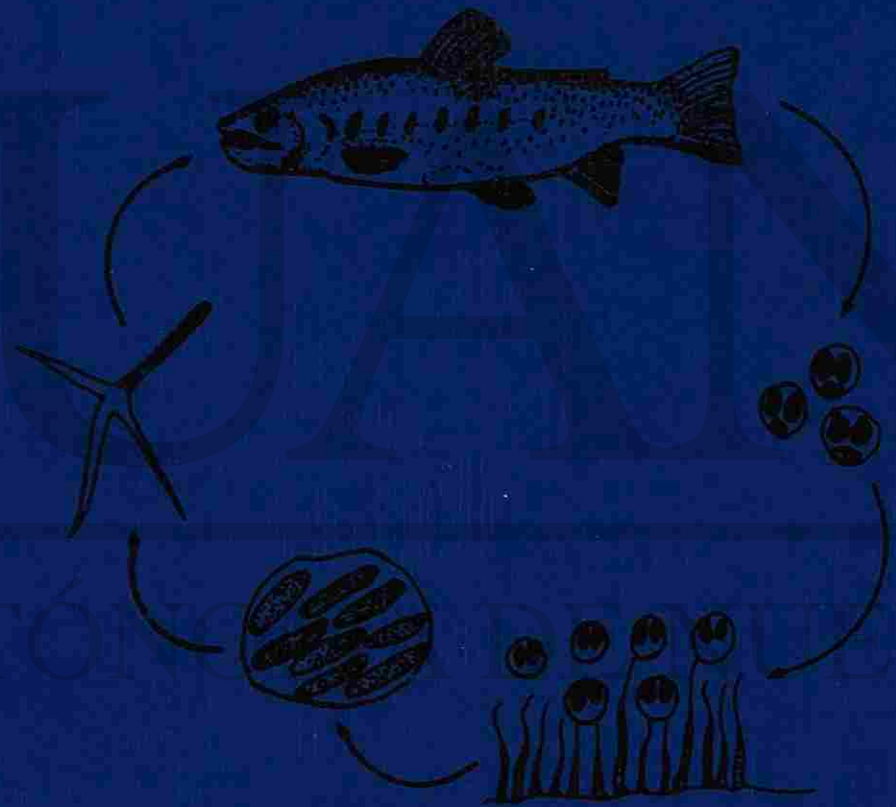




PARASITOS Y ENFERMEDADES DE LA TRUCHA



PUBLICACION TECNICA No. 4

1992

SH17
.T86
P3



9

ACUACULTURA

CALIDAD GENETICA

CALIDAD DEL MEDIO

AMBIENTE

ALIMENTACION

ENFERMEDADES
NUTRICIONALES

ALERE FLAMMAM
VERITATIS

ENFERMEDADES
INFECIOSAS

M A N E J O

LOS CUATRO PILARES DE LA SANIDAD ACUICOLA
SUSTENTO DE LA ACUACULTURA

JANIL

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



DON-

CAPILLA ALFONSO

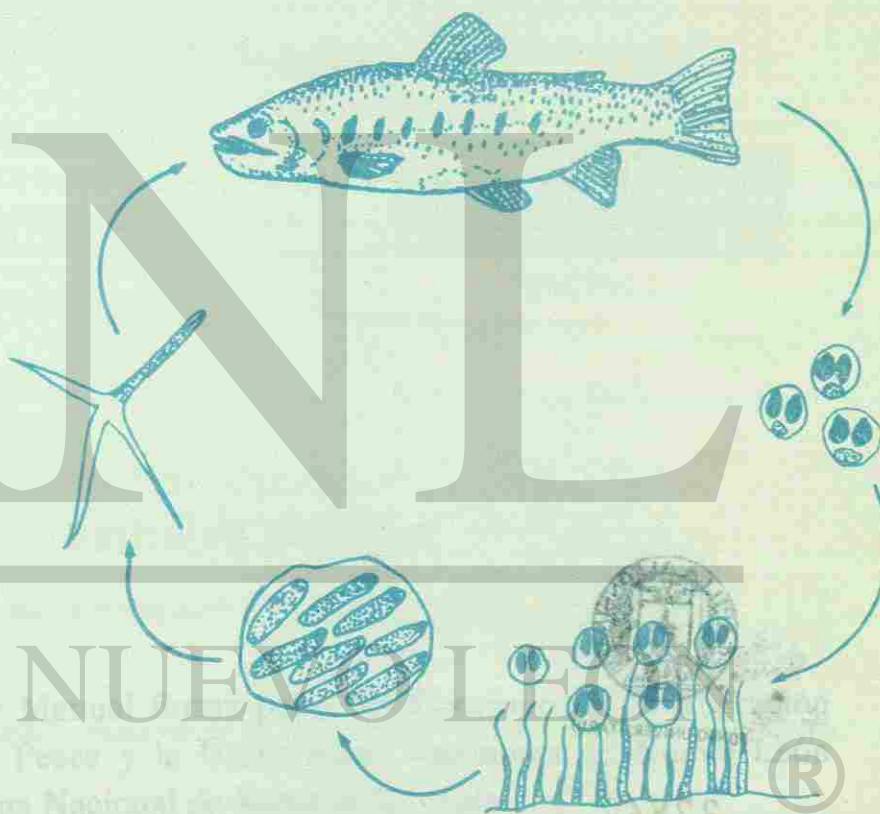


PUBLICACIONES TECNICAS



EDITOR:
FERNANDO JIMENEZ GUZMAN

PARASITOS Y ENFERMEDADES DE LA TRUCHA



PUBLICACION TECNICA No. 4

1992

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS,
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCION GENERAL DE ACUACULTURA
SECRETARIA DE PESCA

CAPILLA ALFONSINA

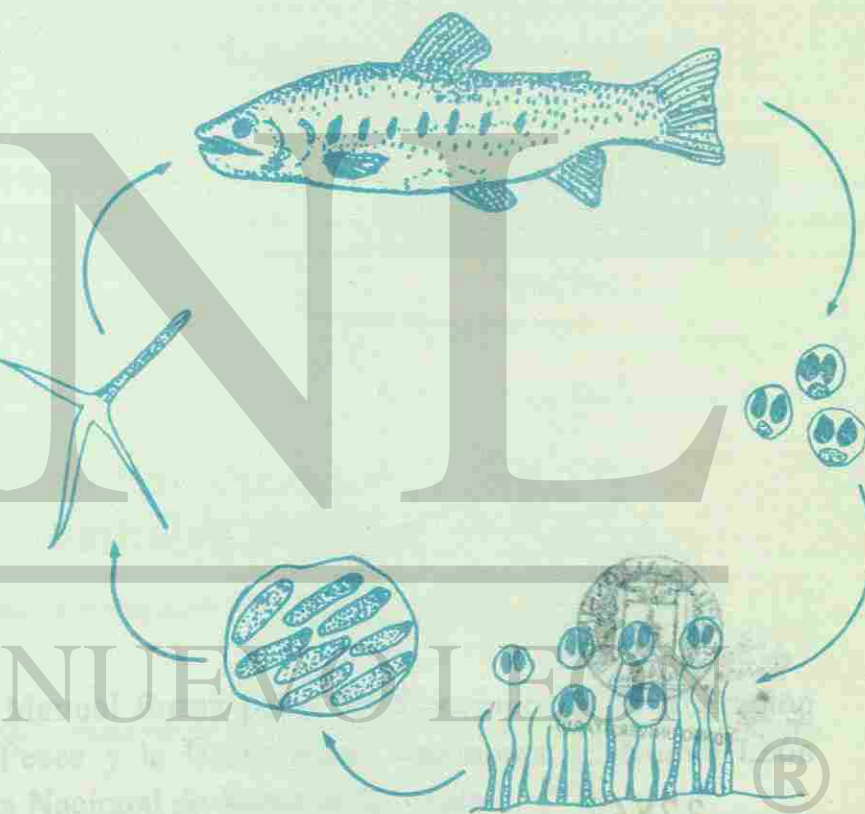


PUBLICACIONES TECNICAS



EDITOR:
FERNANDO JIMENEZ GUZMAN

PARASITOS Y ENFERMEDADES DE LA TRUCHA



PUBLICACION TECNICA No. 4

1992

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS,
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCION GENERAL DE ACUACULTURA
SECRETARIA DE PESCA

CAPILLA ALFONSINA

Derechos Reservados por los Autores
Laboratorio de Parasitología
"Dr. Eduardo Caballero y Caballero"
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León

Apartado Postal No. 22 "F"
San Nicolás de los Garza, N.L.
C.P. 66451

SH179
T 86
P 3



1020082556



FONDO UNIVERSITARIO

37842

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

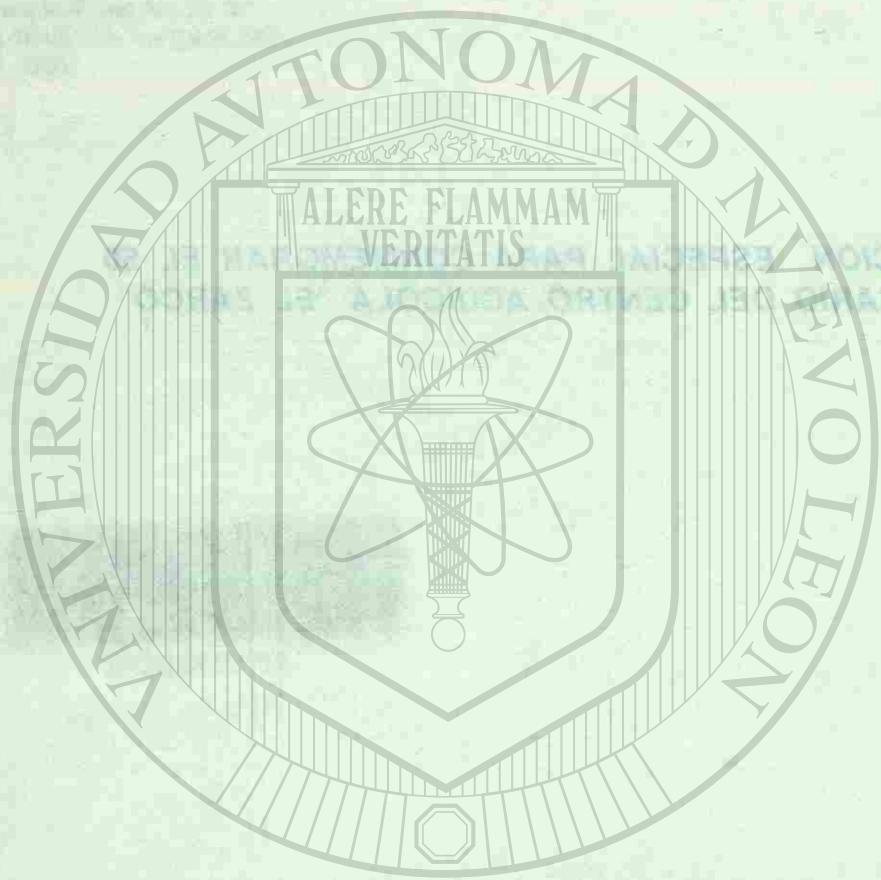
Registro en Trámite
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
San Nicolás de los Garza, N.L. México. Julio de 1992
SECRETARÍA DE PESCA

PUBLICACION ESPECIAL PARA CONMEMORAR EL 50
ANIVERSARIO DEL CENTRO ACUICOLA "EL ZARCO"

U A N L

La realización de este Manual forma parte del Convenio de Colaboración entre la Secretaría de Pesca y la Universidad Autónoma de Nuevo León como apoyo al Programa Nacional de Sanidad Acuícola.

CAPILLA ALFONCINA



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ildefonso Fernández Salas., por la revisión y las facilidades proporcionadas para la realización de esta Publicación

A la Srta. Laura Loreto Cruz, por su ayuda en la mecanografía de este trabajo.

Agradecemos especialmente a René L. Flores Garza; Francisco E. Hernández Medina; Mario A. Iturbe Cantú; Bladimir I. Ponce Martínez y Carlos G. Valdez Marroquín; Carlos García, Reyna; Ricardo Silva Salazar; Eduardo López Bravo y a la Biól. Asunción Zambrano Coronado por su entusiasta colaboración.

U A N L

DIRECTORIO

LIC. MANUEL SILOS MARTINEZ
RECTOR DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE NUEVO LEÓN

DR. REYES S. TAMEZ GUERRA
SECRETARIO GENERAL

DR. RAMON GUAJARDO QUIROGA
SECRETARIO ACADEMICO

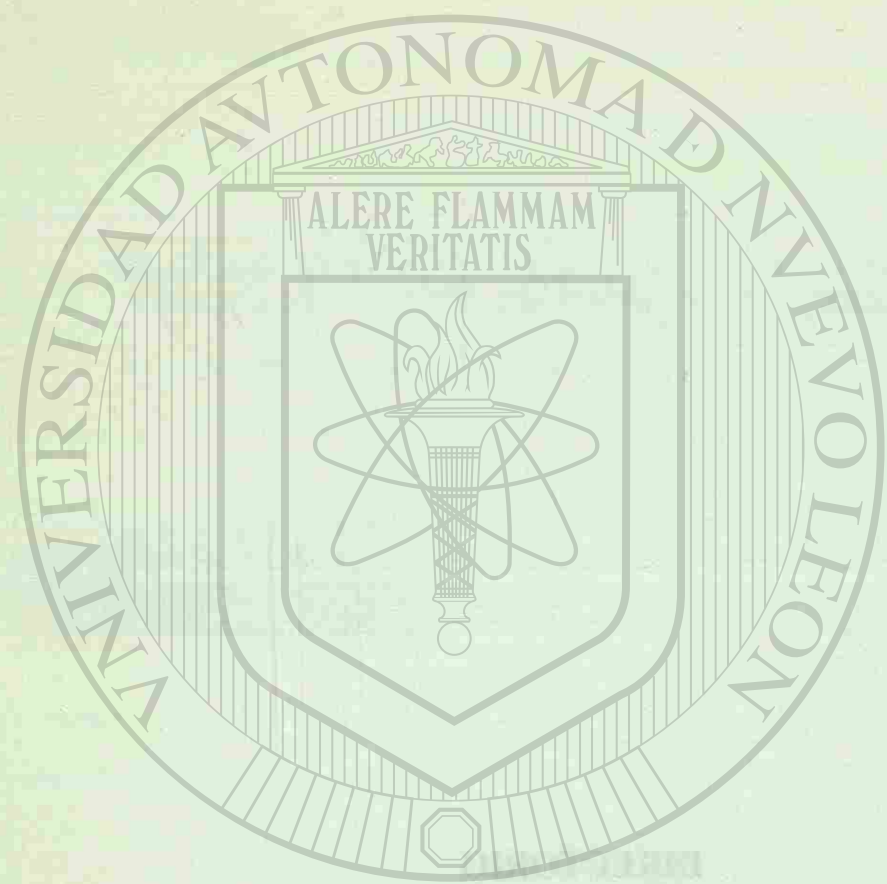
LIC. GUILLERMO JIMENEZ MORALES
SECRETARIO DE PESCA

LIC. CARLOS CAMACHO GAOS
SUBSECRETARIO DE FOMENTO Y
DESARROLLO PESQUERO

ING. JUAN JOSE MORENO SADA
COORDINADOR GENERAL DE
DELEGACIONES FEDERALES

ING. RUBEN OCAÑA SOLER
DIRECTOR GENERAL DE ACUACULTURA





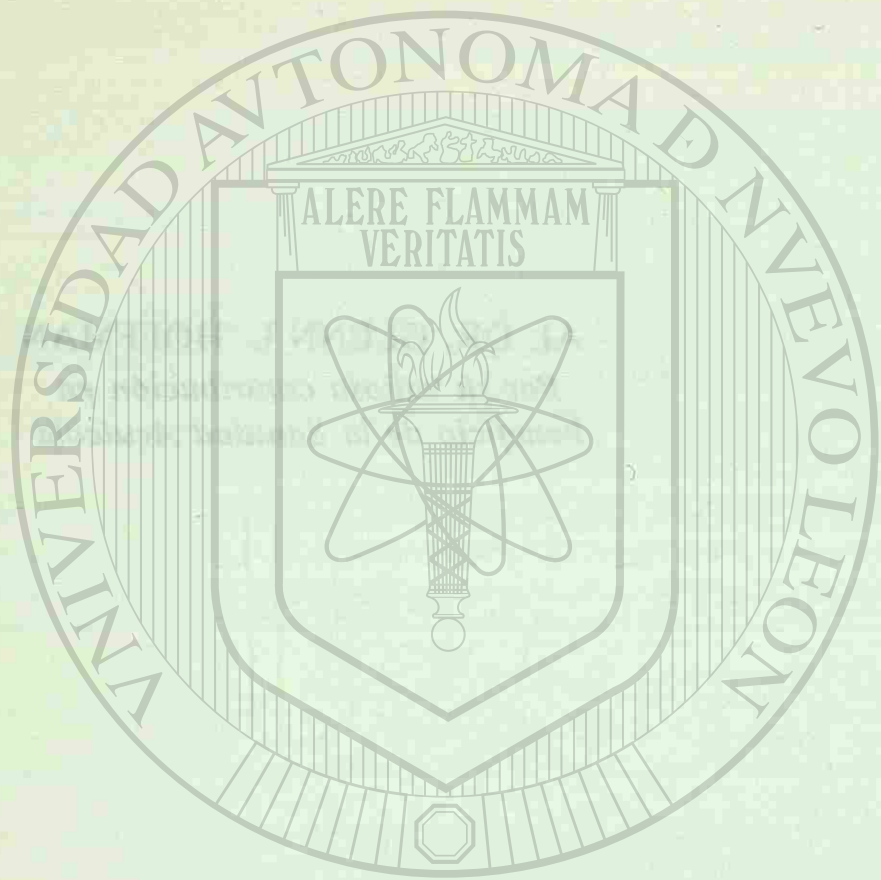
AL DR. GLENN L. HOFFMAN
*Por su valiosa contribución en
beneficio de la Sanidad Acuícola*

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ASPECTOS ETIOLÓGICOS Y PATOLÓGICOS DE LAS ENFERMEDADES DE PECES

ASPECTOS ETIOLÓGICOS Y PATOLÓGICOS DE LAS ENFERMEDADES DE PECES

CALIDAD DEL AGUA

DIAGNOSTICO DE AGENTES VIRALES

ENFERMEDADES CAUSADAS POR BACTERIAS

MICOLOGIA DE PECES

DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES PARASITARIAS

METAZOARIOS PARASITOS DE LA TRUCHA

ENFERMEDADES NUTRICIONALES

CLAVES PARA LA DETERMINACION CLINICA DE LAS ENFERMEDADES MAS COMUNES EN LA TRUCHA

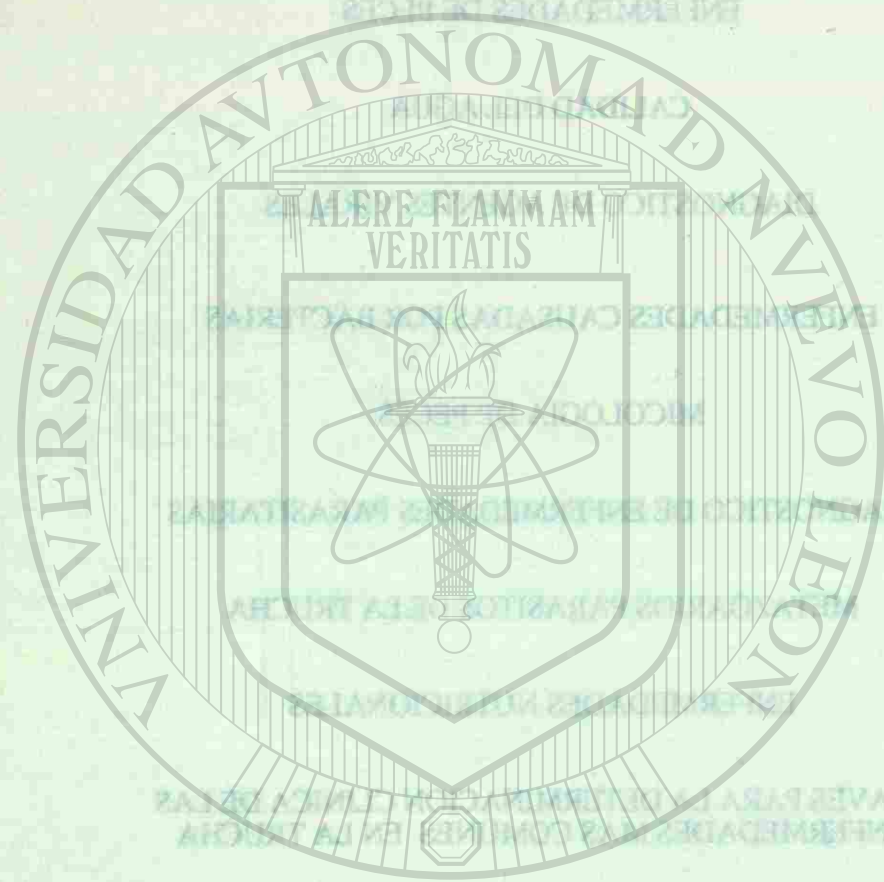
TECNICAS HISTOLOGICAS Y HEMATOLOGICAS

CONTROL DE ENFERMEDADES

PROCEDIMIENTOS GENERALES DE MUESTREOS



CAPILLA ALFONSO



ASPECTOS ETIOLÓGICOS Y PATOLÓGICOS DE LAS ENFERMEDADES DE PECES

Fernando Jiménez Guzmán, Lucio Galaviz Silva y
Feliciano Segovia Salinas
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

INTRODUCCION

Los peces en cautiverio y de vida silvestre son susceptibles a sufrir enfermedades pasando generalmente casi inadvertidas aquellas que afectan a especies silvestres. La mayoría de los conocimientos que sobre la Ictioparasitología se tienen se han logrado gracias a la experiencia que se ha tenido en especies de importancia económica.

Son muchos factores que se interrelacionan en un momento dado en favor o en contra para el establecimiento de una enfermedad, por ejemplo las condiciones del medio ambiente, temperatura, pH, concentración de sales, tensión de gases (oxígeno), etc., así como la especie de pez (raza), edad, sexo, estado de salud, manejo adecuado del hospedero (stress), especie (cepa) del parásito, etc.

Ocasionalmente el agente etiológico puede causar una sintomatología diferente en distintas especies de peces y a veces, inclusive en la misma población, dependiendo de las condiciones ecológicas (etiológicas).

Infección y Enfermedad

Estar infectado significa albergar o tener agentes de enfermedad sobre o dentro del cuerpo mientras, que estar enfermo implica albergar el agente etiológico y presentar signos clínicos de enfermedad (síntomas). Cuando el parásito ha logrado entrar al hospedero (vía boca, piel, agallas, ano, etc.) se produce un período de incubación que termina con la aparición de los primeros síntomas, este es seguido por un período padrómico, donde la enfermedad presenta signos y síntomas no característicos, la siguiente manifestación clínica es el período de estado durante el cual la enfermedad infecciosa se presenta con signos y síntomas propios de ella.

Después del período de estado le sigue el período asintomático, durante el cual se mantiene la infección sin presentar manifestaciones clínicas, con o sin lesiones causadas por el agente etiológico. En el período de remisión o convalecencia, la sintomatología con sus signos y síntomas tiende a desaparecer, pero el pez no ha curado. Durante estas tres manifestaciones el hospedero puede dispersar el agente etiológico, o bien, funcionar como portadores infectados, pero no enfermos.

Importancia del Medio Ambiente

Es bien conocido en la epidemiología que un agente infeccioso causa enfermedad al hospedero si las condiciones del medio ambiente le son propicias.

Es agua es un medio ecológico muy crítico, siendo sus características fisicoquímicas afectadas tanto por factores naturales como por el efecto nocivo de las actividades humanas (polución). El medio acuático continental y las costas son más sensibles que el medio marino. En

CAPILLA ALFONSO

consecuencia los peces dulceacuícolas en estas áreas están expuestas a un frecuente stress y si éste coincide con la presencia de un organismo patógeno, es factible la aparición de la enfermedad.

TEMPERATURA: El pez se puede ver afectado por la temperatura en su metabolismo, respuesta inmune, reproducción etc. al igual que el medio ambiente, pues la temperatura afecta la cantidad de oxígeno disuelto en el agua demanda bioquímica de oxígeno, así como la toxicidad de contaminantes y el crecimiento de patógenos de peces.

La temperatura tiene un significado importante sobre las enfermedades de peces, en lugares donde hay mucha variación en los cambios de temperatura estacionales, por ejemplo, se han observado un incremento en la mortalidad de la carpa durante la primavera (en zonas geográficas con inviernos fríos) con infecciones causadas por *Aeromonas liquefaciens*, así como otras enfermedades poco conocidas. Con una temperatura ligeramente por arriba del punto de congelación, muchas bacterias se adhieren al tejido de los peces y cuando se incrementa, éstos pueden enfermar, pues aparentemente con una baja temperatura la defensa celular y humoral no se activa, la temperatura corporal del hospedero, es baja lo que permite la multiplicación bacteriana y la aparición de enfermedades agudas.

GASES DISUELTOS EN EL AGUA: El oxígeno es esencial para la respiración, pero el nitrógeno es biológicamente inerte, ambos se disuelven en el agua e intervienen en la enfermedades de peces si se presentan en altas o bajas concentraciones. La sobresaturación del agua con oxígeno y particularmente con nitrógeno combinados con cambios de la presión atmosférica y temperatura, producen frecuentemente una embolia por gases (enfermedad de burbujas de gas) la lesión causada por estas burbujas puede ser la puerta de entrada para los agentes patógenos (bacterias, hongos).

Los cambios en la concentración de gases pueden ser provocados por medios mecánicos (turbinas, etc.) o bien por una sobrepoblación de plantas u organismos productores de oxígeno.

EUTROFICACION: En aguas con alto contenido de material orgánico hay frecuentes fluctuaciones de oxígeno disuelto y pH, siendo éste un medio propicio para numerosos patógenos, por ejemplo *Pseudomonas*, *Aeromonas* y microbacterias. La reducción del contenido de oxígeno del agua es un factor importante que permite la aparición del "stress" en los peces que viven en un medio eutrófico. En aguas oligotróficas el número de bacterias es pequeño y su distribución es más uniforme que en un eutrófico. En aguas enriquecidas con estiércol y aguas negras, las bacterias de pigmento amarillo son numerosas y se observan frecuentes ataques de columnaria.

AGUAS RESIDUALES: Es difícil definir la importancia de cada factor de stress cuando los peces se encuentran en la naturaleza. El stress es complejo y sus efectos son aditivos o sinérgicos. Las aguas residuales pueden contener residuos doméstico y numerosas sustancias químicas, por lo que se recomienda que éstas sean tratadas antes de verterlas a los ríos. En las aguas residuales tratadas el número de bacterias coliformes es muy bajo, más no las *Aeromonas*, la cual puede multiplicarse en el fango del fondo, pues crece bien a 2-20°C, a diferencia de los coliformes que se reproducen a la temperatura corporal humana. *Aeromonas* es un indicador importante y puede usarse en los monitoreos de la contaminación orgánica del agua, sin embargo, es patógeno para peces de agua dulce y vertebrados acuáticos de sangre fría (ocasionalmente para el hombre). *A. liquefaciens* (*A. punctata*, *A. hidrophila*) es la bacteria patógena más común de peces de agua dulce. La abundancia de esta bacteria en aguas habitadas por peces depende de materia orgánica, por lo que las aguas negras, el alimento de los peces y su excremento contribuyen a la multiplicación de *Aeromonas* incrementando el DBO. El efecto de la

contaminación sobre los peces marinos puede provocar exoftalmia, inflamación externa y los peces de fondo pueden mostrar epitelomas, papilomas y una acumulación de fluido en la cavidad celómica con hemorragias internas.

PESTICIDAS: Ciertos pesticidas causan un efecto patológico en el hígado, encontrándose en este órgano una cantidad mayor de bacterias, en comparación con los peces de lagos oligotróficos, por lo cual se supone que las sustancias químicas agravan el efecto del stress causado por la contaminación antropogénica, resultando una alta incidencia de infecciones en peces.

CONTAMINACION INDUSTRIAL: Algunas especies de peces son usados en ocasiones como monitoreo en pruebas cortas para determinar el grado de contaminación química aguda, el papel de las enfermedades no es importante, pues los productos (contaminantes) causan un daño grave antes de que la infección y la enfermedad puedan desarrollarse, en ensayos más prolongados, el stress causado por la sustancia a prueba incrementa la posibilidad de un ataque por algún agente patógeno de tal manera que en muchos casos estos agentes actúan como oportunistas.

METALES: Las sales de zinc, cobre y otros metales causan coagulación, precipitación de mucus y daño citológico a las agallas, la coagulación trae como resultado una reproducción en el intercambio de gases en las agallas, hipoxia de tejidos y muerte. Cuando el efecto de las sales metálicas no es suficiente para causar hipoxia fatal, la hipoxia parcial y las lesiones en agallas reducen la resistencia del pez y son la puerta de entrada para los agentes etiológicos que causan enfermedad. La contaminación por cobre y zinc, combinada con la alta temperatura del agua y su disminución en volumen incrementa grandemente la tasa de mortalidad cuando *A. liquefaciens* está presente. Los peces infectados naturalmente, por esta bacteria presentan aletas en estado de putrefacción, ulceración externa y petequias musculares.

PRODUCTOS METABOLICOS DE PECES: En sistemas cerrados como acuarios, estanques o presas el acúmulo de desechos de origen animal (excretas, etc.) son una fuente importante en la producción de amonio, de tal suerte que en las piscifactorias, si no se limpian los estanques en forma adecuada al llenar estos de agua se incrementa de demanda de oxígeno, siendo estos dos factores una limitante en la producción de peces.

SOBREPOBLACION: Las enfermedades bacterianas, por su tasa de reproducción combinado con el hacinamiento de los peces, son causa más predominante en la aparición de enfermedades como la aleta roja, enfermedades de agallas, columnaritis y septicemia (causada por *Aeromonas* en agua dulce y *Vibrio* en agua salada). Las bacterias entéricas como el *Edwardsiella* se incrementa rápidamente en cultivos de estanques.

En síntesis: las bacterias, virus y protozoarios son agentes infecciosos y al multiplicarse dentro o sobre del pez, incrementan su número lo suficiente como para causar enfermedad aunque el pez haya sido expuesto a unas pocas inicialmente. Otros parásitos (Platelmintos, Nematodos, Céstodos, Copépodos, etc.) normalmente no se multiplican en o sobre un mismo huésped y la dosis de exposición determina si ocurre solo una infección o una enfermedad.

La enfermedad puede también ser ocasionada por factores ambientales como, la falta de O₂, pH y metales pesados, temperatura productos químicos toxinas en el agua y son denominados factores etiológicos generales. El segundo factor que puede ser decisivo para la aparición de una

enfermedad son aquellos factores etiológicos nutritivos, la especie, raza, sexo y constitución del pez. Ambos tipos de factores etiológicos (generales o individuales) intervienen en favor o en contra del agente infectivo.

El estado de salud del pez depende de tres factores: el huésped (pez), el agente patógeno (bacterias, virus, parásitos) y el medio ambiente, los cuales deben presentarse en un equilibrio muy delicado y cuando el huésped y el agente patógeno se presentan al mismo tiempo y lugar (oposición) y además la enfermedad. Cuando algunos agentes patógenos son muy virulentos, aún sin estar influenciados por el medio ambiente y con una sola invaden al pez, un ejemplo es la enfermedad bacteriana de las agallas (BGD), esta bacteria habita agua y tierra y los peces están expuestos constantemente a ella, la enfermedad se produce cuando los peces se someten a stress debidos a sobrepoblación.

EFFECTOS DE LOS AGENTES ETIOLÓGICOS SOBRE EL HUESPED

Los mecanismos por los cuales los agentes infecciosos actúan sobre los peces pueden ser:

Mecánica por obstrucción: Ej. cestodo y nemátodos que habitan intestino.

Mecánica por compresión: Ej. esporas de *Myxosoma cerebralis*: larvas de nemátodos de cavidad celómica, metacercarias de *Clinostomum*, etc.

Expoliadora: Como protozoarios ecto o endocomensales.

Tóxica: Infecciones virales o bacterianas.

Traumática y perforante: Larva de *Proteocephalus ambloplitis* que migran a través de la piel, mesenterios, órganos internos y vasos sanguíneos.

Irritativa o inflamatoria: Parásitos en la superficie del cuerpo (*Trichodina*, *Ichthyophthirius*), si esto ocurre en agallas, la irritación trae como consecuencia un aumento en la producción de mucus (*Scyphidia*) y producen asfixia.

EFFECTOS DEL HUESPED SOBRE EL AGENTE ETIOLÓGICO

El pez, lo mismo que en cualquier organismo está capacitado para defenderse de todo agente extraño y conservar su integridad funcional, algunas de las barreras o mecanismos de defensa que le sirven son:

1.- Piel: constituye una barrera física contra la invasión, aunque muchos parásitos son capaces de penetrarla sin problema.

2.- Mucosa: Es la primera línea de defensa de un pez pues, a medida que los parásitos invaden la piel y las agallas producen irritación y el pez secreta más mucus eliminando la capa de mucus interior, y en su caída arrastra parásitos reduciendo la carga parasitaria.

3.- Inflamación: Las células de defensa (macrófagos, pinocitos, eosinófilos, monocitos y células endoteliales) migran el área de invasión y destruyen el agente infectante (fagocitosis).

4.- Formación de cápsulas: El parásito ya localizado es rodeado por una capa de tejido fibroso o conectivo producido por el hospedero.

5.- Inmunidad: El pez es el organismo más primitivo que posee la capacidad de respuesta inmune humoral, produciendo anticuerpos contra partículas extrañas (bacterias, virus, protozoarios, etc.).

ENFERMEDADES CAUSADAS POR PROTOZOARIOS

Los protozoarios son quizá el grupo más importante de parásitos que afectan a todos los tipos de peces en general.

ESPOROZOARIOS: Los miembros del género *Eimeria* son parásitos intracelulares, viven usualmente en el epitelio intestinal ocasionando debilidad, edema general, ascitis y exoftalmia; otros daños ocasionados son enteritis y anemia, siendo comunes las infecciones bacterianas, secundarias. El daño a gónadas indica su alta patogenicidad y su efecto adverso en la reproducción, causando también necrosis en las células de la vejiga natatoria, estos síntomas variados ocasionan altas tasas de mortalidad.

CNIDIOSPORIDIOS: La reacción de los peces al ser parasitados por myxosporidios y microsporidios en el encapsular los quistes con tejido conectivo. En los Mixosporidios se considera que las especies celozoicas no causan un daño grave, pero las formas histozoicas son dañinas y por tanto de importancia económica. Las diferentes clases de myxosporidios poseen sitios específicos, por ejemplo agallas y vejiga natatoria que son los órganos regularmente más afectados en peces dulceacuícolas mientras que la vesícula biliar y la vejiga urinaria son afectados en peces marinos.

Kudoa, *Chloromyxum* y *Unicapsula* producen necrosis y licuefacción de músculo causando ulceraciones, *Myxobolus cerebralis* causa la "enfermedad del torneo", los síntomas clínicos son: torcimiento de la espina dorsal, deformación craneal y lesiones en tejido cartilaginoso: en otros peces se observan daños al esqueleto lo cual lesiona el nervio caudal y los peces jóvenes pierden el control de la producción de pigmento y su cola adquiere un color negro. Otras afecciones son gránulos epiteloideos que ocasionan daños secundarios en centrarchidos.

Myxobolus ciproini causa anemia perniciosa y muerte cuando afecta órganos internos. *Henneguya* es una forma intralamelar que ocasiona la muerte en peces jóvenes. Las lesiones en piel son la puerta de entrada para *Aeromonas* y a otras bacterias, *Myxidium oviforme* produce abscesos en hígado.

CILIADOS: De los ciliados, el que causa más daño a la población de peces es *Ichthyophthirius multifiliis* ("Ich"), por ser un parásito obligatorio infestando rápidamente piel y agallas debido a cientos de formas juveniles llamados tomites producidos a partir de una sola célula. Produce irritación severa con exudado de mucus e hiperplasia de epitelio dando la apariencia de manchas blancas por las pústulas, donde se encuentra el parásito.

Otra infección común es la trichodiniasis que se caracteriza por secreción excesiva de mucus ("blue slim"), debilidad, hiperplasia y necrosis de epidermis. La completa destrucción de epitelio y agallas provoca la muerte: *Tripartiella* y *Glosatella* también parasitan agallas y piel oscureciendo el color normal del epitelio mientras que *Scyphidia* y *Epistilis* provocan la muerte en peces dulceacuícolas. El gran número de parásitos sobre las agallas causando

CAPILLA ALFONSO

"sofocación", otro ejemplo es *Trichophyra* que provoca epizootias esporádicas debido a la hipertrofia severa de branquias.

TREMATODOS ADULTOS: Estos se localizan frecuentemente en el intestino y más raramente en el estómago, esófago, boca, sistema urinario, bilis y sistema circulatorio. Los tremátodos reportados como patógenos son:

Sanguinicola: Se localiza en vasos sanguíneos del arco branquial, los huevecillos que producen se encapsulan en los capilares branquiales donde se transforman en miracidios perforando la pared de las agallas cuando migran ocasionan hemorragias seguidas de necrosis séptica.

METACERCARIA (LARVAS DE TREMATODOS)

Diplostomulum: frecuentemente producen la llamada "catarata ocular" y provoca protuberancias hacia el nervio óptico. Las cercarias al penetrar por ojos provocan proliferación del epitelio adyacente opacando el lente óptico causando ceguera al transformarse en metacercarias al ocupar la cámara vitrea, ocasionalmente se han reportado como parásitos que pueden llegar a deformar la cavidad cefálica de los peces.

Posthodiplostomulum: Este parásito se observa envuelto en un quiste vesicular en vísceras, el cual es una cápsula de tejido conectivo. Invaden la cavidad del cuerpo y músculo causando una marcada exoftalmosis.

***Neascus* (Larva de *Uvulifer*, *Crassiphiala* y *Posthodiplostomulum*),** causa la formación de manchas negras "black spot", debido a la migración de melanocitos en los quistes localizados en piel y músculo de peces de agua dulce.

Bucephalus: Sus quistes se localizan en boca y base de la aleta caudal provocando congestión, hemorragia y exoftalmia, la necrosis séptica de aletas, contribuye al desarrollo de los síntomas, como reacción hística. La migración de las cercarias, a través del cuerpo del pez produce necrosis en músculo o córnea y retina, provocando hemorragias internas.

CESTODOS: Los cestodos causan poco daño en intestino y ciego pilóricos de *Onchorhynchus* spp. mientras que las larvas (pleurocercoide), son capaces de causar daños serios, particularmente aquellas que al no enquistarse continúan migrando.

Proteocephalus: Causa fibrosis extensa en vísceras particularmente en gónadas de *Onchorhynchus* spp. y en ocasiones se transforma en adhesiones fibrosas.

Trianophorus: Se encapsula en músculo o en vísceras (*T. crassus* y *T. nodulosus* respectivamente) variando la sintomatología según la localización del quiste.

Ligula: Esta larva plerocercarioide es de gran tamaño por lo cual ocasiona serios daños como son la compresión de órganos abdominales, proliferación de tejido conectivo y obliteración de gónadas, ocasionalmente pueden provocar la muerte.

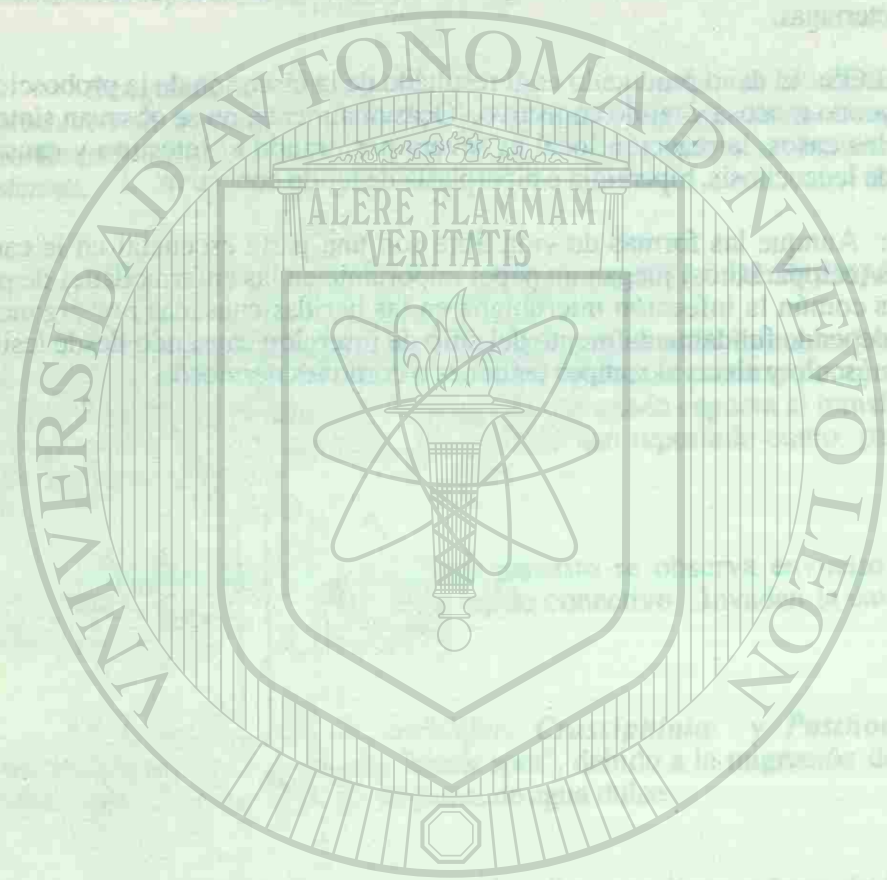
NEMATODOS: Los adultos y las larvas en vísceras producen un daño importante.

Philometra* y *Contracaecum: Se encuentran comúnmente en cavidad celómica enquistándose abajo de la cerosa o en vísceras, causando exoftalmia hasta esterilidad y muerte.

Spinitectus: Ocasiona inflamación intestinal por la ruptura de mucosa siendo la puerta de entrada a infecciones bacterianas.

ACANTOCEFALOS: El daño producido es el resultado de la inserción de la proboscide en la pared intestinal destruyendo mucosa y tejido conectivo. Ocasionalmente, no se observan síntomas pero, en la mayoría de los casos, la reacción local es severa perforando el intestino y causando peritonitis acompañada de leucocitosis, hiperemia e hiperplasia de tejido conectivo.

CRUSTACEOS: Aunque las formas de vida libre son una parte esencial en la cadena alimenticia, los parásitos (ectoparásitos) juegan un papel importante en las enfermedades de peces causando linfocitosis, es común la infección microbiana en las heridas causadas por órganos de fijación. El pronóstico depende fundamentalmente del sitio de inserción causando desde lesiones leves hasta parálisis de músculo y aletas al romper tendones o cordones nerviosos.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CALIDAD DEL AGUA

Ma. Hilda Garza Fernández, Ma. Teresa Correa Lettieri y
Eduardo López Bravo
Facultad de Ciencias Biológicas, U. A. N.L.

La calidad del agua es uno de los factores más importantes en la salud de los peces; ejerce una acción decisiva sobre los efectos desarrollados por productos tóxicos. En el agua se encuentran suspendidos o disueltos una gran variedad de compuestos, ya sean naturales o productos de degradación biológica.

Las frecuentes variaciones que ocurren en el ecosistema inducen a cambios importantes en la fisiología de los peces, lo que hace que éstos sean más susceptibles a las diferentes enfermedades.

La dureza del agua depende principalmente de la concentración de iones calcio y magnesio disueltos en ella. Estos a su vez, pueden asociarse con otras sustancias y convertirlas en letales para ciertas especies de peces. Si el agua es demasiado blanda, puede agregarse cal, con lo que además de incrementarse la dureza, se controlará el pH y la alcalinidad del agua. Sin embargo, es importante mencionar que la trucha requiere que el agua no sea demasiado dura.

Entre los gases de la atmósfera que se disuelven en el agua, el oxígeno es el que juega el papel más importante en la sobrevivencia de los peces. El oxígeno disuelto en el agua está relacionado directamente con la presión atmosférica e inversamente con la temperatura del agua. Al aumentar la primera, hace que se incremente el contenido de oxígeno disuelto; sin embargo, si se eleva la temperatura, la solubilidad del oxígeno disminuye.

Cada especie de pez tiene una concentración mínima de oxígeno disuelto en el agua para sobrevivir; sin embargo, dicha concentración siempre estará relacionada con diversos factores, tales como, temperatura, edad y condiciones del tejido por donde habrá de difundirse el oxígeno.

En algunas ocasiones, la concentración de oxígeno disuelto en el agua disminuye con rapidez debido a la presencia de plantas o tejidos animales que absorben el oxígeno presente llevándolo a concentraciones muy por debajo de la mínima necesaria para la sobrevivencia de los peces, lo que hace que éstos presenten signos de asfixia y muchas veces pueden presentarse intoxicaciones por la presencia de ácido carbónico al aumentar la cantidad de CO_2 en la sangre del pez.

La trucha requiere un mínimo de oxígeno disuelto de 5 mg/l. Si existen fluctuaciones severas en la concentración de oxígeno se puede frenar el crecimiento del pez y si la concentración de dicho gas se mantiene por tiempo prolongado por debajo de la concentración mínima se pueden presentar malformaciones en el pez.

En los peces, la asfixia se manifiesta por la separación de los opérculos branquiales, así como la apertura de la boca y palidez en las branquias. Además, es visible que la respiración del pez se torna más rápida, por ejemplo, una trucha realiza aproximadamente 70 movimientos respiratorios por minuto cuando el contenido de oxígeno es de 10.8 mg / l; sin embargo, la frecuencia aumenta al doble cuando el contenido de oxígeno disminuye a la cuarta parte del inicial.

CAPILLA ALEJANDRINA

Para conocer el oxígeno disuelto en el agua se recurre a pruebas de laboratorio, tales como, **Demanda Química y Bioquímica de oxígeno (DQO Y DBO)**. La primera mide la cantidad de materia orgánica presente en el agua que es susceptible a oxidarse por la acción de un oxidante químico fuerte como lo es el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$). La segunda, determina la cantidad de materia orgánica susceptible a oxidarse por la acción de microorganismos después de ser sometida a incubación a $20^\circ C$ durante 5 días.

La saturación de oxígeno en el agua es variable de acuerdo a la altitud, así cuando se está al nivel del mar la saturación a $20^\circ C$ es de 9.2 mg/l, a 1000' es de 8.9 mg / l, a 2000' es de 8.6 mg / l, a 3000' es de 8.2 mg / l, a 4000' es de 7.9 mg / l, a 5000' es de 7.6 mg / l y a 6000' es de 7.4 mg / l.

La temperatura desempeña un papel muy importante en la sobrevivencia de los peces, ya que al aumentar ésta, se incrementan todos los procesos químicos, alterando otros parámetros importantes tales como la solubilidad de los gases (oxígeno, nitrógeno, CO_2 , etc.) la cual disminuye al aumentar la temperatura, mientras que la solubilidad de compuestos tóxicos se incrementa.

La acción de la temperatura sobre los peces se puede entender mediante los siguientes conceptos:

Temperatura óptima es el rango de temperatura en la cual se mantiene el pez normalmente.
Temperatura opcional es en la que se mantiene el pez en ese momento.
Temperatura de intranquilidad es en la que el pez aparece inquieto y con anorexia.
Temperatura evitable es la que eluden los peces.
Temperatura letal cuando las alteraciones son irreversibles.

La primera y la última son las que más se manejan en la práctica.

Es importante mencionar que los peces pueden adaptarse a ciertas temperaturas, siempre y cuando esto se haga paulatinamente y se tomen en cuenta las diversas etapas de desarrollo del pez.

Los huevos de la trucha, dependiendo de la especie, pueden desarrollarse normalmente entre 11.5 y $15.5^\circ C$. Las crías de trucha " arco iris " se desarrollan óptimamente entre 12 y $15^\circ C$. Así mismo, en truchas adultas, la temperatura influye en el apetito para ingerir su alimento y esto lo hacen mejor entre 12 y $20^\circ C$, ya que si la temperatura sobrepasa los $20^\circ C$ la ingesta del alimento será más lenta.

Por otro lado, el efecto de la temperatura se ve reflejado en la incidencia de enfermedades bacterianas y parasitarias de los peces. Por ejemplo, se informa que la septicemia hemorrágica viral de la trucha se incrementa cuando la temperatura es inferior a $14^\circ C$; así mismo, si ésta se encuentra entre $20 - 25^\circ C$ puede fácilmente desarrollarse *Ichthyophthirius multifiliis* y a $24 - 28^\circ C$ *Dactylogyrus vastator*. Es importante mencionar, que cualquier cambio en los parámetros del agua hace que disminuya la tolerancia térmica. Además, es importante valorar las variaciones de temperatura durante las diferentes épocas del año, tratando que la variación no sea mayor o menor a $3^\circ C$.

La turbidez en el agua impide la visión de los peces tales como la trucha para hallar su alimento cuando se dirigen a él con la vista. Además, las partículas suspendidas en el agua pueden causar obstrucción en las branquias y por consecuencia dificultad para respirar. Concentraciones entre $25-80$ mg/l de sólidos en suspensión son perjudiciales para los peces.

Se ha comprobado que si se mantiene a la trucha por tiempo prolongado en agua con $100-200$ mg/l de caolín, sufre daños severos y concentraciones mayores a 270 mg/l le causan la muerte.

La contaminación de los cuerpos de agua por metales pesados ha adquirido considerable atención dado que dichos efluentes son utilizados por diversos centros acuícolas para el cultivo de peces.

Concentraciones elevadas de metales pesados tales como plomo, mercurio, cadmio, etc., pueden tener un efecto significativo sobre el ecosistema acuático y particularmente para el hombre, ya que el pescado forma parte de su dieta. Algunos metales son importantes en la función fisiológica normal del cuerpo.

El origen de la contaminación de los cuerpos de agua por metales pesados generalmente se acredita a la industria que tira sus desechos a los ríos, impactando directamente en la sobrevivencia de los peces.

Los metales pesados tales como el hierro, zinc y cobre son letales para la trucha cuando sus concentraciones son mayores a 1.0 , 0.04 y 0.006 ppm respectivamente cuando se encuentran en aguas suaves.

Los aceites y las grasas son productos procedentes de aguas residuales, aceites lubricantes y productos del petróleo. Estos compuestos al adherirse a las branquias dificultan la respiración de los peces y por lo tanto, son considerados como letales cuando están presentes en concentraciones elevadas.

En estanques cerrados, la acumulación de amonio libre y amonio ionizado procedentes de las mismas excretas de los peces ocasiona daños severos en la trucha; así mismo, rangos de nitritos superiores a 0.55 mg/l resulta tóxico para estos salmónidos.

CRITERIOS ECOLOGICOS DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA ACUACULTURA

NIVELES MAXIMOS EN mg/l EXCEPTO CUANDO SE INDIQUE OTRA UNIDAD
ESPECIE

| PARAMETROS | UNIDADES | | | | |
|---------------------|------------------|------------|---------|---------|--------|
| | TRUCHA | CARPA | BAGRE | TILAPIA | |
| COLOR | VERDE | AZUL VERDE | | | |
| TRANSPARENCIA | 45 | 30-50 | 45 | 45 | |
| TURBIEDAD | UNIDADES JACKSON | | | 100 | |
| TEMPERATURA | °C | 20-30 | 20-30 | 24-30 | |
| pH | 6.5-8.0 | 7.0-8.5 | 6.5-8.0 | 7.0-8.0 | |
| SOLIDOS SUSPENDIDOS | mg/l | | 25-70 | | |
| SOLIDOS DISUELTOS | mg/l | 400 | | | |
| OXIGENO DISUELTO | mg/l | 7.8 | 5.0 | 4.0 | 2.1 |
| SALINIDAD | mg/l | | 15 | | |
| ALCALINIDAD | mg/l | 5.0-31.0 | 100 | 20-200 | 54-200 |
| DUREZA | mg/l | 5.0-200 | 300 | 20-150 | 50-100 |
| NITROGENO-NO2 | mg/l | 0.55 | | | |
| ALUMINIO | mg/l | | 0.2 | 0.5 | |
| ARSENICO | mg/l | | 1.0 | | |
| BARIO | mg/l | | 5.0 | 0.6 | |
| CADMIO | mg/l | | 0.05 | | |
| CROMO (HEXAVALENTE) | mg/l | | 0.5 | | |
| CROMO (TRIVALENTE) | mg/l | | 1.0 | | |
| COBRE | mg/l | 0.06 | 0.02 | 0.025 | |
| CIANURO | mg/l | | 0.025 | | |
| HIERRO | mg/l | 1.0 | 0.5 | 0.5 | |
| PLOMO | mg/l | | 0.1 | 0.1 | |

DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACION CON FECHA 13 DE DICIEMBRE DE 1989.

PROCEDIMIENTO GRAFICO PARA EL ANALISIS BACTERIOLOGICO Y FISICO QUIMICO DE AGUA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN [®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPILLA ALFONSO

CRITERIOS ECOLOGICOS DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA ACUACULTURA

NIVELES MAXIMOS EN mg/l EXCEPTO CUANDO SE INDIQUE OTRA UNIDAD
ESPECIE

| PARAMETROS | UNIDADES | | | | |
|---------------------|------------------|------------|---------|---------|--|
| | TRUCHA | CARPA | BAGRE | TILAPIA | |
| COLOR | VERDE | AZUL VERDE | | | |
| TRANSPARENCIA | 45 | 30-50 | 45 | 45 | |
| TURBIEDAD | UNIDADES JACKSON | | | 100 | |
| TEMPERATURA | 10-15 | 20-30 | 20-30 | 24-30 | |
| pH | 6.5-8.0 | 7.0-8.5 | 6.5-8.0 | 7.0-8.0 | |
| SOLIDOS SUSPENDIDOS | mg/l | | 25-70 | | |
| SOLIDOS DISUELTOS | 400 | | | | |
| OXIGENO DISUELTO | 7.8 | 5.0 | 4.0 | 2.1 | |
| SALINIDAD | mg/l | 15 | | | |
| ALCALINIDAD | 5.0-31.0 | 100 | 20-200 | 54-200 | |
| DUREZA | 5.0-200 | 300 | 20-150 | 50-100 | |
| NITROGENO-NO2 | 0.55 | | | | |
| ALUMINIO | mg/l | 0.2 | 0.5 | | |
| ARSENICO | mg/l | 1.0 | | | |
| BARIO | mg/l | 5.0 | 0.6 | | |
| CADMIO | mg/l | 0.05 | | | |
| CROMO (HEXAVALENTE) | mg/l | 0.5 | | | |
| CROMO (TRIVALENTE) | mg/l | 1.0 | | | |
| COBRE | 0.06 | 0.02 | 0.025 | | |
| CIANURO | mg/l | 0.025 | | | |
| HIERRO | 1.0 | 0.5 | 0.5 | | |
| PLOMO | mg/l | 0.1 | 0.1 | | |

DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACION CON FECHA 13 DE DICIEMBRE DE 1989.

PROCEDIMIENTO GRAFICO PARA EL ANALISIS BACTERIOLOGICO Y FISICO QUIMICO DE AGUA

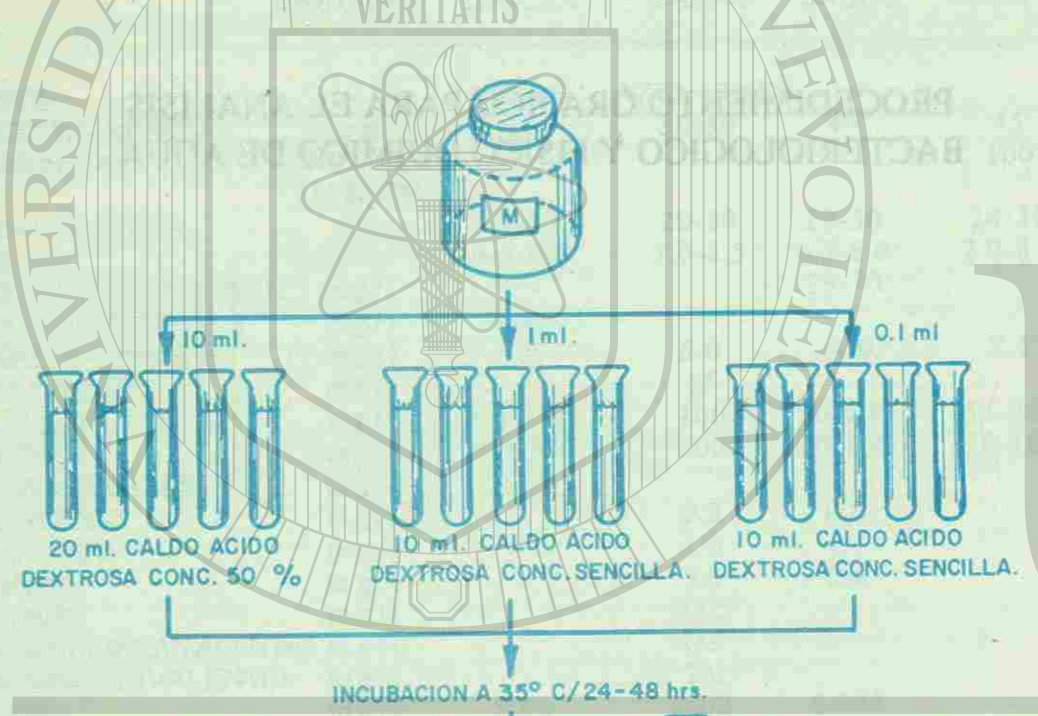
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

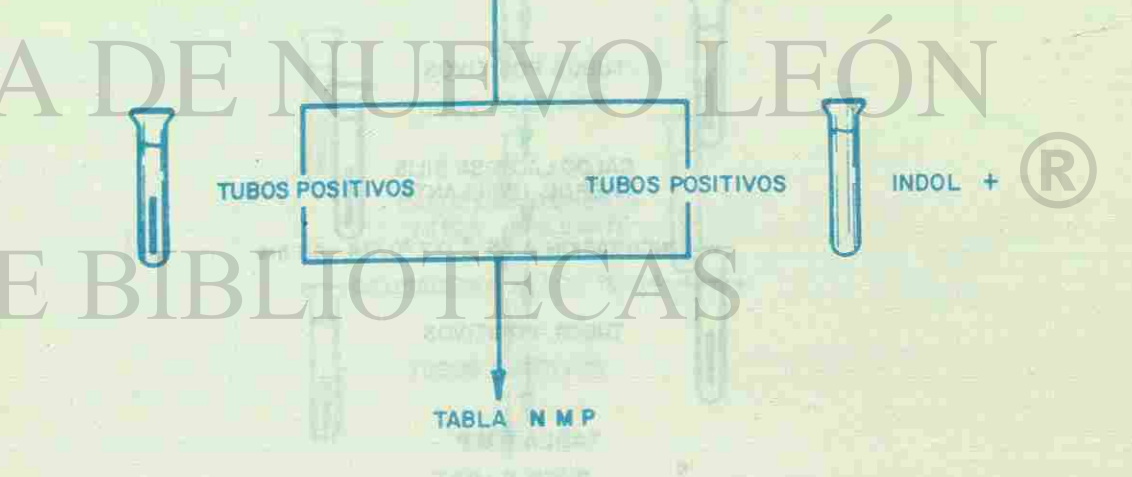


CAPILLA ALFONSO

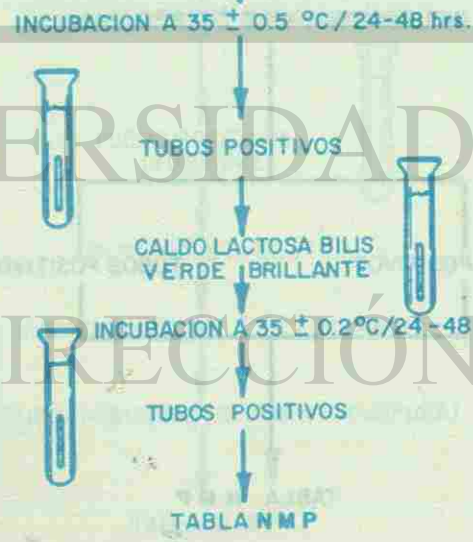
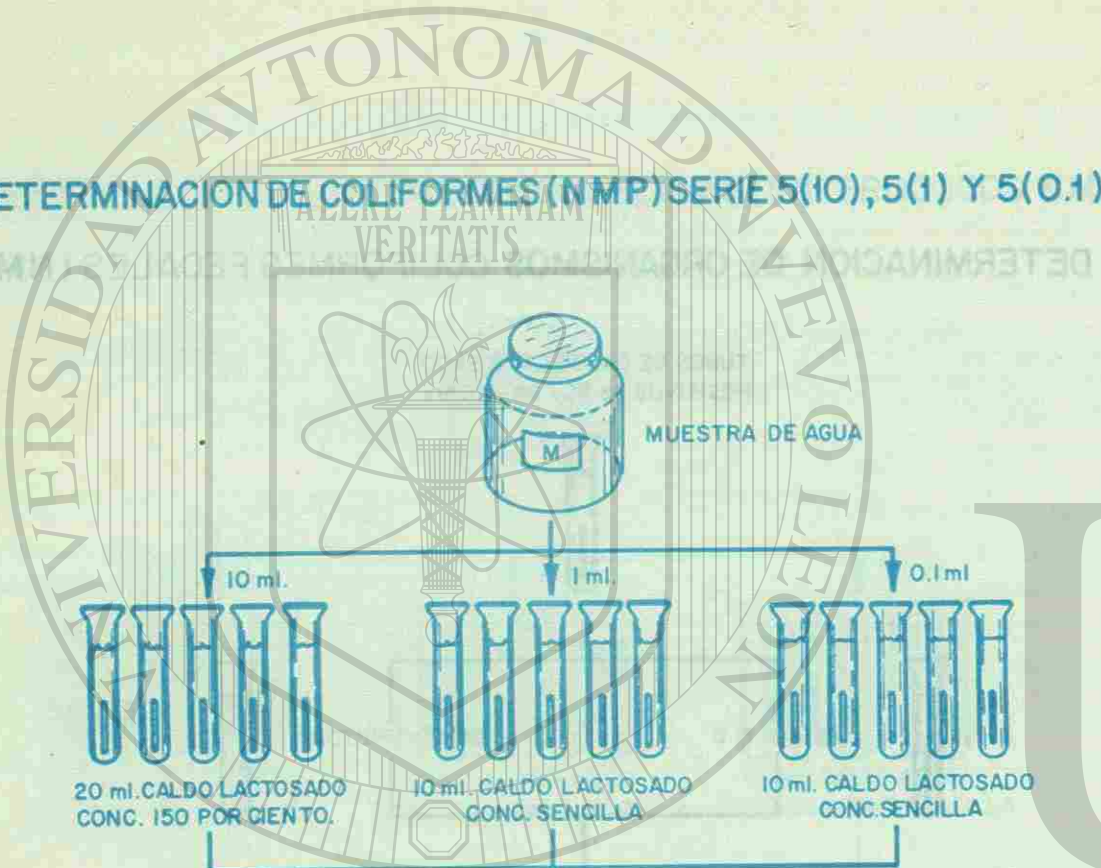
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 DETERMINACION DE ESTREPTOCOCOS FCALES (ENTEROCOCOS NMP)



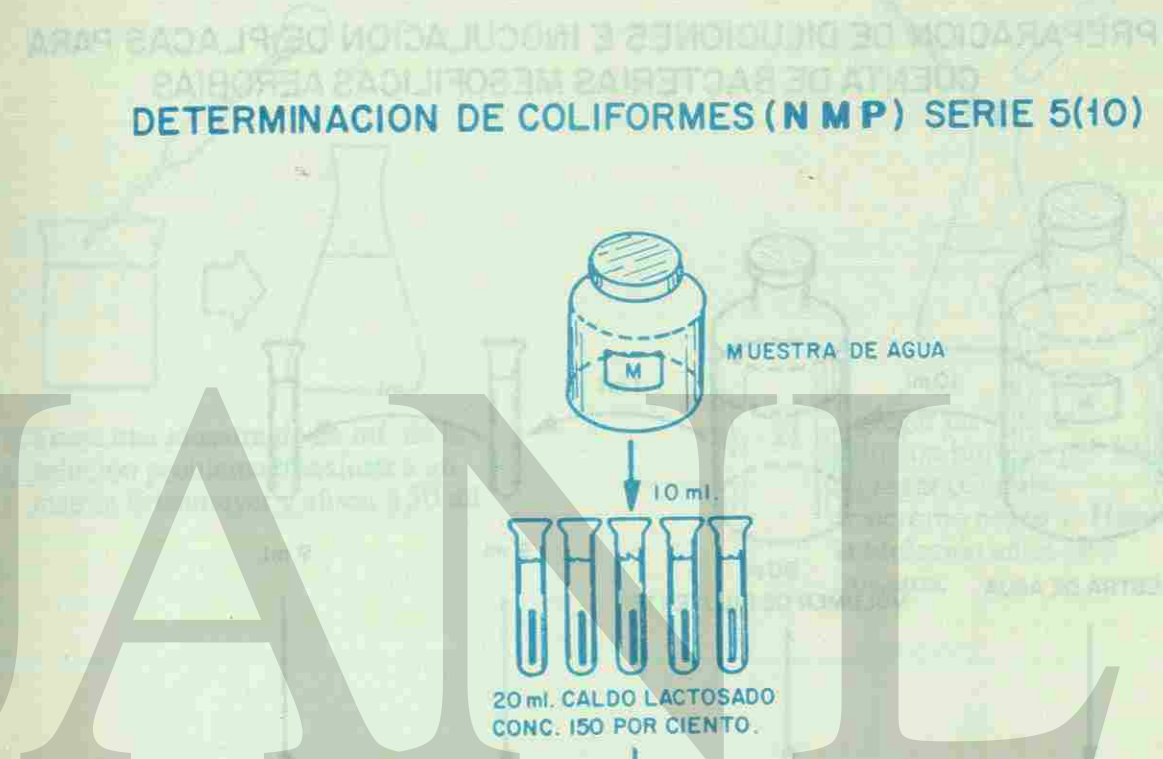
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 DETERMINACION DE COLIFORMES (NMP) SERIE S(10) Y S(0.1)
 DETERMINACION DE ORGANISMOS COLIFORMES FCALES (NMP)



DETERMINACION DE COLIFORMES (NMP) SERIE 5(10), 5(1) Y 5(0.1)



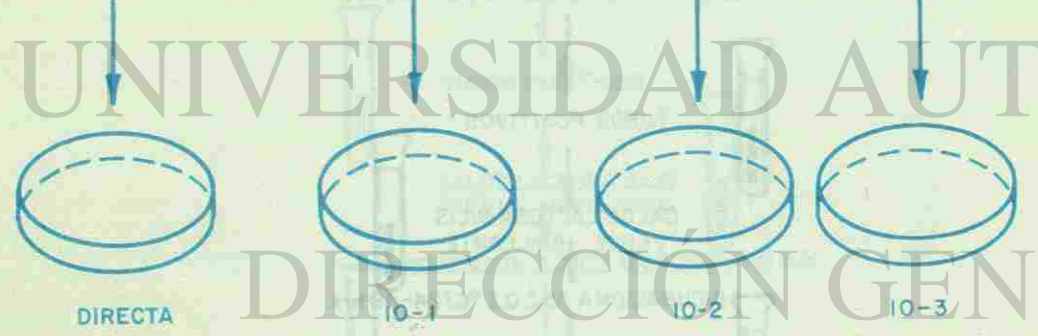
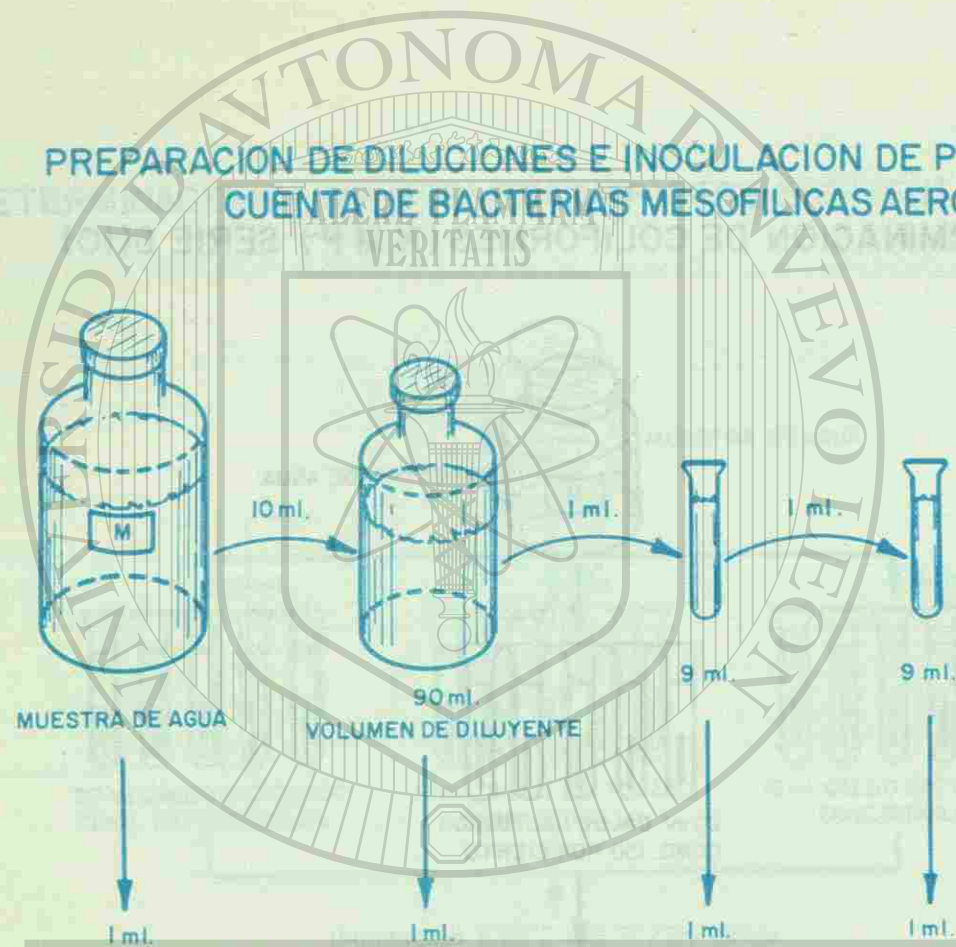
DETERMINACION DE COLIFORMES (NMP) SERIE 5(10)



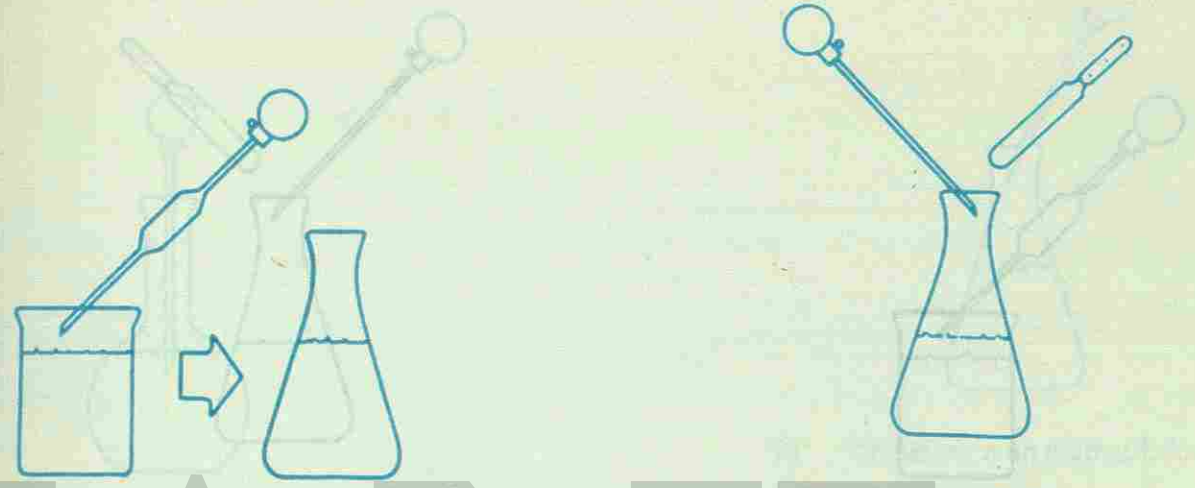
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

PREPARACION DE DILUCIONES E INOCULACION DE PLACAS PARA CUENTA DE BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS

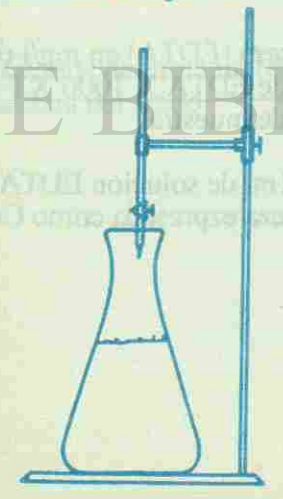


DETERMINACION DE DUREZA TOTAL



- 1) Tome una muestra de 25 mL de la solución problema transfiera a un matraz Erlenmeyer y aforar a 50 ml
- 2) Agregar un mL de solución buffer (pH 10). Agregar 0.2 g de eriocromo negro T. Hacer la titulación antes de 5 minutos.

- 3) Titular con la solución de EDTA hasta cambio de coloración de rojo vino a azul



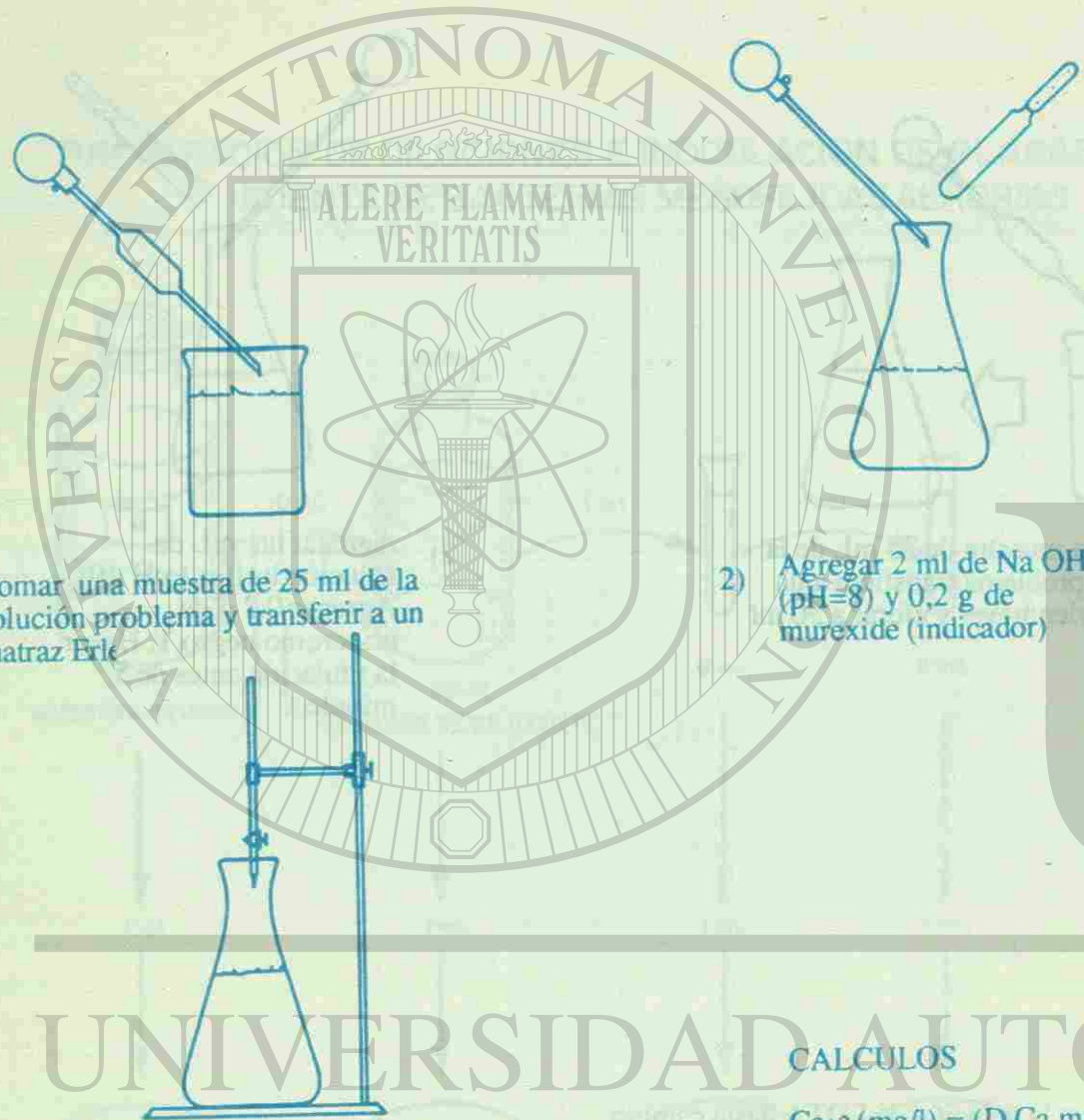
CALCULOS: R

Dureza (EDTA) en mg/l de CaCO₃
 $= \frac{\text{ml de EDTA} \times 1000 \times f}{\text{ml de muestra}}$

f = mg de CaCO₃ equivalente a 1 ml de EDTA.

Dt - DCa = DMg
 $Mg = 2 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \left(\frac{\text{DMg}}{\text{L}} \right) \times \frac{\text{mg CaCO}_3}{100}$

DETERMINACION DE DUREZA DE CALCIO



1) Tomar una muestra de 25 ml de la solución problema y transferir a un matraz Erlenmeyer

2) Agregar 2 ml de Na OH, (pH=8) y 0,2 g de murexide (indicador)

3) Titular con la solución de EDTA hasta cambio de coloración de rosa a púrpura

CALCULOS

$$\text{Ca}^{+2} (\text{mg/l}) = (D \text{ Ca mg CaCO}_3) \times \frac{40}{100}$$

$$\text{Dureza (EDTA) en mg/l de Ca CO}_3 = \frac{\text{ml de EDTA} \times 1000 \times F}{\text{ml de muestra}}$$

f= 1ml de solución EDTA=1mg de dureza expresada como CaCO₃

DETERMINACION DE ALCALINIDAD TOTAL



1) Tome una alícuota de la muestra (50ml)

2) Transferir a un matraz Erlenmeyer

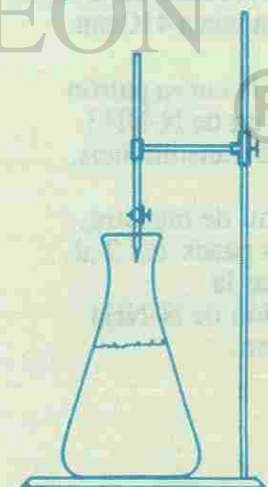
3) Agregar el indicador adecuado.

CALCULOS:

$$\text{Alc. como CaCO}_3 = \frac{A \times N \times 50,000}{\text{ml de muestra}}$$

A= ml. gastados de titulante (H₂SO₄ 0.02 N)
N= normalidad del ácido

4) Valorar la solución adicionando pequeñas porciones del titulante (H₂SO₄ 0.02 N) a la solución hasta el cambio de coloración del indicador. (rojo canela)



NITROGENO AMONIACAL (N-NH₃)

1) Verter, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 mL de solución de N-NH₃ (mL=10 ug) en tubos Nessler de 100 ml.

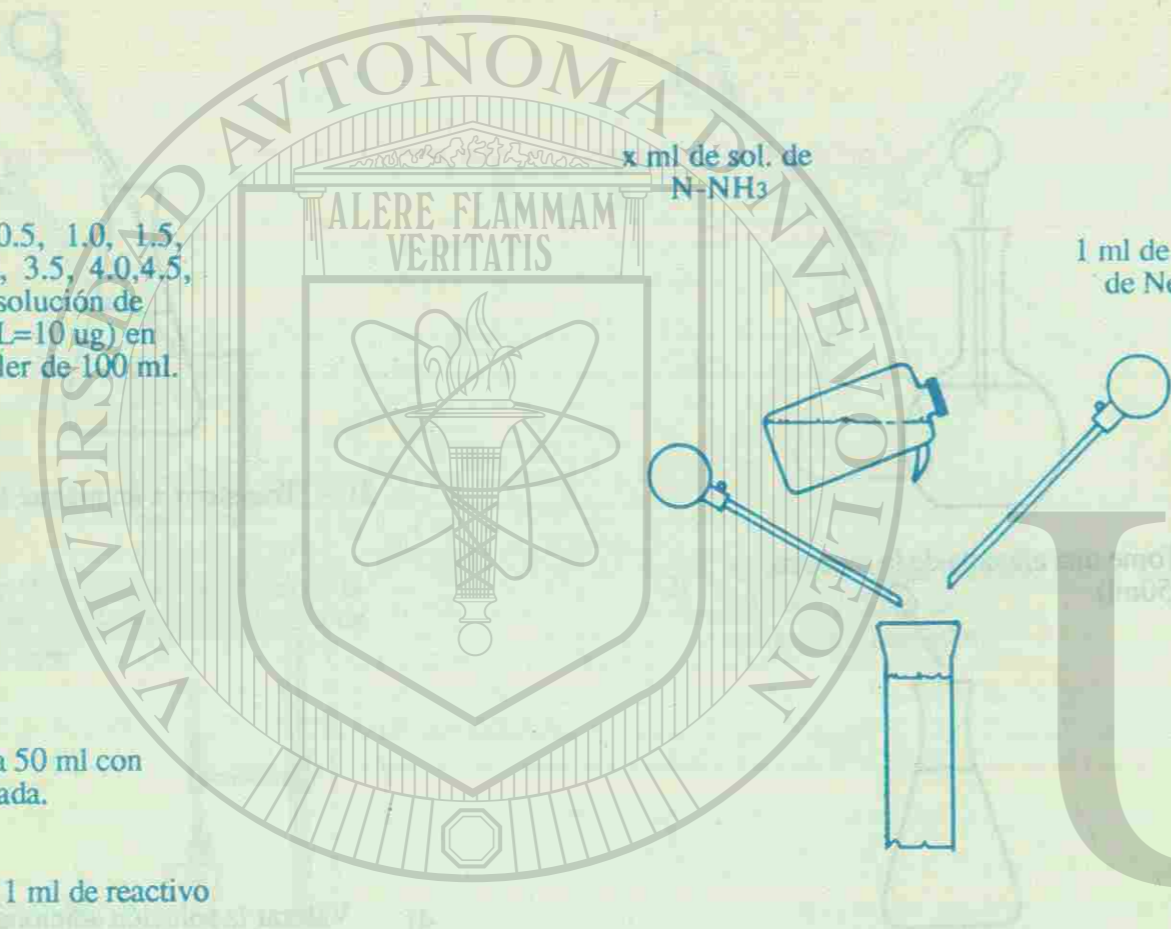
2. Aforar a 50 ml con agua destilada.

3. Agregar 1 ml de reactivo de Nessler

4. Después de 10 minutos para desarrollo de color, efectuar las lecturas de % de transmitancia a 410 nm

5. Elaborar la curva patrón graficando ug de N-NH₃ contra % de transmitancia.

6. Con 20 ml de muestra, efectuar los pasos del 2 al 4 y encontrar la concentración de N-NH₃ en la muestra.



NITROGENO NITRATOS (N-NO₃)

1) Vertir 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 mL de solución de N-NO₂ (1 mL=0.5 ug) en tubos Nessler de 50 ml*.

2) Aforar 50 mL con agua destilada.

3) Agregar 1 mL con agua destilada

4) Esperar entre 3 y 10 minutos y agregue 1 mL de clorhidrato de Naftilamina

5) Agregar 1 mL de acetato de sodio

Después de 10 minutos y antes de 30 minutos, efectuar las lecturas de % de transmitancia a 520 nm

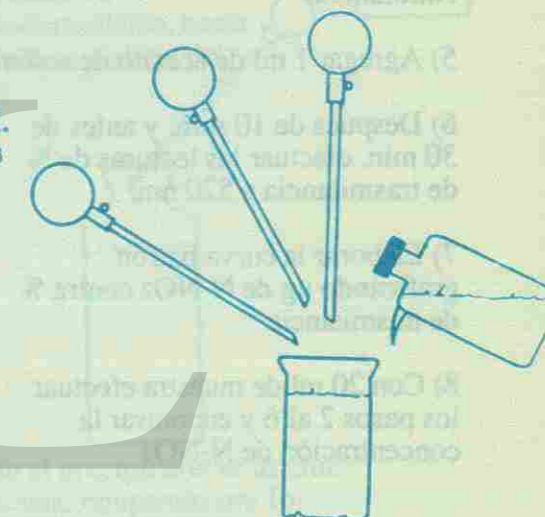
7) Elaborar la curva patrón graficando ug de N-NO₂ contra % de transmitancia.

8) Con la muestra proporcionada efectuar los pasos 2 al 6) y encontrar la concentración de N-NO₂ en la muestra. (alícuota 20 mL)

2 ml de Ac. fenildisulfónico

6 ó 7 ml de NH₄OH

x ml de sol. de N-NO₃



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

CAPILLA ALFONSO

NITROGENO NITRITOS (N-NO₂)

1) Verter 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 y 5 ml de solución de N-NO₂ (un ml = 0.5 ug) en tubos de Nessler de 50 ml.

2) Aforar a 50 ml con agua destilada

3) Agregar 1 ml de ácido sulfanílico

4) Esperar entre 3 y 10 min. y agregar 1 ml de Clorhidrato de Naftilamina

5) Agregar 1 ml de acetato de sodio

6) Después de 10 min. y antes de 30 min. efectuar las lecturas de % de trasmittancia a 520 nm.

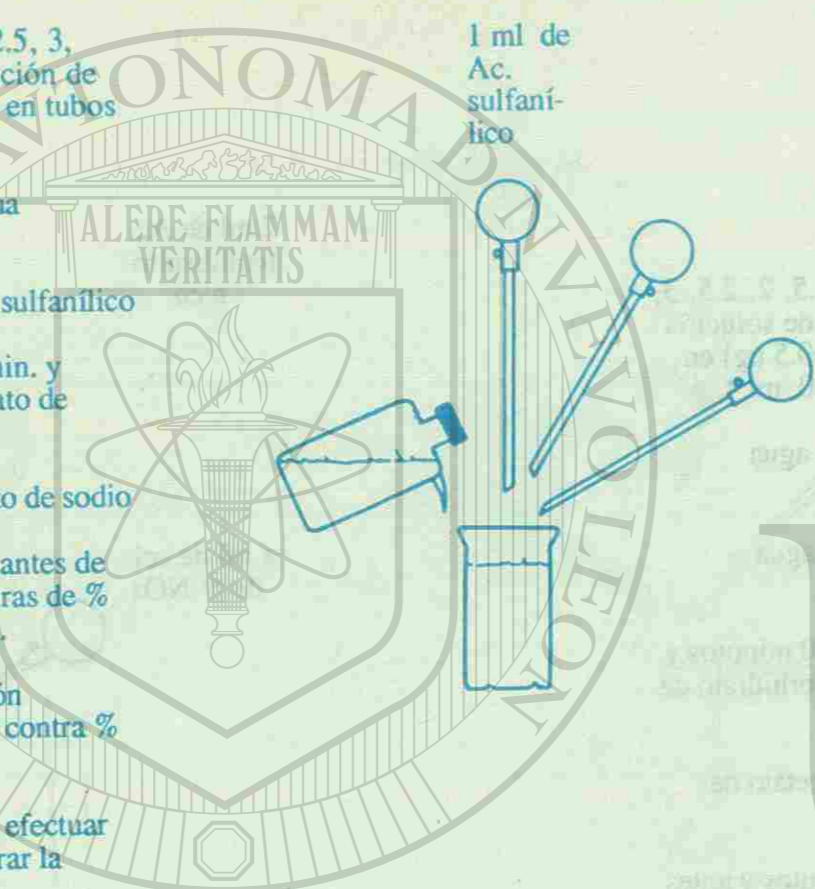
7) Elaborar la curva patrón graficando ug de N-NO₂ contra % de trasmittancia

8) Con 20 ml de muestra efectuar los pasos 2 al 6 y encontrar la concentración de N-NO₂

1 ml de Ac. sulfanílico

1 ml de clorhidrato

1 ml de acetato de sodio



DETERMINACION DE OXIGENO DISUELTO (METODO DE WINKLER)

1) Llenar hasta el cuello la botella de oxígeno disuelto con la muestra, remover burbujas de aire.

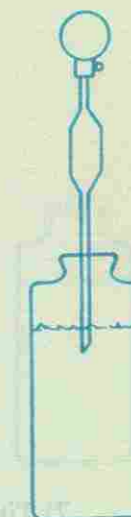
2) Agregar 2 ml de solución de sulfato de manganeso y 2 ml de reactivo álcali-yoduro-alzida, hasta abajo de la superficie del líquido.

3) Tapar con cuidado, evitando la formación de burbujas de aire y mezclar invirtiendo la botella por lo menos 15 veces. cuando el precipitado se asiente, agitar otra vez.

4) Cuando el precipitado se asiente por 2a. vez, ocupando por lo menos 2/3 de la botella, agregar 2 mL de H₂SO₄ concentrado, dejando que el ácido corra por el cuello de la botella.

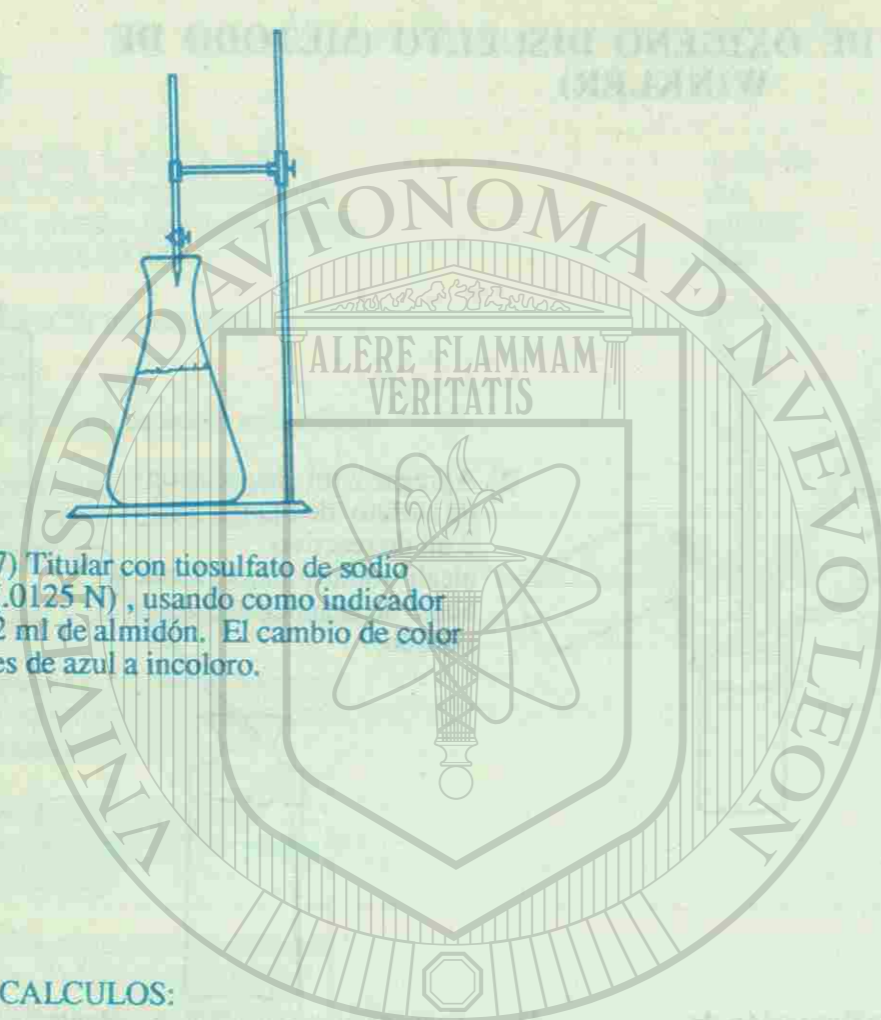
5) Tapar y mezclar invirtiendo suavemente hasta que la dilución sea completa.

6) Tomar una muestra de 200 mL y transferir a un matraz Erlenmeyer



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

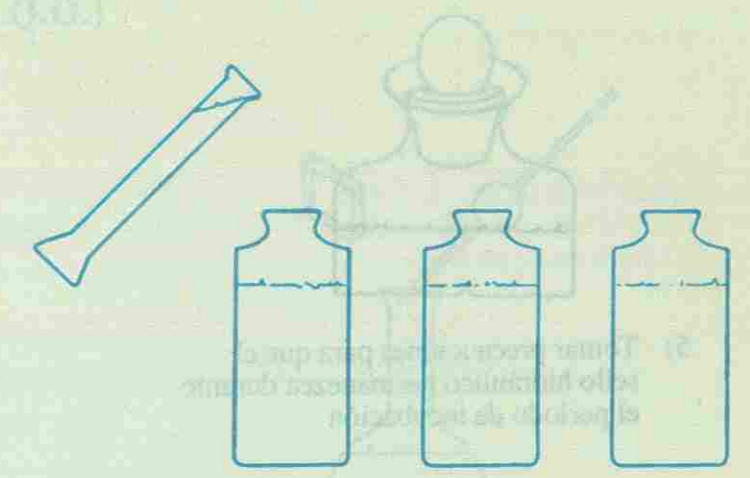
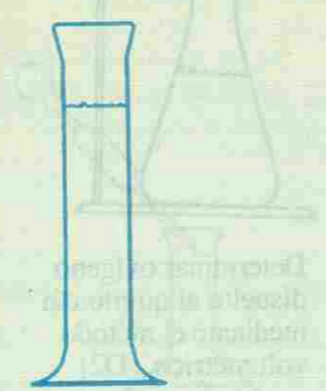
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



7) Titular con tiosulfato de sodio (.0125 N), usando como indicador 2 ml de almidón. El cambio de color es de azul a incoloro.

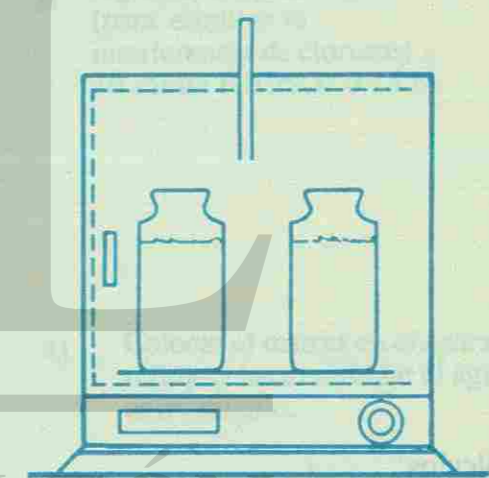
CALCULOS:
1ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 1 \text{ mg/l}$ de oxígeno disuelto

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO



1) Preparar un litro de agua de dilución (P), adecuada a las características de la muestra

2) Dividir la muestra en 3 botellas de DBO



3) En una de las tres botellas, determinar oxígeno disuelto, mediante el método volumétrico. (D)

4) Incubar a 20°C durante 5 días las otras dos botellas, junto con una testigo que contenga agua de dilución.

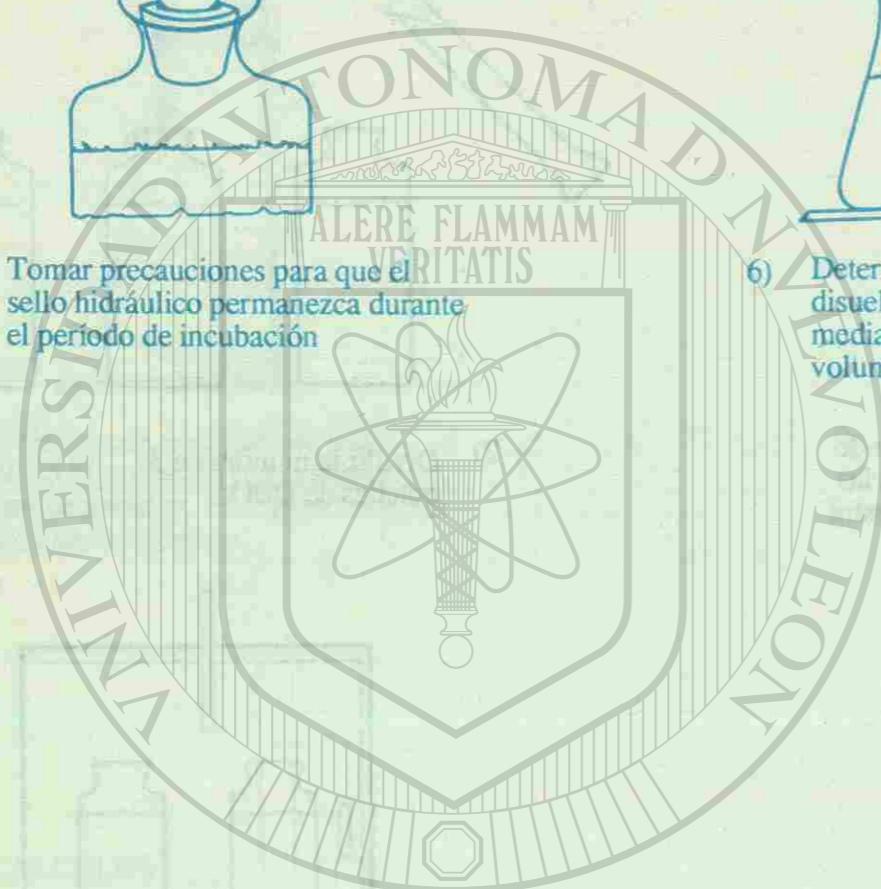
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



5) Tomar precauciones para que el sello hidráulico permanezca durante el periodo de incubación



6) Determinar oxígeno disuelto al quinto día mediante el método volumétrico. (D2)



Cálculos

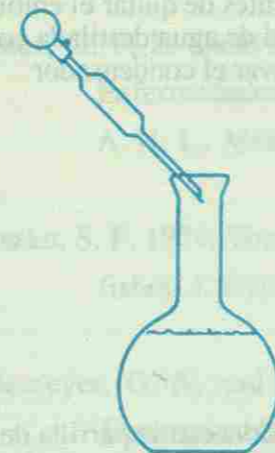
$$DBO = \frac{D1 - D2}{P}$$

D1= Oxígeno disuelto de la muestra diluída inmediatamente después de la preparación, mg/l

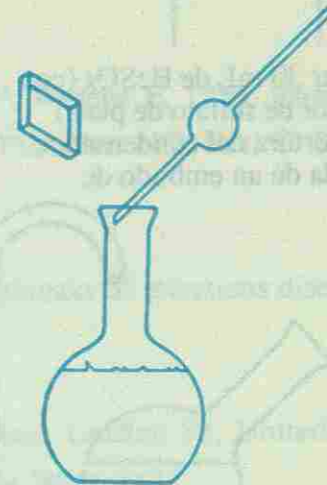
D2=Oxígeno disuelto de la muestra diluída después de 5 días.

P=Fracción volumétrica de la muestra, expresada en decimales.

DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO (D.Q.O.)



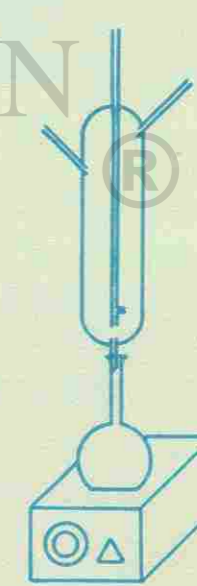
1) Verter una muestra de 20 mL (o alicuota diluída a 20 mL) en un matraz de boca esmerilada 250 mL.



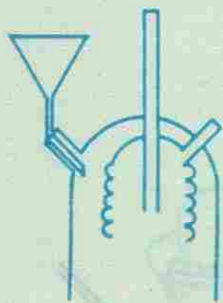
2) Agregar 0.4 g de $HgSO_4$ (para eliminar la interferencia de cloruros) y 10 ml de $K_2Cr_2O_7$ 0.25 N.

3) Agregar perlas de vidrio para control de la ebullición

4) Colocar el matraz en el aparato de reflujo y hacer circular el agua de enfriamiento.

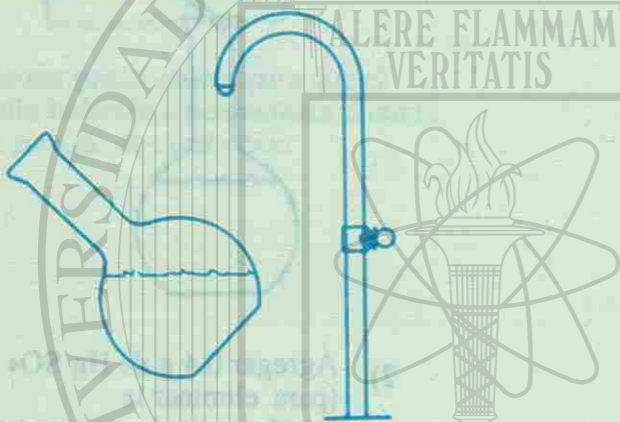


CAPILLA ALFONSO



5) Adicionar 30 mL de H_2SO_4 (con catalizador de sulfato de plata) por la abertura del condensador con ayuda de un embudo de vidrio.

6) Antes de quitar el embudo agregar 20 ml de agua destilada con objeto de lavar el condensador



7) Conectar la parrilla de calentamiento y dejar refluendo durante 2.0 hrs.

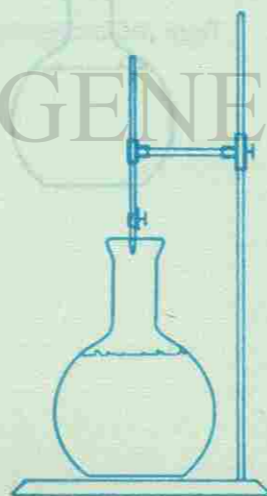
8) Retirar el matraz y enfriar con baño de agua hasta temperatura ambiente.

CALCULOS:

$$DQO \text{ mg/l} = \frac{(A-B) \text{ (N. de Sulfato ferroso)} (8000)}{\text{ml. de muestra}}$$

- A= ml gastados en la titulación del blanco.
B= ml gastados en la titulación de la muestra.

9) Agregar 2 gotas de indicador ferroin y titular el exceso de $K_2Cr_2O_7$ con sulfato ferroso amoniacal 0.025 N. El punto final de la reacción se obtiene cuando el indicador se torna café. La secuencia de colores en el matraz sera: Anaranjado \rightarrow verde \rightarrow azul \rightarrow café.



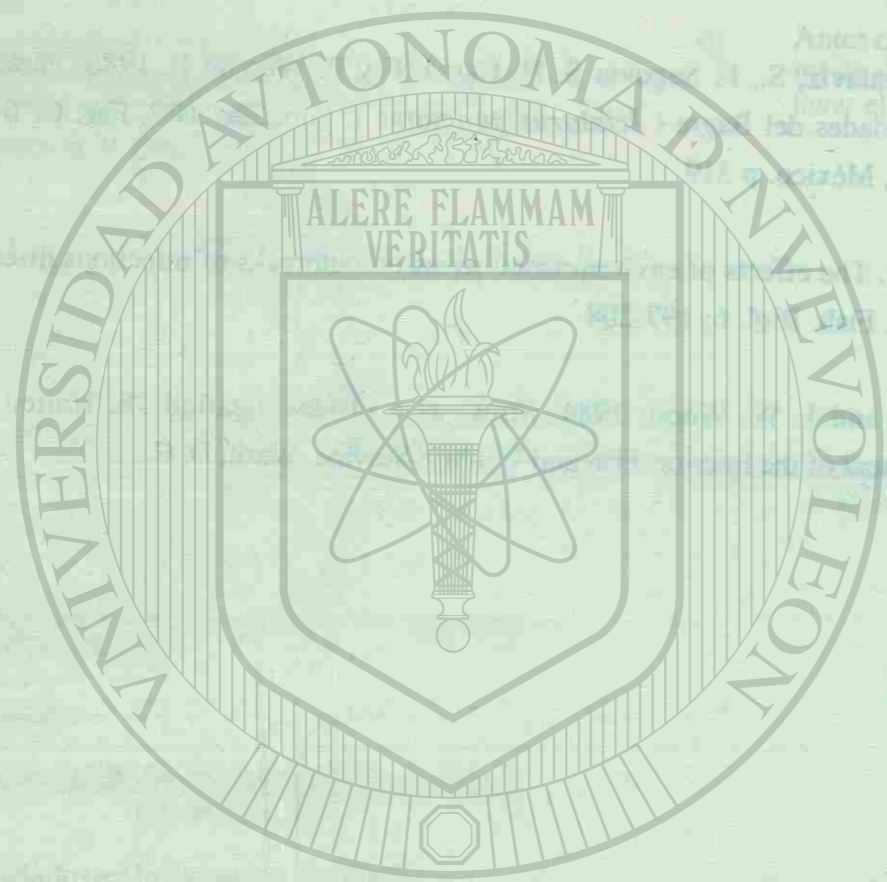
REFERENCIAS

- Aguilera, H. P. y P. Noriega. 1986. La trucha y su cultivo. Fondepesca, Secretaría de Pesca. México. p 60
- Jimenez, G. F, L. Galaviz, S., F. Segovia S. H, Garza, F y P. Wesche E. 1986. Parásitos y Enfermedades del Bagre (*Ictalurus punctatus*). Pub. Tec. N°2. Fac. C. Biol. U. A. N. L., México. p 319
- Snieszko, S. F. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infections diseases of fishes. J. Fish. Biol. 6: 197-208
- Wedemeyer, G. A. and J. W. Wood. 1984. Stress as a disease Leaflet 38, United States Department of the Interior. Fish and Wildlife Service, Wash. D. C.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

Solución indicadora de fenolftaleína
0.1% (w/v)
0.1 g fenolftaleína
100 ml agua destilada

Solución indicadora de naranja de metilo
0.1% (w/v)
0.1 g naranja de metilo
100 ml agua destilada

DIREXXA

Solución amortiguadora pH 7.0
0.1 M (w/v)
0.1 g EDTA
100 ml agua destilada

REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

Hidróxido de amonio (NH₄OH)
10% (w/v)
10 g hidróxido de amonio
100 ml agua destilada

Mezclar las soluciones, vertiendo (a) en el recipiente (b) y conservar en un frasco perfectamente cerrado.

Mezclar las soluciones, vertiendo (a) en el recipiente (b) y conservar en un frasco perfectamente cerrado.

Solución de EDTA
0.1 M (w/v)
0.1 g EDTA
100 ml agua destilada

Solución de EDTA en 150 ml de agua destilada, venir la solución en un matraz aforado de 100 ml con agua destilada y mezclar. La solución puede ser utilizada durante 6 meses.

CAPILLA ALL ONDINA

REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

ALCALINIDAD

Solución indicadora de fenoftaleína

| | |
|---------------------------|--------|
| Fenoftaleína (sal sódica) | 0.5 g |
| Agua destilada | 100 ml |

Solución indicadora de naranja de metilo

| | |
|-------------------|--------|
| Naranja de metilo | 0.05 g |
| Agua destilada | 100 ml |

DUREZA

Solución amortiguadora pH 10.0

| | |
|--|---------|
| a) Versenato de sodio "EDTA" (seco) | 1.7 g |
| Sulfato de magnesio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) | 0.780 g |
| Agua destilada | 50 ml |
| b) Cloruro de amonio (NH_4Cl) | 16.9 g |
| Hidróxido de amonio (NH_4OH) | 143 ml |
| Disolver | |

Mezclar las soluciones, vertiendo (a) en (b), agitar, diluir a 250 ml, con agua destilada y conservar en un frasco herméticamente cerrado.

Solución indicadora eiocromo negro T

| | |
|-------------------------|-------|
| Negro Eriocromo T | 0.5 g |
| Cloruro de sodio (NaCl) | 100 g |

Mezclar los dos sólidos en un mortero hasta que se integren completamente. Conservar en frasco herméticamente cerrado.

Solución de EDTA

| | |
|----------------|---------|
| EDTA (seco) | 3.723 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

Disolver el EDTA en 150 ml de agua destilada, verter la solución a un matraz aforado de 1000 ml; enjuagar el recipiente con 3 porciones de 100 ml de agua destilada y verterlas al matraz aforado. Diluir a 1000 ml con agua destilada y mezclar. La solución puede ser estable durante 6 meses.

OXIGENO DISUELTO

Solución de sulfato de manganeso

| | |
|----------------------|---------|
| $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ | 480 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

Solución de álcali-yoduro-nitruro

| | |
|----------------|--------|
| a) NaOH | 500 g |
| Agua destilada | 600 ml |

| | |
|----------------|--------|
| b) KI | 150 g |
| Agua destilada | 150 ml |

Agregar las solución (b) a la solución (a) con agitación constante y diluir a 1000 ml con agua destilada.

| | |
|---------------------------------|-------|
| c) Nitruro de sodio (NaN_3) | 10 g |
| Agua destilada | 40 ml |

Agregar la solución (c) a la mezcla de (a) y (b), se agita y se conserva en un frasco con tapón de plástico.

Solución indicadora de almidón

| | |
|----------------|-------|
| Almidón | 1 g |
| Agua destilada | 10 ml |

Agitar hasta formar una suspensión lechosa. Verter esta suspensión en 200 ml de agua destilada en ebullición. Agitar la solución y dejar hervir durante 3 minutos.

Se enfría la solución y se deja reposar por 12 horas. El líquido sobrenadante se vierte a un frasco reactivo y se le agregan 4 gotas de tolueno para preservarlo.

Solución de tiosulfato de sodio

| | |
|--------------------------|---------|
| $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ | 9.307 g |
| Agua destilada hervida | 1000 ml |

La sal se disuelve en 300 ml de agua destilada hervida y se vierte a un matraz de aforación de 1000 ml. El recipiente en que se disolvió la sal se lava 3 veces con porciones de 100 ml de agua destilada hervida, las cuales se vierten al matraz aforado. Se agregan 0.4 gr de NaOH en lentejas y se mezcla hasta que éstas se disuelvan. Se diluye a 1000 ml con agua destilada hervida.

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO

Solución amortiguadora de fosfatos

| | |
|----------------------------------|---------|
| KH ₂ PO ₄ | 8.5 g |
| K ₂ HPO ₄ | 21.75 g |
| Na ₂ HPO ₄ | 33.4 g |
| NH ₄ Cl | 1.7 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

Disolver las sales en 500 ml de agua destilada y diluir a un litro. El pH de la solución sin ajuste alguno debe ser de 7.2.

Solución de sulfato de magnesio

| | |
|-------------------------------------|---------|
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 22.5 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

Solución de cloruro de calcio

| | |
|---------------------------|---------|
| CaCl ₂ Anhidro | 27.5 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

Solución de cloruro férrico

| | |
|--------------------------------------|---------|
| Fe Cl ₃ 6H ₂ O | 0.25 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

Solución de NaOH 1N

| | |
|----------------|---------|
| NaOH | 40 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

Solución de H₂SO₄ 1N

| | |
|--------------------------------------|---------|
| H ₂ SO ₄ conc. | 27.7 ml |
| Agua destilada | 1000 ml |

Solución de sulfito de sodio 0.25 N

| | |
|---|---------|
| Na ₂ SO ₃ Anhidro | 1.575 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

Debe prepararse el día que se va a usar. Es muy inestable.

DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO

Solución de dicromato de potasio 0.25 N

| | |
|---|----------|
| K ₂ Cr ₂ O ₇ | 12.259 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

El dicromato de potasio se seca por 2 horas a 103°C.

Solución de sulfato ferroso amoniacal 0.25 N

| | |
|---|---------|
| Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ 6H ₂ O | 98 g |
| H ₂ SO ₄ concentrado | 20 ml |
| Agua destilada | 1000 ml |

La sal se disuelve en 500 ml de agua destilada, se agrega el ácido sulfúrico y se diluye a 1000 ml. La solución debe titularse el día que se va a utilizar.

Titulación: Se diluyen 25 ml de la solución valorada de dicromato de potasio a 250 ml. Se agregan 20 ml de ácido sulfúrico concentrado y se deja enfriar. Se titula con la solución de sulfato férrico amoniacal, usando 2 a 3 gotas del indicador ferroín.

$$\text{Normalidad} = \frac{\text{ml K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \times 0.25}{\text{ml de Fe (NH}_4)_2 \text{ (SO}_4)_2}$$

Indicador de ferroín

| | |
|-------------------------------------|---------|
| 3,10-Fenantrolina H ₂ O | 1.485 g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.695 g |
| Agua destilada | 100 ml |

NITROGENO AMONIACAL

Solución de N-NH₃ (1ml=10ug)
Solución de reactivo de Nessler

NITROGENO DE NITRATOS

Solución de N-NO₃ (1ml=0.5ug)
Solución de ácido fenildisulfónico
Hidróxido de amonio

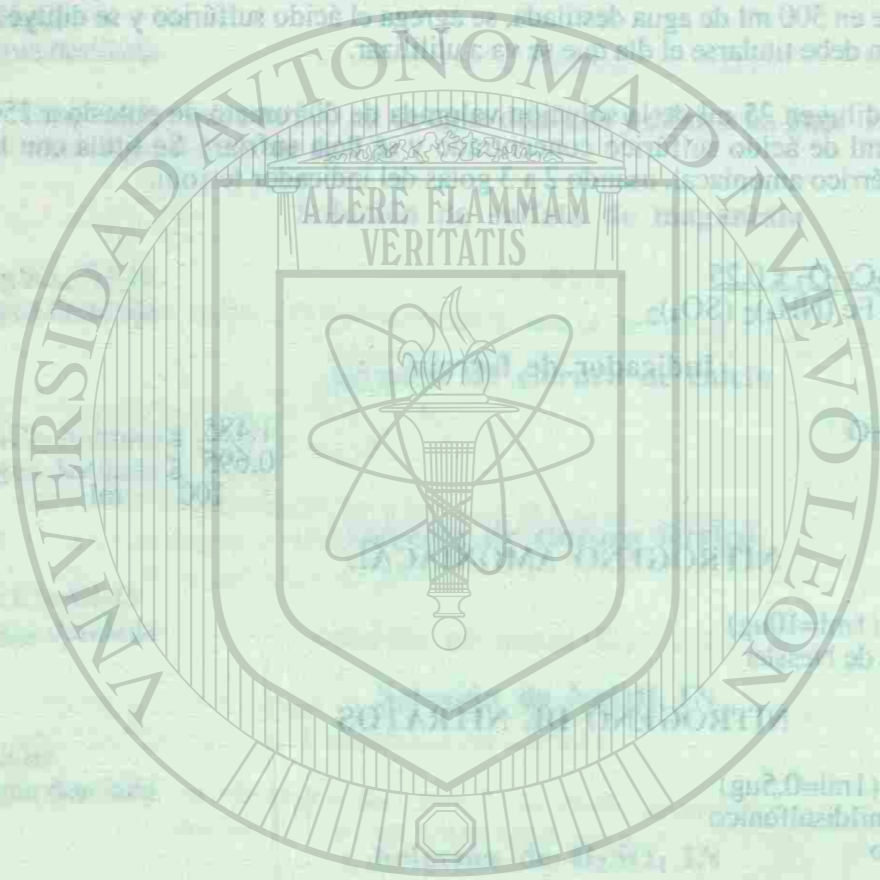
NITROGENO DE NITRITOS

Solución de N-NO₂ (1ml=0.5ug)
Solución de ácido sulfanílico
Solución de clorhidrato de nafilamina
Solución de acetato de sodio

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DIAGNOSTICO DE AGENTES VIRALES

Lucio Galaviz Silva y Zinnia J. Molina Garza
Facultad de Ciencias Biológicas

Procedimiento general para cultivos celulares:

A) Control de calidad:

- 1.- Se deben usar las células susceptibles de apariencia normal que se dividen rápidamente para todos los ensayos de virus.
- 2.- En trabajos de cultivo celulares de rutina se agrega penicilina (100 UI6ml) estreptomomicina (100 mg/ml) ó gentamicina (100 mg/ml) y agentes antimicóticos (Micotrofin R. 25 mg/ml).

B) Controles

- 1.- El control positivo debe demostrar que las células son sensitivas a todos los virus de peces ensayados. La sensibilidad se define como la capacidad de las células para mostrar efecto citopático típico (ECP) cuando se exponen a la suspensión o cultivo del virus a niveles de 10^2 TCID₅₀/ml ó su equivalente.
- 2.- Los controles no inoculados deben incubarse con cada ensayo. Estos deben permanecer libres de ECP durante el período de incubación.

C) Toma y manejo de muestras.

- 1.- En epizootias se requiere de al menos de 5 peces por estanque, para examinarse. Los peces deben estar recién muertos ó moribundos y exhibir los signos clínicos típicos
- 2.- El muestreo en peces asintomáticos debe hacerse de acuerdo a la siguiente tabla (basada en un nivel de confianza del 95%)

Tabla 1.- Según la prevalencia del patógeno el tamaño de la muestra se seleccionará de la siguiente manera: (a nivel de confianza de 95%)

| Población | Prevalencia | | |
|-----------|-------------|----|-----|
| | 2% | 5% | 10% |
| 50 | 50 | 35 | 20 |
| 100 | 75 | 45 | 23 |
| 250 | 110 | 50 | 23 |
| 500 | 130 | 55 | 26 |
| 1000 | 140 | 55 | 27 |
| 1500 | 140 | 55 | 27 |
| 2000 | 145 | 60 | 27 |
| 4000 | 145 | 60 | 27 |
| 10000 | 145 | 60 | 27 |
| 100000 | 150 | 60 | 30 |
| OMAS | | | |

Tejidos que deberán procesarse de acuerdo al tipo de virus.-

Necrosis Hematopoyética Infecciosa (NHI)--Fluido ovario, riñón y bazo

Necrosis Pancreática Infecciosa (NPI) --Riñón y bazo

Septicemia Hemarugica Viral (SHV)--Riñón y bazo

Herpes virus salmonis--Riñón y bazo

3.- Examinar los tejidos con la siguiente metodología:

A) Alevines y saco vitelino: Procesar al alevin entero. Remueva el saco vitelino.

B) Peces de 4-6 cm de talla: procesar todas las vísceras

C) Mayores de 6 cm. Procesar bazo y riñón

D) Sementales: Procesa fluido ovario y una muestra de bazo y riñón

4.- No utilizar más de 5 peces para una prueba

5.- El fluido ovárico debe colectarse por separado de cada hembra.

6.- Inocular las muestras en las células antes de 48 horas, transportarlas sin congelar en un refrigerador o hielo

7.- A criterio del patólogo, a las muestras de tejido le puede agregar antibióticos o agentes antifúngicos a un pH de 7.0-7.8, pero no en el fluido ovarico.

8.- Mantener las muestras abajo de los 15°C mientras se procesan y al homogenizarlas no emplear sonificadores.

9.- Suspender las muestras en medio de cultivo tisulares con antibióticos (pH 7.0-7.8) y centrifugar a 2,000 x g por 10 min. Tratarlas para retardar los contaminantes microbianos. Otra alternativa, filtrar es sobrenadante con filtro-membrana de 0.45 um.

10.- La dilución no debe de exceder 1:100 antes de inocular la muestra de tejido en el cultivo (v/v). La dilución de muestra de fluido ovarico no debe exceder de 1:5 (v/v).

11.- Los cultivos celulares deben incubarse por un mínimo de 14 días, pero se recomienda hasta el día 21. La temperatura de incubación para NHI, NPI o SHV es de 15°C y para *Herpes virus* de 10-15 °C. El pH durante la incubación será de 7.0-7.8, para el virus de la SHV de 7.4-7.8.

El virus de NPI se debe cultivar en un sistema de cultivo celular de embrión de salmón Chinook (CHSE-214), o alevin de agallas azules (BF-2) ó gonadas de trucha arco iris (RTG-2), (cultivos citados de mayor a menor sensibilidad). El virus de la NHI en epiteloma de ciprinidos (EPC), fathead minnow (FHM) ó CHSE-214. El virus de la SHV en EPC, FHM, CHSE-214 ó RTG-2, El de *Herpes virus* en RTG-2 ó CHSE-214.

12.- La aparición de EPC (Efecto citopático) en el sistema necesita identificarse por neutralización sérica ó evaluación por subcultivos. Esta dilución no debe ser menor de 1:10 v/v ó más grande de 1:1000 v/v.

D.- Identificación del virus por sero-neutralización.

1.- Los cultivos celulares que presenten ECP se seleccionan y se diluye el fluido de estos a 1:1000 y 1:100,000.

2.- Diluir el suero control (no contiene anticuerpos contra el virus) y el antisuero específico (contiene anticuerpos contra ciertos patógenos) adecuadamente en buffer salino a pH 7.0-7.8.

3.- Mezclar proporciones iguales del fluido del cultivo celular diluido (en el paso 1) y diluya también el antisuero del paso 2.

4.- Mezcle proporciones iguales del fluido del cultivo celular (Paso 1 y 2).

5.- Repita el paso 3 y 4, pero use el virus de referencia (suspensión con 500TCID₅₀ por ml) en lugar del fluido diluido del virus del cultivo sospechoso del paso 1.

6.- Incube por 60 min, agite cada tubo a intervalos de 15 min.

7.- Inocule una cantidad apropiada en el cultivo celular seleccionado por duplicado. Se debe usar la misma línea celular del aislamiento primario en la prueba de neutralización.

8.- Incube por 2-12 días a la misma temperatura usada en el aislamiento primario.

9.- La aparición del ECP en el cultivo inoculado con la mezcla suero-antivirus control, pero no en el cultivo inoculado con la mezcla antisuero-virus, identifica al agente relacionado con el virus usado para la producción del antisuero.

10.- Si el antisuero no neutraliza o disminuye la infectividad, la prueba debe repetirse con antisueros contra otro virus. Sin ningún antisuero neutraliza la infectividad, debe sospecharse de una mezcla de infección viral o toxicidad severa de la muestra ó bien, la presencia de un nuevo agente.

Necrosis pancreática infecciosa

Agente etiológico: Virus de la necrosis pancreática infecciosa (VNPI).

Distribución geográfica: Norteamérica, Europa, Japón, Corea, Taiwan y Chile.

Hospederos: *Salvelinus fontinalis*, trucha café (*Salmo trutta*), trucha arcoiris (*S. gairdneri*), *S. clarkii*, *Salvelinus namaycush*, *S. salar*, *Oncorhynchus tshawytscha*, *O. kisutch* y *Salvelinus alpinus*.

Signos clínicos de significancia diagnóstica: La necrosis pancreática infecciosa es una enfermedad aguda que causa mortalidad de y alevines, y ocasionalmente en adultos de truchay salmon., primero son afectados los alevines. Las víctimas nadan alrededor de su eje longitudinal. La conducta agonizante se manifiesta por inmovilidad, durante la cual las víctimas se sumergen al fondo y respiran débilmente. Como último síntoma se enroscan y mueren en una o dos horas. Los signos incluyen obscurecimiento, exoftalmia, distensión abdominal y algunas veces hemorragias en el vientre y base de las aletas. En el área pilórica, el estómago aparece en forma blanquecina con mucus lechoso que abarca el anterior del intestino.

Diagnóstico: La presencia del CPE típico en células de cultivo es el diagnóstico presuntivo, pero este debe apoyarse con un examen histológico donde se evidencie necrosis pancreática pronunciada de tejido, junto a la necrosis del tejido adiposo. La confirmación requiere del

aislamiento e identificación del VNPI por medio de seroneutralización. El Birnavirus del salmón presenta tres distintos tipos serológicos (VR299, Ab y Sp), por lo cual se requiere del antisuero con el serotipo específico para confirmar la prueba de seroneutralización. El diagnóstico se considera satisfactorio si se examinan 10 peces como mínimo que presenten los signos de la enfermedad.

Septicemia hemorrágica viral;

Agente etiológico: Virus Egtved. La septicemia hemorrágica viral (SHV) es una infección sistémica de truchas, causada por un rhabdovirus. También se conoce como infección e inflamación del riñón y degeneración hepática (INuL).

Distribución geográfica y hospederos: Trucha arcoiris, trucha café, salmón del atlántico e híbridos del género *Onchorhynchus*.

Signos clínicos e histopatológicos: Algunos peces muestran sintomatología severa y otros parecen normales. Ningún signo clínico o histopatológico puede utilizarse para distinguir esta enfermedad de otras. La SHV puede presentarse en todas las edades, pero los sobrevivientes de la infección se comportan como portadores del virus. Externamente, el pez presenta exoftalmia, distensión abdominal, pigmentación oscura, anemia y hemorragias en los ojos, pies, agallas y en la base de las aletas. El mesenterio presenta hemorragia difusa mientras que el riñón e hígado aparecen hiperémicos, hinchados, decolorados y con hemorragias en el músculo esquelético. El tejido hematopoyético son el foco inicial.

Diagnóstico de infecciones asintomáticas: La regulación de los Estados Unidos (Code of Federal Regulations, Title 50) requiere que los salmonidos y los huevos de salmonidos importados se certifiquen libres del virus debido a que no pueden utilizarse los signos clínicos o histopatológicos. Se requiere el examen virológico para certificar que los salmonidos están libres de virus por sero neutralización. Si el pez va a exportarse a los E.U.A. el ensayo se debe realizar 6 semanas antes de la importación. El tamaño de muestra acepta una incidencia mínima de infección del 2% a un nivel de confianza del 95%. El manejo y el proceso de los especímenes debe realizarse en un medio de cultivo tisular buferado a pH de 7.4-7.8.

Examen Virológico: Para este se emplea un cultivo celular monocapa CHSE-214, EPC, FHM ó RTG-2. El cultivo celular debe estar del 80-90% confluyente y con no más de 72 horas de edad después de cultivarse. El inóculo se calcula a razón de 0.1ml de la muestra diluida por 10cm² de campo celular. Por cada muestra se recomienda inocular 10cm² como mínimo e incubarse a 15°C por 60 minutos para permitir la absorción de virus. Las observaciones deben prolongarse durante 14 días o hasta que el efecto citopático sea evidente.

Necrosis hematopoyética infecciosa:

Agente etiológico: Virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (VNHI). La enfermedad se conoce también como enfermedad del salmón del río Sacramento.

Distribución geográfica y hospederos: Costa del pacífico de Norte América, desde California hasta Alaska e Idaho. Los focos de epizootias se han detectado en Minnesota, Idaho, Virginia, Colorado y Montana.

Hospederos: Trucha Arcoiris, *Oncorhynchus nerka*, *S. clarkii* y Salmón del atlántico.

Signos clínicos: Típicamente los peces enfermos muestran exoftalmia, anemia, hemorragia en los músculos del cuerpo, mandíbula inferior y base de las agallas. También hinchazón abdominal con ascitis y lordosis en los sobrevivientes. En el tejido adiposo se presentan hemorragias petequiales de la cavidad visceral músculos y mesenterio, el riñón y el hígado aparece hematoso y pálido. Es común observar hemorragias subdermicas posteriores al cráneo.

Diagnóstico: Para identificación presuntiva se usa el aislamiento del virus en cultivo celulares con desarrollo de citopatología típica. Los medios EPC, CHSE-214 o FHM son los que se recomiendan por su mayor sensibilidad. Estos se incuban entre 15-18°C durante 14 días. Se recomienda hacer un pasaje ciego cuando no se encuentran muestras positivas en un lote donde se sospeche la presencia del virus.

La necrosis típica del tejido hematopoyético en riñón y bazo y la necrosis de células granulares en la lámina propia deben utilizarse como métodos de identificación presuntiva así como los signos clínicos mencionados. El examen de frotis sanguíneos e improntas del riñón muestran comúnmente cambios hematopatológicos. El diagnóstico confirmatorio se realiza aislando el virus por neutralización con un antisuero NHI-específico y asociándolo con la histopatología típica.

Enfermedad de Herpes Virus de Salmonidos:

Agente etiológico: Herpesvirus salmonis (VHP).

Distribución geográfica y hospederos: E.U.A y Japón. Se ha reportado en la trucha arcoiris *Onchorhynchus nerka*, *Salmo salar*, *Salvelinus fontinalis*, *Salmo trutta*.

Signos Clínicos: La mayoría de los alevines infectados presentan letargia, pero en el estado terminal de la enfermedad, muestran nado errático e hiperactividad. Los signos incluyen oscurecimiento anormal y exoftalmia extrema. Hemorragia en la órbita de los ojos, distensión abdominal y agallas pálidas. El fluido ascítico es abundante y también el hígado, bazo y tracto digestivo presentan flacidez, mientras que el riñón se observa de aspecto pálido.

Diagnóstico: Debe presentarse efecto citopático en los cultivos RTG-2 y CHSE-214 a 10-12°C. El EPC consiste en picnosis y fusión celular (sincitial). También se forman células gigantes multinucleadas e inclusiones atípicas Cowdry tipo A la sangre de especímenes infectados contiene gran número de eritrocitos y leucocitos inmaduros. El tejido hematopoyético renal se hipertrofia mientras que los túbulos renales se llenan de material seroso. El tejido hepático muestra área de necrosis, pero la necrosis pancreática nunca es tan severa como extensiva en comparación de ésta.

NOTA:

Actualmente existen en el mercado estuches para la detección del VNPI, (bio-perox NPI), VNI (Bio-Fluo-NHI) y para el VSHV (Bio-perox SHV), los cuales incluyen soluciones de lavado y fijación; anticuerpos monoclonales específicos para cada virus, conjugado anti-inmunoglobulina de ratón con la peroxidasa, cromógeno y buffer con sustrato de peroxidasa, los cuales se utilizan para el diagnóstico *in vitro*, y se producen por la compañía BIOX (Dirección: 30 Hoogveldiaan, 1700 Dilbeek, Belgica, Fax: (32-2) 4102886.

Referencias

- Amos, K.H. 1985. Procedures for the detection and identification of certain fish pathogens. Fish Health Section American Fisheries Society. 3^o edi. pp. 5-31.
- Amend, D. & T. McDowell. 1984. Comparison of various procedures to detect neutralizing antibody to the channel catfish virus in California brood channel catfish. The Progressive Fish-Culturist. 1: 6-12.
- Plumb, J. A. 1971. Tissue distribution of channel catfish virus. Journal of Wildlife Disease. 7: 213-216.
- Small, D.A. 1982. Viral erythrocytic necrosis in fish: a review. Proceeding of the Royal Society of Edinburg. 81B: 169-176.
- Wolf, K. T. 1975. Salmonids viruses: effects of Herpesvirus salmonis in rainbow trout. Fish Health News. 4: 8.

ENFERMEDADES CAUSADAS POR BACTERIAS

Ma. Hilda Garza Fernández, Fernando Jiménez Guzman y
Lucrecia González Carranza
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

Las bacterias son organismos microscópicos que atacan a los peces cuando éstos se encuentran bajo condiciones de "stress". Las lesiones generalmente son provocadas por bacilos Gram negativos, Gram positivos o por ácido alcohol resistentes y éstas pueden ocurrir en órganos internos, músculos, piel, branquias o aletas.

Las bacterias presentes en los peces crecen en medios de cultivo con un rango de pH entre 6 y 9, en ocasiones es necesario agregar al medio de cultivo cloruro de sodio. Son aerobias o anaerobias facultativas y pueden crecer entre 20 y 30°C.

Para lograr el diagnóstico de una enfermedad es necesario primeramente aislar el agente causal, para posteriormente identificarlo mediante su morfología, afinidad a los colorantes y pruebas bioquímicas. Así mismo, una vez que por inoculaciones experimentales se demuestre la patogenicidad de las bacterias, es recomendable determinar su susceptibilidad a los antimicrobianos para lograr una terapéutica adecuada.

VIBRIOSIS

Agente Causal

Una de las enfermedades más comunes en trucha es la vibriosis, cuyo agente causal es el *Vibrio anguillarum* o *V. ordalii*, han sido asociados con ellos el *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*.

Signos Clínicos

Las truchas presentan lesiones hemorrágicas y necróticas en la musculatura abdominal, exoftalmia y eritema en la base de las aletas. Internamente presentan zonas hemorrágicas en la cavidad peritoneal. En las formas agudas de la enfermedad, el pez muere sin presentar síntomas externos.

Vibrio anguillarum ha sido aislado de riñón, bazo, branquias, tejido muscular, tracto gastrointestinal y sangre y *V. ordalii* tiende a formar microcolonias en corazón, branquias y en músculos. Los peces moribundos presentan anemia y hay una leucopenia marcada y pérdida de electrolitos. Si se realizan cortes histológicos es evidente la destrucción del tejido.

Diagnóstico

El diagnóstico de vibriosis se logra por sintomatología, observación de las lesiones, así como con el aislamiento e identificación del agente causal. El aislamiento de la bacteria se obtiene mediante siembra de muestras colectadas de las lesiones en placas Petri con agar soya tripticasa y agar infusión cerebro corazón adicionado de cloruro de sodio e incubados aeróbicamente a 20-25°C durante 72 horas. Los vibrios aislados de especies marinas son

Referencias

- Amos, K.H. 1985. Procedures for the detection and identification of certain fish pathogens. Fish Health Section American Fisheries Society. 3^o edi. pp. 5-31.
- Amend, D. & T. McDowell. 1984. Comparison of various procedures to detect neutralizing antibody to the channel catfish virus in California brood channelk catfish. The Progressive Fish-Culturist. 1: 6-12.
- Plumb, J. A. 1971. Tissue distribution of channel catfish virus. Journal of Wildlife Disease. 7: 213-216.
- Small, D.A. 1982. Viral erythrocytic necrosis in fish: a review. Proceeding of the Royal Society of Edinburg. 81B: 169-176.
- Wolf, K. T. 1975. Salmonids viruses: effects of Herpesvirus salmonis in rainbow trout. Fish Health News. 4: 8.

ENFERMEDADES CAUSADAS POR BACTERIAS

Ma. Hilda Garza Fernández, Fernando Jiménez Guzman y
Lucrecia González Carranza
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

Las bacterias son organismos microscópicos que atacan a los peces cuando éstos se encuentran bajo condiciones de "stress". Las lesiones generalmente son provocadas por bacilos Gram negativos, Gram positivos o por ácido alcohol resistentes y éstas pueden ocurrir en órganos internos, músculos, piel, branquias o aletas.

Las bacterias presentes en los peces crecen en medios de cultivo con un rango de pH entre 6 y 9, en ocasiones es necesario agregar al medio de cultivo cloruro de sodio. Son aerobias o anaerobias facultativas y pueden crecer entre 20 y 30°C.

Para lograr el diagnóstico de una enfermedad es necesario primeramente aislar el agente causal, para posteriormente identificarlo mediante su morfología, afinidad a los colorantes y pruebas bioquímicas. Así mismo, una vez que por inoculaciones experimentales se demuestre la patogenicidad de las bacterias, es recomendable determinar su susceptibilidad a los antimicrobianos para lograr una terapéutica adecuada.

VIBRIOSIS

Agente Causal

Una de las enfermedades más comunes en trucha es la vibriosis, cuyo agente causal es el *Vibrio anguillarum* o *V. ordalii*, han sido asociados con ellos el *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*.

Signos Clínicos

Las truchas presentan lesiones hemorrágicas y necróticas en la musculatura abdominal, exoftalmia y eritema en la base de las aletas. Internamente presentan zonas hemorrágicas en la cavidad peritoneal. En las formas agudas de la enfermedad, el pez muere sin presentar síntomas externos.

Vibrio anguillarum ha sido aislado de riñón, bazo, branquias, tejido muscular, tracto gastrointestinal y sangre y *V. ordalii* tiende a formar microcolonias en corazón, branquias y en músculos. Los peces moribundos presentan anemia y hay una leucopenia marcada y pérdida de electrolitos. Si se realizan cortes histológicos es evidente la destrucción del tejido.

Diagnóstico

El diagnóstico de vibriosis se logra por sintomatología, observación de las lesiones, así como con el aislamiento e identificación del agente causal. El aislamiento de la bacteria se obtiene mediante siembra de muestras colectadas de las lesiones en placas Petri con agar soya tripticasa y agar infusión cerebro corazón adicionado de cloruro de sodio e incubados aeróbicamente a 20-25°C durante 72 horas. Los vibrios aislados de especies marinas son

bacilos curvos, no esporulados, Gram negativos, citocromo oxidasa positiva, fermentadores anaerogénicos y sensibles al agente vibriostático O/ 129 (fosfato de 2,4, diamino-6,7, di iso propil pteridina). Si se desea diferenciar las especies de vibrios puede recurrirse a pruebas inmunológicas utilizando antisueros específicos.

Tratamiento

Para el tratamiento de la vibriosis se utiliza oxitetraciclina en una concentración de 8.8 g / 100 Kg de pez / día / 10 días y sulfameracina con 20 g / 100 Kg de pez / día / 14 días.

Prevención

Como medida profiláctica es recomendable utilizar vacuna aplicadas por vía intraperitoneal o por inmersión, pudiéndose proteger a peces desde 1 gramo de peso. El uso de antimicrobianos debe hacerse con precaución para evitar la resistencia a los mismos.

FURUNCULOSIS

Esta enfermedad se presenta en truchas en una gran variedad de formas y puede confundirse con una vibriosis si se toman en cuenta los síntomas externos. La forma aguda causa la muerte de los peces antes de que se aprecien los síntomas de la enfermedad. La forma crónica se manifiesta por forúnculos en la pared lateral y abdominal, eritema en la base de las aletas y hemorragia en la cavidad peritoneal.

Agente Causal

El agente causal de esta enfermedad es *Aeromonas salmonicida*, esta bacteria es altamente infecciosa para los peces de agua dulce aún cuando es tolerante a la sal.

Signos Clínicos

La bacteria causa septicemia en los peces, les provoca letargo, obscurecimiento en la piel y hemorragia en la base de las aletas; además, causa inflamación y ulceraciones en el cuerpo. El microorganismo puede estar presente en forma latente en peces clínicamente sanos por largo tiempo y actúan como portadores.

Diagnóstico

Es un bacilo corto, Gram negativo, no esporulado, inmóvil, mide de 2 a 3 milimicras de largo, su morfología puede variar de acuerdo al medio en que se mantiene; es aerobio o anaerobio facultativo. Para aislarlo, la muestra se siembra en medios de cultivo que contengan arginina y metionina. *A. salmonicida* crece lentamente a 4°C y no crece a 37°C. Es citocromo oxidasa positiva y cataboliza fermentativamente la glucosa.

Tratamiento

El tratamiento que se sugiere para el control de la furunculosis es a base de sulfameracina, la cual se incorpora en el alimento a razón de 20 g / 100 Kg de pez / día / 14 días; oxitetraciclina a razón de 8.8 g / Kg de pez / día / 10 días; cloranfenicol a razón de 6 g / 100 Kg de pez / día / 10 días; ácido oxolinico a razón de 1 g / 100 Kg de pez / día / 10 días. Es importante mencionar, que se recomienda que antes de aplicar cualquier tratamiento sean

SEPTICEMIA CAUSADA POR PSEUDOMONAS

Este tipo de bacterias se califican generalmente como patógenos secundarios ya que actúan como oportunistas. La enfermedad se presenta generalmente cuando los peces se estresan a través de factores medio ambientales o nutricionales, así como por sobrepoblación y/o mal manejo de los peces.

Agente Causal

Pseudomonas fluorescens es la especie de la que se tienen informes de causar enfermedades en los peces.

Signos Clínicos

La septicemia se manifiesta por zonas hemorrágicas en piel, base de las aletas y órganos internos, en algunos casos se presenta ascitis. El patógeno ataca las branquias y tanto la bacteria como sus toxinas son capaces de destruir tejido y órganos internos.

Diagnóstico

Para obtener el diagnóstico de la enfermedad es necesario aislar la bacteria e identificarla. Es un bacilo corto, Gram negativo, no esporulado, móvil, citocromo oxidasa positivo. Produce un pigmento verde-amarillento que se difunde en el medio y es fluorescente a la luz ultravioleta. Actúa sobre la glucosa oxidativamente, su temperatura óptima es de 20-25°C, pero puede crecer a 6°C o menos, por lo tanto, puede afectar a la trucha si las condiciones son propicias para ello.

Tratamiento

En Europa se ha utilizado con éxito como medida terapéutica a la di-estreptomicina en concentraciones de 10-20 mg / Kg de pez aplicada intraperitonealmente o baños con una mezcla de penicilina y estreptomicina en concentraciones de 10-50 mg / l.

Prevención

Para prevenir la enfermedad se recomienda mejorar la calidad del agua y vigilar todos aquellos factores que puedan causar "stress" en los peces.

SEPTICEMIA POR AEROMONAS MOVILES

Esta enfermedad se presenta en todos los peces de agua dulce, generalmente en peces de aguas templadas con alto contenido de materia orgánica y sobre todo en aquellos peces que han sido estresados por efectos medioambientales o presencia de parásitos en su exterior.

Agente Causal

El agente causal de esta enfermedad es *Aeromonas hydrophila* principalmente, ya que existen otras especies de esta bacteria que pueden provocar lesiones de menor intensidad.

Signos Clínicos

realizadas en el laboratorio pruebas de susceptibilidad a diferentes antimicrobianos para de esta forma seleccionar el adecuado.

Prevención

Como medida preventiva se recomienda llevar un estricto control de la temperatura ($<12^{\circ}\text{C}$). La inmunización de los peces utilizando vacunas es una medida adecuada para prevenir la furunculosis.

BOTULISMO

El botulismo ha sido diagnosticado en salmónidos de agua dulce cultivados. El agente causal ha sido aislado de sedimentos de aguas dulces y marinas y debe ser considerado durante una epizootia donde los peces presentan los signos clínicos característicos. El botulismo puede presentarse en cualquier época del año, aunque es más frecuente que se presente durante el verano y sobre todo cuando la temperatura del agua está por encima de los 10°C .

Agente Causal

El agente causal es *Clostridium botulinum* a través de su toxina tipo E

Signos Clínicos

La enfermedad provocada por *Clostridium botulinum* ocasiona parálisis progresiva de músculos y aletas dorsales, lo que ocasiona a su vez pérdida de equilibrio. Generalmente la muerte ocurre dentro de una hora cuando se presentan los signos a 15°C y puede llevarse varias semanas si la temperatura es tan baja como 1°C .

Diagnóstico

Para realizar el diagnóstico debe de aislarse la bacteria y además demostrar la presencia de la toxina en el intestino de los peces infectados. La bacteria se cultiva en un medio a base de carne cocida o tripticasa-peptona-glucosa, adicionado de tioglicolato de sodio o cisteína HCl como agente reductor. Por tratarse de un microorganismo anaerobio estricto, es necesario cultivarlo en una atmósfera libre de oxígeno. La toxina se identifica mediante el uso de antisueros específicos.

Tratamientos

Cualquier estrategia para el tratamiento del botulismo de peces debe incluir la eliminación tanto del microorganismo, como de la toxina. Se ha utilizado con éxito oxitetraciclina a una dosis de 8.8 g/100 Kg de pez/día/10 días y remover con rapidez los peces muertos o moribundos.

Prevención

Como medida preventiva se recomienda mantener los estanques limpios y remover los peces muertos y moribundos.

Los signos clínicos que presentan los peces infectados con esta bacteria son inconfundibles, es común observar abscesos y úlceras en la piel, en la base de las aletas y alrededor del ano.

Diagnóstico

La bacteria es un bacilo corto Gram negativo, no esporulado, móvil, citocromo oxidasa positivo. Ha sido aislado del riñón de los peces mediante siembra en agar soya tripticasa e incubando a $20-25^{\circ}\text{C}$ durante 24-48 horas. Además puede utilizarse medio de Rimler-Shotts el cual al incubarse a 35°C durante 24-48 horas presenta crecimiento de colonias con características diferentes según la bacteria aislada.

Tratamiento

Para el tratamiento se recomienda la oxitetraciclina, furanace y cloranfenicol, en Estados Unidos sólo el primero ha sido aprobado para integrarlo en el alimento con una dosis de 50-75 mg/Kg de pez/día/10/días. Además, furanace en razón de 1-2 mg / l en baños por inmersión durante 5-10 minutos.

Prevención

Como medida profiláctica se recomienda separar los peces enfermos, así como prácticas de higiene y manejo adecuadas.

REFERENCIAS

- Anderson, D.P. 1974. Diseases of fishes. Book 4. Fish Immunology. Snieszko, S.F. and H.R. Alexrod. TFH. Publications, Jersey City, New Jersey. p 239.
- Antipa, R. R., Gould, and D.F. Amend. 1980. *Vibrio anguillarum* vaccination of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* by direct and hyperosmotic immersion. J. Fish Dis. 3:161-165.
- Austin, B., D. A. Morgan and D. J. Alderman. 1981. Comparison of antimicrobial agents for control of vibriosis in marine fish. Aquaculture. 26:1-12.
- Baya, A.M. and F.M. Hetrick. 1990. Increasing importance of *Citrobacter freundii* as a fish pathogen. FHS/AFS Newsletter, 18(4):4
- Bullock, G.L., R.C. Cipriano, and S.F. Snieszko. 1983. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. U.S. Fish and Wildlife Service. Fish Disease Leaflet 66:29
- Bullock, G.L., S.F. Snieszko and C.E. Dumbar. 1965. Characteristics and identification of oxidative pseudomonads isolated from diseased fish. Journal of General Microbiology. 38:1-7
- Bullock, G. L. 1971. Identification of fish pathogenic bacteria. In: Snieszko, S.F. and H. R. Alexrod. Diseases of fishes. TFH. Publication, Jersey City, New Jersey. p 151.
- Cann, D.C., and R. y Taylo. 1982. An outbreak of butulism in rainbow trout *Salmo gairdneri*. Richardson, farmed in Britain J. Fish Dis 5:393-399.
- Cipriano, R. C., and C. E. Starliper. 1982. Immersion and injection vaccination of salmonids against furunculosis with an avirulent strain of *Aeromonas salmonicida*. Prog. Fish. Cult. 44: 167-169
- Eklund, M.W., F. T., Poyshy, and d.I. Wieler. 1967. Characteristics of *Clostridium botulinum* type E isolated from the Pacific Coast of the United States. Appl. Microbiol. 15:1316-1323.
- Habnel, G. B. and R. W. Gould. 1982. Effects of temperature on biochemical reactions and drug resistance of virulent and antivirulent *Aeromonas salmonicida*. J. Fish Dis. 5: 329-337
- Harbell, S. C., H. O. Hodgins, and M. H. Schiewe. 1979. Studies on the pathogenesis of vibriosis in Coho Salmon *Oncorhynchus kisutch*. J. Fish Disease. 2: 391-404.
- Ranson, D. F., C. N. Lannan, J. S. Rohovec, and J. L. Fryer. 1984. Comparison of histopathology caused by *Vibri anguillarum* and *Vibrio ordalii* in three species of Pacific Salmon. J. Fish Dis. 7: 107-115

PROCEDIMIENTO GRAFICO PARA EL ANALISIS BACTERIOLOGICO Y FISICO QUIMICO DE AGUA

U A N L

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

REFERENCIAS

- Anderson, D.P. 1974. Diseases of fishes. Book 4. Fish Immunology. Snieszko, S.F. and H.R. Alexrod. TFH. Publications, Jersey City, New Jersey. p 239.
- Antipa, R. R., Gould, and D.F. Amend. 1980. *Vibrio anguillarum* vaccination of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* by direct and hyperosmotic immersion. J. Fish Dis. 3:161-165.
- Austin, B., D. A. Morgan and D. J. Alderman. 1981. Comparison of antimicrobial agents for control of vibriosis in marine fish. Aquaculture. 26:1-12.
- Baya, A.M. and F.M. Hetrick. 1990. Increasing importance of *Citrobacter freundii* as a fish pathogen. FHS/AFS Newsletter, 18(4):4
- Bullock, G.L., R.C. Cipriano, and S.F. Snieszko. 1983. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. U.S. Fish and Wildlife Service. Fish Disease Leaflet 66:29
- Bullock, G.L., S.F. Snieszko and C.E. Dumbar. 1965. Characteristics and identification of oxidative pseudomonads isolated from diseased fish. Journal of General Microbiology. 38:1-7
- Bullock, G. L. 1971. Identification of fish pathogenic bacteria. In: Snieszko, S.F. and H. R. Alexrod. Diseases of fishes. TFH. Publication, Jersey City, New Jersey. p 151.
- Cann, D.C., and R. y Taylo. 1982. An outbreak of butulism in rainbow trout *Salmo gairdneri*. Richardson, farmed in Britain J. Fish Dis 5:393-399.
- Cipriano, R. C., and C. E. Starliper. 1982. Immersion and injection vaccination of salmonids against furunculosis with an avirulent strain of *Aeromonas salmonicida*. Prog. Fish. Cult. 44: 167-169
- Eklund, M.W., F. T., Poyshy, and d.I. Wieler. 1967. Characteristics of *Clostridium botulinum* type E isolated from the Pacific Coast of the United States. Appl. Microbiol. 15:1316-1323.
- Habnel, G. B. and R. W. Gould. 1982. Effects of temperature on biochemical reactions and drug resistance of virulent and antivirulent *Aeromonas salmonicida*. J. Fish Dis. 5: 329-337
- Harbell, S. C., H. O. Hodgins, and M. H. Schiewe. 1979. Studies on the pathogenesis of vibriosis in Coho Salmon *Oncorhynchus kisutch*. J. Fish Disease. 2: 391-404.
- Ranson, D. F., C. N. Lannan, J. S. Rohovec, and J. L. Fryer. 1984. Comparison of histopathology caused by *Vibri anguillarum* and *Vibrio ordalii* in three species of Pacific Salmon. J. Fish Dis. 7: 107-115

PROCEDIMIENTO GRAFICO PARA EL ANALISIS BACTERIOLOGICO Y FISICO QUIMICO DE AGUA

U A N L

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN



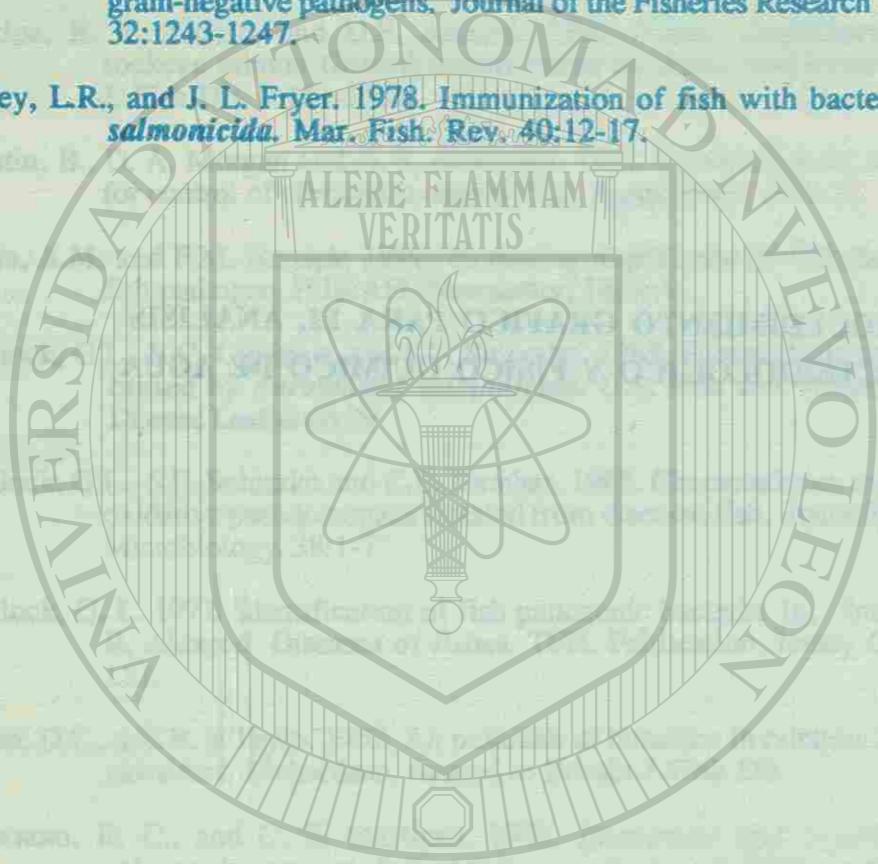
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Rucker, R.R., B. J. Earp, and E. J. Ordal. 1954. Infections diseases of Pacific salmon. Trans. Amer. Fish. Soc. 83:297-312.

Schiewe, M. H., T. J. Trust, and J. H. Crosa. 1981. *Vibrio ordalii*: a causative agent of vibriosis of fish. Curr. Microbiol. 6: 343-348

Shotts, E.B. and G.L. Bullock. 1975. Bacterial diseases of fishes: diagnostic procedures for gram-negative pathogens. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 32:1243-1247.

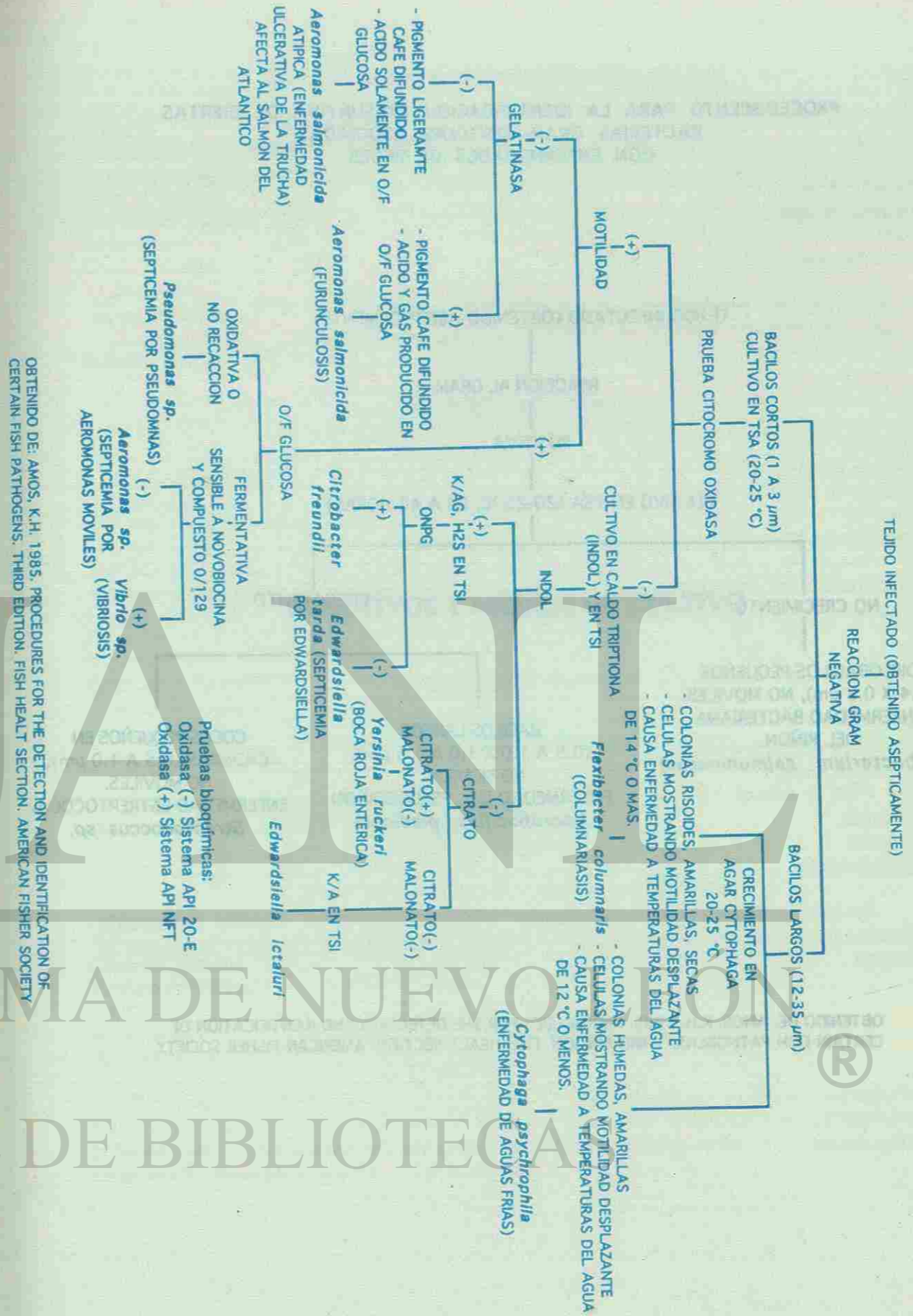
Udey, L.R., and J. L. Fryer. 1978. Immunization of fish with bacterins of *Aeromonas salmonicida*. Mar. Fish. Rev. 40:12-17.



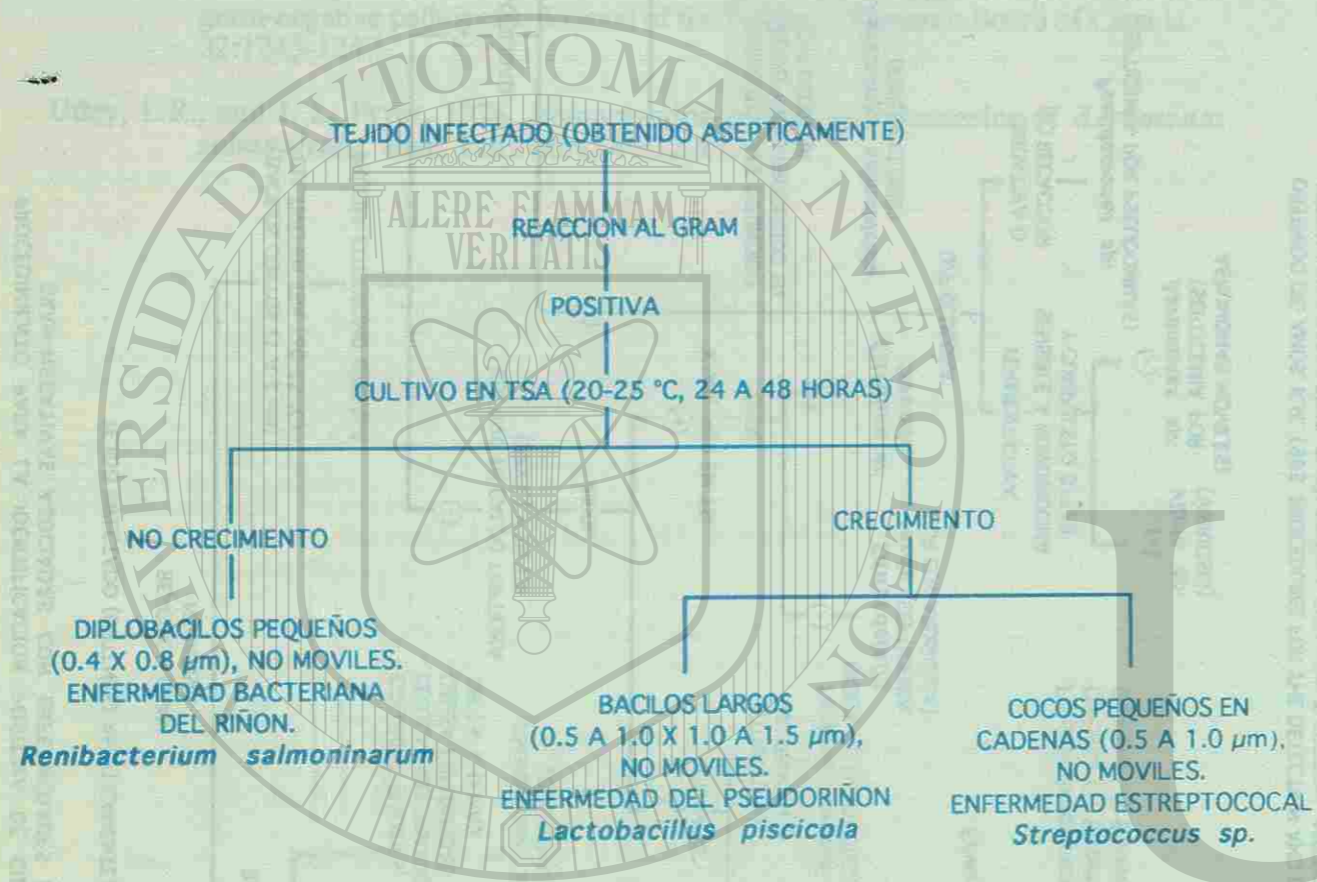
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECA

PROCEDIMIENTO PARA LA IDENTIFICACION POSITIVA DE CIERTAS BACTERIAS GRAM-NEGATIVAS ASOCIADAS CON ENFERMEDADES DE PECES.



PROCEDIMIENTO PARA LA IDENTIFICACION PRESUNTIVA DE CIERTAS BACTERIAS GRAM-POSITIVAS ASOCIADAS CON ENFERMEDADES DE PECES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

OBTENIDO DE: AMOS, K.H. 1985. PROCEDURES FOR THE DETECTION AND IDENTIFICATION OF CERTAIN FISH PATHOGENS. THIRD EDITION. FISH HEALTH SECTION. AMERICAN FISHER SOCIETY

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

AGAR CYTODIFFERENCIAL Y ORDEN

| | |
|------------------|-------|
| Peptono | 1 |
| Lactosa | 0.5 |
| Proteína papaína | 0.2 |
| Sales biliares | 0.2 |
| Cloruro de Sodio | 0.5 |
| Huano de resaca | 0.0 |
| Cristal violeta | 0.001 |
| Agu destilada | 1000 |

AGAR SOYA TRIPLIK ASA

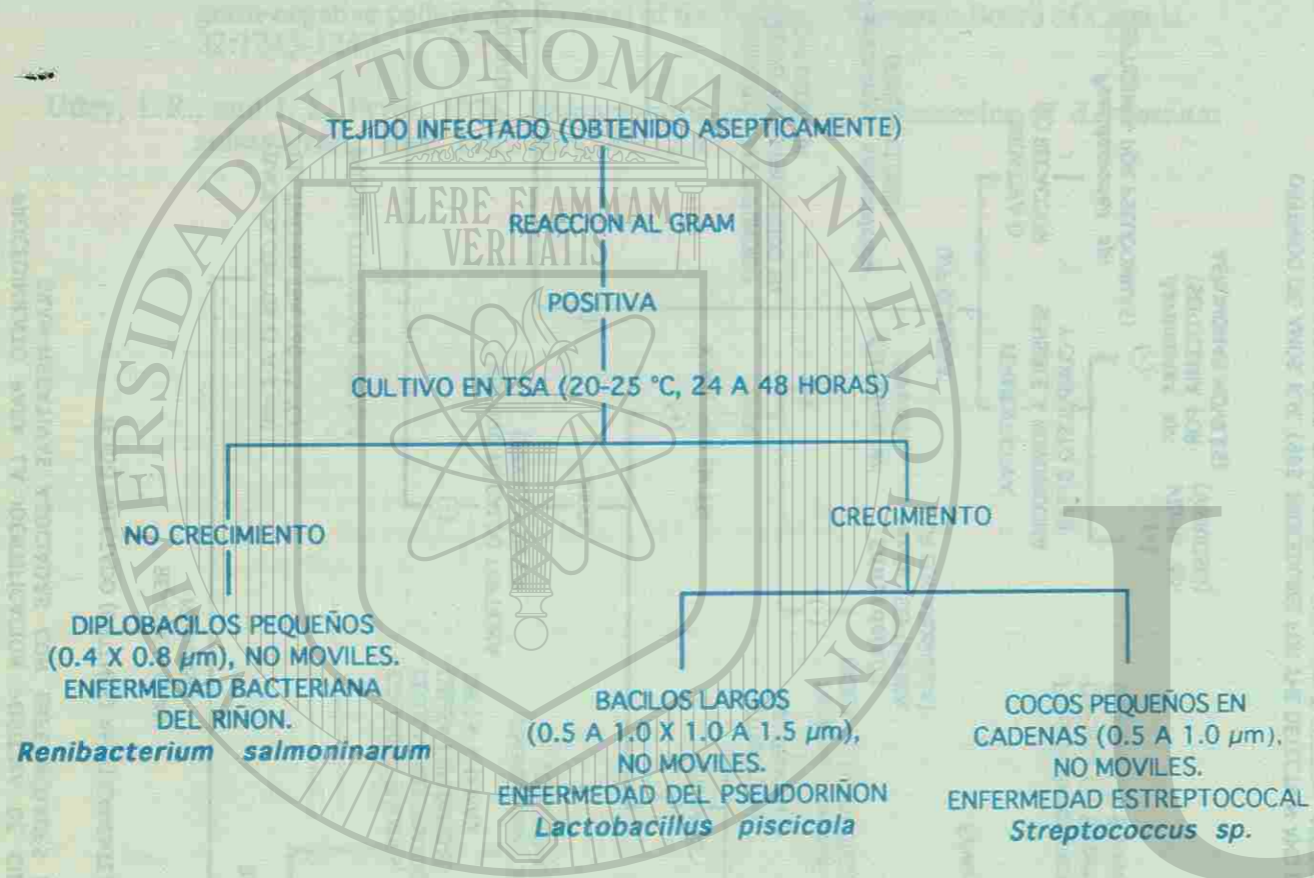
| | |
|----------------------|------|
| Almidón | 10 |
| Caseína | 10 |
| Cistina | 10 |
| Maltosa | 10 |
| Tatarralato de sodio | 10 |
| Agua destilada | 1000 |

REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

| | |
|---------------------|------|
| Agua destilada | 1000 |
| Agar | 10 |
| Cloruro de sodio | 10 |
| Proteína papaína | 10 |
| Peptono | 10 |
| Cloruro de magnesio | 10 |
| Sulfato de potasio | 10 |
| Agar a 1% la salina | 10 |
| Cermitas | 10 |
| Glicerina | 10 |
| Agua destilada | 1000 |



PROCEDIMIENTO PARA LA IDENTIFICACION PRESUNTIVA DE CIERTAS BACTERIAS GRAM-POSITIVAS ASOCIADAS CON ENFERMEDADES DE PECES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

OBTENIDO DE: AMOS, K.H. 1985. PROCEDURES FOR THE DETECTION AND IDENTIFICATION OF CERTAIN FISH PATHOGENS. THIRD EDITION. FISH HEALTH SECTION. AMERICAN FISHER SOCIETY

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Peptono 1
 Lactosa 0.5
 Proteína peptona 0.5
 Sales biliares 0.5
 Cloruro de Sodio 0.5
 Agua destilada 9.0
 Cristal violeta 1000

Preparar los ingredientes en el agua destilada, hervir durante 1 minuto, esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos y almacenar en frías.

AGAR SOYA TRIPLIK ASA

Almidón 100
 Glucosa 100
 Caseína 100
 Maltosa 100
 Triptofano 100

REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

Peptono 1
 Lactosa 0.5
 Proteína peptona 0.5
 Sales biliares 0.5
 Cloruro de Sodio 0.5
 Agua destilada 9.0
 Cristal violeta 1000

Suspender el cultivo en agua estéril, hervir durante 1 minuto, esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos y almacenar en frías.



AGAR CYTOPHAGA (Anacker y Ordal)

| | | |
|----------------------|------|----|
| Triptona | 0.5 | g |
| Extracto de levadura | 0.5 | g |
| Acetato de sodio | 0.2 | g |
| Extracto de carne | 0.2 | g |
| Agar | 9.0 | g |
| Agua destilada | 1000 | ml |

Suspender los ingredientes en el agua destilada, hervir durante 2 minutos, esterilizar en autoclave a 15 lb (121°C) durante 15 minutos, pH final 7.3 ± 0.2.

| | | |
|------------------|------|----|
| Triptona | 15 | g |
| Peptona de soya | 5 | g |
| Cloruro de sodio | 5 | g |
| Agar | 15 | g |
| Agua destilada | 1000 | ml |

Suspender los ingredientes en el agua destilada, hervir durante 2 minutos, esterilizar en autoclave a 15 lb (121°C) durante 15 minutos.

| | | |
|---------------------|------|----|
| Peptona | 20 | g |
| Cloruro de magnesio | 1.4 | g |
| Sulfato de potasio | 10 | g |
| Agar | 13.6 | g |
| Cetrimida | 0.3 | g |
| Glicerina | 10 | g |
| Agua destilada | 1000 | ml |

Suspender el polvo en agua, agregar 10 ml de glicerina, calentar calentado frecuentemente y dejar hervir 1 minuto. Esterilizar en autoclave a 15 lb (121°C) durante 15 minutos.

AGAR TIO/AGAR MacConkey

| | | |
|------------------|-------|----|
| Peptona | 17 | g |
| Lactosa | 10 | g |
| Proteosa peptona | 3 | g |
| Sales biliares | 1.5 | g |
| Cloruro de Sodio | 5 | g |
| Rojo neutro | 0.03 | g |
| Cristal violeta | 0.001 | g |
| Agua destilada | 1000 | ml |

Suspender los ingredientes en el agua destilada y calentar a ebullición por 1 minuto. Esterilizar en autoclave a 15 lb por 15 min.

MEDIO DE RIMLER SHOTTS

| | | |
|-------------------------|-------|----|
| Lisina | 5.0 | g |
| Ornitina | 6.5 | g |
| Cisteína | 0.3 | g |
| Maltosa | 3.5 | g |
| Tiosulfato de sodio | 6.8 | g |
| Azul de bromotimol | 0.03 | g |
| Citrato férrico-amónico | 0.8 | g |
| Desoxicolato de sodio | 1.0 | g |
| Novociocina | 0.005 | g |
| Extracto de levadura | 3.0 | g |
| Cloruro de sodio | 5.0 | g |
| Agar | 13.5 | g |
| Agua destilada | 1000 | ml |

Disolver los ingredientes, hervir por un minuto con agitación, ajustar el pH a 7.0, enfriar a 45°C y distribuir en placas Petri. No esterilizar.

MEDIO BASE OF DE HUGH Y LEIFSON

| | | |
|--------------------|--------|----|
| Peptona | 2.0 | g |
| Cloruro de sodio | 5.0 | g |
| Fosfato de potasio | 0.3 | g |
| Agar | 3.0 | g |
| Agua destilada | 1000.0 | ml |
| Azul de bromotimol | 15.0 | ml |

Disolver los ingredientes en agua destilada, ajustar el pH a 7.1, filtrar y agregar el indicador. Esterilizar en autoclave a 15 lb durante 15 min. Asépticamente agregar una solución estéril (esterilizada por filtración) del carbohidrato para tener una concentración final de 1%. Mezclar y distribuir en tubos estériles.

AGAR CY CALDO MALONATO (188)

| | | |
|----------------------|--------|----|
| Extracto de levadura | 1.0 | g |
| Sulfato de amonio | 2.0 | g |
| Fosfato de potasio | 0.6 | g |
| Fosfato monopotásico | 0.4 | g |
| Cloruro de sodio | 2.0 | g |
| Malonato de sodio | 3.0 | g |
| Dextrosa | 0.25 | g |
| Azul de bromotimol | 0.025 | g |
| Agua destilada | 1000.0 | ml |

Disolver los ingredientes en el agua destilada. Distribuir en tubos de 13 x 100 mm en volúmenes de 2 ml. Esterilizar en autoclave a 15 lb durante 15 min.

AGAR CITRATO DE SIMMONS

| | | |
|---------------------|--------|----|
| Fosfato de amonio | 1.0 | g |
| Fosfato de potasio | 1.0 | g |
| Cloruro de sodio | 5.0 | g |
| Citrato de sodio | 2.0 | g |
| Sulfato de magnesio | 0.2 | g |
| Azul de bromotimol | 0.08 | g |
| Agar | 15.0 | g |
| Agua destilada | 1000.0 | ml |

Suspender los ingredientes en el agua destilada. Esterilizar en autoclave a 15 lb por 15 min.

AGAR TRIPLE AZUCAR FIERRO (TSD)

| | | |
|-------------------------|--------|----|
| Triptona o polipeptona | 20.0 | g |
| Cloruro de sodio | 5.0 | g |
| Lactosa | 10.0 | g |
| Sacarosa | 10.0 | g |
| Glucosa | 1.0 | g |
| Sulfato ferroso amónico | 0.2 | g |
| Tiosulfato de sodio | 0.2 | g |
| Rojo de fenol | 0.025 | g |
| Agar-agar | 13.0 | g |
| Agua destilada | 1000.0 | ml |

Suspender los ingredientes en el agua destilada. Mezclar bien y calentar a ebullición agitando ocasionalmente hasta disolución completa. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Distribuir en volúmenes de 3 ml en tubos de 13 x 100 mm. Inclinarse los tubos de manera que el medio de cultivo en el fondo del tubo alcance una profundidad de 1 a 1.5 cm.

GELATINA NUTRITIVA

| | | |
|-------------------|--------|----|
| Extracto de carne | 3.0 | g |
| Peptona | 5.0 | g |
| Gelatina | 120.0 | g |
| Agua destilada | 1000.0 | ml |

Agregar la gelatina al agua y dejar reposar por 15 a 30 min.. Calentar para disolver la gelatina, agregar y disolver los otros ingredientes. Esterilizar en autoclave a 15 lb durante 15 min.

CALDO TRIPTONA

Disolver 10 g de triptona en un litro de agua destilada, distribuir en porciones de 2 ml a tubos de 13 x 100 mm. Esterilizar en autoclave a 15 lb durante 15 min.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

37842

CALDO NUTRITIVO

| | | |
|-------------------|--------|----|
| Extracto de carne | 3.0 | g |
| Peptona | 5.0 | g |
| Agua destilada | 1000.0 | ml |

Disolver los ingredientes, esterilizar en autoclave a 15 lb durante 15 min.

REACTIVO PARA PRUEBA DE OXIDASA

| | | |
|--|-------|----|
| Clorhidrato de tetra-metil-p, fenilendiamina | 1.0 | g |
| Agua destilada | 100.0 | ml |



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA

DIRECCIÓN GENERAL DE

87878

MICOLOGIA DE PECES

METODOS PARA DETECCION DE ALGUNAS ENFERMEDADES MICOTICAS

Juan Manuel Adame Rodriguez y Fernando Jiménez Guzmán
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

INTRODUCCION

Las enfermedades micóticas en peces se conocen desde hace muchos años, Huxley 1882, Murray 1885, Hofer 1893. estas micosis para su estudio han sido clasificadas por su forma de afectar a los peces como micosis superficiales o externas y sistémicas o internas, esto aunado a la forma, dimensiones y requerimientos nutricionales de los hongos son los aspectos que determinan las técnicas de laboratorio que deben ser utilizadas para el diagnóstico de la enfermedad.

PROCEDIMIENTOS GENERALES PARA MICOLOGIA

Infecciones Externas

Aunque algunas infecciones micóticas son visibles a simple vista, todas las superficies del cuerpo y branquias deben ser examinadas cuidadosamente, tratando de observar masas algodonosas, nódulos u otras lesiones epiteliales indicativas de la presencia de hongos., por lo que deben practicarse preparaciones semipermanentes (montajes en fresco) a partir de las lesiones asi como tambien del moco desprendido de la superficie del pez, las muestras tomadas deben examinarse al microscopio con poco aumento.

Infecciones Externas

Después de que el pez ha sido disectado y se han colectado las muestras bacteriológicas, se examinan los órganos cuidadosamente en búsqueda de quistes, nódulos o algún signo de apariencia inusual, en las branquias, cerebro, bazo y otras visceras deberán revisarse con lente de mano (lupa), o al microscopio estereoscópico para despues realizar preparaciones semipermanentes(en fresco)de todos los tejidos sospechosos, el examen microscópico debe ser hecho a todas las muestras en preparaciones semipermanentes(en fresco) y observadas a seco debil y seco fuerte. en ambos casos la fijación y preservación se efectúa colocando las muestras en una solución de formol al 10%

Mientras que Las preparaciones en fresco se pueden manejar con KOH al 4%, DMSO (dimetilsulfoxido), o azul de lactofenol.

Para el procesamiento histológico despues de utilizar las técnicas comunes se recomienda la tinción de PAS (ácido peryódico de Schiff), o Gormori-Grocott, para tinciones diferenciales. con objeto de destacar las características del hongo.

La muestra que se utilice para cultivo debe lavarse en solución salina y flamearse su superficie, posteriormente sembrar en el medio de cultivo que se recomiende según la naturaleza del patógeno buscado.(A. saboraud, PDA, etc.).

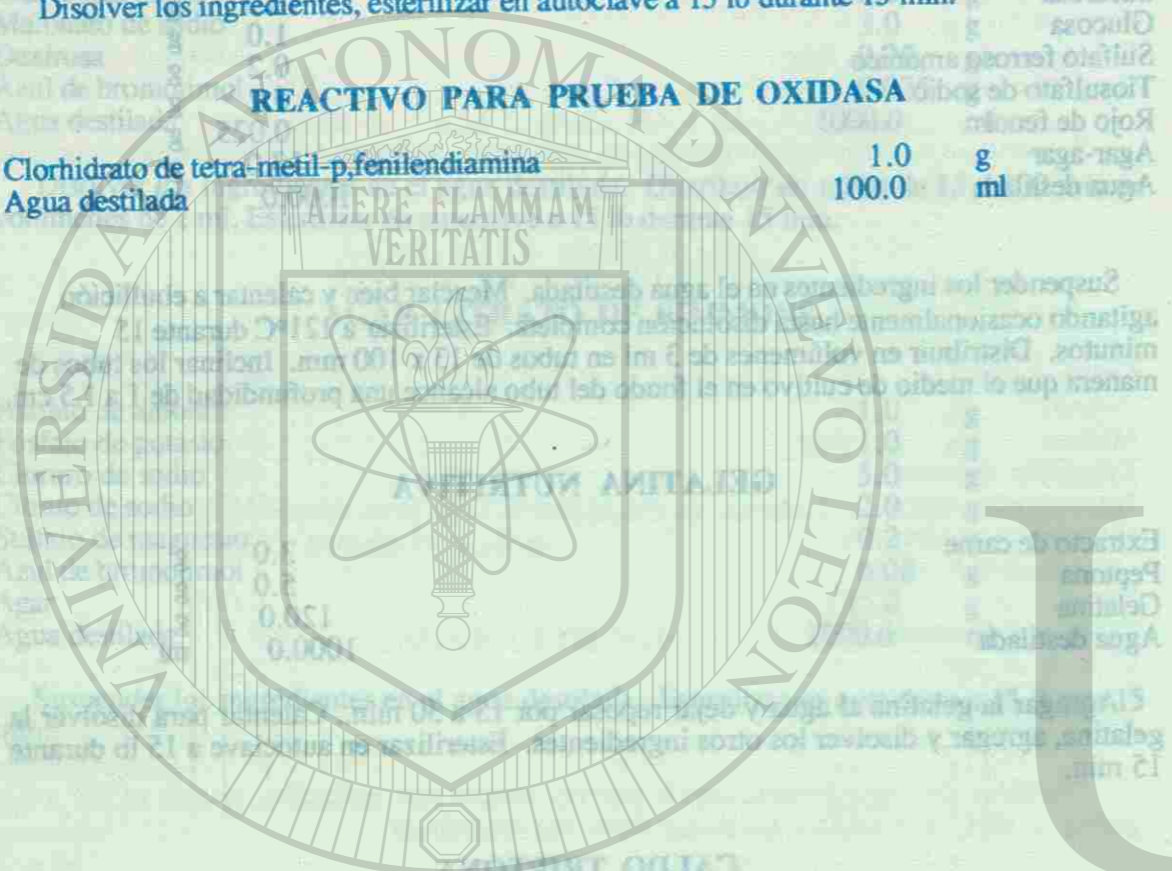
CALDO NUTRITIVO

| | | |
|-------------------|--------|----|
| Extracto de carne | 3.0 | g |
| Peptona | 5.0 | g |
| Agua destilada | 1000.0 | ml |

Disolver los ingredientes, esterilizar en autoclave a 15 lb durante 15 min.

REACTIVO PARA PRUEBA DE OXIDASA

| | | |
|--|-------|----|
| Clorhidrato de tetra-metil-p, fenilendiamina | 1.0 | g |
| Agua destilada | 100.0 | ml |



Disolver los ingredientes en un litro de agua destilada, distribuir en porciones de 3 ml en tubos de 13 x 100 mm, esterilizar en autoclave a 15 lb durante 15 min.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA

DIRECCIÓN GENERAL DE

87845

MICOLOGIA DE PECES

METODOS PARA DETECCION DE ALGUNAS ENFERMEDADES MICOTICAS

Juan Manuel Adame Rodriguez y Fernando Jiménez Guzmán
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

INTRODUCCION

Las enfermedades micóticas en peces se conocen desde hace muchos años, Huxley 1882, Murray 1885, Hofer 1893. estas micosis para su estudio han sido clasificadas por su forma de afectar a los peces como micosis superficiales o externas y sistémicas o internas, esto aunado a la forma, dimensiones y requerimientos nutricionales de los hongos son los aspectos que determinan las técnicas de laboratorio que deben ser utilizadas para el diagnóstico de la enfermedad.

PROCEDIMIENTOS GENERALES PARA MICOLOGIA

Infecciones Externas

Aunque algunas infecciones micóticas son visibles a simple vista, todas las superficies del cuerpo y branquias deben ser examinadas cuidadosamente, tratando de observar masas algodonosas, nódulos u otras lesiones epiteliales indicativas de la presencia de hongos., por lo que deben practicarse preparaciones semipermanentes (montajes en fresco) a partir de las lesiones asi como tambien del moco desprendido de la superficie del pez, las muestras tomadas deben examinarse al microscopio con poco aumento.

Infecciones Externas

Después de que el pez ha sido disectado y se han colectado las muestras bacteriológicas, se examinan los órganos cuidadosamente en búsqueda de quistes, nódulos o algún signo de apariencia inusual, en las branquias, cerebro, bazo y otras visceras deberán revisarse con lente de mano (lupa), o al microscopio estereoscópico para despues realizar preparaciones semipermanentes(en fresco)de todos los tejidos sospechosos, el examen microscópico debe ser hecho a todas las muestras en preparaciones semipermanentes(en fresco) y observadas a seco debil y seco fuerte. en ambos casos la fijación y preservación se efectúa colocando las muestras en una solución de formol al 10%

Mientras que Las preparaciones en fresco se pueden manejar con KOH al 4%, DMSO (dimetilsulfoxido), o azul de lactofenol.

Para el procesamiento histológico despues de utilizar las técnicas comunes se recomienda la tinción de PAS (ácido peryódico de Schiff), o Gormori-Grocott, para tinciones diferenciales. con objeto de destacar las características del hongo.

La muestra que se utilice para cultivo debe lavarse en solución salina y flamearse su superficie, posteriormente sembrar en el medio de cultivo que se recomiende según la naturaleza del patógeno buscado.(A. saboraud, PDA, etc.).

ICTIOFONIASIS

El agente causal de la Ictiofoniasis es *Ichthyophonus hoferi* el cual también ha sido llamado por algunos *Ichthyosporidium hoferi*.

Rango de Hospederos y Distribución Geográfica

Principalmente lo encontramos en cultivos de trucha en el oeste de los Estados Unidos de Norteamérica, peces marinos y de acuario. Post menciona 73 especies de peces entre marinos y de agua dulce susceptibles de contraer esta enfermedad, su distribución es mundial con predominancia en los climas templados, carece de especificidad de hospederos, otros hongos parecidos han sido reportados en anfibios, pero se desconoce si son similares a las formas observadas en peces. *Ichthyophonus* ha sido encontrado en carpa, trucha, y salmón esto sucede cuando son alimentados con peces o restos de peces enfermos o portadores, o bien cuando se permite la acumulación de esporas en los estanques es muy elevada.

Signos Clínicos de Importancia Diagnóstica

El pez infectado deja de comer y presenta letargia en casos agudos, pudiendo desarrollar deformidades en la espina dorsal, nódulos en el riñón, hígado, y músculo, así como las esporas en el bazo y cerebro, en infecciones crónicas no se desarrollan signos visibles.

Procedimientos diagnósticos para infecciones localizadas

Examine preparaciones semipermanentes (en fresco) de tejido de riñón u otro tejido sospechoso, se observan cuerpos esféricos de tamaño variable dentro del rango de 10 a 100 micras se observan esferas unidas a protuberancias hifales, esos tubos germinativos son de importancia diagnóstica.

Procedimientos para detectar infecciones asintomáticas

Las infecciones asintomáticas son muy difíciles de diagnosticar por lo que algunos autores han llegado a sugerir que se requiere hasta de un 5% de la población de cada lote de peces, en estos casos se recomienda tomar improntas de riñón fijadas al aire y tenidas con azul de metileno, como una forma rápida y selectiva de casos, dado el elevado volumen de muestras.

En la actualidad se desconocen métodos serológicos precisos o de otro tipo, por lo que se recomienda el cultivo de este hongo en agar saboraud enriquecido con suero fetal de ternera al 1%.

Transporte de las Muestras

Se recomienda que sean peces vivos o muestras sean frescas de tejido infectado, las cuales pueden estar congeladas sin alterar por esto la morfología del hongo pero se desconoce el efecto sobre su viabilidad.

SAPROLEGNIASIS

Este es el nombre común que reciben las micosis superficiales causadas por hongos acuáticos saprófitos como son los géneros *Saprolegnia*, *Achlya*, *Aphanomyces*, *Leptomitium*, *Phyrium*, los cuales ocasionalmente pueden invadir piel aparentemente sana lo que sucede cuando los peces sufren de stress por shock térmico en este caso se consideran infecciones primarias, cuando se establecen en llagas y lesiones de otro origen las infecciones se consideran secundarias, estos hongos deben ser cultivados para su diagnóstico.

En muchas especies de peces la invasión de huevos por estos hongos es muy común, por lo que se refleja en grandes pérdidas.

Distribución Geográfica

Estos hongos se distribuyen mundialmente y se encuentran habitualmente en agua dulce y salobre, algunos también pueden aislarse en suelos húmedos, la salinidad superior a 2.8% limita su distribución, sus zoosporas pueden también ser transportadas por el aire, todos los peces de agua dulce y los huevos son susceptibles de adquirir saprolegniasis.

Signos Clínicos de Importancia Diagnóstica

La presencia de masas algodonosas de color blanco grisáceo o pardo (debido a el detritus que se adhiere), en la piel, aletas, branquias y ojos es posible considerarlo como diagnóstico presuntivo para iniciar un tratamiento.

Procedimientos para el Diagnóstico

Se toma una pequeña muestra de micelio, se monta en KOH al 4% entre porta y cubreobjetos para su observación al microscopio, notándose micelio ramificado, cenocítico, con zoosporangios en el apice micelial de diferentes formas según el género que se trate (ver figuras), para la identificación del género podemos cultivarlo si fuera necesario en agar saboraud con semillas de maíz hervidas a manera de trampas o cebo.

BRANQUIOMICOSIS

Branquiomycetes demigrans y *B. sanguinis* son agentes etiológicos de la enfermedad conocida como branquiomicosis, estos hongos invaden los vasos sanguíneos de las branquias, y se ha observado una mayor prevalencia en peces cultivados en aguas cálidas y con alto contenido de materia orgánica, estos hongos pueden ser reconocidos dentro de los filamentos branquiales, en preparaciones semipermanentes (en fresco).

Distribución Geográfica

Este hongo ha sido detectado en Alemania, Checoslovaquia, Polonia, Italia, Rusia, Japon, India, y Estados Unidos de America, Post menciona que probablemente todas las especies de peces son susceptibles de contraer esta enfermedad.

Signos Clínicos de Importancia Diagnóstica

Existen dos especies del género *Branquiomycetes*, *B. demigrans* y *B. sanguinis* en ambas la vía de infección es el agua, las esporas presentes se fijan en los filamentos branquiales donde se establecen. *B. demigrans* se localiza unicamente en el epitelio debido a que requiere una baja tensión de oxígeno, mientras que *B. sanguinis* invade los capilares formando trombos que obstruyen el flujo sanguíneo lo que propicia necrosis del tejido.

Los peces con procesos agudos y subagudos pueden mostrarse letárgicos, el curso agudo de la enfermedad suele presentarse durante los meses cálidos, en este caso las branquias pueden aparecer con un color rojo brillante o con zonas blancas o color café según el grado de necrosis.

Procedimientos de Laboratorio para Branquiomycosis

Las agallas deben ser disectadas y el hongo cultivado en un medio artificial, una parte del tejido branquial invadido debe ser depositado en un portaobjetos con una pequeña cantidad de agua y aplanado con una varilla de vidrio a manera de extender la muestra, esto hace que el hongo se separe del tejido, el material así tratado se transfiere a un tubo de centrifuga, se le adiciona agua y se centrifuga por 3 minutos, en este proceso tanto el tejido como el hongo se sedimentan formando un boton al fondo del tubo, despues se decanta la fase acuosa y se reemplaza por agua destilada y se centrifuga de nuevo, el cambio de agua se realiza por varias ocasiones hasta que el agua quede totalmente transparente. a partir de este momento la muestra puede usarse para observaciones al microscopio o bien para el cultivo del hongo, en el último caso se recomienda que la muestra sea sumergida en una solución de formalina al 2% por 2 minutos esto destruye a las bacterias pero no al hongo, el cual debe transferirse al medio de cultivo con una pipeta estéril

Los medios de cultivo recomendados son agar saboraud's, agar con glucosa peptonizada y extracto de carne al 3%.

El hongo obtenido durante la examinación del pez o por cultivo en medio artificial puede ser teñido por el método de Swartz-Cooledge, modificado por Pejsa para una identificación mas precisa. el hongo o una porcion del tejido atacado por él, deben sumergirse por un lapso de 5-60 minutos en KOH al 15%, lavarse en agua corriente y transferirse a un portaobjetos, el exceso de agua se retira, con papel filtro, la muestra debe aplanarse con otro portaobjetos y la preparación libre secarse al aire, una vez secada es fijada a la flama, la preparación se cubre con una solución de fioxina al 1%, para despues calentarla a que desprenda vapores, pasados 15-20 minutos se lava con agua corriente, se deja secar al aire y se agrega la solución de tinción (56°C) y dejar secar por 75 minutos, la preparación se lava con agua, se seca y se observa al microscopio.

La solución de tinción consiste en cantidades iguales de anilina azul diluida, lactofenol, y aceite de clavo (especie), la dilución de anilina se prepara, mezclando una solución acuosa de anilina al 5% (solucion madre) en 75ml. de agua destilada, el lactofenol consiste en una parte de acido lactico 20 gr, cristales de fenol 20 gr y agua destilada 20ml., en dos partes de glicerina 40 gr, los hongos teñidos toman color rojo y su entorno azul claro

OTRAS MICOSIS INTERNAS

Existen otros hongos conocidos como patógenos de salmónidos, los mas importantes son: *Scolecobasidium humicola* observado en salmones confinados con fines experimentales. (*Oncorhynchus kisutch*)

Signos Clínicos de Importancia Diagnóstica

Los peces afectados muestran en general un abdomen aumentado de tamaño, además de lesiones en la piel, en otras ocasiones se observan ascitis, adherencias y zonas grisáceas en los órganos internos, especialmente riñón.

Procedimientos para el diagnóstico

Deben realizarse preparaciones semipermanentes (en fresco) a partir de las lesiones, estas se preparan con KOH al 4%, observandose al microscopio en los casos positivos hifas septadas, ramificadas., el cultivo en agar saboraud desarrolla colonias de color verde oliváceo con superficie pulverulenta, las colonias viejas son de color negro, con hifas aéreas oscuras, las conidias son uniseptadas e individuales.

Phoma herbarum se detecto en 1975 causando enfermedad en tres especies de salmones (*O. kisutch*, *O. tshawytscha*, *S. gardnieri*) en los estados de Oregon y Washington.

Signos Clínicos de Importancia Diagnóstica

Los peces afectados generalmente son alevines, presentan nado irregular con dificultad para mantener el equilibrio, presentan hinchazón anal con lesiones hemorrágicas en la piel y aletas, inicialmente las lesiones se limitan a la vejiga natatoria y consisten en pequeñas manchas blanquecinas de 1-2 mm, probablemente sea su conducto neumático el primero que sufre la infección, en casos mas avanzados el lumen de la vejiga natatoria se llena de micelio.

Descripción del Hongo

Las colonias juvenes obtenidas en agar saboraud son de color rosa claro que cambian a un gris verdoso y hasta tomar un color negro formando un pycnidio, con conidias hialinas unicelulares.

ANEXO I

TECNICA DE TINCION DE GOMORI-GROCOT. (metenamina argéntica y ac. crómico,GMS).

- 1.-desparafinizar los cortes y llevar a agua destilada. tratar los portaobjetos con colodión y colocar en alcohol de 95. (los frotis se preparan en portaobjetos tratados con albúmina y fijados con alcohol de 95).
- 2.-los cortes hidratados y los frotis se oxidan con ac. crómico al 5% durante una hora, se lavan despues en agua corriente por 10 minutos, para tratarse con bisulfito sodico un minuto con objeto de eliminar todo residuo de ac. crómico. a continuación se lavan de nuevo en agua corriente durante 5 minutos y finalmente en agua destilada por 3 veces seguidas.
- 3.-blanquear a 45 o 50 °c en una solución preparada por adición de 25ml. de nitrato de plata-metenamina a una porción igual de agua destilada que contenga de 1-2 ml. de borax al 5%. los hongos y la mucina empezaran a tenirse al cabo de 25-30 minutos debiendo observarse en este momento al microscopio. cuando la tinción es óptima los portaobjetos se lavan en agua destilada dos o tres veces.
- 4.-Tratar con cloruro de oro al 0.1% durante 5 minutos lo cual blanqueará también el fondo. enjuagar en agua destilada.
- 5.-Eliminar la plata no reducida por tratamiento con tiosulfato sódico al 2% durante 1o2 minutos, y despues lavar cuidadosamente, y contracolorrear, si se considera necesario, con safranina si se desea tener de rojo los núcleos, o con una combinación de hematoxilina-eosina cuando se interesa poner de manifiesto los detalles en los tejidos.

REFERENCIAS

- Amos K.H.1985. Methods for the detection of certain mycotic diseases .third edition fish health section American Fisheries society.pp98-101.
- Ericson, J.D.(1965.) Report on the problem of *Ichthyosporidium* in rainbow trout. Progressive fish-culturist. 27: 179-184.
- Holland, M.(1971). *Saprolegnia* life cycle. Carolina tips 34:1-4.
- Lucky, Z. (1977). Methods for the diagnosis of fish diseases. ed. by Glenn L Hoffman. Fish and Wildlife service, U.S. Dept. of the interior and National Science foundation, Washington D.C. pp. 78-80.
- Neish, G.A.,and Huges (no date). fungal diseases of fishes. T.F.H. publications ,inc. Neptune city, New jersey.
- Post, G.(1983.) Textbook of Diseases fish, chapter V ed. T.F.H. N.J. pp73-83.
- Ross.A.J. and W.T. Yasutake.(1973.) *Scolecobasidium humicola* , a fungal pathogen of fish. J.fish res.bd.Can.30: 994-995.
- Yasutake,W.T.and S. Leek.(1975).*Phoma herbarum* ,a fungal plant saprophyte, as a fish pathogen.J.fish.res.bd.Can.32: 1648-1652.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

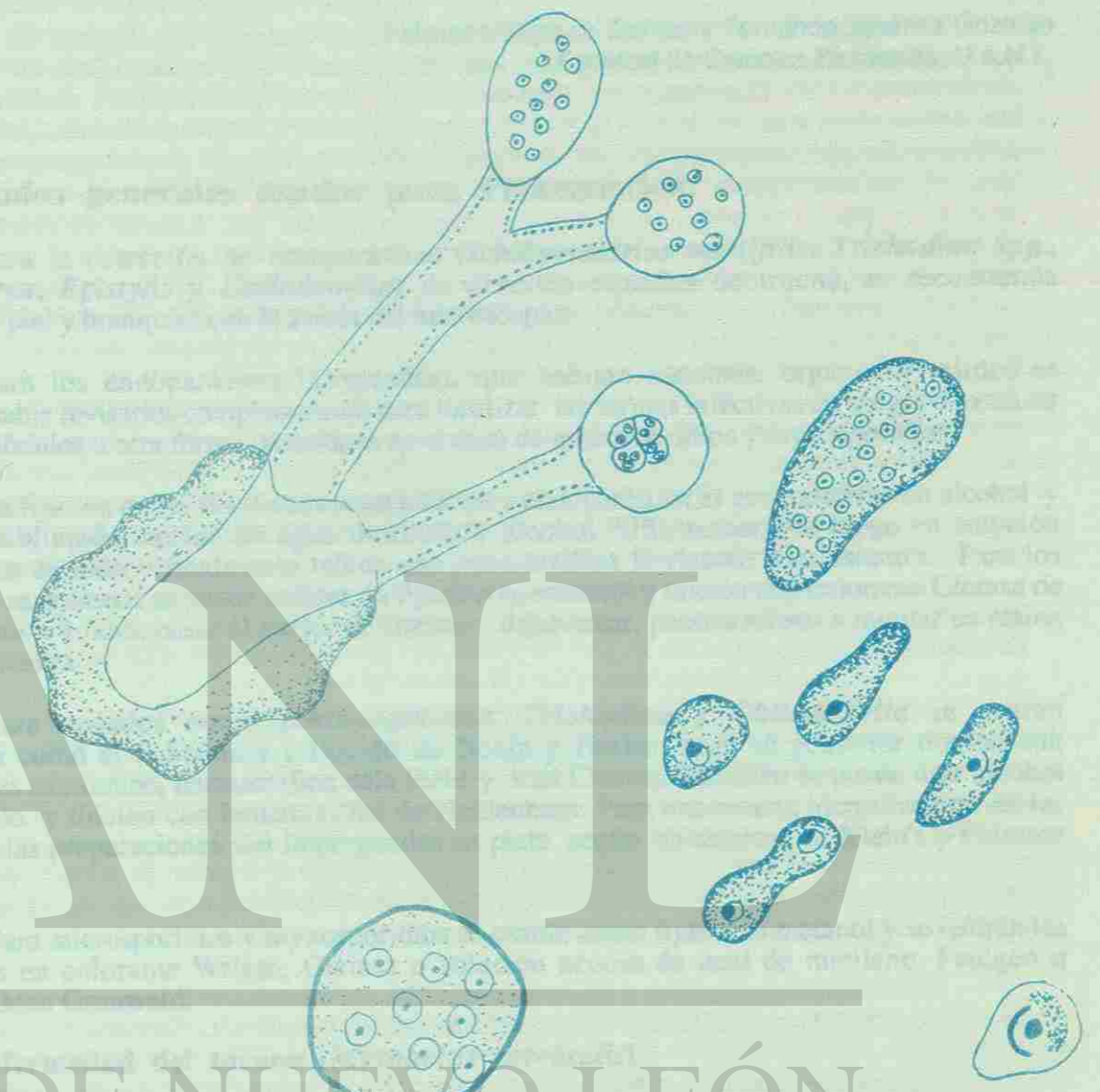


Saprolegnia sp

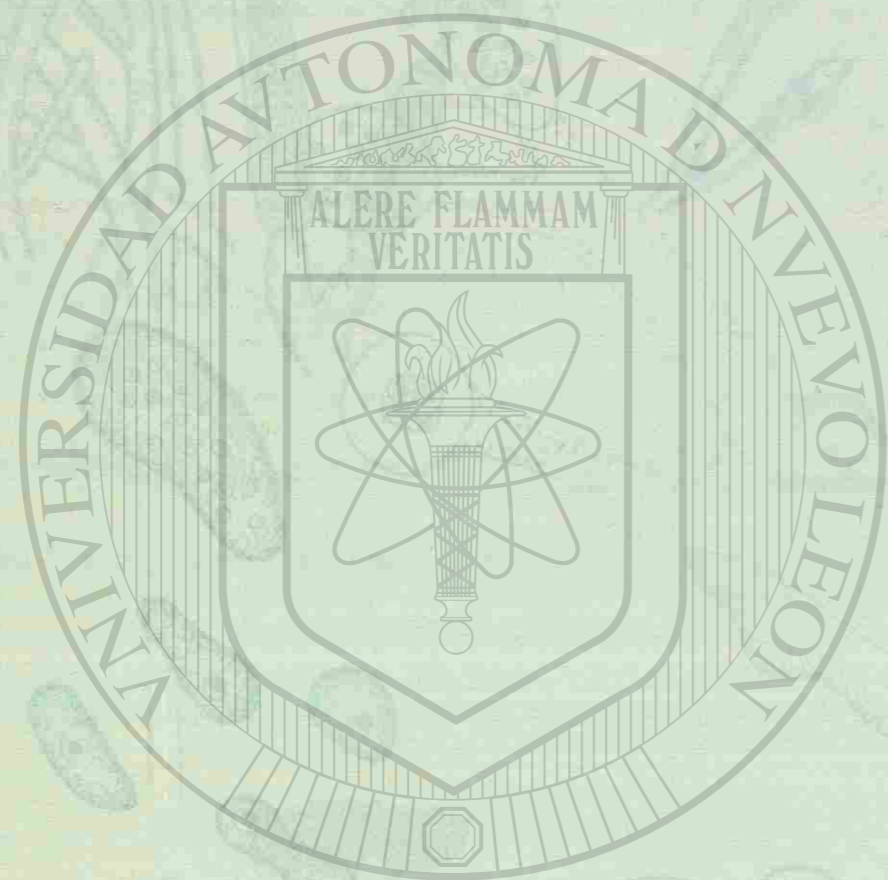
Aphanomyces sp

Achlya sp

Pythium sp



Ichthyophonus hoferi



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECA Y DOCUMENTACIÓN

DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES PARASITARIAS

Feliciano Segovia Salinas y Fernando Jiménez Guzmán
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

I. Metodos generales usados para Protozoarios:

Para la detección de Ectoparásitos (*Ichthyophthirius multifiliis*, *Trichodina* spp., *Ambiphrya*, *Epistylis* y *Chilodonella*) de diversas especies de trucha, se recomienda examinar piel y branquias con la ayuda del microscopio.

Para los endoparásitos (*Cryptobia*), que habitan sistemas, órganos y tejidos es indispensable revisarlos completamente para localizar las formas infectivas en sangre o localizar quistes, nódulos u otra forma parasitaria en el caso de microsporidios y myxosporidios.

La fijación de los flagelados ectoparásitos y endoparásitos es generalmente en alcohol y el formol sublimado, lavado en agua destilada y alcohol 70%, sumergida luego en solución alcohólica de iodo y finalmente teñida con hematoxilina férrica de Heidenhain's. Para los parásitos sanguíneos se puede utilizar la fijación en metanol y tinción con colorante Giemsa de 15 minutos a 1 hora, pasar al buffer de Giemsa, dejar secar, pasar a xileno y montar en resina sintética neutra.

Para ciliados como *Ichthyophthirius*, *Trichodina* y *Chilodonella* se usarán fijadores como el Schaudinn y líquido de Bouin y Zenker, para su posterior tinción con colorantes tricrómico, hematoxilina de la Field y Van Cleave. También se puede usar alcohol sublimado y tinción con hematoxilina de Heidenhain. Para una exacta identificación de las especies las preparaciones son impregnadas en plata según las técnicas de Klein's y Foissner (1992).

Para microsporidios y myxosporidios se usarán como fijador el metanol y se teñirán las muestras en colorante Wrigth, Giemsa o solución acuosa de azul de metileno, Feulgen o Giemsa-Mac Grunwald.

II. Enfermedad del torneo (*Myxobolus cerebralis*)

La enfermedad del torneo es referido algunas veces como una infección crónica no contagiosa de la trucha y otras especies de la familia salmonidae. El parásito tiene un tropismo específico por cartilago. Si la infección es alta y ataca peces juveniles, generalmente ocurren mortalidades severas. Los peces muestran un comportamiento anormal en su nado y melanismo notorio de la aleta y pedunculo caudal, los cuales son signos de la "cola negra". Cuando el parásito ha tenido suficiente tiempo para desarrollarse, la cabeza y el esqueleto axial comienzan a desfigurarse. Este parásito pertenece a un grupo de protozoarios conocido como myxosporidios. Se encontró por vez primera en Europa hace más de cien años, y su ciclo vital se descubrió hace aproximadamente 10 años.

Diagnosis: La enfermedad del torneo puede ser diagnosticada clínicamente en base a su apariencia y cambios de su comportamiento. Los peces no comen y algunos individuos muestran el torneo a lo largo de todo el cuerpo. El pedunculo empieza a oscurecerse. Los órganos internos son normales, en cortes histológicos en cartilago muestran daños como lisis.

Si la infección tiene 3 o más meses, se notan las esporas pequeñas, biconvexa, en forma de disco, típicas de *Myxobolus cerebralis*. Las técnicas de rutina usadas en histología son: la de hematoxilina y eosina, Giemsa, May-Grunwald-Giemsa y Ziehl Neelsen, las cuales tiñen bien las cápsulas polares.

Identificación: Como en muchas especies de myxosporidios, las esporas de *Myxobolus cerebralis* no son fáciles de distinguir y aún resulta más difícil la identificación morfológica por una persona sin experiencia en el campo de la protozoología. La espora madura es circular, lenticular, biconvexa; mide de 8 a 10 micras de diámetro, tienen dos cápsulas polares ovales, conteniendo filamentos polares en el extremo de la espora. Se deberá tomar en cuenta la localización anatómica de las esporas, localización geográfica, historia clínica del centro acuícola, especies de peces afectadas y signos clínicos del pez. Además es importante en la identificación tamaño y forma de la espora, datos de epizootiología y serología. En serología es usada la técnica de anticuerpos fluorescentes (Markiw & Wolf, 1978). Antisuero de conejo contra *M. cerebralis* es conjugado con isotiocianato de fluoresceína. Este compuesto químico reacciona con esporas y presporas y la reacción puede ser observada con un microscopio de fluorescencia, preferentemente con sistema de epiiluminación.

Detección: Se basa en la observación de las esporas maduras. Cuantitativamente las 2/3 partes de todas las esporas están en la cabeza y más de la mitad de ellas en el cartilago y arcos branquiales (Markiw & Wolf 1974). La ausencia o presencia de las esporas es determinada con algunos métodos. El más sencillo consiste en remover los arcos branquiales y suspender la mezcla homogénea en varios volúmenes de agua o solución salina fisiológica, centrifugar por varios minutos y tomar varias gotas del sobrenadante y examinar al microscopio en 10X, 20X o 40X. Si no encuentra esporas después de investigar 5 o 10 minutos, porciones de la muestra deberán ser examinadas.

Si no se encontraron esporas en el primer procedimiento de muestreo, se deberá usar otro método, como el método de centrifugación con plancton (Prasher et al. 1971; O'Grodnick, 1975) el cual recomienda que las cabezas de los peces sean puestas en agua a 50 grados centígrados por 5-10 minutos, luego son pasados a una centrifuga de plancton. Una modificación de la técnica anterior es la de Markiw & Wolf 1980 los cuales usan digestión en tripsina 0.25% a un pH 7.2-7.5 para remover los residuos de tejidos. El método más sensible para la detección de esporas es el de Markiw & Wolf, 1974 el cual involucra digestión en pepsina, tripsina y dextrosa.

Distribución geográfica y de hospederos: La enfermedad del torneo ocurre en Europa, Islas Británicas, Nueva Zelanda y Estados Unidos de Norteamérica., Sudafrica, Inglaterra.

Esta enfermedad ocurre típicamente en especies de la familia salmonidae, principalmente en poblaciones de peces cultivados y aún en silvestres. Los investigadores opinan que esta enfermedad es muy importante en *Oncorhynchus mykiss* (*Salmo gairdneri*) y que la "trucha café" *Salmo trutta* es la más resistente (Halliday 1976; Hoffman & Putz 1969; O'Grodnick 1979). Las especies con susceptibilidad intermedia son *Oncorhynchus kisutch*, *O. nerka*, *Salvelinus fontinalis*, *Coregonus* sp y *Prosopium* sp.

Inmunidad: La respuesta inmune de los peces a la enfermedad del torneo es poca, además de que se desconoce la respuesta del hospedero intermediario: *Tubifex tubifex*.

Ciclo vital: Consiste de dos fases. La primera involucra la infección del pez por un actinosporidio maduro llamado *Triactinomyxon gyrosalmo* el cual es liberado del vector *Tubifex tubifex*. La trucha infectada desarrolla la cola negra y muestra el cuerpo torcido a los 1-1.5 meses. A los 4 meses se completa el desarrollo de la forma circular de *Myxobolus cerebralis* en el pez. Luego las esporas son liberadas de los peces infectados al morir éstos o

son ingeridas por un predador. Dentro de pocos días las esporas pueden ser comidas por gusanos oligoquetos y la nueva fase de *Triactinomyxon* se desarrolla en el estómago. Posteriormente es comido el oligoqueto o es liberado la forma libre del parásito, la cual penetra a la trucha por las lamelas branquiales, donde el triactinomyxon transfiere numerosos trofozoitos en el sistema vascular del pez. Una vez en el pez las esporas de *M. cerebralis* maduran después de los tres meses. La incubación está directamente relacionada con la temperatura. Las crías de trucha que comen gusanos infectados o son expuestas al triactinomyxon libre muestran los signos de la cola negra después de los 35 a 45 días a 12 grados centígrados. Las esporas maduras pueden notarse a los 2-4 meses, pero la producción de esporas continúa por semanas o meses. El tiempo de incubación en el gusano es definido como el intervalo entre el primer contacto de *M. cerebralis* y la liberación del primer *Triactinomyxon*.

III. Ceratomyxosis en salmonidos (*Ceratomyxa shasta*)

La ceratomyxosis es una enfermedad de peces salmonidos causado por el myxosporidio histozoico *Ceratomyxa shasta*. Este parásito fue reportado por primera vez en 1948 en trucha "arco iris" *Salmo gairdneri* en el condado de Shasta, California (Wales & Wolf 1955) y fue descrito como nueva especie por Noble (1950). El ciclo vital de este organismo es poco conocido. *C. shasta* es un myxosporidio de importancia porque ataca peces juveniles en piscifactoris y peces silvestres y probablemente contribuya en las mortalidades en la migración de salmones adultos.

Rango geográfico y de hospederos: USA, particularmente Oregon, Washington, California, Columbia Británica, Idaho.

Los hospederos infectados son peces marinos y de agua dulce entre ellos: *Oncorhynchus kisutch*, *O. tshawytscha*, *O. nerka*, *O. keta*, *Salmo gairdneri*, *S. clarkii*, y *S. trutta*, *S. salar* y *Salvelinus fontinalis*. Un aspecto importante acerca de la distribución de *C. shasta* es su confinamiento en salmonidos de la costa del Pacífico. Este parásito no ha sido reportado fuera de ahí en los últimos 30 años. Esta distribución restringida es diferente al notado en otros patógenos, que tienen una distribución amplia en otras localidades. Semejante especificidad ecológica es compatible con la idea de que algún factor específico como algunos vectores requerido para provocar la infección en salmonidos en esa área.

Diagnosis: En los juveniles de trucha el desarrollo de los trofozoitos, presporas y esporas de *C. shasta* es retardado cuando las temperaturas del agua son menores a 10°C. Por encima de esta temperatura los signos notados en las truchas son los siguientes: En peces juveniles los signos externos son falta de apetito, exoftalmia, abdomen distendido. Los signos internos en peces juveniles son áreas hemorrágicas en el intestino, presencia de fluido ascítico. También pueden ser infectados en el tracto alimentario, hígado, vejiga natatoria, bazo, hígado riñones, corazón y branquias.

En los adultos existen áreas hemorrágicas en intestino y peritonitis. Presentan nódulos en el estómago los cuales se pueden perforar y el pez morir. El sistema muscular puede presentar abscesos de gran tamaño.

Patogenicidad: A los 17°C se inicia la infección en los ciegos pilóricos. A los 13 días siguientes el parásito se disemina dentro de la mucosa del intestino y pasa a todo el tracto alimenticio, para finalmente provocar la muerte. Hay inflamación de la lamina propia, necrosis del musculo y edema. A los tres días después de la exposición a la espora ocurren cambios

histológicos donde los trofozoitos o estadios infectivos de la espora invaden ciegos pilóricos y recto.

Identificación: Se basa en la forma y dimensiones de la espora. Puede hacer frotis, secar al aire, fijar en metanol y teñir con Giemsa o Ziehl Nelsen. Los trofozoitos tienen un endoplasma granular y vejiga natatoria. Las esporas de *Ceratomyxa shasta* son bicapsuladas con los extremos ampliamente redondeados y las valvas de la pared de la espora son arqueadas a diferencia del género *Myxidium* donde son continuas.

3) Preparaciones permanentes pueden ser obtenidas de frotis fijados en Schaudinn y luego teñidos con Hematoxilina de Heidenhain's.

El examen de peces vivos incluye la obtención de esporas del contenido intestinal con una jeringa de vidrio de 10 cc. Se harán frotis del material concentrado y se teñirá con Ziehl-Nielsen. Para detectar infecciones asintomáticas se deberán usar los procedimientos usados para la enfermedad del torneo.

Efectos de la temperatura: La ceratomyxosis se desarrolla en poblaciones de salmonidos únicamente cuando los peces son expuestos en aguas que tienen el estadio infectivo del parásito a temperaturas que exceden los 10°C.

Susceptibilidad y resistencia: Se ha observado que *Salmo clarkii* es la especie mas susceptible y que *Salmo trutta* y *Salvelinus fontinalis* son las menos susceptibles.

Modo de transmisión y ocurrencia estacional: La transmisión natural ocurre cuando los salmonidos entran en contacto con agua conteniendo estadios infectivos. La exposición por un período de 30 minutos es suficiente para iniciar la enfermedad. Aparentemente el modo de transmisión no es directa o sea de pez a pez. Se ha notado que el estadio infectivo es destruido a temperaturas de 50 grados C por 30 min.

La infectividad y epizootias están usualmente limitadas a períodos cuando el agua está caliente, principalmente en primavera.

MÉTODOS ESPECÍFICOS DE DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DEL TORNEO

Método de digestión pepsina-tripsina-dextrosa (Markiw & Wolf, 1974).

A) Colecta de los peces

B) Remoción de cartilago y tejido en agua caliente (45-50°) por 5-10 minutos. Los arcos branquiales son extraídos intactos y son guardados. El esqueleto es seccionado en piezas de 3-5 mm. Checar una muestra para ver si existen esporas. Si es negativo el diagnóstico pasar al paso C.

C) Digestión en pepsina: fragmentos de esqueleto son picados, y pasados a digestión en pepsina preparada 0.5% a pH 1.8-1.85 en solución de ácido clorhídrico 0.5%. Un volumen de 25-30 ml de pepsina es usada por cada gramo de fragmento esquelético. La digestión se lleva a cabo en matraces erlenmeyer por un lapso de 1-3 horas. Tire el líquido sobrenadante.

En peces juveniles con una hora de digestión es suficiente.

D) Digestión en tripsina: La segunda digestión se hará en tripsina al 0.5% disuelta en solución Tyrode's, calcio y magnesio según Rinaldini (1959). La tripsina es filtrada en papel Watman # 114. Los sedimentos obtenidos de la pepsina son mezclados con volúmenes iguales de solución

tripsina para dar una concentración final de 0.25%. El pH inicial se ajustará a 8.0-8.5 con NaOH 1N. La digestión se hará a 22°C por 30 minutos, agitando suavemente. La digestión en tripsina fue neutralizada añadiéndole suero fetal de bovino a una concentración final del 20%. El material digerido es filtrado a través de una gasa y centrifugado a 1200 rpm por 10 minutos a 22°C. El pellet obtenido es resuspendido en 20-25 volúmenes de solución de Hank's conteniendo suero fetal de bovino al 20%.

Purificación, aislamiento y concentración: 5 ml. del pellet digerido en tripsina fueron puestos dentro de 3 ml. de solución dextrosa acuosa al 55% contenida en un tubo de centrifuga conico o para cuantificación dentro de un mililitro de dextrosa en 6.5 ml de un tubo albumina de Sheuky-Stafford. Ambos deberán ser centrifugados a 1200 rpm por 30 min a 22°C. Resuspender el pellet en 2-4 volúmenes de agua y examinar microscópicamente la presencia de esporas. La cuantificación de esporas si la muestra es positiva se hará en un hemocitometro de Neubauer y se deberá cuantificar por tetraplicado en 0.4mm³. Solo esporas típicas son contadas (2 cápsulas polares de igual tamaño).

MATERIAL Y REACTIVOS USADOS EN LA TÉCNICA PEPSINA-TRIPSINA-DEXTROSA

Albumina bívina 10%, fracción V.
albumina bovina 10g
agua destilada 100 ml

Guardar en el refrigerador en pequeñas cantidades.

Solución pepsina 0.5%, pH 1.8-1.85 en HCL 0.5%.
pepsina 5g
HCL concentrado 5ml.
agua destilada 1000ml

Solución de tripsina 0.5%
tripsina 5g
sol'n de Rinaldini's 200ml.
agua destilada 1000ml

Guardar en el refrigerador en pequeñas cantidades

Solución Hank's conteniendo suero de albumina bovina 1%.

Hank's en polvo 500mg
Suero albumina bovina 10g
Agua destilada 1000ml
ajustar a pH 7.0-7.2 con NaOH 0.1N

Guardar en el refrigerador en pequeñas cantidades

Solución de Rinaldini's
NaCl 20g
KCl 0.5g
Citrato de sodio 2.5g
Carbonato ácido de sodio 2.5g
Rojo fenol 0.5% 10ml
Glucosa 2.5g
NaH₂PO₄.H₂O 0.125g
Agua destilada 500ml.

Guardar en el refrigerador en pequeñas cantidades.

Dextrosa 55%
dextrosa 55g
Agua destilada caliente 100ml

Guardar en el refrigerador en pequeñas cantidades. Añada varias gotas de cloroformo para inhibir crecimiento de mohos durante el almacenamiento.

Otras myxosporidiasis en salmónidos

Parvicapsulosis

El agente etiológico de esta enfermedad es *Parvicapsula* sp.; las especies afectadas *Oncorhynchus tshawytscha*, *O. kisutch*, *O. masu*, *Salmo salar*, *S. clarkii*. Los signos clínicos incluyen letargo, pérdida de apetito. El diagnóstico se basa en la necropsia de riñón posterior.

Las esporas de *Parvicapsula* sp. miden 9 um de largo por 6 um de ancho y puede observarse al microscopio en preparaciones permanentes del riñón posterior. Las cápsulas polares se tiñen positivamente con el colorante Giemsa.

Este protozooario es común encontrarlo en salmones del Pacífico. Se conoce poco del ciclo vital. El estadio vegetativo o trofozoito se desarrolla sistemáticamente y con esporula en peitelio tubular renal con ruptura y liberación de esporas infectivas dentro de los túbulos.

El efecto en el hospedero incluye ruptura mecánica de los tubos renales, hemorragia y edema, los cuales pueden ocasionar mortalidades altas en piscifactorías de la trucha. Las prevalencias más altas se producen durante los meses de primavera.

Esta enfermedad ha sido encontrada en Washington y Oregon, U.S.A. Se utilizará la técnica usada para Myxoboliasis y ceratomyxosis para peces asintomáticos.

Chloromyxosis

Es ocasionada por el myxosporeo *Chloromyxum trutta*. Estos organismos atacan vejiga natatoria y sistema excretor. En esos órganos forman plasmodios esporogónicos pequeños. Miden de 5-11 um. El diagnóstico se basa en la observación de esporas que tienen cuatro capsulas polares en el extremo anterior de la espora y presentan pliegues a través de toda la espora. Se deberán hacer preparaciones en fresco, fijar en formol 10% o Bovin, realizar cortes histológicos y teñirlos con Giemsa y Hematoxolina y Eosina. Los peces presentan pérdida de apetito y de peso, la vejiga natatoria e hígado tienen inflamación. El ciclo vital indica que las esporas maduras entran en el intestino por la bilis. Las esporas son descargadas en las heces dentro del agua y las esporas son tomadas nuevamente por un nuevo hospedero. Se conoce poco acerca de la epizootiología de esta enfermedad. Entre los hospederos de *Ch. truttae* están la trucha arco iris europea *Salmo gairdneri*, la trucha americana *Salvelinus*, *S. trutta* y *S. irideus*. Según investigadores rusos, la enfermedad aparece únicamente en los peces a finales de otoño y principios de invierno. La distribución geográfica abarca piscifactorías de la región de Leningrado, Europa y USA.

Myxidiasis (*Myxidium oviforme*, *M. truttae*)

Son esporas fusiformes con los extremos punteados ó redondeados con dos cápsulas polares en ambos extremos; celozoido ó histozoico. *Myxidium truttae* tiene como habitat la vejiga natatoria y como hospederos a *trutta* y *Coregonus ussuriensis*. La distribución geográfica abarca Corea, Rusia, Europa y USA. El estadio vegetativo es desconocido. Las esporas tienen una línea sutural en forma de S la cual es usada para su diagnóstico. Miden de 10-12 micras de largo por 5-7 micras de ancho. *Myxidium oviforme* tiene como hospederos a *Salmo salar*, *S. trutta*, *S. irideus*, *Oncorhynchus keta*, *O. gorbuscha*, *O. nerka* y *Salvelinus alpinus*. Las esporas miden de 10-13 micras de largo X 7-9 de ancho de la espora. Para diagnóstico, ver (Enfermedad del Torneo).

Pleistoforiasis (*Pleistophora salmonae*)

Esta enfermedad es ocasionada por organismos formadores de esporas llamados microsporidios. El agente causal se denomina *Pleistophora salmonis*. Tienen un filamento polar y generalmente se forman mas de 12 esporontes dentro de un trofozoito. Los quistes son pequeños y habitan branquias de la trucha arco iris *Salmo gairdneri*. a diferencia de otras especies como *P. ocariae* que ataca ovarios, hígado y riñón de *Notemigonus crysoleucas* y *P. cepedianae* que ataca visceras de *Dorosoma cepedianum*. Estos parásitos miden de 3-6 micras de diametro. Son parásitos obligados de las células branquiales donde se reproducen por división asexual (esquizogonia) y fusión (esporogonia dentro de cada célula, donde producen tumores o xenomas. La identificación microscópica de este género de microsporidio deberá incluir la observación de los quistes blanquecinos en branquias o los xenomas. La identificación microscópica incluye la disección de xenomas pequeños para ver al microscopio la presencia de esporas. Es importante observar la presencia de membranas que recubren a las esporas (pansporoblastos) los cuales tienen un número de esporas por esporonte con cubierta (pansporoblasto). Por ejemplo *Nosema* produce una espora por esporonte, *Glugea*, dos esporas por esporonte, *Thelohania* ocho esporas y *Pleistophora* 16 o más esporas por esporonte. Se deberá guardar las muestras en formol 10% para histología convencional y glutaraldehido 2-4% para estudio de microscopia electrónica, los cuales serán necesarios para notar el polaroplasto, esporoplasma, núcleos y número de vueltas del filamento polar, este último característica necesaria para la diferenciación a especie. No se conoce su ciclo vital, pero algunos investigadores (Awakura, 1969) piensan que existe un hospedero intermedio (rotíferos), para el microsporidio. *Pleistophora* causa serias epizootias en piscifactorías y en el medio silvestres. Wales y Wolf (1955) reportan a *Pleistophora* (probablemente *P. salmonae*) en branquias de *Salmo gairdneri*, *Oncorhynchus nerka* y *Cottus* sp.; ellos mencionan este parásito ocasiono la pérdida de 170,000 crías de trucha en el Norte de California y otro caso similar sucedió en Columbia Británica, donde hubo mortalidades de hasta un 75%.

Hexamitiasis (*Hexamita salmonis*)

Ataca intestino de truchas jóvenes *Salvelinus fontinalis*, y *Salmo trutta*. Tiene forma piriforme, 2 núcleos cerca del extremo anterior, 6 flagelados anteriores y 2 posteriores; 2 axostilos; forma quistes. Los signos clínicos son debilidad general, pérdida de peso. Principalmente se presenta en los meses de primavera y verano. Las infecciones severas causan que las truchas permanezcan en el fondo de los estanques en estado de letargo. El diagnóstico se basa en la observación de los signos clínicos e identificación del organismo.

Se harán frotis de contenido rectal y ciegos pilóricos de la trucha para ser examinados bajo un microscopio de luz. Los frotis serán fijados en líquido de Bouin Hollande por 20-25 min. seguido de impregnación en protargol, usando plata proteinada (Aldrich chemical Co. WI, USA) para observar forma y tamaño del cuerpo, núcleo y flagelados.

Cortes histológicos serán preparados de piezas fijadas del recto o región pilórica en formalina 10%, deshidratar en etanol, aclarar en xilol y embeber en parafina. Cortes función cortadas en 4-6 min. y teñidos en Hematoxilina de Harris y Eosina ó Reacción Feulgen. Las muestras también serán fijadas en glutaraldehído 5% y para formaldehído 4% en buffer de fosfatos 0.1 m. para confirmar la presencia de parásitos al microscopio electrónico.

Criptobiasis

(*Cryptobia salmositica*)

Organismo biflagelado, parecido a un trypanosoma, tiene un flagelo libre, membrana ondulante y blefaroplasto elongado. Habitan intestino y sistema sanguíneo de las truchas. El agente causal es *Cryptobia salmositica*. Mide de 12-24 micras de largo por 4-8 micras de ancho. Los hospederos intermediarios son las sanguijuelas. La patogenicidad no ha sido bien estudiada. Causa anemia, exoftalmia y presencia de fluido ascítico en cavidad abdominal.

Los métodos de diagnóstico de *Cryptobia* incluyen realizar frotis sanguíneos los cuales se procesaran con la técnica de Giemsa. Además se podrá realizar el siguiente método para mantener a este parásito.

CULTIVO AXENICO DE *Cryptobia* (Daggett & Nerad, 1992)

Medio Difásico de Agar sangre

| | |
|----------------------------|-------|
| extracto de res (en polvo) | 25g |
| neopeptona | 10g |
| NaCl | 2.5g |
| Agar | 10g |
| Agua destilada | 250ml |

- 1) Añada 25g de extracto de res al agua destilada, caliente 3-5min, agitando constantemente.
- 2) Filtre con papel Whatmann # 2V, ajuste a pH 7.2-7.4 con NaOH 1N
- 3) Pasar a autoclave por 20 minutos a 121 grados centígrados
- 4) Enfriar a 50 grados a baño de agua por 30 minutos y asepticamente añada sangre de conejo defibrinada al 30%.
- 5) Prepare 5 ml en un tubo de 16 X 125 mm, incline y enfrie.
- 6) Añada asepticamente 3.0 ml de Solución Lucke's esteril.

| | |
|---------------------------------|--------|
| Solución de Lucke's | |
| NaCl | 8g |
| KCl | 0.2g |
| CaCl ₂ | 0.2g |
| KH ₂ PO ₄ | 0.3g |
| Glucosa | 2.5g |
| Agua destilada | 1000ml |

- 7) Inocule con 0.1 ml del cultivo en crecimiento
- 8) cierre la tapa e incube a 25 grados centígrados
- 9) Por rutina mantenga semanalmente subcultivos.

Chilodonelosis.

Chilodenella truttae y *Ch. cyprini* son comunes de encontrar en piel y branquias de truchas de Norteamérica y Europa. Es usualmente patógeno únicamente a temperaturas bajas (10°C). Este ciliado es ovoide y dorsoventralmente aplanado. Mide 50-70 mm de largo por 30-40 mm de ancho. La ciliatura es incompleta. La superficie ventral tiene de 8-15 hileras de cilios macronúcleo oval. Reproducción por división simple. La transmisión es por contacto directo con el organismo en el agua. Se dividen rápidamente a 5-1008°C. *Ch. cyprini* es un ectoparásito obligado de peces sin especificidad de hospederos. Ocurre en piel y branquias pero no penetra la epidermis. Causa irritación, hiperplasia epitelial y excesiva producción de mucus. Las branquias son usualmente las más dañadas que el resto del cuerpo. Infecciones severas causan problemas en la respiración templadas. Se encuentra ampliamente distribuido en zonas en la pérdida de peso, apetito y letargo y opacidad en la piel. Es necesaria la identificación del parásito de raspados de piel y branquias para un adecuado diagnóstico. Mas de 50 Chilodonellas observadas por campo bajo el microscopio sugieren una infestación severa que deberá tratarse inmediatamente.

Trichodiniasis

Los generos *Trichodina* y *tripartiella* son urcelaridos que atacan a la trucha, particularmente *Trichodina fultoni* (syn. *T. pediculus*) atacan *Salmo gairdneri*. Estos ciliados tienen forma de barril, un disco adhesivo, zona de cilios en la zona adoral y un anillo esquelético dorsoventral constituido por dientes radiales.

Los generos *Trichodina* y *Tripartiella* se diferencian en la extensión del spiral de cilios, forma y tamaño de los dientes. *Trichodina* tiene un espiral de cilios que da dos vueltas a la celula y los dientes tiene un proceso interno poco desarrollado. *Tripartiella*, tiene un espiral que da una vuelta a la celula y un proceso interno del diente mas largo que en *Trichodina*. Las infecciones en truchas probablemente tengan un efecto patológico, pero las infecciones mas severas ocasionan daños a la piel, producción de mucus, pérdida de escamas, hiperplasia, anorexia, aletas deshinchadas.

Icthyophthiriasis (*Icthyophthirius multifiliis*)

Este ciliado causa la enfermedad denominada de las "manchas blancas". Ataca principalmente piel y branquias de diversas especies de truchas. *I. multifiliis* es el protozoo de mayor tamaño que afecta peces. Los adultos llamados trofozoitos o trofontes son de forma oval o redondeada. Miden de 50 micras a 1 milímetro de diametro. Tienen un citostoma cerca del extremo anterior y un macronúcleo en forma de herradura. Los estadios infectivos llamados terontes o tomites son de forma oval, miden de 30-45 micras. Esta forma secreta una capa mucosa o quística, se divide por división transversal simple o múltiple y el quiste puede contener varios cientos de tomites.

Su ciclo vital es completado en 7-8 horas a temperaturas de 24-26°C. A los 7°C el ciclo tarda en completarse cerca de 40 días. Las infecciones en truchas son principalmente por contacto directo con otras truchas infectadas. Los trofontes o quistes pueden ser transferidos por las plantas acuáticas o por otros vectores. La penetración del parásito en la piel y branquias causa irritación. La epidermis del pez reacciona fisiológicamente con irritación encerrando el parásito y produciendo las típicas lesiones granulomatosas de color blanquecino "black spot".

Las truchas afectadas presentan letargo, anemia y en casos severos se presentan mortalidades. Es notorio que los peces afectados nadan hacia los lados del estanque, particularmente hacia donde existen altas concentraciones de oxígeno como son las entradas del agua de los estanques. El diagnóstico se basa en la observación de las lesiones típicas e identificación del parásito (p.e. presencia de macronúcleo en forma de herradura, ciliatura uniforme de todo el cuerpo y citostoma presente).

Las técnicas de diagnóstico de *Trichodina*, *Ichthyophthirius* y *Chilodonella* se describen a continuación

PROTARGOL (WICKLOW & HILL, 1982)

Esta técnica es usada en estudio morfofisiológicos y morfológicos de protistas, particularmente flagelados, y ciliados. Este método dura aproximadamente 2-3 horas.

Pasos:

- 1) Se colectan los flagelados del contenido intestinal de las truchas.
- 2) Los organismos son fijados en la solución de Perenyi's por un tiempo de 1-4 minutos.
Solución de Perenyi's
Ácido crómico 1% (1.5ml), Ácido nítrico 10% (4.0 ml), etanol 95% (3.0ml) y agua destilada (1.5ml).
- 3) Lavar y deshidratar; resuspender las células en tres cambios de etanol 95% y luego en etanol 100%.
- 4) Montaje: Agregar una gota con los organismos a un cubreobjetos albuminizado, dejar que el vapor se evapore, teniendo cuidado que la muestra no se seque, agregue una gota de alcohol-formol.

| | |
|-------------------------|----------|
| alcohol-formol | |
| formaldehído acuoso 10% | 3 partes |
| etanol 95% | 1 parte |

- 5) Estabilizar: Poner el portaobjetos en cajas de vidrio con alcohol-formol por 15 minutos.
- 6) Deshidratar: Usar isopropanol al 95%, luego 100% por 2 minutos en cada paso y luego en metanol 100% por 3 minutos.
- 7) Cubrir con solución Colloidon: Bañe brevemente la muestra en Colloidon 1% y metanol 100% por 1-2 segundos; secar al aire (5-10 segundos).
- 8) Hidratar: en isopropanol (95%, 70%, 30% por 2 minutos) y pasar 3 veces a agua destilada por 2 minutos en cada paso.
- 9) Oxidar en óxido de manganeso 0.5% por 3 minutos
- 10) Lavar tres veces en agua destilada por 3 minutos en cada paso
- 11) Decolorar en ácido oxálico 5% por 5 minutos
- 12) Lavar varias veces en agua destilada por 10 minutos para remover todo el ácido oxálico.
- 13) Impregnación en protargol al 1% por 20 minutos a 70°C.
- 14) Revelado: Transfiera directamente el revelador (hidroquinona 1%, Na₂SO₃ 5%) por 3-5 segundos. Cuando note las estructuras morfológicas del flagelado oscurecidas o ensombrecidas, pasar a agua destilada por 2 minutos.
- 15) Reducir en ácido oxálico 2% por 2-5 minutos.
- 16) Lavar en agua destilada por 2 minutos
- 17) Fijar en tiosulfato de sodio 5% por 5 minutos, lavar en agua destilada por 2 minutos

- 18) Deshidratar en isopropanol 30%, 70%, 95%, 100% 2 veces, 2 minutos en cada paso, luego en metanol 100% por 3 minutos.
19. Observe la muestra y transfiera a medio de montaje Permount

METODO DE NITRATO DE PLATA (FOISSNER, 1992)

"Desecación"

Este método es llamado en seco porque las células son secadas al aire y no fijadas químicamente después de haber sido tratadas con nitrato de plata, es útil para observar la infraciliatura oral y somática necesaria la adecuada identificación de ciliados de truchas.

- 1) Tomar varios portaobjetos libres de grasa y poner una capa fina de albumina de huevo en la mitad del portaobjetos, secar un minuto.
- 2) Colocar una gota conteniendo los ciliados en el portaobjetos albuminizado.
- 3) Aplicar 2-5 gotas de nitrato de plata al portaobjetos y esperar un lapso de 2 minutos.
- 4) Lavar los portaobjetos con agua destilada por 3 segundos
- 5) Prevelar la laminilla secada por exposición a un bulbo eléctrico de 40-60 watts por 5-60 segundos a una distancia de 3-10 centímetros.
- 6) Aplicar gotas del revelador a la laminilla secada por espacio de 30-60 segundos.
- 7) Vacíe el revelador lejos de la laminilla, lave poco a poco a chorro de agua por espacio de 50-10 segundos y sumerja en fijador tiosulfato de sodio.
- 8) Remueva la laminilla del fijador, lave poco a poco a chorro de agua por 5-10 segundos y sumerja en etanol 96-100%.
- 9) Transfiera las laminillas a etanol 100% por 3 minutos y dejar secar al aire.
- 10) Montar en medio sintético neutro como Medio Eukitt o Euparal.

REACTIVOS

A) SOLUCION DE NITRATO DE PLATA

| | |
|------------------|---------|
| Nitrato de plata | 1g. |
| Agua destilada | 100 ml. |

B) REVELADOR

| | |
|------------|------|
| Solución A | 20ml |
| Solución B | 1ml |
| Solución C | 1ml |

| | |
|---|--------|
| Solución A (concentrado revelador de negativos) | |
| Agua de lavarse a 40°C | 1000ml |
| Ácido bórico | 10g |
| Borax | 10g |
| Hidroquinona | 5g |
| Sulfito de sodio anhidro | 100g |
| metol=methylamino-fenol-sulfato | 0.4g |

| | |
|---|-------|
| Solución B (concentrado revelador de papel) | |
| Agua destilada | 100ml |
| metol | 0.4g |
| sulfito de sodio anhidro | 5.2g |

| | |
|----------------------|-------|
| hidroquinona | 1,2g |
| Carbonato de sodio | 10,4g |
| Carbonato de potasio | 10,4g |
| Bromuro de potasio | 0,4g |

| | |
|--------------------|-------|
| Solución C | |
| Hidroxido de sodio | 10g |
| Agua destilada | 100ml |

| | |
|------------------------------|--------|
| C) Fijación por impregnación | |
| tiosulfato de sodio | 25g |
| Agua destilada | 1000ml |

METODO DE FEULGEN (LEE & PAWLOWSKI, 1992)

- 1) Fijar las muestras en liquido de Bouin o Zenker.
- 2) Pasar las muestras a decoloracion en 0.1ml de 12NHCL; 0.4g de Na₂S₂O₅ y 100 ml de agua destilada.
- 3) Pasar al reactivo de Schiff. En este paso se seguira el siguiente procedimiento:
 - a) Hervir 200 ml de agua
 - b) pasar las muestras a fucsina básica
 - c) agitar y enfriar a 50 grados centigrados.
 - d) anada 1gramo de Na₂S₂O₅. Sila solucion no es aclarada, agregue 200mg de charcoal activado, agite por varios minutos. Guardar en el refrigerador.
- 4) Desparafine. embeba, corte y monte laminillas de los protozoarios
- 5) Lave en NHCL por 2 minutos a temperatura ambiente.
- 6) Hidrólise en NHCL por 15 minutos a 60 grados centigrados.
- 7) Lave en NHCL a temperatura ambiente
- 8) Lave en agua destilada
- 9) Tenir con el reactivo de Schiff por dos horas en la oscuridad
- 10) Desechar, oscurecer y transferir rápidamente dentro de la primera solución decoloradora.
- 11) Después de dos minutos, oscurecer y transferir rápidamente a una solución decoloradora nueva.
- 12) Repita el paso 11
- 13) Lavar en agua destilada
- 14) Deshidratar en una serie gradual de alcoholes hasta el 95%.
- 15) Pasar a tinción con verde rapido por 0.5-2 minutos (verde rápido FCF, C.I. 42053, 50 mg en etanol al 95%.
- 16) Deshidratar y montar en medio Permount.

TECNICA ESTANDAR DE DIAGNOSTICO DE CILIADOS VIVOS (FOISSNER, 1992)

Muchos medios físicos y químicos han sido usados para retardar el movimiento de ciliados (p.e. sulfato de niquel o metil celulosa). estos procedimientos se ha notado que ocasionan cambios en la forma de la célula y alteraciones premortales de carias estructuras celulares. Es mejor usar el siguiente método.

- 1) Colecte la muestra de ciliados previamente filtrada o separados de particulas y residuos de la muestra, con ayuda de un micropipeta y continúe con los pasos siguientes

- A) Aplicar en los cuatro extremos de un cubreobjetos respectivas gotas de vaselina.
- B) Transferir la muestra colectada a un portaobjetos libre de grasa
- C) Colocar el cubreobjetos sobre el portaobjetos
- D) Observar al microscopio

TECNICA ESTANDAR DE TRICROMICA DE GOMORI (TINCION DE Trichodina spp.)

- 1) Fijar en Schaudinn por 1 hora a temperatura ambiente o cinco minutos a 50 grados centigrados en baño maria.
- 2) Pasar OH 70% Iodado por un minuto
- 3) Pasar OH 70% dos veces, 1 minuto en cada paso.
- 4) Pasar al colorante Tricromico de 2-15 minutos
- 5) Pasar a alcohol 70% si la muestra quedo bien tenida. Si quedo **sobretenida** colocar estas en alcohol acidificado por un lapso de 5-20 segundos.
- 6) Deshidratar si la muestra esta bien en alcohol 80,90 y 100%.
- 7) Colocar las muestras en Carboxilo por 1-5 minutos
- 8) Aclarar en xilol o salicilato de metilo
- 9) Montar en resina sintetica neutra.

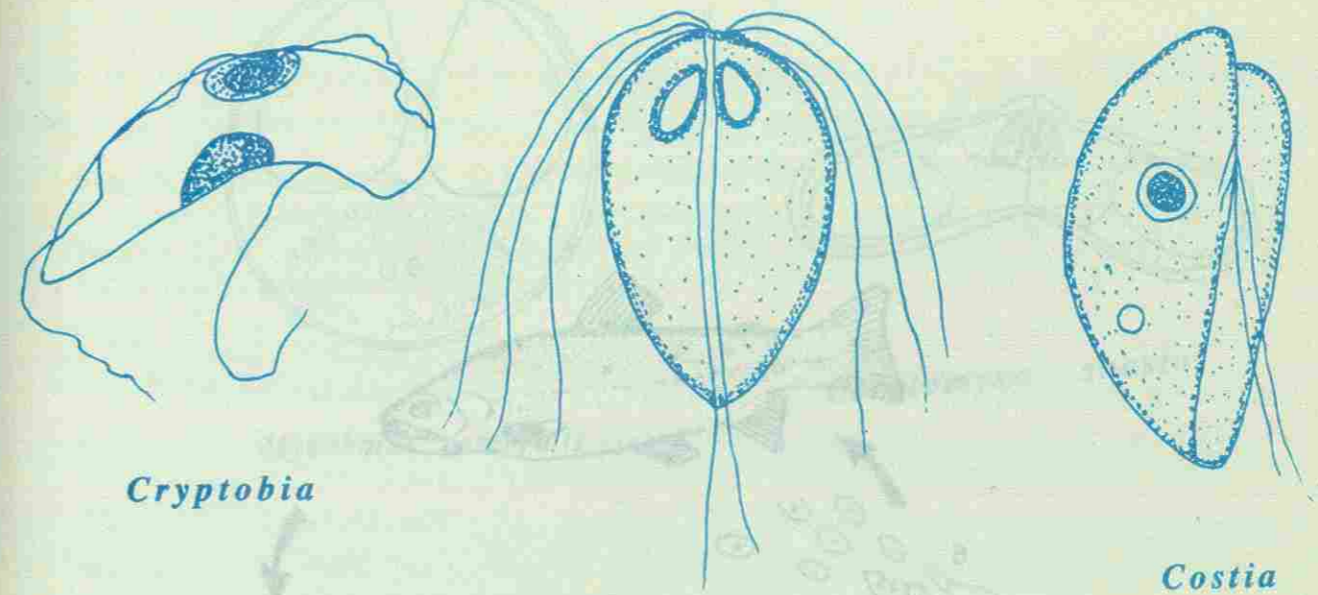
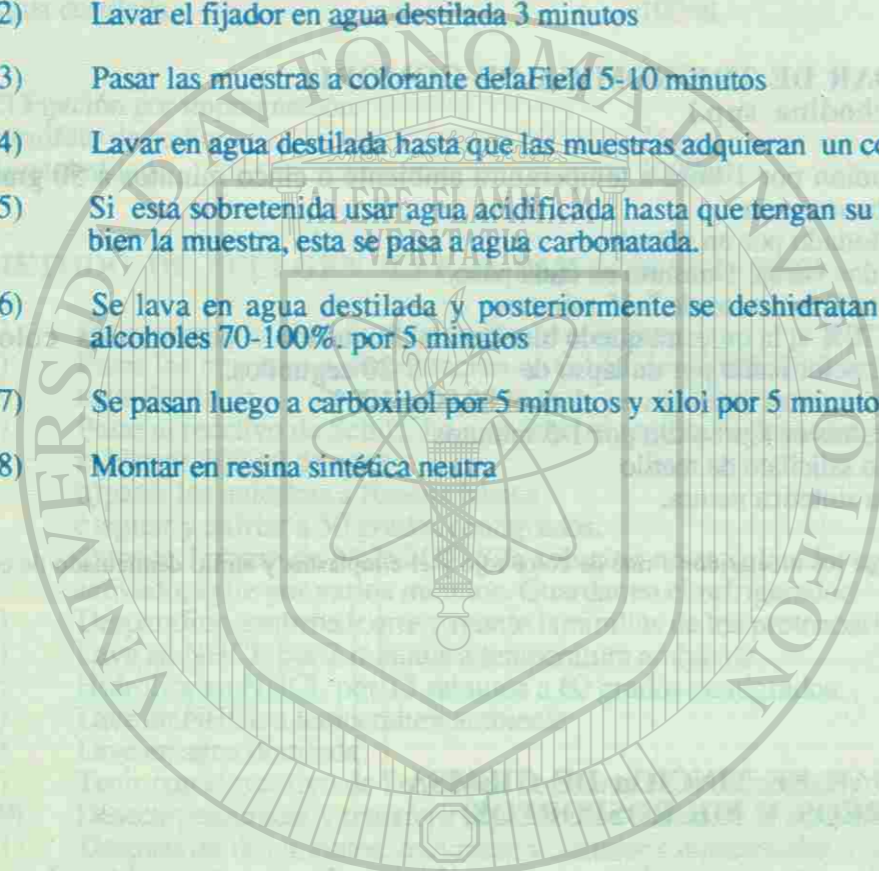
* NOTA: El macronucleo de los urcelaridos e tine de color rojo y el citoplasma y anillo denticulado de color verde.

TECNICA ESTANDAR DE TINCION DE GIEMSA (PARA MYXOSPOREOS Y MICROSPOREOS)

- 1) Hacer un frotis extendido sobre un portaobjetos de muestras obtenidas por centrifugacion o de tejidos u organos donde se sospeche la presencia de quistes color blanquecino.
- 2) Fijar en metanol absoluto por un lapso de 3 minutos
- 3) Tenir en colorante Giemsa por espacio de 15-30 minutos
- 4) Pasar a buffer de Giemsa por 15 minutos
- 5) Dejar secar y observar en objetivos 40X,43X, 63X o 100X.
- 6) Si la muestra esta bien tenida y son visibles las capsulas polares que se teniran de un color azul intenso, entonces se pasan las laminillas a xilol para su montaje en resina sintética neutra.

**TECNICA DE HEMATOXILINA DELAFIELD
(PARA CILIADOS)**

- 1) Fijar las muestras en formalina 10%, particularmente de las esporas libres liberadas de los quistes o tomadas directamente de piel o branquias. Nota: Todo el proceso se hará por centrifugación de 1000-15000 revoluciones por minuto.
- 2) Lavar el fijador en agua destilada 3 minutos
- 3) Pasar las muestras a colorante delaField 5-10 minutos
- 4) Lavar en agua destilada hasta que las muestras adquieran un color azul.
- 5) Si esta sobretenida usar agua acidificada hasta que tengan su coloración normal, si esta bien la muestra, esta se pasa a agua carbonatada.
- 6) Se lava en agua destilada y posteriormente se deshidratan en una serie gradual de alcoholes 70-100% por 5 minutos
- 7) Se pasan luego a carboxilol por 5 minutos y xilol por 5 minutos
- 8) Montar en resina sintética neutra



Cryptobia

Hexamita

Costia



Ichthyophthirius

Chilodonella

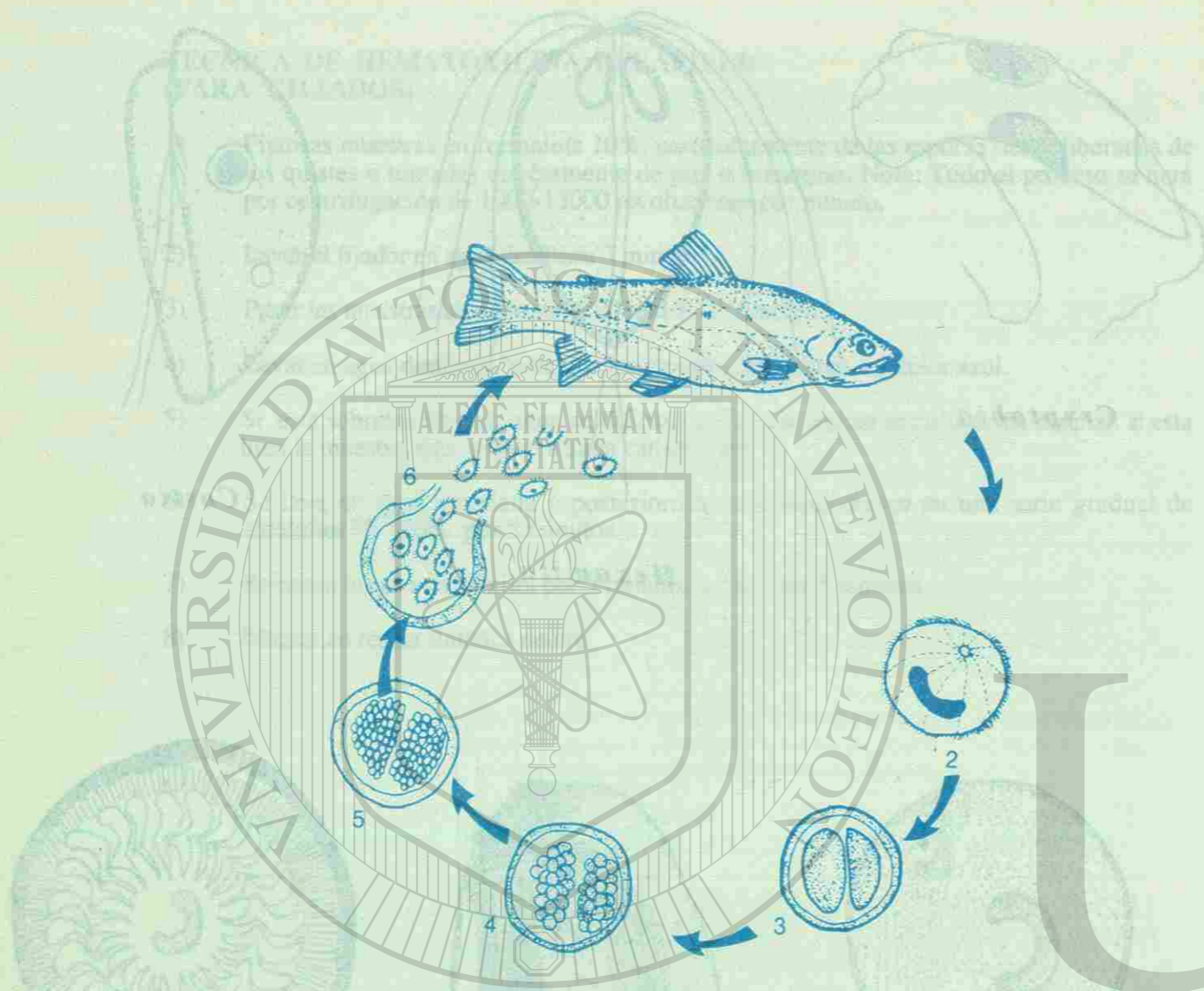
Trichodina



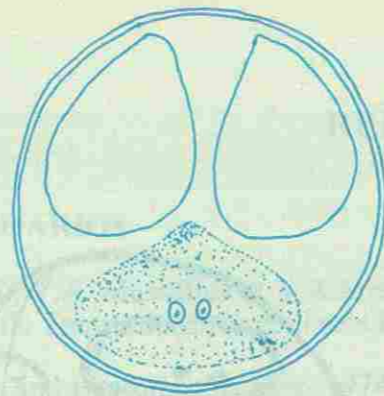
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

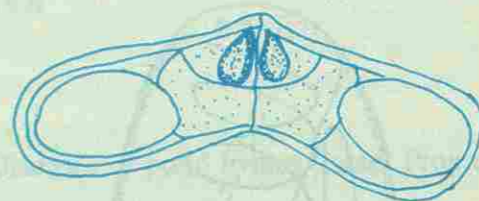
MADILIA ALFONCINA



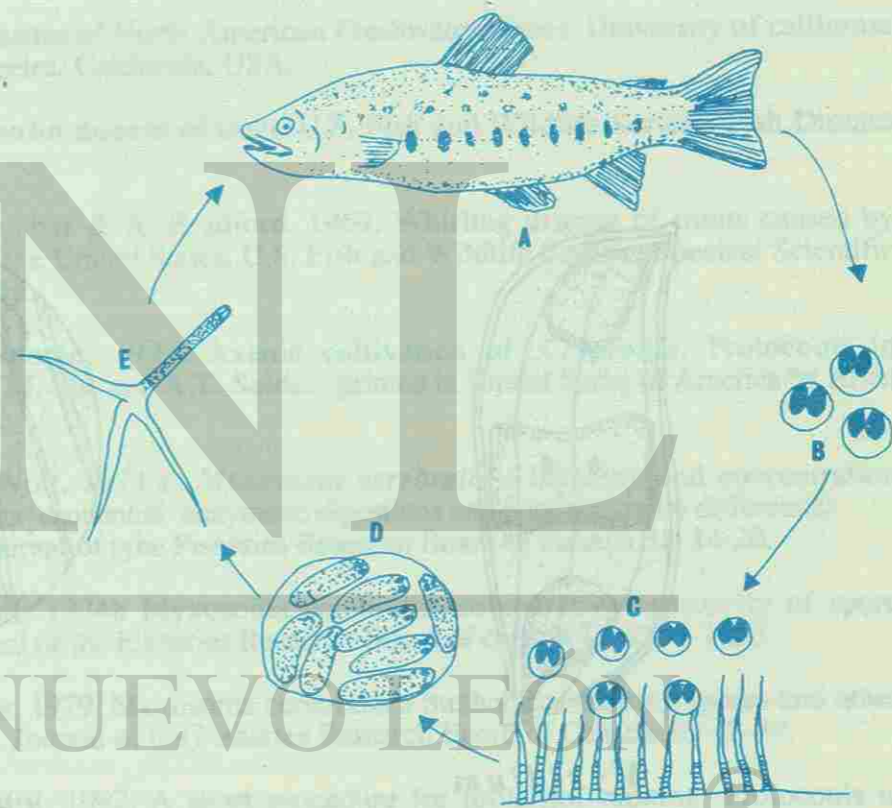
Ciclo Biológico de *Ichthyophthirius*
 (1) Quistes blancos en el pez (2) Trofozoito
 (3) Quiste en división (4) Quiste maduro
 (5) Tomites libres (infectivos).



Myxobolus cerebralis

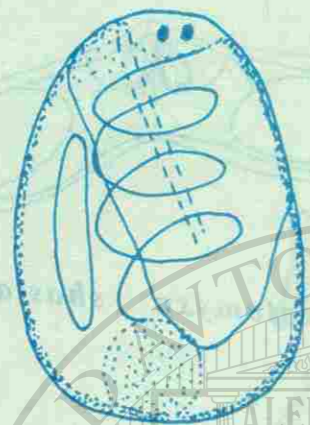


Ceratomyxa shasta

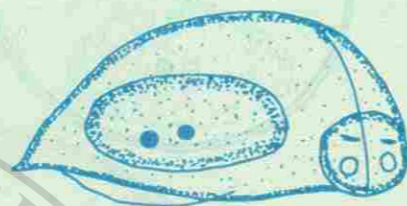


Ciclo biológico de *Myxobolus cerebralis*

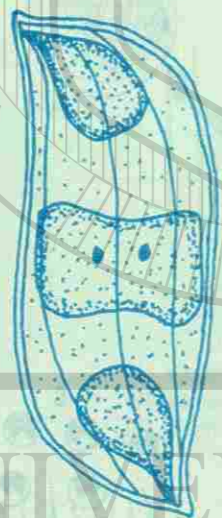
- a.- trucha infectada con esporas
- b.- esporas liberadas del pez
- c.- esporas comidas por tubificidos
- d.- trofozoito con 8 esporontes
- e.- fase infectiva o *Tryactinomyxon*



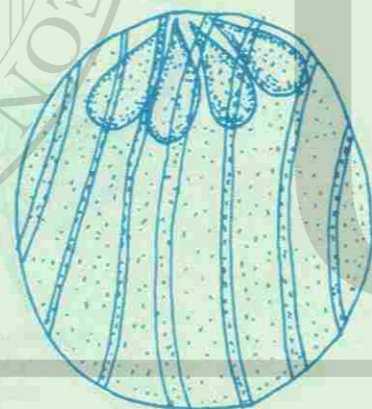
Pleistophora



Parvicapsula



Myxidium



Chloromyxum

REFERENCIAS

PROTOZOARIOS

Bauer O.N., V.A. Musselius & Y.A. Strelkov. 1969. Diseases of pond Fishes. Israel Program for Scientific Translations., Keter Press, Israel.

Contos, N. and H. Rothenbacker. 1974. An efficient concentration and purification method for the spores of *Myxosoma cerebralis*. *Progressive Fish-Culturist* 36: 101-102.

Griffin, B.R. & E.M. Davis. 1978. *Myxosoma cerebralis*: detection of circulation antibodies in infected rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 35: 1186-1190.

Halliday, M.M. 1976. The biology of *Myxosoma cerebralis*: The causative organisms of whirling disease of salmonids. *J. of Fish Biology* 9: 339-357.

Hoffman G.L. 1967. Parasites of North American Freshwater Fishes. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, California, USA.

Hoffman G.L. 1976. Whirlin disease of trout. U.S. Fish and Wildlife Service. Fish Disease leaflet 47: 10p.

Hoffman G.L., C.E. Dunbar & A. Bradford. 1969. Whirling disease of trouts caused by *Myxobolus cerebralis* in the United States. U.S. Fish and Wildlife Service, Special Scientific Report- Fisheries 427. 15p.

Dagget P.M. & T.A. Nerad. 1992. Axenic cultivation of *Cryptobia*. *Protocols in Protozoology*, edited by J.J. Lee and A.T. Soldo. printed in United States of America by Allen Press, Inc, USA.

Markiw, M.E. and K. Wolf. 1974.a *Myxosoma cerebralis*: Isolation and concentration from fish skeletal elements- sequential enzymatic digestions and purification by differential centrifugation. *Journal of tyhe Fisheries Research Board of Canada*. 31: 14-20.

Markiw M.E. & K. Wolf. 1974b *Myxosoma cerebralis*: comparative sensitivity of spore detection methods. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 31: 1597-1600.

Wolf K. & M.E. Markiw. 1979. *Myxosoma cerebralis* a method for staining spores and other stages with silver nitrate. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 36: 88-89.

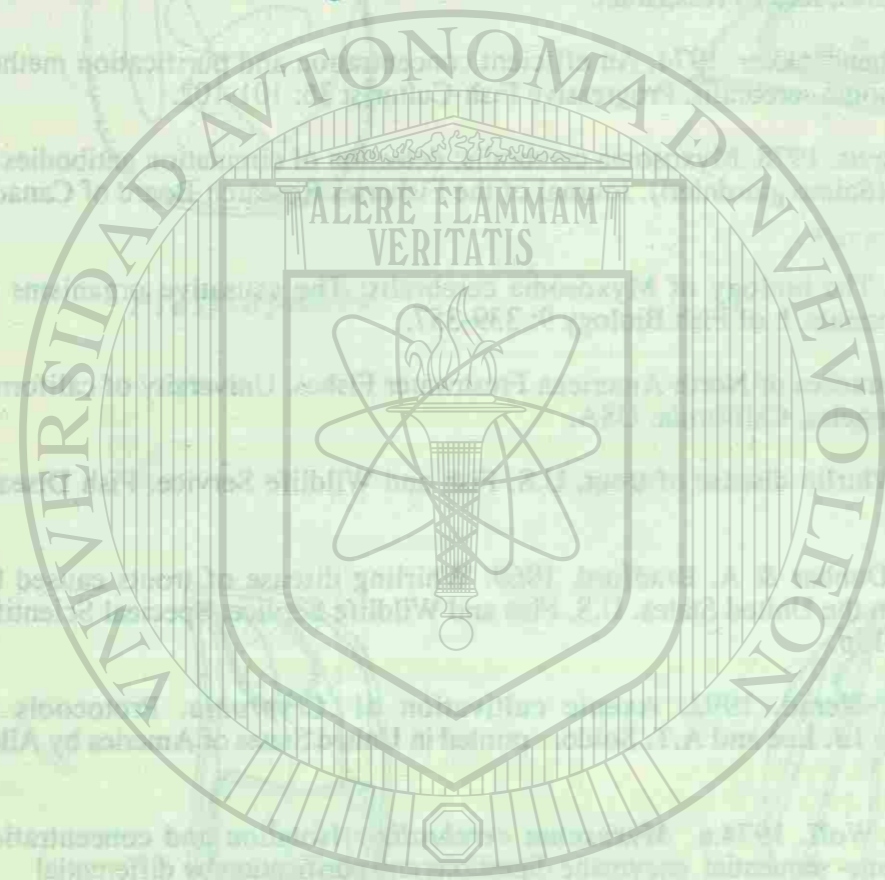
Wicklow B.J. & B.F. Hill. 1992. A short procedure for protargol staining. *Protocols in Protozoology*, edited by J.J. Lee and A.T. Soldo. printed in United States of America by Allen Press, Inc., USA.

Foissner W. 1992. The "dry" silver nitrate method. edited by J.J. Lee and A.T. Soldo, printed in United States of America by Allen Press, Inc. USA.

Lee J.J. & J. Pawlowski. 1992. Feulgen staining the nuclei of foraminifera. *Protocols in Protozoology*, edited by J.J. Lee and A. T. Soldo, printed in United States of America by Allen Press, Inc, USA.

Sanders J.E., J.L. Fryer & R.W. Gould. 1970. Ocurrance of the myxosporidian parasite *Ceratomyxa shasta*, in salmonid fish from the Columbia River Basin and Oregon Coastal streams. In Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes, edited by S.F. Snieszko et.al. Special Publication No. 5. american Fisheries Society, USA.

Shulman S.S. 1988. Myxosporidia of the USSR. Nauka Publishers, Moskow-Leningrad. Printed ad Gidson Printing Works, India.



METAZOARIOS PARASITOS DE LA TRUCHA

Fernando Jiménez Guzmán y Feliciano Segovia Salinas y Narciso Salinas Lopez
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

Introducción:

Los metazoarios parasitos de truchas incluyen varios phyla como son los platelmintos, donde están los tremátodos y céstodos; los nemátodos acantocéfalos piscicolidos y artrópodos entre otros parásitos.

En el grupo de los tremátodos se encuentran los trematodos monogéneos y tremátodos digéneos.

Tremátodos monogéneos, se caracterizan por tener un ciclo de vida sencillo (monoxenico) mayoría son ectoparasitos. Este grupo esta ampliamente representado en todos los peces tanto marinos como de agua dulce. Generalmente son ectoparásitos. En acuicultura se reconocen dos generos muy importantes: *Gyrodactylus* y *Dactylogyrus*, el primero de ellos de importancia en truchas.

Tremátodos Digéneos

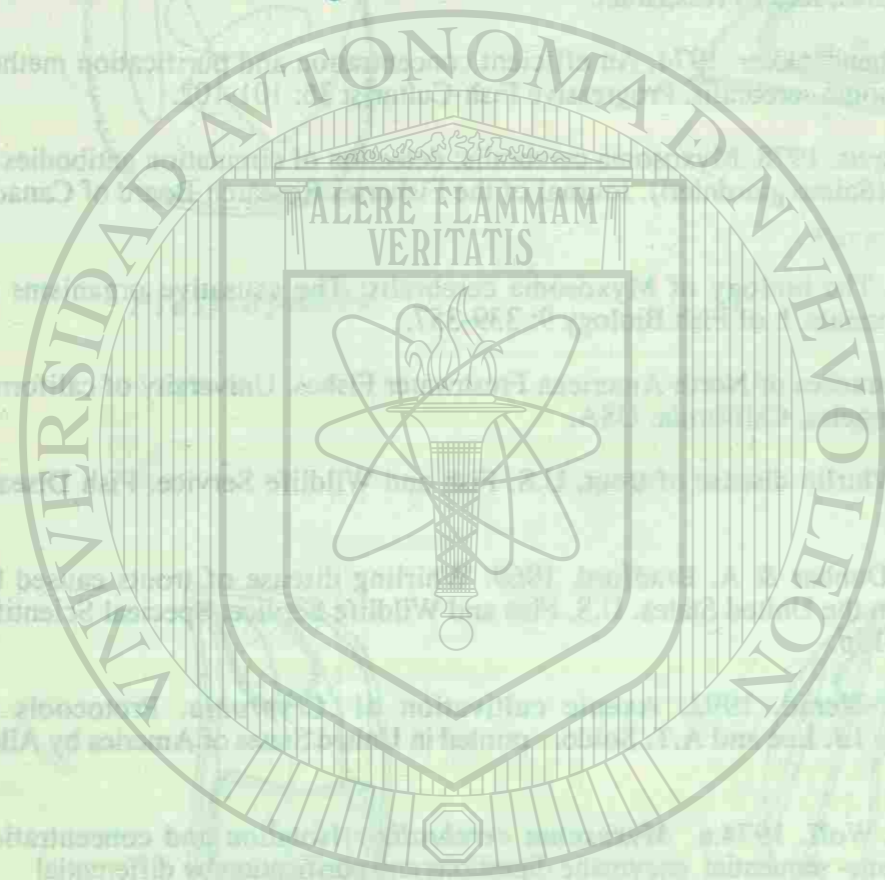
Se caracterizan por tener un ciclo de vida complejo que involucra siempre a un molusco como primer hospedero intermediario y ocasionalmente pueden usar a otros animales acuaticos como segundos hospederos intermediarios. Sus organos de adhesion son sencillos (una ó dos ventosas). Las formas adultas son generalmente endoparasitas, se encuentran en conductos internos, viscera y musculos; mientras que las formas larvarias regularmente invaden visceras o musculo, algunas de estas llegan a formar quistes (metacercarias) y otras pueden mantenerse lobres sin formar quistes (mesocercarias). Son pocas las especies de trematodos adultos que pueden ejercer una accion importante en la salud del pez; sin embargo las metacercarias pueden llegar a ser un problema importante en la salud de las truchas.

Céstodos

Los cestodos al igual que los trematodos digéneos utilizan uno ó varios hospederos intermediarios para completar su ciclo vital (generalmente copépodos). A diferencia de los tremátodos se caracterizan por tener un cuerpo segmentado y carecer de un sistema digestivo (no tienen intestino), sus aparatos de adhesion en encuentran en el extremo anterior ó escólex, en donde se pueden observar ventosas ó botrios, algunos pueden tener ventosas ó ganchos segun sea el grupo. Son hermafroditas y algunos pueden tener coclos monoxénicos o heteroxénicos. Los cestodos adultos se encuentran en el tracto intestinal y ocasionalmente invaden conductos relacionados, no así las formas larvales que pueden invadir musculo ó visceras.

Sanders J.E., J.L. Fryer & R.W. Gould. 1970. Ocurrance of the myxosporidian parasite *Ceratomyxa shasta*, in salmonid fish from the Columbia River Basin and Oregon Coastal streams. In Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes, edited by S.F. Snieszko et.al. Special Publication No. 5. American Fisheries Society, USA.

Shulman S.S. 1988. Myxosporidia of the USSR. Nauka Publishers, Moskow-Leningrad. Printed ad Gidson Printing Works, India.



METAZOARIOS PARASITOS DE LA TRUCHA

Fernando Jiménez Guzmán y Feliciano Segovia Salinas y Narciso Salinas Lopez
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

Introducción:

Los metazoarios parasitos de truchas incluyen varios phyla como son los platelmintos, donde están los tremátodos y céstodos; los nemátodos acantocéfalos piscicolidos y artrópodos entre otros parásitos.

En el grupo de los tremátodos se encuentran los trematodos monogéneos y tremátodos digéneos.

Tremátodos monogéneos, se caracterizan por tener un ciclo de vida sencillo (monoxenico) mayoría son ectoparasitos. Este grupo esta ampliamente representado en todos los peces tanto marinos como de agua dulce. Generalmente son ectoparásitos. En acuicultura se reconocen dos generos muy importantes: *Gyrodactylus* y *Dactylogyus*, el primero de ellos de importancia en truchas.

Tremátodos Digéneos

Se caracterizan por tener un ciclo de vida complejo que involucra siempre a un molusco como primer hospedero intermediario y ocasionalmente pueden usar a otros animales acuaticos como segundos hospederos intermediarios. Sus organos de adhesion son sencillos (una ó dos ventosas). Las formas adultas son generalmente endoparasitas, se encuentran en conductos internos, viscera y musculos; mientras que las formas larvarias regularmente invaden visceras o musculo, algunas de estas llegan a formar quistes (metacercarias) y otras pueden mantenerse lobres sin formar quistes (mesocercarias). Son pocas las especies de trematodos adultos que pueden ejercer una accion importante en la salud del pez; sin embargo las metacercarias pueden llegar a ser un problema importante en la salud de las truchas.

Céstodos

Los cestodos al igual que los trematodos digéneos utilizan uno ó varios hospederos intermediarios para completar su ciclo vital (generalmente copépodos). A diferencia de los tremátodos se caracterizan por tener un cuerpo segmentado y carecer de un sistema digestivo (no tienen intestino), sus aparatos de adhesion en encuentran en el extremo anterior ó escólex, en donde se pueden observar ventosas ó botrios, algunos pueden tener ventosas ó ganchos segun sea el grupo. Son hermafroditas y algunos pueden tener coclos monoxénicos o heteroxénicos. Los cestodos adultos se encuentran en el tracto intestinal y ocasionalmente invaden conductos relacionados, no así las formas larvales que pueden invadir musculo ó visceras.

Nemátodos

Los nemátodos se caracterizan porque son gusanos cilíndricos, tienen un sistema digestivo regularmente completo (boca, intestino, ano), con cavidad pseudocelómica y sus sexos son generalmente separados. Poseen ciclos monoxénicos o heteroxénicos según la especie. Las formas adultas se localizan regularmente en el tracto intestinal y ocasionalmente en otros espacios del cuerpo del hospedero. Las formas larvarias al igual que los trematodos y céstodos se localizan en una gran variedad de animales; que le sirven como hospederos intermediarios, localizándose en ellos particularmente en músculo, vísceras e inclusive conductos naturales. Al igual que los otros grupos parasitarios, regularmente las larvas son las que ejercen acciones patológicas significativas en el hospedero, mientras que los adultos solo unas cuantas especies son de importancia.

Acantocefalos

Los acantocefalos se caracterizan básicamente porque poseen una proboscis espinosa, carecen de aparato digestivo, tienen un pseudoceloma y sus sexos son separados. Su ciclo biológico es heteroxénico (utilizan regularmente a crustáceos como hospederos intermediarios u otros invertebrados). Las fases adultas se localizan en la luz intestinal.

Piscicolidos

Este grupo de anélidos está representado por los organismos denominados como "sanguijuelas". Se caracterizan por tener órganos de adhesión bien desarrollados (ventosas), su ciclo de vida es monoxénico y son en su totalidad formas ectoparasitos. Son muy importantes porque están involucradas en la transmisión de agentes patógenos (*Trypanoplasma*, *Babesiosoma*, *Trypanosoma* etc).

Artrópodos

Los artrópodos son un grupo que se encuentra representado por grupos de organismos que han sufrido cambios significativos (p.e. Copepoda) y como consecuencia de sus hábitos parasitarios, han modificado muchos de sus apéndices en estructuras de adhesión. Poseen sexos separados. Su ciclo es generalmente monoxénico y son básicamente ectoparasitos. Es un grupo muy importante en acuicultura porque pueden llegar a causar problemas en cultivo de peces dulceacuícolas como marinos.

TREMATODOS MONOGENEOS

Gyrodactiliasis (*Gyrodactylus elegans*)

Esta enfermedad es causada en las truchas por el monogéneo *Gyrodactylus elegans*. Es un organismo pequeño (menos de 1mm de largo), parasitan la superficie corporal, branquias y son vivíparos. No presentan manchas oculares. Las epizootias de la gyrodactiliasis han sido reportadas principalmente en la URSS. La enfermedad es peligrosa en peces jóvenes. La intensidad de la infección se incrementa con la densidad de los peces. Los signos clínicos en infecciones severas son presencia de delgada capa de mucus color azuláceo, destrucción de tejidos y aletas. Los peces infectados presentan retardo en el

crecimiento. *Gyrodactylus* puede ser identificado por la presencia de un embrión dentro del cuerpo. El haptor tiene un par de anclas y 16 ganchos marginales.

TREMATODOS DIGENEOS

I. Formas larvarias.

Diplostomiasis (*Diplostomulum spathaceum*)

También llamado duela de los ojos. Es una mesocercaria de amplia distribución geográfica y rango de hospederos. Utiliza a los caracoles del género *Lymnaea* como hospederos intermediarios, donde se desarrolla la fase cercarial. El hospedero definitivo son las garzas, las cuales liberan huevecillos al agua. La cercaria emerge del caracol y penetra a piel y ojos.

Nanofietosis (*Nanophyetus salmincola*)

Son metacercarias parásitas de salmonidos, las cuales son comidas por mamíferos carnívoros como perros, osos o zorras. Los mamíferos infectados liberan los huevecillos en el agua. El miracidio liberado penetra en el caracol *Oxytrema silicula*, donde se desarrolla hasta la fase de cercaria. Esta penetra en el pez, donde se enquistó en tejido.

Sanguinicoliasis (*Sanguinicola fontinalis*)

Son parásitos sanguíneos, que viven regularmente en las arteriolas de los arcos branquiales de salmonidos. Los huevecillos no-operculados desarrollan dentro de los capilares de las branquias y otros órganos donde desarrollan dentro la etapa de miracidio que tiene una mancha ocular característica. El miracidio penetra en el caracol, el cual es un hospedero intermediario en el ciclo de vida. La cercaria emerge del caracol y penetra en el pez para así completar el ciclo. El hospedero intermediario es el caracol *Leptoxis (mudalia) carinata*. Este parásito se encuentra distribuido geográficamente en Pennsylvania, USA, donde se han reportado mortalidades considerables como por ejemplo 400,000 *Salvelinus fontinalis* fueron afectadas severamente. El diagnóstico se basa en la observación del parásito, de forma elongada (0.90 de largo X 0.21 mm de ancho) en branquias y riñón. Se fijan en AFA, formol y se tñen el material en acetocarmin de Semichon y Giemsa.

Enfermedad de las manchas negras (*Neascus* spp.)

Este organismo ataca varias especies de peces entre ellas *Oncorhynchus mikiss* (= *Salmo gairdneri*). Si las manchas son numerosas, será más fácil de notarse el parásito. Estas manchas corresponden a gusanos juveniles. Los gusanos adultos son parásitos de peces que son comidas por aves ictiófagas. El diagnóstico se basa en la presencia del parásito en piel y en su forma, tiene la región posterior más desarrollada que en *Diplostomulum*, no posee pseudoventosas laterales.

Clinostomiasis (*Clinostomum marginatum*)

Es un tremátodo conocido también como "gusano amarillo". Con frecuencia se establece en sistema muscular de la trucha. Los peces jóvenes son los más afectados. El ciclo

vital involucra como hospederos definitivos a las garzas y otras aves comedoras de peces. Los gusanos maduran en la boca y esófago de las aves. Los huevecillos son liberados en el agua y los miracidios penetran en algunas especies de caracoles, donde se desarrollan y salen hacia el hospedero específico

Otros generos importantes de trematodos digeneos que atacan a diversas especies de salmonidos son: *Allocreadium lobatum*; *Aponurus sp*; *Bólbophorus confusus* (*); *Crepidostomum cooperi* (*); *C. farionis*, *C. laureatum*; *Deropegus aspina*, *Echinocasmus milvi* (*); *Exocoitocaecum wisnienskii*; *Plagiophorus angusticole* y *Podocotyle shawi*.

Céstodos

Las "tenias" de las truchas son largas, aplanadas. Presentan escolex con botrios, botridios o ventosas y un cuerpo segmentado. El ciclo vital involucra la presencia de las larvas plerocercoides en crustaceos. Unicamente las infecciones por tenias adultas del género *Corallobothrium* pueden retardar el crecimiento. El diagnostico se basa en la observacion de los cestodos en intestino y en la diferenciacion morfologica. *Corallobothrium* por la presencia de pliegues y cuatro ventosas a diferencia de *Proteocephalus* que tiene cuatro ventosas y un órgano apical, y *Diphylobothrium* que tiene dos botrios. las especies mas importantes en truchas son: *Abothrium crassum*, *Cyathocephalus truncatus*, *Diphylobothrium sp* (*); *Eubothrium salvelini*; *Ligula intestinalis* (*); *Phyllobothrium sp*; *Proteocephalus amblolipis* (*), *P. longicollis* (*); *P. pinguis*; *P. salmonicola*; *P. tumidocollis*, *Triaenophorus nodulosus*.

Nemátodos (*Philonema*, *Philometra*, *Capillaria*).

Los nemátodos son organismos largos, redondeados y no segmentados. La mayoría de los nemátodos de peces, en el estadio adulto se encuentran en el tracto intestinal de aves ictiofagas. Las formas larvianas *Philonema*, *Philometra* y *Capillaria* entre otras especies se encuentran en su forma larvaria en peces. El primer hospedero intermediario en el ciclo vital de los nemátodos es siempre un invertebrado como un copepodo o una ninfa de insecto. Esos hospederos intermediarios son comidos por los peces. Si el pez es infectado con un estadio larval, el hospedero definitivo puede ser un pez comedor de peces, aves ictiofagas o mamíferos. Las formas larvianas (*) y adultas que atacan salmonidos son: *Anisakis sp* (*); *Ascarophis hardwoodi*, *Capillaria catenata*, *Contracaecum sp.* (*); *Cucullanus truttae*, *Cystidicola sygmatura*, *Cystidicoloides spp*; *Eustrongylides sp* (*); *Hepaticola bakeri*; *Philometra sp*; *Philonema onchorhynchi*, *Rhabdochona cascadilla*, *Dacnitis truttae*, *Goezia ascarodes*, *Bulbodacnitis globosa*, *B. occidentalis*, *Spinitectus gracilis*, *Sterliadochona tenuissima*.

Acantocéfalos

Los acantocéfalos son llamados también "gusanos cabeza de cuerno". Su proboscide y número de ganchos por hilera son características necesarias para su adecuada identificación. Las lesiones que ocasionan estos organismos es mecánica al penetrar su proboscide la pared intestinal y destruir el tejido.

El ciclo vital ha sido poco investigado. El adulto libera los huevecillos, los cuales son comidos por copepodos, anfipodos u ostracodos. En esos crustáceos, el primer estadio larval o acantor, migra dentro de la cavidad del cuerpo del crustaceo y desarrolla dentro el segundo estadio larval, la acantella. Las principales especies parasitas de salmonidos son: *Acantocephalus acerbus*, *A. anguillae*, *A. jaksoni*, *Echinorhynchus leidyi*, *E. salmonis*, *E. truttae*; *Metechinorhynchus salmonis*, *M. truttae*, *Neoechinorhynchus rutuli*, *Pomphorhynchus bulbocolli*, *Rhadinorhynchus sp*; *Tetrahyinchus sp*.

Copépodos

La gran mayoría de los copepodos sirven de alimento a peces de agua dulce o marinos.

Algunas especies sin embargo son parásitos de peces, infectando diversos sitios corporales donde se pueden originar ulceraciones que son entrada para bacterias y hongos. Los principales copepodos parásitos de la trucha son: *Achtheres coregoni*, *Argulus canadense*, *Ergasilus confusus*, *Salmincola siscowet*, *Salmincola sp.*, *S. edwardsii*, *S. bicauliculata*, *S. smirnovi*, *Lepeophtheirus*, *Argulus stizostethi*. y *Lernaea sp*.

Salmincola spp.

Parasita agallas, boca y aletas de salmonidos. Los peces infestados son casi imposibles de curar y pueden ser eliminados de las piscifactorías si se controla la calidad del agua. Los huevos y larvas no resisten la desecacion y las larvas deben encontrar al pez hospedero a más tardar en 1 día o 2 días o mueren.

Lernaea sp.

Las especies de *Lernaea* son encontradas comúnmente en peces de agua templadas. Las infestaciones ocasionan mortalidad masiva debido a la destrucción de las escamas y a la inflamación en el punto de inflamación, pero el principal daño es la pérdida de sangre y la exposición de las heridas a infecciones secundarias de virus, bacterias u hongos.

B. Procedimientos generales de diagnóstico de metazoarios

Los tremátodos monogéneos y tremátodos digéneos deberán matarse a 90°C y preservarse en formalina 10%, AFA, Bouin aplanando entre portaobjetos o placas de vidrio.

Para cestodos es necesario matar los organismos a 80°C y preservar en formalina 10% y AFA, aplanando entre dos placas de vidrio.

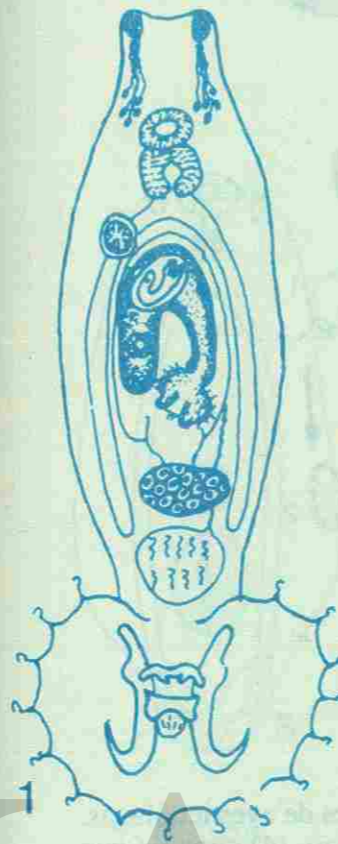
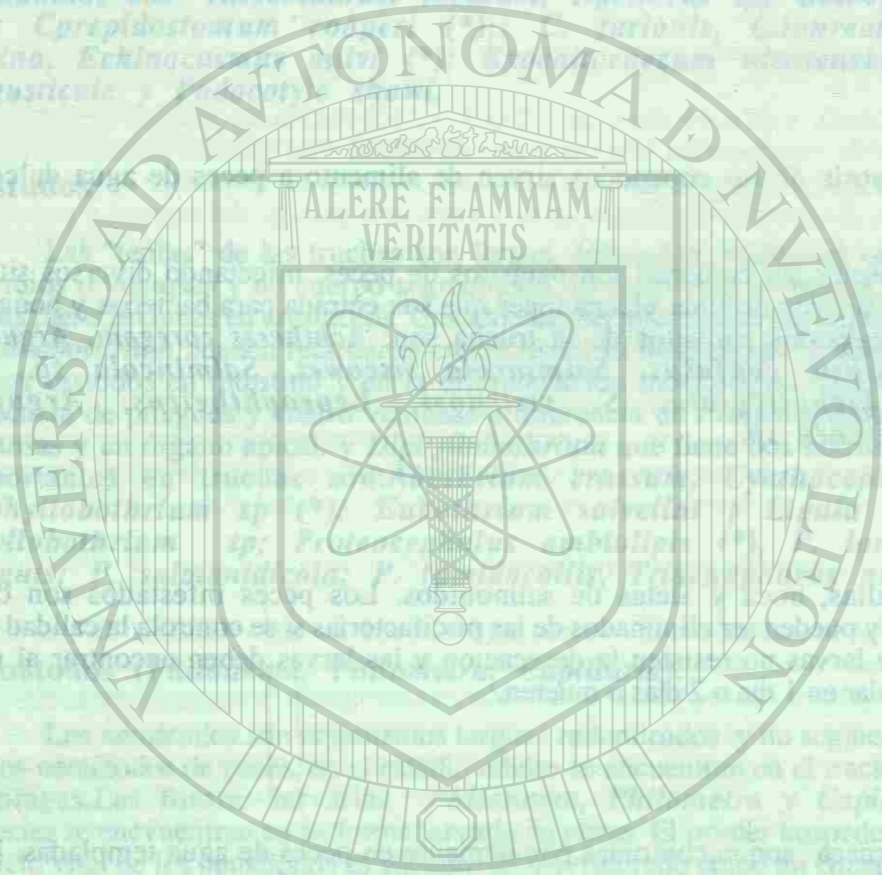
Los nemátodos se matan en alcohol 70% a 70°C. y se preservan en alcohol 70%.

Los acantocéfalos son colocados en agua destilada para evertir la proboscide, pasar el organismo en formalina 10% a 90°C o AFA.

Los copépodos parásitos se matan y preservan en etanol 70%.

Para sanguijuelas, aplanar entre placas de vidrio y fijar después de 2 horas de aplanamiento en AFA.

La tinción, procesamiento y montaje se harán de acuerdo a cada parásito en particular. (ver técnicas para metazoarios).



1.- a) Adulto de *Gyrodactylus*, b) anclas, c) cirro, d) barra transversal de las anclas.



2.- a) Adulto de *Clinostomum*, b) ciclo biológico: (1) huevecillo, (2) miracidio penetrando al molusco intermediario, (3) cercaria, fase infectiva para la trucha en la cual se enquista para formar la metacercaria, (4) ave ictiófaga donde madura a tremátodo adulto en faringe ó esófago.

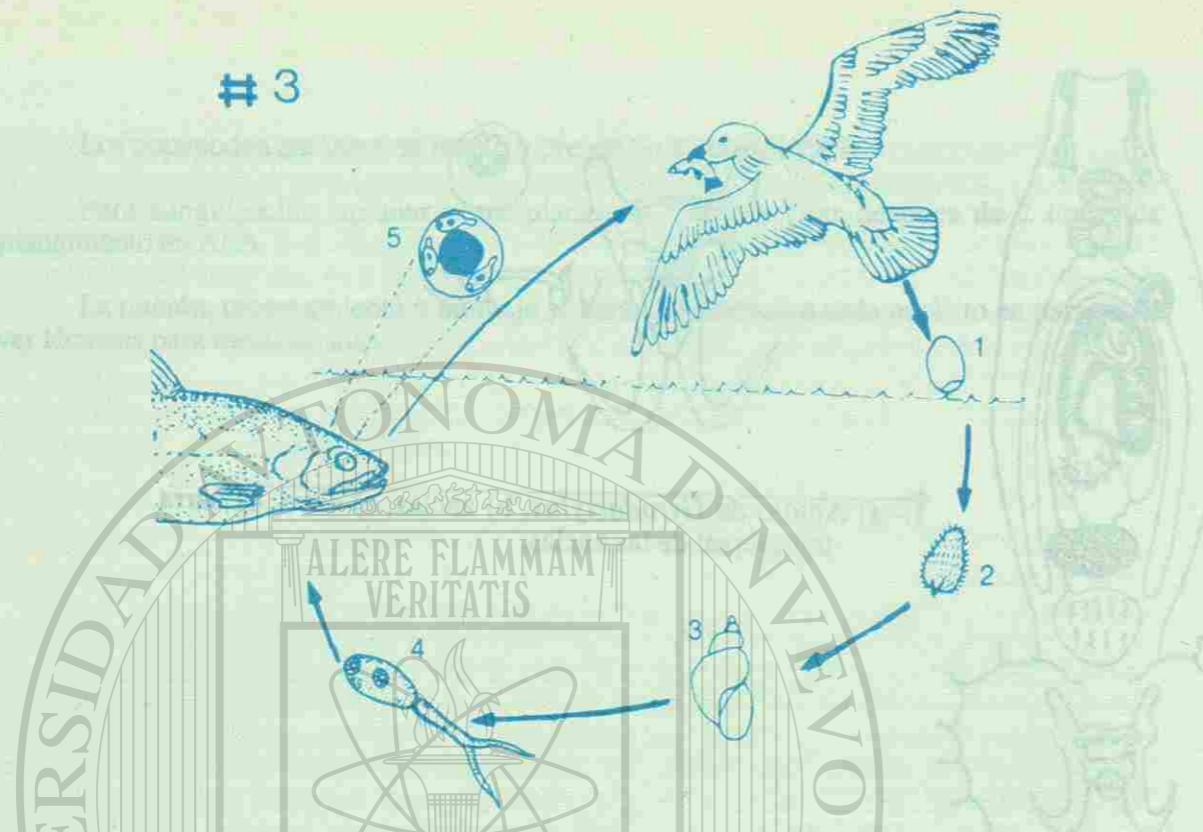


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPILLA ALFONCINA

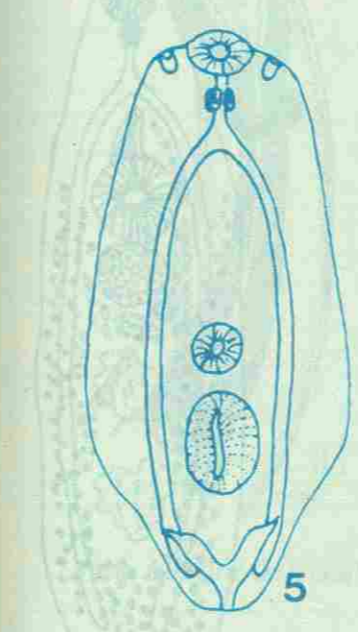
3



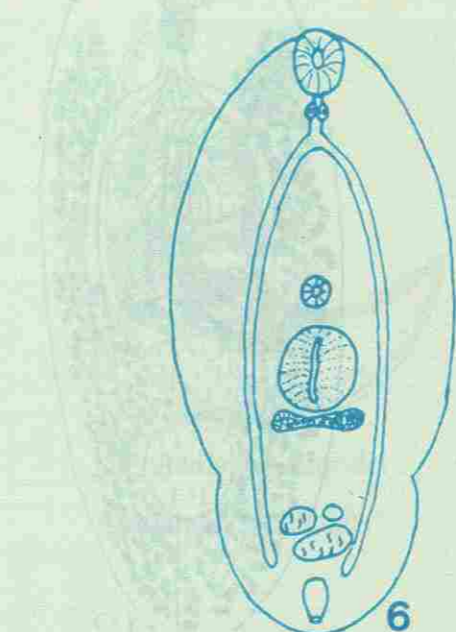
3.- Ciclo biológico de Diplostomum (1) huevecillo expulsado en las heces de aves ictiófagas, (2) el miracidio penetra al caracol, (3) que es el hospedero intermediario, (4) cercaria que penetra al pez, (5) larvas (Diplostomulum) en el cristalino del ojo de la trucha.



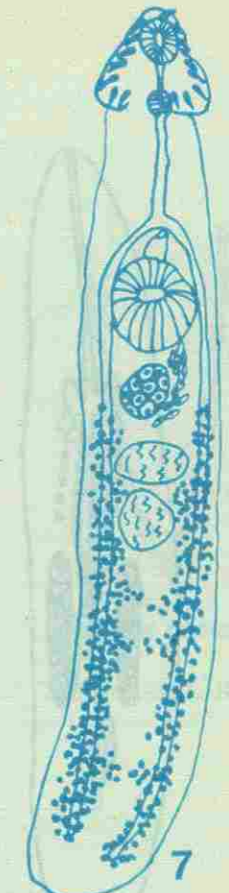
4.- Ciclo biológico de Posthodiplostomulum (1) huevecillo (2) miracidio, (3) caracol intermediario, (4) cercaria infectiva para la trucha, en la cual se desarrolla la metacercaria Neascus (5) el adulto parasita a aves ictiófagas.



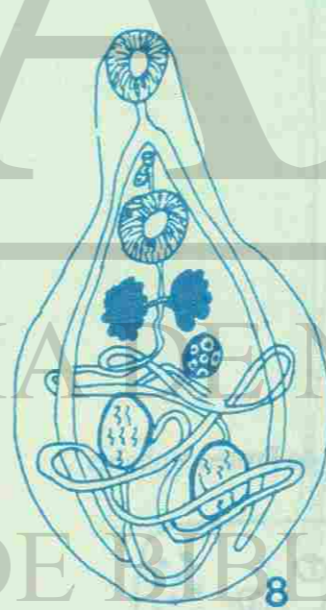
5.- Neascus



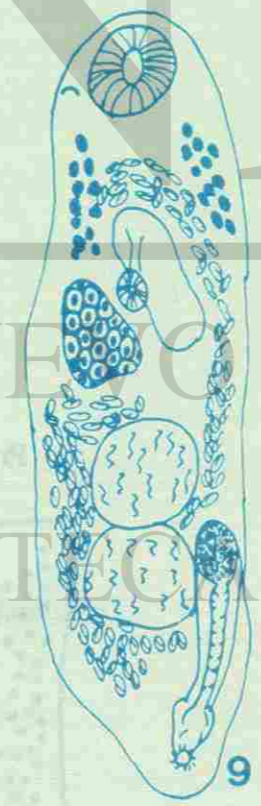
6.- Diplostomulum



7.- Echinochasmus



8.- Phyllodistomum

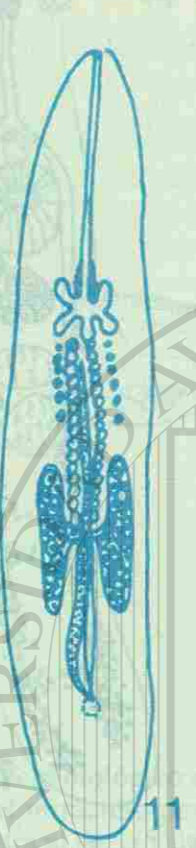
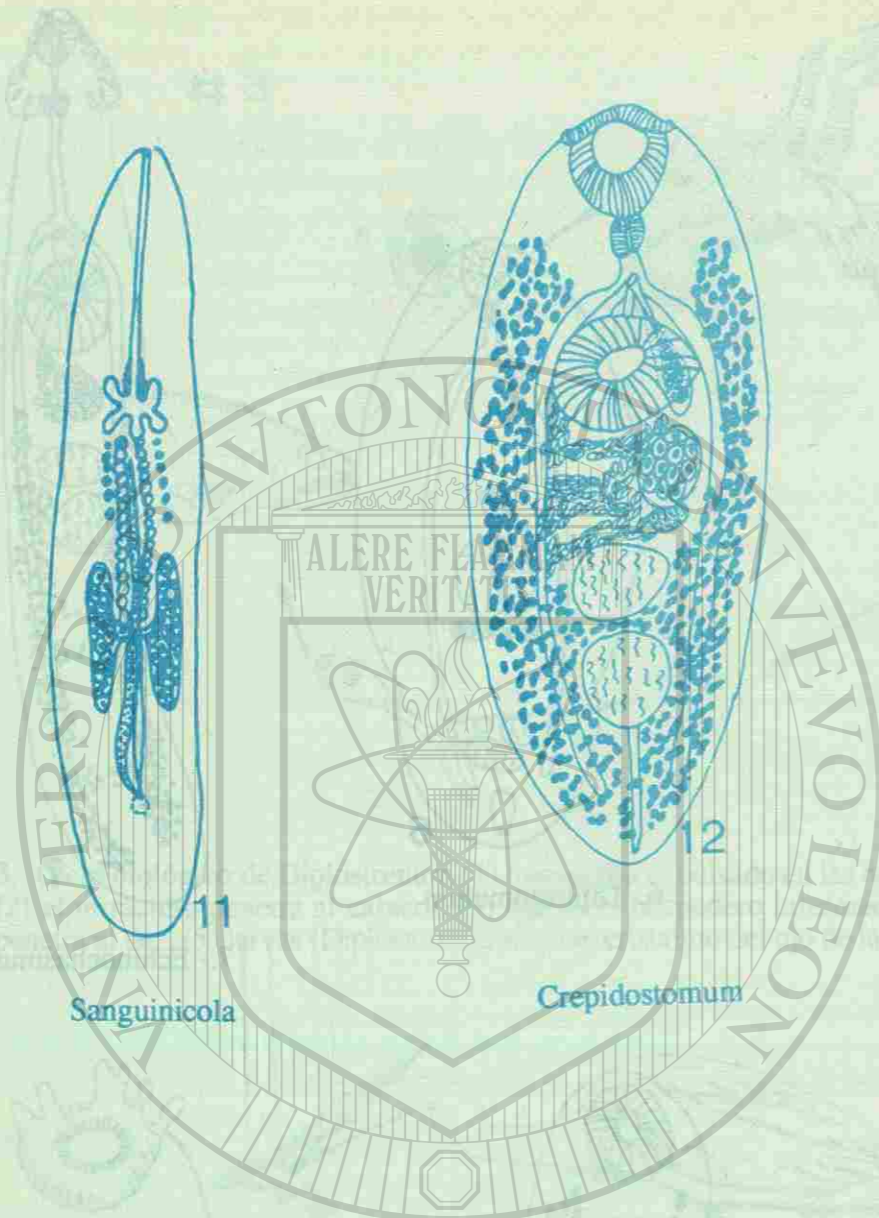


9.- Bucephalopsis



10.- Bucephalus

CAPILLA ALFONSINA



11 Sanguinicola



12 Crepidostomum

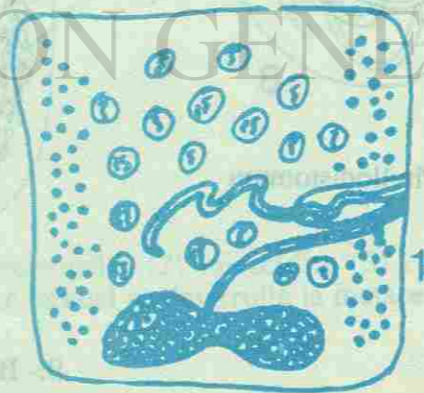


13 Allocreadium



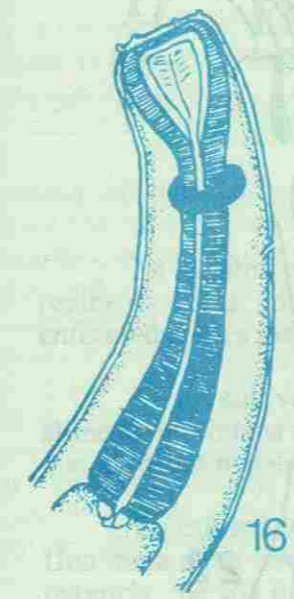
14

Escolex de Proteocephalus



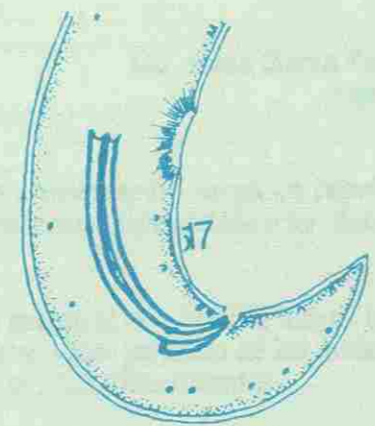
15

Proglotidios de Proteocephalus



16

Parte anterior de Cucullanus



17

Parte posterior del macho de Cucullanus



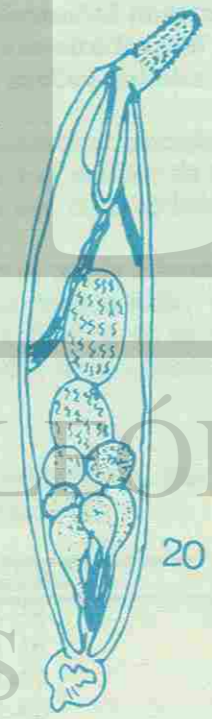
18

Parte posterior de la hembra de Cucullanellus



19

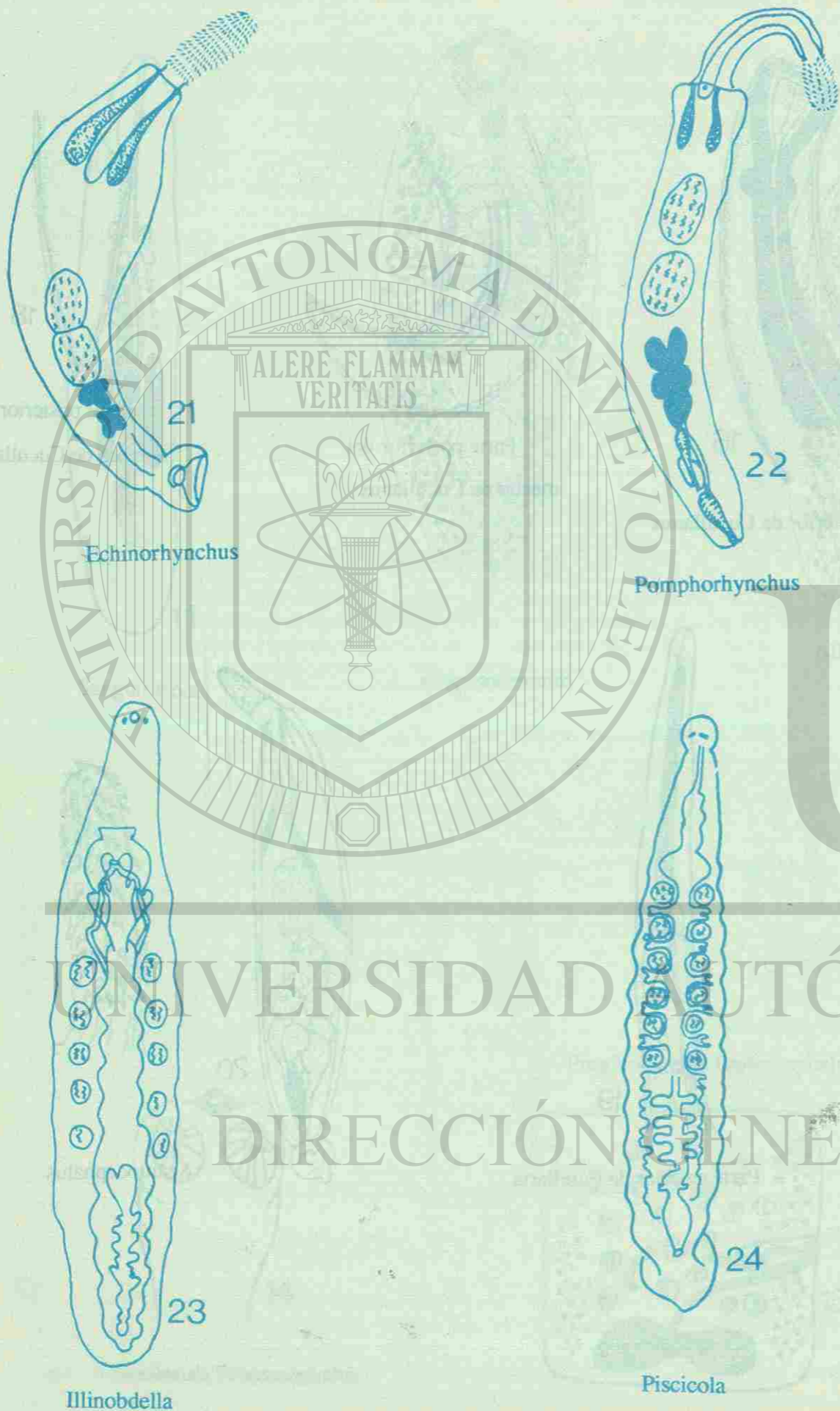
Parte anterior de Capillaria



20

Acantocephalus





Echinorhynchus

Pomphorhynchus

Illinobdella

Piscicola

ENFERMEDADES NUTRICIONALES

Ma. Hilda Garza Fernández y Ma. Teresa Correa Lettlen
 Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

En la salud de los peces, la alimentación juega un papel muy importante. Cuando el pez no recibe la dieta adecuada, sus defensas inmunológicas decrecen y su disposición a contraer enfermedades es mayor.

En los cultivos de peces, se pretende convertir la mayor parte de la proteína suministrada en el alimento a proteína muscular. El alto valor protéico de las dietas naturales se atribuye en gran parte a que los peces metalizan escasamente a los carbohidratos.

La calidad de las materias primas en la elaboración de las dietas para peces es muy importante. Una dieta debe llevar los requerimientos nutricionales propios del pez de acuerdo a su edad. La mayoría de los expertos en nutrición de peces consideran que una dieta es nutricionalmente balanceada cuando se observa una conversión dieta-pez o menor de 2.0.

El desarrollo de enfermedades nutricionales ocasionadas por deficiencias en la dieta de algún componente alimenticio básico toma mucho tiempo antes de que los síntomas se frecuenten. Esto generalmente ocurre cuando falta algún nutriente o cuando se presentan infecciones por organismos patógenos, los cuales pueden enmascarar los síntomas por deficiencias nutricionales.

Para evaluar un diagnóstico correcto de una enfermedad nutricional es necesario tomar en cuenta las condiciones en que se desarrollan los peces y compararlos con los parámetros normales de crecimiento. Así mismo, se considera de interés realizar análisis químico de la dieta.

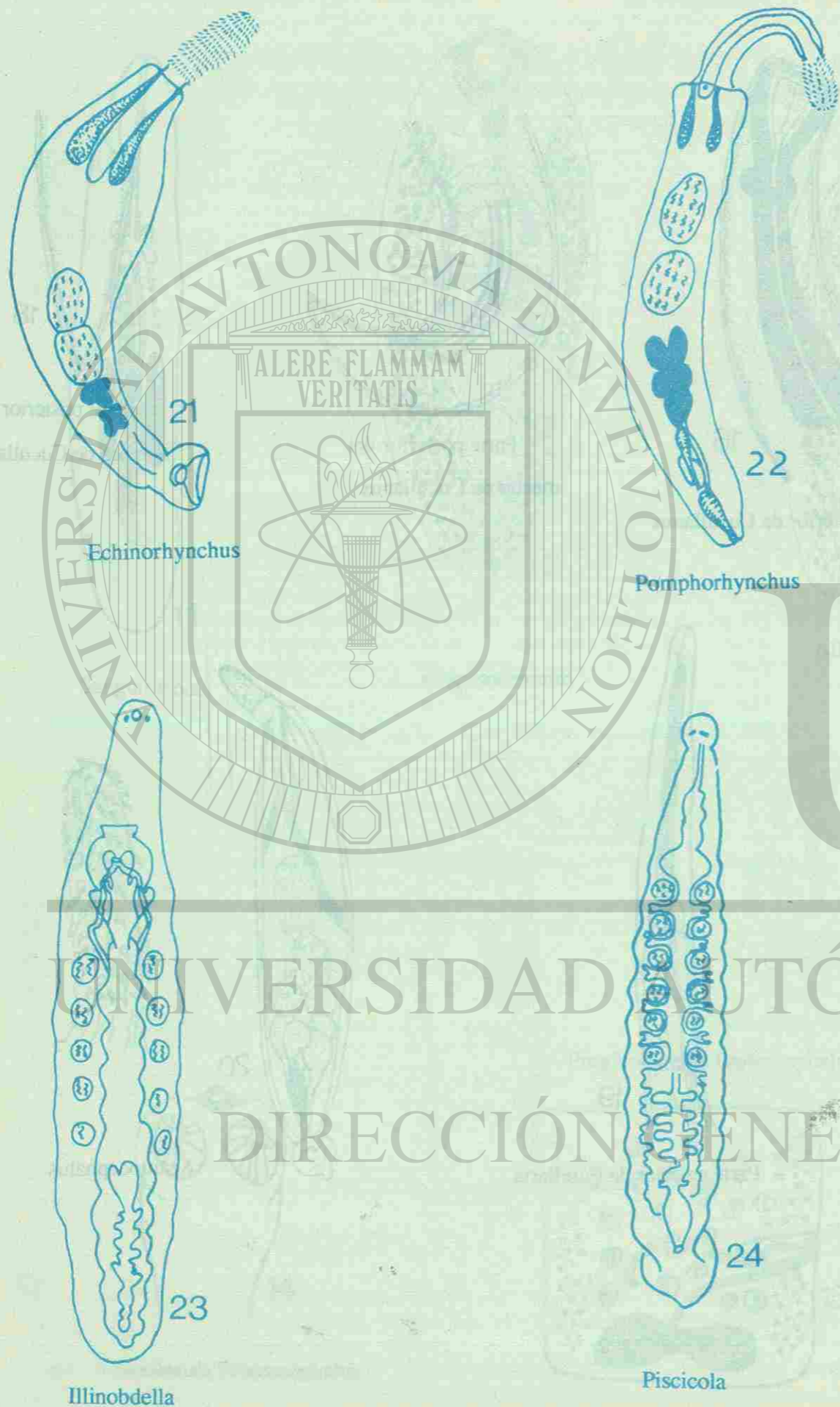
Entre los factores que tienen relación con diferencias nutricionales se encuentran el tamaño y forma de alimento comparado con el tamaño de los peces y el método de administración, uniformidad en la disponibilidad del alimento para todos los peces a la vez, características físico-químicas del agua, etc.

Algunos signos patológicos que frecuentan los peces por la diferenciación de nutrientes son:
Diferencia de proteínas. - El pez crece más lentamente, en ocasiones se observan curvaturas en la columna vertebral ocasionadas por la diferencia de triptófano el cual afecta la formación del colágeno. Si las deformaciones son laterales se le conoce como escoliosis y si son ventrodorsales, lordosis.

Niveles de proteína recomendados para dietas balanceadas (%)

| | Joven | subadulto | adulto |
|--------------------|-------|-----------|--------|
| Trucha "arco iris" | 38-40 | 36-38 | 34-36 |
| Bagre | 35-40 | 25-36 | 25-32 |
| Salmon chinook | 47-56 | 43-47 | 40-42 |
| Carpa | 43-47 | 37-42 | |

Exceso o deficiencia de grasas: Cuando el alimento contiene este nutriente en exceso, se infiltra en el hígado de los peces dándole un color amarillo acre e inflamado, lo que hace que al no funcionar correctamente cause alteraciones en riñón, por lo que en ocasiones se observa edema con

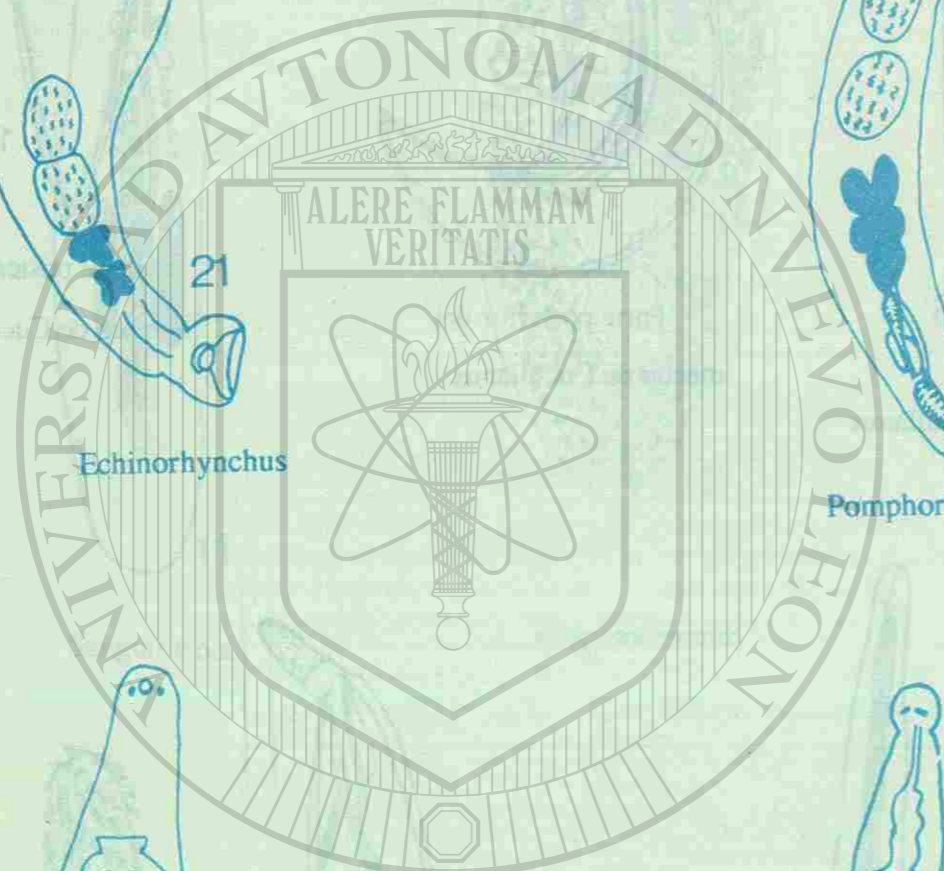


Echinorhynchus

Pomphorhynchus

Illinobdella

Piscicola



ENFERMEDADES NUTRICIONALES

Ma. Hilda Garza Fernández y Ma. Teresa Correa Lettlen
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

En la salud de los peces, la alimentación juega un papel muy importante. Cuando el pez no recibe la dieta adecuada, sus defensas inmunológicas decrecen y su disposición a contraer enfermedades es mayor.

En los cultivos de peces, se pretende convertir la mayor parte de la proteína suministrada en el alimento a proteína muscular. El alto valor protéico de las dietas naturales se atribuye en gran parte a que los peces metalizan escasamente a los carbohidratos.

La calidad de las materias primas en la elaboración de las dietas para peces es muy importante. Una dieta debe llevar los requerimientos nutricionales propios del pez de acuerdo a su edad. La mayoría de los expertos en nutrición de peces consideran que una dieta es nutricionalmente balanceada cuando se observa una conversión dieta-pez o menor de 2.0.

El desarrollo de enfermedades nutricionales ocasionadas por deficiencias en la dieta de algún componente alimenticio básico toma mucho tiempo antes de que los síntomas se frecuenten. Esto generalmente ocurre cuando falta algún nutriente o cuando se presentan infecciones por organismos patógenos, los cuales pueden enmascarar los síntomas por deficiencias nutricionales.

Para evaluar un diagnóstico correcto de una enfermedad nutricional es necesario tomar en cuenta las condiciones en que se desarrollan los peces y compararlos con los parámetros normales de crecimiento. Así mismo, se considera de interés realizar análisis químico de la dieta.

Entre los factores que tienen relación con diferencias nutricionales se encuentran el tamaño y forma de alimento comparado con el tamaño de los peces y el método de administración, uniformidad en la disponibilidad del alimento para todos los peces a la vez, características físico-químicas del agua, etc.

Algunos signos patológicos que frecuentan los peces por la diferenciación de nutrientes son:

Diferencia de proteínas. - El pez crece más lentamente, en ocasiones se observan curvaturas en la columna vertebral ocasionadas por la diferencia de triptófano el cual afecta la formación del colágeno. Si las deformaciones son laterales se le conoce como escoliosis y si son ventrodorsales, lordosis.

Niveles de proteína recomendados para dietas balanceadas (%)

| | Joven | subadulto | adulto |
|--------------------|-------|-----------|--------|
| Trucha "arco iris" | 38-40 | 36-38 | 34-36 |
| Bagre | 35-40 | 25-36 | 25-32 |
| Salmon chinook | 47-56 | 43-47 | 40-42 |
| Carpa | 43-47 | 37-42 | |

Exceso o deficiencia de grasas: Cuando el alimento contiene este nutriente en exceso, se infiltra en el hígado de los peces dándole un color amarillo acre e inflamado, lo que hace que al no funcionar correctamente cause alteraciones en riñón, por lo que en ocasiones se observa edema con

otros órganos. La deficiencia de ácidos grasos en la dieta ocasiona ascoraciones y pérdida de color en la piel, dejando al pez en condiciones óptimas para la invasión de bacterias u hongos.

Exceso de carbohidratos: El exceso de estos compuestos en la dieta de los peces causa hiperglicemia y el hígado incrementa su tamaño. Al aumentar la glucosa en las sangre de los peces, éstos se muestran aletargados, tienden a nadar en la superficie del agua y pierden el apetito. El glicógeno del hígado se incrementa y puede causar puncionamiento de riñón o la muerte directa.

Deficiencia de vitaminas: El diagnóstico de deficiencia de vitaminas es difícil de realizar y este dependerá de las vitaminas que sospecha faltan en la dieta. Los signos que presentan los peces dependerán de las vitaminas deficientes, por ejemplo, al faltar vitamina B12 hay alteraciones hematológicas, fragilidad en los eritrocitos y deficiencia en el crecimiento; con la reboflavina se presenta opacidad en uno o ambos ojos, pérdida de peso, anemia, hemorragia en los ojos; por tiamina, los peces tienden a perder el equilibrio, aparecen aletargados, hay edema, convulsiones y el pez puede morir; por peridoxina los peces nadan erráticamente, en forma de círculo y hay espasmo muscular cuando se estresan, además de desórdenes nerviosos y pérdida de apetito, el color de la piel toma un color azul violeta y hay flacidez en los opérculos. Por deficiencia de vitaminas espolubles como la vitamina A, hay alteración en la retina y pérdida de peso, se presenta adema, ascitis, exoploftalmia y hemorragias en riñón; por vitamina E hay exoplasma e inflamación en el riñón; por vitamina K se reduce el tiempo de coagulación de la sangre provocando hemorragia que puede ocasionar la muerte del pez.

Deficiencia de minerales: Dado que la cantidad de minerales presentes en la dieta es muy pequeña, la detección de deficiencia de estos en los peces también se dificulta; sin embargo, ha podido determinarse que la deficiencia en zinc ocasiona cataratas en los ojos, deficiencia en fierro provoca reducción en la hemoglobina y hematocrito en la sangre.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CLAVES PARA LA DETERMINACION CLINICA DE LAS ENFERMEDADES MAS COMUNES

REFERENCIAS

- Dufree, H. J. and J. V. Humer. 1984. Third Report to the Farmers. U.S. Dept. of the Interior Fish and Wildlife Service, Washington, D.C.
- Post, G. 1983. Textbook the fish Health. TFH. Publication, Inc. Ltd.
- Rubelin, W.E. and G. Migaki. 1975. The Pathology of Fishes. The University of Wisconsin Press.
- Snieszko, S.F. 1984. Nutritional gill Disease. Fish Disease Leaflet 36. United States Department of the Interior. Fish and Wildlife Service. Div. of Fishery Research Washington, D.C.

1. Mortalidad en masa que afecta a todas las especies de peces... (Mortalidad en masa que afecta a todas las especies de peces...)

2. Mortalidad en masa que afecta solamente a peces de una sola especie... (Mortalidad en masa que afecta solamente a peces de una sola especie...)

3. Mortalidad en masa que afecta solamente a peces pequeños... (Mortalidad en masa que afecta solamente a peces pequeños...)

4. Mortalidad esporádica que afecta a peces de todas las especies... (Mortalidad esporádica que afecta a peces de todas las especies...)

5. Mortalidad que afecta a peces de todas las especies... (Mortalidad que afecta a peces de todas las especies...)

6. Mortalidad que afecta a peces de todas las especies... (Mortalidad que afecta a peces de todas las especies...)

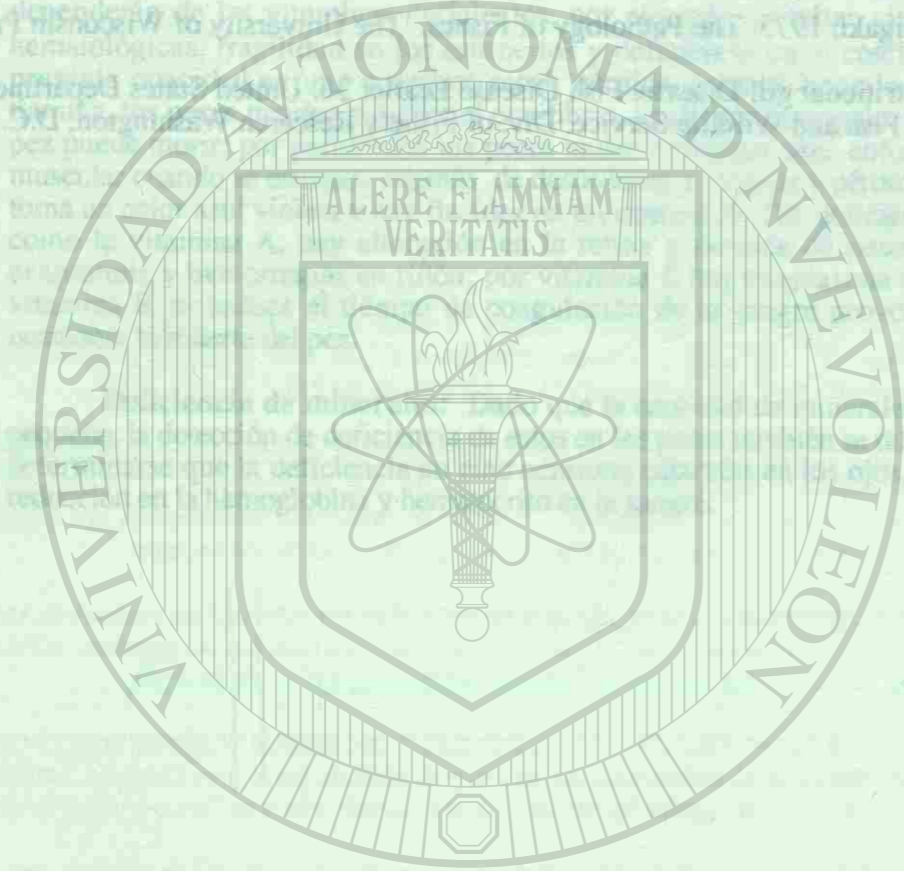
7. Mortalidad que afecta a peces de todas las especies... (Mortalidad que afecta a peces de todas las especies...)

8. Mortalidad que afecta a peces de todas las especies... (Mortalidad que afecta a peces de todas las especies...)

otros órganos. La deficiencia de aceites grasos en la dieta ocasiona sequedades y pérdida de color
la piel, dejando al pez en condiciones óptimas para la invasión de bacterias u hongos.

Entre las enfermedades más comunes en la trucha se encuentran: Epiteliocistiasis, mixobacteriosis, trichodiniasis, costiasis, chilodonellosis, ichtyophthiriasis, dactylogyrosis, gyrodactylosis, ergasilosis, lerneosis y argulosis.

Las enfermedades más comunes en la trucha se encuentran: Epiteliocistiasis, mixobacteriosis, trichodiniasis, costiasis, chilodonellosis, ichtyophthiriasis, dactylogyrosis, gyrodactylosis, ergasilosis, lerneosis y argulosis.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CLAVES PARA LA DETERMINACION CLINICA DE LAS ENFERMEDADES MAS COMUNES EN LA TRUCHA

Feliciano Segovia Salinas y Fernando Jiménez Guzman
Facultad de Ciencias Biológicas

I) Mortalidad en Masa

1. Mortalidad en masa que afecta todas la especies de peces: Stress por causa desconocida, por manejo manual falta de oxígeno, hipersaturación de gases tóxicos producidos por algas (fitotoxinas), pesticidas u otros productos tóxicos.
2. Mortalidad en masa que afecta solamente a peces de una sola especie: Epiteliocistiasis (Epiteliomas), mixobacteriosis trichodiniasis, costiasis, chilodonellosis, ichtyophthiriasis, dactylogyrosis, gyrodactylosis.
3. Mortalidad en masa que afecta solamente a peces pequeños: Pesticidas u otros productos tóxicos, epiteliocistiasis, trichodiniasis, costiasis, chilodonellosis dactylogyrosis gyrodactylosis.

II) Mortalidad Esporádica. Mortalidad esporádica que afecta todas las especies: Stress por causa desconocida, por mal manejo, malnutrición y avitaminosis.

2. Mortalidad esporádica que afecta una sola especie: Mala nutrición, epiteliocistiasis, bacterias gram negativas, septicemia, myxobacteriosis, saprolegniasis, branchiomycosis, trichodiniasis, costiasis, chilodonellosis, glosateliiasis, scyphidiasis, epistiliiasis, ichtyophthiriasis, myxosporidiasis, dactylogyrosis, gyrodactylosis, clinostomiasis, infecciones, por sanguijuelas, ergasilosis, lerneosis y argulosis.
3. Mortalidad esporádica que afecta solamente a peces pequeños (juveniles): Malnutrición, epiteliocistiasis, trichodiniasis ichtyophthiriasis, dactylogyrosis, clinostomiasis,

4. Mortalidad esporádica que afecta solamente peces grandes (adultos): Stress por manejo, falta de oxígeno, septicemia.

III) Cuando tienen inquietud general

1. Avitaminosis, toxinas, fitotoxinas, pesticidas u otros productos tóxicos, trichodiniasis, costiasis glosateliiasis, gyrodactylosis, infecciones por sanguijuelas argulosis.

IV) Cuando suben a tomar aire a la superficie.

1. Falta el oxígeno, pesticidas u otros toxinas, epiteliocistiasis, bacterias gram negativas, septicemia myxobacteriosis, saprolegniasis, branchiomycosis dactylogyrosis y ergasilosis.

V. Cuando tienen pereza, poca movilidad

1. Stress (causa desconocida), stress por manejo malnutrición, avitaminosis, falta de oxígeno, hipersaturación de gases epiteliosistiasis bacterias gram negativas, septicemia, myxobacteriosis, saprolegniasis, branchimicosis, dactylogyrosis.

VI. Cuando tienen pérdida de peso muy marcada:

1. Trichodiniasis, costiasis, chilonellosis, glosatelliasis, Sciphidiasis, Epistiliasis, ichthyophthiriasis y gyrodactylosis.

VII) Cuerpo, aletas, forma y color:

1. Enflaquecimiento marcado del cuerpo: Malnutrición, avitaminosis, epiteliosistiasis, acantocéfalos, larvas de nemátodos, larvas de céstodos, ergasilosis, lernaosis, infecciones por isópodos.
2. Hidropesía: Stress por causa desconocida, stress por manejo bacterias gram negativas, septicemia, clinostomiasis, larvas de céstodos.
3. Deformación de las espinas: Avitaminosis.
4. Aletas erizadas: Stress por causa desconocida, stress por manejo, malnutrición, hipersaturación de gases, linfocitosis, myxobacteriosis, saprolegniasis, argulosis.

VIII) Piel.

1. Decoloración de la piel: Stress por causa desconocida, stress por manejo avitaminosis, myxobacteriosis, costiasis, chilonellosis, glosatelliasis, scyphidiasis, epistiliasis, gyrodactylosis, papilomas.
2. Piel oscura: Stress por causa desconocida, stress por manejo, malnutrición, bacterias gram negativas, myxosporidiasis.
3. Pérdida de escamas (descamación). Stress por causa desconocida, stress por manejo, malnutrición, avitaminosis, bacterias gram negativas, septicemia, saprolegniasis, clinostomiasis.
4. Escamas erizadas: Glosatelliasis, scyphidiasis, epistiliasis.
5. Piel brillantada y blancuzca: Costiasis, gyrodactylosis, argulosis, infecciones por isópodos.
6. Ulceras pequeñas o petequias rojizas: Bacterias gram negativas, epistiliasis, gyrodactylosis, infecciones por sanguijuelas, lernaosis, argulosis, infecciones por isópodos.
7. Hemorragias focales: Bacterias gram negativas, myxobacteriosis, epistiliasis, costiasis, gyrodactylosis, infecciones por sanguijuelas, lernaosis, argulosis e infecciones por isópodos.
8. Hemorragias extensivas: Stress por causa desconocida, por mal manejo, bacterias, gram negativas, septicemia, myxobacteriosis, saprolegniasis, costiasis, chilonellosis y gyrodactylosis.

9. Necrosis en piel: Myxobacteriosis, saprolegniasis, clinostomiasis, argulosis y papilomas.

10. Mucosidades excesivas: Stress por causas desconocidas, por mal manejo, myxosis, chilonellosis, ichthyophthiriasis y gyrodactylogyrosis.

11. Pequeñas heridas que semejan perforaciones: Infecciones por sanguijuelas e isópodos, lernaosis argulosis.

12. Manchas blancas de menos de 1mm de diámetro: Ichthyophthiriasis.

13. Acúmulos a racimos de pústulas o verrugas: Linfocitosis.

14. Quistes o nódulos blancos: Linfocitosis, myxosporidiasis y papilomas.

15. Nódulos o tumores de gran tamaño: Myxosporidiasis y papilomas.

16. Crecimientos de mechones blancos (en forma de algodón): Saprolegniasis.

17. Numerosos nódulos rojos: Infecciones por sanguijuelas, lernaosis.

18. Quistes (puntos) oscuros o iridiscentes: Metacercarias (black spot) u otras infecciones.

19. Quistes amarillos mayores de 2 mm de diámetros: Clinostomiasis.

20. Lesiones necróticas subcutáneas de color pardo (color café): Bacterias gram negativas, myxobacteriosis, saprolegniasis.

21. Ectoparásitos grandes y visibles: Infecciones por sanguijuelas e isópodos, lernaosis, y argulosis.

22. Burbujas de aire dentro de las aletas: Hipersaturación de gases.

IX) Ojos.

1. Exoftalmosis: Stress por causa desconocida, por mal manejo, avitaminosis, hipersaturación de gases, bacterias gram negativas y septicemia.

2. Opacidad de la córnea: Stress por causa desconocida, por mal manejo, avitaminosis, bacterias gram negativas, trichodiniasis costiasis, chilonellosis, gyrodactylosis.

3. Lente opaco: Stress por causa desconocida, avitaminosis, metacercaria (diplostomiasis).

4. Deformación del ojo o ceguera: Diplostomiasis, malnutrición y bacterias gram negativas.

5. Manchas blancas: Ichthyophthiriasis.

X) Agallas y filamentos branquiales.G

1. Palidez: Bacterias gram negativas, septicemia, costiasis, tripanosomiasis, coccidiasis(cnidosporidiasis), hemogregarinas, gyrodactylosis dactylogyrosis.

2. Placas blancas: Myxobacteriosis y ergasilosis.
3. Placas pardas (café o blancuzcas: Branchomicosis.
4. Folamentos deformados: Metacercarias, infecciones por isópodos.
5. Puntos blancos: Epiteliosistosis, ichthyophthiriosis y microsporidiasis.
6. Nódulos blancos: Myxosporidiasis.

XI) Cavity abdominal

1. Líquido hemorrágico y purulento: Bacterias gram negativas septicemia.
2. Líquido claro: Stress por causa desconocida o por mal manejo.
3. Peritonitis: Bacterias gram negativas. Acantocéfalos, larvas de nemátodos.
4. Quistes y/o nódulos blancos: Coccidios (cnidosporidios) y hemogregarinas, myxosporidiasis, microsporidiasis, metacercarias, larvas de nemátodos larvas de céstodos.
5. Quistes amarillos: Clinostomiasis.
6. Quistes conteniendo gusanos rojos: Nemátodos filariformes.
7. Quistes pardos (color cafés), oscuros en la pared del intestino: Metacercarias, nemátodos filariformes, larvas de nemátodos.
8. Gusanos planos y blancos: Larvas de céstodos.
9. Gusanos rojos y redondos: Nemátodos filariformes y larvas de nemátodos.

XII) Vísceras

1. Riñón muy grande: Stress por causa desconocida, por mal manejo, bacterias gram negativas.
2. Riñón con nódulos grises: Bacterias gram negativas.
3. Riñón con infecciones focales blancas: Coccidios (cnidosporidios), hemogregarinas, myxosporidiasis, microsporidiasis.
4. Bazo muy grande y rojo: Stress por causa desconocida, manejo inadecuado.
5. Bazo muy grande y con nódulos grisáceos: Bacterias gram negativas, coccidios, hemogregarinas, myxosporidiasis, microsporidiasis.
6. Hígado amarillo y/o verdoso: Malnutrición.
7. >Hemorragias en músculo e intestino: Stress por causa desconocida por mal manejo, bacterias gram negativas, sépticemia, acatocéfalos, larvas de nemátodos.

XIII) Sangre.

Anemia y hemotocrito bajo: Bacterias gram negativas, septicemia, tripanosomiasis.

B. Técnicas de laboratorio para Metazoarios

Para la identificación de las diversas formas parasitarias es necesario procesar debidamente el material infectado utilizando adecuadamente las técnicas que se incluyen en el diagnóstico de certeza o de laboratorio, éste comprende el examen macroscópico (con pequeños aumentos) y el examen microscópico. Ambos se describen a continuación:

Examen macroscópico. Es la parte inicial de diagnóstico, incluye las observaciones a simple vista, con lupa y esteroscopio.

Examen microscópico. Se logra mediante preparaciones directas y permanentes y métodos de enriquecimiento; éstos se describen enseguida.

- a) Preparaciones directas: Incluye microscopía con contraste de fases, fluorescencia, campo claro u obscuro examinándose el material en fresco o con tinciones vitales.
- b) Preparaciones permanentes. El diagnóstico con este método se aplica en im portas de vísceras, gota gruesa, frotis de heces o directamente preparando protozoarios, helmintos o bacterias. Este se realiza utilizando básicamente microscopía de campo claro.
- c) Métodos de enriquecimiento. Estos pueden ser mecánicos (soluciones de alta o baja densidad para heces fecales) o biológicos (Coprocultivos, higtotropismo, fototropismo, xenocultivos ya sea por reproducción o concentración o mediante cultivos de sangre, heces, exudados, etc.).

En cuanto se obtenga el ejemplar con sospechas de infección parasitaria debe examinarse visualmente (examen macroscópico) piel, aletas, branquias y boca en búsqueda de quistes, coloración anormal, hemorragias externas, secreción excesiva de mucus o pústulas de las cuales se toma una muestra y se observa bajo el microscopio compuesto (examen microscópico directo).

Enseguida se disecta separando con cuidado cada uno de los órganos y branquias, los cuales son examinados macroscópicamente, incluyendo la cavidad celómica.

La identificación definitiva se realiza con la ayuda de técnicas de fijación, tinción y transparentación para lograr las preparaciones permanentes, los cuales se mencionan enseguida.

Trématodos monogéneos

Estos se identifican examinando los ganchos marginales y anclas de opisthaptor y el aparato reproductor.

1. Colocar el tremátodo entre porta y cubreobjeto.
2. Fijas con una mezcla de glicerina alcohol.
3. Dejar evaporar el alcohol.
4. Conservar el parásito entre porta y cubre objeto, eliminar las burbujas de aire, agregando gotas de glicerina, en el borde del cubreobjetos.
5. Limpiar el portaobjetos alrededor del cubreobjetos.
6. Sellar con laca, esmalte para ungas, o asfalto, manteniendo la preparación en posición horizontal.

Tremátodos digéneos, céstodos y acantocéfalos

Los tremátodos vivos se introducen en un tubo de ensaye con agua o solución salina al 0.6% y se agitan, para ayudar a su relajamiento. Luego se comprime entre portaobjetos y cubreobjetos. Se colocan en una caja de petri y se agrega alcohol al 70%, formol al 10% o AFA por media hora a 1 hora mínima.

Los céstodos adultos se trabajan de manera similar procurando obtener el escólex. Para fijar los acatócefalos estos deben tener la proboscide fuera del tronco, esto se logra colocándolos en agua destilada. Céstodos y acantocéfalos se fijan y se tiñen de manera similar que los tremátodos digéneos.

Procedimiento de fijación:

1. Fijarlos entre portaobjetos o entre portaobjetos y cubreobjetos, dependiendo del tamaño. Omptricar entre ñas dps ña,omoñías AFA o formol al 10% durante dos horas.
2. Lavar durante varias horas en etanol 70 % o si se desea pueden preservarlos en esta misma solución por tiempo indefinido.

La tinción se realiza con carmín alumbre o carmín borax.

Tinción con carmín alumbre

1. Colocar en agua por 20 min. o más en cajas de petri.
2. Introducir al colorante por 5 min. a 1 hora, según el tamaño.
3. Lavar en agua destilada.
4. Transferir a etanol 70,80,90 y 100 % para deshidratar, durante 3-5 min. en c/u.
5. Transparentar en xilol o salicilato de metilo, colocando el ejemplar entre dos laminillas por 30 min. a 5 horas.
6. Montar en resina sintética.

Tinción con carmín borax

1. Del etanol 70% transferir al colorante durante, varias horas en cajas de petri.
2. Si se sobretiñe, introducirlos en etanol acidulado (99 ml. de etanol 70% y 1 ml. de ácido clorhídrico Q.P.) se observa al estereoscopio para sacarlos al momento en que ya se hayan diferenciado las estructuras.
3. Lavar en etanol 70%.
4. Dehidratar en etanol, transparentar en salicilato de metilo y montar, igual que en la técnica anterior.

Nemátodos

1. Lavar en solución salina al 0.6%
2. Introducirlos en agua caliente (hervir) sacarlos inmediatamente después de que se extiendan.
3. Fijar en Formol 5-10 % o en AFA durante varias horas.
4. Preservar en alcohol al 70%.

Transparentación en glicerina

1. Del Etanol 70%, donde pueden preservarse durante varias horas o días, se tranfieren sucesivamente a la glicerina al 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100% dejándolo en cada una un tiempo de 30 min a 2 horas a 40°C., según su tamaño.
2. Montar en Glicerina gelatina, sellando la preparación semipermanente con negro de asfalto o esmalte de uñas.

Transparentación en Lactofenol

1. Del Etanol al 70% tranferir a lactofeno durante varias horas.
2. Examinar entonces, si se desea, colocándolos entre un portaobjetos y un cubreobjetos con gotas de Lactofenol.

La preparación semipermanente puede obtenerse de manera similar a la anterior,

Sanguijuelas

1. Fijar en Formol 5%. En esta solución conservan su pigmentación pero pueden preservarse en etanol 70%.
2. Examinar con una lupa o con estereoscopio.

Crustáceos

1. Fijar igual que las senguijuelas.
2. Transparentar en glicerina (igual que los nemátodos).
3. Montar en glicerina gelatina.

7) Alumbre carmín.

| | |
|-----------------------|---------|
| Alumbre de potasio | 30 g. |
| Carmín de cochinillos | 30 g. |
| Agua destilada | 400 ml. |

Disolver el alumbre de potasio en agua destilada, luego agregar el colorante, agitar y filtrar.

8) Carmín Borax.

| | |
|----------------|--------|
| Carmín | 1.5 g. |
| Borax | 2.0 g. |
| Agua destilada | 50 ml. |
| Etanol 70% | 50 ml. |

Disolver el colorante en etanol 70% por separado disolver el Borax en el agua destilada, agitando. Mezclar ambas soluciones y filtrar.

9) Colorante de Giemsa (solución madre).

| | |
|----------------------------|----------|
| Colorante en polvo | 3.8 g. |
| Glicerol | 125. g. |
| Metanol (libre de acetona) | 373. ml. |

Disolver el colorante en la glicerina aproximadamente a 60°C durante una hora. dejar enfriar. Filtrar y agregar el metanol, agitando cuidadosamente. guardar en frascos obscuro.

La solución de trabajo se prepara de la siguiente manera:

| | |
|---------------------------------------|--------|
| Solución madre de colorante de Giemsa | 2. ml. |
| Agua destilada | 8. ml. |

Para teñir, fijar laminillas con metanol 3 min.; introducir la laminilla a la solución de trabajo durante 30-45 min.; posteriormente en una solución buffer pH 7.6-7.2 o en agua de lallave con unas gotas de colorante. Finalmente lavar la laminilla con el chorro de agua para eliminar partículas.

10) Lugol.

| | |
|-----------------|----------|
| Yodo | 5. g. |
| Yodo de Potasio | 10. g. |
| Agua destilada | 100. ml. |

Guardar en frasco obscuro

Mordientes

11) Alumbre férrico amoniacal al 4%.

Medios de montaje

16) Resina sintética. A un volumen dado de xilol, se le agrega resina sintética con polvo, agitando vigorosamente hasta que se disuelva o se deje reparar durante varios días.

Se emplea la solución cristalina (sin burbujas).

17) Glicerina gelatina.

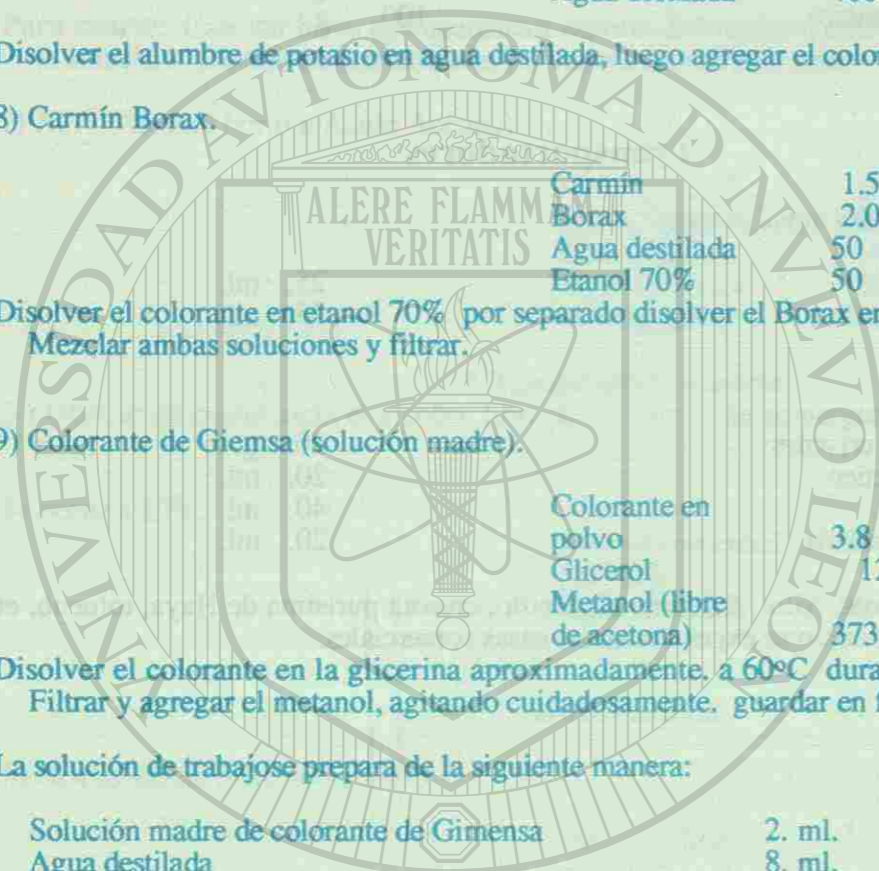
Gelatina en polvo 3.5 g.

| | |
|-------------------------|---------|
| Acido férrico (o fenol) | 1. g. |
| Agua destilada | 21. ml. |

18) Asfalto

El asfalto sólido se disuelve con xilol., hasta obtener una solución semilíquida, se emplea sellando el borde del cubre con la superficie del porta objetos, procurando que esté limpio.

CAPILLA ALFONCINA

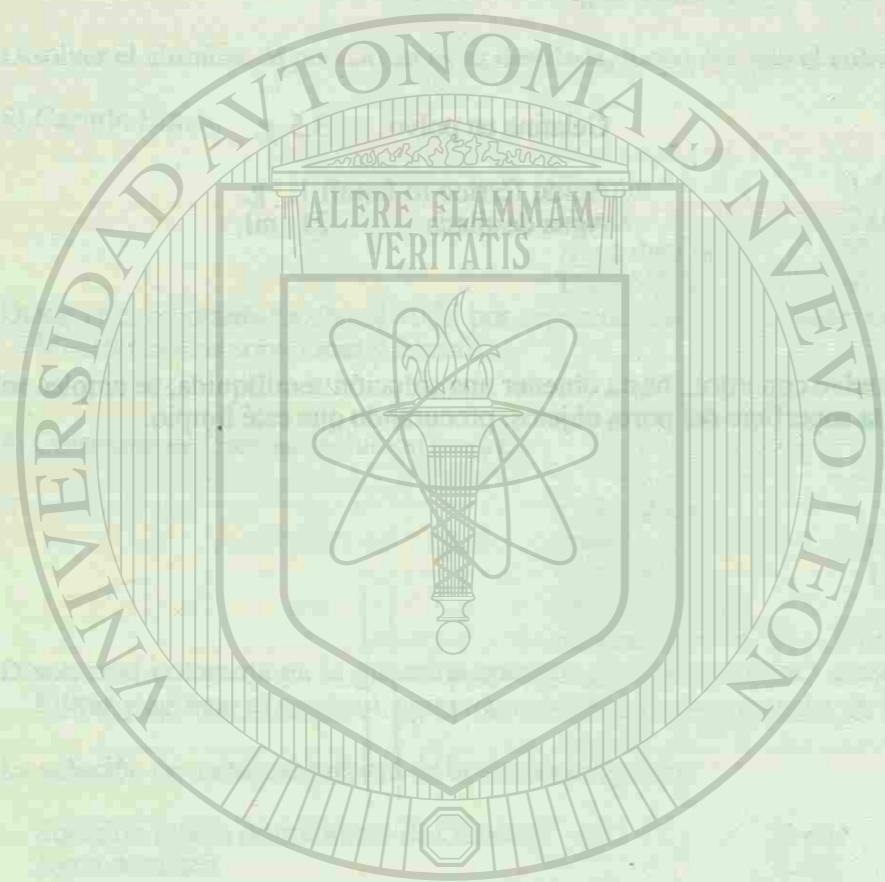


U A N L

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TECNICAS HISTOLOGICAS Y HEMATOLOGICAS

Fco. Javier. Alvarez Mendoza y Elsa Ma. Tamez Cantú
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

IMPORTANCIA

La Histología e Histopatología en peces es un campo no investigado suficientemente. Las diversas alteraciones histológicas que pueden observarse en los peces en resultado de muy distintas situaciones (edad, stress, infecciones, parásitos, sustancias tóxicas como manifestaciones carenciales, etc.).

Por otro lado el examen hematológico es otra herramienta que permite identificar diversas enfermedades de peces en base a distintos resultados cualitativos y cuantitativos. Este examen, junto con la histopatología y exploración física del caso individual correspondiente posee un valor decisivo a la hora de emitir un diagnóstico.

Técnicas Selectas de Hematología en Peces

Para el estudio del tejido sanguíneo en Peces se han adecuado técnicas del laboratorio usadas originalmente en el humano y/o a nivel veterinario, por lo tanto, los resultados se deben interpretar a la luz del criterio metodológico empleado.

La interpretación correcta de los resultados de las técnicas hematológicas aplicadas en peces se hacen tomando en cuenta múltiples factores por ejemplo stress, alimentación calidad de agua, etc. (según el enfoque particular de cada trabajo).

Uno de los problemas con que nos encontramos, es la obtención de la muestra (tejido sanguíneo) y para este propósito se han aplicado varios métodos dentro de los cuales destacaremos los siguientes:

- Punción cardíaca
- Punción de arteria dorsal
- Punción de arteria caudal en el pedúnculo caudal
- Sección del pedúnculo caudal

En las tres primeras, se puede obtener la muestra sin matar el espécimen. Además con la ayuda de anestésicos se puede facilitar hacer la punción disminuyendo así alteraciones en nuestros resultados causados por el stress.

Las técnicas que en forma rutinaria se pueden llevar a cabo con una muestra pequeña (3 ml. de sangre) son las siguientes:

- Determinación de Hemoglobina en mg por 100 ml. de sangre
- Paquete porcentual de glóbulos rojos (microhematocrito)
- Recuento diferencial de glóbulos blancos
- Recuento por dilución de glóbulos rojos
- Recuento por dilución de glóbulos blancos

- f) Proteína total del plasma
- g) Electroforesis

Los resultados obtenidos son herramienta para el diagnóstico, prevención, tratamiento y evolución de algunas enfermedades, envenenamiento, contaminación, mal nutrición y por otro lado podrían dar la pauta para la selección genética de reproductores en programas acuaculturales.

Parámetros Hematológicos en Trucha Arco Iris

| Parámetros | Rango | Promedios |
|--|------------|-----------|
| Eritrocitos/mm ³ (10 ⁶) | 1.19-11.32 | 1.253 |
| Hematocrito (%) | 30.8-33.7 | 32.25 |
| Hemoglobina (gr/100ml) | 7.6-8.2 | 7.9 |

Houston y Smeda (1979)

Parámetros Hematológicos en Trucha Café

| Parámetros | Rango | Promedio |
|--|-------------|----------|
| Hemoglobina (gr/100ml) | 4.1-10.3 | 6.83 |
| Eritrocitos/mm ³ (10 ⁶) | 0.606-1.320 | 0.160 |
| Hematocrito (%) | 20-43 | 32 |
| Leucocitos/mm ³ | 2000-63000 | 11563 |
| Linfocitos % | 56-100 | 90 |
| Neutrofilos % | 0-25 | 6.6 |
| Metamielocito % | 0-11 | 1.4 |
| Mielocito % | 0-8 | 1.6 |
| Blastos % | 0-4 | 0.3 |

Blaxhall y Daisley (1973)

REFERENCIAS

Barham, W.T.; Smith, G.L., & Schoonbee (1979). The Effect of Heparin Concentration on Certain Blood Parameters of the Rainbow Trout *Salmo gairdneri* R. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 63C. pp 369-371.

Blaxhall, P.C. & Daisley, K.W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. J. Fish Biol. (1973)5, 771-781.

Houston, A.H. & Smeda, J. S. (1979) Thermoacclimatory Changes in the ionic microenvironment of haemoglobin in the stenothermal rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and eurythermal carp (*Ciprinus carpio*). Journal experimental biological (1978)8, 317-340.

Kawatsu H. (1974). Studies on the anemia of fish-VI. Further note on the anemia caused by starvation in Rainbow trout. Bulletin of freshwater Fisheries Research Laboratory Vol. 24 No. 2 (1974)

Reinchenbach -Linke H.(1977). Trabajos sobre Histopatología de los Peces. Editorial ACRIBIA España. pp. 25-36.

Lone K.P., Ince B.W., Matty, A.J. (1981). Changes in blood chemistry of rainbow trout *Salmo gairdneri* Rich in relation to dietary protein level and an anabolic steroid hormone, ethylestrenol. Journal fish biological (1982) 20, 597-606.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPILLA ALEONCINA

LA TECNICA HISTOLOGICA

La fijación es un proceso que provoca la muerte de las células, de tal manera, que conservan lo mejor posible las características químicas y morfológicas presentes durante la vida. Es una técnica que permite analizar las características de las células y los tejidos después de la muerte.

Los fijadores son sustancias de composición variable, orgánicas o inorgánicas y que pueden ser simples o formados por la mezcla de varias sustancias (compuestos)

Al sumergir un trozo de tejido en el fijador, todas las células no mueren instantáneamente al mismo tiempo, por lo que pueden producirse alteraciones a la falta de oxígeno, cambios de pH., etc. Como el fijador penetra por difusión, las células periféricas se fijan mejor y más rápidamente que las del centro.

Para que una sustancia sea un buen fijador debe presentar las siguientes características:

- 1.- Gran poder de penetración
- 2.- Que actúe rápidamente precipitando (coagular) el coloide celular, sin causar alteraciones morfológicas.
- 3.- Deben presentar un pH generalmente ácido, ya que los fijadores alcalinos provocan alteraciones.
- 4.- No deben entorpecer los métodos de inclusión, microtomía y coloración.

En resumen los fijadores se pueden clasificar de la siguiente manera:

| | |
|----------|--|
| Físicos | Calor |
| | Frío |
| Químicos | Simple (cuya fórmula es una solución fijadora) |
| | Compuestos (cuya fórmula presenta varias soluciones fijadoras) |

Los fijadores pueden ser a base de alcohol, formol, sales de cromo, bicloruro de mercurio y otros.

Es muy importante saber elegir el fijador, según el tejido que se vá a trabajar, ya sea vegetal o animal, histológico o citológico, si el resultado lo queremos específico sobre determinadas estructuras celulares, o bien si la observación es con el microscopio compuesto o con el electrónico.

Si queremos lograr una fijación buena, debemos tomar en cuenta lo siguiente:

- 1.- Las piezas no deben pasar de un cm cúbico, aún cuando se utilicen fijadores de gran poder de penetración.
- 2.- Las piezas deben estar bañadas en un volumen de fijador que sea 50 veces más que el volumen de la pieza.

3.- Las piezas deben permanecer en el fijador el tiempo adecuado, que puede variar de unos minutos a varios días.

4.- La fijación debe ser a la temperatura ambiente, sin embargo en algunos métodos especiales se requiere temperaturas adecuadas, que se indicarán en su oportunidad.

5.- Cuando se termine el tiempo de la fijación, se debe quitar el exceso del líquido fijador, dando un lavado prolongado en agua.

6.- Si se mantiene el material histológico por más tiempo del indicado, se debe conservar mejor en una solución de formol al 1% al 4%.

7.- El fijador debe estar en frascos perfectamente bien cerrados para que el fijador no se volatilice.

8.- Los tejidos que floten como la vejiga natatoria y el adiposo, hay que cubrirles con una capa de algodón o gasa, de tal manera que toda la superficie de la pieza esté bien saturada con el fijador.

FIJADORES MAS USUALES

Formol al 40%

| | |
|----------------|---------|
| Formol | 10 c.c. |
| Agua destilada | 90 c.c. |

Líquido de carney

| | |
|------------------|---------|
| Alcohol absoluto | 60 c.c. |
| Cloroformo | 30 c.c. |
| Ac. Acético | 10 c.c. |

Líquido de Bouin

| | |
|------------------------------|---------|
| Sol. saturada de ac. picrico | 75 c.c. |
| Formol Q.P. | 20 c.c. |
| Ac. Acético glacial | 5 c.c. |

(El ácido acético se recomienda agregarlo antes de usar el fijador)

PROPIEDADES DE LOS PRINCIPALES AGENTES FIJADORES

Alcohol etílico.- (del 70 al 100%). Es un agente reductor, por lo que no es compatible con el bicromato de potasio ni con el tetraóxido de osmio. Precipita energicamente las proteínas, pero no las nucleoproteínas, disuelve determinados lípidos complejos y precipita el glucógeno sin fijarlo. Provoca contracción y endurece.

Formol.- (concentración del 4 al 10%). Es reductor, por lo que tiene las mismas incompatibilidades que el alcohol. Fija los lípidos complejos, por lo que conserva las mitocondrias y el complejo de Golgi. No contrae las estructuras pero si las endurece.

Acido acético.- (concentración del 0.3 al 5%). No fija las proteínas citoplasmáticas, pero precipita las del núcleo. Es buen fijador de los cromosomas. Destruye el condrioma. Provoca hinchamiento de los tejidos y no los endurece.

INCLUSION DE LA PIEZA

Las piezas fijadas antes de proceder a cortarlas deben ser incluidas en medio plástico (parafina), debe ser lo más neutro posible en la inclusión, no se trata de un simple englobamiento, sino que debe haber una verdadera impregnación a nivel celular.

En la técnica de inclusión, la pieza debe someterse a una serie de tratamientos sucesivos, cada uno de los cuales está destinado a preparar la penetración del siguiente y en eliminar el anterior. Cada disolvente debe ser "miscible" con el que le ha precedido y con el que le sigue.

Cada medio de inclusión o de impregnación debe sustituir totalmente al medio que le ha precedido. Si la inclusión se hace en un medio no hidrosoluble, el material debe estar totalmente deshidratado, por lo que se someterá a sucesivos baños de alcohol de creciente concentración hasta que desaparezca el menor vestigio de agua. La graduación exacta de los alcoholes es de poca importancia a excepción del alcohol absoluto, así como la permanencia del material en cada uno de los baños, ya que depende de numerosos factores como tipo de pieza, grado de hidratación, etc.

La impregnación se efectúa en forma de baños que se hacen en recipientes adecuados. Se dan dos baños por cada solución impregnadora, cambiando la pieza de recipiente o sustituyendo el líquido usado por uno nuevo.

La deshidratación de las piezas de histología se realiza en forma brusca y rápida, pero cuando las piezas son delicadas debido a que tienen un gran porcentaje de agua se deben procesar comenzando por alcoholes de concentración baja y avanzando en forma lenta, de tal manera que se alteren los menos posible las estructuras histológicas.

Después de la deshidratación se procede a la aclaración de la pieza donde se emplean sustancias que sean "miscibles" con el medio de inclusión. Como sustancias aclarantes se pueden mencionar el tolueno, el benceno y el xilol, esta última sustancia es la más empleada en el laboratorio de histología.

La inclusión propiamente dicha es un proceso mediante el cual la pieza se incluye dentro de una sustancia que da una consistencia adecuada lo que permite obtener cortes finos y que pueden ser de un espesor determinado.

Existen varios medios de inclusión que se pueden usar según las necesidades, el más usual es el de parafina de cuyas piezas procesadas por este método se pueden obtener cortes finos y colorearlos con métodos específicos.

INCLUSION DE PARAFINA

En este método debemos emplear parafinas cuyo punto de fusión va a depender de la dureza de la pieza que se va a incluir. Cuanto mayor sea la dureza del tejido, mayor sera el punto de fusión de la parafina. La parafina más usual es la de 56-58°C, que se usa para piezas de histología normal, para piezas más duras o más delicadas se requiere un punto de fusión mayor o menor respectivamente.

Para la infiltración de una pieza en parafina se debe proceder de la manera siguiente:

1.- Fijación de la pieza (formol, Bouin, otros)
24 horas o el tiempo indicado según método.

2.- Deshidratación

| | |
|---------------------|-----------|
| Alcohol 80 I | 1.30 hrs. |
| Alcohol 80 II | 1.30 hrs. |
| Alcohol 96 I | 1.30 hrs. |
| Alcohol 96 II | 2 hrs. |
| Alcohol absoluto I | 1.30 hrs. |
| Alcohol absoluto II | 2 hrs. |
| Xilol I | 1.30 hrs. |
| Xilol II | 2 hrs. |
| Parafina I | 1.30 hrs. |
| Parafina II | 1.30 hrs. |
| Parafina III | 2 hrs. |
| Inclusión de pieza | 2 hrs. |

Existen aparatos que permite hacer la inclusión de las piezas automáticamente y en forma rápida (Histokinette).

MICROTOMIA

Las muestras histológicas deberán de orientarse en forma adecuada. Para después de moldearse la pieza, según el método seleccionado se procede a la preparación de los cortes, que son fragmentos muy delgados de tejido cuyo espesor varía desde 4 a 16 micras. Al proceso mediante el cual se obtienen cortes finos con las características adecuadas para su observación al microscopio se le da el nombre de microtomía.

Los cortes se hacen mediante aparatos especiales denominados microtomos. Existen varios modelos según los diferentes tipos de inclusión entre los que mencionaremos los siguientes:

- 1) El microtomo de parafina
- 2) El microtomo de congelación
- 3) El criostato (microtomo refrigerado)
- 4) El microtomo de celoidina
- 5) El ultramicrotomo

Cortes en parafina.- Por este método se obtienen cortes muy finos que se unen entre sí formando una cinta que se denomina "tenia" (cortes seriados).

Los cortes que se obtienen con una cuchilla bien afilada deben tener una anchura máxima aunque siempre hay un ligero aplastamiento y esto va a depender de la orientación de la cuchilla. conviene afilar periódicamente las cuchillas para evitar un desgarramiento de los cortes.

Después de que se han obtenido los cortes necesarios se debe proceder al montaje, esto se logra colocando los cortes sobre agua con una temperatura ligeramente abajo del punto de fusión de la parafina, de esta manera el corte se extiende con ayuda de unas agujas de disección. El agua donde flotan los cortes debe ser destilada lo que evita el depósito de sales minerales en los cortes. Los cortes se pegan al portaobjetos con gelatina que puede ir disuelta en el agua (agua gelatinada) o bien se usa albúmina.

COLORACION

TEORIA DE LOS COLORANTES

Los colorantes han sido empleados desde hace mucho tiempo. en nuestra época, la abundancia y variedad de los colorantes es el fruto de investigaciones hechas en el siglo pasado. El primer colorante de alquitrán de hulla fué separado por Sir William Perkin en 1856. Actualmente el índigo, la alizarina y otros colorantes se producen por vía sintética y a poco costo a partir de sustancias obtenidas de alquitrán de hulla.

Un colorante consta de 3 partes:

- 1) El cromógeno (generador de color), que es la sustancia matriz de la que se puede considerar derivado el colorante.
- 2) Un cromóforo (grupo portador de color), el cual está contenido en el cromógeno.
- 3) El auxócromo, (grupo de ayuda al color) que es capaz de formar una sal con un ácido o una base.

Teoría de la coloración:

Existen dos teorías para explicar la coloración. La teoría física que nos indica que la penetración del colorante es un fenómeno osmótico y que su fijación a los tejidos es por absorción. La teoría química, que nos dice que hay una unión entre las moléculas del colorante con los constituyentes del tejido.

Factores que intervienen en la Coloración:

Tiempo de coloración: El tiempo que se emplea para la coloración va a depender del espécimen que va a teñir y del colorante empleado. El tiempo puede variar de algunos segundos hasta 24 horas o más. Previamente a la tinción de varias laminillas de un mismo tejido, conviene hacer una prueba para determinar el tiempo de tinción.

Temperatura ambiental: Con temperaturas superiores a las normales disminuye el tiempo de tinción ya que de esta manera el colorante penetra al tejido más rápidamente.

La solución colorante debe tener un pH definido: Si el pH es ácido favorecerá la acción de los colorantes ácidos. Por el contrario si el pH es alcalino favorecerá la acción de los colorantes básicos. Si necesitamos remover los colorantes de los tejidos, las soluciones ácidas y alcalinas remueven los colorantes básicos y ácidos respectivamente.

Concentración de colorante: Generalmente la concentración de un colorante debe estar entre 0.2 y 2%. Los colorantes se pueden diluir en agua, alcohol o bien en otras sustancias, lo que generalmente se hace a temperatura ambiente.

Métodos de Coloración:

Un método de coloración se puede definir como un proceso mediante el cual los cortes o pequeños animales se someten a la acción de uno o varios colorantes, de tal manera que al final se pueden observar los diferentes tejidos y estructuras celulares de los mismos.

Los métodos de coloración se pueden aplicar a los cortes histológicos obtenidos por cualquiera de los métodos antes mencionados. O bien se pueden aplicar a todo el individuo completo como por ejemplo embriones y algunos animales pequeños (coloración en bloque). Este último método no encaja dentro de las técnicas generales de histología.

Los métodos de coloración se pueden clasificar en:

- 1) Vitales.- Cuando el colorante no provoca la muerte celular. Con este método se tiñen estructuras vivas. Los colorantes empleados son el azul de metileno, rojo neutro, azul de trypano, etc. Estos métodos de coloración se pueden aplicar *in vivo* o *in vitro*.
- 2) Supravitales.- Estos métodos se aplican cuando el material es previamente fijado.
 - Directas.- Cuando el colorante se aplica directamente al tejido que se desea colorear.
 - Indirectas.- Si previamente a la coloración se aplica un mordente al tejido.
 - Progresivas.- Cuando se procesan varios cortes del mismo tipo con tiempos diferentes de coloración.

Regresivas.- Cuando el colorante se deja actuar hasta que sobretiña para después decolorar con soluciones como el agua o el alcohol acidulado hasta obtener la tinción adecuada.

Pancromaticas.- Cuando en un solo colorante se obtienen diferentes tonos en los diferentes componentes celulares.

TECNICA PARA LA COLORACION DE CORTES INFILTRADOS EN PARAFINA (Hematoxilina y Eosina)

- | | |
|----------------------------|-------------------|
| 1.- Xilol I | 5 min. |
| 2.- Xilol II | 5 min. |
| 3.- Alcohol absoluto | 3 min. |
| 4.- Alcohol 96 | 3 min. |
| 5.- Alcohol 80 | 3 min. |
| 6.- Agua destilada | Lavado |
| 7.- Hematoxilina de Harris | Determinar tiempo |
| 8.- Agua destilada | Lavado |
| 9.- Agua acidulada | De 5 a 10 seg. |
| 10.- Agua destilada | Lavado |
| 11.- Agua amoniacal | De 5 a 10 seg. |
| 12.- Agua destilada | Lavado |
| 13.- Eosina | Determinar tiempo |
| 14.- Alcohol 80 | De 2 a 5 seg. |
| 15.- Alcohol 96 | De 2 a 5 seg. |
| 16.- Alcohol absoluto | De 2 a 5 seg. |
| 17.- Xilol I | 5 minutos |
| 18.- Xilol II | 5 minutos |
| 19.- Montaje en resina | 5 minutos |

PREPARACION DE SOLUCIONES

Agua acidulada
 Agua destilada 400 ml
 Acido clorhídrico 40 gotas

Agua amoniacal
 Agua destilada 400 ml
 Hidróxido de amonio 40 gotas

Hematoxilina de Harris
 Hematoxilina 5 grs.
 Alumbre de potasio 100 grs.
 Alcohol etílico absoluto 50 grs.
 Agua destilada 1,000 ml
 Oxido rojo de mercurio 2.5 grs.
 Acido acético 40 ml

Diluir la hematoxilina en el alcohol y el alumbre de potasio en el agua destilada (60°C). Mezclar las dos soluciones y calentar a punto de ebullición. Después de retirarlo del

mechero, inmediatamente se agrega el óxido rojo de mercurio. Se deja enfriar y se le agrega el ácido acético.

Eosina (Sol. madre)

Eosina y 5 grs.
 Acido clorhídrico 5 ml.
 Agua destilada 500 ml.

Se mezclan los reactivos y se dejan reposar un día. Se filtra con doble papel tirándose el líquido que pasa a través de él. Se pasa agua durante dos días por el filtro que se paso para fijar la solución. Después pasa a la incubadora donde se seca.

Se corta en trozos que se colocan en un frasco que contenga 500 ml de alcohol 96.

Eosina (Sol. Madre) 25 ml.
 Alcohol 96 75 ml.

El medio que se usa para el monteje de los cortes es la resina sintética, balsamo de Canadá, clarite, etc.

Se recomienda para la observación inclusiones de virales, la técnica de coloración de Hematoxilina y Eosina, Giemsa, Fulgen, Tricromico de Masson.

Para colorear bacterias en tejidos se puede aplicar la Tincion de Gram, Giemsa, ByB Gram, Acido rápido, PAS.

La Técnica de Coloración de Gomori, PAS+HyE o por medio de impregnación de Plata son adecuadas para la identificación de Hongos y tricromicos para algas y depósitos de hierro en branquias.

En la observación de zooparásitos la técnica de Hematoxilina y Eosina proporciona resultados satisfactorios además de Giemsa para microsporidios y tricromicos para aflotoxinas HyE+Giemsa.

CAPILLA ALFONSINA

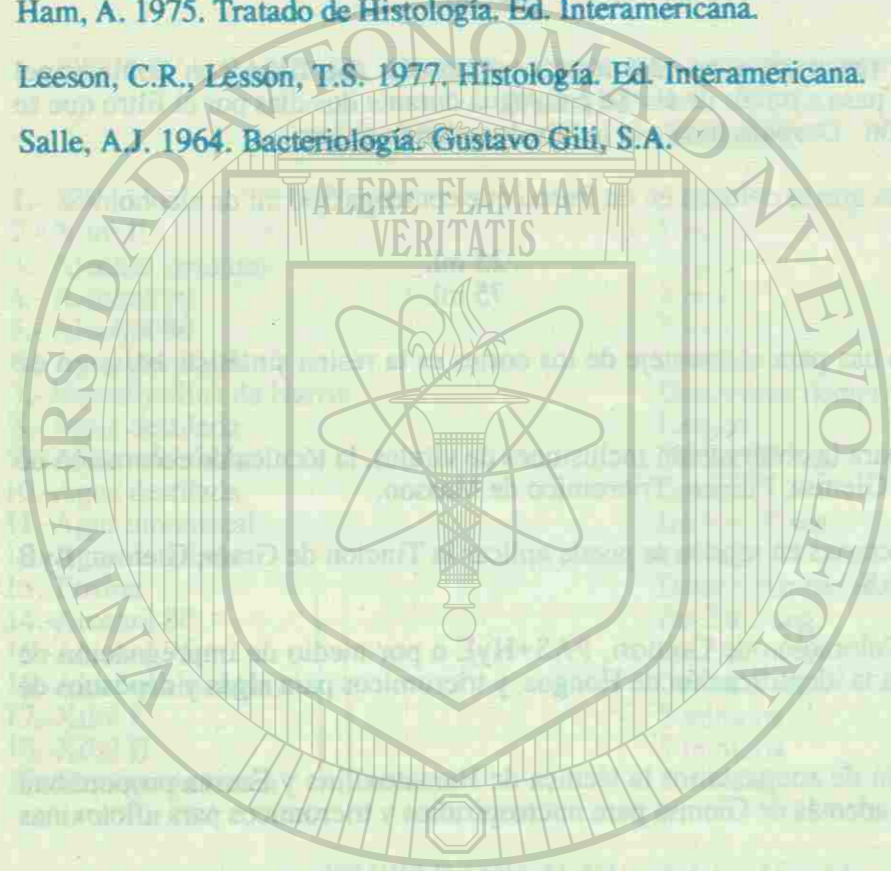
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS



REFERENCIAS

- Carleton, H.M, Drury, R. 1967. Histological Technique. Oxford University Press.
- Davenport, H.A. 1960. Histological and Histochemical Technics. Ed. Sounders.
- Ham, A. 1975. Tratado de Histología. Ed. Interamericana.
- Leeson, C.R., Lesson, T.S. 1977. Histología. Ed. Interamericana.
- Salle, A.J. 1964. Bacteriología. Gustavo Gili, S.A.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CONTROL DE ENFERMEDADES

Lucio Galaviz Silva y Roberto Mercado Hernández
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

INTRODUCCION

Los peces al igual que todos los animales, son susceptibles a sufrir diversas enfermedades de origen viral bacteriano, parasitario u otras causas etiológicas. Las enfermedades rara vez son un problema serio en los organismos silvestres, pero en los peces sujetos a condiciones de cultivo aumentan en magnitud y deben ser controlados para evitar pérdidas severas en la producción.

Los fundamentos que se emplean para tratar enfermedades de peces son iguales que para animales domésticos ó al hombre mismo con la diferencia que la quimioterapia en peces es más complicada porque el medio acuático tiene un papel muy trascendental que determina el tipo y efectividad del tratamiento. Pero además el tratamiento no se aplica a individuos aislados, sino a poblaciones enteras.

La quimioterapia no es la única manera de erradicar los agentes infectivos, existen además las medidas preventivas entre las cuales podemos citar: (1) Inmunización vs. bacterias y algunos parásitos, (2) Implementación de barreras físicas, (3) Medidas cuarentenarias y (4) Métodos biológicos de prevención o control.

La mayoría de los problemas que surgen en los centros acuícolas se debe a la falta de atención y capacitación de los piscicultores, por ser ellos la clave del éxito de la producción. Por ello el piscicultor debe utilizar agua: (1) libre de peces, (2) de buena calidad, (3) si esta proviene de rios o lagos proveerse los filtros de arena, (4) evitar introducir peces de otras piscifactorias y si se obtienen por esta vía certificar la salud de los organismos, (5) evitar el hacinamiento, (6) evitar el estrés.

Antes de iniciar un tratamiento necesitamos decidir si es conveniente o no la aplicación de la quimioterapia y conocer el pronóstico; o si el tratamiento es factible económicamente de acuerdo el manejo y el pronóstico, además de conocer la resistencia al tratamiento

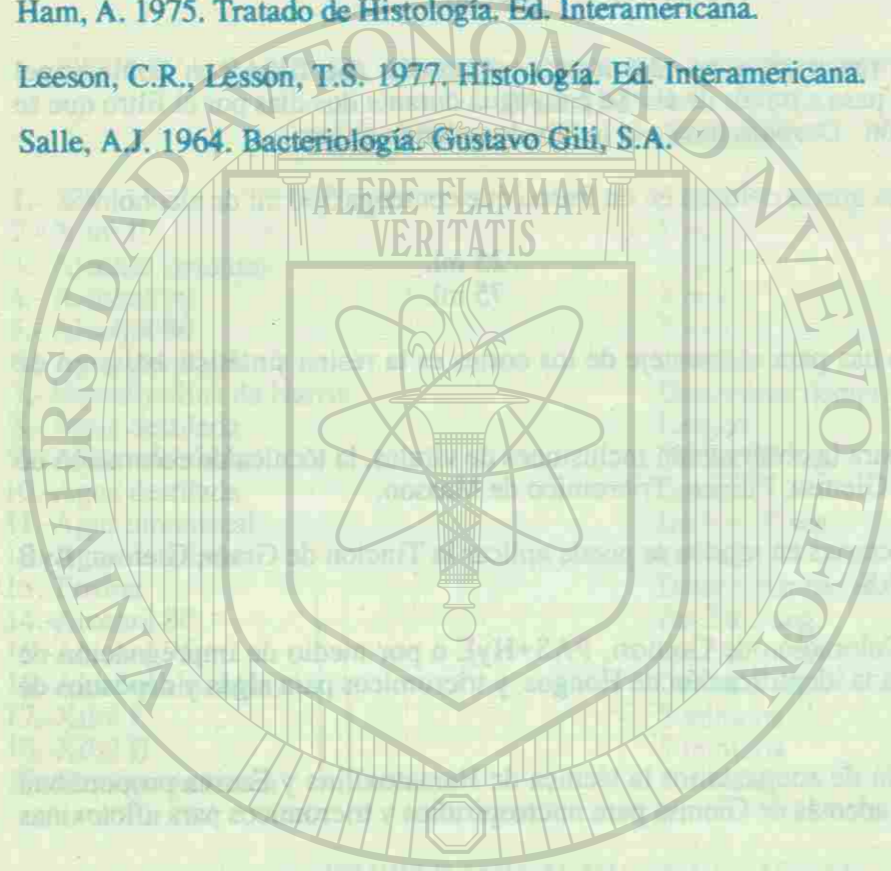
También debemos considerar la calidad del agua, constitución del pez, conocer el químico y la enfermedad. La aplicación de compuestos necesita mucha reponsabilidad por el efecto secundario que pueden ocasionar al ecosistema circundante y además a la diferente reacción que presenta cada especie de pez y aún sobre la misma especie en diferentes centros, debido a la calidad del agua. Por este motivo es recomendable realizar pruebas preeliminares al utilizar un compuesto por vez primera.

Debido a la escasez de investigaciones sobre el efecto de sustancias químicas en animales poiquiloterms, el listado compuesto es muy limitado en comparación con el que se conoce para medicina veterinaria. Aún así, necesitamos no emplear indiscriminadamente las sustancias químicas pues muchas de ellas están en proceso de investigación y son de uso restringido por la FDA (Food and Drug Administration) y EPA (Environmental Protection Agency).

Siempre que sea posible necesitamos conservar un límite de seguridad en las aplicaciones y especialmente si no contamos con alguna referencia sobre la dosis específica para nuestra especie de organismos ó si es la primera vez que lo aplicamos, pues a diferencia de los tratamientos veterinarios, en sanidad acuícola se realizan en masa, lo cual convierte a la quimioterapia en una técnica de alto riesgo.

REFERENCIAS

- Carleton, H.M, Drury, R. 1967. Histological Technique. Oxford University Press.
- Davenport, H.A. 1960. Histological and Histochemical Technics. Ed. Sounders.
- Ham, A. 1975. Tratado de Histología. Ed. Interamericana.
- Leeson, C.R., Lesson, T.S. 1977. Histología. Ed. Interamericana.
- Salle, A.J. 1964. Bacteriología. Gustavo Gili, S.A.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CONTROL DE ENFERMEDADES

Lucio Galaviz Silva y Roberto Mercado Hernández
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

INTRODUCCION

Los peces al igual que todos los animales, son susceptibles a sufrir diversas enfermedades de origen viral bacteriano, parasitario u otras causas etiológicas. Las enfermedades rara vez son un problema serio en los organismos silvestres, pero en los peces sujetos a condiciones de cultivo aumentan en magnitud y deben ser controlados para evitar pérdidas severas en la producción.

Los fundamentos que se emplean para tratar enfermedades de peces son iguales que para animales domésticos ó al hombre mismo con la diferencia que la quimioterapia en peces es más complicada porque el medio acuático tiene un papel muy trascendental que determina el tipo y efectividad del tratamiento. Pero además el tratamiento no se aplica a individuos aislados, sino a poblaciones enteras.

La quimioterapia no es la única manera de erradicar los agentes infectivos, existen además las medidas preventivas entre las cuales podemos citar: (1) Inmunización vs. bacterias y algunos parásitos, (2) Implementación de barreras físicas, (3) Medidas cuarentenarias y (4) Métodos biológicos de prevención o control.

La mayoría de los problemas que surgen en los centros acuícolas se debe a la falta de atención y capacitación de los piscicultores, por ser ellos la clave del éxito de la producción. Por ello el piscicultor debe utilizar agua: (1) libre de peces, (2) de buena calidad, (3) si esta proviene de ríos o lagos proveerse los filtros de arena, (4) evitar introducir peces de otras piscifactorias y si se obtienen por esta vía certificar la salud de los organismos, (5) evitar el hacinamiento, (6) evitar el estrés.

Antes de iniciar un tratamiento necesitamos decidir si es conveniente o no la aplicación de la quimioterapia y conocer el pronóstico; o si el tratamiento es factible económicamente de acuerdo el manejo y el pronóstico, además de conocer la resistencia al tratamiento

También debemos considerar la calidad del agua, constitución del pez, conocer el químico y la enfermedad. La aplicación de compuestos necesita mucha responsabilidad por el efecto secundario que pueden ocasionar al ecosistema circundante y además a la diferente reacción que presenta cada especie de pez y aún sobre la misma especie en diferentes centros, debido a la calidad del agua. Por este motivo es recomendable realizar pruebas preliminares al utilizar un compuesto por vez primera.

Debido a la escasez de investigaciones sobre el efecto de sustancias químicas en animales poiquiloterms, el listado compuesto es muy limitado en comparación con el que se conoce para medicina veterinaria. Aún así, necesitamos no emplear indiscriminadamente las sustancias químicas pues muchas de ellas están en proceso de investigación y son de uso restringido por la FDA (Food and Drug Administration) y EPA (Environmental Protection Agency).

Siempre que sea posible necesitamos conservar un límite de seguridad en las aplicaciones y especialmente si no contamos con alguna referencia sobre la dosis específica para nuestra especie de organismos ó si es la primera vez que lo aplicamos, pues a diferencia de los tratamientos veterinarios, en sanidad acuícola se realizan en masa, lo cual convierte a la quimioterapia en una técnica de alto riesgo.

También debemos recordar que los peces no poseen un sistema inmunológico tan competente y su eficiencia depende de la temperatura ambiental, necesiéndose bastante vigilancia para monitorear posibles abatimientos de oxígeno, o cambios en el pH ó temperatura, mientras dura el tratamiento y administrar adecuadamente el alimento balanceado.

Se recomienda utilizar solo los componentes químicos y drogas autorizados por la FDA Y EPA porque muchos de ellos se absorben rápidamente por piel deteriorando su salud o acumulándose en los tejidos. Otros contaminan el agua y afectan la ecología por ejemplo, cloro, sustancias amoniacaes y pesticidas que también causan efectos colaterales en los seres vivos.

Sin embargo a pesar de los inconvenientes muchos de ellos se aplican a race ways, y estanques por muchas razones, entre las cuales destacan (1) controlar las enfermedades de peces, (2) controlar la maleza acuática, (3) remover selectivamente peces indeseables, (4) eliminar o controlar insectos u otros invertebrados acuáticos o (5) corregir problemas de la calidad del agua.

Las unidades de medidas, terminología y niveles de tratamiento son a veces confusos, debido a que por lo general no estamos familiarizados con el manejo de las libras, onzas, galones, acres, pies, °F, y su correspondiente conversión a Kg., g, L, metros y °C en el país

El uso del sistema inglés se debe a que las unidades metricas se emplean cuando se trabaja con pequeñas cantidades de químico y agua, pero en grandes unidades de volumen, tales como acre-pie, es mucho más conveniente usar grandes unidades de peso tal como las libras.

TERAPEUTICOS ADICIONADOS AL AGUA

Para tratar enfermedades en peces adiciona el químico a un volumen específico de agua para tener la concentración deseada. Tal concentración se expresa usualmente en partes por millon (ppm) o mg/l. Las partes por millon solo pueden ser usadas en un relación peso a peso (p:p); una relación peso:volumen (p:v) no puede utilizarse sin un factor de corrección (FC) pues varios químicos tienen diferente peso por unidad de volumen. Usando solo el peso de los químicos, o el factor de corrección apropiado, nos ayuda a evitar errores en los cálculos

Un ppm se refiere a tener 1 libra de químico con 999,999 libras de agua ó bien, 1 gramo de químico con 999,999 gramos de agua.

Los factores de conversión para diferentes unidades de volumen aparecen enseguida:

| Unidad de volumen | Factor de corrección |
|--------------------------------------|----------------------|
| Libra por acre-pie | 2.72 |
| gramos por acre-pie | 1,233 |
| gramos por pie cubico | 0.0283 |
| libras por pie cubico | 0.0000624 |
| gramos por galon | 0.0038 |
| granos por galon | 0.0584 |
| miligramo por litro | 1 |
| gramos por litro | 0.001 |
| libras por millon de galones de agua | 8.34 |

Algunos químicos son formulaciones líquidas que contienen un peso establecido de ingrediente activo.

Por ejemplo: Si sabemos que la formulación de un compuesto viene en presentación de 4 lb de ingrediente activo/galón y necesitamos 18 lb del químico, entonces solo tenemos que dividir:

$$\frac{\text{concentración requerida}}{\text{concentración del formulado}} = \frac{18}{4} = 4.5 \text{ gal}$$

Las concentraciones proporcionales (por ejem. 1:4000) pueden convertirse a ppm 1 ppm equivale a 1:1,000,000 y en base a este, tenemos que

$$1 \text{ ppm} = \frac{1,000,000}{\text{proporción}}$$

Ejemplo: ¿Cuántas ppm equivalen el formaldehido a una concentración de 1:6000?

$$\text{ppm} = \frac{1,000,000}{6,000} = 166.6 \text{ ppm}$$

Entonces, para convertir de concentraciones proporcional a ppm.

$$\text{concentración proporcional} = \frac{1,000,000}{\text{ppm}}$$

Ejemplo: Convertir 20 ppm a concentración proporcional.

$$\text{parte proporcional} = \frac{1,000,000}{20} = 50,000$$

$$= 1:50,000$$

Las concentraciones proporcionales, y ppm pueden convertirse a %, recorriendo el punto decimal 4 lugares a la izquierda ó bien, dividiendo entre 10,000.

Ejemplo: Convierta a) 15 ppm a prop. y %.

$$\text{ppm} = \frac{1,000,000}{15} = 66666.6$$

$$15 \text{ ppm} = 0.0015 \%$$

Para determinar el volumen de un tanque, race ways transportador: se emplea la formula $V = L \times A \times P$ (L=largo, A= Ancho, P=Profundidad).

La unidad de medición debe ser pulgadas, pies, yardas, centímetros o metros. La unidad de volumen debe coincidir con la unidad de medida.

Es importante determinar el factor de corrección del peso químico que será agregado al agua para dar 1 ppm. También debe conocerse la cantidad de ingrediente activo (%IA).

Baño por inmersión: Se emplea cuando el número de peces es pequeño y en medicamentos que son efectivos a corto período de tiempo (seg o min.) y elevadas concentraciones. Tiene como desventaja el costo elevado de mano de obra debido a la inmersión de canastas con pequeños volúmenes de peces hasta terminar con el lote afectado y remover miles de organismos es una tarea difícil. Esta técnica la empleamos al transferir peces de la estanqueria a los trasportadores ó de estanques infectados a otros previamente desinfectados, etc.

Baño por tiempo indefinido (prolongado): Este se emplea cuando el tiempo de aplicación es prolongado o indefinido, como su nombre lo indica, y tiene la ventaja de no ocasionar "stress" a los peces. por el manejo y requiere de poca mano de obra, lo cual facilita su aplicación.

Al utilizar este tipo de aplicación, es recomendable vigilar que no se ocasione el abatimiento de oxígeno ocasionada por la sustancia química, pero si esto ocurre, sobre todo cuando se aplica formaldehído o permanganato de potasio, se requerirá de aereadores de paleta o dispersores de agua, especialmente en peces que sufren de enfermedades respiratorias o manifiestan anoxia. La desventaja de éste tipo de tratamientos es que se debe cerrar el suministro de agua y el desagüe hasta terminar el tiempo de aplicación, por ello se requiere monitorear constantemente el pH, oxígeno disuelto y temperatura, además de vigilar el comportamiento de los peces para suspender el tratamiento en cuanto aparezcan los primeros síntomas, y sin no se dispone de un mecanismo rápido para recambio de agua se deben utilizar dispersores o aereadores.

Son dos tipos de Calculos empleados.

A) $\text{ml (cc o gr de sustancia química)} = \frac{\text{Volumen de agua en ml}}{\text{concentración proporcional}}$

* Solo para pequeños volúmenes porque utiliza ml

B) $V \times FC \times \text{ppm} \times \frac{100}{\%AI} = \text{cantidad de químico necesario}$

* Para grandes volúmenes

V= Volumen de agua en la unidad que se trate. La unidad de volumen no es importante, pero las unidades más grandes facilitan el calculo.

FC= El factor de correccion, nos da el peso del químico a usar para tener 1 ppm en una unidad determinada de volumen de agua.

ppm= Concentración que se desea del componente químico.

$\frac{100}{\%AI} = 100$ dividido en el por ciento del ingrediente activo (AI) del químico que se va a utilizar.

Ejemplo: Cuanto sulfato de cobre se necesita para tratar un estanque (660 ftX660ftX 4ft) con una concentración de 0.5 ppm. El Cu_2SO_4 es 100% activo.

A) a) $V = L \times A \times P$
 $660\text{ft} \times 660\text{ft} \times 4\text{ft}$
 $1,742,400 \text{ ft}^3$

Los pies cúbicos se transfieren a acre-pie para facilitar el calculo al trabajar con cifras más pequeñas. (1 acre ft= 43,560 ft^3)
 Por lo tanto, $1,742,400 \text{ ft}^3 = 40$ acres-pie

b) el FC de acre-ft=2.7 lb.

c) ppm = 0.5

d) $\frac{100}{\%AI} = \frac{100}{100} = 1$

$40 \text{ acre-ft} \times 2.7 \times 0.5 \text{ ppm} \times 1 = 54 \text{ lb.}$

B)

a) $V = L \times A \times P = 40 \text{ acre-ft (1 acre-pie=43,560 ft}^3 \text{ y } 1 \text{ ft}^3 = 28.32 \text{ L.)} = 49,339,560,000 \text{ L.}$

b) Para convertir ppm a conc. proporc.

$\text{ppm} = \frac{1,000,000}{\text{conc. prop.}} = \frac{1 \times 10^6}{0.5}$

$\text{ppm} = 2 \times 10^6$

Entonces::

$\frac{49,339,560,000 \text{ ml}}{2,000,000}$

$\frac{49,339,560}{2} = 24,669.78 \text{ gr.}$

Transferir a libras para comparar.

$(1 \text{ lb} = 0.0022 \text{ g})$ (multiplicado por .0022)
 $= 54.27 \text{ lb.}$

Ejemplo: Cuanto masoten(80% de componente activo) se necesita para tratar un estanque de 5 acres de superficie por 3 pies de profundidad con 0.25 ppm de ingrediente activo.

A)

a) $5 \times 3 = 15$ acres-pie

b) FC = 2.7 lb

c) ppm= 0.25 ppm

d) AI = $\frac{100}{80}$

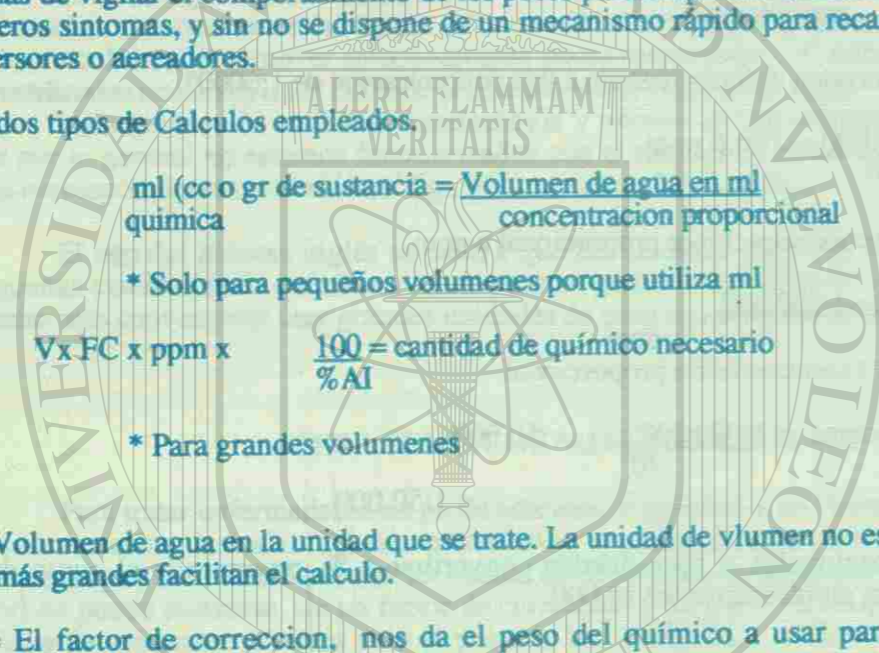
Entonces: $15 \times 2.7 \times 0.25 \text{ ppm} \times \frac{100}{80} = 12.6 \text{ lb de masoten al } 80\%$

B)

a) $V = 15 \text{ acre-pie (1 acre-pie = 1,233,342 L)}$

b) $15 \times 1,233,342 = 18,502,335,000 \text{ L. } 0.25 \text{ ppm} = 1:4,000,000$

CAPILLA ALFONGINA



U A N L

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



c) $18,502,335,000/4,000,000 = 4,625.8 \text{ g}$

d) Transferir a lb ($\times 0.0022$) = 10.17 lb

* La diferencia se debe al uso del factor de corrección.

Ejemplo: ¿Cuanto permanganato de potasio es necesario para tratar un transportador que mide 10 ft x 2.5 ft x 2 ft?

A) a) $V=50 \text{ ft}^3$

b) $FC=0.0283$

c) $\text{ppm} = 2 \text{ ppm}$

d) $IA = 100/100$

$V \times FC \times \text{ppm} \times 100/100 = 50 \times 0.0283 \times 2 \times 1 = 2.8 \text{ g}$

Ejemplo: Para tratar una pileta con una capacidad de 50 gal. con formaldehido a 1:500.

A) $R=380 \text{ ml}$
error $\times C.f.$

B) 378.5 ml

Ejemplo: ¿Cuanta formalina se necesita para tratar un tanque redondo de 8 ft de diámetro x 2 ft de profundidad. a 250 ppm?

$V = 3.14 \times 1/2 \text{ dm} \times 1/2 \text{ dm} \times D \quad (V = \pi^2 D)$

$V = 3.14 (4 \times 4) \times 2 = 100.48 \text{ ft}^3$

$FC = 0.0283 \text{ g para ft}^3$

$\text{ppm} = 250 \text{ ppm}$

$\% IA = 100/100 = 1$

Entonces: $100.5 \times 0.0283 \text{ g} \times 250 \text{ ppm} \times 1 = 711 \text{ g}$

Pero como la formalina es líquida y la respuesta es en g esta debe convertirse a unidades de volumen dividiendo entre la gravedad específica de la formalina (711g entre 1.08 g = 658 ml de formalina).

Ejemplo: Tratar 1 lote de carpas con ácido acético al 1:6000 en un contenedor (25 ft x 3 x 1.5 ft)

$R = 529.32$

Ejemplo: Cuanto Dylox se requiere (50% AI) para tratar 390 gal de H₂O a 0.25 ppm?

$\frac{390 \times 0.25 \times 0.0038}{0.5} = 0.74 \text{ g}$

Baño por flujo constante (Goteo): Este tipo de tratamiento es ideal cuando el tiempo de aplicación es prolongado y el suministro de agua no puede ser interrumpido. Las características de

tratamiento por flujo constante es que el químico se encuentra en un recipiente a la concentración deseada y fluye a través de una manguera plástica, con un dispositivo que regula el flujo para caer en el agua de la pileta o canal de corriente rápida y mezclarse con el agua. Caba aclarar que el suministro de agua y del compuesto deben estar juntos para permitir su rápida dispersión. Ambos líquidos deben poseer un flujo constante durante el tratamiento. El contenedor debe tener un flujo de agua directo a todo lo largo, lo cual dificulta su uso en canales de corriente rápida.

El cálculo empleado para ésta aplicación, se realiza de la siguiente manera.

Tratamiento = $\frac{\text{Flujo} \times \text{tiempo de tratamiento} \times \text{concentración ppm} \times F.C.}{IA}$

IA = En decimal, 1=100%.

Ejemplo: Aplique formaldehido comercial a una concentración de 1:6000 por una hora. El flujo de agua es de 6 gal por minuto $FC=0.0038$:

$6 \text{ gal/min} \times 60 \text{ min} \times 166 \times 0.0038$

= 227.08 g

pero debemos multiplicar por la gravedad específica (1.08) = 211.5 ml

Ejemplo: Mi piscifactoria recibe 4gal por min: de H₂O. Si realizo un tratamiento con Dylox (50% Activo) a razón de 2 ppm por 45 min. ¿Cuanto Dylox necesitaré?

$\frac{4.0 \times 45 \times 2 \times 0.0038}{0.50} = 2.7 \text{ g}$

Tratamiento topico ó externo: Este tipo de tratamiento es útil cuando se tiene poca cantidad de organismos, por ejemplo: para acuaristas, o bien cuando se tiene sementales, peces de gran valor y es necesario tratar localmente las lesiones ocasionadas por el manejo u otro tipo de heridas superficiales y lesiones ocasionadas por hongos cutáneos. Este tipo de tratamiento consiste en aplicar la sustancia química directamente sobre el área afectada por las lesiones o fijación de copépodos y sanguijuelas.

Terapéutico para transporte: La sanidad de los organismos acuáticos se inicia desde la obtención de los huevos, debido a que por ser un medio rico en nutrientes, es fácilmente atacado por bacterias, hongos y virus cuando se trata de furunculosis, IPN, IHN o la enfermedad bacteriana del riñón. La desinfección es de vital importancia en los centros acuícolas, sobre todo durante el envío y recepción de estas, pues de ello depende la deseminación de formas patógenas. Los compuestos más utilizados son el Betadine, y aunque su uso primario se realizaba en hospitales, ha demostrado su efectividad en acuicultura. Este compuesto contiene 1% de Iodo activo y los preparados comerciales pueden conseguirse en formulados denominados "SCRUB" o "PREP", ambas formulaciones son efectivas contra bacterias, hongos y levaduras, pero la formulación denominada "SCRUB" contiene además un detergente que aumenta su eficacia. Desde 1975 se conocen además de Betadine el Wescodyne y ambos son eficaces.

Si los huevos están próximos a eclosionar, el betadine puede ocasionar problemas por su toxicidad, por lo cual se recomienda sustituirlo por acriflavina o violeta de genciana.

El fosfato de eritromicina a 2 ppm por una hora es efectivo para detener la transmisión de los microorganismos causantes de la enfermedad bacteriana del riñón (BKD) y la enfermedad de agua fría que causa serias pérdidas durante la eclosión.

Otro compuesto a utilizar es la sal común.

Terapéuticos administrados por vía oral: Este tipo de aplicación requiere que el agente terapéutico sea administrado junto con el alimento y es el más ampliamente utilizado para combatir las enfermedades sistémicas.

Para el control efectivo de los agentes patógenos, se requiere de la administración continua durante 10-21 días, debido a que es necesario el establecimiento de la droga en los tejidos a una concentración óptima, sin alcanzar los niveles tóxicos para el pez. Las drogas no ocasionan la destrucción directa del patógeno, solo reduce su reproducción y actúan la mayoría de ellos, como agentes bacteriostáticos, por esto, los tratamientos prolongados permiten que el sistema inmune del pez remueva los patógenos, pues su sistema inmunológico no es tan efectivo como el de los vertebrados superiores y su eficiencia depende de la temperatura ambiental.

Las drogas de uso común en piscifactorias, y aceptadas para su uso por FDA, son la terramicina (un antibiótico) y la sulfameracina (una sulfonamida); sin embargo, existe un sin número de medicamentos en vías de investigación debido al efecto patológico que ocasionan en los peces.

Este método requiere calcular la dosis de medicamento y la cantidad de alimento que será mezclado con la droga.

1) Para calcular la dosis necesaria se puede utilizar la siguiente fórmula:

$$\text{Peso de la biomasa del pez} \times \text{Dosis} \times \text{Días de tratamiento} = \text{Cantidad de droga necesaria}$$

Por ejemplo, si desea saber cuanta oxitetraciclina requerirá para tratar 2500kg de biomasa de bagres con 2.5 gr de oxitetraciclina por 50 kg de pez durante 10 días.

$$\frac{2500 \times 2.5 \times 10}{50} = 1,250 \text{ gr de ingrediente activo}$$

2) Para calcular la cantidad de alimento:

$$\text{Cantidad de alimento} = \frac{\text{Biomasa} \times \text{Tasa de alimentación} \times \text{días de tratamiento}}{100}$$

En este caso, si se tiene una biomasa de 2,500 kg y se desea alimentar con el 3% del peso corporal durante los 10 días que durara el tratamiento con oxitetraciclina, entonces:

$$\text{Cantidad de alimento} = \frac{2,500 \times 3 \times 10}{100} = 750 \text{ kg.}$$

En base a este cálculo, se requerirá mezclar 750 kg de alimento con 1,250 gr de oxitetraciclina para preparar el alimento medicado.

Otra manera de realizar los cálculos es utilizar la siguiente tabla, donde se dan los gramos de droga para mezclar en 100 lb de alimento.

Niveles de droga para dietas secas: Gramos de droga para utilizarse en 100 lb de alimento.

| .%alimento | Gramos de droga por cada 100 lb de alimento | | | | | |
|------------|---|-----|-----|-----|-----|------|
| | 2.0 | 2.5 | 3 | 4.0 | 4.5 | 10 |
| 1.0 | 200 | 250 | 300 | 400 | 450 | 1000 |
| 1.2 | 167 | 203 | 250 | 333 | 375 | 833 |
| 1.4 | 143 | 179 | 214 | 286 | 321 | 714 |
| 1.6 | 125 | 156 | 188 | 250 | 281 | 625 |
| 1.8 | 111 | 139 | 167 | 222 | 250 | 556 |
| 2.0 | 100 | 125 | 150 | 200 | 225 | 500 |
| 2.2 | 91 | 114 | 136 | 182 | 205 | 655 |
| 2.4 | 83 | 104 | 115 | 167 | 188 | 417 |
| 2.6 | 77 | 96 | 115 | 154 | 173 | 385 |
| 2.8 | 71 | 89 | 107 | 143 | 161 | 357 |
| 3.0 | 67 | 83 | 100 | 133 | 150 | 333 |
| 3.2 | 63 | 78 | 94 | 125 | 141 | 313 |
| 3.4 | 59 | 74 | 88 | 118 | 132 | 294 |
| 3.6 | 56 | 69 | 83 | 111 | 125 | 278 |
| 3.8 | 53 | 66 | 79 | 105 | 118 | 263 |
| 4.0 | 50 | 63 | 75 | 100 | 113 | 250 |
| 4.2 | 48 | 60 | 71 | 95 | 107 | 138 |
| 4.4 | 45 | 57 | 68 | 91 | 102 | 227 |
| 4.6 | 43 | 54 | 65 | 87 | 98 | 217 |
| 4.8 | 42 | 52 | 63 | 83 | 94 | 208 |
| 5.0 | 40 | 50 | 60 | 80 | 90 | 200 |
| 5.5 | 36 | 45 | 55 | 73 | 82 | 182 |
| 6.0 | 33 | 42 | 50 | 67 | 75 | 167 |

Los cálculos de las dosis requeridas se realizan de la siguiente manera: Por ejemplo, si se desea conocer la dosis para 8600 lb de bagres que serán tratados con oxitetraciclina a razón de 2.5 gr/100 lb durante 10 días y estos serán alimentados a razón del 3% de peso corporal.

1) Calcular los gramos de droga para 100 lb de alimento por medio de la table: A razón del 3% de alimento y 2.5 gr/100, la dosis a emplear es de 83 gr del compuesto.

2) Duración de la terapia = 10 días.

3) Calcular el alimento requerido: (con la fórmula proporcionada en el método anterior:

$$\frac{8600 \text{ lb} \times 3 \times 10}{100} = 2580 \text{ lb}$$

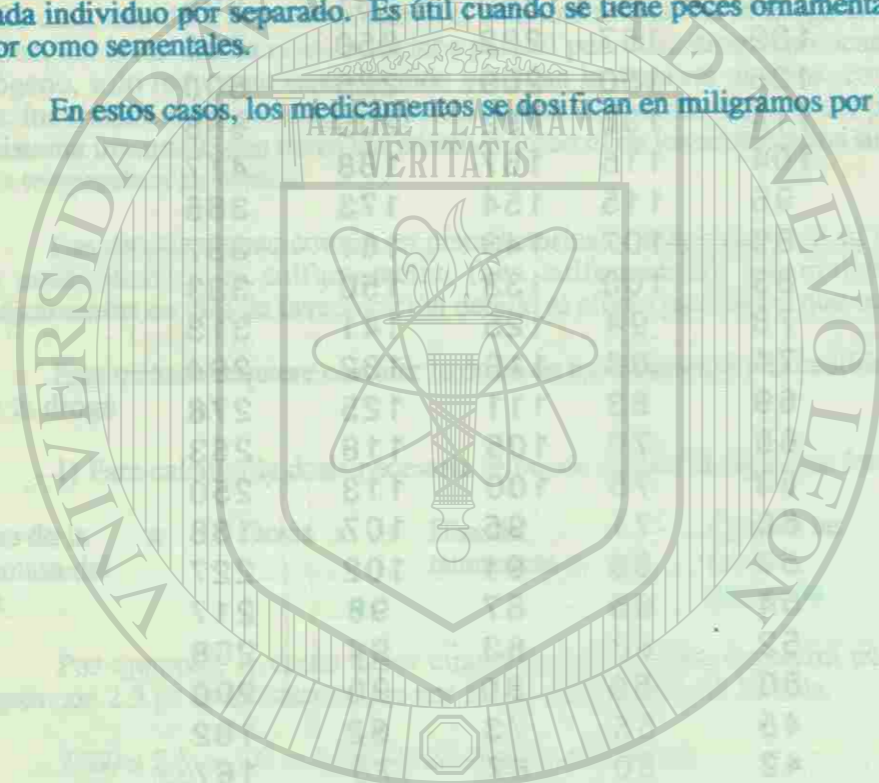
4) En base a los resultados del inciso 1) y 3),. calcular los gramos de terramicina a administrar:

O sea, si 100 lb de alimento llevan 83 gr de deoga, 2580 lb de alimento cuanta llevaran? R=2141 gr de droga se requerirán para mezclarse con 2580 lb de alimento a utilizar en el transcurso de 10 días.

Además de la terramicina y sulfameracina, ambas aceptadas por la FDA, se ha ampliado el listado de referencia aunque muchas de ellas están en proceso de investigación, por lo cual se recomienda utilizarlos con precaución:

Terapéutico administrados por vía parenteral: Esta técnica es poco utilizada en los centros de cultivo debido a su difícil ejecución, pues por lo general se manejan grandes volúmenes de peces a diferencia de otras zootecnias como la ganadería o bién, en salud humana, donde es factible tratar a cada individuo por separado. Es útil cuando se tiene peces ornamentales en acuarios o peces de gran valor como sementales.

En estos casos, los medicamentos se dosifican en miligramos por kilogramo de peso.



CAPILLA ALFONSINA

REVISION DE CONTROL Y TRATAMIENTOS PARA ENFERMEDADES DE TRUCHA

Micosis en huevos

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|----------------|---|-------------------|-------------------------------------|
| Saprolegnia sp | Verde de malaquita 5 ppm | F 1 h | |
| NI | Formalina | 1666 ppm F 15 m | |
| NI | Betadine (Iodoformo, 1 1%) | 1:100 F 10 m | |
| NI | Furacina (NFZ nitrofurazona) | 200 ppm IA F 15 m | |
| Achlya | Du-Ter | 5/10 mg-L F 15 m | Letal en truchas |
| Saprolegnia | Roccal (Cloruro de benzal) Cuprimixin (comp. cation.) | | En investigación Micosis general |

Micosis general

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|----------------------|--------------------|------------------|---|
| Ichthiophonus hoferi | Cloro | 200 ppm M | Desinfectante |
| NI | Diquat | 2-4 ppm | |
| NI | Verde de malaquita | 290 ppm M | Desinfectante' |
| NI | Verde de malaquita | 3.3 ppm F 1 h | |
| | | 1.25 ppm F 1.5 h | |
| | | 100,000 ppm T | 1 tratamiento por semana. Efectivo Oncorhynchus |

Protozoarios (externos)

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|------------------|-----------------------------------|-------------------|---|
| Ambiphrya | Formalina | 250 ppm F 1 h | Efectivo en trucha |
| Amibas (agallas) | Formalina | 250 ppm F 1 h | 1 solo tratamiento |
| Chilodonella | Oxalato de verde de malaquita | 0.1-0.15 ppm I | 2-3 aplicaciones en días alternos Diariamente |
| Costia necatrix | Cloruro de sodio | 30,000 ppm D 5 m | |
| Costia sp. | Acido acético glacial / 2,000 ppm | ppm D 1 m o menos | |
| | Formalina | 350 ppm F 15 m | Una sola aplicación. |
| | Formalina | 166 ppm F 1 h | |
| | Oxalato de verde de malaquita | 0.1-0.15 ppm I | 2-3 aplicaciones |
| | Acetato fenil mercurico (PMA) | 2 ppm F 1 h | 1 aplicacion. Tóxico en S. gairdner |

Protozoarios externos (continuacion)

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones | |
|-------------------------------------|--|--------------------------------|--|--|
| <i>Epistylis sp.</i> | PMA | 2 ppm F 1 h | Toxico en S. gairdneri | |
| <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> | Cloruro de sodio + verde malaquita | 30,000 ppm + 66 ppm resp.D | 1 aplicación | |
| | Aureomicina | 0.001-0.0015 ppm O | 7 aplicaciones cada 1-4 dias. | |
| | Verde brillante | 0.25-0.5 ppm F 5 h | Los trofoz. sub-epitel. mueren. | |
| | Violeta básico | 0.25-0.5 ppm F 2-4 h | Los trofos bajo epitelio mueren. | |
| | Clorotetraciclina | 1,000 ppm O | 7 aplicaciones en alimento. | |
| | Sulfato de cobre | 500 ppm + 500 ppm de m | D 1-2 m | Use con cuidado si los carbonatos en el agua son menos de 50 ppm. |
| | Flagyl | 10,000 ppm O | Flujo constante | Erradicado en parásitos de monogéneos y protozoarios. |
| | Formalina | 333-500ppm | | |
| | Formalina | 200-250ppm | F 1 h | Temp.del agua 60 ° F. |
| | Formalina Oxalato - verde de malaquita. Verde de malaquita | 30 ppm F 6 h 1.25ppm F 30 m | | Efecto estudiado en sangre. Los parásitos de jan a los peces - después de matar los. |
| Azul de metileno | Probablemente 3 ppm | I | | |
| PMA | 2 ppm | F 1 h. | Es tóxico para la trucha. | |
| Cloruro de sodio | 20 000 ppm. | F 1 h. | | |
| Cloruro de sodio | 50,000 ppm. | D 2-10m | Desinfecta estanques. | |
| Cloruro de sodio (Agua de mar) | 6,500 ppm. | I 2 mo. | El agua de mar gradualmente incrementa 0.65% | |
| <i>Trichodina sp.</i> | Acido acetico glacial | 1,500 ppm. D 1 m. | | |
| | Formalina | 166 ppm. F 1 h. | | |
| | Formalina | 250 ppm. F 1 h. | Use menos en agua caliente. | |
| | Formalina | 166 ppm. F 2 h | | |
| <i>Trichophrya sp.</i> | Cloruro de sodio | 30,000ppm. D 5 m. | | |
| | Formalina | 250 ppm. F 1 h. | | |

Protozoario externos (continuación)

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------|---|
| Protozoarios sín- usa- Identificar. | Formalina | 333-500ppm F | Primero se un prolongado- tratamiento. En 3°C. En 7° C Tóxico a 10° C |
| | Formalina | 200 ppm. F 1 h. | |
| | Formalina | 250 ppm. F 1 h. | |
| | Formalina | 250 ppm F 1 h | |
| | Oxalato Verde de malaquita. | 1.25-5 ppm F 30 m | |
| | Verde de malaquita | 1.25-5 ppm. F 30 m. | |
| | PMA. | 2 ppm. F 1 h. | Tóxico para Salmo gairdneri. |
| | Permanganato de potacio. | 3.3 ppm. F 30 m. | La alta concentración de materia orgánica reduce su efectividad. |

Protozoarios (internos)

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|----------------------------|----------------------|-----------------|--|
| <i>Ceratomyxa shasta</i> | Cloro | 0.3 ppm | I Continuo |
| | Luz UV | 37,500MWS/cm2 | Continuo |
| | Luz UV | Lampara G367-66 | Continuo |
| <i>Hexamita sp.</i> | Aureomicina | 10,000 ppm O | |
| | Betanaftol | 5 g/Kg de pez O | |
| | Calomel | 2,000 ppm O | 4 veces al día |
| | Carbosone (Arthinol) | 2,000 ppm O | 3 aplicaciones diarias |
| | Eneptin | 2,000 ppm O | 3 aplicaciones/día |
| | Sulfato de magnesio | 30,000 ppm O | 3 veces diarias en alimento |
| <i>Myxosoma cerebralis</i> | Cianamida de calcio | 2,000 Kg/Ha | Aplicar en suelo húmedo anual. |
| | Cianamida de calcio | 5,000 Kg/Ha | 2 aplicaciones 3-4 meses en estanques secos. |
| | Cal viva | 1,250 Kg/Ha | En estanques secos |

CAPILLA ALFONCINA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tremátodos monogeneos

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|-------------------------|-------------------------|------------------------|--|
| <i>Dactylogyus sp.</i> | Formalina | 166 ppm F 1 h | Bajo 16° C |
| | Formalina | 250 ppm F 1 h | Arriba de 16°C, es para peces enfermos |
| <i>Gyrodactylus sp.</i> | Permanganato de potasio | 10 ppm F 1 h | Flujo continuo. |
| | Permanganato de potasio | 3.3 ppm D 30 m | |
| | Zonite | 265 ppm D 2 min | 1 aplicacion |
| | Acido acético | 2,000 ppm D 1 m | Aumente el tiempo si son muchos peces. |
| | Formalina | 166 ppm F 1 h | Repita si es necesario |
| | Formalina | 250 ppm F 1 h | |
| | Permanganato de potasio | 3.3 ppm F 30 m | |
| | 10 ppm F 1 h | | |
| | Cloruro de sodio | 50,000 ppm D 1.5-2.5 h | 1 aplicación |

Tremátodos digeneos

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|-------------------------------|----------------------|------------------|---|
| <i>Crepidostomum farionis</i> | Di-N-Butyl tin oxido | 250mg/Kg de pez. | O 3 veces diariamente. |
| <i>Nanophyetus salmincola</i> | Rejillas eléctricas | | Mata las cercarias que entran al estanque |
| <i>Cercariae</i> | Filtros de arena | | P. Diariamente. |

Céstodos

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|------------------------------------|-----------------------|-----------------|--|
| <i>Diphyllobothrium sp larvae.</i> | Remover al adulto del | | M Diariamente. |
| <i>Eubothrium sp.</i> | Di-N-butyl tin oxido | 250mg/Kg de pez | O 3 veces diarias. |
| <i>Proteocephalus sp.</i> | Kamala | 1.5-2% de dieta | O Repetir de 10 a 14 2 a 3 veces por semana. |

Acantocéfalos

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|-------------------------------|-------------|-------------|---|
| <i>Echinorhynchus sp.</i> | Bithinol | 20,000 ppm. | O Se aplica una vez y remueve el 84% de la infección. |
| <i>Piscicola salmosistica</i> | PMA | 2 ppm | F 1 h No es efectivo |
| | Roccal | 2 ppm | F 1 h Efectivo |
| | Agua salada | 100% | F 1 h Efectivo |

Copéodos

| Patógeno | Tratamiento | Técnica | Observaciones |
|---------------------------|------------------------|----------------|---|
| <i>Argulus foliaceus</i> | Masoten | 0.25-0.30 ppm. | I De 1 a 2 veces por semana a 21-29° C |
| <i>Lernaea cyprinacea</i> | Masoten | 0.25-0.30ppm. | I 2 veces por semana 21-24°C. |
| <i>Lernaea sp.</i> | Lindane | 100ppm. | F 1 h. Tóxico en peces. |
| | Hexacloruro de benzeno | 0.062 ppm. | I Se aplica 6 veces-en 5 días. |
| <i>Salmincola sp.</i> | Formalina | 250 ppm | F 1 h. Tóxico en peces. |
| | Formalina | 166-250 ppm. | F 1 h Mata a larvas solamente. |
| | Gambusia | | B Se alimenta de larva de parásitos. |
| | Luz. | | Use la luz para atraer a larvas parásitos. |
| | Notropis sp. | | B Se alimenta de larvas parásitas. |
| | Filtros de arena | | P Remueve las larvas del agua suministrada. |

CAPILLA ALFONCINA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

RECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS



REFERENCIAS

Duijn, C. Van. 1967. Diseases of Fishes. London Iliffe Books. LTD. 309 pp.

Hoffman, G.L. & F.P. Meyer. 1974. Parasites of Freshwater Fishes. TFH Publications, Inc. 224 pp.

Jensen, J. & R. Durborow. Tables of Applying common fishpond chemical. Circular ANR-414. Alabama Cooperative Extension Service/Aburn University, Alabama 36849.

Jiménez G., F.; L. Galaviz S.; F. Segovia S. H. Garza S. & P. Wesche E. 1986. Parásitos y Enfermedades de la Lobina. Publ. Tec. No. 2. 2da. ed. fondepesca, U.A.N.L. 239 pp.

Jiménez G., F.; L. Galaviz S.; F. Segovia s. & H. Garza S. 1988. Introducción a la Sanidad Acuicola. La edición. Fondepesca, U.A.N.L. (En prensa).

Post, g. % M.M. Beck. 1966. Toxicity, tissue residue, and efficacy of Enheptin given orally to rainbow trout for hexamitiasis. Progr. Fish.-Cult. 28(2):83-88.

Ribelin, W.E. & G. Magaki. 1975. The Pathology of Fishes. The University of Wisconsin Press. 1004pp.

Warren, J. W. 1981. Diseases of Hatchery Fish. United States Fish and Wildlife Service Region 3, Department of the Interior, U.S.A. 91 pp.

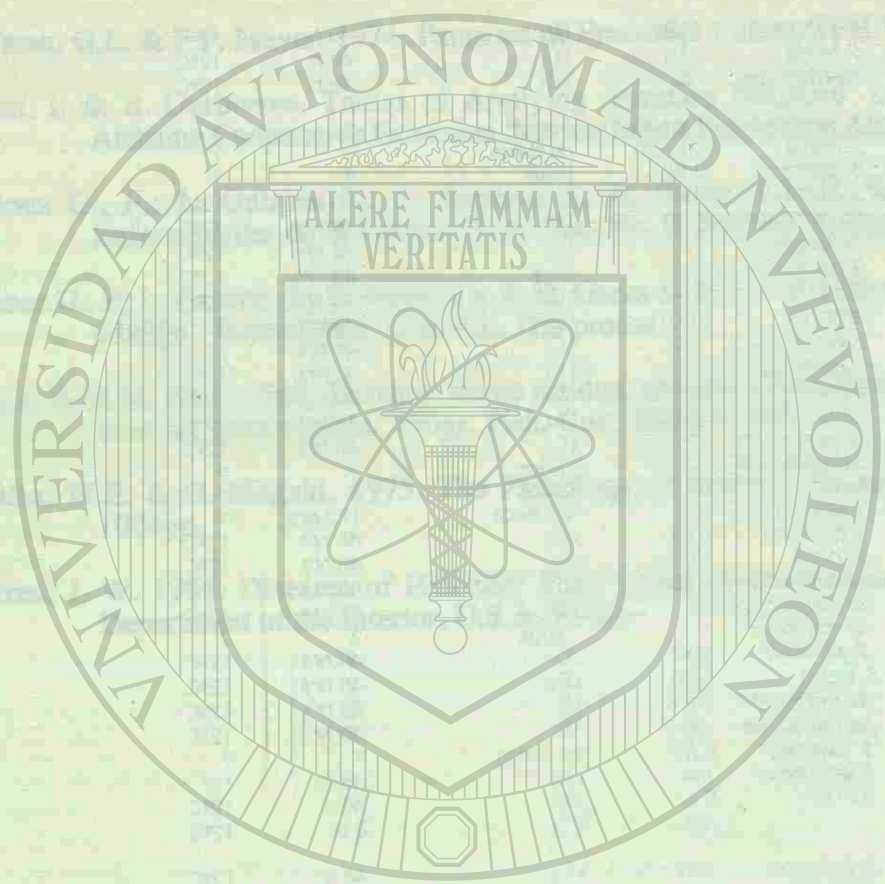
LIMITE DE TOXICIDAD DE LOS TRATAMIENTOS PARA ENFERMEDADES DE LA TRUCHA

| Substancia | Especie de trucha | Dosis (ppm) | Límite de Tolerancia | Tiempo de exposicion | Temp (°C) |
|---|------------------------------|-------------|----------------------|----------------------|-----------|
| Acriflavina neutral | <i>S. gairdneri</i> | 13.5 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>S. trutta</i> | 22 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>Sa fontinalis</i> | 12 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>Sa namaycush</i> | 4.6 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| Atabrine | <i>S. gairdneri</i> | 119 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>S. trutta</i> | 130 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>Sa fontinalis</i> | 82 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| Hexacloruro de benceno | <i>S. gairdneri</i> | 0.0125 | Tóxico | ? | ? |
| | <i>S. trutta</i> | 0.0125 | No tóxico | ? | ? |
| Bromex-50 Sulfato de cobre | <i>S. gairdneri</i> | 0.08 | LC ₅₀ | ? | ? |
| | <i>S. trutta</i> | 0.4 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| Dylox | <i>Sa fontinalis</i> | 0.49 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>Sa namaycush</i> | 0.1 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>S. gairdneri</i> | 8.6 | LC ₁₆ | 48 hrs | 12°C |
| Flagyl | <i>S. trutta</i> | 6.7 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | Saimo sp. | 100 | LC ₁ | 48 hrs | 12-17°C |
| Formatina | <i>Salvelinus sp.</i> | 100 | LC ₁ | 48 hrs | 12-17°C |
| | <i>S. gairdneri</i> | 121 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| Furanace Griseofulvin Verde malaquita oxalato | <i>S. trutta</i> | 121 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>Sa fontinalis</i> | 12.4 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>Sa namaycush</i> | 121 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>Oncorhynchus huevos</i> | 50 | Tóxico | ? | ? |
| Malation Azul de metileno | <i>S. gairdneri</i> | 5 | No tóxico | 1/2 hrs | ? |
| | <i>S. gairdneri</i> | 0.22 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>S. trutta</i> | 0.25 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>Sa fontinalis</i> | 0.16 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>Sa namaycush</i> | 0.25 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| Phenoxetol PMA | <i>Sa fontinalis</i> | 1 | Tóxico | ? | ? |
| | <i>S. gairdneri</i> | 10.7 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>S. trutta</i> | 17.8 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>Sa fontinalis</i> | 11.1 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| Quinina (hidrocloruro) | <i>Sa namaycush</i> | 22.7 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>S. gairdneri</i> | 0.38 | No tóxico | ? | ? |
| | <i>S. gairdneri</i> | 1.4 | LC ₁ | 48 h | 12° |
| Roccal | <i>S. trutta</i> | 5.1 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>S. trutta</i> | 45 | LC ₁ | 8 h | 12°C |
| | <i>S. gairdneri</i> | 100 | LC ₁ | 48 h | 17°C |
| | <i>S. trutta</i> | 100 | LC ₁ | 48 h | 17°C |
| | <i>Sa fontinalis</i> | 100 | LC ₁ | 48 h | 17°C |
| Ronnel | <i>Sa namaycush</i> | 100 | LC ₁ | 48 h | 17°C |
| | <i>S. gairdneri</i> | 1.32 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>S. gairdneri</i> | 2 | No tóxico | 1 h | ? |
| | <i>S. trutta</i> | 5 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| Rueleno | <i>Sa fontinalis</i> | 2.5 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>Sa namaycush</i> | 1.1 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>S. gairdneri</i> | 0.43 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>S. trutta</i> | 0.144 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>Sa fontinalis</i> | 0.12 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| Cloruro de sodio | <i>Sa namaycush</i> | 0.31 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>S. gairdneri</i> | 28.4 | LC ₁₈ | h | 12°C |
| | <i>S. trutta</i> | 21.7 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| Pentaclorofenato de Sodio Sulfametacina | <i>Sa fontinalis</i> | 26.6 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>S. gairdneri</i> (alevín) | 30,000 | Tóxico | ? | ? |
| TFM Tiguvon (baytex) | <i>S. gairdneri</i> (juven) | 30,000 | No tóxico | ? | ? |
| | <i>S. Trucha</i> | 8 | Tóxico | 20 m | ? |
| TV 1096 | <i>S. gairdneri</i> | 100 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>S. trutta</i> | 100 | LC ₁ | 48 hrs | 12°C |
| | <i>Sa fontinalis</i> | 100 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>Sa namaycush</i> | 100 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| TFM Tiguvon (baytex) | <i>S. gairdneri</i> | 12.0 | LC ₂₅ | 24 h | 13°C |
| | <i>S. gairdneri</i> | 2.2 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| TV 1096 | <i>S. trutta</i> | 1.8 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>Sa fontinalis</i> | 12.4 | LC ₁ | 48 h | 12°C |
| | <i>Sa namaycush</i> | 8.7 | LC ₁ | 48 h | 12°C |

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPILLA ALFONCINA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIODIVERSIDAD

PROCEDIMIENTOS GENERALES DE MUESTREOS

Francisco J. Iruegas Buentello y Roberto Mercado Hernández
Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

La determinación de estatus de ciertos patógenos en una población de peces, está influenciada por la técnica de muestreo y el tamaño de la muestra.

Deberá fijarse el propósito del trabajo y posteriormente los parámetros a determinar. Si la meta es aislar un agente de un pez clínicamente enfermo, será necesario usar un método particular. Para una población de peces sanos, que requiera una certificación, deberá usarse otro método. La certificación (una inspección no implica la certificación).

La prueba de una población, para determinar un agente específico, se requiere de un número estadísticamente significativo de especímenes colectados bajo cierta técnica de muestreo. De ninguna forma, la falla para aislar cierto patógeno en el pez examinado, garantiza su ausencia en la muestra en el stock. Esto es particularmente cierto cuando la muestra no es representativa por la dificultad en su colecta.

En el reporte de inspección deberán incluirse los antecedentes de la enfermedad, fecha del muestreo y localización de ésta en el stock, como elementos esenciales en el procedimiento de certificación.

A.- MUESTREOS PARA INSPECCION GENERAL DE PECES POR PATOGENOS

1.- Las muestras serán colectadas en base al muestreo de lote por lote, cada lote manteniéndose separadamente, un lote es definido como un grupo de peces de la misma especie y edad que se originaron de la misma población y que siempre han estado en la misma fuente de agua, en el caso de crías, varios grupos de edades pueden estar en el mismo lote, entre todos los lotes deben encontrarse representadas todas las edades de los peces.

2.- En cualquier muestra o submuestra dada deberá primeramente seleccionarse un pez moribundo y del resto de la muestra realizar una selección aleatoria de peces vivos, que represente el lote examinado. En el caso de que la muestra contenga crías de diferentes edades, se seleccionarán los peces de mayor edad, los peces moribundos serán contados como parte de la muestra, pero serán analizados separadamente de los peces seleccionados aleatoriamente.

3.- Tamaño mínimo de muestra para cada lote deberá considerarse un 95% de confianza de que los especímenes infectados estarán incluidos en la muestra, asumiendo una prevalencia de infección mayor o igual que el 2, 5 ó 10%. El mínimo tamaño de muestra para lotes varía 50 a infinito, para cada inspección, como se muestra en la tabla del capítulo virus.

3.- Los peces deben estar vivos cuando son colectados y serán procesados lo más pronto posible después de su colecta (el tiempo entre la colecta y el proceso lo determina el agente etiológico, si los especímenes no pueden ser mantenidos vivos antes de procesarlos, las muestras deberán ser almacenadas en contenedores etiquetados, asépticos y guardados en hielo pero no congelado.

B. MUESTREO DE PECES MORIBUNDOS O CLINICAMENTE ENFERMOS.

- 1.- Seleccione al menos los 10 especímenes más pequeños que presenten signos típicamente clínicamente de enfermedades dentro de cada lote que será analizado.
- 2.- Los peces que estén vivos serán procesados lo más pronto posible después de su colecta (el tiempo entre la colecta y el proceso lo determina el agente etiológico). Si los peces no son mantenidos vivos antes del proceso, las muestras deberán ser almacenadas en contenedores etiquetados, asépticos y guardados en hielo.
- 3.- Deberá consultar la sección apropiada del "Libro azul" para los procedimientos de las pruebas para el agente etiológico específico.

Parásitos y Enfermedades de la Trucha, terminado de imprimirse en el mes de junio de 1992, en la Imprenta de la Facultad de Ciencias Biológicas de la U.A.N.L. San Nicolás de los Garza, N.L., México. Tiraje, 150 ejemplares. El cuidado de la edición e impresión estuvo a cargo de la Lic. Raquel Serrato González, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS





U A N L

SIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

CCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECA

