



UNIVERSIDAD JUAREZ AUTONOMA DE TABASCO  
DIVISION ACADEMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

---

---

PRINCIPALES PATOLOGÍAS BACTERIANAS OBSERVADAS EN TILAPIAS  
(*Oreochromis niloticus*) CULTIVADAS INTENSIVAMENTE EN EL MUNICIPIO  
DE OSTUACAN, CHIAPAS, MÉXICO.

TESIS

Que para obtener el Grado de:

MAESTRO EN PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL

PRESENTA

Mvz. Mauricio Méndez Escobar

Villahermosa, Tabasco. 22 de Enero de 2016

## CARTA DE AUTORIZACION

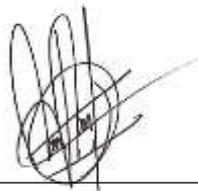
El que suscribe, autoriza por medio de la presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente la tesina de grado denominada "Principales patologías bacterianas observadas en tilapias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas intensivamente en el municipio de Ostucán, Chiapas, México" que presento para obtener el grado de Maestro en Producción Animal Tropical de la cual soy autor y titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesina antes mencionada será única y exclusivamente para difusión y sin fines de lucro; autorización que se hace de esta manera enunciativa mas no limitativa para subirla a la red abierta de bibliotecas digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesina mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco a los 24 días del mes de Febrero del año 2016.

AUTORIZÓ



---

MVZ. Mauricio Méndez Escobar

## DEDICATORIA

A mi esposa Colibrí quien siempre ha estado a mi lado y gracias a su apoyo y motivación logre continuar con mi preparación profesional y no detenerme en mis objetivos a pesar de lo difícil que parezcan.

A mi mama porque siempre me enseñó que con el esfuerzo y dedicación se puede alcanzar cualquier meta.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos van dirigidos a muchas personas quien a lo largo de estos años me ha ayudado a continuar con mi preparación profesional así como poder culminar este grado de estudio.

Primeramente agradezco al Ing. Gerardo Martinez Palm y al Ing. Leopoldo Montoya Martinez quienes desde un inicio me dieron la oportunidad y facilidad para iniciar este grado de estudio y posteriormente llevar a cabo este trabajo en la empresa de producción intensiva de tilapia.

A mi comisión revisora al MC. Serapio López Jiménez, MC. Luis Manuel Gómez Díaz Durán, MC. Mario Fernández Pérez, Dra. Nadia Florencia Ojeda Robertos y al Dr. Gerardo Cansino Arroyo, por su apoyo en la revisión e importantes aportaciones en sus críticas y comentarios al elaborar este documento y así mejorar su contenido.

Al Dr. Luis Jorge García Márquez quien ha sido maestro y amigo, y a quien le debo gran parte de mis conocimientos y crecimiento profesional durante estos últimos años.

Finalmente a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, en la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA), por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría.

## ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1 Acuicultura y su crecimiento .....	3
2.2 Sistemas de cultivo utilizados en México. ....	5
2.3 Modelos de producción acuícola utilizados en México.....	6
2.4 Descripción anatómica y biológica de la tilapia. ....	7
2.5 Principales enfermedades bacterianas presentes en la tilapia. ....	7
2.6 Descripción de los procesos de producción en la empresa de cultivo intensivo de tilapia.....	19
2.6.1 Criadero .....	20
2.6.2 Pre-engorda.....	20
2.6.3 Engorda .....	21
III. OBJETIVO.....	23
3.1 Objetivo general .....	23
3.2 Objetivos específicos .....	23
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
4.1 Sitio del objeto de estudio .....	24
4.2 Técnica de necropsia .....	24
4.3 Técnica histológica y procesamiento de tejidos .....	25
4.4 Técnica de citopatología y tinción de Gram .....	26
4.5 Técnica PCR.....	26
4.6 Aislamientos bacterianos .....	27
4.7 Toma de muestras de parámetros físico-químicos del agua.....	27
4.8 Análisis de la información .....	27
V. RESULTADOS.....	28
5.1 Septicemia hemorrágica bacteriana.....	28
5.2 Estreptococosis.....	30
5.3 Columnaris .....	31
VI. DISCUSIÓN .....	33
VII. CONCLUSIONES .....	35
IIX. LITERATURA CITADA.....	36
IX. ANEXOS .....	41

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1. Temperatura y oxígeno promedio registrados en tres horarios diferentes (8:00, 11:00 y 13:40 hrs) de Enero a Julio de 2014. ....	42
Gráfica 2. Distribución en porcentaje de patógenos identificados mediante bioquímica bacteriológica. ....	42
Gráfica 3. Porcentaje de muestras que se relacionaron a los diferentes patógenos aislados. ....	43
Gráfica 4. Porcentajes de citologías por órganos que presentaron estructuras bacterianas Gram positivas, Gram negativas y mixto. ....	43
Gráfica 5. Porcentaje de mortalidad mensual <i>promedio en engorda</i> vs Porcentaje de casos clínicos presuntivos relacionadas a bacterias Gram positivas vs Gram negativas en los meses de Enero a Julio de 2014. ....	43
Gráfica 6. Resultados PCR positivos <i>Streptococcus</i> spp. vs negativos <i>Streptococcus</i> spp. 2014. ....	44
Gráfica 7. Distribución de tallas de tilapias con presencia de <i>Streptococcus</i> spp. durante los meses de Enero – Julio de 2014. ....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Formato de reporte utilizado para la recopilación de información. ....	45
Figura 2. Pasos de la técnica de necropsia utilizada durante el presente trabajo. .....	46
Figura 3. Técnica Histológica (H&E), utilizada para el procesamiento de las muestras remitidas al laboratorio. ....	47
Figura 4. Técnica de Gram utilizada para el procesamiento de las muestras remitidas al laboratorio, para el diagnóstico presuntivo.....	47
Figura 5. Técnica de PCR utilizada para el diagnóstico definitivo de las muestras remitidas al laboratorio. ....	48
Figura 6. Signos clínicos observados en los peces capturados durante la toma de muestras.....	49
Figura 7. Alteraciones patológicas macroscópicas observadas durante la necropsia en: Piel, músculo, aletas, cerebro, corazón. ....	49
Figura 8. Alteraciones patológicas macroscópicas observadas durante la necropsia en: Hígado, bazo, riñón, branquias, estomago/intestino. ....	50
Figura 9. Cortes histológicos relacionados a estreptococosis en su forma aguda. ....	50
Figura 10. Cortes histológicos relacionados a estreptococosis en su forma crónica.....	51
Figura 11. Cortes histológicos relacionados a una septicemia hemorrágica bacteriana.....	51
Figura 12. Lesiones macro y microscópicas características de una mixobacteriosis causada por <i>Flavobacterium columnare</i> .....	51

## I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura ha tenido gran crecimiento a nivel mundial en la última década. (FAO, 2012).

En México, la acuicultura nace como una actividad complementaria de apoyo social a las comunidades rurales, con lo cual se pretendía incrementar el consumo de proteína animal y mejorar así los niveles nutricionales de la población (Juárez-Palacios, 1987).

Actualmente en México la acuicultura se ha enfocado más al cultivo de peces de agua dulce, esto probablemente a la disponibilidad de cuerpos de agua (ríos, presas, lagos) los cuales se encuentran distribuidos en todo el país.

La tilapia, que es la especie objeto de este estudio, posee grandes atributos entre los cuales destacan su adaptabilidad así como la resistencia en condiciones de estrés, sin embargo, este factor al ser constante afecta fisiológicamente al individuo lo cual provoca alteraciones metabólicas como son la respiración, circulación, respuesta inmune, osmorregulación y regulación hormonal, lo cual puede facilitar la entrada de patógenos oportunistas. Arredondo (1996), menciona que la tilapia es un pez muy agresivo y territorialista, lo cual no es una respuesta a la sobrepoblación, sino una característica innata de los cíclidos, familia a la que pertenece la tilapia, por lo tanto, esta especie siempre se encontrará bajo un estrés de tipo crónico.

En la actualidad, y como resultado de la intensificación en los sistemas de producción de la tilapia, diversas enfermedades bacterianas han sido identificadas, algunas de las cuales se encuentran difundidas y son conocidas por representar un problema significativo en los cultivos, mientras que otras son enfermedades nuevas o emergentes que no habían sido reconocidas anteriormente como de importancia para las tilapias y que debido a las condiciones impuestas por prácticas acuícolas cada vez más y más intensivas se les ha tomado más importancia (Conroy y Conroy, 2007).

En los peces, las enfermedades provocan lesiones en branquias, piel, y órganos internos, dentro de estas lesiones se pueden observar desprendimiento de escamas, erosión o puntos blanquecinos en la superficie del cuerpo, además de focos necróticos en piel y branquias. Sin embargo, las enfermedades

comunes provocan lesiones y signos clínicos similares entre ellas (Tang & Nelson, 1998).

Las enfermedades bacterianas son las principales causantes de grandes pérdidas económicas debido entre muchas cosas a que el medio acuático facilita la sobrevivencia y dispersión de estas bacterias, en muchos de los casos estas bacterias se encuentran ampliamente distribuidas a nivel mundial y muchas forman parte de la microbiota normal del pez y el ambiente acuático (Conroy & Conroy, 2007, Noga, 2010).

El curso de eventos de estrés que predisponen a la infección, incluyen cambios fisiológicos descritos como un síndrome de respuesta de alarma general, los cuales actúan como barreras, normalmente previniendo la entrada de bacterias al sistema del pez y al mismo tiempo incapacitando a la respuesta de defensa y reacción inmune (Mazeaud *et al.*, 1977). El diagnóstico de enfermedades bacterianas requiere de la observación de los signos clínicos comunes asociados con las distintas enfermedades, sin embargo también se requiere del aislamiento e identificación de los microorganismos bacterianos causantes para poder llegar al diagnóstico definitivo.

Por lo anterior es que se despierta el interés de identificar mediante diversas técnicas de laboratorio confirmatorias las diversas patologías bacterianas presentes en un cultivo intensivo, con la finalidad de tener un registro de las enfermedades, conocer su distribución, forma de presentación e importancia en el cultivo.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Acuicultura y su crecimiento

La producción acuícola mundial ha tenido un gran crecimiento en los últimos años, sin embargo ha sido más lento en comparación a años anteriores. La FAO reporta que en el transcurso de medio siglo aproximadamente, ha pasado de ser un sistema de producción de poca importancia a equipararse a la producción de la pesca de captura en cuanto a la alimentación de la población en el mundo. Este sector también ha evolucionado respecto a innovación tecnológica y la adaptación para satisfacer las necesidades cambiantes (FAO, 2012).

A nivel mundial se registran aproximadamente 600 especies acuáticas, éstas, se encuentran en diversos sistemas e instalaciones de cultivo cada una con diferente uso de insumos así también tecnología implementada, ya sea utilizando agua dulce, salobre o marina. Asimismo, la acuicultura contribuye notablemente a la producción de la pesca de captura basada en el cultivo, en particular en las aguas continentales, gracias al material de repoblación producido en viveros (FAO, 2012).

A mediados de los años noventa la acuicultura ha tenido un gran crecimiento y ha ayudado a ser el motor de crecimiento de la producción pesquera, esto debido a que la producción mundial de pesca se ha mantenido constante. Su contribución a la producción pesquera mundial total aumentó constantemente, pasando de 20.9 % en 1995 a 32.4 % en 2005 y a 40.3 % en 2010. Su contribución a la producción mundial de especies comestibles fue de 47 % en 2010 en comparación con solo el 9 % en 1980. (FAO, 2012)

La acuicultura en América Latina y el Caribe (1.76 millones de toneladas en 2008, con un valor de 7.2 millones de USD de 2006) está creciendo al doble (18.5 por ciento) la tasa de crecimiento promedio mundial (8.2 por ciento) en los últimos 30 años. Chile, Brasil y Ecuador representan el 74.5 por ciento del volumen de producción y un 77.9 por ciento del valor de los cultivos en el último trienio. La producción regional de la acuicultura tiene un alto grado de concentración, pero ha mostrado un lento proceso de diversificación. Involucra

el cultivo de hasta 86 especies, sin embargo, el 85 por ciento de la producción total en el periodo 2006-2008 se basa en cuatro especies (salmón / trucha, camarón, tilapia y mejillones). En los últimos 30 años, la contribución de la acuicultura ha aumentado de 0.1 a 9.6 por ciento de la producción pesquera regional, en parte, por el estancamiento de la pesca de captura (Wurmann, 2011).

América del Sur, lidera la producción de peces dentro de América Latina con un 88 por ciento de los desembarques del sector extractivo y el 82 por ciento de la producción de acuicultura en 2006-2008, seguida por América Central (11 por ciento y 16 por ciento, respectivamente) y el Caribe, con cifras muy modestas en ambos campos (0.9 por ciento y 2.2 por ciento, respectivamente). Sin embargo, la acuicultura es más relevante en el Caribe con el 21.2 por ciento de la producción total de pescado en los últimos años (2006-2008), en comparación con el 12.9 por ciento y 9 por ciento, respectivamente, en América Central y América del Sur (Wurmann, 2011).

En México, la acuicultura nace como un apoyo social a las comunidades rurales las cuales necesitaban de una buena fuente de proteína a bajo costo para de esta forma mejorar los niveles nutricionales de la población (Juárez-Palacios, 1987). Aunque esta actividad se ha diversificado más hacia peces dulce acuícolas también se lleva a cabo en especies marinas, ya que la piscicultura marina en México como en otros países, es una alternativa tecnológicamente viable ante la creciente demanda de alimentos de origen proteico para el consumo generalizado de la población humana (Avilés, 2000).

Desde sus inicios, la acuicultura ha ido cambiando pasando por distintas etapas de desarrollo y ha tomado tres caminos principales, lo que son la acuicultura de fomento o la práctica de la actividad en pequeños cuerpos de agua y unidades de producción principalmente para autoconsumo y destinadas al cultivo de diferentes especies de tilapia y carpa; las pesquerías acuiculturales derivadas de la siembra sistemática en embalses de medianas y grandes dimensiones, principalmente de carpa, tilapia, bagre y lobina, así como en las derivadas del manejo de existencias silvestres de crías de peces, post-larvas de langostino, ajolotes y similares; y los sistemas controlados principalmente de camarón, mojarra, trucha, atún, ostión y bagre practicada con fines de

comercialización y demandas de grandes inversiones (FAO Fisheries & Aquaculture, 2005).

## **2.2 Sistemas de cultivo utilizados en México.**

La producción acuícola en México está actualmente representada por diversas especies de peces, moluscos y crustáceos, tanto nativos como introducidos. Los principales sistemas de producción acuícola que se utilizan en el país son los siguientes: extensivo, semi-intensivo, intensivo (FAO Fisheries & Aquaculture, 2005).

Acuicultura extensiva: cultivo en embalses con mínima intervención humana después de la siembra, el objetivo de la acuicultura extensiva es el de sembrar o repoblar con organismos acuáticos los embalses donde hayan desaparecido o disminuido las poblaciones naturales o introducidas debido a problemas de contaminación o depredación. El hombre sólo interviene en la siembra de los organismos, sin tener que ver con otros factores hasta el momento de la captura (Rodríguez y Maldonado, 1996). La inversión en este caso es baja y no se requiere de personal calificado, pero sus rendimientos son bajos (Arredondo y Lozano, 2003). En esta categoría se ubica la llamada acuicultura de repoblamiento, la cual aporta a las estadísticas pesqueras aproximadamente 100,000 toneladas anuales, que se consumen casi exclusivamente en el país (FAO Fisheries & Aquaculture, 2005).

Acuicultura semi-intensiva: se basa en el cultivo en tanques, corrales y cuerpos de agua como bordos temporales o permanentes, jagüeyes, represas, canales de riego y otros, se desarrolla en diferentes instalaciones y baja implementación de tecnología. Se caracteriza por la falta de control que el productor puede tener sobre el ambiente, el cual únicamente intervendrá en la alimentación y reproducción de la especie cultivada (FAO Fisheries & Aquaculture, 2005).

Acuicultura Intensiva: Se basa en el cultivo en sistemas controlados, tanques, jaulas, canales de corriente rápida o sistemas de recirculación y reacondicionamiento del agua. En este tipo de sistema los organismos son alimentados con alimento balanceado que puede ser complementado con

alimento vivo. En la acuicultura intensiva, el productor puede tener gran parte de los factores ambientales controlados tales como: temperatura, iluminación, oxígeno disuelto, pH; factores bióticos: densidad, alimentación y salinidad, entre otros, que influyen en el desarrollo, crecimiento y reproducción de los organismos (Rodríguez y Maldonado, 1996).

### **2.3 Modelos de producción acuícola utilizados en México.**

Cultivo en tanques rústicos: En México el tipo de cultivo más antiguo se llevó a cabo en grandes tanques de tierra. Las primeras introducciones estuvieron relacionadas con programas de gobierno que se dedicaban a proporcionar crías de tilapia para la subsistencia de ejidatarios que necesitaban la producción de pescado para aumentar la ingesta de proteínas en sus dietas. Hubo otros proyectos, a menudo apoyados por organizaciones misioneras y religiosas, que apoyaron pequeños criaderos que suministran las crías de tilapia a los ejidos (granjas comunales), cooperativas sociales, orfanatos y grupos de las iglesias (Fitzsimmons, 2000).

Cultivo en tanques intensivos: Los tanques circulares varían en tamaño. Algunos tanques pequeños se utilizan para la investigación y criaderos, incluso en algunos casos se usan para finalizar la engorda. Pueden ser de fibra de vidrio y varios tipos de plástico como el polipropileno, el cual es usado para la construcción de tanques circulares. La medida estándar de los tanques circulares es de 6 metros de diámetro por 1 metro de profundidad. Estos tanques poseen un sistema de aireación y oxigenación artificial (Fitzsimmons, 2000). Estos tanques dependiendo de su forma y tamaño tendrán colocado su drenaje con la finalidad de mantener la calidad del agua (Stickney, 2005).

Jaulas flotantes: Las jaulas y corrales de red son encierros para el cultivo, que están diseñados para su uso en lugares que no son adecuados para la construcción de tanques. Básicamente estas estructuras se colocan en lugares como por ejemplo: Lagos, embalses, ríos, estuarios, mar abierto. Las jaulas se utilizan a veces en tanques grandes que no pueden ser drenados frecuentemente por una razón u otra. El tipo de jaula estándar posee una estructura rígida completa, aunque existen modelos en los que únicamente se manejan marcos rígidos en la parte superior, para este caso la parte que se

encarga de mantener los peces confinados puede ser de alambre recubierto de plástico, malla de plástico o una red de nylon (Stickney, 2005).

#### **2.4 Descripción anatómica y biológica de la tilapia.**

Las tilapias representan un gran número de especies de peces de agua dulce dentro de la familia *Cichlidae*. El género *Oreochromis* fue descrito por primera vez por Smith (1840). La tilapia posee un cuerpo que se caracteriza por poseer barras de color más oscuro que cruzan transversalmente el cuerpo y que contrastan con la coloración del pez. El cuerpo está completamente cubierto de escamas, las cuales se encuentran fuertemente fijadas al cuerpo (Ross, 2008). Las aletas pectorales y pélvica son de gran longitud, lo que permite al pez tener un buen control en el nado. Las aletas son más usadas para la locomoción, esto debido a que los cíclidos tienen músculos diseñados para un nado lento pero con movimiento continuos (Ross & Ross, 2008).

La tilapia tolera diversos rangos de temperatura, sin embargo, su temperatura optima es de 25 – 30°C, de esta manera se tiene una mayor reproducción, crecimiento y metabolismo. Dependiendo de la especie será más o menos tolerante y/o adaptable a la salinidad. La tilapia es resistente a los niveles bajos de oxígeno soportando incluso hasta 0.1 – 0.5 mg/l, por largos periodos de tiempo, sin embargo, a estos niveles los peces se encontrarán bajo estrés y no consumirán alimento (El-Sayed, 2006).

#### **2.5 Principales enfermedades bacterianas presentes en la tilapia.**

La tilapia se ha adaptado a distintas condiciones medio ambientales y puede tolerar un amplio rango de factores como son, la temperatura del agua, salinidad, oxígeno disuelto, amonio, etc. Sin embargo, las condiciones de estrés afectan a la tilapia y la hacen más susceptible a diferentes enfermedades debido a la inmunosupresión causada por este factor (El-Sayed, 2006).

En la actualidad, y como resultado de la intensificación en los sistemas de producción de la tilapia, diversas enfermedades bacterianas han sido identificadas, algunas de las cuales se encuentran difundidas y son conocidas por representar un problema significativo en los cultivos, mientras que otras son

enfermedades nuevas o emergentes que no habían sido reconocidas anteriormente como de importancia para las tilapias y que debido a las condiciones impuestas por prácticas acuícolas cada vez más y más intensivas se les ha tomado más importancia (Conroy y Conroy, 2007).

En peces las enfermedades bacterianas provocan lesiones en branquias, piel, y órganos internos, dentro de estas lesiones se pueden observar desprendimiento de escamas, erosión o puntos blanquecinos en la superficie del cuerpo, además de focos necróticos en piel y branquias. Sin embargo, las enfermedades comunes provocan lesiones y signos clínicos similares entre ellas (Tang & Nelson, 1998).

*Aeromonas* spp son patógenos oportunistas asociados con la entidad conocida como septicemia por *Aeromonas* o septicemia hemorrágica y furunculosis, este patógeno es uno de los más comunes en peces dulceacuícolas (Avault, 1995).

La septicemia hemorrágica por *Aeromonas* se asocia a varias especies de este género incluyendo *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. veronii*. Sin embargo muchas otras especies han sido recientemente identificadas taxonómicamente (Jimenez, 2007).

La especie patógena más importante registrada es *A. hydrophila*. Varias especies han sido aisladas de órganos internos y de mucosas, su incidencia es mayor en aguas contaminadas. La ingestión de alimentos contaminados puede originar la infección (Jimenez, 2007).

*Aeromonas hydrophila*, la cual ha sido aislada e identificada en diferentes variedades de peces, es un bacilo Gram negativo encontrado principalmente en climas cálidos, puede sobrevivir en un ambiente aeróbico y anaeróbico, puede digerir sustancias como la gelatina y la hemoglobina, mide aproximadamente 0.5 x 1.0  $\mu\text{m}$ . es heterotrófica, fue aislada por primera vez en 1950 de humanos y animales, puede crecer a temperaturas menores a 4° centígrados, además de ser resistente a algunos antibióticos (Castro-Escarpulli *et al.*, 2002).

La distribución de *Aeromonas* ha sido estudiada en la salud pública, la cual concierne a infección en humanos adquirida por consumir agua y comida

contaminada o por contacto directo. Estas especies de bacterias están ampliamente distribuidas en diversos ambientes de agua dulce, agua salada e incluso en agua clorada (por la capacidad protectora del biofilm). El potencial patogénico de las *Aeromonas* móviles en el agua está estrechamente relacionado con la temperatura y la carga orgánica presente. Estas especies están asociadas con algas, biofilms y zooplancton, y componentes naturales como algunos vertebrados e invertebrados. Estos organismos tienen el potencial de ser portadores y diseminar este patógeno (AFS-FHS, 2014).

La característica principal de patogénesis causada por *Aeromonas hydrophila*, bien como agente primario o secundario de enfermedad es la diseminación en forma de bacteremia, seguida por la elaboración de toxinas (endotoxinas, enterotoxinas extracelulares hemolisinas, citotoxinas y proteasas) (Brenden and Huizinga, 1986); factores de virulencia reportados para *A. hydrophila* son: la producción de proteasas que contribuyen a la utilización de nutrientes para la proliferación celular y que causan daño al tejido, presencia de adhesinas, pili, flagelina, la presencia de moléculas secuestradoras de hierro denominadas sideróforos (ligando específico de hierro de bajo peso molecular) (Murugappan *et al.*, 2006). La predisposición a factores de riesgo como son los incrementos de temperatura, calidad de agua y bajas de oxígeno. *Aeromonas* puede invadir mediante lesiones en piel causadas por lesiones traumáticas o las causadas por ectoparásitos (Noga, 2010).

Los signos clínicos de la infección por *Aeromonas* se extienden desde la superficie hasta lesiones internas en la piel características de una septicemia causada por una bacteria Gram negativa. Las lesiones en piel incluyen varias áreas de distinta extensión con presencia de inflamación, hemorragias y necrosis, de igual manera presentes en la base de las aletas (Noga, 2010). Las úlceras pueden progresar hacia una septicemia hemorrágica con presencia de exoftalmia, distensión abdominal que contiene fluido serosanguinolento, petequias en vísceras. (Noga, 2010). Sin embargo los peces presentan principalmente congestión en órganos tales como riñón, hígado y bazo (Jimenez, 2007).

Las escamas pueden tener una apariencia sobresalida (lepidortosis), debido a la formación de edema, se puede observar erosión en las aletas, además de la descamación focalizada (AFS-FHS, 2014).

Desde el punto de vista histopatológico en los casos de septicemia hemorrágica, puede observarse depleción y necrosis de tejido hematopoyético de los riñones y bazo, necrosis de la mucosa intestinal y necrosis focal del corazón, hígado, páncreas y gónadas. La presencia de melanina libre debido a la ruptura de los centros melanomacrófagos es común. En algunos casos se han observado bacterias libres en el tejido hematopoyético (Jiménez, 2007).

Otra patología registrada causada por el género *Aeromonas* es la furunculosis la cual se ha relacionado estrechamente al patógeno *Aeromonas salmonicida*.

La infección por *Aeromonas salmonicida* provoca una enfermedad bacteriana común en peces de agua dulce y produce una de las más importantes enfermedades tanto en salmónidos como en otros peces. El salmón del Atlántico es el más susceptible sin importar la edad; la trucha arcoíris es más resistente (Noga, 2010).

*Aeromonas salmonicida* fue descrita por primera vez por Emmerich y Weibel en 1890, en criadero de trucha en Alemania, en un principio se creía que *A. salmonicida* era un patógeno exclusivo de salmónidos cultivados intensivamente, sin embargo actualmente se sabe que relativamente pocos peces ya sea cultivados o silvestres de agua dulce, salobre o marinos son inmunes a los efectos nocivos de este patógeno (Cipriano y Bullock, 2001).

Este microorganismo ha sido reconocido desde hace más de 100 años, pero no se ha comprendido con exactitud su ruta de transmisión. No se conoce con exactitud como el patógeno puede sobrevivir en el medio ambiente fuera del hospedador, el rol del medioambiente en la transmisión y los mecanismos que usa para infectar al pez. Se sabe que el organismo puede transmitirse horizontalmente dentro de las poblaciones de peces, y está presente en niveles extremadamente bajos en peces portadores. Sin embargo, la transmisión vertical de la bacteria aún no se ha demostrado que se produzca en poblaciones de peces infectados naturalmente (Cipriano y Bullock, 2001).

Se han asociado factores de virulencia a los componentes estructurales de la bacteria y con las exotoxinas que son secretadas durante el metabolismo bacteriano. Sin embargo la naturaleza de su virulencia es compleja y aparentemente varía entre cepas (Cipriano y Bullock, 2001).

Los signos clínicos de la enfermedad se presentan generalmente posterior a patrones conocidos de temperatura. En aguas a temperaturas de 20°C, los peces susceptibles pueden desarrollar la furunculosis de 4 a 12 días posterior a la presencia de la bacteria en el agua. A temperaturas por debajo de 13°C las infecciones crónicas son más comunes en desarrollarse, con periodos de incubación de hasta varias semanas (AFS-FHS, 2014).

Tradicionalmente, *Aeromonas salmonicida* produce una notable dermatitis ulcerativa. La enfermedad sub-aguda o crónica es más común en peces viejos, es caracterizada por letargia, leve exoftalmia, petequias en aletas, hemorragias en nostrilos, y múltiples hemorragias en músculo y otros tejidos. Internamente, hemorragias en hígado, inflamación en bazo y en algunos casos necrosis en riñón. Esta forma de enfermedad usualmente provoca baja tasa de mortalidad, los peces pueden sobrevivir, sin embargo, pueden presentar cicatrices resultado de los furúnculos.

La forma aguda de esta enfermedad, es más común en peces adultos en crecimiento, se manifiesta como una septicemia generalizada acompañada por melanosis, inapetencia, letargia y pequeñas hemorragias en la base de la aleta. Esta forma de la enfermedad es de corta duración, y las mortalidades se comienzan a presentar de 2 a 3 días, provocando altas mortalidades. Las bacterias presentes en la sangre, se difunden entre los tejidos y en las lesiones. Internamente aparecen hemorragias en paredes internas de la cavidad celomica, intestinos y corazón, el bazo puede aumentar de tamaño (esplenomegalia). La enfermedad aguda es de aparición súbita con pocos o ningún signo clínico (Austin and Austin, 2007).

Roberts (2004), señala que desde el punto de vista histopatológico se puede observar necrosis cardíaca tóxica, especialmente de la mucosa auricular, con pequeños focos de bacterias presentes en tejido cardíaco, hematopoyético y branquias, pero poco del hospedero. Aparte de los furúnculos, la histopatología

de furunculosis en peces viejos es a menudo indistinguible de la de cualquier otra septicemia hemorrágica causada por bacterias Gram negativas, aunque grandes colonias de bacterias focales, con o sin un infiltrado celular, se encuentran a menudo en las branquias, corazón, tejido hematopoyético u otros órganos.

Los forúnculos formados resultan de la localización focal de la bacteria en la dermis y en ocasiones de la epidermis, donde se produce una respuesta temprana de hiperemia en dermis e hipodermis, con edema fibrinoso, seguido de una infiltración masiva de macrófagos y leucocitos polimorfonucleares. Hay necrosis licuefactiva en el centro de la lesión con deposición de hebras de fibrina, a lo largo de la cual se pueden estar distribuidas las bacterias así como células inflamatorias. Estos últimos a menudo tienen gránulos de melanina en su citoplasma, también se ven tales células pigmentadas en la sangre circulante y los senos renales, que pueden derivar del tejido hematopoyético, la fragmentación de los melanomacróforos es uno de los primeros signos de septicemia endotóxica.

Otro patógeno causante de enfermedad en peces son del género *Streptococcus* de las varias especies de estreptococos que puede encontrarse como flora normal en los seres humanos y animales, algunas especies pueden causar enfermedad en sus hospederos (Ruoff, 1995).

La estreptococosis es la enfermedad bacteriana más importante en humanos y otros animales terrestres. En acuicultura, la estreptococosis de peces es un término genérico usado para denominar una enfermedad provocada por una o hasta seis especies de cocos Gram positivos, incluyendo *Streptococcus*, *Lactococcus*, y *Vagococcus*.

Mata *et al.*, (2004), señalan que las principales especies patógenas responsables de la infección de estreptococosis son *S. parauberis*, *S. iniae*, *S. agalactiae*, *L. garvieae*, *L. piscium* y *V. salmoninarum*.

En 1998 la asociación americana de la tilapia identificó al *Streptococcus iniae* como el patógeno más importante que afecta a la industria de la tilapia (Bowser *et al.*, 1998). Sin embargo *Streptococcus agalactiae* es la especie más

común encontrada en climas cálidos y está asociada a diferentes especies acuáticas de agua dulce y salada (Evans *et al.*, 2002)

*Streptococcus* se describe como una bacteria Gram positiva, no esporulada, anaerobia facultativa, como morfología en cadenas y catalasa negativa. Puede crecer en pH de 9.6, pero no a temperaturas menores a 10°C y mayores a 45°C (Abowei *et al.*, 2011).

Dentro de los factores que se relacionan a esta enfermedad Shoemaker *et al.*, (2000), señala que las densidades de cultivo pueden tener una influencia sobre la mortalidad causada por esta bacteria. Por otra parte Perera *et al.* (1994) reportó que la temperatura (20°C) influyó en mortalidades provocadas por estreptococosis en tilapias híbridas (*O. niloticus* X *O. aureus*) infectadas experimentalmente.

La estreptococosis es altamente contagiosa, transmitiéndose fácilmente de pez a pez. Los signos clínicos típicos pueden incluir anorexia, letargia, melanización de la piel, hiperemia, petequias en la región del ano y sobre las aletas, lesiones hemorrágicas y necróticas sobre la piel y tejido muscular, exoftalmia uni o bilateral con o sin hemorragias periorculares y opacidad de la córnea. Un signo que puede ser muy característico es la aparición de movimientos natatorios erráticos y desorientados, sobre todo en peces moribundos, este comportamiento natatorio anormal es producido por la meningoencefalitis que resulta de la invasión e infección del cerebro y meninges por los estreptococos. La exoftalmia generalmente está asociada en las fases iniciales con congestión retrolobular y edema, acompañada por inflamación e hiperemia, necrosis de la corioide y del nervio óptico y la consiguiente expulsión de material necrosado a través de la córnea ulcerada (Conroy y Conroy, 2007).

Internamente, el bazo muestra un color rojo-cereza y hay una pronunciada esplenomegalia. El hígado y el riñón son pálidos y moteados con numerosas áreas de necrosis focal. A menudo se observa pericarditis, poliserositis y la cavidad abdominal puede estar distendida y contener un exudado seroso y sanguinolento. Los vasos sanguíneos branquiales generalmente se encuentran hiperémicos e infiltrado por macrófagos, en cuyo caso las branquias pueden

mostrar hemorragias masivas y experimentar un proceso de necrosis que contribuye a las mortalidades.

El tracto intestinal también puede ser hiperémico, y tiende a mostrar una descamación continua de la mucosa. Casos de la estreptococosis en las tilapias característicamente se asocian con la presencia de una granulomatosis crónica (Conroy y Conroy, 2007).

La estreptococosis se presenta en dos formas, una forma crónica y otra aguda. Pulido *et al.* (2004) reporta que histopatológicamente la principal respuesta inflamatoria en prácticamente todos los órganos consiste en una reacción de tipo granulomatoso con un infiltrado compuesto fundamentalmente de macrófagos, asociado a una menor presencia de linfocitos y células granulares eosinofílicas (EGCs).

Suanyuk *et al.* (2010) en un estudio de aislamiento y caracterización de una estreptocosis provocada por *Streptococcus iniae* menciona que histopatológicamente las lesiones son más severas en el Barramundi (*Lates calcarifer*) que en tilapia roja (*Oreochromis sp.*), provocando cambios severos en hígado, en el cual se puede observar una dilatación de los sinusoides hepáticos e infiltración linfocítica. Los hepatocitos se muestran con gran nivel de vacuolización, degeneración y necrosis focal. Los tejidos del páncreas muestran degeneración de celular acinares y pérdida de gránulos sinusoides. Hay formación de granulomas y degeneración del tejido ocular. Se observa gran número de infiltrados linfocíticos y formación de centros melanomacrófagos en epicardio tanto en lobina marina como en tilapia roja. En cerebro los peces afectados muestran infiltración linfocítica alrededor de las áreas infectadas.

En aspectos histopatológicos Miyazaki *et al.* (1984), mencionan que se observa inflamación con gran cantidad de infiltrados bacterianos y presencia de macrófagos en diversos órganos acompañado de la presencia de exudado fibrinoso y en algunos casos granulomas.

*Edwardsiella tarda* es una bacteria Gram negativa con morfología bacilar de corta longitud, aproximadamente 2-3  $\mu\text{m}$  y un diámetro de 1  $\mu\text{m}$  anaeróbica facultativa, móvil, puede sobrevivir en ambientes con una salinidad de 0 – 4 ups,

y un pH de 4.0 a 10.0 de igual manera temperaturas de hasta 45°C (Woo *et al.*, 2010).

La edwardsielosis en peces usualmente es provocada por un desbalance de las condiciones medioambientales, como altas temperaturas, baja calidad del agua y alto contenido de materia orgánica. Hemolisinas y actividades de sulfato condroitina pueden ser factores patógenos.

Esta bacteria ha sido encontrada tanto en agua dulce como en salobre, se ha reportado en más de 25 países en Norte y Centro América, Europa, Asia, Australia, Africa y en Medio oriente (AFS-FHS, 2014). Ha sido aislada de de 20 especies de agua dulce y agua salada. (Plumb, 1999). La infección natural se tiene reportada en el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*), carpa (*Cyprinus carpio*), dorado (*Carassius auratus*), anguila de agua dulce (*Anguilla japonicus*), tilapia (*Sarotherodon niloticus*), entre otros. Algunas otras especies que han sido susceptibles en pruebas de laboratorio son: trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), jurel (*Seriola quinqueradiata*). Esta bacteria además se ha observado que provoca enfermedad en otra variedad de animales que incluyen morsas, leones marinos, tortugas, caimanes, serpientes, cerdos, y aves. En humanos provoca gastroenteritis (Bockemuhl *et al.*, 1971).

La prevalencia de *E. tarda* es relativamente rara en bagre de canal y en estanques la tasa de mortalidad es usualmente menor al 5%. Sin embargo, cuando los peces infectados son trasferidos a áreas confinadas como son los estanques de descanso, se han registrado mortalidades mayores al 50%. Los reservorios de esta bacteria se han asociado a una gran variedad de invertebrados así como vertebrados acuáticos y terrestres. En los EE.UU., *E. tarda* fue aislada de hasta el 88 % de bagres de canal cultivados y se encontró en 30 % de los peces importados. La bacteria también se encontró en el 75% de las muestras de agua de los estanques de cultivo de bagre, 64 % de las muestras de lodo de los estanques, y el 100% de las ranas, tortugas y cangrejos de los estanques de cultivo de bagre (Wyatt *et al.*, 1979).

Los peces infectados con *E. tarda* presentan un nado anormal incluyendo nado con movimientos en espiral en la superficie del agua. Además los signos clínicos presentes son variados, los peces infectados con *E. tarda* presentan

despigmentación, exoftalmia, opacidad corneal, distensión abdominal, hemorragias petequiales en aletas y piel. Internamente se observa hiperemia general del peritoneo, hígado con presencia de petequias y edematoso (Plumb, 1999). En general las lesiones son muy similares a las causadas por *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum* y *Pseudomonas anguilliseptica* (Vásquez *et al.*, 2010).

Histopatológicamente se pueden observar lesiones en hígado, bazo, riñón e intestino comúnmente caracterizadas por una necrosis licuefactiva en tejidos, con invasión bacteriana e infiltración de macrófagos. En dichas lesiones, la mayoría de los macrófagos se observan cargados de bacterias, estas células se sometieron a la degeneración nuclear y la multiplicación bacteriana intensiva dentro de dichas células. Con el progreso de la infección, las células epitelioides forman capas sobre el tejido afectado por células inflamatorias y células bacterianas, lo que resulta en la formación de granulomas en el hígado, bazo y riñón. Los granulomas desarrollados comúnmente contienen materia coagulada y caseificada con disminución en el número de células bacterianas. Las lesiones que implican filamentos branquiales presentan necrosis e infiltración de macrófagos con la presencia de hiperplasia de células epiteliales de las branquias (Miyazaki *et al.*, 1985).

La enfermedad columnaris fue descrita por primera vez por Herbert Spencer Davis en 1922, es una de las enfermedades más antiguas resgistradas en aguas cálidas. Las referencias a esta enfermedad pueden ser confusas. La bacteria que provoca esta enfermedad se ha referido con diferentes nombres incluyendo *Bacillus columnaris*, *Flexibacter columnaris*, *Cytophaga columnaris*, y más recientemente como *Flavobacterium columnare* (Durborow *et. al.* 1998).

Columnaris, se refiere a una infección causada por mixobacterias, es una enfermedad bacteriana que afecta branquias y piel de peces de agua dulce. *F. columnare* es el miembro de este grupo de bacterias más prevalente y de distribución mundial, que probablemente infecta a la mayoría de los peces de agua dulce. Esta bacteria es un importante patógeno de peces. (Noga, 2010). Ha sido reportada en Norte y Sur de América, Europa, Asia, África y Australia.

Diversas especies de agua dulce (cultivadas y silvestres), se han considerado susceptibles a *Flavobacterium columnare*.

Microscópicamente esta bacteria se describe como un bacilo Gram negativo móvil, largo y delgado con medidas de 4 a 10 µm de largo y 0.3 to 0.5 µm de ancho, aerobio estricto, produce ácido sulfúrico, degrada la celulosa (Declercq *et. al.* 2013).

*Flavobacterium columnare* usualmente es más patógeno en temperaturas cercanas a 15 grados centígrados. Conroy y Conroy (2007), reportan que los problemas pueden iniciar cuando la temperatura del agua es de 21°C o más. Esta enfermedad se presenta principalmente cuando hay un desbalance en homeostasis del individuo, comúnmente se ha asociado a condiciones de estrés, bajas de oxígeno disuelto, alta concentraciones de amonio y nitritos, sobrepoblación. Las lesiones por manejo en piel/mucosa pueden predisponer al pez a la enfermedad Columnaris. La presentación de la enfermedad puede ser aguda, sub-aguda o crónica, dependiendo de las condiciones particulares de la epizootia y de la especie de peces relacionada (AFS-FHS, 2014).

Las tasas de mortalidad pueden ser extremadamente altas, de 60 a 90% de mortalidad. La columnariosis puede ser transmitida de manera horizontal de un pez a otro. La bacteria puede encontrarse en medio acuático y estudios han demostrado que los peces pueden servir de reservorios para el patógeno. Estudios han demostrado que *F. columnare* puede mantenerse viable en el agua durante largos periodos de tiempo dependiendo de la química del agua. Los altos niveles de dureza ( $> 50 \text{ mg / L CaCO}_3$ ) y la materia orgánica se han asociado con una buena supervivencia de la bacteria en agua (AFS-FHS, 2014).

Columnaris se presenta como enfermedad crónica y es primariamente una enfermedad epitelial, provocando erosión en piel y necrosis en branquias que puede llegar a ser sistémico. Las aletas pueden llegar a observarse deshilachadas, especialmente la aleta caudal. Las lesiones avanzan rápidamente (cerca de 24 horas) progresando hasta formarse úlceras que pueden mostrarse con una coloración anaranjada o amarillenta. Las úlceras se pueden expandir de forma radial hasta penetrar más internamente, llegando a dañar el endotelio vascular observándose hemorragias bien delimitadas,

posteriormente la lesión comienza con presencia de zonas necróticas en epitelio y finalmente se puede provocar una septicemia (Noga, 2010).

Las infecciones en branquias son menos comunes pero más graves. En peces jóvenes las branquias son el sitio más común de lesiones. Típicamente se presenta una congestión venosa con disociación de la superficie del epitelio lamelar desde los vasos capilares. Pueden aparecer áreas hemorrágicas. En adultos las lesiones pueden presentarse en branquias, piel y/o en musculatura. Las lesiones sistémicas pueden desarrollarse. Las lesiones en branquias consisten normalmente en áreas necróticas de coloración amarilla – naranja (Austin and Austin, 2007).

Estas áreas comienzan usualmente en la periferia de las branquias y se extienden hacia la base de los arcos branquiales. Eventualmente, una erosión extensa puede completar la destrucción del filamento branquial (Austin and Austin, 2007). En la superficie del tejido puede observarse presencia de una capa blanquecina formada por la presencia de exudado fibrinoso (Noga, 2010).

En el cuerpo, las pequeñas lesiones inician en áreas despigmentadas en la base de la aleta dorsal y en algunos casos en la base de la aleta pélvica, la cual puede ir deteriorando las aletas. Estas áreas incrementan de tamaño y pueden ser de hasta 3 – 4 centímetros de diámetro, llegando a cubrir hasta el 20-25% del total de la superficie del pez. Frecuentemente la piel llega a erosionarse completamente exponiendo la musculatura. En este tipo de lesiones pueden llegar a presentarse gran número de bacterias oportunistas (Austin and Austin, 2007).

En aspectos histopatológicos en branquias *columnaris* provoca acortamiento lamelar con necrosis generalizada grave de elementos celulares superficiales y profundos, respectivamente. Se produce una fusión de los filamentos branquiales, la destrucción de los filamentos produce hemorragias las cuales producen insuficiencia circulatoria y extensa hemorragia interna. Además, grandes grupos de *F. columnare* se pueden encontrar en la superficie celular y/o entre las áreas de tejido necrosado. Cuando las lesiones son en piel se puede observar pérdida de melanocitos así como presencia de estructuras

bacterianas agregadas dentro de las fibras de colágeno del tejido dérmico (Ferguson, 2006).

## **2.6 Descripción de los procesos de producción en la empresa de cultivo intensivo de tilapia.**

La empresa de cultivo intensivo se encuentra ubicada en un embalse denominado Peñitas el cual se formó gracias a la construcción de la presa Ángel Albino Corzo, sobre el cauce del río Grijalva, la empresa se dedica a la producción intensiva de peces de la especie *Oreochromis niloticus*, debido a su facilidad de reproducción, manejo, adaptabilidad y crecimiento, el modelo de producción manejado es una adaptación al modelo manejado en la producción de salmón, enfocado al uso de jaulas flotantes plásticas, con grandes densidades por jaula. La producción inició en 2008 y actualmente tiene una producción anual de 11,500 toneladas.

El embalse presenta un recambio total en aproximadamente 3 días dependiendo del flujo de agua y según la época del año, que va desde los 1230 m<sup>3</sup>/s en los meses de mayor precipitación pluvial a 540 m<sup>3</sup>/s en los meses menos lluviosos. Debido a lo anterior la acumulación de los desechos orgánicos (amonio, nitritos, nitratos) producida por los organismos en cultivo es relativamente baja según los resultados de los muestreos de calidad de agua del embalse realizados por la empresa y laboratorios externos, esto proporciona una calidad de agua aceptable para realizar el cultivo intensivo.

La temperatura del agua oscila de 25 a 30°C de forma gradual a lo largo del año con fluctuaciones diarias. El embalse posee una profundidad promedio de 20 metros y debido al recambio constante de agua, el oxígeno en la columna se mantiene entre 3 y 6 mg/l, lo cual es favorable para la especie cultivada.

Se maneja el cultivo intensivo de ciclo cerrado, el cual consta de tres áreas, criadero, pre-engorda, engorda.

### **2.6.1 Criadero**

El proceso se inicia con el montaje de reproductores, para su posterior ordeña e incubación, a continuación se transfieren a Biofloc en donde pasarán 21 días, en esta área se añaden una serie de ingredientes al agua (harina de alfalfa, salvado, melaza y bicarbonato) buscando generar alimento vivo para las crías, concluidos los días se transfieren al área de crianza en la cual pasarán de 7 a 11 días, la alimentación se realiza manualmente administrando diariamente el alimento con intervalos de una hora entre cada alimentación, al concluir los días antes mencionados los peces de aproximadamente 1 – 1.2 gramos se les realiza la selección de tallas mediante el uso de mallas de distintos calibres, separando lotes de 80,000 peces, posteriormente son enviadas en contenedores de 1000 metros cúbicos, con aireación y oxigenación constante al área de pre-engorda.

Se mide la cantidad de oxígeno disuelto al inicio y al final del proceso de siembra con la finalidad de ver si se tuvo alguna variación. Los contenedores se trasladan hasta el punto de siembra que es a la orilla de un muelle donde se depositan las crías en jaulas metálicas de 6 metros de ancho por 6 metros de largo y 4 metros de profundidad.

### **2.6.2 Pre-engorda**

Al finalizar el vaciado del contenedor, la jaula es arrastrada por una embarcación hasta el punto de pre-engorda en donde se mantienen 30 días. Una vez finalizado el tiempo se procede a mover la jaula hasta el punto de separación por tallas, donde se reduce la malla y mediante un cono de succión, se extraen las crías, las cuales pasan a través de un seleccionador automático, el cual divide en 3 tallas distintas las crías y colocándolas en las jaulas correspondientes.

Las jaulas formadas con estas crías se llenan hasta 50,000 a 70,000 peces dependiendo de la finalidad del producto (Filete - Entero). Finalmente las jaulas completadas son trasladadas hasta el área de engorda, en donde los peces son transferidos a jaulas de 18 metros de diámetro por 9 metros de profundidad.

### 2.6.3 Engorda

El periodo de engorda puede durar dependiendo del plan de producción de 155 días llegando a un peso de 750 gr para su venta entero a 210 días (1100 gr) para su venta como filete.

Durante este periodo se realiza un cambio de malla de 1" a 2" cuando los peces alcancen los 250 gr, esto con el objetivo de tener un mayor intercambio de agua dentro de la jaula gracias al aumento de luz de malla, también se realizan biometrías por tallas esto para tener conocimiento del peso promedio durante el ciclo.

En cuanto a la alimentación se alimenta manualmente y se encuentra basada en un programa de alimentación diseñado para las necesidades del cultivo, ésta, se realiza diariamente durante 8 horas con intervalos de una hora entre cada alimentación, para esto se maneja alimento balanceado de tres marcas comerciales distintas además de un personal de alimentación por cada 4 jaulas.

El retiro de la mortalidad se realiza diariamente con la ayuda de grupos de buceo. Todos los datos de producción obtenidos en cada una de las etapas a lo largo del ciclo como son: mortalidad, peso promedio, conversión alimenticia, alimento consumido, sobrevivencia, etc. son registrados y manejados mediante un software denominado Farm Control el cual realiza una integración de los datos obtenidos diariamente y ayuda a conocer el estado actual de la producción.

Se dispone de un laboratorio enfocado a realizar análisis rutinarios de parámetros físico-químicos del agua y otro enfocado al análisis y muestreos de peces para diagnóstico patológico, ambos laboratorios soportan sus resultados mediante el envío de muestras a laboratorios externos para confirmaciones.

Las mortalidades registradas a lo largo del año son variables por cada jaula, durante los meses de Marzo a Julio se registran mortalidades diarias las cuales oscilan de .03 a .1 %, para los meses de Agosto a Febrero las mortalidades promedio oscilan de .05 a .2 % lo anterior se ha relacionado a diversas patologías las cuales son variadas, estas patologías se incrementan dependiendo de la época del año y tienen una aparente relación con la temperatura presente. Para llevar un historial sanitario se realizan muestreos frecuentes seleccionando

jaulas diariamente, dichas jaulas son seleccionadas con base a la mayor mortalidad presente, se enlistan las diversas signologías presentes así como tomar muestras de órganos para su posterior procesamiento con técnicas diagnósticas presuntivas como son improntas, todos los resultados se usan para el diagnóstico presuntivo. Con base a los resultados se maneja un registro de las posibles patologías presentes a lo largo del año.

México.

### III. OBJETIVO

#### 3.1 Objetivo general

Describir las principales enfermedades bacterianas que se presentan en las tilapias (*Oreochromis niloticus*) en un cultivo intensivo ubicado en el municipio de Ostuacan, Chiapas, México.

#### 3.2 Objetivos específicos

Identificar el agente causal específico de cada una de las enfermedades y la posible presencia de enfermedades mixtas a lo largo del año.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Ubicación de la granja de cultivo intensivo

La investigación se realizó en el municipio de Ostuacán, localizado en el norte del estado Chiapas en una empresa dedicada a la producción intensiva y procesamiento de tilapia entera y sub-productos, la cual está dividida en dos áreas de producción: El criadero ubicado en las coordenadas 17°50' latitud norte. 93°29' longitud oeste y el centro de producción de engorda ubicado en las coordenadas 17° 22' latitud norte y 93° 26' longitud oeste (INEGI, 2014).

En cuanto a la hidrografía, el estado cuenta con el Río Grijalva, que proviene de la Presa Malpaso la cual se encuentra en el vecino municipio de Tecpatán, y en territorio de Ostuacán es embalsado en la última presa hidroeléctrica del sistema Grijalva, la Presa Peñitas, ubicada casi en la frontera con Tabasco. En comparación con otras presas chiapanecas, Peñitas es un embalse relativamente pequeño, dedicado fundamentalmente a la producción de electricidad y el control del afluente de agua.

El centro de producción de engorda se encuentra integrado por las áreas de pre-engorda, engorda y genética.

### 4.2 Diseño experimental

El muestreo se llevó a cabo en el área de engorda y fue no probabilístico para detección de enfermedad (muestreo dirigido), se capturaron 5 a 10 peces cada 2 días por cada semana de Enero a Julio de 2014, los pesos promedios seleccionados fueron de 100 a 900 gramos, y únicamente a peces que presentaban diferentes signos clínicos, y de aquellas jaulas que presentaron mayor morbilidad y mortalidad durante los meses antes mencionados, los datos antes mencionados se consultaron en los registros que se almacenan diariamente en el software Farm-Control tomando incrementos de mortalidad diaria por jaula que superen los 0.6%, los pesos de los animales capturados y los meses seleccionados fueron las indicadas anteriormente debido a que son donde principalmente se han manifiestan las enfermedades clínicamente.

En total se llevaron a cabo 600 necropsias de peces con signos clínicos de enfermedad, se anestesiaron con benzocaína al 20% y se insensibilizaron por un corte de médula espinal según lo indicado por Ross and Ross (2008).

Para integrar el diagnóstico y seleccionar los exámenes de laboratorio (150 frotis utilizando la tinción de Gram, 150 muestras para PCR-múltiple, 15 cultivos bacteriológicos para pruebas bioquímicas y 300 muestras para histopatología), todas las observaciones se anotaron en formatos de campo el cual incluyen: número de jaula, tamaño de la muestra, número de individuo muestreado, además se enlistaron las lesiones observadas en cada uno de los individuos muestreados.

#### **4.2 Técnica de necropsia**

La necropsia se realizó *in situ* en peces recién sacrificados con signología y lesiones evidentes de enfermedad bacteriana. Lo anterior se realizó mediante las indicaciones descritas por Meyers (2000) (Anexos: figura 1) la cual consiste en realizar un examen externo detallado de: aletas, piel, escamas, ojos, nostrilos, cavidad oral, cloaca. Posteriormente se realizó el examen interno el cual consiste en abrir cavidades con tres incisiones: 1) parte ventral del opérculo hasta la parte dorsal, 2) parte dorsal del opérculo hasta el ano, haciendo una curva 3) del ano hasta la parte ventral del opérculo. En este paso se revisaron los órganos *in situ*, extrayendo ojos, opérculos, branquias, corazón, grasa abdominal, bazo, gónadas, vejiga natatoria, hígado, riñón anterior y posterior, tejido muscular, cerebro, médula espinal, finalmente se abrieron y separaron los órganos huecos: estomago, intestinos.

Los hallazgos más importantes durante la necropsia se describieron utilizando el diagnóstico morfológico que incluye: lesión, tipo, curso, grado y distribución.

#### **4.3 Técnica histológica y procesamiento de tejidos**

Las secciones de los 300 órganos que presentaron algún tipo de lesión • fueron procesadas con base en lo mencionado por Mumford *et al.*, (2007), las cuales se fijaron con formol amortiguado al 10 % con pH 7.2, posteriormente se

cortaron y se colocaron en cápsulas, seguido del procedimiento habitual de la técnica histológica: infiltración, inclusión y corte. Los cortes se realizaron con un grosor de 5  $\mu\text{m}$ . La tinción empleada fue la técnica rutinaria de hematoxilina-eosina (H&E) (Anexos: figura 2). Lo anterior se realizó en el Departamento de Patología de la FMVZ-Universidad de Colima.

#### **4.4 Técnica de citopatología y tinción de Gram**

Se realizaron 150 improntas de los siguientes órganos: cerebro, bazo, corazón, branquias, musculo y riñón. Las muestras se fijaron con calor (flameando en el mechero), se colocó el portaobjeto sobre un soporte (varillas de cristal), la muestra se cubrió con cristal violeta durante un minuto, escurrir y enjuagar. Posteriormente se cubrió la muestra con solución de lugol durante un minuto, escurrir y enjuagar. Cubrir con alcohol acetona durante cinco segundos, escurrir y enjuagar. Cubrir la muestra con safranina durante un minuto, escurrir y enjuagar, se dejará secar la muestra al medio ambiente, colocando una gota de aceite de inmersión y observarla al microscopio (Anexos: figura 3).

Esta prueba tiene un fundamento, el cristal violeta sirve como colorante básico uniéndose a la pared celular bacteriana, con ayuda del lugol (mordiente) que refuerza la unión del colorante. Las bacterias Gram positivas debido a su estructura y composición bioquímica de su pared retienen el complejo cristal violeta-lugol, por lo que los casos de bacterias Gram positivas se observarán al microscopio de color purpura o violeta, para el caso de las bacterias Gram negativas estas pierden el colorante básico cuando son tratadas con el decolorante debido a que el alcohol disuelve el contenido lipídico de la pared celular (lo que aumenta la permeabilidad celular), dando como resultado la pérdida del complejo cristal violeta-lugol. Las bacterias decoloradas captan entonces el colorante de contraste, razón por la cual estas bacterias se observan de color rojo o rosa al microscopio (Caldas, 2010).

#### **4.5 Técnica PCR**

Se tomaron los órganos de 300 peces enfermos con lesiones, estos órganos fueron: cerebro, riñón anterior y bazo, se fijaron en alcohol absoluto y se procedió a la extracción de ADN. La técnica PCR múltiple permite la detección

simultánea de diferentes secuencias de ADN, por la incorporación de diferentes sets de iniciadores. Se utilizó un termociclador (tiempo-temperatura determinada) con tres fases: desnaturalización, hibridación y elongación con 20 a 35 ciclos, posteriormente se trabajó con electroforesis con gel de agarosa y se obtuvo el resultado de amplificación exponencial del fragmento de ADN (34 billones de copias) tras la serie de 20 a 35 ciclos de PCR. Se emplearon los genes 16S y 23S ARNr para la identificación de *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus iniae* (Anexos: figura 4). Lo anterior fue procesado en los laboratorios de MSD Animal Health Innovation Pte Ltd, en el país de Singapur.

#### **4.6 Aislamientos bacterianos**

Se realizaron 15 aislamientos bacterianos, la recolecta de las muestras se llevó a cabo mediante el uso de hisopos estériles los cuales fueron sumergidos en medio de transporte Stuart, la toma de muestras se realizó primeramente antes de realizar la recolecta de tejidos a fin de evitar contaminación del medio, esto se realizó introduciendo los hisopos en los órganos que presentaron alteración patológicas (congestión, hemorragias, necrosis) los órganos elegidos para la toma de muestra fueron: Corazón, bazo, riñón, cerebro, las muestras tomadas fueron remitidos a 2 laboratorios especializados en bioquímica bacteriológica de nombre: Aquavet. Laboratorio de doenças de animais aquáticos y Acquapiscis. Consultoria e medicina veterinária em Aquicultura ubicados en Sao Paolo, Brasil.

#### **4.7 Toma de muestras de parámetros físico-químicos del agua**

Se llevaron registros de variables ambientales durante todo el año 2014 como: temperatura, oxígeno disuelto (Oxímetro digital (YSI 55®), pH (potenciómetro digital (Hanna Instruments®), determinación de alcalinidad, amonio y nitritos (pruebas de titulación y colorimétricas)

#### **4.8 Análisis de la información**

El estudio fue descriptivo, los resultados de la prevalencia se expresarán en porcentaje.

## V. RESULTADOS

Los 600 peces capturados presentaban nado errático, letargia y boqueo en la observación *in situ*, los peces revisados durante la necropsia presentaron los siguientes signos clínicos externos: anorexia, abdomen distendido (ascitis), exoftalmia y opacidad corneal unilateral y bilateral (Anexos: figura 5).

Las lesiones encontradas características de enfermedad bacteriana fueron: Piel, músculo y aletas con congestión, hemorragias, degeneración y necrosis, además de despigmentación, laceración y formación de nódulos en la región del maxilar inferior y de la aleta caudal.

Como resultado del conjunto de hallazgos macroscópicos y microscópicos se relacionaron enfermedades a 3 principales bacterias, las cuales se describen a continuación.

### 5.1 Septicemia hemorrágica bacteriana

Esta enfermedad se presentó con mayor frecuencia en los meses de enero, febrero y marzo (Anexos: gráfica 5), durante este periodo la temperatura osciló entre los 23 y 26 grados centígrados (Anexos: gráfica 1).

Dentro de los hallazgos en la necropsia se observaron diversas lesiones principalmente de tipo hemorrágico. Macroscópicamente se observaron lesiones de tipo hemorrágico en piel y músculo. Estas lesiones se observaron principalmente en rostro y sobre la línea media dorsal. Las lesiones ulcerativas encontradas eran profundas y en algunos casos con exposición de musculatura o en casos más severos de la estructura ósea del cráneo. Al realizar un corte transversal se observó destrucción de tejido muscular con presencia de fluido fibrino purulento, la lesión en músculo en casos más severos se extiende desde la región orbital hasta la región craneal, provocando lesiones graves en cerebro (Anexos: figura 6 y 7). Cuando la lesión se extiende por la línea media dorsal se observa desprendimiento del tejido cutáneo así como una miositis severa.

Además de observo exoftalmia unilateral y bilateral provocada por una panoftalmitis severa.

En algunos casos se observaron únicamente lesiones hemorrágicas en piel las cuales se distribuían de manera multifocal por las regiones laterales del pez, la pérdida de escamas era frecuente.

En órganos internos se observaron algunos cambios patológicos, el corazón en algunos casos presentaba aumento de tamaño (cardiomegalia), el tejido se observaba ligeramente pálido. El bazo presentaba aumento de tamaño (esplenomegalia) y en algunos casos palidez, al igual que las branquias. El estómago e intestino en algunos casos presentaba acumulación de líquido sanguinolento así como petequias distribuidas multifocalmente. Las aletas se observaron con lesiones erosivas y menos frecuentes de tipo hemorrágico lo cual se atribuye principalmente a *Flavobacterium columnare*. El cerebro en los casos donde la lesión se extendía hasta este órgano, se observaba hemorrágico con acumulación de fluido en la cavidad craneal, lo cual se describiría como una meningoencefalitis hemorrágica severa (Anexos: figura 6 y 7).

Se tomaron improntas de los siguientes órganos: piel, músculo, bazo, riñón, cerebro y corazón. De lo anterior se observaron estructuras bacterianas que morfológicamente se describen como bacilos Gram negativos, principalmente en músculo y cerebro, siendo más frecuente en el primer órgano (Anexos: gráfica 4).

En la bacteriología se tomaron muestras de músculo, bazo, riñón y cerebro, de estos órganos se aislaron principalmente bacterias Gram negativas (*Aeromonas veronii*, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*) las cuales se han relacionado estrechamente a esta patología debido a las lesiones macroscópicas y microscópicas observadas (Anexos: gráfica 2).

En los hallazgos histopatológicos los órganos que presentaron lesiones hemorrágicas con severos daños vasculares relacionados a *Aeromonas* spp. en piel se observó una dermatitis necrótica ulcerativa severa con infiltración neutrofilica en epidermis en músculo se observó una mionecrosis hemorrágica necrótica y en algunos casos se observaron lesiones en bazo presentado una esplenitis hemorrágica difusa y en los casos donde el riñón se observó afectado una nefritis hemorrágica necrótica, en los casos clínicos donde la lesión cutánea y muscular eran severos penetrando hasta la cavidad craneana y cerebro se observó una meningoencefalitis hemorrágica fibrinosa severa (Anexos: Figura 10).

## 5.2 Estreptococosis

Esta enfermedad se observó con mayor frecuencia en los meses de abril, mayo, junio y julio, durante este periodo la temperatura osciló entre 26 y 29 grados centígrados (Anexos: gráfica 1).

Durante la necropsia se encontró en la cavidad abdominal presencia de trasudado (edema, ascitis) y otros con presencia de exudado fibrinoso provocado por una peritonitis fibrinosa. El hígado se observó aumentado de volumen (hepatomegalia) con bordes redondeados de color rojizo-amarillo y friable al tacto, otros presentaron congestión hemorragias y necrosis multifocal. El bazo aumentado de volumen (esplenomegalia) congestionado y friable. El riñón aumentado de volumen (nefromegalia) y congestionado.

Las branquias presentaron palidez, congestión, hemorragias y necrosis, estas lesiones eran menos frecuentes y relacionados a otro patógeno bacteriano oportunista. El estómago en todos los casos clínicos se observó vacío, tanto el estómago como el intestino presentaban hemorragias en serosa y mucosa. El corazón presentaba hemorragias, necrosis, exudado fibrinoso y presencia de nodulaciones en el pericardio y miocardio. El encéfalo en algunos casos presentó hemorragias difusas, necrosis licuefactiva y presencia de exudado fibrinoso sobre meninges y encéfalo. (Anexos: figuras 6 y 7).

En las improntas realizadas al cerebro, riñón y bazo se observaron principalmente estructuras bacterianas como son cocos Gram positivos. De igual manera se aislaron casos mixtos con bacterias Gram negativas los cuales se consideraron como infección sinérgicas con estas bacterias. Siendo estas últimas las de infección secundaria.

En los órganos que se observaron lesiones macroscópicas se realizaron toma de muestras para bacteriología, en estas muestras se aislaron *Streptococcus* spp. y en menor frecuencia *Aerococcus* sp.

En los hallazgos histopatológicos se clasificó esta enfermedad en dos presentaciones una aguda y otra crónica. En el primer caso los órganos que presentaron lesiones agudas relacionados a *Streptococcus* spp. fueron: Piel observándose una dermatitis hemorrágica fibrinosa, en corazón se observó una pericarditis y miocarditis fibrinosa, el cerebro presentaba una meningoencefalitis

fibrinosa, en algunos casos se observó en ojos una oftalmítis fibrinosa, en órganos parenquimatosos observamos que el hígado presenta una perihepatitis fibrinosa, el bazo y riñón una esplenitis y nefritis fibrinosa, el intestino una enteritis fibrinosa caracterizada por diversas hemorragias causada por destrucción del endotelio vascular (Anexos: figura 8).

En los casos que se clasificaron como crónicos, los órganos que presentaron lesiones con granulomas fibrinosos, granulomas neutrofílicos y heterofílicos relacionados a *Streptococcus* spp. fueron el corazón el cual presentaba una pericarditis y miocarditis granulomatosa, en cerebro se observó una meningoencefalitis granulomatosa, en algunos casos se observó una panoftalmítis granulomatosa, en órganos parenquimatosos se describió en hígado una perihepatitis granulomatosa, en bazo una esplenitis granulomatosa y en riñón una nefritis granulomatosa. En algunos casos en cavidad celómica se observó una poliserositis granulomatosa, (Anexos: figura 9).

De 300 muestras remitidas para identificar a *Streptococcus* spp., resultaron positivas 142 muestras representando un 46% del total de las muestras, como se muestra en la gráfica 6. Del total de muestras que resultaron positivas se logró identificar dos especies, las cuales fueron *Streptococcus agalactiae* con un 83.7%, *Streptococcus iniae* con un 8.89%, considerando de esta manera al *Streptococcus agalactiae* como la especie más prevalente en los casos clínicos observados relacionados a la enfermedad de la estreptococosis.

Como se observa en la gráfica 7 de las 142 tilapias positivas a *Streptococcus* spp. se encontró su presencia desde los 100 hasta los 1000 gramos, con mayor frecuencia entre las tallas de los 500 a los 700 gramos.

### **5.3 Columnaris**

Esta enfermedad se observó principalmente afectando branquias y en algunos casos piel, en todos los casos observados se asoció a la presencia sinérgica con otras bacterias.

En la necropsia macroscópicamente en piel se observó lesiones erosivas multifocales con bordes hemorrágicos, al centro de la lesión se observó •  
acumulación de líquido blanquecino – amarillento. En branquias se observó destrucción de lamelas secundarias, pequeñas hemorragias de tipo petequiral

distribuidas multifocalmente en diversos arcos branquiales, además de la acumulación de fibrina sobre lamelas secundarias (Anexos: figura 11).

En las improntas realizadas a branquias y piel, se observaron bacilos largos y delgados Gram negativos.

En los hallazgos histopatológicos se describió en branquias como una Branquitis hemorrágica difusa severa con hiperplasia celular (Anexos: figura 11). En piel se observó una dermatitis necrótica ulcerativa severa con infiltración neutrofílica en epidermis sin embargo esta lesión se observó en sinergia con otras bacterias.

#### **5.4 Edwarsielosis**

Esta enfermedad se clasificó como una enfermedad bacteriana sinérgica, ya que los dos únicos casos de los que se aisló la bacteria *Edwarsiella Tarda*, las lesiones coincidían con las descritas anteriormente como una septicemia hemorrágica bacteriana.

Finalmente se clasificaron las patológicas bacterianas en dos grupos, el primer grupo correspondiente a bacterias Gram negativas (*Aeromonas spp*, *Flavobacterium columnare*), el segundo grupo corresponde a bacterias Gram positivas (*Streptococcus spp.*, *Aerococcus sp.*) la selección se realizó en base a los hallazgos histopatológicos en conjunto con los resultados de bacteriología y PCR, del total de muestras se obtuvo un 62 % relacionadas al grupo de bacterias Gram negativas y un 38% relacionado al grupo de bacterias Gram positivas (Anexos: gráfica 3). La presencia de cada una de las enfermedades antes descritas se observaron con una tendencia que aparentemente se relaciona con la temperatura a lo largo de los meses de Enero a Julio de 2014.

## VI. DISCUSIÓN

Durante las necropsias realizadas en los muestreos se observaron diversas alteraciones patológicas macroscópicas como son congestión, inflamación, hemorragias, necrosis en órganos internos, presencia de exudado fibrinoso lo cual corresponde a varias patologías asociadas a enfermedades sistémicas crónicas causadas por bacterias (Conroy, 2007; Noga, 2010; Pulido, 2004; Vásquez, 2010) de igual manera para las presentaciones agudas como son dermatitis necróticas y hemorragias (Noga, 2010; Rey, 2002; Conroy, 2007).

En los aislamientos bacterianos se identificaron diversos patógenos que se han mencionado en diversas literaturas como principales patógenos presentes en cultivos acuícolas, en el caso de *Streptococcus* spp., dieron positivos tanto a alfa como beta hemólisis y coinciden con lo reportado por Miyazaki *et al.* (1984), el cual menciona que los diferentes patrones de reacción histopatológica dependen del tipo de cepas de *Streptococcus* spp., las cepas alfa hemolíticas inducirán a la forma granulomatosa y las beta hemolíticas a la forma septicémica, observándose este mismo patrón en los muestreos realizados.

Del total de muestras procesadas mediante histopatología, las lesiones descritas como causadas por *Streptococcus* spp., coincidieron con el proceso patológico descrito por Miyazaki, *et al.* (1984) tanto en su forma crónica como aguda, la cual consiste en múltiples granulomas en órganos internos, que afectan principalmente al sistema nervioso. En tanto para las lesiones relacionadas a las bacterias Gram negativas (*Aeromonas* spp., *Edwardsiella* sp., *Flavobacterium* sp.) coinciden con lo descrito por Ferguson (2006), quien menciona que las lesiones en piel y músculo causadas por bacterias Gram negativas da lugar a una dermatitis y miositis con infiltración neutrofilica, acompañado de edema y dilatación vascular que en ocasiones da lugar a hemorragias.

Las infecciones sistémicas observadas de origen bacteriano en el diagnóstico presuntivo mediante el uso de tinciones mostró diversas estructuras bacterianas las cuales se asociaron en algunos casos a infecciones causadas por un solo patógeno y en algunos casos mixtas, Gram negativas (*Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii*, *Edwardsiella tarda*, *Flavobacterium columnare*) y

la Gram positiva (*Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus Iniae*), lo cual coincide con lo descrito por Rey *et al.*,(2002), quien menciona que las principales patologías presentadas durante 1998 a 2001 en un estudio realizado en Colombia los principales patógenos causantes de enfermedad eran de origen bacteriano y corresponden a las bacterias mencionadas anteriormente.

Además se observaron una mayor presencia de estructuras bacterianas Gram negativas principalmente en piel y músculo, para el caso de bacterias Gram positivas se observó mayor presencia en riñón, bazo y cerebro, lo cual está relacionado estrechamente con los resultados de histopatología en los cuales se observó un mayor número de lesiones de tipo hemorrágico en piel y músculo y lesiones de tipo granulomatoso y exudativo en cerebro, bazo y riñón.

Las patologías confirmadas mediante el uso de PCR mostraron como *Streptococcus* sp., se manifiesta durante los meses de Enero a Julio, lo cual coincide con lo reportado por Yelaine, (2009) quien reportó en un estudio sobre variabilidad bacteriana en tilapias *Oreochromis niloticus* en épocas de lluvia y seca cultivadas en ambientes dulce acuícolas un similar comportamiento de esta enfermedad en ambas épocas y quien menciona que solo se diferencia por la especie aislada.

## VII. CONCLUSIONES

Se logró describir histopatológicamente las lesiones provocadas por las principales enfermedades presente en la granja de cultivo intensivo. Sin embargo las lesiones macroscópicas causadas por bacterias son muy similares independientemente de la bacteria involucrada lo cual hace necesario la confirmación mediante técnicas moleculares o bacteriológicas para dar un diagnóstico definitivo.

Se logró identificar las bacterias específicas que provocan las principales enfermedades que afectan a la tilapia en un cultivo intensivo, lo anterior gracias al uso de técnicas moleculares y bacteriológicas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## IIX. LITERATURA CITADA

Abowei, J. F. N. and Briyai O. F. 2011. A review of some bacteria diseases in Africa culture fisheries. *Asian Journal of Medical Sciences*. 3(5): 206 – 217.

AFS-FHS (American Fisheries Society-Fish Health Section). 2014. FHS Blue book: suggested procedures for the detection and identification of certain finfish and shellfish pathogens, 2014 edition. Accessible at: <http://afs-fhs.org/blue-book/bluebook-index.php>.

Arredondo, F. J. L y Lozano, G. S. 1996. “El cultivo de la tilapia en México”. Memorias del primer curso internacional de producción de tilapias. Mexico, D.F. 7 (18): 20 - 22 .

Arredondo, F. J. L y Lozano, G. S. 2003. *La acuicultura en México*. Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa. México.

Austin, B and Austin, D. 2007. Bacterial fish pathogens, diseases of farmed and wild fish. 4th Edition. Edit. Praxis. Chichester, UK.

Avault, J. 1995. Understanding bacteria and bacterial diseases in aquaculture. *Aquacult. Mag.*, Nov-Dic pp. 68 – 76.

Avilés, A. 2000. Cultivo de Peces Marinos. Cap. XV. En: Álvarez-Torres, M. Ramírez-Flores, L.M. Torres- Rodríguez y A. Díaz de León-Corral (Eds). 2000. *Estado de Salud de la Acuicultura*, INP.

Bockemuhl, J., R. Pan-Urai, and F. Burkhardt. 1971. *Edwardsiella tarda* associated with human disease. *Pathologia et Microbiologia* 37:393-401.

Bowser, P., Wooster, A. and Getchell, R. 1998. *Streptococcus iniae* infection of tilapia *Oreochromis niloticus* in a recirculation production facility. *J. World Aquacult. Soc.*, 29: 335-339.

Brenden, R. and Huizinga, H. 1986. Pathophysiology of experimental *Aeromonas hydrophila* infection in gold fish, *Carassius auratus* (L). *J. Fish Dis.*, 9: 163 – 167.

Caldas, A.L. 2010. *Guía de microbiología y parasitología básico clínica*. [http://www.facultadsalud.unicauca.edu.co/Documentos2010/DptoMedInt/Tincion\\_de\\_gram.pdf](http://www.facultadsalud.unicauca.edu.co/Documentos2010/DptoMedInt/Tincion_de_gram.pdf). [Consulta: 20-02-2014].

Castro - Escarpulli, G., Aguilera-Arreola Ma. G., Giono C. S., Hernández Rodríguez C. H., Rodríguez C. M., Soler F. L., Aparicio O. G., Figueras S. MJ. 2002. El género *Aeromonas* ¿Un patógeno importante en México?. *Enfermedades infecciosas y microbiología*. 22(4): 206 – 216.

Cipriano R. C., Bullock G.L. 2001. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. U.S. Geological Survey/Leetown Science Center National Fish Health Research Laboratory. Virginia, EUA.

Conroy G. and Conroy A. D. 2007. Importantes enfermedades infecciosas y parasitarias de tilapias cultivadas. Shering-Plough.

Declercq A. M., Haesebrouck F., Van den Broeck W., Bossier P., Decostere A. 2013. Columnaris disease in fish: a review with emphasis on bacterium-host interactions. *Veterinary Research*. 44:27.

Durborow R. M., Thune, R. L., Hawke, J. P., Camus, A. C. 1998. Columnaris Disease: A bacterial infection caused by *Flavobacterium columnare*. Southern Regional Aquaculture Center. Num. 479. Sitio web: <https://srac.tamu.edu/index.cfm/getFactSheet/whichfactsheet/128/>

El-Sayed, A. 2006. *Tilapia culture*. UK, Biddles Ltd.

Evans, J.J.; Klesius, P.H.; Gilbert, P.M.; Shoemaker, C.A.; Al Sarawi, M.A.; Landsberg, J.; Duremdez R.; Al Marzouk A. and Al Zenki S. 2002. Characterization of b-hemolytic group B *Streptococcus agalactiae* in cultured sea bream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri*, in Kuwait. *Journal of Fish Diseases*. 25: 505–513.

FAO Fisheries & Aquaculture, 2005. National Aquaculture Sector Overview. Visión general del sector acuícola nacional México. National Aquaculture Sector Overview Fact Sheets. Texto de Montero Rodríguez, M. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [en línea]. Roma. Actualizado 10 June 2013. [Citado 17 August 2014].

FAO. 2012. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012. <http://www.fao.org/icalog/inter-e.htm>. Roma. 231 págs.

Ferguson, H. 2006. Systemic pathology of fish: *A text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease*. 2nd. ed. CPI-Bath Press Ltd. UK.

Fitzsimmons, K. 2000. Tilapia aquaculture in Mexico. Páginas 171–183 in B. A. Costa-Pierce and J. E. Rakocy, eds. *Tilapia Aquaculture in the Americas*. Volumen 2. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2014. Chiapas. Geografía. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Recuperado de (<http://www.inegi.org.mx/inegi/default.aspx?s=geo&e=06>). International, 512–534.

Jimenez, R. 2007. Enfermedades de tilapia en cultivo. Universidad de Guayaquil. Facultad de ciencias naturales. Proyecto: SENACYT. Ed. Poligráficas C.A. Guayaquil, Ecuador.

Juárez-Palacios, R. R. 1987. La acuicultura en México, importancia social y económica. En: *Desarrollo pesquero mexicano 1986-1987*. Secretaría de Pesca. México. 52: 219-232.

Mata, A. I., Gibello, A., Casamayor, A., Blanco, M. M., Domínguez, L. and Fernández-Garayzábal, J. F. 2004. Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water streptococcosis in fish. *Applied and Environmental Microbiology*. 70: 3183-3187.

Mazeaud, M. M., F. Maseaud and E. M. Donaldson, 1977. Primary and secondary effects of stress in fish: Some new data with general review. *Transactions of the American Fisheries Society*. 106: 201-212.

Meyers, T. 2000. *Fish pathology section. Laboratory manual*. 2nd ed. Commercial Fisheries Division, Alaska, Department of Fish and Game. Juneau, AK.

Miyazaki, T., Kaige N. 1985. Comparative histopathology of Edwardsiellosis in fishes. *Fish Pathology Journal* article. Mie University. Mie, Japan. 219 – 227.

- Miyazaki T., Kubota, Saburoh S., Kaige Noboru; Miyashita Toshio. 1984. *A histopathological study of Streptococcal disease in Tilapia*. Journal article Fish Pathology. Mie University Scholarly E-collections. 19 (3): 167-172.
- Mumford S. Heidel J. Smith J. MacConnell B. Blazer V. 2007. *Fish Histology and Histopathology*. USFWS-NCTC.
- Murugappan, R., Rekha, S., Thirumurugan, R. 2006. Characterization and quantification of siderophores produced by *Aeromonas hydrophila* isolated from *Cyprinus carpio*. Pakistan Journal Biological Sciences. Department of Zoology and industrial microbiology, Thiagarajar College, Tamil Nadu, India. 437 – 440.
- Noga, E. 2010. *Fish disease, diagnosis and treatment*. 2nd Ed. Wiley-Blackwell. Iowa, EUA.
- Perera, R.P., Johnson, S.K., Collins, M.D., Lewis, D.H. 1994. *Streptococcus iniae* associated mortality of Tilapia Nilotica X *T. aurea* hybrids. J. Aquat. Anim. Health 6: 335-340.
- Plumb, J. A. 1999. Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 328 pp.
- Pulido, A., Iregui, C., Figueroa, J. & Klesius, P. 2004. Estreptococosis en Tilapias (*Oreochromis* spp.) cultivadas en Colombia. AquaTIC. (20): 97-106.
- Rey, A. L., Iregui C. A., Verján J. 2002. Diagnóstico clínico patológico de brotes de enfermedad en tilapia roja (*Oreochromis* spp.). Rev. Med. Vet. Zoot. 49, pp. 13 - 21.
- Roberts, R. J. 2004. *Fish pathology*. 3th edition. Edited by Elsevier Limited. China. 318 -320.
- Rodríguez, G. M. y Maldonado, J. C. 1996. La Acuicultura en México, Bases conceptuales y Principios. Oceanología. 3(11): 7–26.
- Ross, L.G and Ross, B. 2008. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. 3rd. ed. Blackwell Publishing Ltd.

Ruoff, K.L. Streptococcus en: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, R.H. Tenover (ed). 1995. *Manual of clinical microbiology*. 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 299-307.

Shoemaker, C. A. Evans, J. J. Klesius, P. H. 2000. Density and dose: factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 188: 229 – 235.

Stickney, R.R. 2005. *Aquaculture an introductory text*. CABI publishing. London, UK.

Suanyuk N., Sukkasame N., Tanmark N., Yoshida T., Itami T., Thune R. L., Tamtikitti C., Supamattaya K, 2010. *Streptococcus iniae* infection in culture Asian bass (*Lates calcarifer*) and red tilapia (*Oreochromis* sp.) in southern Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 32(4): 341-348.

Tang, K. F.J. and Nelson, S. G. 1998. *Identification, control, and prevention of disease of fish farms in Guam*. University of Guam Marine Laboratory, Technical Report N° 104.

Vásquez, P. M. Rondo, B. I. Restrepo, B. L. Eslava M. P. 2010. Estudio clínico y hematológico de una infección experimental con *Aeromonas hydrophila* y *Edwardsiella tarda* en tilapia, *Oreochromis* sp. *Orinoquia*. 14(1): 33-44.

Woo P. T. K, Bruno D. W. 2010. Fish diseases and disorders. Volume 3: viral, bacterial and fungal infections. In *Edwardsiella septicaemias*. 2nd edition. Edited by Evans JJ, Klesius PH, Plumb JA, Shoemaker CA. Wallingford: CABI

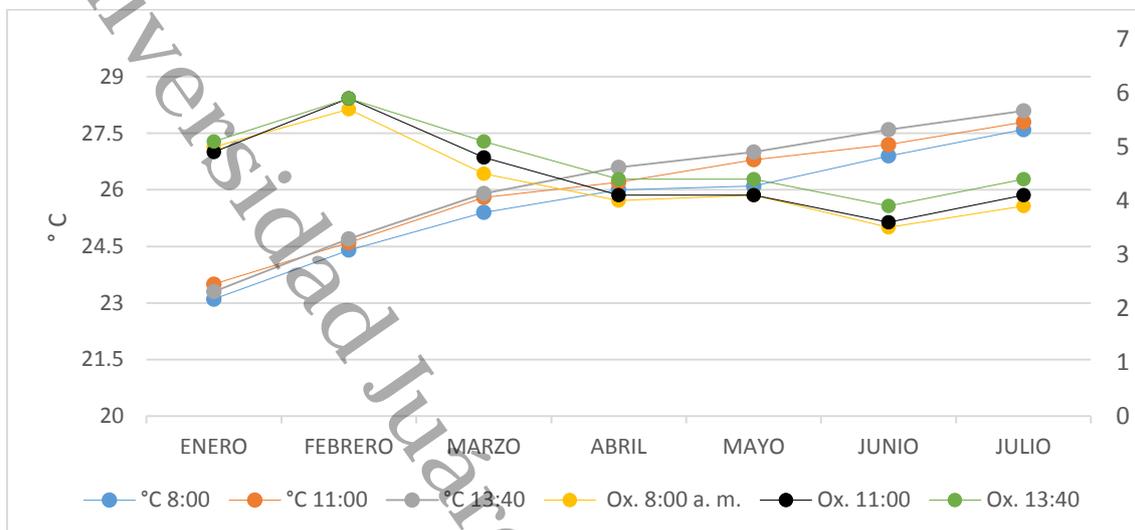
Wurmann, C. G. 2011. Revisión regional sobre la situación y tendencias en el desarrollo de la acuicultura en América Latina y el Caribe – 2010. FAO, Circular de Pesca y Acuicultura. No. 1061/3. Rome, FAO. pp. 212.

Wyatt, L. E., R. Nickelson II, and C. Vanderzant. 1979. *Edwardsiella tarda* in freshwater catfish and their environment. *Applied and Environmental Microbiology* 38: 710-714.

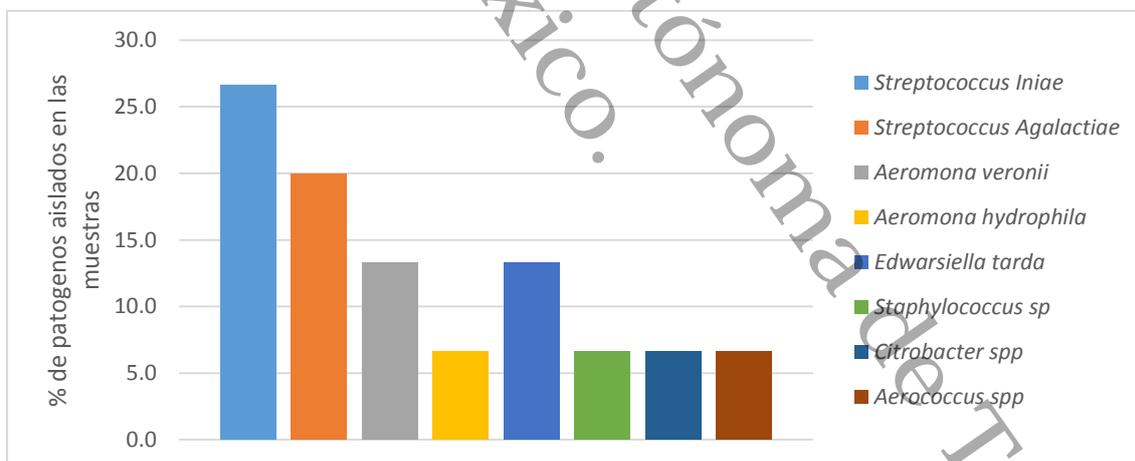
Yelaine M. 2009: Análisis de las mortalidades en los cultivos intensivos 2007 y 2008. Informe Grupo Corporativo INDIPES.

## IX. ANEXOS

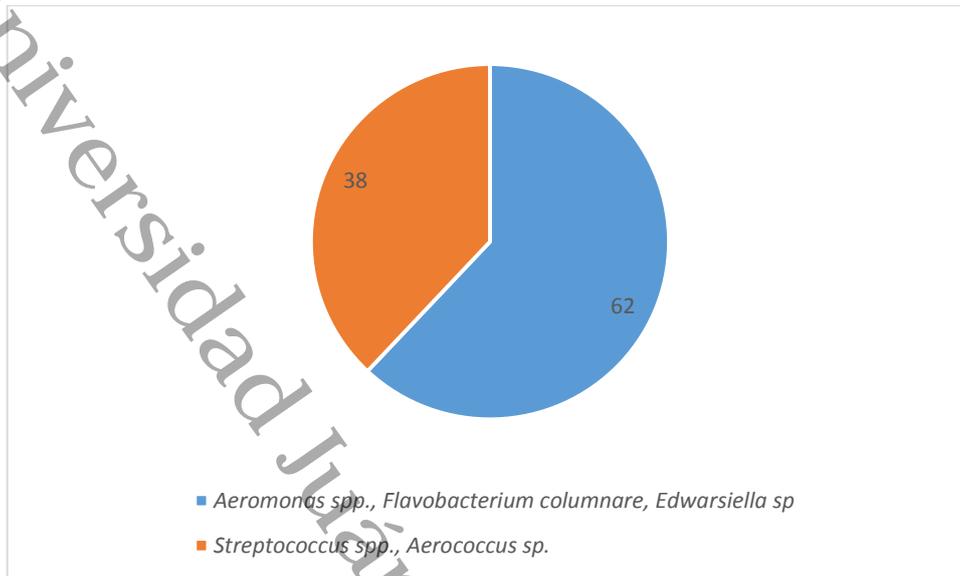
Gráfica 1. Temperatura y oxígeno promedio registrados en tres horarios diferentes (8:00, 11:00 y 13:40 horas) de Enero a Julio de 2014.



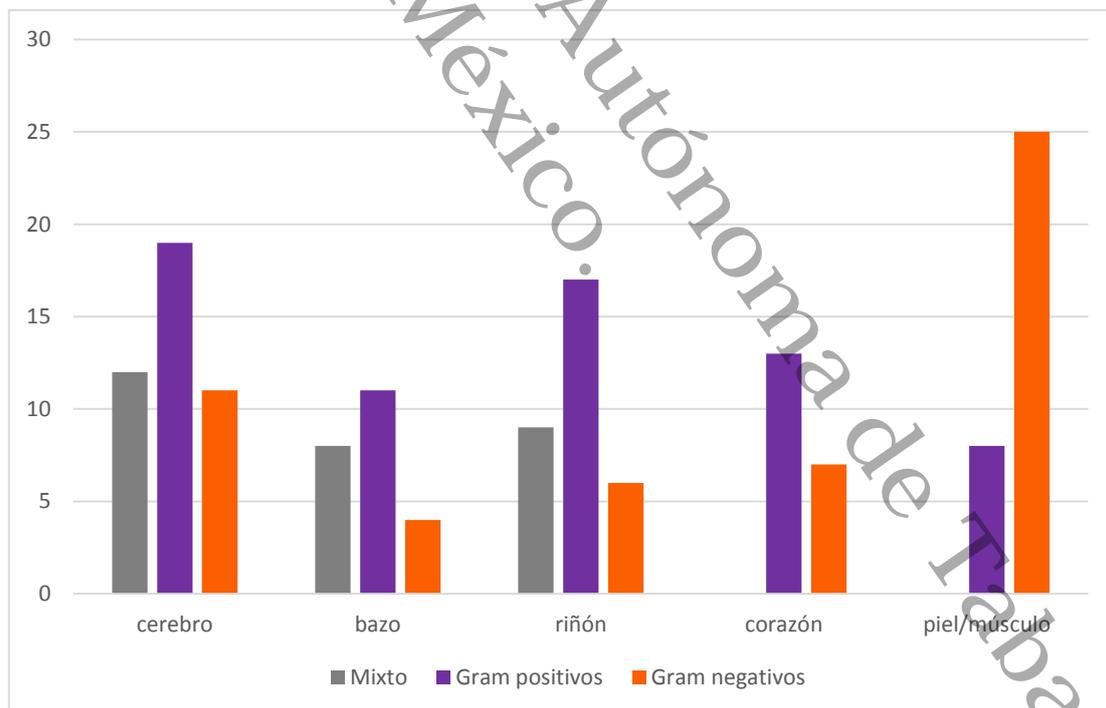
Gráfica 2. Distribución en porcentaje de patógenos identificados mediante bioquímica bacteriológica.



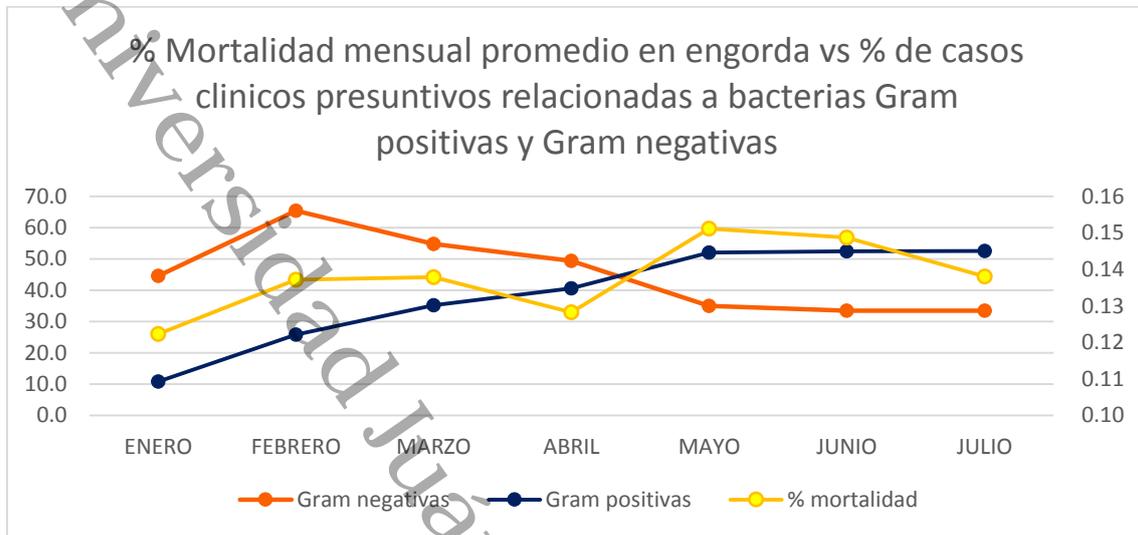
Gráfica 3. Porcentaje de muestras que se relacionaron a los diferentes patógenos aislados.



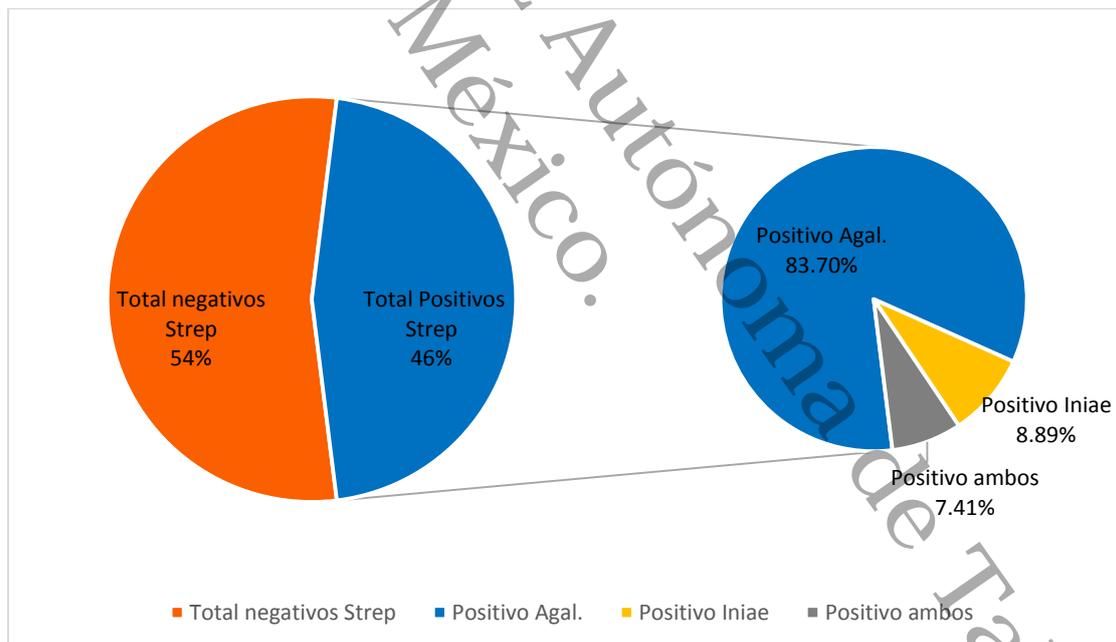
Gráfica 4. Porcentajes de citologías por órganos que presentaron estructuras bacterianas Gram positivas, Gram negativas y mixto.



Gráfica 5. Porcentaje de mortalidad mensual promedio en engorda vs Porcentaje de casos clínicos presuntivos relacionadas a bacterias Gram positivas vs Gram negativas en los meses de Enero a Julio de 2014.



Gráfica 6. Resultados PCR positivos *Streptococcus* spp. vs negativos *Streptococcus* spp. 2014.



Gráfica 7. Distribución de tallas de tilapias con presencia de *Streptococcus* spp., durante los meses de Enero – Julio de 2014.

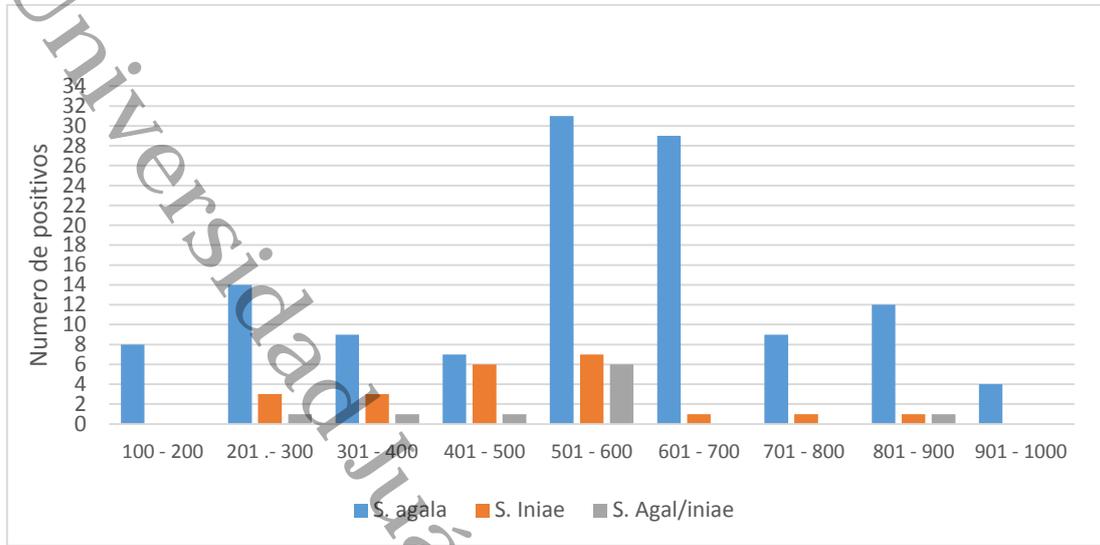






Figura 2. Pasos de la técnica de necropsia utilizada durante el presente trabajo.

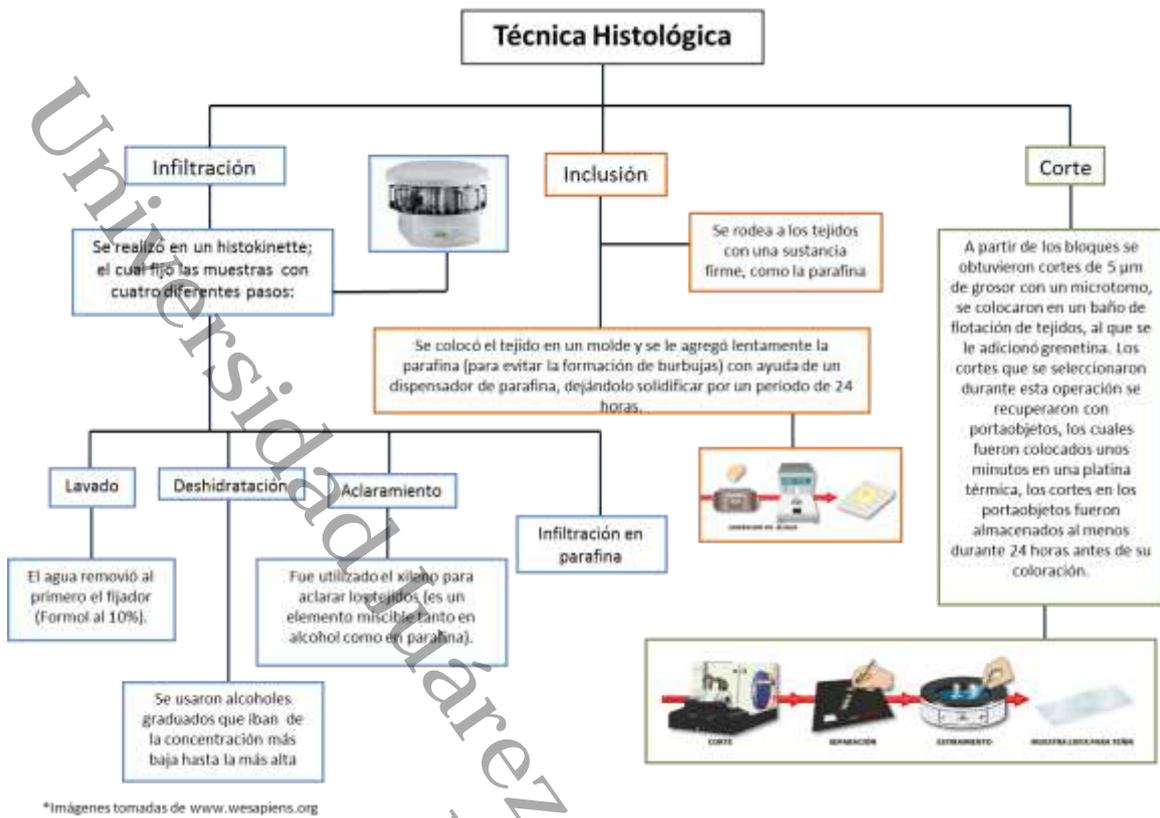


Figura 3. Técnica Histológica (H&E), utilizada para el procesamiento de las muestras remitidas al laboratorio.

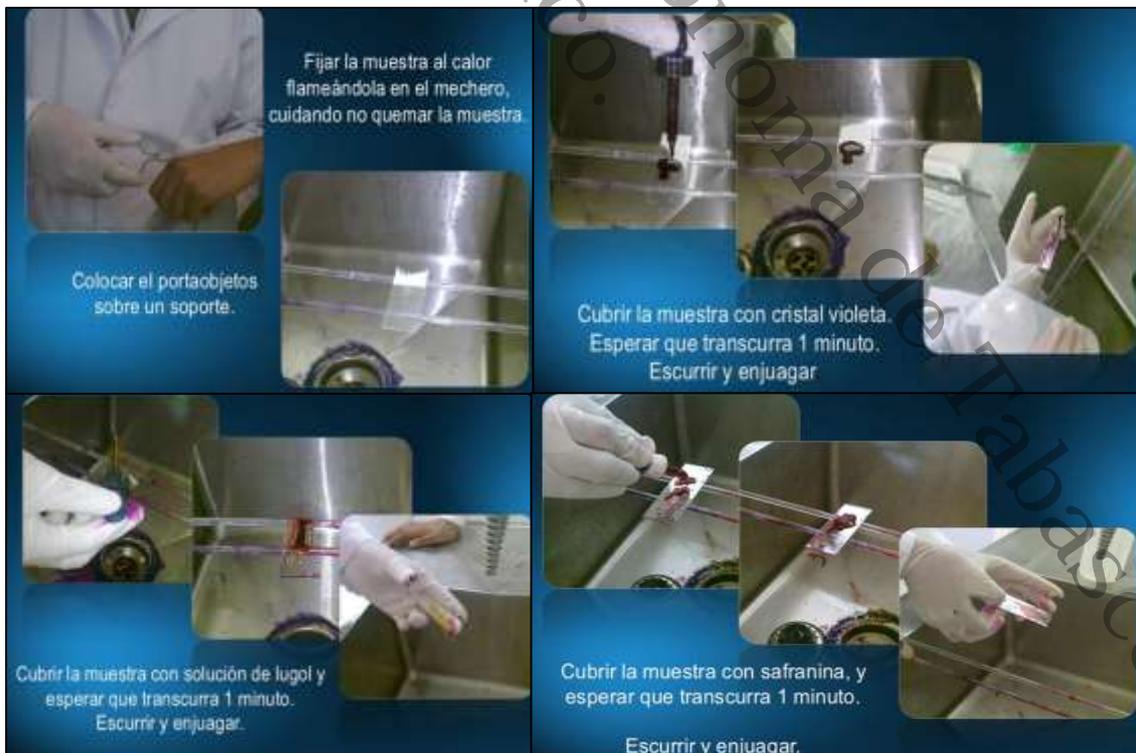


Figura 4. Técnica de Gram utilizada para el procesamiento de las muestras remitidas al laboratorio, para el diagnóstico presuntivo.

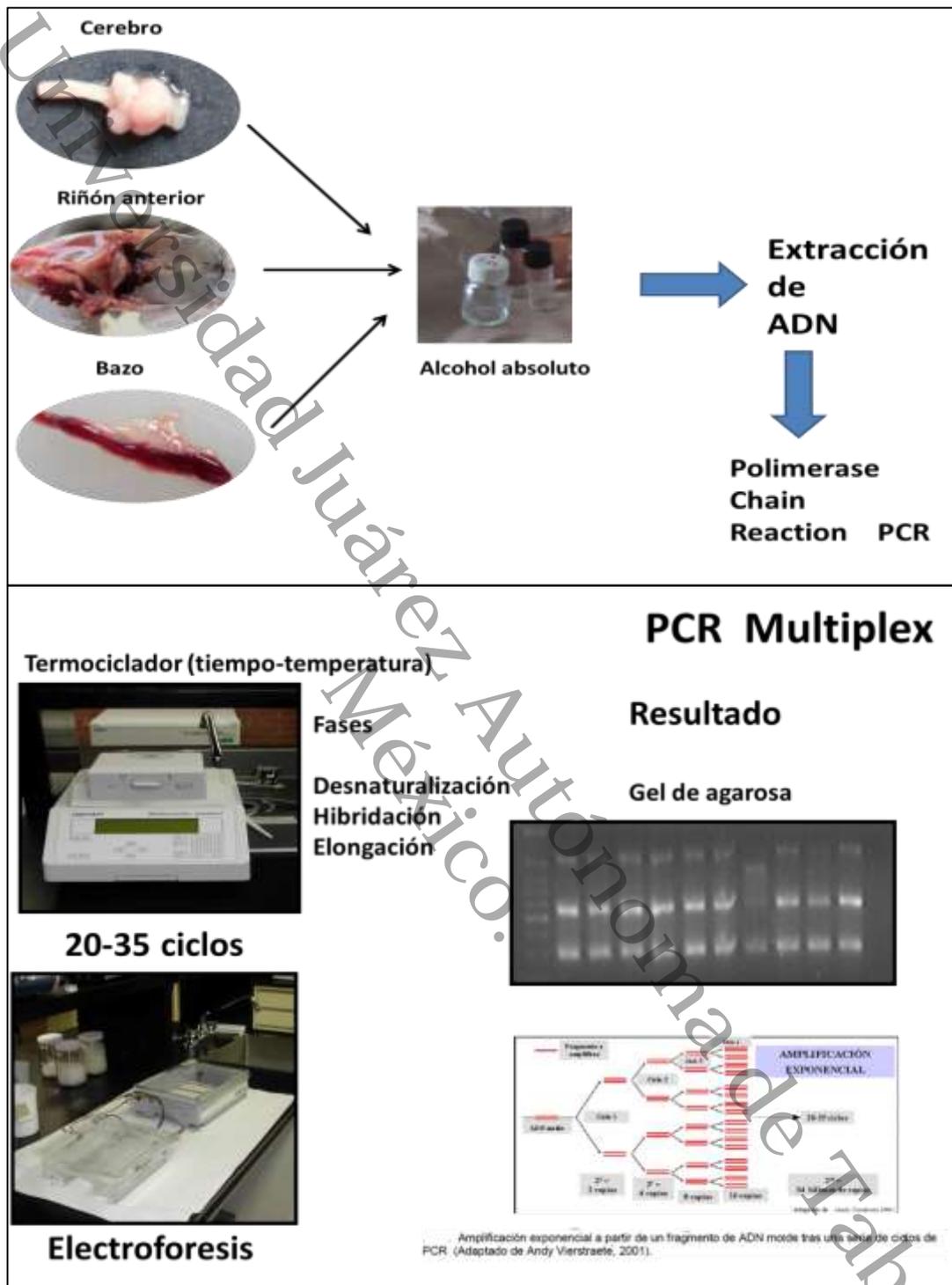


Figura 5. Técnica de PCR utilizada para el diagnóstico definitivo de las muestras remitidas al laboratorio.

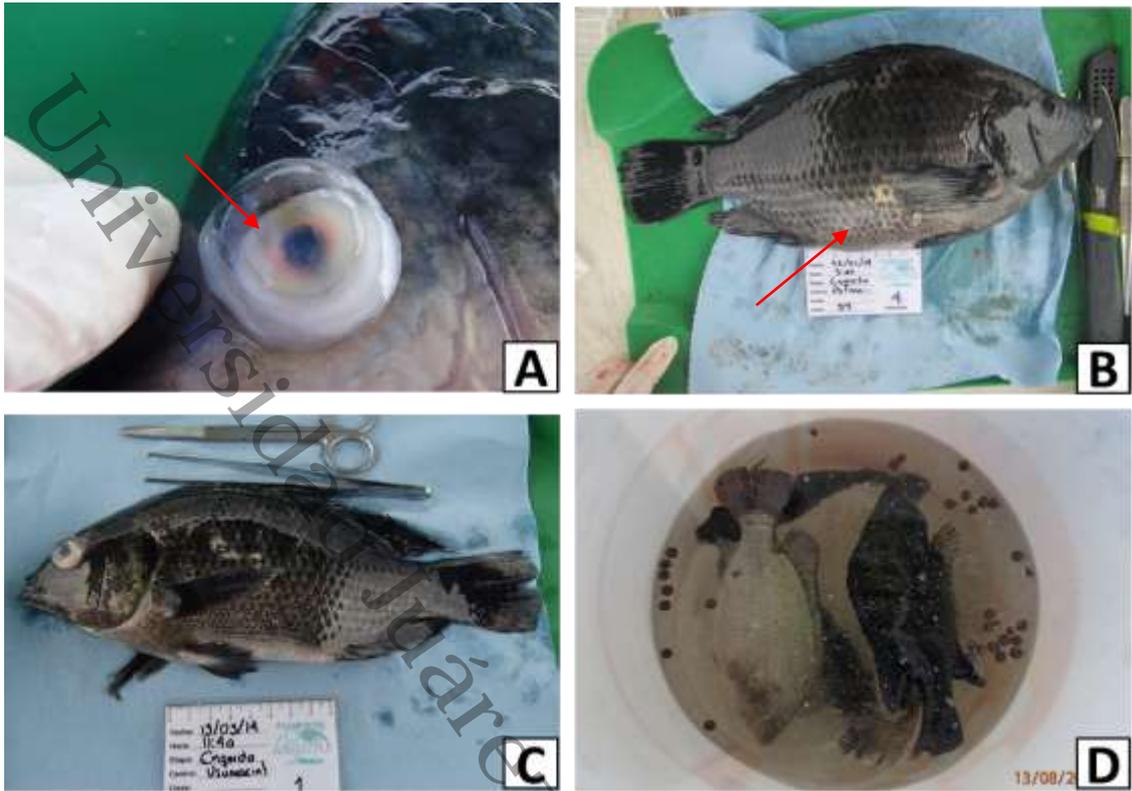


Figura 6. Signos clínicos observados en los peces capturados durante la toma de muestras.

A. Opacidad corneal observado en peces recolectados durante el muestreo. B. Distensión Abdominal provocada por la acumulación de líquidos en la cavidad celómica. C. Pez con falta de masa muscular D. Peces capturados durante la toma de muestra, los cuales presentaban nado letárgico y errático.

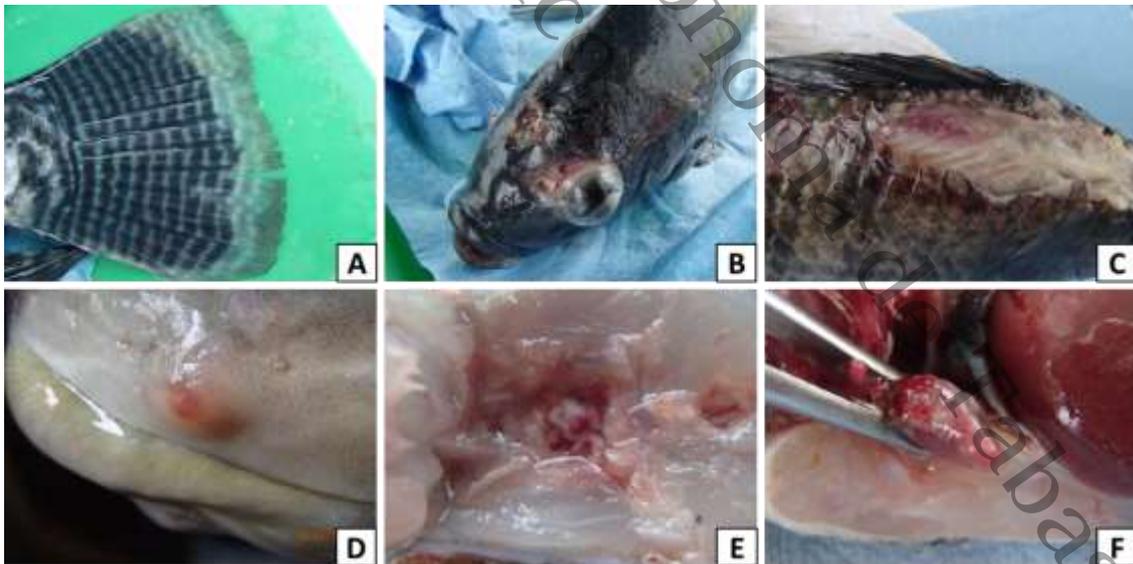


Figura 7. Alteraciones patológicas macroscópicas observadas durante la necropsia en: Piel, músculo, aletas, cerebro, corazón.

A. Necrosis en aletas, B. Dermatitis hemorragia necrótica, C. Lesión necrótica erosiva en músculo, D. Presencia de pústulas en la región del maxilar inferior, E. Meningitis con presencia de exudado fibrinoso, F. Pericarditis fibrinosa.

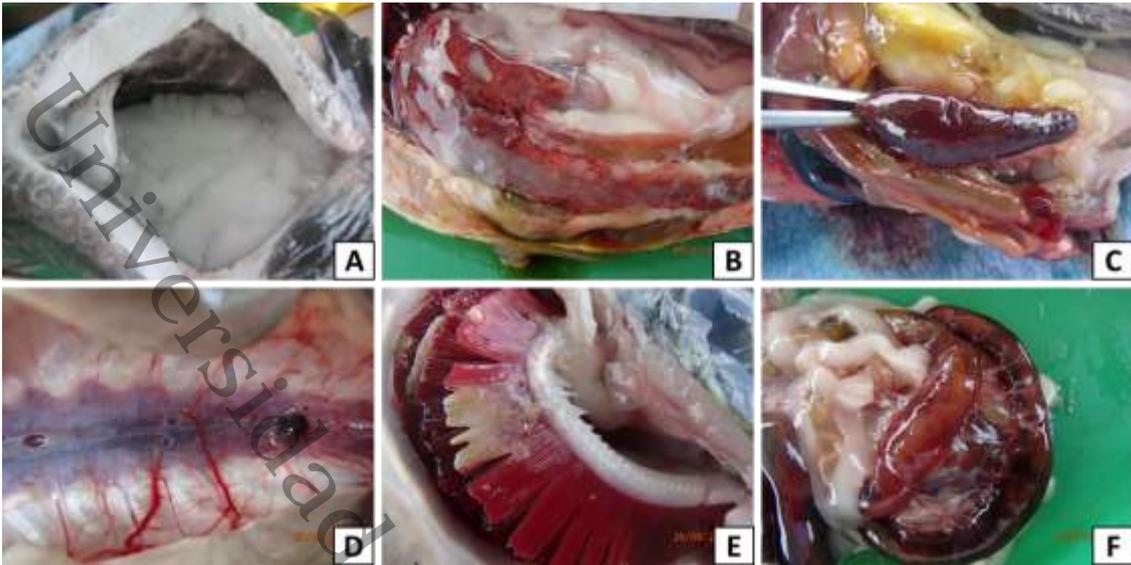


Figura 8. Alteraciones patológicas macroscópicas observadas durante la necropsia en: Hígado, bazo, riñón, branquias, estomago/intestino.

A. Acumulación de líquidos en cavidad celómica, B. Hígado aumentado de tamaño y con acumulación de grasa y congestionado, C. Bazo aumentado de tamaño y de consistencia friable, D. Riñón aumentado de tamaño, E. Branquias con presencia de exudado fibrinoso y necrosis, F. Intestinos con acumulación de líquido sanguinolento.

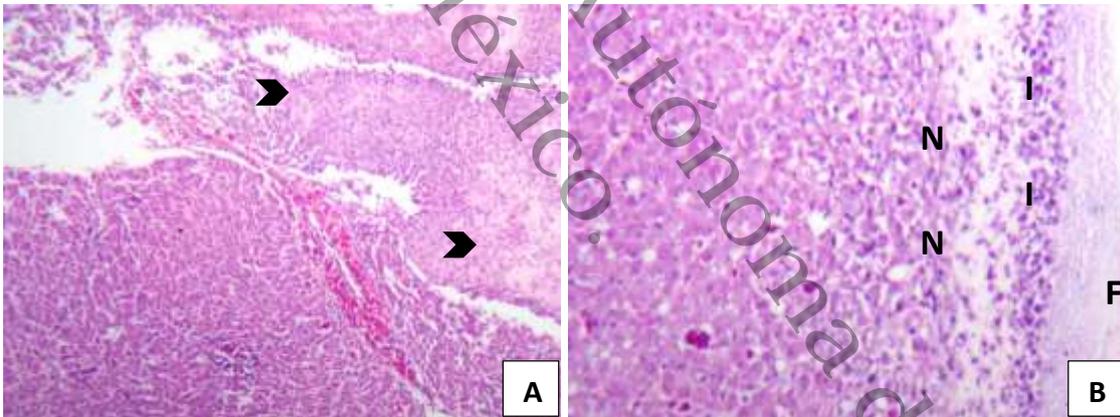


Figura 9. Cortes histológicos relacionados a estreptococosis en su forma aguda.

A. Hígado. A. Cápsula de Glisson infiltrada por células inflamatorias compuesta por heterófilos y linfocitos, así como exudado fibrinoso (cabeza de flecha). B. Acercamiento de la cápsula donde se aprecia el infiltrado inflamatorio (I), la fibrina (F) y necrosis coagulativa perihepática (N). Tinción: hematoxilina-eosina (H-E), objetivos 4X, 10X. Estreptococosis aguda. .

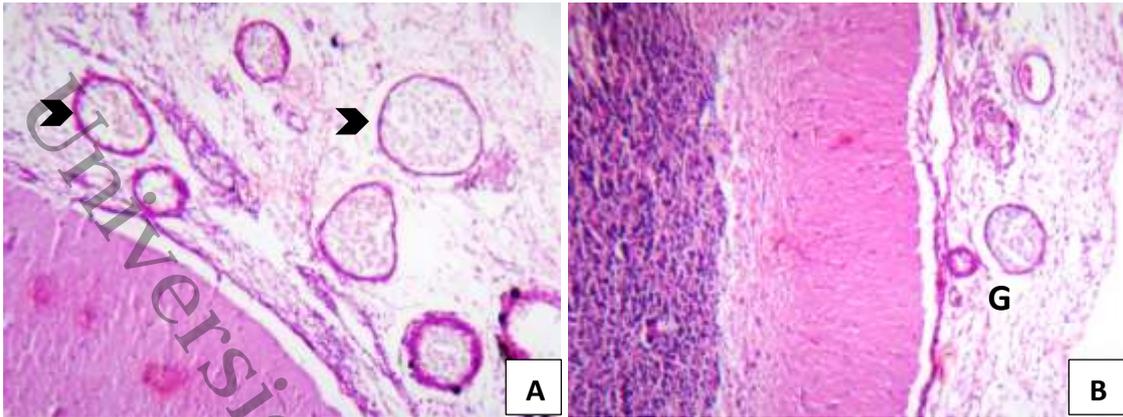


Figura 10. Cortes histológicos relacionados a estreptococosis en su forma crónica.

A. Cerebro. A. Meningitis granulomatosa multifocal severa (cabeza de flecha). B. Meningitis granulomatosa multifocal (G). Tinción: hematoxilina-eosina (H-E), objetivo 4X. Estreptococosis crónica.

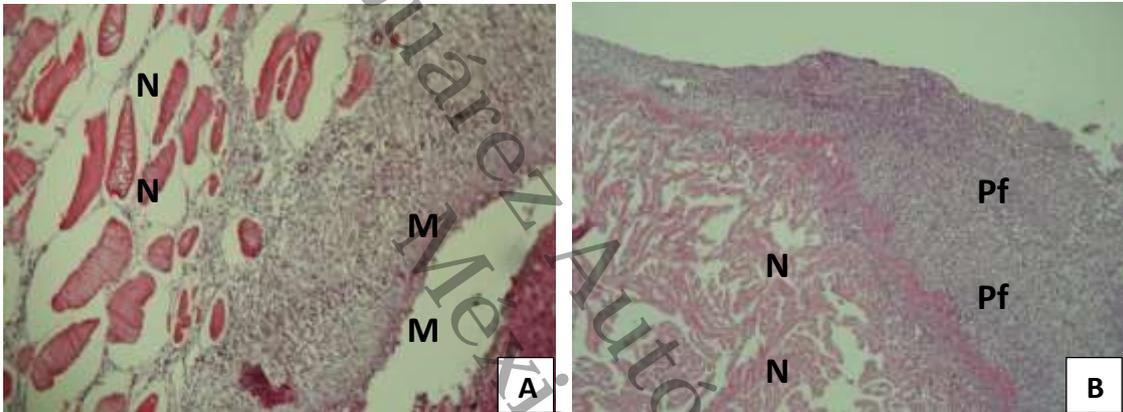


Figura 11. Cortes histológicos relacionados a una septicemia hemorrágica bacteriana.

A. Piel. Miositis fibrino-necrótica (M) con necrosis hialina (N). Tinción: hematoxilina-eosina (H-E), objetivo 4X. B. Corazón. Pericarditis fibrino-hemorrágica difusa severa (Pf) con necrosis coagulativa (N). Tinción: hematoxilina-eosina (H-E), objetivo 4X. Septicemia hemorrágica bacteriana.

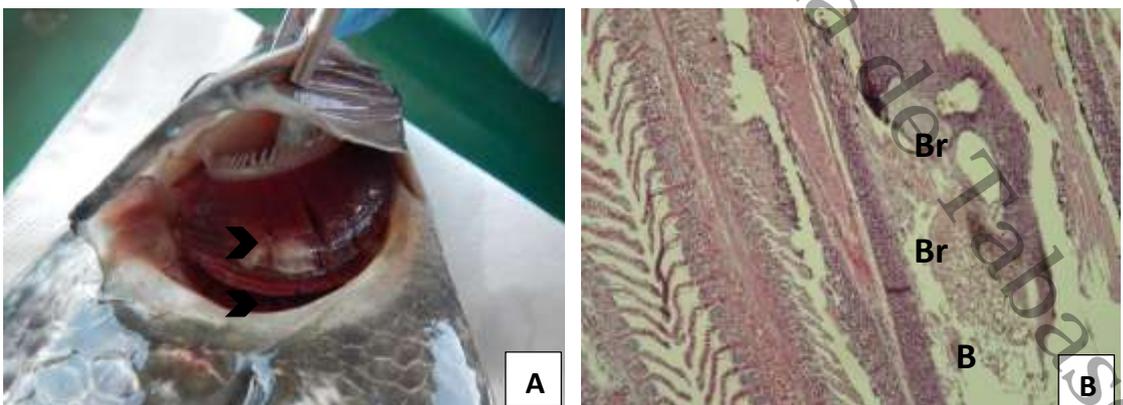


Figura 12. Lesiones macro y microscópicas características de una mixobacteriosis causada por *Flavobacterium columnare*.

A. Branquias con exudado fibrinoso y hemorragias (cabeza de flecha). B. Branquitis hemorrágica difusa severa (Br), con colonias bacterianas Gram negativas (B). Tinción: hematoxilina-eosina (H-E), objetivo 4X. Columnaris.

# Principales patologías bacterianas observadas en tilapias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas intensivamente en el municipio de Ostuacan, Chiapas, México.

INFORME DE ORIGINALIDAD

# 16%

ÍNDICE DE SIMILITUD

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://www.fao.org">www.fao.org</a> Internet	373 palabras — 3%
2	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Internet	233 palabras — 2%
3	<a href="http://ri.ujat.mx">ri.ujat.mx</a> Internet	206 palabras — 2%
4	<a href="http://acuicultura.org.ar">acuicultura.org.ar</a> Internet	153 palabras — 1%
5	<a href="http://www.diputados.gob.mx">www.diputados.gob.mx</a> Internet	111 palabras — 1%
6	<a href="http://digibuo.uniovi.es">digibuo.uniovi.es</a> Internet	109 palabras — 1%
7	<a href="http://www.scribd.com">www.scribd.com</a> Internet	66 palabras — 1%
8	<a href="http://repositorioinstitucional.uabc.mx">repositorioinstitucional.uabc.mx</a> Internet	63 palabras — 1%
9	<a href="http://repositorio.unicach.mx">repositorio.unicach.mx</a> Internet	61 palabras — < 1%

10	<a href="http://www.redalyc.org">www.redalyc.org</a> Internet	57 palabras — < 1%
11	<a href="http://repositorio.unimagdalena.edu.co">repositorio.unimagdalena.edu.co</a> Internet	52 palabras — < 1%
12	<a href="http://cronica.diputados.gob.mx">cronica.diputados.gob.mx</a> Internet	42 palabras — < 1%
13	<a href="http://www.voaxaca.tecnm.mx">www.voaxaca.tecnm.mx</a> Internet	36 palabras — < 1%
14	<a href="http://bibliotecadigital.fvet.edu.uy">bibliotecadigital.fvet.edu.uy</a> Internet	31 palabras — < 1%
15	<a href="http://www.bdigital.unal.edu.co">www.bdigital.unal.edu.co</a> Internet	29 palabras — < 1%
16	<a href="http://1library.co">1library.co</a> Internet	27 palabras — < 1%
17	<a href="http://pt.scribd.com">pt.scribd.com</a> Internet	26 palabras — < 1%
18	<a href="http://bmcgenomics.biomedcentral.com">bmcgenomics.biomedcentral.com</a> Internet	22 palabras — < 1%
19	<a href="http://repositorio.lamolina.edu.pe">repositorio.lamolina.edu.pe</a> Internet	18 palabras — < 1%
20	<a href="http://repositorio.unsm.edu.pe">repositorio.unsm.edu.pe</a> Internet	17 palabras — < 1%
21	<a href="http://www.archivos.ujat.mx">www.archivos.ujat.mx</a> Internet	17 palabras — < 1%
22	<a href="http://oldri.ues.edu.sv">oldri.ues.edu.sv</a>	

Internet

16 palabras — < 1%

23 [s59b6fdfe9e4460e7.jimcontent.com](https://s59b6fdfe9e4460e7.jimcontent.com)

Internet

16 palabras — < 1%

24 [repositorio.ufla.br](https://repositorio.ufla.br)

Internet

12 palabras — < 1%

25 [vdocumento.com](https://vdocumento.com)

Internet

12 palabras — < 1%

26 [hdl.handle.net](https://hdl.handle.net)

Internet

11 palabras — < 1%

27 [www.youtube.com](https://www.youtube.com)

Internet

11 palabras — < 1%

28 [Jessica H Arbour, Hernán López-Fernández. "Guianacara dacrya, a new species from the rio Branco and Essequibo River drainages of the Guiana Shield \(Perciformes: Cichlidae\)", Neotropical Ichthyology, 2011](#)

Crossref

10 palabras — < 1%

29 [archivos.ujat.mx](https://archivos.ujat.mx)

Internet

10 palabras — < 1%

30 [es.mongabay.com](https://es.mongabay.com)

Internet

10 palabras — < 1%

31 [es.scribd.com](https://es.scribd.com)

Internet

10 palabras — < 1%

32 [gestion.pe](https://gestion.pe)

Internet

10 palabras — < 1%

33 [icaf.com.mx](https://icaf.com.mx)

Internet

10 palabras — < 1%

34	<a href="http://microbiologiaujap2012.blogspot.com">microbiologiaujap2012.blogspot.com</a> Internet	10 palabras — < 1%
35	<a href="http://patents.google.com">patents.google.com</a> Internet	10 palabras — < 1%
36	<a href="http://repositorio.unicauca.edu.co:8080">repositorio.unicauca.edu.co:8080</a> Internet	10 palabras — < 1%
37	<a href="http://ricaxcan.uaz.edu.mx">ricaxcan.uaz.edu.mx</a> Internet	10 palabras — < 1%
38	<a href="http://tesis.ipn.mx">tesis.ipn.mx</a> Internet	10 palabras — < 1%
39	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Internet	10 palabras — < 1%
40	<a href="http://www.salmonexpert.cl">www.salmonexpert.cl</a> Internet	10 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 10 PALABRAS