os tratamentos devem ser aplicados na fase de dinósporo, uma vez que esta fase é a mais suscetível e sensível. As fases trofante e tomonte são bastante resistentes a produtos químicos ou medicamentos.

Também podem surgir infeções microbianas secundárias nos tecidos epiteliais danificados, sendo necessário ter isto em consideração, quando forem tomadas medidas de mitigação e protocolos de tratamento contra a amilodiniose.



**Figura 9** – Observação a fresco de *Amylodinium ocellatum* (E. Brown) E. Brown & Hovasse, 1946 em brânquias de dourada *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 [Autoria de: Florbela Soares, IPMA - Instituto Português do Mar e da Atmosfera, Portugal].

## 7.2. *Trichodina* spp.

### 7.2.1. Etiologia

*Trichodina* Ehrenberg, 1830 é um género de protozoário ciliado, pertencente à família Trichodinidae. Uma característica distintiva destes organismos unicelulares é a presença de uma estrutura externa, que se assemelha a uma roda dentada de uma engrenagem. Trata-se de um círculo completo de cílios peristomiais, os quais podem sobrepor-se nas extremidades, dependendo da espécie. Esta estrutura citosquelética fornece suporte à célula e permite a adesão do parasita a várias superfícies, nomeadamente tecidos de peixes hospedeiros. *Trichodina* spp. são os agentes etiológicos da tricodinose.

### 7.2.2. Epidemiologia

*Trichodina* spp. afetam dourada e robalo (Tabela 1), especialmente larvas e alevins. Estes agentes patógenos são responsáveis por grandes perdas económicas em aquacultura. Eles são considerados ectoparasitas facultativos e têm um ciclo de vida monoxénico (com um único hospedeiro). A sua reprodução ocorre principalmente por fissão binária no hospedeiro.

O aumento da proliferação destes parasitas em aquacultura está relacionado com o aumento da densidade de produção, o elevado teor de matéria orgânica e o aumento da temperatura da água. Pode ser transmitido horizontalmente, através do contacto direto com o hospedeiro, ou através de água contaminada. Por outro lado, o uso de utensílios que possam ter estado em contacto com água ou animais contaminados também constitui uma importante fonte de transmissão.

### 7.2.3. Lesões patológicas e sintomas

*Trichodina* spp. afetam essencialmente a pele e as brânquias dos peixes hospedeiros (Figura 10), podendo ser encontrados também na cavidade oral. Podem ser observadas áreas esbranquiçadas nas brânquias, úlceras, edema subepitelial, deslocação da lamela secundária nos filamentos branquiais, ligeira hiperplasia com fusão parcial ou total da lamela secundária, infiltração inflamatória mononuclear, hipoxia e necrose. Os danos cutâneos podem ser observados ao nível dos epitélios, tais como a descamação do epitélio, alargamento das células mucosas, degeneração vacuolar, hipertrofia, escurecimento da pele e exibição de comportamentos anómalos (como *flashing* à superfície do tanque). Em larvas, é possível observar letargia e natação errática à superfície da água. A presença de *Trichodina* spp. pode afetar o crescimento e, em casos extremos, conduzir à morte. As lesões causadas podem ser colonizadas por bactérias ou fungos, responsáveis por infeções oportunistas, as quais contribuem para a progressão da doença e, por sua vez, causar surtos de mortalidade.

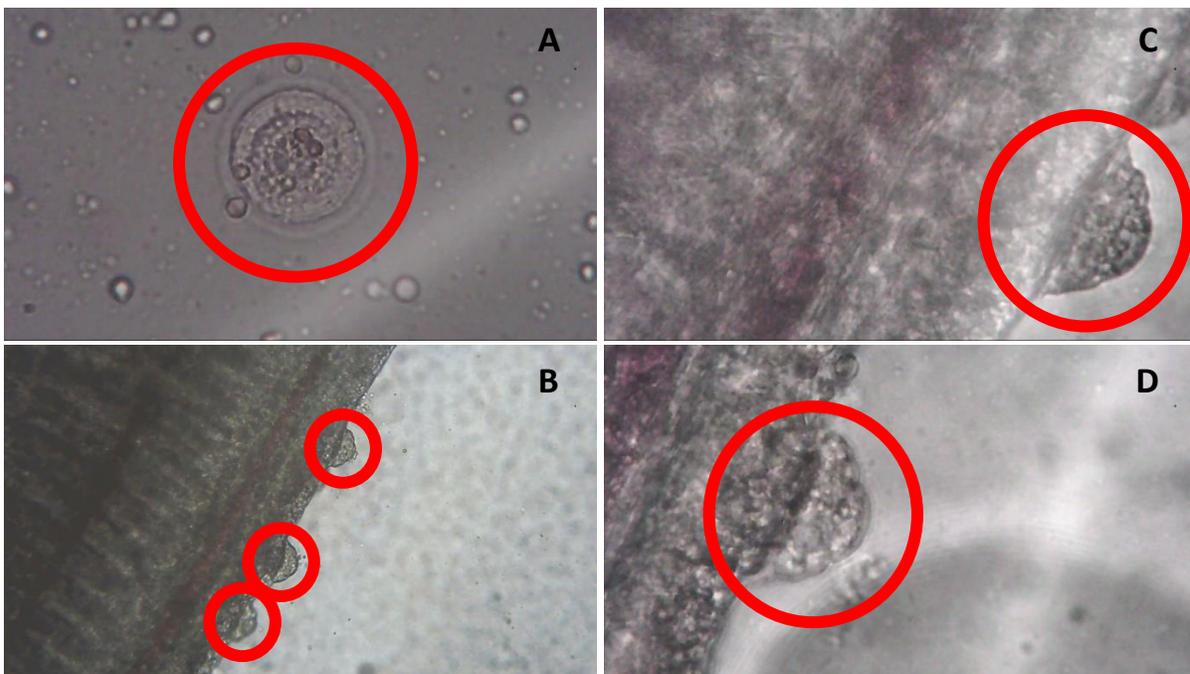
### 7.2.4. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico destes parasitas pode ser realizado através da observação de amostras frescas de pele, barbatanas e brânquias ao microscópio ótico composto. No entanto, os parasitas tendem a mover-se rapidamente em círculos, quando são utilizadas amostras frescas, o que pode dificultar a sua deteção e

identificação. Assim, a impregnação com nitrato de prata e a coloração de Giemsa/Hematoxilina podem ser utilizadas para o diagnóstico específico destes parasitas.

### 7.2.5. Métodos de controlo e prevenção

Em aquacultura, banhos com formaldeído podem reduzir a intensidade e a prevalência de infeção parasitária por *Trichodina* spp.. Por sua vez, também pode reduzir a infeção bacteriana oportunista de *Flavobacterium columnare* (Bernardet and Grimont 1989) Bernardet et al. 1996, conduzindo a uma redução da mortalidade dos peixes.



**Figura 10** – Presença de *Trichodina* spp. em robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), observados a fresco, ao microscópio ótico composto e evidenciados por círculos vermelhos. **(A)** *Trichodina* spp. livre em meio aquoso, ampliação total de 400x. *Trichodina* spp. fixos na superfície do epitélio das lamelas branquiais de robalo, **(B)** ampliação total de 100x e **(C e D)** 400x [Autoria de: Susana MF Ferreira, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal].

## 7.3. *Benedenia sciaenae*

### 7.3.1. Etiologia

*Benedenia sciaenae* (Van Beneden, 1852) Odhner, 1905 é um platelminte monogéneo (Filo Platyhelminthes, Classe Monogenea), pertence à família Capsalidae. Em termos morfológicos tem um órgão de fixação (*opisthaptor*), com dois órgãos de adesão de grandes dimensões. Este parasita exhibe um grande tamanho corporal, que pode ser detetado a olho nu.

### 7.3.2. Epidemiologia

*Benedenia sciaenae* parasita corvina (Tabela 1). Quando este parasita atinge a maturidade sexual, tende a espalhar-se pela superfície do corpo do hospedeiro, alimentando-se de células epiteliais. Um peixe infectado pode ter *B. sciaenae* em diferentes estádios de maturação.

### 7.3.3. Lesões patológicas e sintomas

Corvinas infectadas com *B. sciaenae*, podem apresentar lesões hemorrágicas na pele, perda de escamas e comportamento anormal, como esfregarem-se nas paredes dos tanques. Esta família de parasitas causa alguns sinais clínicos específicos, nomeadamente inchaço e nebulosidade dos olhos, manchas cinzentas e feridas abertas na pele do hospedeiro.

### 7.3.4. Métodos de diagnóstico

Para diagnosticar uma infeção por *B. sciaenae*, a forma mais eficaz é através da biópsia de amostras de muco da pele, brânquias e barbatanas, ou através da histopatologia das brânquias. Os parasitas desta família são grandes, achatados e transparentes, razão pela qual o álcool ou formaldeído são geralmente usados para torná-los brancos, sendo mais fáceis de observar durante o diagnóstico.

### 7.3.5. Métodos de controlo e prevenção

O tratamento com formaldeído pode ser aplicado à água do tanque, mas é necessário controlar rigorosamente o comportamento dos peixes, uma vez que não toleram bem esta substância química. O permanganato de potássio também pode ser aplicado através de um banho prolongado e é normalmente usado quando bactérias ou fungos oportunistas invadem os tecidos danificados.

## 7.4. *Diplectanum aequans* e *Diplectanum sciaenae*

### 7.4.1. Etiologia

*Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) e *Diplectanum sciaenae* Van Beneden & Hesse, 1863 são animais platelmintes monogéneos (Filo Platyhelminthes, Classe Monogenea), pertencentes à família Diplectanidae, que causam a diplectanose.

*Diplectanum sciaenae* difere de outras espécies desta família, pela forma do canal esclerotizado do reservatório prostático, assim como pelo tamanho e forma do pénis.

### 7.4.2. Epidemiologia

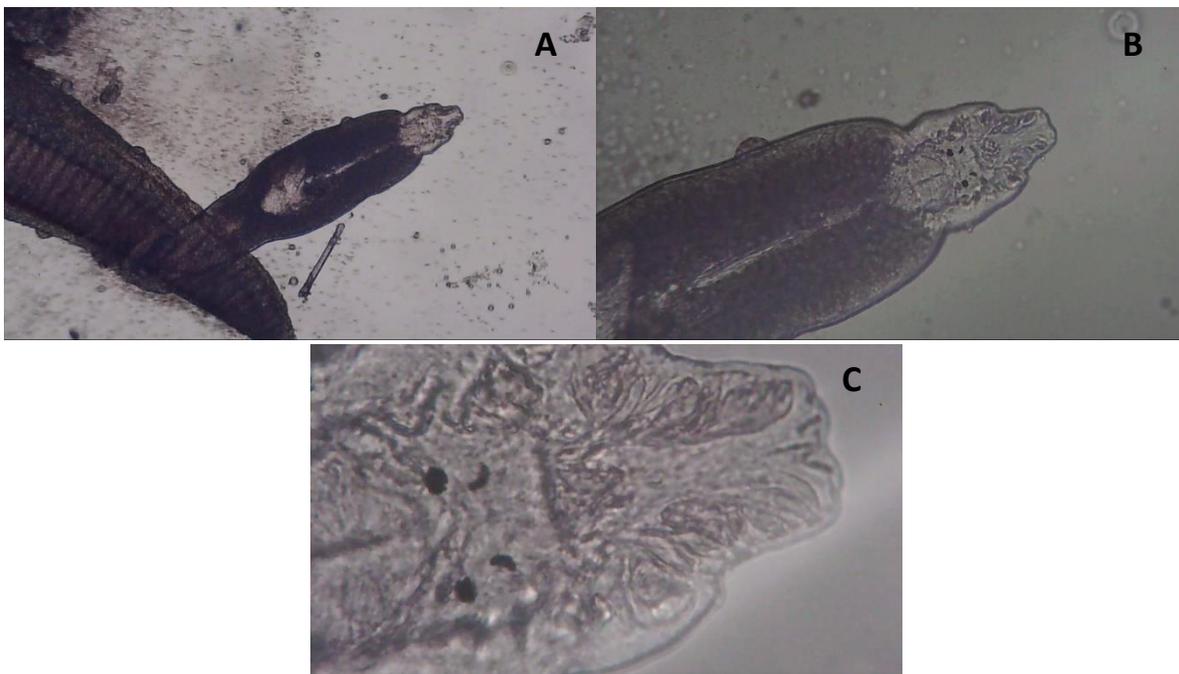
*Diplectanum aequans* afeta dourada e robalo (Tabela 1). São parasitas ovíparos, depositando os seus ovos nas brânquias dos peixes, dos quais eclode uma larva (oncomiracídio), que irá crescer e diferenciar-se num indivíduo adulto reprodutor. A mudança de hospedeiro pode ocorrer em qualquer uma das fases do ciclo de vida do parasita.

Entre os fatores ambientais que afetam o desenvolvimento de *D. aequans*, a temperatura tem uma influência significativa. A eclosão dos ovos dá-se em poucos dias a temperaturas de 20-25°C, mas a 15°C ocorre após 7-12 dias, a 10°C demora 11-19 dias e a 5°C não há eclosão. Os registos de surtos causados

por este parasita ocorreram sobretudo quando a temperatura da água começou a aumentar, depois do inverno.

A diplectanose causada por *D. aequans* tem um impacto significativo em robalos adultos, mas sobretudo em juvenis, tendo já sido registados surtos com mortalidade de 50-99%. A presença destes parasitas também tem uma influência negativa no crescimento de robalos juvenis. A idade dos peixes também pode ter influência na sensibilidade à diplectanose, provavelmente devido a um mecanismo de resistência adquirida.

Entre as espécies de peixe produzidas em aquacultura, em Portugal, *D. sciaenae* foi apenas observado em corvina (Tabela 1).



**Figura 11** – Presença de *Diplectanum* spp. em robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), observados a fresco, ao microscópio ótico composto. **(A)** *Diplectanum* spp. na superfície do epitélio das lamelas branquiais de robalo, ampliação total de 50x. **(B)** Região anterior do corpo de *Diplectanum* spp., ampliação total de 100x. **(C)** Pormenor das estruturas cefálicas de *Diplectanum* spp., ampliação total de 400x [Autoria de: Susana MF Ferreira, MARE - Centro de Ciências do Mar e do Ambiente, Politécnico de Leiria, Portugal].

#### 7.4.3. Lesões patológicas e sintomas

Na presença de uma infeção por *D. aequans* e/ou *D. sciaenae*, os peixes apresentam danos nas brânquias (como hiperplasia epitelial e fusão lamelar; Figura 11), rubor localizado na zona de pele onde ocorreu hipersecreção do muco em resposta à presença/atividade do parasita, hemorragias e inflamação com infiltração leucítica. Estes danos provocados pelo parasita favorecem o aparecimento das infeções bacterianas e/ou fúngicas secundárias.

#### 7.4.4. Métodos de diagnóstico

A forma de diagnóstico mais eficaz é através das observações de preparações de amostras frescas das brânquias e barbatanas, ou através da análise histológica das brânquias.

#### 7.4.5. Métodos de controlo e prevenção

Um dos possíveis tratamentos é com permanganato de potássio, que terá de ser aplicado em banho prolongado. O formaldeído também pode ser utilizado, mas é necessário um controlo rigoroso do comportamento dos animais, devido à sua sensibilidade à presença desta substância na água.

### 7.5 *Microcotyle* sp.

#### 7.5.1. Etiologia

*Microcotyle* sp. são animais ectoparasitas, também platelmintes monogéneos (Filo Platyhelminthes, Classe Monogenea), da família Microcotylidae, que usam estruturas semelhantes a ganchos para se fixarem aos hospedeiros. Este género de parasitas causa microcotilose.

#### 7.5.2. Epidemiologia

*Microcotyle* sp. afetam corvina, dourada e robalo (Tabela 1), em que já foram registados surtos de mortalidade elevada.

#### 7.5.3. Lesões patológicas e sintomas

A microcotilose afeta as brânquias dos peixes. Causa sinais clínicos como anemia, hiperplasia do epitélio branquial, com fusão de lamelas adjacentes, além de asfixia por produção excessiva de muco.

#### 7.5.4. Métodos de diagnóstico

Para o diagnóstico de *Microcotyle* sp. é normalmente realizada a observação de amostras frescas de brânquias ou a histopatologia das mesmas. Para a distinção exata das espécies *Microcotyle* sp. são necessárias técnicas moleculares (como PCR).

#### 7.5.5. Métodos de controlo e prevenção

Banho com formaldeído pode ser usado para controlar uma infeção causada por *Microcotyle* sp.. Todavia, é recomendada a vigilância do comportamento dos peixes. Normalmente, quando os tecidos lesados estão infetados por outros patógenos oportunistas (fungos e bactérias), pode ser aplicado um banho de permanganato de potássio.

### 7.6. *Sciaenocotyle pancerii*

#### 7.6.1. Etiologia

*Sciaenocotyle pancerii* (Sonsino, 1891) Mamaev, 1989 geralmente apresenta aglomerados de ovos em forma de fuso, envoltos num único filamento e com espinhos no átrio genital.

### 7.6.2. Epidemiologia

*Sciaenacotyle pancerii* afeta corvina (Tabela 1). Em aquacultura *offshore*, a livre circulação de água nas jaulas de cultivo permite a entrada deste parasita. A probabilidade de transmissão a outros indivíduos é elevada, devido ao facto de *S. pancerii* ter um ciclo de vida direto, com um único hospedeiro, e as suas larvas apresentarem capacidade de natação, para ativamente encontrarem um hospedeiro.

### 7.6.3. Lesões patológicas e sintomas

Os sinais clínicos observados em peixes infetados podem ser: perda de peso, anemia, letargia, lesões graves nos tecidos branquiais e anemia branquial, que conseqüentemente pode conduzir à morte. Através da observação de brânquias, a olho nu, é possível distinguir aglomerados de cor cinzento-escura, que são ovos fusiformes de *S. pancerii*, ligados por um único filamento. As brânquias apresentam também uma cor pálida e hipersecreção de muco.

Considera-se que estes parasitas não são muito nocivos para os seus hospedeiros, em condições naturais. Mas em peixes produzidos em aquacultura, *S. pancerii* pode causar doença parasitária grave, devido às elevadas densidades populacionais dos seus hospedeiros.

### 7.6.4. Métodos de diagnóstico

Existem duas formas para diagnosticar *S. pancerii*: através da biópsia ao muco da pele, brânquias e barbatanas dos peixes, ou através de uma análise histopatológica às brânquias.

### 7.6.5. Métodos de controlo e prevenção

Formaldeído e permanganato de potássio podem ser utilizados e aplicados via administração de banhos. É necessária especial atenção durante o tratamento com formaldeído (controlo do comportamento dos animais), pois os peixes não toleram bem este químico. Aplica-se o permanganato de potássio através de um banho prolongado, com o objetivo de eliminar bactérias e fungos oportunistas, que possam vir a colonizar os tecidos lesionados e causar infeções secundárias.

## 7.7. *Sparicotyle chrysohrii*

### 7.7.1. Etiologia

*Sparicotyle chrysohrii* (Van Beneden & Hesse, 1863) Mamaev, 1984 é um platelminte monogéneo, responsável por causar a sparicotilose.

### 7.7.2. Epidemiologia

*Sparicotyle chrysohrii* afeta especificamente dourada (Tabela 1). É hermafrodita e tem um ciclo de vida direto. Após a produção de ovos pelo adulto, estes são transmitidos passivamente através das correntes. Quando eclodem, libertam um oncomiracídio, forma larvar que nada livremente e que se irá fixar às brânquias de um hospedeiro.

A temperatura desempenha um papel importante para a propagação de *S. chrysophrii*. Nos locais afetados, há maior prevalência deste parasita nos meses mais quentes, apesar do parasita ser reportado durante quase todo o ano.

Todos os estádios do ciclo de vida da dourada são sensíveis a *S. chrysophrii*, mas os juvenis têm maior sensibilidade à infecção do que os adultos, podendo desenvolver sinais clínicos a uma densidade de parasitas menor.

Em aquacultura, *S. chrysophrii* encontram um ambiente ótimo para se disseminarem, devido à grande quantidade de hospedeiros viáveis concentrados num mesmo local. Nos tanques de cultivo, poderão existir locais que servem de substrato para a adesão de ovos do parasita. A presença destes, ou de oncomiracídeos na água de entrada da aquacultura, são fatores de risco relevantes nos sistemas intensivos de pré-engorda. A taxa de transmissão de peixe para peixe será mais elevada, quanto maior a densidade de peixes nos tanques de cultivo. Outros fatores de risco são: fraca mudança e limpeza de redes, bem como a falha na recolha de peixes mortos. Em função das condições ambientais, todo o *stock* de peixes pode ser afetado por este parasita, num curto período (algumas semanas).

### 7.7.3. Lesões patológicas e sintomas

O efeito patogénico de *S. chrysophrii* está associado à sua natureza hematofágica e às severas lesões que provoca nas brânquias, mesmo quando a intensidade de infecção é baixa.

A sparicotilose afeta o epitélio branquial, em que os danos provocados podem ser: fusão das lamelas secundárias, hiperplasia do epitélio das brânquias, separação das células epiteliais, redução do tamanho das lamelas e necrose do tecido branquial. Em consequência, poderá ocorrer também: letargia (devido a hipoxia) e anemia severa (ação hematofágica). Outros efeitos devidos a infeções com *S. chrysophrii* são: a falta de apetite até deixarem de se alimentar (anorexia), atraso no crescimento, aumento da taxa de conversão alimentar (FCR). A mortalidade ocorre quando a intensidade da infecção é elevada. Além disso, são comuns infeções secundárias provocadas por outros parasitas e bactérias nos peixes.

### 7.7.4. Métodos de diagnóstico

Durante os surtos clínicos (quando geralmente o nível de infestação é elevado), o diagnóstico é simples. Baseia-se na observação do parasita ao microscópio ótico composto, numa preparação fresca de tecido branquial (preferencialmente, do primeiro arco branquial, que é o mais afetado).

### 7.7.5. Métodos de controlo e prevenção

Nalguns tipos de sistemas de produção, o tratamento pode ser complicado, devido à impossibilidade de controlo adequado de diferentes parâmetros, como: as doses da substância a administrar, o tempo de administração, o volume dos tanques, entre outros. O único tratamento disponível para travar ou controlar um surto é tradicionalmente um banho com formaldeído ou peróxido de hidrogénio, monitorizando o comportamento dos peixes. Deve ser feita uma monitorização periódica para avaliação da carga parasitária, de forma a determinar atempadamente quando fazer tratamentos. A utilização de equipamentos específicos para cada fase do ciclo de produção, assim como a separação física estrutural, limpeza e higienização periódicas, ajudam a reduzir o risco de transmissão do parasita na exploração aquícola. Também o tratamento mecânico da água de entrada na exploração, assim como o periódico

vazio sanitário dos tanques (com secagem e desinfecção do fundo) são medidas preventivas para evitar e reduzir a transmissão de *S. chrysophrii*.



---

# Bibliografia

---





## 8. Bibliografía

- Aamri, F.E., Padilla, D., Acosta, F., Caballero, M.J., Roo, J., Bravo, J., Vivas, J., & Real F. (2010). First report of *Streptococcus iniae* in red porgy (*Pagrus pagrus* L.). *Journal of Fish Diseases*, *33*, 901-905. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2010.01191.x
- Abdel-Aziz, M., Eissa, A. E., Hanna, M. & Okada, M. A. (2013). Identifying some pathogenic *Vibrio/Photobacterium* species during mass mortalities of cultured Gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) from some Egyptian coastal provinces. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, *1*, 87-95. DOI: 10.1016/j.ijvsm.2013.10.004
- Abdel-Baki, A. S., Sakran, T., Fayed, H. & Zayed, E. (2011). *Trichodina fahaka* (Ciliphora: Peritrichia) in *Tetradon fahaka* from Nile River, Egypt: Seasonality and histopathology. *Scientific Research and Essays*, *6*, 1583-1587.
- Abdelsalam, M., Asheg, A. & Eissa, A. E. (2013). *Streptococcus dysgalactiae*: An emerging pathogen of fishes and mammals. *International Journey of Veterinary Science and Medicine*, *1*, 1-6. DOI: 10.1016/j.ijvsm.2013.04.002
- Alvarez-Pellitero, P. (2004). Report about fish parasitic diseases. In: *Mediterranean Aquaculture diagnostic laboratories*; Alvarez-Pellitero P., Barja J.L., Basurco B., Berthe F., Toranzo A.E., Eds.; CIHEAM-IAM; Zaragoza, 103-130.
- Alvarez-Pellitero, P. & Sitjà-Bobadilla, A. (2002). *Cryptosporidium molnari* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting two marine fish species, *Sparus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L. *International Journal for Parasitology* *32*, 1007-1021. DOI: 10.1016/S0020-7519(02)00058-9
- Alvarez-Pellitero, P., Sitjà-Bobadilla, A. & Franco-Sierra, A. (1993). Protozoan parasites of wild and cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), from the Mediterranean area. *Aquaculture and Fisheries Management* *24*, 101-108. DOI: 10.1111/j.1365-2109.1993.tb00832.x
- Anderson, D. P. (1997). Adjuvants and immunostimulants for enhancing vaccine potency in fish. *Developments in Biological Standardization*, *90*, 257-265.
- Andree, K. B., Roque, A., Duncan, N., Gisbert, E., Estevez, A., Tsertou, M. J. & Katharios, P. (2015). *Diplectanum sciaenae* (Van Beneden & Hesse, 1863) (Monogenea) infecting meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) broodstock in Catalonia, Spain. A case report. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, *1-2*, 75-79.
- Andreoni, F., Boiani, R., Serafini, G., Amagliani, G., Dominici, S., Riccioni, G., Zaccone, R., Mancuso, M., Scapigliati, G. & Magnani, M. (2013). Isolation of a novel gene from *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* and analysis of the recombinant antigen as promising vaccine candidate. *Vaccine*, *31*, 820-826. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.11.064
- Andreoni, F. & Magnani, M. (2014). Photobacteriosis: Prevention and Diagnosis. *Research Journal of*

*Immunology*, 793817. DOI: 10.1155/2014/793817

Antonelli, I. & Marchand, B. (2012). Metazoan Parasites of the European Sea Bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus 1758) (Pisces: Teleostei) from Corsica. *Health and Environment in Aquaculture*, 43-62.

Arijo, S., Chabrillón, M., Díaz-Rosales, P., Rico, R. M., Martínez-Manzanares, E., Balebona, M. C., Toranzo, A.E. & Moriñigo, M.A. (2005). Bacteria isolated from outbreaks affecting cultured sole, *Solea senegalensis* (Kaup). *Bulletin- European Association of Fish Pathologists*, 25, 148-154.

Austin, B. & Austin, D. A. (2016). *Bacterial Fish Pathogens - Disease of Farmed and Wild Fish*, 6th ed.; Springer Netherlands. DOI: 10.1007/978-3-319-32674-0

Avci, H., Birincioğlu, S., Epikmen, E.T. & Dereli, M. (2013). Comparative histopathological and immunohistochemical evaluations in juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) naturally infected with *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. *Revue de Medecine Veterinaire (Toulouse)*, 164, 72-79.

Avendaño-Herrera, R., Toranzo, A. E. & Magariños, B. (2006). Tenacibaculosis infection in marine fish caused by *Tenacibaculum maritimum*: a review. *Diseases of Aquatic Organisms*, 71, 255-266. DOI: 10.3354/dao071255

Avsever, M. L. N. & Ün, C. (2015). Detection of *Tenacibaculum maritimum* from seven different cultured marine fish in Turkey. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 67, 1-7.

Balado M., Benzekri H., Labella A. M., Claros M. G., Manchado M., Borrego J. J., Osorio C. R. & Lemos M. L. (2017). Genomic analysis of the marine fish pathogen *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*: Insertion sequences proliferation is associated with chromosomal reorganisations and rampant gene decay. *Infection, Genetics and Evolution*, 54, 221-229. DOI: 10.1016/j.meegid.2017.07.007

Balebona, M. C., Zorrilla, I., Moriñigo, M. A. & Borrego, J. J. (1998). Survey of bacterial pathologies affecting farmed gilt-head sea bream *Sparus aurata* L. in southwestern Spain from 1990 to 1996. *Aquaculture*, 166, 19-35. DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00282-8

Bandín, I. & Souto, S. (2020). Betanodavirus and VER Disease: A 30-year Research Review. *Pathogens*, 9, 106, 1-46. DOI: 10.3390/pathogens9020106

Barugahare, R., Dennis, M. M., Becker, J. A. & Šlapeta, J. (2011). Detection of *Cryptosporidium molnari* oocysts from fish by fluorescent-antibody staining assays for *Cryptosporidium* spp. affecting humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 1878-1880. DOI: 10.1128/AEM.02691-10

Bessat, M. & Fadel, A. (2018). Amyloodiniosis in cultured *Dicentrarchus labrax*: parasitological and molecular diagnosis, and an improved treatment protocol. *Diseases of Aquatic Organisms*, 129, 41-51.

Bitchava, K., Chassalevris, T., Lampou, E., Athanassopoulou, F., Economou, V. & Dovas, C. I. (2019). Occurrence and molecular characterization of betanodaviruses in fish and invertebrates of the Greek territorial waters. *Journal of Fish Diseases*, 42, 1773-1783. DOI: 10.1111/jfd.13098

- Björnsdóttir, B., Guðmundsdóttir, S., Bambir, S., Magnadóttir, B. & Guðmundsdóttir, B. (2004). Experimental infection of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), by *Moritella viscosa*, vaccination effort and vaccine-induced side-effects. *Journal of Fish Diseases*, 27, 645-655.
- Blanco, M. M., Gibello, A., Vela, A. I., Moreno, M. A., Domínguez, L. & Fernández-Garayzábal, J. F. (2002). PCR detection and PFGE DNA macrorestriction analyses of clinical isolates of *Pseudomonas anguilliseptica* from winter disease outbreaks in sea bream *Sparus aurata*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 50, 19-27. DOI: 10.3354/dao050019
- Bolinches, J., Lemos, M. L., Fouz, B., Cambra, M., Larsen, J. L. & Toranzo, A. E. (1990). Serological Relationships among *Vibrio anguillarum* Strains. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2, 21-29. DOI: 10.1577/1548-8667(1990)002<0021:SRAVAS>2.3.CO;2
- Borrego, J. J., Labella, A. M., Castro, D., Ortiz-Delgado, J. B. & Sarasquete, C. (2017). Updated of the pathologies affecting cultured gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Annals of Aquaculture and Research*, 4, 1033.
- Bouguerche, C., Gey, D., Justine, J-L. & Tazerouti, F. (2019). Towards the resolution of the *Microcotyle erythrini* species complex: description of *Microcotyle isyebi* n. sp. (Monogenea, Microcotylidae) from *Boops boops* (Teleostei, Sparidae) off the Algerian coast. *Parasitology Research, Springer Verlag (Germany)*, 118, 1417-1428. DOI: 10.1007/s00436-019-06293-yffhal-02080519
- Bransden, M. P., Carson, J., Munday, B. L., Handler, J. H., Carter, C. G. & Nowak, B.F. (2000). Nocardiosis in tank-reared Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 23, 83-85. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2000.00201.x
- Brown, E. (2009). On *Oodinium ocellatum* Brown, a Paxasitic Dinoflagellate causing Epidemic Disease in Marine Fish. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 104, 583-607. DOI: 10.1111/j.1096-3642.1934.tb01652.x.
- Buchmann, K. (2015). Impact and control of protozoan parasites in maricultured fishes. *Parasitology*, 142, 168-177. DOI: 10.1017/S003118201300005X
- Buján, N., Toranzo, A. E. & Magariños, B. (2018). *Edwardsiella piscicida*: A significant bacterial pathogen of cultured fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 131, 59–71. DOI: 10.3354/dao03281
- Buller, N. B. (2004). *Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual*. CABI Publishing: Cambridge, USA. Consultado em 15 março 2021.
- Busch, R. A. (1982). Enteric Redmouth Disease. Symposium Internatinal de Talloires. 10-12 May 1982, Les Antigenes des Microorganismes pathogens des Poissons. Collection Fondation Marcel Merieux; pp. 201-224.
- Busch, R. A. & Lingg, A. J. (1975). Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32, 2429-2432.

Byadgi, O., Beraldo, P., Volpatti, D., Massimo, M., Bulfon, C. & Galeotti, M. (2019). Expression of infection-related immune response in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during a natural outbreak from a unique dinoflagellate *Amyloodinium ocellatum*. *Fish & Shellfish Immunology*, *84*, 62-72. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.09.069

Byadgi, O., Marroni, F., Dirks, R., Massimo, M., Volpatti, D., Galeotti, M. & Beraldo, P. (2020). Transcriptome Analysis of *Amyloodinium ocellatum* Tomonts Revealed Basic Information on the Major Potential Virulence Factors. *Genes*, *11*, 1252. DOI: 10.3390/genes11111252

Byadgi, O., Massimo, M., Dirks, R. P., Pallavicini, A., Bron, J. E., Ireland, J. H., Volpatti, D., Galeotti, M. & Beraldo, P. (2021). Innate immune-gene expression during experimental amyloodiniosis in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *234*, 110217. DOI: 10.1016/j.vetimm.2021.110217

Cano, I., Alonso, M. C., Garcia-Rosado, E., Saint-Jean, S. R., Castro, D. & Borrego, J. J. (2006). Detection of lymphocystis disease virus (LCDV) in asymptomatic cultured gilt-head seabream (*Sparus aurata*, L.) using an immunoblot technique. *Veterinary Microbiology*, *113*, 137-141. DOI: 10.1016/j.vetmic.2005.10.038

Cano, I., Ferro, P., Alonso, M. C., Bergmann, S. M., Römer-Oberdörfer, A., Garcia-Rosado, E., Castro, D. & Borrego, J. J. (2007). Development of molecular techniques for detection of lymphocystis disease virus in different marine fish species. *Journal of Applied Microbiology*, *102*, 32-40. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.03066.x

Cano, I., Ferro, P., Alonso, M. C., Sarasquete, C., Garcia-Rosado, E., Borrego, J. J. & Castro, D. (2009a). Application of in situ detection techniques to determine the systemic condition of lymphocystis disease virus infection in cultured gilt-head seabream, *Sparus aurata* L. *Journal of Fish Diseases*, *32*, 143-150. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2008.00970.x

Cano, I., Lopez-Jimena, B., Garcia-Rosado, E., Ortiz-Delgado, J. B., Alonso, M. C., Borrego, J. J., Sarasquete, C. & Castro, D. (2009b). Detection and persistence of Lymphocystis disease virus (LCDV) in *Artemia* sp. *Aquaculture*, *291*, 230-236. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.03.018

Cano, I., Valverde, E. J., Garcia-Rosado, E., Alonso, M. C., Lopez-Jimena, B., Ortiz-Delgado, J. B., Borrego, J. J., Sarasquete, C. & Castro, D. (2013). Transmission of lymphocystis disease virus to cultured gilthead seabream, *Sparus aurata* L., larvae. *Journal of Fish Diseases*, *36*, 569-576. DOI: 10.1111/jfd.12011

Carballeira, C., Ramos-Gomez, J., Martin-Diaz, M. L., DelValls, T. A. & Carballeira, A. (2012). Designing an integrated environmental monitoring plan for land-based marine fish farms located at exposed and hard bottom coastal areas. *Journal of Environmental Monitoring*, *14*, 1305-1316.

Carballo, C., Castro, D., Borrego, J. J. & Manchado, M. (2017). Gene expression profiles associated with lymphocystis disease virus (LCDV) in experimentally infected Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Fish & Shellfish Immunology*, *66*, 129-139. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.04.028

- Carballo, C., Ortiz-Delgado, J. B., Berbel, C., Castro, D., Borrego, J. J., Sarasquete, C. & Manchado, M. (2019). Feed and immersion challenges with lymphocystis disease virus (LCDV) reveals specific mechanisms for horizontal transmission and immune response in senegalese sole post-larvae. *Fish & Shellfish Immunology*, *89*, 710–718. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.04.049
- Carraro, R., Rovere G. D., Ferrareso, S., Carraro, L., Franch, R., Toffan, A., Pascoli, F., Patarnello, T. & Bargelloni L. (2017). Development of a real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* in fish tissues. *Journal of Fish Diseases*, *41*, 247-254. DOI: 10.1111/jfd.12703
- Carson, J. & Wilson, T. (2009). Yersiniosis in Fish. *Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedure*, 1–19. DOI: 10.1007/978-94-007-0026-0\_5
- Casal, G., Soares, E. C., Rocha, S., Silva, T. J., Santos, E. L., Nascimento, R., Oliveira, E. & Azevedo, C. (2019). Description of a new myxozoan *Kudoa eugerres* n. sp. and reclassification of two *Sphaerospora sensu lato* species. *Parasitology Research*, *118*, 1719-1730. DOI: 10.1007/s00436-019-06324-8
- Castric, J., Thiéry, R., Jeffroy, J., de Kinkelin, P. & Raymond, J. C. (2001). Sea bream *Sparus aurata*, an asymptomatic contagious fish host for nodavirus. *Diseases of Aquatic Organisms*, *47*, 33-38.
- Castro, R., Cavaleiro, F. I., Rangel, L. F., Rocha, S., Severino, R., Casal, G. & Santos, M. J. (2018). Myxozoan parasites of the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Teleostei: Moronidae): Correlates of infections at the micro- and macroenvironment scales. *Aquaculture*, *485*, 17-24. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.11.013
- Chalmers, L., Thompson, K. D., Taylor, J. F., Black, S., Migaud, H., North, B. & Adams, A. (2016). A comparison of the response of diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) siblings to a commercial furunculosis vaccine and subsequent experimental infection with *Aeromonas salmonicida*. *Fish & Shellfish Immunology*, *57*, 301-308. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.08.049
- Chang, C. I. & Liu, W. Y. (2002). An evaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. *Journal of Fish Diseases*, *25*, 311–315. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2002.00365.x
- Chatterjee, S. & Haldar, S. (2012). Vibrio Related Diseases in *Aquaculture* and Development of Rapid and Accurate Identification Methods. *Journal of Marine Science: Research & Development*, *S1*, 002. DOI: 10.4172/2155-9910.S1-002
- Chen, J., Tan, W., Wang, W., Hou, S., Chen, G., Xia, L. & Lu, Y. (2019). Identification of common antigens of three pathogenic *Nocardia* species and development of DNA vaccine against fish nocardiosis. *Fish & Shellfish Immunology*, *95*, 357–367. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.09.038
- Cipriano, R. C. & Bullock, G. L. (2001). Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. U.S. Fish and Wildlife Service; The Freshwater Institute, Shepherdstown, West Virginia, 66, 1-33.

Ciulli, S., Pinheiro, A. C. S., Volpe, E., Moscato, M., Jung, T. S., Galeotti, M., Stellino, S., Farneti, R. & Prospero, S. (2015). Development and application of a real-time PCR assay for the detection and quantitation of lymphocystis disease virus. *Journal of Virological Methods*, 213, 164–173. DOI: 10.1016/j.jviromet.2014.11.011

Colorni, A., Paperna, I. & Gordin, H. (1981). Bacterial infections in gilt-head sea bream *Sparus aurata* cultured at Elat. *Aquaculture*, 23, 257-267. DOI: 10.1016/0044-8486(81)90019-3

Coscelli, G. A., Bermúdez, R., Losada, A. P., Faílde, L. D., Santos, Y. & Quiroga, M. I. (2014a). Acute *Aeromonas salmonicida* infection in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Histopathological and immunohistochemical studies. *Aquaculture*, 430, 79-85. DOI: 10.1016/j.Aquaculture.2014.04.002

Coscelli, G. A., Bermúdez, R., Losada, A. P., Santos, Y & Quiroga, M. I. (2015). Vaccination against *Aeromonas salmonicida* in turbot (*Scophthalmus maximus* L.): Study of the efficacy, morphological changes and antigen distribution. *Aquaculture*, 445, 22-32.

Coscelli, G. A., Bermúdez, R., Silva, A. R. S., Ocenda, M. V. R. & Quiroga, M. I. (2014b). Granulomatous dermatitis in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) associated with natural *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* infection. *Aquaculture*, 428-429, 111-116. DOI: 10.1016/j.Aquaculture.2014.02.038

Costa, J., Baptista, T., Soares, F. & Dinis, M.T. (1998). Ocorrência de linfoquistos em Portugal. V ABRAPOA (Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos) e I ELAPOA (Encontro Latino-Americano de Patologistas de Organismos Aquáticos), 21-24 de Setembro, Maringá, Paraná, Brasil.

Costa, J. Z., McCarthy, Ú., Perez, O., Ramos, E., Rodriguez, M., Monterroso O. & Riera, R. (2017). Occurrence of *Photobacterium damsela* Subsp. *Piscicida* in Sea-Cage Farmed Meagre (*Argyrosomus regius*) in Tenerife, Canary Islands, Spain. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 33, 65-71. DOI: 10.1007/s41208-017-0022-5

Cruz e Silva, M. P., Freitas, M. S. & Orge, M. L. (1996). Co-infection by monogenetic trematodes of the genus *Microcotyle* V. Beneden & Hesse 1863, *Lamellodiscus ignoratus* Palombi, 1943, the protozoan *Trichodina* sp. Ehrenberg, 1838 and the presence of *Epitheliocystis*, *Vibrio alginolyticus* and *V. vulnificus* in cultured seabream (*Sparus aurata* L.) in Portugal. *Fish Pathology*, 17, 2, 40-42.

Dallaire-Dufresne, S., Tanaka, K. H., Trudel, M. V., Lafaille, A. & Charette, S. J. (2014). Virulence, genomic features, and plasticity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, the causative agent of fish furunculosis. *Veterinary Microbiology*, 169, 1-7.

Daly, J.G., Lindvik, B. & Stevenson, R. M. W. (1986). Serological heterogeneity of recent isolates of *Yersinia ruckeri* from Ontario and British Columbia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1, 151- 153.

Davidovich, N., Pretto, T., Sharon, G., Zilberg, D., Blum, S. E., Baider, Z., Edery, N., Morick, D., Grossman, R., Kaidar-Shwartz, H., Dveyrin, Z. & Rorman, E. (2020). Cutaneous appearance of mycobacteriosis caused by *Mycobacterium marinum*, affecting gilthead seabream (*Sparus aurata*) cultured in recirculating Aquaculture systems. *Aquaculture*, 528, 735507. DOI: 10.1016/j.Aquaculture.2020.735507

Delghandi, M. R., El-Matbouli, M. & Menanteau-Ledouble, S. (2020). Mycobacteriosis and infections

with non-tuberculous mycobacteria in aquatic organism: A review. *Microorganisms*, 8, 1368. DOI: 10.3390/microorganisms8091368

de Ocenda, V. R., Almeida-Prieto, S., Luzardo-Alvarez, A., Barja, J. L., Otero-Espinar, F.J. & Blanco-Mendez, J. (2017). Pharmacokinetic model of florfenicol in turbot (*Scophthalmus maximus*): establishment of optimal dosage and administration in medicated feed. *Journal of Fish Diseases*, 40, 411-424.

Dinçtürk, E. & Tanrıkul, T. T. (2018). Clinical listonellosis in meagre (*Argyrosomus regius*) from recirculated *Aquaculture* system in Turkey. *Acta Veterinaria Brno*, 87, 269-275. DOI: 10.2754/avb201887030269

Doan, Q. K., Vandeputte, M., Chatain, B., Morin, T. & Allal, F. (2017). Viral encephalopathy and retinopathy in aquaculture: a review. *Journal of Fish Diseases*, 40, 717-742. DOI: 10.1111/jfd.12541

Doménech, A., Fernández-Garayzábal, J. F., Garcia, J. A., Cutuli, M. T., Blanco, M., Gibello, A., Moreno, M.A. & Domínguez, L. (1999). Association of *Pseudomonas anguilliseptica* infection with 'winter disease' in sea bream, *Sparus aurata* L. *Journal of Fish Diseases*, 22, 69-71. DOI: 10.1046/j.1365-2761.1999.00124.

Doménech, A., Fernández-Garayzábal, J. F., Lawson, P., Garcia, J. A., Cutuli, M. T., Blanco, M., Gibello, A., Moreno, M. A., Collins, M. D. & Domínguez, L. (1997). Winter disease outbreak in sea-bream (*Sparus aurata*) associated with *Pseudomonas anguilliseptica* infection. *Aquaculture*, 156, 317-326. DOI: 10.1016/S0044-8486(97)00069-0

Dos Santos, N. M. S., Do Vale, A., Sousa, M. J. & Silva, M. T. (2002). Mycobacterial infection in farmed turbot *Scophthalmus maximus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 52, 87-91. DOI: 10.3354/dao052087

Dragesco, A., Dragesco, J., Coste, F., Gasc, C., Romestand, B., Raymond, J. & Bouix, G. (1995). *Philasterides dicentrarchi*, n. sp. (Ciliophora, Scuticociliatida), a histophagous opportunistic parasite of *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), a reared marine fish. *European Journal of Protistology*, 31, 327–340.

Durán, M. L. S., Casal, J. F., Tojo, J. L., Santamarina, M. T., Estevez, J. & Ubeira, F. (1991). *Trichodina* sp.: Effect on the growth of farmed turbot (*Scophthalmus maximus*). *Bulletin- European Association of Fish Pathologists*, 11, 89-91.

Effendi, I. & Austin, B. (1995). Uptake of *Aeromonas salmonicida* by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 15, 115-118.

Eiras, J. da C. (2016). Parasites of marine, freshwater and farmed fishes of Portugal: a review. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 25, 3, 259-278.

Elkesh, A., Kantham, K. P. L., Shinn, A. P., Crumlish, M. & Richards, R. H. (2013). Systemic nocardiosis in a Mediterranean population of cultured meagre, *Argyrosomus regius* Asso (Perciformes: Sciaenidae). *Journal of Fish Diseases*, 36, 141–149. DOI: 10.1111/jfd.12015

Ellis, A. E. (1997). Immunization with bacterial antigens: furunculosis. In: R. Gudding, A. Lillehaug, P. J. Midtlyng, & P. R. Brown (Eds.) *Fish Vaccinology* (pp 107-116). Karger, Basel.

Ellis, A. E. (1999). Immunity to bacteria in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 9, 291-308.

Emmenegger, E. J., Glenn, J. A., Winton, J. R., Batts, W. N., Gregg, J. L. & Hershberger, P. K. (2014). Molecular identification of erythrocytic necrosis virus (ENV) from the blood of Pacific herring (*Clupea pallasii*). *Veterinary Microbiology*, 174, 16–26. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.08.028

Essam, H. M., Abdellrazeq, G. S, Tayel, S. I., Torky, H. A. & Fadel, A. H. (2016). Pathogenesis of *Photobacterium damsela* subspecies infections in sea bass and sea bream. *Microbial Pathogenesis*, 99, 41-50. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.08.003

Estensoro, I., Redondo, M. J., Alvarez-Pellitero, P. & Sitjà-Bobadilla, A. (2010). Novel horizontal transmission route for *Enteromyxum leei* (Myxozoa) by anal intubation of gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 92, 51–8. DOI: 10.3354/dao02267

Evans, J. J., Klesius, P. H., Gilbert, P. M., Shoemaker, C. A., Al Sarawi, M. A., Landsberg, J., Duremdez, R., Al Marzouk, A. & Al Zenki, S. (2002). Characterization of  $\beta$ -haemolytic Group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day), in Kuwait. *Journal of Fish Diseases*, 25, 505-513. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2002.00392.x

Faílde, L. D., Losada, A. P., Bermúdez, R., Santos, Y. & Quiroga, M. I. (2014). Evaluation of immune response in turbot (*Psetta maxima* L.) tenacibaculosis: haematological and immunohistochemical studies. *Microbial Pathogenesis*, 76, 1–9. DOI: 10.1016/j.micpath.2014.08.008

Faílde, L. D., Losada, A. P., Bermúdez, R., Santos, Y. & Quiroga, M. I. (2013). *Tenacibaculum maritimum* infection: Pathology and immunohistochemistry in experimentally challenged turbot (*Psetta maxima* L.). *Microbial Pathogenesis*, 65, 82-88. DOI: 10.1016/j.micpath.2013.09.003

Fauquet, C. M. & Mayo, M. A. (2001). The 7<sup>th</sup> ICTV Report. *Virology Division News*, 191.

Ferguson, Y., Bricknell, I. R., Glover, L. A., MacGregor, D. M. & Prosser, J. I. (1998). Colonisation and transmission of lux-marked and wild-type *Aeromonas salmonicida* strains in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *FEMS Microbiology Ecology*, 27, 251-260.

Fernández-Álvarez, C., Gijón, D., Álvarez, M. & Santos, Y. (2016). First isolation of *Aeromonas salmonicida* subspecies *salmonicida* from diseased sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), cultured in Spain. *Aquacultures Reports*, 4, 36-41. DOI: 10.1016/j.aqrep.2016.05.006

Ferreira, I. A., Costa, J. Z., Macchia, V., Thompson, K. D. & Baptista, T. (2019). Detection of Betanodavirus in experimentally infected European seabass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus 1758) using non-lethal sampling methods. *Journal of Fish Diseases*, 1097-1104.

Fioravanti, M. L., Caffara, M., Florio, D., Gustinelli, A. & Marcer, F. (2004). *Sphaerospora dicentrarchi* and *S. testicularis* (Myxozoa: Sphaerosporidae) in farmed European seabass (*Dicentrarchus labrax*) from Italy. *Folia parasitologica*, 51, 208–210.

- Fouz, B., Zarza, C. & Amaro, C. (2006). First description of non-motile *Yersinia ruckeri* serovar I strains causing disease in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), cultured in Spain. *Journal of Fish Diseases*, 29, 339-346.
- Francis-Floyd, R. & Floyd, M. R. (2011). *Amyloodinium ocellatum*, an Important Parasite of Cultured Marine Fish, 4750.
- Francis-Floyd R. (2011). Mycobacterial Infections of Fish. *Southern Regional Aquaculture Center*, 4706, 1-12.
- Frerichs, G. N., Stewart, J. A. & Collens, R. O. (1985). Atypical infection of rainbow trout, (*Salmo gairdneri*, Richardson), with *Yersinia ruckeri*. *Journal of Fish Diseases*, 8, 383-387.
- Fuhrmann, H., Bohm, K. H. & Schlotfeldt, H. J. (1983). An outbreak of enteric redmouth disease in West Germany. *Journal of Fish Diseases*, 6, 309-311.
- Furones, M. D., Rodgers, C. J. & Munn, C. B. (1993). *Yersinia ruckeri*, the causal agent of enteric redmouth disease (ERM) in fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 3, 105–125. DOI: 10.1016/0959-8030(93)90031-6
- García-Rosado, E., Castro, D., Cano, I., Pérez-Prieto, S. I. & Borrego, J. J. (2002). Serological techniques for detection of lymphocystis virus in fish. *Aquatic Living Resources*, 15, 179–185. DOI: 10.1016/S0990-7440(02)01174-9
- Gauthier, D. T. & Rhodes, M. W. (2009). Mycobacteriosis in fishes: a review. *The Veterinary Journal*, 180, 33-47. DOI: 10.1016/j.tvjl.2008.05.012
- Golomazou, E. & Karanis, P. (2020). *Cryptosporidium* species in fish: an update. *Environmental Sciences Proceedings*, 2, 13. DOI: 10.3390/environsciproc2020002013
- Grotmol, S., Totland, G. K., Thorud, K. & Hjeltnes, B. K. (1997). Vacuolating encephalopathy and retinopathy associated with a nodavirus-like agent: a probable cause of mass mortality of cultured larval and juvenile Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 29, 85-97.
- Haldar, S., Maharajan, A., Chatterjee, S., Hunter, S. A., Chowdhury, N., Hinenoya, A., Asakura, M. & Yamasaki, S. (2010). Identification of *Vibrio harveyi* as a causative bacterium for a tail rot disease of seabream *Sparus aurata* from research hatchery in Malta. *Microbiological Research*, 165, 639–648. DOI: 10.1016/j.micres.2009.12.001
- Halimi, M., Alishahi, M., Abbaspour, M. R., Ghorbanpoor, M. & Tabandeh, M. R. (2018). Efficacy of a Eudragit L30D-55-encapsulated oral vaccine containing T inactivated bacteria (*Lactococcus garvieae*/*Streptococcus iniae*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 81, 430-437. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.07.048
- Hashish, E., Merwad, A., Elgaml, S., Amer, A., Kamal, H., Elsadek, A., Marei, A. & SitoHy, M. (2018). *Mycobacterium marinum* infection in fish and man: epidemiology, pathophysiology and management: a review. *Veterinary Quarterly*, 38, 35-46. DOI: 10.1080/01652176.2018.1447171

Hawke, J. P. (2012). Photobacteriosis. In FHS Blue Book: *Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens*. (pp. 1-15). AFS-FHS (American Fisheries Society-Fish Health Section) (Eds). <https://units.fisheries.org/fhs/fish-health-section-blue-book-2020/> Consultado em 25 de março de 2021.

Hayward, C. J., Bott, N. J., Itoh, N., Iwashita, M., Okihiro, M. & Nowak, B. F. (2007). Three species of parasites emerging on the gills of mulloway, *Argyrosomus japonicus* (Temminck and Schlegel, 1843), cultured in Australia. *Aquaculture*, 265, 27-40. DOI: 10.1016/j.Aquaculture.2007.02.004

Henry, M. A., Nikoloudaki, C., Tsigenopoulos, C., Rigos, G. (2015). Strong effect of long-term *Sparicotyle chrysophrii* infection on the cellular and innate immune responses of gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Developmental and Comparative Immunology*, 51, 185-193.

Henry, M. A., Kokou, F., Palenzuela, O., Pyrenis, G. & Rigos, G. (2020). Experimental infection model with the bivalvulid *Enteromyxum leei* (Myxidiidae) in the sharpnose seabream, *Diplodus puntazzo* (Sparidae), and evaluation of the antiparasitic efficacy of a functional diet. *Folia parasitologica*, 67, 024. DOI: 10.14411/FP.2020.024

Hick, P., Becker, J. & Whittington, R. (2016). Iridoviruses of Fish. In F. S. B. Kibenge, & M. G. Godoy (Eds.), *Aquaculture Virology* (pp. 127-152). Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-801573-5.00008-5

Hodneland, K., García, R., Balbuena, J. A., Zarza, C. & Fouz, B. (2011). Real-time RT-PCR detection of betanodavirus in naturally and experimentally infected fish from Spain. *Journal of Fish Disease*, 34, 189-202. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2010.01227.x

Huang, X., Liu, S., Chen, X., Zhang, H., Yao, J., Geng, Y., Ou, Y., Chen, D., Yin, L., Li, L. & Yang, S. (2020). Comparative pathological description of nocardiosis in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) and other Perciformes. *Aquaculture*, 534, 736193. DOI: 10.1016/j.Aquaculture.2020.736193

Ibarz, A., Padrós, F., Gallardo, M. Á., Fernández-Borràs, J., Blasco, J. & Tort, L. (2010). Low-temperature challenges to gilthead sea bream culture: review of cold-induced alterations and 'Winter Syndrome'. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20, 539-556. DOI: 10.1007/s11160-010-9159-5

Iglesias, R., Paramá, A., Álvarez, M. F., Leiro, J., Fernández, J. & Sanmartín, M. L. (2001). *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora, Scuticociliatida) as the causative agent of scuticociliatosis in farmed turbot *Scophthalmus maximus* in Galicia (NW Spain). *Diseases of Aquatic Organisms*, 46, 47-55.

Ina-Salwany, M. Y., Al-saari, N., Mohamad, A., Mursidi, F.-A., Mohd-Aris, A., Amal, M. N. A., Kasai, H., Mino, S., Sawabe, T. & Zamri-Saad, M. (2019). Vibriosis in Fish: A Review on Disease Development and Prevention. *Journal of Aquatic Animal Health*, 31, 3-22. DOI: 10.1002/aah.10045

Ingerslev, M. C., Strube, M. L., Jørgensen, L. V. G., Dalsgaard, I., Boye, M. & Madsen, L. (2014). Diet type dictates the gut microbiota and the immune response against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunology*, 40, 624-633.

Inglis, V., Roberts, R. J. & Bromage, N. J. (1993). Enteric redmouth (ERM) and other enterobacterial infections of fish. In *Bacterial Diseases of Fish* (pp. 80 -105).

- Itano, T., Kawakami, H., Kono, T. & Sakai, M. (2006). Detection of fish nocardiosis by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Applied Microbiology*, *100*, 1381–1387. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.02872.x
- Jaafar, R. M., Kania, P. W., Larsen, A. H., Nielsen, D. S., Fouz, B., Browdy, C. & Buchmann, K. (2013). Gut microbiota changes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during organic acid feed supplementation and *Yersinia ruckeri* infection. *Journal of Fish Diseases*, *36*(6), 599-606.
- Jacobs, J. M., Stine, C. B., Baya, A. M. & Kent, M. L. (2009). A review of mycobacteriosis in marine fish. *Journal of Fish Diseases*, *32*, 119–130. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2008.01016.x
- Johansen, R., Sommerset, I., Tørud, B., Korsnes, K., Hjortaas, M. J., Nilsen, F., Nerland, A. H. & Dannevig, B.H. (2004). Characterization of nodavirus and viral encephalopathy and retinopathy in farmed turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *Journal of Fish Diseases*, *27*, 591-601.
- Jun, J. W. (2015). Phylogenetic study on *Microcotyle* sp. (Monogenea) from common dentex (*Dentex dentex*) in the Mediterranean Sea, Greece. *African Journal of Biotechnology*, *14*, 2532-2538.
- Khalil, R.H., Diab, A. M., Shakweer, M. S., Ghetas, H. A., Khallaf, M. M. & Omar, A.E. D. (2018). New perspective to control of tenacibaculosis in sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture Research*, *49*, 2357–2365. DOI: 10.1111/are.13689
- Khimmakthong, U., Deshmukh, S., Chettri, J. K., Bojesen, A. M., Kania, P. W., Dalsgaard, I. & Buchmann, K. (2013). Tissue specific uptake of inactivated and live *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Visualization by immunohistochemistry and in situ hybridization. *Microbial Pathogenesis*, *59-60*, 33-41.
- Khouadja, S., Lamari, F. & Bakhrouf, A. (2013). Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during disease outbreaks. *International Aquatic Research*, *5*. DOI: 10.1186/2008-6970-5-13
- Kim, R. & Faisal, M. (2011). Emergence and resurgence of the viral hemorrhagic septicemia virus (Novirhabdovirus, Rhabdoviridae, Mononegavirales). *Journal of Advanced Research*, *2*, 9-23. DOI: 10.1016/j.jare.2010.05.007
- Kitamura, S.-I., Jung, S.J. & Oh, M. J. (2006). Differentiation of Lymphocystis Disease Virus Genotype by Multiplex PCR. *The Journal of Microbiology*, *44*, 248-253.
- Kumar, G., Menanteau-Ledouble, S., Saleh, M. & El-Matbouli, M. (2015). *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. *Veterinary Research*, *46*, 1–10. DOI: 10.1186/s13567-015-0238-4
- Kwon, S. R., Nam, Y. K., Sung, K. K. & Kim, K. H. (2006). Protection of tilapia (*Oreochromis mosambicus*) from edwardsiellosis by vaccination with *Edwardsiella tarda* ghosts. *Fish & Shellfish Immunology*, *20*, 621–626. DOI: 10.1016/j.fsi.2005.08.005

- Lamas, J., Noya, M., Figueiras, A. & Toranzo, A. E. (1995). Pathology associated with a viral erythrocytic infection in turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *Journal of Fish Diseases*, 18, 425-433. DOI: 10.1111/j.1365-2761.1995.tb00334.x
- Lama, R., Pereiro, P., Costa, M. M., Encinar, J. A., Medina-Gali, R. M., Pérez, L., Lamas, J., Leiro, J., Figueras, A. & Novoa B. (2018). Turbot (*Scophthalmus maximus*) Nk-lysin induces protection against the pathogenic parasite *Philasterides dicentrarchi* via membrane disruption. *Fish & Shellfish Immunology*, 82, 190–199. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.08.004
- Lan, J., Zhang, X. H., Wang, Y., Chen, J. & Han, Y. (2008). Isolation of an unusual strain of *Edwardsiella tarda* from turbot and establish a PCR detection technique with the gyrB gene. *Journal of Applied Microbiology*, 105, 644–651. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2008.03779.x
- Lawler, A. R. (1980). Studies on *Amyloodinium ocellatum* (Dinoflagellata) in Mississippi Sound: Natural and Experimental Hosts. *Gulf Research Reports*, 6, 403-413.
- Leal E., Ordás M. C., Soletto I., Zarza C., McGurk C. & Tafalla C. (2019). Functional nutrition modulates the early immune response against viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) in rainbow trout. *Fish & Shellfish Immunology*, 94, 769-779. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.09.070
- Leong, T. & Colorni, A. (2002). Infection diseases of warmwater fish in marine and brackish waters. *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture*, 193-230.
- Lim, J. & Hong, S. (2020). Characterization of *Aeromonas salmonicida* and *A. sobria* isolated from cultured salmonid fish in Korea and development of a vaccine against furunculosis. *Journal of Fish Diseases*, 43, 609-620. DOI: 10.1111/jfd.13158
- Lom, J. (1995). Protozoan and metazoan infections. In P. T. K. Woo (Ed.), *Fish Diseases and Disorders*. CABI Publishing: New York, NY.
- López-Romalde, S., Magariños, B., Núñez, S., Toranzo, A. E. & Romalde, J. L. (2003). Phenotypic and Genetic Characterization of *Pseudomonas anguilliseptica* Strains Isolated from Fish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 15, 39-47. DOI: 10.1577/1548-8667(2003)015<0039:PAGCOP>2.0.CO;2
- López-Vázquez, C., Conde, M., Dopazo, C. P., Barja, J. L. & Bandín, I. (2011). Susceptibility of juvenile sole *Solea senegalensis* to marine isolates of viral haemorrhagic septicaemia virus from wild and farmed fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 93, 111-116. DOI: 10.3354/dao02299
- Lumsden, J. S. (2017). Viral Haemorrhagic Septicemia Virus. In P. T. K. Woo, & Cipriano, R. C. (Eds.), *Fish Viruses and Bacteria: Pathobiology and Protection* (pp. 26-37). CABI: Oxfordshire, UK. DOI: 10.1079/9781780647784.0026
- Mabrok, M., Machado, M., Serra, C. R., Afonso, A., Valente, L. M. P. & Costas, B. (2016). Tenacibaculosis induction in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*) and studies of *Tenacibaculum maritimum* survival against host mucus and plasma. *Journal of Fish Diseases*, 39, 1445-1455. DOI: 10.1111/jfd.12483
- Maekawa, S., Yoshida, T., Wang, P-C. & Chen, S-C. (2017). Current knowledge of nocardiosis in teleost

- fish. *Journal of Fish Diseases*, 41, 413-419. DOI: 10.1111/jfd.12782
- Magariños, B., Devesa, S., González, A., Castro, N. & Toranzo, E. (2011). Furunculosis in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) cultures in a recirculation system. *The Veterinary Record*, 168, 431-431. DOI: 10.1136/vr.c6754
- Mahmoud, N. E., Mahmoud A. M. & Fahmy, M. M. (2014). Parasitological and Comparative Pathological Studies on Monogenean Infestation of Cultured Sea Bream (*Sparus aurata*, Spariidae) in Egypt. *Journal of Oceanography and Marine Research*, 2, 1000129.
- Ma, J., Bruce T. J., Jones, E. M. & Cain, K. D. (2019). A review of fish vaccine development strategies: Conventional methods and modern biotechnological approaches. *Microorganisms*, 7, 569. DOI: 10.3390/microorganisms7110569.
- Manin, B. O. & Ransangan, J. (2011). Experimental evidence of horizontal transmission of Betanodavirus in hatchery-produced Asian seabass, *Lates calcarifer* and brown-marbled grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* fingerling. *Aquaculture*, 321, 157-165. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.08.021
- Markestad, A. & Grave, K. (1997). Reduction of antibacterial drug use in Norwegian fish farming due to vaccination. *Developments in Biological Standardization*, 90, 365-369.
- Marques, C. L., Medeiros, A., Moreira, M., Quental-Ferreira, H., Mendes, A. C., Pousão-Ferreira, P. & Soares, F. (2019). Report and genetic identification of *Amyloodinium ocellatum* in a sea bass (*Dicentrarchus labrax*) broodstock in Portugal. *Aquaculture Reports*, 14, 100191.
- Martins, M. L., Azevedo, T.M. P., Ghiraldelli, L. & Bernardi, N. (2010). Can the parasitic fauna on Nile tilapias be affected by diferente production systems? *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 82, 493-500.
- Martins, M. L., Cardoso, L., Marchiori, N. & de Pádua, S. B. (2015). Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 24, 1-20.
- Masumura, K. & Wakabayashi, H. (1977). An outbreak of gliding bacterial disease in hatchery-born seabream (*Pagrus major*) and gilthead (*Acanthopagrus schlegeli*) fry in Hiroshima. *Fish Pathologies*, 12, 171-177.
- Matsutama, T., Nakayasu, C., Fujowara, A., Kurita, J., Takano, T., Ito, T. & Sano, M. (2012). Ontogeny of anti-viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) immunity in developing Japanese flounder. *Developmental and Comparative Immunology*, 37, 313-322.
- Meira-Filho, M. R., Ramirez, J. R. B., Vianna, R. T. & Júnior, J. P. (2017). Efficacy of glacial acetic acid in the control of *Trichodina* sp., and *Apiosoma* sp., associated with *Mugil liza*. *Aquaculture*, 479, 7-12.
- Menanteau-Ledouble, S., Kumar, G., Saleh, M. & El-Matbouli, M. (2016). *Aeromonas salmonicida*: updates on an old acquaintance. *Diseases of Aquatic Organisms*, 120, 49-68. DOI: 10.3354/dao03006

Mendez, J. & Guijarro, J. A. (2013). In vivo monitoring of *Yersinia ruckeri* in fish tissues: Progression and virulence gene expression. *Environmental Microbiology Reports*, 5, 179-185.

Merella, P., Cherchi, S., Garippa, G., Fioravanti, M. L., Gustinelli, S. & Salati, F. (2009). Outbreak of *Sciaenacotyle panceri* (Monogenea) on cage-reared meagre *Argyrosomus regius* (Osteichthyes) from the western Mediterranean Sea. *Diseases of Aquatic Organisms*, 86, 169-173. DOI: 10.3354/dao02115

Merella, P., Cherchi, S., Salati, F. & Garippa, G. (2005). Parasitological survey of sharpnose seabream *Diplodus puntazzo* (Cetti) reared in sea cages in Sardinia (western Mediterranean). *Bulletin- European Association of Fish Pathologists*, 25, 140-147.

Miccoli, A., Saraceni, P. R. & Scapigliati, G. (2019). Vaccines and immune protection of principal Mediterranean marine fish species. *Fish & Shellfish Immunology*, 94, 800-809. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.09.065

Mishra, A., Nam, G. H., Gim, J. A., Lee, H. E., Jo, A. & Kim, H. S. (2018). Current Challenges of *Streptococcus* Infection and Effective Molecular, Cellular, and Environmental Control Methods in Aquaculture. *Molecules and Cells*, 41, 495-505. DOI: 10.14348/molcells.2018.2154

Mladineo, I. (2018). Published on MedAID H2020 project. Consultado em 19 de abril de 2021.

Mladineo, I. (2003). The immunohistochemical study of nodavirus changes in larval, juvenile and adult sea bass tissue. *Journal of Applied Ichthyology*, 19, 366-370.

Mohamad, N., Noor, M., Amal, A., Yasin, I. S. M., Saad, M. Z., Nasruddin, N. S., Al-saari, N., Mino, S. & Sawabe, T. (2019). Vibriosis in cultured marine fishes: a review. *Aquaculture*, 512, 734-289. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734289

Mohanty, B. R. & Sahoo, P. K. (2007). Edwardsiellosis in fish: A brief review. *Journal of Biosciences*, 32, 1331-1344. DOI: 10.1007/s12038-007-0143-8

Montero, F. E., Crespo, S., Padrós, F., De la Gándara, F., García, A. & Raga, J. A. (2004). Effects of the gill parasite *Zeuxapta seriolae* (Monogenea: Heteraxinidae) on the amberjack *Seriola dumerili* Risso (Teleostei: Carangidae). *Aquaculture*, 232, 153-163.

Munday, B. L., Kwang, J. & Moody, N. (2002). Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *Journal of Fish Diseases*, 25, 127-142.

Navais, R., Méndez, J., Cascales, D., Reimundo, P. & Guijarro, J. A. (2014). The heat sensitive factor (HSF) of *Yersinia ruckeri* is produced by an alkyl sulphatase involved in sodium dodecyl sulphate (SDS) degradation but not in virulence. *BMC Microbiology*, 14, 1-13. DOI: 10.1186/s12866-014-0221-7

Nicholson, B. L. & Reno, P. W. (1981). Viral Erythrocytic Necrosis (VEN) in Marine Fishes. *Fish Pathology*, 15, 129-133.

Noga, E. J. (2010). *Fish Diseases: Diagnosis and Treatment*. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa; 2010. DOI: 10.2307/20460212

- Noga, E.J. (2012). *Amyloodinium ocellatum*. In P. T. K. Woo & K. Buchmann (Eds.), *Fish Parasites. Pathobiology and Protection* (pp. 19-29).
- Núñez-Díaz, J. A., Banda, I. G., Lobo, C., Moriñigo, M. A. & Balebona, M. C. (2017). Transcription of immune related genes in *Solea senegalensis* vaccinated against *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. Identification of surrogates of protection. *Fish & Shellfish Immunology*, *66*, 455-465. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.05.044
- Nys, Y., Bain, M., Van Immerseel F. (2011). Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products. *Egg Safety and Nutritional Quality*, *1*, 582-602.
- Ogut, H. & Uzun, E. (2014). Incidence and prevalence of *Diplectanum aequans* and its influence on the fitness of juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Black Sea. *Aquaculture Research*, *45*, 742-748. DOI: 10.1111/are.12015
- OIE. (2019a). Viral Encephalopathy and Retinopathy. In *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*; OIE Aquatic Animals Commission.
- OIE. (2019b). Viral Haemorrhagic Septicemia. In OIE - *Manual of Diagnostic Test for Aquatic Animals*. Chapter 2.3.10.
- Okamura, B., Gruhl, A. & Bartholomew, J. L. (2015). An introduction to myxozoan evolution, ecology and development. In B. Okamura, A. Gruhl, & J. L. Bartholomew (Eds), *Myxozoan evolution, ecology and development* (pp. 1-22). Springer International Publishing: Switzerland.
- Olveira, J. G., Souto, S., Dopazo, C. P., Thiéry, R., Barja, J. L. & Bandín, I. (2009). Comparative analysis of both genomic segments of betanodaviruses isolated from epizootic outbreaks in farmed fish species provides evidence for genetic reassortment. *Journal of General Virology*, *90*, 2940-2951. DOI: 10.1099/vir.0.013912-0
- Osorio, C. R., Toranzo, A. E., Romalde, J. L. & Barja, J. L. (2000). Multiplex PCR assay for ureC and 16s rRNA genes clearly discriminates between both subspecies of *Photobacterium damsela*. *Diseases of Aquatic Organisms*, *40*, 177-183. DOI: 10.3354/dao040177
- Ovcharenko, M. (2015). Microparasites of worldwide mullets. *Annals of Parasitology*, *61*, 229-239.
- Özer, A., Okay, S., Öztürk, T., Baki, B., Acar, G., Güven, A. & Öztürk, D. K. (2019). Comparative *Diplectanum aequans* (Monogenea) infestation in cultured European seabass (*Dicentrarchus labrax*) in the Black Sea and the Aegean Sea. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *32*, 163-169.
- Pagowski, V. A., Mordecai, G. J., Miller, K. M., Schulze, A. D., Kaukinen, K. H., Ming, T. J., Li, S., Amy K. Teffer, A. T., & Suttle, C. A., (2019). Distribution and Phylogeny of Erythrocytic Necrosis Virus (ENV) in Salmon Suggests Marine Origin. *Viruses*, *11*, 1-16. DOI:10.3390/v11040358
- Palenzuela, O., Alvarez-Pellitero, P., & Sitjà-Bobadilla, A., (2010). Molecular characterization of *Cryptosporidium molnari* reveals a distinct piscine clade. *Applied and Environmental Microbiology*, *76*, 7646-7649. DOI: 10.1128/AEM.01335-10

Paramá, A., Iglesias, R., Álvarez, M. F., Leiro, J., Aja, C. & Sanmartín, M. L. (2003). *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora, Scuticociliatida): experimental infection and possible routes of entry in farmed turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 217, 73–80.

Park, S. B., Aoki, T. & Jung, T. S. (2012). Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research*, 43, 1–11. DOI: 10.1186/1297-9716-43-67

Pazos, F., Santos, Y., Macías, A. R., Núñez, S. & Toranzo, A. E. (1996). Evaluation of media for the successful culture of *Flexibacter maritimus*. *Journal of Fish Diseases*, 19, 193-197. DOI: 10.1111/j.1365-2761.1996.tb00701.x

Pedersen, K., Grisez, L., Houdt, R., Tiainen, T., Ollevier, F. & Larsen, J. L. (1999). Extended Serotyping Scheme for *Vibrio anguillarum* with the Definition and Characterization of Seven Provisional O-Serogroups. *Current Microbiology*, 38, 183–189. DOI: 10.1007/pl00006784.

Peeler, E. J. & Murray, A. G. (2004). Disease interaction between farmed and wild fish populations. *Journal of Fish Biology*, 65, 321–322. DOI: 10.1111/j.0022-1112.2004.0559s.x

Pellizzari, C., Krasnov, A., Afanasyev S., Vitulo, N., Franch, R., Pegolo, S., Patarnello, T. & Bargelloni, L. (2013). High mortality of juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*) from photobacteriosis is associated with alternative macrophage activation and anti-inflammatory response: Results of gene expression profiling of early responses in the head kidney. *Fish & Shellfish Immunology*, 34, 1269-1278. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.02.007

Pereiro, P., Figueras, A. & Novoa, B. (2016). Turbot (*Scophthalmus maximus*) vs. VHSV (Viral Hemorrhagic Septicemia Virus): A Review. *Frontiers in Physiology*, 26, 192. DOI: 10.3389/fphys.2016.00192

Piazzon, M. C., Estensoro, I., Calduch-Giner, J. A., del Pozo, R., Picard-Sánchez, A., Pérez-Sánchez, J. & Sitjà-Bobadilla, A. (2018). Hints on T cell responses in a fish-parasite model: *Enteromyxum leei* induces differential expression of T cell signature molecules depending on the organ and the infection status. *Parasites & Vectors*, 11, 433. DOI: 10.1186/s13071-018-3007-1

Piazzon, M. C., Mladineo, I., Naya-Català, F., Dirks, R. P., Jong-Raadsen, S., Vrbatović, A., Hrabar, J., Pérez-Sánchez, J. & Sitjà-Bobadilla, A. (2019). Acting locally - affecting globally: RNA sequencing of gilthead sea bream with a mild *Sparicotyle chrysophrii* infection reveals effects on apoptosis, immune and hypoxia related genes. *BMC Genomics*, 1-16. DOI: 10.1186/s12864-019-5581-9

Picard-Sánchez, A., Estensoro, I., del Pozo, R., Palenzuela, O. R., Piazzon, M. C. & Sitjà-Bobadilla, A. (2020). Water temperature, time of exposure and population density are key parameters in *Enteromyxum leei* fish-to-fish experimental transmission. *Journal of Fish Diseases*, 43, 491-502. DOI: 10.1111/jfd.13147

Pierce, L. R., Willey, J. C., Palsule, V. V., Yeo, J., Shepherd, B. S., Crawford, E. L. & Stepien, C. A. (2013). Accurate Detection and Quantification of the Fish Viral Hemorrhagic Septicemia virus (VHSV) with a

Two-Color Fluorometric Real-Time PCR Assay. *PLoS ONE*, 8, e71851. DOI: 10.1371/journal.pone.0071851

Purcell, M. K., Pearman-Gillman, S., Thompson, R. L., Gregg, J. L., Hart, L. M., Winton, J. R., Emmenegger, E. J. & Hershberger, P. K. (2016). Identification of the major capsid protein of erythrocytic necrosis virus (ENV) and development of quantitative real-time PCR assays for quantification of ENV DNA. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28, 382–391. DOI: 10.1177/1040638716646411

Qadiri, S. S. N., Kim, S. -J., Krishnan, R., Kole, S. & Oh, M. -J. (2019). Early detection and localization of viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) genomic mRNAs in external tissues of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) following an immersion challenge. *Aquaculture*, 518, 734859. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734859

Raida, M.K. & Buchmann, K. (2008a). Development of adaptive immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) surviving an infection with *Yersinia ruckeri*. *Fish & Shellfish Immunology*, 25(5), 533-541.

Rangel, L. F., Castro, R., Rocha, S., Severino, R., Casal, G., Azevedo, C., Cavaleiro, F. & Santos, M. J. (2016). Tetractinomyxon stages genetically consistent with *Sphaerospora dicentrarchi* (Myxozoa: Sphaerosporidae) found in *Capitella* sp. (Polychaeta: Capitellidae) suggest potential role of marine polychaetes in parasite's life cycle. *Parasitology*, 143, 1067-1073. DOI: 10.1017/S0031182016000512

Ravid-Peretz, S., Colorni, A., Sharon, G. & Ucko, M. (2019). Vaccination of European sea bass *Dicentrarchus labrax* with avirulent *Mycobacterium marinum* (iipA: kan mutant). *Fish & Shellfish Immunology*, 90, 317-327. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.04.057

Reed, P., Francis-Floyd, R., Klinger, R. E. & Petty, D. (2009). Monogenean Parasites of Fish. University of Florida, IFAS, Florida.

Reid, A., Lymbery, Al., Ng-Hublin, J., Tweedle, S. & Ryan, U. (2010). Identification of novel and zoonotic *Cryptosporidium* species in marine fish. *Veterinary Parasitology*, 168, 190-195. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.11.015.

Ribeiro, M. C. D. S. (2016). Study of the pathogenicity of *Nocardia* spp. by experimental infection in meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) (Dissertação de Mestrado não editada). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa.

Rigos, G., Christophiligiannis, P., Yiagnisi, M., Andriopolou, A., Koutsodimou, M., Nengas, I. & Alexis, M. (1999). Myxosporean infections in Greek mariculture. *Aquaculture International*, 7, 361–364. DOI: 10.1023/A:1009200732200

Rigos, G. & Katharios, P. (2010). Pathological obstacles of newly-introduced fish species in Mediterranean mariculture: a review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20, 47–70. DOI: 10.1007/s11160-009-9120-7

Rigos, G., Mladineo, I., Nikoloudaki, C., Vrbatovic, A. & Kogiannou, D. (2016). Application of compound mixture of caprylic acid, iron and mannan oligosaccharide against *Sparicotyle chrysophrii* (Monogenea:

Polyopisthocotylea) in gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Folia Parasitologica*, 63, 1-6. DOI 10.14411/fp.2016.027

Rigos, G. & Stevenson, R. (2001). The effect of antibiotic treatment on the establishment of persistent infection with *Yersinia ruckeri* Serovar II in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture International*, 9, 247-253.

Ringo, E., Jutfelt, F., Kanapathipillai, P., Bakken, Y., Sundell, K., Glette, J., Mayhew, T. M., Myklebust, R. & Olsen, R. E. (2004). Damaging effect of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* on intestinal enterocytes of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Cell and Tissue Research*, 318, 305-311.

Roberts MS. 1983. A report of an epizootic in hatchery reared rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at an English trout farm, caused by *Yersinia ruckeri*. *J Fish Dis*. 6: 551-552.

Roberts, R. J. (2012). The Bacteriology of Teleosts. In R. J. Roberts (4<sup>th</sup> Ed.), *Fish Pathology* (pp. 339-382). Blackwell and Publishing Ltd.

Romalde, J. L. (2002). *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*: an integrated view of a bacterial fish pathogen. *International Microbiology*, 5, 3-9. DOI: 10.1007/s10123-002-0051-6

Romalde, J. L., Lopez-Romalde, S., Ravelo, C., Magariños, B. & Toranzo, A. E. (2004). Development and Validation of a PCR-based Protocol for the Detection of *Pseudomonas anguilliseptica*. *Fish Pathology*, 39, 33-41. DOI: 10.3147/jsfp.39.33

Rossle, N. F. & Latif, B. (2013). Cryptosporidiosis as threatening health problem: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3, 916-24. DOI: 10.1016/S2221-1691(13)60179-3. PMID: PMC3793167.

Rucker, R. (1966). Redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bull Off Int Epizoot*, 65, 825-830.

Santos, Y., Garcia-Marquez, G., Pereira, P. G., Pazos, F., Riaza, A., Silva, R., El Morabit, A. & Ubeira, F. M. (2005). Efficacy of furunculosis vaccines in turbot, *Scophthalmus maximus* (L.): evaluation of immersion, oral and injection delivery. *Journal of Fish Diseases*, 28, 165-172.

Santos, Y., Pazos, F. & Barja, J. L. (1999). *Flexibacter maritimus*, causal agent of flexibacteriosis in marinefish. In ICES Identification Leaflets for Diseases and Parasites of Fish and Shellfish; Oliver, G., Ed.; International Council for the Exploration of the Sea; Copenhagen, Denmark, 1-6. DOI: 10.17895/ices.pub.5236

Sanz, F. (1992). Mortality of cultured seabream (*Sparus aurata*) caused by an infection with a trematode of the genus *Microcotyle*. *Fish Pathology*, 12, 186-188.

Saraiva, A., Jerónimo, D. & Cruz, C. (2011). *Amyloodinium ocellatum* (Chromoalveolata: Dinoflagellata) in farmed turbot. *Aquaculture*, 320, 34-36. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.07.034.

Schneemann, A. Ball, L. A., Delsert, C., Johnson, J. E. & Nisizawa, T. (2005). Family Nodaviridae. In: C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, & L. A. Ball (Eds.), *Virus Taxonomy, Eighth Report of*

the International Committee on Taxonomy of Viruses (pp. 865–872). Elsevier Academic Press, London, UK.

Sheng, X., Xu, X. & Zhan, W. (2013). Development and application of antibody microarray for lymphocystis disease virus detection in fish. *Journal of Virological Methods*, 189, 243–249. DOI: 10.1016/j.jviromet.2013.02.015

Shoemaker, C. A., Xu, D. -H. & Soto, E. (2017). *Streptococcus iniae* and *S. agalactiae*. In P. T. K. Woo, & R. C. Cipriano (Eds.), *Fish Viruses and Bacteria: Pathobiology and Protection* (pp. 298-313). CABI, UK. DOI: 10.1079/9781780647784.0298

Sierralta, V., Leon, J., De Blas, I., Bastardo, A., Romalde, J. L., Castro, T. & Mateo, E. (2013). Patología e identificación de *Yersinia ruckeri* en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en piscigranjas de Junín, Perú. *Revista AquaTIC*, 38, 28-45.

Silan, P. & Maillard, C. (1989). Incidence and prevalence of *Diplectanum aequans* and its influence on the fitness of juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Black Sea. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie, Paris*, 10, 31-45

Sitjà-Bobadilla, A. & Alvarez-Pellitero, P. (1990). *Sphaerospora testicularis* sp. nov. (Myxosporea: Sphaerosporidae) in wild and cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), from the Spanish Mediterranean area. *Journal of Fish Diseases*, 13, 193-203. DOI: 10.1111/j.1365-2761.1990.tb00774.x

Sitjà-Bobadilla, A. & Alvarez-Pellitero, P. (1992). Effect of Fumagillin treatment on sea bass *Dicentrarchus labrax* parasitized by *Sphaerospora testicularis* (Myxosporea: Bivalvulida). *Diseases of Aquatic Organisms*, 14, 171–178. DOI: 10.3354/dao014171

Sitjà-Bobadilla, A. & Alvarez-Pellitero, P. (1993). Population dynamics of *Sphaerospora dicentrarchi* Sitjà-Bobadilla et Alvarez-Pellitero, 1992 and *S. testicularis* Sitjà-Bobadilla et Alvarez-Pellitero, 1990 (Myxosporea: Bivalvulida) infections in wild and cultured Mediterranean sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Parasitology*, 106, 39–45. <https://doi.org/10.1017/S0031182000074795>

Sitjà-Bobadilla, A. & Alvarez-Pellitero, P. (2003). Experimental transmission of *Cryptosporidium molnari* (Apicomplexa: Coccidia) to gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Parasitology Research*, 91, 209-214. DOI: 10.1007/s00436-003-0945-z

Sitjà-Bobadilla, A. & Palenzuela, O. (2012). *Enteromyxum* Species. In P. T. K. Woo, & K. Buchmann (Eds), *Fish Parasites: Pathobiology and Protection* (pp. 163–176). CAB International; UK, Oxfordshire.

Smail, D. A. (1982). Viral erythrocytic necrosis in fish: a review. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences*, 81, 169-176.

Smith, S. A. & Schwarz, M. H. (2019). Dealing with *Trichodina* and *Trichodina*-like species. Commercial Fish & Shellfish Technology Fact Sheet. Virginia Cooperative Extension, 600-205.

Soares, F., Roque, A. & Gavaia, P. J. (2018). Review of the principal diseases affecting cultured meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture Research*, 49, 1373–1382. DOI: 10.1111/are.13613

- Souto, S., Oliveira, J. G., Alonso, M. C., Dopazo, C. P. & Bandín, I. (2018). Betanodavirus infection in bath-challenged *Solea senegalensis* juveniles: A comparative analysis of RGNNV, SJNNV and reassortant strains. *Journal of Fish Diseases*, *41*, 1571-1578. DOI: 10.1111/jfd.12865
- Stevenson, R. M. W. & De Grandis, S. A. (1982). Variations in plasmid profiles and growth characteristics of *Yersinia ruckeri* strains. *FEMS Microbiology Letters*, *15*, 199–202. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1982.tb00067.x
- Stevenson, R. M. W. (1997). Immunization with bacterial antigens: Yersiniosis. In R. Gudding, A. Lillehaug, & F. Brown (Eds.), *Fish Vaccinology. Developments in Biological Standardization* (Vol. 90, pp. 117-124). Karger, Basel.
- Sueiro, R. A., Leiro, J. M., Blanco-Abad, V., Raaijmakers, J., Bruijn, I., Dirks, R. P. H. & Lamas J. (2022). Plant- and Bacteria-Derived Compounds with Anti-*Philasterides dicentrarchi* Activity. *Pathogens*, *11*, 267. DOI: 10.3390/pathogens11020267
- Su, Y. L., Feng, J., Li, Y. W., Bai, J. S. & Li, A. X. (2016). Development of a quantitative PCR assay for monitoring *Streptococcus agalactiae* colonization and tissue tropism in experimentally infected tilapia. *Journal of Fish Diseases*, *39*, 229-238. DOI: 10.1111/jfd.12358
- Svendsen, Y.S., Dalmo, R. A. & Bøgvold, J. (1999). Tissue localization of *Aeromonas salmonicida* in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., following experimental challenge. *Journal of Fish Diseases*, *22*, 125-131.
- Tak, L. S. & Colorni, A. (2002). Infectious diseases of warmwater fish in marine and brackish waters. In P. T. K. Woo, D. W. Bruno, & L. H. S. Lim (Eds.), *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture* (pp. 193–230). CAB International: Wallingford, UK.
- Tanrikul, T. T. (2007). Vibriosis as an Epizootic Disease of Rainbow Trout (*Onchorynchus mykiss*) in Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *10*, 1733-1737. DOI: 10.3923/pjbs.2007.1733.1737
- Ternengo, S., Agostini, S., Quilichini, Y., Euzet, L. & Marchand, B. (2010). Intensive infestations of *Sciaenocotyle panzerii* (Monogenea, Microcotylidae) on *Argyrosomus regius* (Asso) under fish-farming conditions. *Journal of Fish Diseases*, *33*, 89-92. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2009.01094.x
- Tobback, E., Decostere, A., Hermans, K., Haesebrouck, F. & Chiers, K. (2007). *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. *Journal of Fish Diseases*, *30*, 257–268. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2007.00816.x
- Tokşen, E., Buchmann, K. & Bresciani, J. (2007). Occurrence of *Benedenia sciaenae* van Beneden, 1856 (Monogenea: Capsalidae) in cultured meagre (*Argyrosomus regius* Asso, 1801) (Teleost: Sciaenidae) from western Turkey. *Fish Pathology*, *27*, 250-253.
- Toledo-Guedes, K., Sanchez-Jerez, P., Mora-Vidal, J., Girard, D. & Brito, A. (2012). Escaped introduced sea bass (*Dicentrarchus labrax*) infected by *Sphaerospora testicularis* (Myxozoa) reach maturity in coastal habitats off Canary Islands. *Marine Ecology*, *33*, 26-31. DOI: 10.1111/j.1439-0485.2011.00470.x
- Toranzo, A. E. (2004). Report about fish bacterial diseases. In *Mediterranean aquaculture diagnostic laboratories*, 49, 49-89.

- Toranzo, A. E., Magariños, B. & Romalde, J. L. (2005). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*, *246*, 37–61. DOI: 10.1016/j.Aquaculture.2005.01.002
- Toranzo, A. E., Romalde, J. L., Magariños, B. & Barja, J. L. (2009). Present and future *Aquaculture* vaccines against bacterial fish diseases, in: *The Use of Veterinary Drugs and Vaccines in Mediterranean Aquaculture*; Rodgers, C.; Barsuco, B., Eds.; Options Méditerranéennes, CIHEAM/FA. pp. 155–176.
- Toranzo, A. E., Santos, Y. & Barja, J. L. (1997). Immunization with bacterial antigens: *Vibrio* infections. In R. Gudding, A. Lillehaug, P. J. Mydting, & F. Brown (Eds), *Fish Vaccinology* (93-105).
- Totland, G. K., Grotmol, S., Morita, Y., Nishioka, T. & Nakai, T. (1999). Pathogenicity of nodavirus strains from striped jack *Pseudocaranx dentex* and Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*, studied by waterborne challenge of yolk-sac larvae of both teleost species. *Diseases of Aquatic Organisms*, *38*, 169-175.
- Tsertou, M. I., Smyrli, M., Kokkari, C., Antonopoulou, E. & Katharios, P. (2018). The aetiology of systemic granulomatosis in meagre (*Argyrosomus regius*): The “Nocardia” hypothesis. *Aquaculture Reports*, *12*, 5–11. DOI: 10.1016/j.aqrep.2018.08.002
- Tu, C., Suga, K. & Kanai, K. A. (2015). Multiplex PCR Assay for Differentiation of *Streptococcus parauberis* Serotypes. *Fish Pathology*, *50*, 213–215. DOI: 10.3147/jfsp.50.213
- Urku C. & Timur G. (2019). Streptococcal Infection Caused by *Enterococcus casseliflavus* in Cultured Meagre (*Argyrosomus regius*). *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, *71*.
- Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., de Pádua, S. B., Martins, M. L. & Pilarski, F. (2013b). *Trichodina heterodentata* (Ciliophora) infestation on *Prochilodus lineatus* larvae: a host-parasite relationship. *Parasitology*, 1-8.
- Valladão, G. M. R., Pádua, S. B., Gallani, S. U., Menezes-Filho, R. N., Dias-Neto, J., Martins, M. L., Ishikawa, M. M. & Pilarski, F. (2013a). *Paratrachodina africana* (Ciliophora): A pathogenic gill parasite in farmed Nile tilapia. *Veterinary Parasitology*, *197*, 705-710.
- Valle, A., Leiro, J. M., Pereiro, P., Figueras, A., Novoa, B., Dirks, R. P. H. & Lamas J. (2020). Interactions between the Parasite *Philasterides dicentrarchi* and the Immune System of the Turbot *Scophthalmus maximus*. A Transcriptomic Analysis. *Biology*, *9*, 337. DOI: 10.3390/biology9100337
- Valtonen, E. T., Rintamaki, P. & Koskivaara, M. (1992). Occurrence and pathogenicity of *Yersinia ruckeri* at fish farms in northern and central Finland. *Journal of Fish Diseases*, *15*, 163-171.
- Valverde, E. J., Borrego, J. J., Sarasquete, M. C., Ortiz-Delgado, J. B. & Castro, D. (2017). Target organs for lymphocystis disease virus replication in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Veterinary Research*, *48*. DOI: 10.1186/s13567-017-0428-3
- Valverde, E. J., Cano, I., Labella, A., Borrego, J. J. & Castro, D. (2016). Application of a new real-time polymerase chain reaction assay for surveillance studies of lymphocystis disease virus in farmed gilthead seabream. *BMC Veterinary Research*, *12*. DOI: 10.1186/s12917-016-0696-6

Van As, J. G. & Basson, L. (1989). A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichia) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodonids. *Systematic Parasitology*, 14, 157-179.

Vega-Sanchez, V., Acosta-Dibarrat, J., Vega-Castillo, F., Castro-Escarpulli, G., Aguilera-Arreola, M. G. & Soriano-Vargas, E. (2014). Phenotypical characteristics, genetic identification, and antimicrobial sensitivity of *Aeromonas* species isolated from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Mexico. *Acta Tropica*, 130, 76-79.

Vennerström, P. (2015). Pseudomoniasis (*P. anguilliseptica*) in farmed fish. In ICES Identification Leaflets for Diseases and Parasites of Fish and Shellfish. *International Council for the Exploration of the Sea*, 63, 1-4.

Víllora-Montero, M., Pérez-del-Olmo, A., Georgieva, S., Raga, J. A. & Montero, F. E. (2020). Considerations on the taxonomy and morphology of *Microcotyle* spp.: redescription of *M. erythrini* van Beneden & Hesse, 1863 (sensu stricto) (Monogenea: Microcotylidae) and the description of a new species from *Dentex dentex* (L.) (Teleostei: Sparidae). *Parasites Vectors*, 13.

Vrbatović, A. (2018). Effectiveness of selected natural and synthetic compounds against monogenean *Sparicotyle chrisophrii*. EAFP Small Grant Scheme.

Wakabayashi, H. & Egusa S. (1972). Characteristics of a *Pseudomonas* sp. from an epizootic of pond cultured eels (*Anguilla japonica*). *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 38, 577-587. DOI: 10.2331/suisan.38.577

Whittington, I. D. & Chisholm, L. A. (2008). Diseases Caused by Monogenea. In J. C. Eiras, H. Segner, T. Wahli, & B. G. Kapoor (Eds.), *Fish Diseases* (pp. 683-816). Science Publishers: Enfield, Jersey, Plymouth.

Winton, J. R. & Hershberger, P. K. (2014). 2.2.7. Viral Erythrocytic Necrosis. *Western Fisheries Research Center*. American Fisheries Society.

Woo, P. T. K. (2006). Fish Diseases and Disorders. *Protozoan and Metazoan Infections*, 1.

Woo, P. T. K., & Bruno, D. (2014). *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture* (2<sup>nd</sup> Edition). CABI International, 165-166.

Xavier, R., Severino, R., Pérez-Losada, M., Cable, J. & Harris, D. J. (2013). First record of *Sphaerospora dicentrarchi* (Myxosporidia, Sphaerosporidae) in *Dicentrarchus punctatus*. *Bulletin- European Association of Fish Pathologists*, 33, 21-23.

Xu, D., Shoemaker, C. A. & Zhang, D. (2015). Treatment of *Trichodina* sp reduced load of *Flavobacterium columnare* and improved survival of hybrid tilapia. *Aquaculture Reports*, 2, 126-131. DOI: 10.1016/j.aqrep.2015.09.007

Yahalomi, D., Haddas-Sasson, M., Rubinstein, N. D., Feldstein, T., Diamant, A. & Huchon, D. (2017). The multipartite mitochondrial genome of *Enteromyxum leei* (Myxozoa): Eight fast-evolving megacircles. *Molecular Biology and Evolution*, 34, 1551-1556. DOI: 10.1093/molbev/msx072

Yanong, R. P. E. & Francis-Floyd R. (2002). Streptococcal Infections of Fish. Program in Fisheries and Aquatic Sciences; SFRC, Florida Cooperative Extension Service; Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, FL. Available online: <https://edis.ifas.ufl.edu/fa057>

Yardimci, R. & Timur, G. (2015). Isolation and Identification of *Tenacibaculum maritimum*, the Causative Agent of Tenacibaculosis in Farmed Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) on the Aegean Sea Coast of Turkey. *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 67. DOI: 10.46989/001c.20708.

Yokoyama, H., Itoh, N., & Ogawa, K. (2015). Fish and Shellfish Diseases Caused by Marine Protists. In S. Ohtsuka, T. Suzuki, T. Horiguchi, N. Suzuki, & F. Not (Eds.), *Marine protists* (pp 533-549). Springer: Japan, Tokyo. DOI: 10.1007/978-4-431-55130-0\_22

Yolanda T. C., Clara, F. L. & Ysabel, S. (2018). Proteomic and molecular fingerprinting for identification and tracking of fish pathogenic Streptococcus. *Aquaculture*, 498, 322-334. DOI: 10.1016/j.Aquaculture.2018.08.041

Zorriehzahra, M. J., Nazari, A., Ghasemi, M., Ghiasi, M., Karsidani, S. H., Bovo, G. & Daud, H. H. M. (2013). Vacuolating encephalopathy and retinopathy associated with a nodavirus like agent: a probable cause of mass mortality of wild golden grey mullet (*Liza aurata*) and sharpnose grey mullet (*Liza saliens*) in Iranian waters of the Caspian Sea. *VirusDisease Journal*, 25, 430-436.

Zorriehzahra, M. J. (2020). Viral Nervous Necrosis Disease. *Emerging and Reemerging Viral Pathogens*, 673-703. DOI: 10.1016/B978-0-12-819400-3.00030-2







Cofinanciado por:

