

FRANCISELLA sp. – UMA REVISÃO

Hortência Aparecida BOTELHO¹

Natália Michele Nonato MOURAD²

Athalita Ester Mendonça da Silva Piva FERREIRA³

Matheus Hernandes LEIRA⁴

Carlos Cicinato Vieira MELO⁵

Aline Assis LAGO⁶

Rilke Tadeu Fonseca de FREITAS⁷

RESUMO

O objetivo desta revisão sistemática foi descrever o gênero *Francisella* sp. e suas consequências para a aquicultura. *Francisella* sp. é um patógeno emergente responsável por grandes perdas econômicas e compreende três espécies vastamente conhecidas: *F. tularensis*; *F. philomiragia* e *F. novicida*. Há muito a ser feito para melhor compreender a provável importância da *Francisella* sp. como causadora de doenças em peixes. Particular atenção deve ser dada a se obter uma melhor compreensão da imunopatogênese da doença a fim de desenvolver vacinas e medidas de controle.

Palavras-chave: Aquicultura, Imunopatogênese, Patógeno.

ABSTRACT

The aim of this review was to describe the genus *Francisella* sp., and its consequences to aquaculture. *Francisella* sp. is an emerging pathogen, which is responsible for large economic losses and it includes three widely known species: *F. tularensis*; *F. philomiragia* e *F. Novicida*. There is plenty work to be done to further understand the likely importance of *Francisella* sp. as a cause of disease in fish. Particular attention should be provided to obtain a better understanding of the immunopathogenesis of the disease for the purpose of developing vaccines and control measures.

Key words: Aquaculture, Immunopathogenesis, Pathogen

INTRODUÇÃO

A aquicultura mundial cada vez mais se intensifica e diversifica, e isso resulta em reconhecimento de agentes infecciosos e doenças antes desconhecidas (COLQUHOUN e DUODU, 2011). *Francisella* sp. é um patógeno bacteriano emergente que causa doença aguda para crônica em clima quente e frio e em espécies de peixes cultivados e selvagens (SOTO et al., 2009, p.713). Esse gênero compreende três espécies vastamente conhecidas *F. tularensis*; *F. philomiragia* e *F. novicida*.

Dada à recente descoberta destas doenças, muitos trabalhos científicos ainda estão



¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: hortenciabot@gmail.com.

em andamento e há um crescente interesse nessa área, pois as infecções de *Francisella* em peixes são graves e amplamente distribuídas.



A presente revisão abordará a caracterização do gênero *Francisella*, ocorrência da doença no mundo, espécies susceptíveis, sinais clínicos da doença, interação na célula hospedeira, transmissão, condições susceptíveis, tratamento e identificação da bactéria através de técnicas moleculares.

REFERENCIAL TEÓRICO

Caracterização do gênero *Francisella*

O gênero *Francisella* é composto de bactérias não-móveis, gram-negativa, estritamente aeróbias, cocobacilos intracelular facultativos (FOLEY e NIETO, 2010, p.332) e compreende três espécies vastamente conhecidas *F. tularensis*; *F. philomiragia* e *F. novicida*. Alguns autores consideram a espécie *F. novicida* como uma subespécie da *F. tularensis*, sendo esta dividida em três subespécies, *F. tularensis* ssp *tularensis*, *holortica* e *mediasiatica* (FARLOW et al. 2005; COLQUHOUN; DUODU, 2011; OTTEM, 2011). A espécie *F. philomiragia* divide-se em *F. noatunensis* ssp *noatunensis* e *F. noatunensis* ssp *orientalis* (BIRKBECK et al., 2007; MIKALSEN, 2008).

No entanto, estudos de biologia molecular, tem demonstrado que há uma grande quantidade de espécies que não foram descritas para este gênero (BARNS et al., 2005; BERRADA et al., 2010). Porém a situação taxonômica dentro do gênero é complexa e atualmente, relativamente dinâmica. A situação tornou-se menos clara quando começaram as descrições de vários isolados em diversas espécies de peixes (COLQUHOUN e DUODU, 2011).

A *F. tularensis* ssp. *tularensis* é encontrada principalmente na América do Norte e é considerada a mais virulenta para os animais e seres humanos (FARLOW et al., 2005; SJOSTED, 2005, p.200). Considerando a aparente ligação entre *F. tularensis* e ambientes aquáticos, peixes e anfíbios têm sido considerados prováveis reservatórios (PARKER et al., 1951).

Ocorrência da *Francisella* sp

As primeiras infecções observadas e agora reconhecidas como *Francisella noatunensis* ssp. *Orientalis* foram diagnosticadas em tilápia cultivada em água doce e



salgada (*Oreochromis spp*) no Taiwan (CHERN et al., 1994, p.61; CHEN et al., 2000,



p.117; HSIEH et al., 2006, p.129). Em seguida, a doença foi identificada em viveiros de tilápia na América Latina (MAUEL et al., 2007, p.27; MIKALSEN; COLQUHOUN, 2009; SOTO et al., 2009, p.713) e nos EUA (MAUEL et al., 2005, p.601). A bactéria foi também isolada de tilápia na Indonésia (OTTEM et al., 2009) e na Inglaterra (JEFFREY et al., 2010, p. 161).

Outras espécies afetadas foram encontradas na Califórnia por Ostland et al. (2006, p.135) e no Japão através de animais importados da China (FUKUDA et al., 2002, p.119). Há ocorrências ao longo de uma grande área em ambos os lados do Oceano Pacífico e em ambientes diversos, de água doce, salobra e salgada (OTTEM, 2011).

A distribuição da *F. noatunensis* ssp. *noatunensis* é mais restrita. A maioria dos registros de *Francisella* são em viveiros de bacalhau, mas as infecções foram também detectadas em populações de bacalhau selvagem (ALFJORDEN, 2006; ZERIHOUN et al., 2008; ALFJORDEN et al., 2009,p.55; KARLSBAKK et al., 2010, p.101), em bacalhau selvagem do sul do Mar do Norte (VAN BANNING, 1987, p.1; ZERIHOUN et al., 2008), e no bacalhau de cativeiro e selvagem da costa da Noruega, sendo a única espécie de peixe na Noruega onde a bactéria foi isolada (NYLUND et al., 2005, p.44; OLSEN et al., 2006, p.277). A linhagem de *F. noatunensis* ssp. *noatunensis* também está presente no Chile (BIRKBECK et al., 2007, p. 277).

Espécies Susceptíveis

Muitas doenças bacterianas sistêmicas resulta em morte relativamente rápida dos peixes afetados, que desaparecem da população e, portanto, sendo difícil detectar a prevalência nas populações de peixes selvagens. Uma prevalência de aproximadamente 20%, com base em observações macroscópicas, foi identificada em bacalhau selvagem capturado na Costa Oeste na Suécia (COLQUHOUN e DUODU, 2011).

Infecções reconhecidas como *Francisella noatunensis* ssp. *orientalis* foram as primeiras a serem observadas em tilápia (*Oreochromis* spp.) do Taiwan em ambientes de água salobra e de água doce (CHERN et al. 1994, p.61). Além de Taiwan, a bactéria foi identificada em tilápias cultivadas na América Latina (MAUEL et al., 2007, p.27), mais especificamente na Costa Rica (MIKALSEN et al., 2009; SOTO et al., 2009, p. 213) e em vários estados dos Estados Unidos (MAUEL et al., 2005, p. 601). A bactéria foi



também isolada de tilápias na Indonésia por Ottem et al. (2009) e recentemente



confirmada em tilápias cultivadas em sistemas de recirculação na Inglaterra (JEFFREY et al., 2010, p. 161).

Uma investigação antiga também identifica retrospectivamente a bactéria em vários peixes ornamentais em Taiwan (HSIEH et al. 2007, p. 29). Na tabela seguinte são apresentadas algumas espécies susceptíveis a bactéria.

Tabela I: Espécies susceptíveis a bactéria *Francisella* sp

| Espécies | Referências |
|---|---|
| Tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> | Soto et al.,2009 Bucke; Zerihun et al., 1989 Hsieh et al., 2006 Mauel et al., 2007 Jeffrey et al., 2010 |
| Bacalhau do Atlântico <i>Gadus morhua</i> | Olsen et al.,2006 Nylund et al. 2006 Ottem et al. 2007, 2008 Bucke 1989; |
| Salmão do Atlântico <i>Salmo Salar</i> | Birkbeck et al., 2007 |
| Peixes ornamentais | Hsieh et al. 2007 |
| Robalo Híbrido | Ostland et al. 2006 |

Dentre as espécies acometidas, o bacalhau é a única espécie de peixe na Noruega a partir do qual a bactéria tem sido isolada (NYLUND et al., 2005, p. 44, OLSEN et al., 2006, p.307). Sugere-se que o bacalhau é o principal hospedeiro para *F. noatunensis* ssp. *noatunensis* ao longo da costa sul da Noruega. Várias espécies de peixes e alguns invertebrados também foram identificados como fracamente positivo usando o ensaio Real-time-PCR FC50 que apenas detecta *F. noatunensis* entre a conhecida *Francisella*. A linhagem de *F. noatunensis* ssp. *noatunensis* também está presente no Chile (BIRKBECK et al., 2007, p. 505).

Vojtech et al., (2009) em estudos com Zebrafish descobriram que os mesmos eram susceptíveis a infecção pelo *Francisella* sp, pois apresentaram lesões no fígado, baço, pâncreas e rins, mostrando estágios iniciais da formação de granuloma.

Sinais clínicos da doença



A infecção por *Francisella* sp. caracteriza-se como uma síndrome aguda (com poucos sinais clínicos e alta mortalidade) subaguda ou crônica (com sinais clínicos inespecíficos com variados graus de mortalidade) (SOTO et al, 2010, p. 2070; COLQUHOUN e DUODU, 2011).

Segundo Soto et al. (2009, p.713) tilápias infectadas apresentaram sinais clínicos não específicos, tais como a natação errática, anorexia, anemia, exoftalmia e alta mortalidade. Após exame microscópico, vários órgãos internos (principalmente baço e rim) apresentaram nódulos brancos. O exame histológico revelou a presença de lesões granulomatosas multifocais, com a presença de cocos bacilos. Os peixes acometidos nadam erraticamente e depois morrem. Este sinal clínico pode ser relacionado com a quantidade de inflamação granulomatosa presente no sistema nervoso central.

Para Mauel et al. (2007, p. 27) em estudos com tilápias relataram que os peixes afetados estavam com aparência pálida, magro e tinha um comportamento de natação anormal. Peixes grosseiramente afetados não tinham ulcerações na pele, mas apresentaram áreas focais de hemorragia, petéquias e perda de escamas. Além disso, os autores também observaram que as tilápias afetadas em criações de peixes da América do Sul tiveram lesões intramusculares que afetaram significativamente o processamento das carcaças.

Em estudos realizados em Bacalhau do Atlântico *Gadus morhua* por Olsen et al. (2006, p.307) observaram lesões internas de cores branco ou creme, parcialmente saliente com nódulos de vários tamanhos particularmente no baço, coração, rim e fígado. Além desses aspectos os animais acometidos pela *Francisella* apresentaram emagrecimento, nódulos hemorrágicos e ascite. O exame histopatológico revelou uma extensa região granulomatosa crônica em resposta às múltiplas lesões presentes em todos os órgãos afetados. As lesões iniciais compostas por acúmulos de macrófagos ativados são intercaladas entre as lesões mais avançadas caracterizadas pela presença de centros necróticos rodeados por uma camada de células epitelióides (macrófagos) e uma camada exterior de fibroblastos, células vacuolizadas, linfócitos e pequenos vasos sanguíneos.

Colquhoun e Duodu (2011) relataram que a maioria das infecções bacterianas sistêmicas comuns que afetam populações de bacalhau na Noruega é a furunculose, causada por cepas atípicas de *Aeromonas salmonicida*. Este tipo de infecção pode resultar em doença apresentando-se macroscopicamente muito semelhante a *francisellosis*.



Embora ambas as doenças resultam em grande desenvolvimento de granulomas, elas são facilmente diferenciadas por exame histológico.

***Francisella* spp. e interações na célula hospedeira**

As células alvo primárias para a *Francisella* spp. em vertebrados, são fagócitos (Proctor et al., 1975, Löfgren et al., 1983, p.229) epitélios e células dendríticas (HALL et al., 2007, p.521, KAMAISHI et al., 2010, p.145).

Os fagócitos são importantes no controle inicial de infecções por internalizar os agentes patogênicos e na formação de fagolisossomos que eventualmente degradam esse conteúdo. Entretanto as bactérias intracelulares, incluindo os membros do gênero *Francisella* desenvolveram resistência a essa degradação do fagolisossomo (GOLOVLIOV et al., 2003, p.5940, CLEMENS et al., 2004, p. 3204, SANTIC et al., 2005, p. 969).

Transmissão

Há algumas evidências de estudos experimentais que a bactéria é transmitida horizontalmente de peixe para peixe a curtas distâncias (NYLUND et al., 2006, p. 383; MIKALSEN et al., 2009). Segundo Colquhoun e Duodu (2011) bactérias do gênero *Francisella* são não-móveis e são transmitidas por contato direto com animais infectados, através de água ou alimentos contaminados, ou por vetores, tais como insetos.

A espécie *Francisella tularensis*, que é agente causador da tularemia, além de ser um importante patógeno animal, é um agente zoonótico que tem recebido considerável estudo como agente de bioterrorismo em potencial. O organismo tem uma alta taxa de infectividade e múltiplas rotas infecciosas (KEIM et al., 2007, p. 30; NANO; SCHMERK, 2007, p. 122).

Condições susceptíveis

Há limitadas informações publicadas da epidemiologia da doença em tilápia. É relatado que a tilápia em Taiwan são mais afetadas durante o inverno sendo considerada uma doença de água fria. Também é relatado que tilápias criadas em unidades de



recirculação podem ser mais susceptíveis à doença (Hsieh et al., 2006, p. 129).



Entretanto para Colquhoun e Duodu (2011) as condições ambientais, em especial a temperatura, parece desempenhar um papel significativo na taxa de mortalidade. Geralmente, quanto maior a temperatura, mais aguda a doença, com níveis de mortalidade cada vez maiores. A presença de infecções mistas com outras bactérias patogênicas de peixe pode também significativamente afetar as taxas de mortalidade.

De acordo com Birkbeck et al. (2011, p.173) não se sabe ao certo a faixa de temperatura ideal para qualquer *Francisella* espécies (subespécies). Ambas crescem bem entre 15 e 22 ° C, in vitro, sugerindo que provavelmente represente um maior risco na primavera, no verão e em climas temperado. Mas na ausência de experimentos ou evidências epidemiológicas adicionais, este permanece especulativo.

Mauel et al. (2003) observaram em seus estudos que houve um aumento na mortalidade após a transferência de peixes de lagoa em lagoa, em tempos de aumento da turbidez da água e aumento ou queda da temperatura da água.

Segundo Birkbeck et al. (2011) a lista de espécies afetadas por este grupo de organismos provavelmente irá aumentar, particularmente porque existem várias espécies, tanto marinhas e de água doce em uma gama de diferentes continentes e latitudes, que são supostamente afetadas por patógenos bacterianos intracelulares não identificados que causam sinais de doenças semelhantes e histopatológico associados com *Francisella* spp.

Tratamento

Há pouca informação disponível sobre o controle e métodos que poderiam ser usados para *Francisella* em bacalhau e outras espécies de peixes, mas presume-se que peixes afetados podem ser tratados com antibióticos.

Ottem et al. (2007), relataram que os peixes isolados que apresentavam sinais de doença foram resistentes aos antibióticos sulfametoxazol-trimetoprim, penicilina, ampicilina, cefuroxima e eritromicina, mas foram susceptíveis a ceftazidima, tetraciclina, gentamicina e ciprofloxacina com parciais susceptibilidade ao ácido oxolínico. Mais recentemente Soto et al. (2010) mostraram que o florfenicol pode ser usado para controlar experimentalmente a *francisellosis* em tilápias infectadas. Florfenicol foi capaz de reduzir a carga bacteriana em tilápias e sua incorporação na alimentação em vários momentos após o desafio com *F. noatunensis* ssp. *orientalis* proporcionou 100% e 86,7% de sobrevivência relativa para os grupos tratados de 1 a 3 dias após o desafio,

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: hortenciabot@gmail.com.

respectivamente. Assim, este antibiótico tem a capacidade de penetração intracelular, promovendo a limpeza e proteção bacteriana se usado no início da infecção.

Identificação da bactéria através de técnicas moleculares

Birkbeck et al. (2007) foram capazes de amplificar o gene de rRNA 16S por PCR e identificar a presença de *Francisella* sp em Salmão do Atlântico *Salmo salar*. Hsieh et al. (2007) também têm mostrado, utilizando PCR e hibridização in situ de tecidos embebidos em parafina fixadas em formalina, que o agente bacteriano intracelular provável responsável por numerosas lesões granulomatosas em um número de espécies comercializadas de peixes ornamentais, entre 1998 e 2002 foi de uma espécie de *Francisella*, com sequência do gene 16S rRNA de homologia para o patógeno causador da doença em tilápias tailandesa.

Vojtech et al. (2009) em estudos com Zebrafish descobriram que os mesmos eram susceptíveis a infecção pela *Francisella* sp. Pois apresentaram lesões no fígado, baço, pâncreas e rins, mostrando estágios iniciais da formação de granuloma. A resposta do hospedeiro foi medida através de transcrição reversa e PCR em tempo real, mostrando regulação positiva de genes para a interleucina-1 β , γ -interferon e fator de necrose tumoral, indicando que o Zebrafish pode ser útil no estudo mais amplo das interações *Francisella*-hospedeiro.

Diagnóstico anterior de *francisellosis* em espécies de peixes foi feita com o auxílio de histopatologia, microscopia eletrônica, ensaios de cultura convencionais, reação em cadeia de polimerase (PCR), utilizando *Francisella* sp., primers específicos, 16S rRNA sequenciamento e a hibridação in situ (KAMAISHI et al., 2005, HSIEH et al., 2006, p. 129, OSTLAND et al., 2006, p.135, MAUEL et al., 2007, p. 27, OTTEM et al., 2007, p.343, SOTO et al., 2009, p. 713). No entanto, o diagnóstico do patógeno permanece um desafio, e algumas das técnicas atuais são difíceis, demorada e cara; requerendo pessoal especializado e propensas a mostrar falsos negativos devido à baixa sensibilidade, ou falsos positivos devido à baixa especificidade (SOTO et al.,2010, p. 2070).

CONCLUSÃO

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: hortenciabot@gmail.com.

Claramente, ainda há muito a ser feito para melhor compreender a provável importância da *Francisella* spp. como causadora de doenças em peixes. Particular atenção deve ser dada a se obter uma melhor compreensão da imunopatogênese da doença, para um melhor guia de esforços a fim de desenvolver vacinas e outras medidas de controle. Também deve se ter uma preocupação em aperfeiçoar as técnicas moleculares e ferramentas genéticas na identificação da bactéria. Estudos práticos devem ser realizados com o objetivo de desenvolver antibióticos no tratamento da bactéria. É importante ressaltar que o uso de antibiótico na aquicultura deve ser feito de forma consciente, evitando assim animais resistentes a doença e contaminação do meio aquático.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alfjorden, A.; Jansson, E.; Johansson, K. A systemic granulomatous inflammatory disease in wild Atlantic cod, *Gadus morhua* associated with a bacterium of the genus *Francisella*. Dipnet Newsletter 44,2006.

Alfjorden, A.; Madsen, L. Provide a review of new diagnostic techniques for *Francisella* sp. and progress in vaccine development, and an update on the susceptibility of species other than cod to this pathogen (ToR b) in: ICES WGPDMO REP pp 55-58,2009.

Barns, S.M.; Grow, C.C.; Okinaka, R.T.; Keim, P.; Kuske, C.R.: Detection of diverse new *Francisella*-like bacteria in environmental samples. Appl Environ Microbiol, 71:5494-5500, 2005.

Berrada, Z.L.; Telford, S.R.III.: Diversity of *Francisella* Species in Environmental Samples from Martha's Vineyard, Massachusetts. Microb Ecol, 59:277-283, 2010.

Birkbeck, T.H.; Bordevik, M.; Froystad, M.K; Baklien, A. Identification of *Francisella* sp. from Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Chile. Journal of Fish Diseases 30, 505–507, 2007.

Birkbeck, T.H.; Feist, S.W.; Verner- Jeffrey, D.W. *Francisella* infections in fish and shellfish. Journal of Fish Diseases, 34, 173-187, 2011.

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: hortenciabot@gmail.com.

Bucke, D. Observations on visceral granulomatosis and dermal necrosis in populations of North Sea cod. ICES CM 1989/E:17. 13pp, 1989.

Chen, M.F.; Yun, S.; Marty, G.D.; McDowell, T.S.; House, M.L.; Appersen, J.A.; Guenther, T.A.; Arkush K.D.; Hedrick, R.P. A Piscirickettsia salmonis-like bacterium associated with mortality of white seabass *Atractoscion nobilis*. Dis Aquat Org 43: 117 – 126, 2000.

Chern, R.S; Chao, C.B. Outbreaks of a disease caused by rickettsia-like organism in cultured tilapias in Taiwan. Fish Pathol, 29:61-71,1994.

Clemens, D. L.; Lee, B. Y; Horwitz, M. A. Virulent and avirulent strains of *Francisella tularensis* prevent acidification and maturation of their phagosomes and escape into the cytoplasm in human macrophages. Infect Immun 72, 3204–3217, 2004.

Colquhoun, D.J., Duodu,S. *Francisella* infections in farmed and wild aquatic organisms- Veterinary Research, 2011.

Farlow, J.; Wagner, D.M.; Dukerich, M.; Stanley, M.; Chu, M.; Kubota, K.; Petersen, J.; Keim, P. *Francisella tularensis* in the United States Emerg Infect Dis 12:1835-41,2005.

Foley, J.E; Nieto, N.C. Tularemia *Veterinary Microbiology* 140, 332–338,2010.

Fukuda,Y.; Okamura, A.; Nishiyama, M.; Kawakami, H.; Kamaishi, T.; Yoshinga, T. Granulomatosis of cultured three-line grunt *Parapristipoma trilineatum* caused by an intracellular bacterium. Fish Pathol,37:119-124,2002.

Golovliov, I.; Baranov, V.; Krocova, Z.; Kovarova, H.; Sjostedt, A. An attenuated strain of the facultative intracellular bacterium *Francisella tularensis* can escape the phagosome of monocytic cells. Infect Immun 71, 5940–5950,2003.

Hall, G.L.; Sly, P.D.; Fukushima, T.; Kusel, M.M.; Franklin, P.J.; Horak, Jr. F.; Patterson, H.; Gangell, C.; Stick, S.M. Respiratory function in healthy young children using forced oscillations. *Thorax* 62, 521–526,2007.

Hsieh, C.Y.; Tung, M.C.; Tu, C.; Chang, C.D.; Tsai, S.S. Enzootics of visceral granulomas associated with *Francisella*-like organism infection in tilapia (*Oreochromis* spp.). *Aquaculture*, 254:129-138, 2006.

Hsieh, C.Y.; Wu, Z.B.; Tung, M.C.; Tsai, S.S. PCR and in situ hybridization for the detection and localization of a new pathogen *Francisella*-like bacterium (FLB) in ornamental cichlids. *Diseases of Aquatic Organisms* 75, 29–36, 2007.

Jeffrey, K.R.; Stone, D.; Feist, S.W.; Verner-Jeffreys, D.W. An outbreak of disease caused by *Francisella* sp. in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* at a recirculation fish farm in the UK. *Dis Aquat Organ*,91:161-165,2010.

Kamaishi, T.; Miwa, S.; Goto, E.; Matsuyama, T.; Oseko, N. Mass mortality of giant abalone *Haliotis gigantea* caused by a *Francisella* sp. bacterium. *Diseases of Aquatic Organisms* 89, 145–154,2010.

Kamaishi, T.; Fukuda, Y.; Nishiyama, M.; Kawakami, H.; Matsuyama, T.; Yoshinaga, T.; Oseko, N.; Identification and pathogenicity of intracellular *Francisella* bacterium in three-line Grunt *Parapristipoma trilineatum*. *Fish Pathol* 40: 67 – 71, 2005.

Karlsbakk, E.; Omdal, L.M.; Wangen, I.H.; Fiksdal, I.U.; Mortensen, S.; Ottem, K.F.; Nylund, A. mittespredning ved francisellose hos torsk. Havforskningsrapporten 2010. *Fisken og Havet* 1:101-102. In Norwegian, 2010.

Keim, P.; Johansson, A.; Wagner, D.M. Molecular epidemiology, evolution, and ecology of *Francisella*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1105, 30–66,2007.

Lofgren, G.E. Lofgren Effect of heterogeneous nucleation on basaltic textures: A dynamic crystallization study J. Petrol., 24 (1983), pp. 229–255, 1983.

Mauel, M.J.; Miller, D.L.; Frazier, K.; Liggett, A.D.; Styer, L.; Montgomery-Brock, D.; Brock, J. Characterization of a piscirickettsiosis-like disease in Hawaiian tilapia. *Diseases of Aquatic Organisms* 53, 249–255, 2003.

Mauel, M.J.; Soto, E.; Moralis, J.A.; Hawke, J. A piscirickettsiosis-like syndrome in cultured Nile tilapia in Latin America with *Francisella* spp. as the pathogenic agent. *J Aqua Anim Health*, 9:27-34, 2007.

Mauel, M.J.; Miller, D.L.; Styer, E.; Poudner, D.B.; Yanong, R.P.; Goodwin, A.E.; Schwedler, T.E. Occurrence of Piscirickettsiosis-like syndrome in tilapia in the continental United States. *J Vet Diagn Invest*, 17:601-605, 2005.

Mikalsen, J.; Colquhoun, D.J. *Francisella asiatica* sp. Nov. isolated from farmed tilapia (*Oreochromis* sp.) and elevation of *Francisella philomiragia* subsp. *noatunensis* to species rank as *Francisella noatunensis* comb. nov. sp. *Int J Syst Evol Microbiol* 2009.

Mikalsen, J. Diagnosis and characterisation of intra-cellular Gram-negative pathogens of marine and salmonid fish. Thesis for the degree of Philosophiae Doctor (Ph.D). 55 pages, 2008.

Nano, F.E.; Schmerk, C. The *Francisella* pathogenicity island. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1105, 122–137, 2007.

Nylund, A.; Ottem, K.F.; Watanabe, K. Ny torskesykdom forårsaket av bakterien *Francisella* n. sp. *Norsk Fiskeoppdrett* 22:44-47. In Norwegian, 2005.

Nylund, A.; Ottem, K.F.; Watanabe, K. *Francisella* sp. (Family Francisellaceae) causing mortality in Norwegian cod (*Gadus morhua*) farming. *Arch Microbiol* 185:383–392, 2006.

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: hortenciabot@gmail.com.

Olsen, A.B.; Mikalsen, J.; Rode, M.; Alfjorden, A.; Hoel, E.; Straum-Lie, K.; Haldorsen, R.; Colquhoun DJ. A novel systemic granulomatous inflammatory disease in farmed Atlantic cod, *Gadus morhua* L., associated with a bacterium belonging to the genus *Francisella*. *J Fish Dis* 29:307–311, 2006.

Ostland, V.E.; Stannard, J.A.; Creek, J.J.; Hedrick, R.P.; Ferguson, H.W.; Carlberg, J.M.; Westerman, M.E. Aquatic *Francisella*-like bacterium associated with mortality of intensively cultured hybrid striped bass *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. *Dis Aquat Organ*, 72:135-145, 2006.

Ottem, K.F. *Francisella noatunensis*– Taxonomy and ecology. Thesis. University of Bergen, Norway, 2011.

Ottem, K.F.; Nylund, A.; Karlsbakk, E.; Friis-Møller, A.; Krøssoy, B. Characterization of *Francisella* sp., GM 2212, the first *Francisella* isolate from marine fish, Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Archives of Microbiology* 187, 343–350, 2007.

Ottem, K.F.; Nylund, A.; Karlsbakk, E.; Friis-Møller, A.; Krøssoy, B.; Knapskog, D. New species in the genus *Francisella* (Gammaproteobacteria; Francisellaceae); *Francisella piscicida* sp. nov. isolated from cod (*Gadus morhua*). *Archives of Microbiology* 188, 547–550, 2007.

Ottem, K.F.; Nylund, A.; Isaksen, T.E.; Karlsbakk, E.; Bergh Ø. Occurrence of *Francisella piscicida* in farmed and wild Atlantic cod, *Gadus morhua* L., in Norway. *Journal of Fish Diseases* 31, 525–534, 2008.

Parker, R.R.; Steinhaus, E.A.; Kohls, G.M.; Jellison, W.L. Contamination of natural waters and mud with *Pasteurella tularensis* and tularemia in beavers and muskrats in the northwestern United States. *Bull Natl Inst Health* 193:1-161, 1951.

Proctor, N. H.; Chan, S. L.; Trevorr, A. J. Production of saxitoxin by cultures of *Gonyaulax catenella*. *Toxicon* 13, 1, 1975.

Santic, M.; Molmeret, M.; Klose, K. E.; Jones, S.; Kwaik, Y. A. The *Francisella tularensis* pathogenicity island protein IglC and its regulator MglA are essential for modulating phagosome biogenesis and subsequent bacterial escape into the cytoplasm. *Cell Microbiol* 7, 969–979, 2005.

Sjösted, A.; Genus, I. *Francisella* Dorofe'ev 1947, 176al. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Proteobacteria* 2005, 2:200-210.

Soto, E.; Hawke, J.P.; Fernandez, D.; Morales, J.A. *Francisella* sp., an emerging pathogen of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in Costa Rica. *J Fish Dis*, 32:713-722, 2009.

Soto, E.; Fernandez, D.; Thune R.; Hawke, J.P. Interaction of *Francisella asiatica* with tilapia (*Oreochromis niloticus*) innate immunity. *Infection and Immunity* 78, 2070–2078, 2010.

Soto, E.; Endris, R. G.; Hawke, J. P. In vitro and in vivo efficacy of florfenicol for treatment of *Francisella asiatica* infection in tilapia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 54, n. 11, p. 4664–4670, 2010.

Van Banning P. Long-term recording of some fish-diseases using general fishery research surveys southeast part of the North Sea. *Dis Aquat Org* 3:1-11, 1987.

Vojtech, L.N.; Sanders, G.E.; Conway, C.; Ostland, V.; Hansen, J.D. Host immune response and acute disease in a zebrafish model of *Francisella* pathogenesis. *Infection and Immunity* 77, 914–925, 2009.

Zerihoun, M.A.; Feist, S.; Olsen AB, Bucke, D., Wiik Jand Colquhoun DJ. Retrospective

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, Brasil. email: hortenciabot@gmail.com.

identification of francisellosis in Atlantic cod (*Gadus morhua*) sampled from the southern North Sea during the 1980's. Poster ved Havbrukskonferansen i Tromsø.2008.