

2 eje.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**EVALUACION DE LAS LESIONES HISTOLOGICAS
POR EL TRATAMIENTO
TERAPEUTICO CON VERDE DE MALAQUITA
EN TILAPIA (*oreochromis sp.*)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :

DARIO ASCENCION ROJAS

**ASESORES: M.V.Z. ANA AURO DE OCAMPO
DRA. GOMEZ ESTRELLA**



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

1994



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**EVALUACION DE LAS LESIONES HISTOLOGICAS POR EL
TRATAMIENTO TERAPEUTICO CON VERDE DE MALAQUITA
EN TILAPIA (*Oreochromis sp*).**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario y Zootecnista

por

Darío Ascención Rojas.
Asesores: M. V. Z. Ana Auró de Ocampo.
Dra. Gomez Estrella.

México, D. F.

1994

DEDICATORIA

A mi madre: por su apoyo y paciencia a lo largo, de
toda mi vida estudiantil.

A todos los animales, especialmente a los que me han
brindado su compañía (en los que pude desarrollar gran parte
de mi carrera), y a los que dieron su vida en beneficio de
mi desarrollo profesional.

A mi facultad y a todos los profesores que compartieron
conmigo sus conocimientos y experiencias.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi sincera gratitud a todas aquellas personas que con sus consejos, ayuda, y apoyo logre llegar a la culminación de mi carrera, así como la formación profesional adquirida.

Agradezco de la manera más sincera al departamento de producción acuicola por haberme facilitado el haber realizado mi tesis. Principalmente a la M. V. Z. Ana Auró de Ocampo, que con su alegría y entusiasmo me asesoro a lo largo de este proyecto

sin la cual no hubiera podido culminar de mejor forma.

A todos mis compañeros por su compañía, ayuda y apoyo a lo largo de toda mi carrera, principalmente a la PMVZ Lilia Cadena, PMVZ Carmen Gallo García, PMVZ Victor Mendez Tapia, P de Biol. Martín Jesus Fuentes y al MVZ Fernando Cristobal Aquino, los cuales colaboraron en gran parte en el trabajo de mecanografía y en el uso del equipo de computo.

Al H. Jurado de mi examen.

La especie humana evolucionara más en la medida que pueda convivir sinérgicamente y llege a entender la razón de ser de el conjunto de todas las demás especies.

D. A. R.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	9
RESULTADOS.....	11
DISCUSION.....	13
LITERATURA CITADA.....	21
FIGURAS.....	25
CUADROS.....	29

RESUMEN

ASCENSION ROJAS, DARIO. Evaluación de las lesiones histológicas por el tratamiento terapéutico con verde de malaquita en Tilapia (Oreochromis sp). (Bajo la dirección de la M.V.Z. Ana Auró de Ocampo y la Dra. Gomez Estrella).

Con la finalidad de conocer las posibles lesiones producidas en órganos de Tilapias tratadas con verde de malaquita por dilución en el agua de la pecera en que se encuentran los animales. Se emplearon 32 tilapias (Oreochromis sp) de 5 g más menos 0.5 g distribuyéndose en 8 lotes. El experimento duró 8 semanas, durante las cuales se medicó a los peces, fueron ubicados en un acuario de 160 litros de capacidad provisto de agua de clorada por el método químico y adición de tiosulfato de sodio y oxigenada mediante aireadores de 3000 ml de bombeo de aire por minuto. Todos los peces fueron tratados con 0.015 ppm de verde de malaquita disuelto en el agua diariamente durante 3 días, al cuarto día se sacrificó el primer lote consistente en 4 tilapias, después de un descanso de 3 días se repitió el tratamiento y el sacrificio y así durante 8 semanas hasta tener 8 lotes de 4 peces cada uno, los peces fueron sacrificados por desmedulación, se realizó la necropsia y se fijaron los órganos en formol buferado al 10% para su procesamiento por inclusión en

parafina y tinción rutinaria de hematoxilina eosina, los resultados y el análisis histopatológico mostraron una abundancia de endosomas en hepatocitos, degeneración hialina del citoplasma del epitelio tubular renal, quistes parasitarios en hígado. La tinción de Pearls demostró que los endosomas no tenían el metal pesado incluido pero se observó abundancia del metal en células epiteliales intestinales.

INTRODUCCION

En la actualidad se ha constatado que el gran incremento en la demanda de alimentos, en México como en otras partes del mundo, se encuentra aunado a el crecimiento poblacional.

Por dicha demanda la acuicultura representa una de las alternativas, en la satisfacción alimentaria a nivel mundial, por lo que se debe de tomar muy en cuenta que dicha producción acuícola además se puede desarrollar en diversas zonas de nuestro país, con las cuales se podría cubrir dicha demanda estimulando con esto la actividad tanto productiva como económica de más sectores.

Una de las especies más empleadas en acuicultura es la tilapia, la cual representa el interés de esta investigación, siendo el género en cuestión Oreochromis sp., el cual pertenece a la familia Cichlidae, representada por peces robustos de talla mediana y cuerpo comprimido (1, 8, 23). Se considera que en México, se obtiene una producción de 100,000 toneladas anuales de Oreochromis sp. contribuyendo esta actividad al desarrollo social y económico en México (17).

Los diferentes hábitats en los que la tilapia se puede adaptar la colocan en uno de los primeros lugares de las especies más comercializadas, ya que es capaz de soportar variaciones en los parámetros químicos, físicos y biológicos (23). En lo referente a contaminación del agua, el pez

constituye un sujeto de test ideal, siendo útil en particular para comprobar la toxicidad de diversos productos, así como las lesiones derivadas, de estos productos; los cuales llegan a pasar a ríos y lagos como resultado de su empleo, por lo que para evaluar la toxicidad sobre los peces se toman en consideración diversos factores medio ambientales, debido a que todos los trastornos suscitados dependen por tanto, de su manifestación, intensidad, oscilaciones y total desaparición, del estado fisiológico del pez, así como del oxígeno, pH, temperatura y demás factores ecológicos y genéticos (21). Debido a que en los estanques no se cuenta con agua con las mismas características que la hallada en forma natural, se requiere realizar cambios parciales y en ocasiones totales del agua en forma periódica, así como lavarlos y desinfectarlos evitando con esto las enfermedades y sus consecuencias, como la transmisión a otros peces. De igual manera se requiere de la previa cuarentena de los peces al entrar al estanque, además para prevenir una posible diseminación de enfermedades que éstos pudieran presentar, siendo necesario además la desinfección del equipo a usar, así como el empleado en su transportación. Son variados los desinfectantes, fungicidas y ectoparasiticidas a base de zinc, así como sus combinaciones con diversos fármacos; siendo el verde de malaquita el tema en cuestión, que concierne a nuestro interés de investigación, el cual es muy socorrido en el uso del tratamiento de enfermedades fungales en los huevecillos de peces pero también en enfermedades como

es la causada por el Ichthyoptirius multifiliis conocida como Ich y vulgarmente nombrada como punto blanco; en dicha enfermedad se nota la aparición de pequeños quistes en la piel de los peces. Se considera que dichos tratamientos tienen una mayor factibilidad al ser usados en los estanques a un pH de 7.5 (3, 19, 20).

El verde de malaquita es una tintura arylmetano, su fórmula es $C_{23}H_5N_2$ la cual no contiene cobre. Específicamente es un diamino - trifenilmetano, teniendo como base a el zinc el cual se le adiciona para darle una mayor adsorción y disminuir su sedimentación; el compuesto de zinc que se considera en este trabajo, es derivado especialmente del sulfato de zinc siendo este una sal muy ionizable (15). Algunas de las sinonimias con que se conoce al "Verde de malaquita", son las siguientes: "Verde Victoria B ó WB", "Nuevo Verde de Victoria Extra 0I ó II", "Verde Diamante B", "BX ó P extra", "Verde sólido 0", "Verde luz N"; a el verde de malaquita se le puede encontrar en forma de polvo verde obscuro el cual es capaz de diluirse en agua destilada, ó en formaldehído, que son los vehículos en los que se encuentra solubilizado en forma comercial; se sabe que el zinc metálico es soluble en aguas blandas así como en ácidos orgánicos (2, 15, 27, 24).

Las sales solubles de zinc, son irritantes, astringentes y cáusticas, según la concentración empleada; el sulfato de zinc provoca, acción emética. Los iones de zinc (Zn^{++}), precipitan las proteínas y a ello se debe su acción antiséptica e irritante local, no siendo muy potente (Salle,

1957), tratándose primordialmente de efectos bacteriostáticos cuando se emplean las concentraciones habituales. Al ser absorbido el sulfato de zinc en bajas cantidades se distribuye por todos los órganos y es excretado especialmente por las heces (15).

Se cree que el verde de malaquita produce efectos teratogénicos; en cuanto a su toxicidad se menciona que los individuos jóvenes son más susceptibles a la intoxicación por zinc que los adultos. La intoxicación se da por la ingestión de dosis excesivas, provocando signos derivados de sus efectos irritativos locales; produciéndose náuseas, vómito, cólicos y diarrea, que pueden llevar al colapso (15). En cuanto a salud pública se refiere los síntomas en la intoxicación por zinc en humanos, son muy agudos siendo representados por, vómitos violentos, purgación, dolor abdominal y colapso. En cuanto a la semiología en animales, regularmente se presentan a dosis de 40 mg. por kilogramo de peso corporal produciéndose generalmente la muerte, siendo los siguientes signos: Toxemia general con anorexia, somnolencia y aumento de la frecuencia respiratoria (6, 12, 14, 28). En cuanto al modo de acción del zinc, específicamente en los peces es un tanto desconocido, pero se sabe que una parte del zinc metabolizados por el hígado y absorbidos por el intestino se pueden eliminar, cuando los peces son trasladados a aguas exentas de zinc; y si son expuestos durante 72 horas en concentraciones subletales, el consumo rutinario de oxígeno puede alterarse. Se sabe además

que la intensidad de almacenamiento es mayor con altas temperaturas que con bajas.

Las lesiones más comunmente visibles son la destrucción del tejido branquial, hepático, y renal (11, 21).

HIPOTESIS

La intensidad de las lesiones por el tratamiento con Verde de malaquita, a dosis terapéutica, son directamente proporcionales a la duración del tratamiento.

OBJETIVOS

Conocer la histopatología ocasionada por el uso crónico con dosis terapéutica del verde de malaquita en tilapia Oreochromis sp.

MATERIAL Y METODOS

Se emplearon 32 tilapias (Oreochromis sp) provenientes del centro piscícola del Rodeo, de la delegación federal de pesca en el estado de Morelos, con distintos pesos, se les mantuvieron en un acuario de cristal, siendo su capacidad de 160 litros, fué provisto además de una bomba de dos salidas interconectadas éstas por un sistema de circuito cerrado, provisto éste de llaves de paso, del cual se emplearon tres salidas con las que se obtuvo un suministro de tres litros de aire por minuto.

Las prácticas de higiene se llevaron acabo una vez por semana, siendo ésta al iniciar dicha semana, consistiendo, en cambios totales de agua declorada por el método químico con la adición de tiosulfato de sodio. La duración del experimento fué de ocho semanas, y la aplicación del verde de malaquita a una dosis de 0.15 ppm (13, 19) administrándose en forma de dilución en el acuario con base en el peso vivo de todos los animales, esto fué realizado los tres primeros días de cada semana sacrificando por eutanasia a cuatro individuos a el cuarto día y así sucesivamente las restantes siete semanas, realizando su fijación en formol al 10 %, registrándose entonces como lote 1, 2, 3, 8; dándole a los peces restantes un descanso de cuatro días. De los peces empleados en el estudio histológico se tomaron muestras de hígado, branquias (10), intestino y ojo rotulándose sus envases como 1a el primer individuo y 2a al segundo y así sucesivamente; en otros envases se recolectaron las muestras

de encéfalo, gónadas y riñón, rotulando estos envases como 1b para el primer individuo y 2b para el segundo y así sucesivamente; después se realizó su inclusión en cubos de parafina, para realizar los cortes histológicos que fueron montados en las laminillas para su posterior observación al microscopio; a dichos cortes se les tiñó mediante la técnica histológica de hematoxilina y eosina (H. E.) (22).

La información obtenida de la observación de los cortes histológicos se agrupó y posteriormente se analizó por medio de el análisis estadístico por la prueba de Fisher (prueba estadística no paramétrica) para contrastar la presencia o ausencia de dicha lesión por lote.

RESULTADOS

Los hallazgos histológicos en los peces tratados fueron clasificados de la siguiente forma.

- 1 Acúmulos de proteínicos intracitoplasmáticos (endosomas) en hígado y en riñón.
- 2 Hiperplasia lamelar
- 3 Edema coroidal (Fig. 1, 2).

Describiéndose las lesiones en los cuadros.

- 1- Hígados.
- 2- Riñones.
- 3- Branquias.
- 4- Ojos.

Las lesiones en branquias no presentaron variabilidad ni creciente ni decreciente durante las ocho semanas de medicación, mostrándose la hiperplasia de dichas lamelas (fig 3), en número similar tanto en la porción apical de las lamelas secundarias como en la porción basal.

La presencia de quistes de parásitos fue muy variable en los 8 lotes (figura 4).

En hígado se pudo apreciar, degeneración glucogénica y acúmulos proteínicos intracitoplasmáticos los cuales se presentaron en cantidad ascendente al ir transcurriendo las semanas (figura 5). En el riñón se presentaron principalmente, acúmulos de proteína en el interior de los túbulos renales, así como calcificaciones metastásicas en estos, al igual que acúmulos proteínicos intracitoplasmáticos (figura 6, 7, 8).

Los resultados obtenidos por medio de la microscopía electrónica (espectrofotometría acoplada a microscopía de transmisión), mostraron que la concentración de zinc, en hígado y riñón fué 3 veces menor que la de cobre y cadmio. El análisis estadístico por la prueba de Fisher mostró no haber diferencias estadísticamente significativas de la frecuencia de presentación de lesiones.

DISCUSION.

La presencia de lesiones en hígado y riñón son un claro indicativo de la ruta metabólica y de la excreción de los químicos utilizados en el tratamiento, en este caso el verde de malaquita en cuya composición se encuentran moléculas de zinc; los análisis histopatológicos con base en tinciones específicas para metales no son de valor, dado que tiñen igualmente al Fe, Cu, Cadmio, Mercurio y Zn, de tal manera que fue indispensable llevar a cabo un análisis electromicroscópico de transmisión que también cuantifica en partes por billón (ppb) no solamente el metal exógeno sino también otros elementos endógenos en forma de complejos orgánicos, este análisis mostró presencia de zinc, Cu, Fe y Cadmio en hígado y riñón por lo que los endosomas secuestradores de el metal pesado observados en estos órganos pondrían tener cualquiera de estos metales y no únicamente el zinc por otro lado la concentración de zinc fue 3 veces menor que la de cobre y cadmio.

Cuando ingresa Zn al organismo hay cierta acumulación del mismo, pero tal acumulación se considera transitoria, debido a que la toxicidad de los compuestos de zinc para los animales acuáticos depende de la dureza del agua, de la concentración de oxígeno y de la temperatura; además influye la especie y puede variar con el aclimatamiento y la edad. Por lo general los peces soportan 4 a 10 mg por litro, desconociéndose el modo de acción del zinc, pero se sabe que es capaz de bloquear enzimas intestinales (estudio realizado

en el pez blanco), principalmente tripsina y amilasa, disminuyéndolas hasta un 70%, se desconoce si se da por la inactivación de las enzimas ó por efectos químicos colaterales. Del zinc, absorbido la mayor parte vuelve a eliminarse cuando los peces se trasladan a aguas exentas del mismo, la excreción del zinc en la mayoría de las especies se da principalmente en las heces (esto se corrobora por medio de las tinciones de Pearls hechas en intestino), al ser administrado por vía parenteral, siendo de aproximadamente de un 18 a 22% la eliminación, a los 18 días de administrado, y de un 2% a un 3% vía urinaria; (prueba comparativa de eliminación en ratas administrada intravenosamente) (Barrow et al 1973 citado por 21) (21, 14). En los casos de la hiperplasia lamelar en branquias, y las gotas proteínicas intracitoplasmáticas en hígado y riñón, así como la presencia de proteína en túbulos renales, se demostró estadísticamente que hay diferencias significativas entre los lotes, de forma directamente proporcional, en la medida que transcurría el tiempo del ensayo. La tasa de oxigenación, velocidad de flujo, valor de pH y dureza del agua juegan un papel muy importante en la acumulación de sustancias nocivas en el pez, dependiendo además de factores endógenos y de las características del biotipo (14, 16, 21). Por lo que la eliminación de los metales pesados se dá con diferente velocidad dependiendo de los factores antes mencionados, dicha eliminación se muestra con más lentitud que su acumulación (Muller y Prosi 1977 citado por 21). como ya se

mencionó la eliminación se ve influida por la temperatura y la contaminación del agua, pero nunca se puede llegar a una completa desaparición del metal, debido a que se da un equilibrio entre acumulación y eliminación (20, 21). Las lesiones más comunes cuando se usa verde de malaquita en peces en tratamientos crónicos, son la destrucción del tejido branquial, en este caso la duración del tratamiento fue de 8 semanas, más el sistema de limpieza que se empleó impidió la potencialización de los químicos y consecuentemente la exacerbación de las lesiones. Se debe de considerar de manera secundaria el hecho de que la mayoría de los peces presentaban lesiones a causa de parásitos, (principalmente quistes de esporozoarios) regularmente en branquias, no relacionadas estas lesiones directamente con la intoxicación por verde de malaquita, (lesiones que fueron adquiridas en el lugar de procedencia de los peces) pero provocando ésto que el consumo de oxígeno se viera afectado (14), sumándose además el factor de que el verde de malaquita es un fármaco que aumenta el consumo de oxígeno. Además que el zinc a nivel sérico así como su asociación con vitamina C, niacina, cobre, y radio se les considera como un factor negativo para los signos respiratorios. Se ha demostrado que la administración de zinc y hierro a concentraciones subletales, altera el consumo rutinario de oxígeno de Tilapia sparamanii, debido a las lesiones causadas en branquias (5, 25, 16). Por lo antes citado, no se considera ésto de valor estadísticamente significativo, pero como ya se mencionó, sí se consideran

como un factor predisponente, en la presentación de estos resultados y como una causa desencadenante de otro tipo de enfermedades, encabezadas por el estrés de los animales.

Durante el tiempo que transcurrió el ensayo no se presentaron muertes debidas a la exposición continúa al verde de malaquita, con lo que se ratifica que la dosis terapéutica de 0.015 ppm., no es letal en el transcurso de 8 semanas de exposición continua al fármaco, más sin embargo se mostró en las 3 últimas semanas de exposición, pérdida de apetito e hipernea; haciendo una comparación con otros estudios, realizados éstos a grandes dosis y a mayor tiempo en diversas especies, se observó la similitud de algunos resultados en lo que concierne a el tipo de signos y lesiones, variando con ésto el tiempo de presentación, encontrándose en dichas investigaciones signos generales de intoxicación aguda por metales pesados; estos signos no fueron tan marcados en este ensayo, debido a que fue una exposición aguda al verde de malaquita y no crónica. Entre las lesiones mencionadas que destacan en otros estudios realizados y con otras especies, se encuentra que, en el caso de bovinos, se presentan lesiones como enfisema pulmonar, palidez y flacidez del miocardio, petequias en riñones y degeneraciones hepáticas, los signos son seguidos de recuperación ó muerte, siendo las lesiones características el enfisema pulmonar intersticial y atelectasia. Además se han descrito artritis, hemorragias externas, gastritis, enteritis catarral, congestión del mesenterio y hemorragias en los ventrículos cerebrales,

ganglios linfáticos y bazo (Brink et al., 1959 citado por 14). Además se ha demostrado que a niveles de 2.200 ppm en la dieta de bovinos, se produce a largo plazo anemia hipercrómica; precediendo a la muerte de los animales, se da inapetencia, emaciación, caquexia, diarrea y constipación, bradicardia, ictericia y hemoglobinuria, los signos mostrados además fueron alteraciones funcionales del hígado y lesiones pancreáticas (Rosenberger y Grunder 1975 y Smith 1980 citado por 14) (14).

En corderos, el zinc provoca disminución del apetito y lesiones renales, observándose, también aumentos significativos de las concentraciones de zinc en hígado, riñón, y páncreas (9).

Se ha señalado que el zinc produce deficiencia de cobre y alta incidencia de abortos y de partos de fetos muertos en ovinos. La suplementación con cobre no previene ni mejora los efectos adversos del zinc sobre la ganancia de peso, consumo de alimentos, índice de conversión y viabilidad de los corderos (Campbell y Mills, 1979 citado por 4) (4).

En equinos, dosis de 500 ppm de zinc ó más, en materia seca en la dieta, provocaron una intoxicación por este metal, señalándose en este tipo de intoxicaciones y en las de cadmio, la presentación de osteocondrosis, osteoporosis y nefrocarcinosis. Eamens, Macadam y Laing (1984) reseñaron hipocuprosis debida a ingestión excesiva en caballos jóvenes que pacían cerca de una planta industrial, presentándose un

mal desarrollo, y anomalías caracterizadas por engrosamiento periarticular de los huesos largos.

En un estudio realizado en pez escorpión, se observó que el mecanismo de reducción de la enzima Cu-Zn superóxido dismutasa (SOD), que se encuentra activamente en el intestino de dicho pez, parece estar relacionado directamente con alteraciones de cobre y en el metabolismo del zinc, inducido por el cadmio. (5)

En porcinos los efectos tóxicos del zinc en dietas, pueden prevenirse con niveles altos de calcio (Hsu et al., 1975).

En aves, alimentadas con dietas que contenían de 2.000 ppm - 6.000 ppm. de zinc presentando un escaso crecimiento y erosiones en la molleja y del páncreas exocrino. Las lesiones pancreáticas consistieron en dilatación de la luz acinar, vacuolización, formación de globulillos citoplasmáticos y necrosis de las células exocrinas con fibrosis interparenquimatoso (5). En animales intoxicados por zinc los valores regularmente presentados son: hígado, 2.000 ppm; riñón, 670 ppm; heces, 8.740 ppm; suero, 0.515 ppm (Van Ulsen, 1973 citado por 21) (14, 21).

Existen evidencias clínicas de disfunción por las lesiones antes presentadas; la degeneración glucogénica y grasa en hígado y en el riñón, así como la acumulación de proteínas en la luz de los túbulos, y la presencia de cristales de calcio, en un estudio realizado en Trucha arcoiris (Salmo gairdneri) en el que se evaluaron los efectos patológicos por repetidas dosis de verde de malaquita a intervalos semanales, después

de la tercera semana de exposición la congestión sinusoidal y la necrosis focal fueron evidentes sobre los hígados, en un nivel estructural el daño mitocondrial presento hinchazón y rompimiento así como la dilatación del retículo endoplasmico rugoso (7). Las alteraciones nucleares se incrementaron; en las branquias se presentó la separación del forro epitelial de las regiones lamelares e intralamelares además de necrosis de las células lamelares y la infiltración leucocitaria (10), lo cual puede provocar el estress y la marginación de los animales más afectados, ocasionando esto el ser acosados por parte de otros peces (18, 26).

En un trabajo realizado por Cordova M. (8) en que se evaluaron las lesiones encontradas en Tilapia sp. por el simple hecho de mantenerlos en cautiverio en acuario (el cual se tomó como control), se hallaron las siguientes lesiones significativas; lesiones en branquias: Epibionte lisado y Gyrodactylus entre las lamelas, parásitos enquistados melanizados en la base de las lamelas primarias, hiperplasia del epitelio en las lamelas primarias y secundarias; lesiones en hígado: Degeneración glucogénica, degeneración grasa, quistes de larvas de nemátodos migrantes; ojo: Congestión en coroides; riñón: Degeneración vacuolar del epitelio tubular; por lo que es posible que las lesiones branquiales, al igual que las ocurridas en ojos, degeneración glucogénica en hígado, encontradas en este ensayo sean debidas al confinamiento más que a el tratamiento; tomandose

como lesiones básicamente resultantes del tratamiento a dosis terapéutica, la presencia de endosomas en hígado y riñón.

El edema en coroides es un hallazgo incidental posiblemente causado por un efecto irritativo de los metabolitos endógenos NH_3 y NH_4 junto con el tratamiento sinérgicamente, pero no puede explicarse con plena seguridad.

Para posteriores estudios se recomienda controlar la temperatura del agua, dado que es un factor determinante de la tasa metabólica.

LITERATURA CITADA.

- 1.- Aguilera, H. P. y Noriega, C. P.: La tilapia y su cultivo. FONDEPESCA, 1986.
- 2.- Alderman, D. J.: Malachite green: a review. Journal of fish Diseases. 8: 289-298 (1985).
- 3.- Alerman, D. J.: In Vitro testing of fisheries chemotherapeutants. Journal of fish Diseases, 5, 113 - 123, (1982).
- 4.- Avram Golstein, M. D. et al.,: Principles of drug Action: The Basis of Pharmacology, second edition, U.S.A., 1976.
- 5.- Bay - Sm; et al.,: Exposure of scorpionfish (*Scorpaena guttata*) to cadmio: Biochemical effects chronic exposure. Aquat toxicol, Vol. 16, No. 4., Nether lands (1990).
- 6.- Bloo, D. C. et. al.: Medicina Veterinaria. Interamericana, México, D. F., sexta edición, 1986.
- 7.- Bunton, T. E. et al., Abnormal Hepatic Copper Storage in a Teleost Fish, Veterynary Pathology, Vol. 24, Baltimore, (1987).
- 8.- Cordova M, Senen: Estudio comparativo de la histopatología de la Tilapia (*Oreochromis spp.*) en animales en confinamiento (estanques y acuarios). Tesis de licenciatura, Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, (1994)

- 9.- Elinder, Carl Gustaf: Han book on the toxicology, Vol. 2, segunda edición, U.S.A., 1990.
- 10.- Gerundo, N., Alderman, D. J.: Pathological effects of repeated doses of malachite green: A preliminary study. J. FISH DIS. Weymouth, England. Vol. 14, No. 5, 521-532 Sep. (1991).
- 11.- Grobler, E.; et. al.: Toxic effects of zinc and iron on the routine oxygen consumption of tilapia. sparmanii. Journal- Article, United-Kingdom: 207-214 (1989).
- 12.- Hernandez, H. F., Meina, J. Anuástegui, J., and Conesa, M.: Heavy Metal Concentration in some marine organisms from the Mediterranean Sea (Castellón, Spain): Metal accumulation in different tissues. Scient. Mar. 54: 113 - 129 (1990).
- 13.- Herwig, N.: Hand book of drugs and chemicals used in the treatment of fish diseases. Charles E. Thomas Publisher, Springfield Illinois U. S. A., 1979.
- 14.- Humphreys, D. J.: Toxicología Veterinaria. 3a e. Mc Graw Hill, España, 1990.
- 15.- Litter, Manuel: Farmacología, El Ateneo, tercera edición, Argentina, 1966.
- 16.- Lloyd, Richard: Pollution and Freshwater Fish. A Buckland Foundation Book (Fishing News Books.), Great Britain, 1992.
- 17.- Muñoz, C.G.: Engorda de *Oreochromis* sp., Memorias del curso de Producción de langostino Malásico y Mojarra

- Tilapia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
U. N. A. M., México, D. F.; (1990).
- 18.- Ocadiz Tapia, Raul: Hallazgos histologicos en Tilapia Oreochromis spp. derivados de la intoxicación con mercurio por el tratamiento con timerosal (mertiolate) en doce semanas Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., (1992).
- 19.- Panasenko, V.V.; Afanas'ev, - VI : The prophylaxis of Ichthyophthirius infection. Protozoological Abstracts: 005 - 00195. (1981).
- 20.- Poe, W. E., Wilson, R. P.: Absorption of malachite green by channel catfish. PROG. FISH - CULT, Mississippi State U. S. A., Vol. 45, No. 4, 228 - 229, Oct., (1983).
- 21.- Reinchenbach, K. H. H.: Enfermedades de los peces. Acribia. Zaragoza España, 1982.
- 22.- Roberts, J. R.: Patología de los Peces. Mundi - Prensa, Madrid, 1981.
- 23.- Salmerón, P. L. A. y Luna, R. A.: Los animales comestibles de importancia comercial en aguas mexicanas. C. R. C. S. A., México D. f., 1985.
- 24.- Salter, W. T.: Tratado de farmacología aplicada tomo VI. Interamericana, México D.f., 1953.
- 25.- Schartz - J; Weiss -ST: Dietary factors and their relation to respiratory symptoms. AM -J - Epidemiol. Vol. 132, No. 1., United - States (1990).

- 26.- Sott, Peter: Chemical disease control, Fish Farmer, Vol. 5, No. 4(22), U.S.A., (1991).
- 27.- Sumano, L. H., y Ocampo, C. L.: Farmacología Veterinaria. Mc Graw Hill, México, D. F., 1990.
- 28.- Tennant, D. R.: Surveillace for Residues in Farmed: principles and problems., Symposium of chemotherapy in Acuaculture: from theory to reality, Office International es Epizooties (O. I. E.), Paris France (1991).

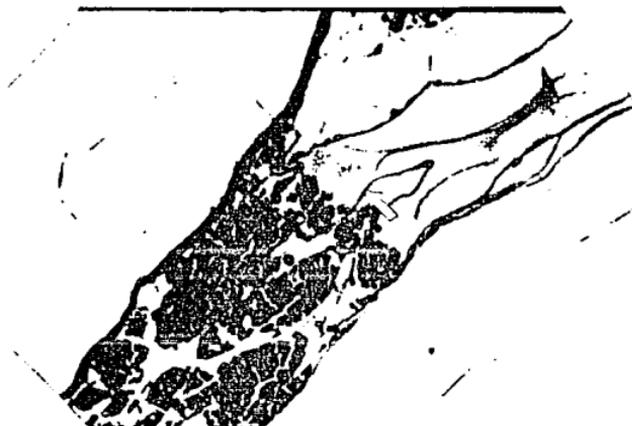


Figura 1: Coroides con edema



Figura 2: Coroides con edema e infiltración por heterofilos.



Figura 3: Hiperplasia de las lamelas primarias.



Figura 4: Luz intestinal con quistes de parásitos

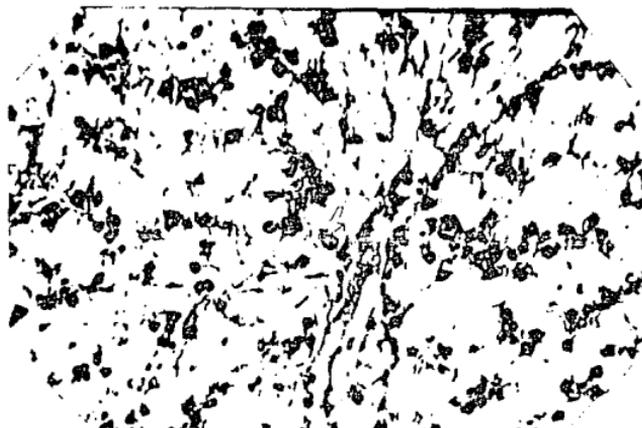


Figura 5: Hígado con degeneración glucogenica y endosomas.

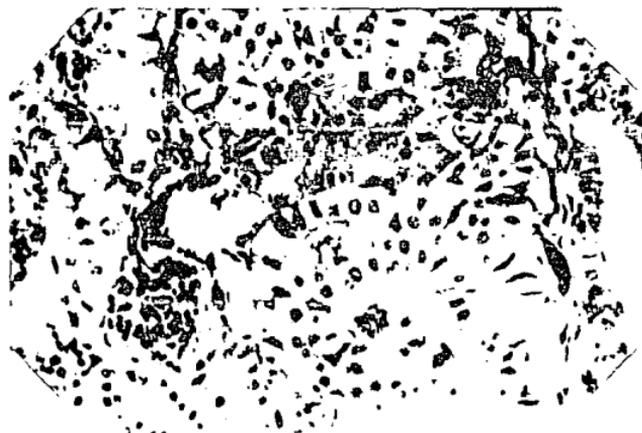


Figura 6: Riñón con acumulos de proteína en el interior de los tubulos renales, endosomas y calcificación metastásica.

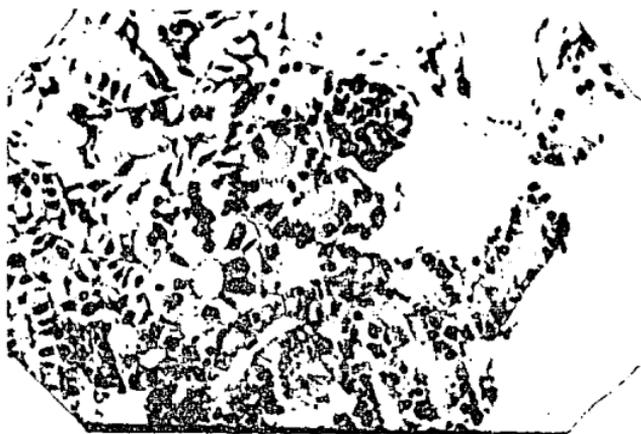


Figura 7: Riñón con endosomas.



Figura 8: Riñón con acumulos de proteína en la luz de los tubulos.

COMPARACION DE FRECUENCIAS DE PRESENTACION ENTRE LESIONES

HIGADO (Endosomas), por el analisis de probabilidad exacta de Fisher.

SEMANAS FRECUENCIAS	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°
1 1/4	P=0.7	P=0.07*	P=0.78	P=0.24	P=0.5	P=0.5	P=0.07*
2 1/4		P=0.07*	P=0.78	P=0.24	P=0.24	P=0.24	P=0.07*
3 4/4			P=0.07*	P=0.5	P=0.21	P=0.21	P=1.00*
4 1/4				P=0.24	P=0.5	P=0.5	P=0.07*
5 3/4					P=0.5	P=0.5	P=0.5
6 2/4						P=0.75	P=0.21
7 2/4							P=0.21
8 4/4							

* =Diferencias estadisticamente significativas.

$\infty \Rightarrow >0.05 < 0.1$

COMPARACION DE FRECUENCIAS DE PRESENTACION ENTRE LESIONES

RIÑON (ENDOSOMAS), por el analisis de probabilidad exacta de Fisher

SEMANAS FRECUENCIA	3°	4°	5°	6°	7°	8°
2 3/4	P=0.5	P=0.5	P=0.5	P=0.78	P=0.5	P=0.5
3 2/4		P=0.75	P=0.75	P=0.5	P=0.75	P=0.21
4 2/4			P=0.75	P=0.5	P=0.75	P=0.21
5 2/4				P=0.5	P=0.75	P=0.21
6 3/4					P=0.5	P=0.5
7 2/4						P=0.21
8 4/4						

* =Diferencias estadisticamente significativas.

$\infty \Rightarrow >0.05 < 0.10$

COMPARACION DE FRECUENCIAS DE PRESENTACION ENTRE LESIONES

BRANQUIAS (Hiperplasia), por el analisis de probabilidad exacta de Fisher

Semanas Frecuencia	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°
1 2/4	P=0.2	P=0.5	P=0.5	P=0.21	P=0.75	P=0.5	P=0.75
2 4/4		P=0.5	P=0.5	P=0.01*	P=0.21	P=0.07*	P=0.21
3 3/4			P=0.78	P=0.07*	P=0.5	P=0.24	P=0.5
4 3/4				P=0.07*	P=0.5	P=0.24	P=0.5
5 0/4					P=0.21	P=0.5	P=0.21
6 2/4						P=0.5	P=0.75
7 1/4							P=0.5
8 2/4							

* =Diferencias estadísticamente significativas.

$\infty = >0.05 < 0.1$

COMPARACION DE FRECUENCIAS DE PRESENTACION ENTRE LESIONES

OJOS (EDEMA CORNEAL), por el analisis de probabilidad exacta de Fisher

SEMANAS FRECUENCIA	5°	6°	7°	8°
2 1/4	P=0.78	P=0.07*	P=0.07*	P=0.07*
5 1/4		P=0.07*	P=0.07*	P=0.07*
6 4/4			P=1.0*	P=1.0*
7 4/4				P=1.0*
8 4/4				

* =Diferencias estadisticamente significativas.

$\infty = >0.05 < 0.1$