



00361 18
2ij
**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**ANALISIS BACTERIOLOGICO EN CULTIVOS DE CIPRINIDOS Y
SALMONIDOS EN GRANIAS ACUICOLAS DE LOS ESTADOS
DE MEXICO Y MORELOS.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS**

(B I O L O G I A)

P R E S E N T A

MARIA DEL PILAR / NEGRETE REDONDO

Director de Tesis

M. EN C. JORGE ROMERO JARERO

TESIS CON México, D. F.
FALLA DE ORIGEN

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 esta 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.

INDICE

	Pág.
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Objetivos.....	8
Materia y Métodos.....	9
Resultados.....	15
Discusión.....	23
Conclusiones.....	32
Bibliografía.....	36
Cuadros.....	41
Anexo 1.....	53

INDICE

	Pág.
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Objetivos.....	8
Materia y Métodos.....	9
Resultados.....	15
Discusión.....	23
Conclusiones.....	32
Bibliografía.....	36
Cuadros.....	41
Anexo 1.....	53

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó las condiciones sanitarias de manejo de catorce granjas acuícolas de los estados de México y Morelos.

Se analizó la calidad bacteriológica del agua de los estanques del alimento balanceado con que alimentan a los organismos que cultivan y a los mismos peces que manifestaron signos de infección. En todas las granjas se registraron condiciones ambientales, biológicas y de explotación para que se exprese la enfermedad infecciosa. Los patógenos aislados Vibrio fluvialis, Vibrio alginolyticus, Aeromonas hydrophila, Pseudomonas spp, Flavobacterium meningosepticum, Serratia plymuthica y Alcaligenes spp, se encontraron presentes y dominando la microflora bacteriana de las tres tipos de muestra y en todas las granjas se inocularon experimentalmente estas bacterias en peces sanos (Cyprinus carpio), comprobando su capacidad para provocar infección, mediante el cumplimiento experimental de la serie sucesiva de eventos conocidos como Postulados de Koch, además de la formación de anticuerpos para los casos de individuos que sobreviven la infección. Se definieron a los patógenos estudiados como oportunistas, caracterizándose los cuadros clínicos provocados en cada caso, coincidiendo con diferentes ictiopatólogos consultados. Se consideró como aportación original la signología obtenida de V. fluvialis y Alcaligenes spp., así como la propuesta del primero como patógeno de peces, y el segundo como oportunista en situaciones ambientales críticas.

La elaboración a nivel artesanal de una vacuna contra enfermedades bacterianas como fue para A. hydrophila tuvo altas posibilidades de éxito, lográndose más porcentaje de individuos con respuesta inmune alta cuando se vacunó a los peces con suero obtenido de organismos de la misma especie, que cuando se les vacunó con suero de mamífero.

INTRODUCCIÓN

Una de las características de la acuicultura intensiva es el manejo de altas densidades de organismos cultivados en un volumen finito de agua con la idea de producir mayor cantidad de proteína de origen animal para consumo humano. En tales condiciones de alta densidad de población las enfermedades infecciosas son una amenaza constante para el éxito de la producción (Ellis, 1988).

Por lo anterior la sanidad acuícola adquiere una creciente importancia económica que hace necesario combatir estas enfermedades, tanto en la práctica como en la investigación pretende la prevención, el diagnóstico y el control de enfermedades de los organismos (Kinkelin *et al.* 1985).

El estado de enfermedad se detecta en los peces por la aparición de anomalías en el comportamiento (signos) y la integridad corporal (lesiones), lo que supone un descenso del rendimiento, lo que coloca al organismo en desventaja con los demás miembros de su especie y, a menudo, causa la muerte de los sujetos afectados (Austin y Austin, 1987; y Campbell. *et al.* 1979).

Son necesarias tres condiciones para que se exprese la enfermedad: el hospedador debe ser receptivo; el microorganismo debe ser virulento y deben intervenir factores que favorezcan la enfermedad, los cuales reúnen condiciones extrínsecas ambientales o de explotación que serán las que rijan el equilibrio establecido entre el patógeno y su huésped (Kinkelin. *et al.* 1985 y Austin y Austin, 1987).

La enfermedad puede ser causada además por un desorden genético, una herida física, el desbalance nutricional y por factores tales como la contaminación, patógenos o la combinación de estas posibilidades (Kinne, 1980).

La prevención proporcionará las medidas tendientes a evitar el ingreso, aparición y dispersión de condicionantes que propicien la enfermedad en las poblaciones de organismos cultivados en las granjas acuícolas así como la eliminación o disminución de condiciones estresantes (Piper, *et al.* 1992).

Para prevenir el contacto del patógeno con los organismos cultivados, se debe poner en práctica una serie de acciones tales como someter a revisión minuciosa los

ingresos de organismos con el objeto de confirmar que estén libres de ellos; la expedición de un certificado sanitario que establezca su ausencia; la existencia de estanques de cuarentena en donde mantener el lote de peces para su vigilancia, previa a la distribución definitiva al interior de la granja; la limpieza e higiene de todo tipo de utensilios que entren tanto en contacto con los organismos como con la estanquería y piletas, así como la extracción de organismos muertos o enfermos en cualquiera de las fases de desarrollo para su posterior incineración, o bien, quemarlos con cal viva. Todo esto implica una revisión rutinaria, constante y permanente de las instalaciones. Se recomienda que los estanques estén aislados unos de otros, evitándose el desagüe de uno en otro; de la misma forma se recomienda la instalación de filtros. Se debe evitar en lo posible la manipulación de los organismos, ésto puede constituirse en oportunidades potenciales de infección al generar tensión y heridas en sus cuerpos. Se recomienda el uso de anestésicos durante el manejo (Piper, et al. 1992).

Al proporcionar el ambiente adecuado para el organismo cultivado, se logra desfavorecer al patógeno, esto es: al controlar las características físicas y químicas que definen una adecuada calidad de agua como: temperatura, pH, oxígeno disuelto, dióxido de carbono, dureza, alcalinidad, sólidos disueltos, amoníaco y salinidad. Se recomienda llevar a cabo el monitoreo rutinario de estos parámetros.

La nutrición adecuada de los organismos es de gran importancia para su desarrollo y crecimiento saludable, la forma y frecuencia de alimentación debe definirse con exactitud para cada fase: larvas, alevines y juveniles, en proporción a la biomasa.

El almacenaje del alimento balanceado debe ser diseñado de tal manera que se evite su deterioro, también debe llevarse un registro del control de calidad bromatológica y micobiológica, el cual debe proporcionar el proveedor (Contreras, 1988; Piper et al. 1992; Negrete y Romero. 1993).

El registro de datos tales como mortalidad e historial sanitario son de gran utilidad, así como el registro del uso de sustancias químicas con fines profilácticos (Contreras, 1988). Las enfermedades de origen bacteriano son las causantes de altos índices de mortalidad en peces en cautiverio, se estima que el 10% del bagre

cultivado se pierde debido a este tipo de enfermedades infecciosas, que pueden ser prevenidas (Jiménez et al. 1986): infecciones como la septicemia se presentan en el 85% de las piscifactorías del país (Secretaría de Pesca). En un estudio realizado en Amanalco de Becerra Estado de México, durante el ciclo de producción 1988, se registró una mortandad del 35% de la producción, sin considerar la mortalidad natural (20% de la inversión total). (Comunicación personal del ejidatario).

Estos bioagresores, las bacterias, pueden estar actuando como patógenos primarios o como Invasores oportunistas de un huésped ya infectado y en estado subagudo, ocasionado por otro patógeno.

Un gran número de estas bacterias tienen como hábitat los ambientes acuáticos, pero en el caso específico de los estanques rústicos, en donde se reproducen peces o cualquier organismo acuático susceptible de ser cultivado intensivamente se agudiza la ocurrencia de infecciones de origen bacteriano. Sin embargo, la compleja interacción agente infeccioso huésped, en este ambiente, permite que éste último pueda llegar a sobrevivir sano en presencia continua del patógeno.

Cuando el estrés ambiental ocurre, el equilibrio se altera favorece la dominancia del patógeno y si el huésped no se adapta al cambio, la infección se presenta e incrementa las posibilidades de muerte de los individuos (Pillay 1992).

La presencia constante de patógenos en el ambiente obliga a distinguir los patógenos nativos oportunistas, que pueden causar enfermedad sólo cuando circunstancias inhabituales favorecen su crecimiento, de aquellos organismos obligados que causan enfermedades y que no pueden sobrevivir libres en la naturaleza sin un huésped susceptible o transportador presente (Pillay, 1992).

La bacteria se pone en contacto con el huésped por acarreo en el agua, asociado a partículas tales como el sedimento y las heces, por contacto directo o indirecto con otros animales, o bien por la presencia de estos patógenos en el alimento (Munro, 1980).

Los estanques fertilizados con aguas no tratadas u otros desechos puede contener gran diversidad de patógenos de humanos o de otros animales domésticos.

La introducción de especies exóticas trae como consecuencia el incremento significativo en la variedad de microorganismos patógenos al ambiente. Al prevalecer

patógenos en los lotes de peces infectados carentes de síntomas clínicos, como fue el caso de la infección viral de necrosis pancreática y la enfermedad entérica de la boca roja (Munro et al., 1976 y Phillips et al., 1985).

No son las bacterias consideradas patógenas las que se aíslan normalmente de sujetos enfermos, sino las bacterias que normalmente se presentan en los hábitats acuáticos y que se consideran habitualmente comensales del pez. Sin embargo, no se ha podido establecer con precisión la existencia de una microflora bacteriana específica en peces, ni tampoco se han definido las asociaciones bacterianas en piel, branquias e incluso en el tubo digestivo, que reflejen en mayor o menor medida la composición cualitativa y cuantitativa de la flora bacteriana acuática circundante (Horsley, 1977).

Ante esta incertidumbre es de gran trascendencia el conocimiento de las bacteriosis por las pérdidas económicas que ocasionan en cultivos extensivos, y por su impacto sobre poblaciones naturales de peces y por la amenaza sanitaria que representan para la salud pública (Kinkelin, et al., 1985).

La presencia en el ambiente acuático, incluso en el mismo pez, de bacterias ya reconocidas como patógenas como: Aeromonas salmonicida, Vibrio parahemolyticus y Yersinia ruckeri, permiten tomar las medidas preventivas adecuadas, sin embargo, la presencia de enterobacterias, como Alcaligenes spp y Serratia plimuthica, entre otras, que si bien son consideradas dentro de la microflora bacteriana normal de los peces (Horsley, 1977), al manifestarse condiciones adversas al organismo cultivado, bajar las defensas del pez, se pueden comportar como patógenos oportunistas y manifestar polibacteriosis, pudiendo llegar a epizootias (Bullock y Sniezko 1969). Habitualmente las enterobacterias han sido reconocidas como patógenos de humanos, animales y hasta de plantas. Proteus rettgeri y dos especies de Serratia, también han sido implicadas en enfermedades de peces (Roberts y Bromage, 1993 y Nieto et al. 1990). Como estas enterobacterias son ubicadas en el ambiente acuático, no sorprende que algunas puedan ser patógenos oportunistas de peces, reptiles e insectos, representando un particular peligro en embalses de agua, que están en constante exposición con materia fecal al ser fertilizados con abono de aves (Bejerano et al. 1979).

Las bacterias del género Vibrio, como Vibrio parahemolyticus, Vibrio ordalii, y Vibrio vulnificus, entre otros, son patógenos de peces marinos, todos asociados con septicemia bacteriana aguda. V. alginolyticus fue causante de problemas como invasor secundario de Sparus auratus en Israel, (Colomi y Paperna 1981), se ha reportado también en aguas japonesas por Muroga et al. (1979) y Biosca et al. (1991).

Es difícil definir si los microorganismos en el pez enfermo son perpetuadores del estado insalubre, son invasores secundarios de los tejidos dañados, son miembros normales de la microflora bacteriana o son contaminadores. Similarmente, es cuestionable si el invasor podría ser más apropiadamente descrito como patógeno primario u oportunista (Austin y Austin, 1987). Por lo tanto, cabe preguntarse cuáles son los criterios para considerar si un microorganismo es patógeno y de que tipo. Robert Koch propuso una cadena lógica de acontecimientos experimentales como prueba inequívoca de la conexión etiológica entre una bacteria específica y la enfermedad (Fuerst, 1984). Se confirma así la patogenicidad de un microorganismo al verificar se cumplan estos acontecimientos, mejor conocidos como Postulados de Koch (Austin y Austin, 1987).

Los agentes biológicos causantes de infecciones no pueden ser erradicados definitivamente. Aún cuando exista la evidencia de que la enfermedad ha desaparecido siempre cabe la posibilidad de portadores asintomáticos y la enfermedad puede aparecer en cualquier momento, sobre todo si los peces están sujetos a condiciones desfavorables de manejo y la calidad de agua es deficiente (Austin y Austin, 1987).

Las medidas curativas tradicionales como puede ser la quimioterapia; específicamente los antibióticos, pueden proveer, una ayuda significativa o contribuir a controlar las enfermedades bacterianas, pero se han detectado problemas asociados con el desarrollo de cepas resistentes (Drina, et al., 1978 y Aoki et al. 1971).

Es en contra de estos antecedentes que las vacunas bacterianas han sido concebidas a jugar un papel potencialmente importante en la acuicultura, por requerir de productos económicos de fácil uso y confiables tanto para la especie en producción, como para el ambiente ecológico controlado (Jiménez et al. 1986).

Los peces, al igual que en la mayoría de los vertebrados, cuentan con un sistema inmune adaptado al medio en que se desarrollan, que los dota con mayor capacidad para contrarrestar las agresiones de agentes patógenos. Desde el punto de vista funcional, este sistema cumple con su función en forma integral en organismos de vida libre, sin embargo, para los peces que se encuentran confinados en cultivos intensivos y están expuestos a mayores tensiones que en su medio ambiente natural es difícil de encontrar. Es por eso, que para la acuicultura es de primordial importancia el conocimiento primario de las diferentes estructuras del sistema inmune de los peces, para de esta manera lograr contener o erradicar las enfermedades. Como parte del sistema inmune de estos organismos se encuentran moléculas como son las: inmunoglobulinas transferrinas, lisozimas, quitinasas, aglutininas, lisinas naturales y precipitinas, que tienen un rol importante, pues actúan de diferentes formas a mantener al pez en estado de salud. Otro aspecto importante en acuicultura, es elaborar diferentes tipos de vacunas bacterianas para contrarrestar el peligro de patógenos que se manifiestan en los diversos cultivos acuícolas.

Actualmente se ha elaborado vacunas para prevenir una gama muy restringida de infecciones bacterianas en peces como la furunculosis y se está en vías de obtener la vacuna contra la Edwardsiella (Ellis, 1988). A nivel nacional se cuenta con la vacuna contra la furunculosis experimentalmente. Es de suma importancia contar con vacunas que se elaboren a partir de cepas nativas obtenidas de los ambientes en donde se están detectando las infecciones.

OBJETIVOS

1. Establecer las condiciones sanitarias para el manejo de granjas piscícolas en los estados de México y Morelos.
2. Definir el riesgo de infección que representa la presencia de bacterias de interés ictiopatólogico, en los cultivos de peces de importancia comercial.
3. Instrumentar un método artesanal de prevención contra bacterias ictiopatógenas que pongan en riesgo la producción acuícola.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.1.- Efectuar la prospección de los factores que condicionan la producción y manejo de granjas acuícolas, desde el punto de vista de la sanidad acuícola.
- 1.2 - Determinar la calidad bacteriológica de los ingresos de: agua de los estanques, alimento balanceado para nutrir a los organismos cultivados y de los organismos cultivados.
 - 2.1 - Identificar las bacterias patógenas para organismos acuáticos de interés comercial presentes en diferentes granjas piscícolas en los estados de México y Morelos.
 - 2.2 - Determinar los géneros de bacterias que puedan constituirse en un riesgo de salud pública, aislandolas de organismos cultivados para consumo humano.
 - 2.3 - Comprobar si la microflora bacteriana aislada de peces enfermos de granjas piscícolas provocan infecciones en peces sanos.
 - 2.4 - Efectuar la caracterización diagnóstica en peces (Cyprinus carpio y Oncorhynchus mykiss) inoculados experimentalmente con cepas bacterianas aisladas de peces enfermos de las granjas piscícolas de los estados de México y Morelos.
 - 2.5 - Establecer la similitud entre las diferentes caracterizaciones diagnósticas de diferentes etiología.
- 3.1 - Instrumentar un método artesanal para la inducción de la respuesta inmune en peces, (Cyprinus carpio), contra la septicemia hemorrágica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron al azar catorce granjas acuicolas de los estados de México y Morelos (anexo 1 y 2).

Se efectuaron tres muestreos, durante los periodos de invierno y primavera de 1990-1994. En este periodo se efectuaron la prospección y registró de observaciones respecto a las condiciones sanitarias de manejo en la producción de cada una de las granjas. Se tomaron muestras de agua de los estanques de cultivo de organismos, del alimento balanceado que se les proporciona y también de los peces que se estaban cultivando en ese momento. Para recabar la información sobre el manejo sanitario se aplicó una encuesta al responsable de cada granja.

La encuesta contempla 48 variables que definieron las condiciones de manejo y producción piscícola desde la perspectiva de la Sanidad Acuicola, para lo cual se siguieron los criterios de Piper, *et al.* (1992) y Contreras (1988). Se le asignó un puntaje a cada una de las variables agrupadas en los diferentes aspectos de acuerdo a la relevancia que tienen como condicionantes de infecciones.

El mismo día que se efectuaron las observaciones se obtuvieron las muestras. Las muestras de organismos se tomaron directamente del riñón de los peces que se detectaron enfermos al manifestar lesiones y signos de infección (Austin y Austin, 1987 y Munro, *et al.*, 1976). Las muestras de agua se tomaron de la entrada y salida de los estanques y a 50 cm de la superficie, en frascos de vidrio de 270 ml, con tapón de rosca de baquelita con 1 ml de tiosulfato de sodio al 1% estériles (APHA, 1992). Las muestras de alimento balanceado se obtuvieron directamente de los costales, en bolsas estériles de plástico Millipore. Los organismos muestreados se capturaron con red de cuchara, se les anesteció con xilocaína durante tres minutos, se efectuó la disección abriendo por arriba de la línea lateral y a lo largo de todo el pez exponiendo el riñón, para extraer una muestra de este órgano con una asa bacteriológica, se sembró en placas de medio cerebro corazón (BHI) y medio de triptisoya caseína (TSA) en condiciones estériles. Se dejó crecer a temperatura ambiente por 24 horas (Austin y Austin 1987). Las muestras de agua y alimento se

trasladaron refrigeradas a 4°C, al laboratorio de Microbiología de la UAM-X, donde se efectuó su estudio.

Procesamiento de Muestras

Con las muestras de agua se efectuarán diluciones a la décima, con agua estéril con buffer fosfato (APHA, 1992), sembrándose 0.1 ml de las diluciones sobre placas de medio de BHI y TSA, esparciéndose con una varilla de vidrio acodada, incubándose durante 24 horas a temperatura ambiente.

Igualmente las muestras de alimento balanceado fueron diluidas a la décima, disolviendo 10 grs del alimento en 90 ml de agua destilada con buffer fósforo y esterilizada (APHA, 1992). Se sembró 0.1 ml de las diluciones en placas con medio de BHI y TSA, se esparció homogéneamente sobre la superficie de la placa del medio con una varilla de vidrio acodada, se incubó a temperatura ambiente durante 24 horas. Una vez obtenido el crecimiento de las colonias, se seleccionó al azar y por su morfología las colonias aisladas para su purificación, se efectuaron sucesivas resiembras en placas con medio de BHI y TSA, hasta lograr un crecimiento homogéneo de las colonias (APHA, 1992).

Se definió la morfología celular y la pureza de las cepas aisladas, por observaciones con microscopio de contraste de fases. Se efectuó la tinción de Gram y se identificaron usando la Técnica del API-20E (Analytical Profile Index. 1989) y a McFaddin (1990).

Se seleccionaron las especies con mayor presencia en las muestras de todas las granjas estudiadas, para comprobar su capacidad patogénica.

Por un periodo de ocho días se mantuvieron en observación dos lotes de peces (Cyprinus carpio), de diferente procedencia; uno provenía de granjas piscícolas (lotes 1,3,4 y 5) que representan las condiciones de manejo en estos centros de producción y el otro de la planta de producción Acuicola de UAM-I (lotes 2, 6 y 7), que mantiene condiciones sanitarias de manejo óptimas, para aclimatarlos, se seleccionaron aquellos individuos que no manifestaron lesiones y signos de enfermedad. Se prepararon nueve lotes de diez peces cada uno, siete fueron

experimentales a los cuales se les inoculó un patógeno diferente y dos lotes de diferente procedencia cada uno se mantuvieron como control. Con el objeto de verificar si los peces habían tenido contacto previo con algún patógeno, específicamente con los inoculados, se efectuó la titulación de las inmunoglobulinas de los peces para lo que se extrajeron 2 ml de sangre directamente del corazón con jeringas estériles previamente heparinizadas; depositándose en tubos Eppendorf, se centrifugó por un minuto a 2000 revoluciones por segundo, con una microcentrifuga Eppendorf. Con el suero se realizó la titulación de inmunoglobulinas por el método de dilución paralela. Así mismo se efectuó también la titulación de inmunoglobulinas de los peces que sobrevivieron a la inoculación experimental (cuadros 6 y 10). Simultáneamente se procedió a la preparación del inóculo, con las siete cepas aisladas y purificadas anteriormente de los peces enfermos de las granjas piscícolas muestreadas en los estados de México y Morelos; Vibrio Fluviales, Vibrio alginolyticus, Aeromonas spp, hydrophila, Pseudomonas spp, Flavobacterium meningosepticum, Serratia plymuthica y Alcaligenes spp. El inóculo se preparó siguiendo el método de Michel (1980), de la siguiente forma: diluyendolo en tres frascos de vidrio con tapón de rosca de baquelita con 90 ml de infusión cerebro corazón (BHI), a la décima (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}). Se sembró en placas con medio de BHI 0.1ml de cada dilución, distribuido sobre la superficie homogéneamente con una varilla de vidrio acodada, se incubó a 24°C durante 24 horas, se contarón las unidades formadoras de colonias con un contador de colonias tipo Quebec.

Los peces fueron inoculados vía intramuscular por debajo de la aleta dorsal y por encima de la línea lateral. La cantidad de inóculo se estableció en proporción a la talla de cada pez, de acuerdo a Michel (1982). Cada diez peces se inocularon con un patógeno diferente: Vibrio fluvialis (lote 1), Vibrio alginolyticus (lote 2), Aeromonas hydrophila (lote 3), Pseudomonas spp (lote 4), Flavobacterium meningosepticum (lote 5), Serratia plymuthica (lote 6) y Alcaligenes spp (lote 7). A los peces control se les inyectó únicamente agua destilada estéril. Los lotes control estaban conformados por diez peces de la granja piscícolas y diez de la planta Aciculola de la UAM-I.

A partir de este momento se inició el registro de todos los cambios de comportamiento, alteraciones, lesiones corporales y necropsia, siguiendo los criterios

de Reichenbach (1982) y Piper et al. (1992), para la caracterización diagnóstica (cuadro 7). En los casos de muerte de los peces al iniciarse la necropsia, se aisló una muestra directamente del riñón con una asa bacteriológica en placas de BHI, en condiciones completamente estériles. Se procedió a la purificación de la cepa, hasta recuperar el patógeno en cultivo puro, para lo que se observó por contraste de fases la morfología celular, se hizo la tinción de Gram y se identificaron los patógenos recuperados, se usó la técnica API-20E. (Analytical Profile INDEX, 1989).

Los resultados sobre signología y necropsias se comparó con los reportados por diferentes ictiopatólogos (cuadro 9).

La siguiente parte del trabajo se llevó a cabo a través del cumplimiento de tres fases, se requirió de un total de 150 peces sanos (Cyprinus carpio), los peces requeridos en cada una de las fases fueron observados y aclimatados previamente durante un periodo de ocho días, se sustituyeron los individuos que manifestaron anomalías en su comportamiento y en su integridad corporal.

Fase I.- Inducción de la Patogenicidad.

De la placa del BHI donde se sembró para su crecimiento la cepa pura de Aeromonas hydrophila, se extrajo tres porciones del cultivo, con una asa bacteriológica de 5 mm de nicromo, misma que se disolvió en una solución de 50 ml de BHI, contenidos en un frasco vial de vidrio con tapón de caucho, sellado con arillo metálico, se dejó incubar a baño María por 24 horas a 20°C. Este inóculo se administró vía intramuscular, por debajo de la aleta dorsal y por encima de la línea lateral en la cantidad de 1 ml, a 30 peces sanos.

Una vez infectados se les colocó en una tina equipada para tal fin, se adaptó igualmente otra tina para un segundo grupo de 30 peces a los que se les administró, de igual forma, 1 ml de agua destilada estéril, conformando el lote control.

Después de la muerte de los peces, se efectuó la disección aislándose en condiciones estériles una muestra de sangre del riñón, con una asa bacteriológica estéril. Ya sembradas en placas de BHI y TSA para su purificación, se observó la morfología celular auxiliado con un microscopio de contraste de fases y se efectuó la

tinción de Gram. Se consideró para la identificación únicamente los bacilos negativos usando para su identificación la técnica de API-20E (Analytical Profile Index, 1989).

Fase II.- Obtención de la respuesta inmune.

a) Mamífero (Conejo) - Pez

Del cultivo puro de Aeromonas hydrophila, recuperado de los peces infectados en la fase anterior se preparó de nuevo el inóculo. Siguiendo los mismos pasos. En esta ocasión después e incubarse por 24 horas a baño María con agitación a temperatura de 20°C, se atenuó la cepa agregando 2 ml de fenol al 10% dejándolo crecer de nuevo a baño María con agitación por 24 horas más y a 20°C. Se inocularon tres conejos adultos previamente observados durante 8 días para aclimatar y determinar su estado de salud en cuanto a comportamiento e integridad corporal. Se inoculó a cada conejo 1 ml de la cepa atenuada cada 8 horas durante 24 horas. Se esperó un periodo de tres semanas para la formación de las inmunoglobulinas, después se sangró a los tres conejos por la oreja con una jeringa estéril heparinizada, extrayendo a cada uno 10 ml de sangre que fue centrifugada durante un minuto en tubos Eppendorf de 1.5 ml de dm a 2,000 revoluciones por minuto con una centrifuga Eppendorf (Fujitara y Nakatari, 1970). Mediante una micropipeta se separó el suero de las células sanguíneas y se administró a 30 peces sanos (Cyprinus carpio) 0.1 ml del suero con una jeringa estéril via intramuscular, por debajo de la aleta dorsal por encima de la línea lateral. Estos 30 peces conforman el lote experimental vacunado con suero proveniente de mamíferos.

b) Pez - Pez

Se procedió, a partir del inóculo preparado con las cepas de Aeromonas hydrophila atenuado con 2 ml de fenol al 10% en caldo de BHI, a Inocular en esta ocasión a 30 peces (Cyprinus carpio) sanos con 0.1 ml del inóculo con jeringas estériles, via intramuscular, por debajo de la aleta dorsal y por encima de la línea lateral. Se esperó por un periodo de tres semanas para la formación de las inmunoglobulinas, después del cual se sangró directamente del corazón de los

peces. Se centrifugó la sangre de estos en tubos Eppendorf de 1.5 mm de diámetro por un minuto a 2,000 revoluciones con una centrifuga Eppendorf. Después de separar el suero de los peces con una micropipeta, se inoculó, en proporción a la talla de los peces (Michel 1982), 1 ml del suero a 30 peces sanos que conformaron un segundo lote experimental de peces vacunados con suero proveniente de peces del mismo género y especie.

Fase III.

Se preparó nuevamente inóculo con las cepas recuperadas en la Fase I, de Aeromonas hydrophila, siguiendo los mismos pasos que en esa fase, se procedió de igual manera a inocular con una jeringa estéril, via intramuscular 2 ml del patógeno activo a todos los peces de los lotes experimentales vacunados de suero de mamífero, de suero de peces y a todos los peces del lote control (no vacunados).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos del estudio prospectivo de las condiciones sanitarias de manejo en las catorce granjas consideradas, se registraron en el cuadro 1.

Tomando en cuenta que los aspectos fundamentales que se deben presentar en las instalaciones acuícolas para obtener un máximo rendimiento en la producción fueron calidad del agua, condiciones de bodega, estanquería, limpieza e higiene en general y presencia de organismos cultivados enfermos, debiendo sumar 69 puntos como mínimo de 100; aquellas granjas que no cumplieron con este subtotal, no se consideraron desde el punto de vista sanitario.

Únicamente las granjas 1 y 6 calificaron cerca a este puntaje mínimo, por lo que observan las medidas preventivas sanitarias mínimas. El resto de las granjas tienen graves carencias en acciones preventivas (cuadros 1 y 5).

En términos generales, carecen de infraestructura tales como laboratorios y oficinas, en su mayoría las instalaciones permanecen cercadas evitando la entrada de fauna nociva. En nueve granjas se inician las acciones preventivas, aunque en cinco de ellas no se cumplen metódicamente. Los servicios generales cumplen los requisitos en ocho granjas. En cuanto a estanquería, suministro de agua y adecuación de los mismos para la especie que cultivan, sí se cumple con las características requeridas. Las medidas de limpieza e higiene en general no se siguen en lo mínimo, tres de las granjas en este aspecto calificaron con cero; en diez centros no se registra hasta el momento ninguna epizootia, sin embargo, en dos ya se reportó epizootias provocadas por Vibrio y Aeromonas, originadas probablemente por el suministro del agua, y/o posiblemente por el ingreso de huevos importados, todo esto en condiciones de mal manejo.

En ninguna de las granja se cuenta con estanquería destinada para cuarentena. Las granjas no cuentan con personal calificado para el manejo sanitario. La calidad fisicoquímica del agua únicamente es el adecuado en ocho de las granjas, las cuales no llevan a cabo los análisis correspondientes, las seis restantes además de no contar con las condiciones adecuadas, tampoco miden estos parámetros, no

efectúan análisis microbiológicos, ni se lleva a cabo alguna disposición para controlar los ingresos de agua, alimento y organismos.

En las granjas 3,4,5,7,8,10,11,12 y 14 en el momento de tomar las muestras se registraron peces con signos de infecciones, se calificó estos aspectos como negativos. Los resultados del análisis bacteriológico efectuados a las muestras de agua de los estanques, alimento y organismos, se registraron en los cuadros 2, 3, 4 y 5.

Se identificó 23 géneros diferentes de bacterias pertenecientes a cuatro familias de bacterias Gram negativas: Aeromonadaceae, Vibrionaceae, Pseudomonadaceae, y Enterobacteriaceae, además de una especie de un "incerte sedis"; Flavobacterium meningosepticum. (cuadro 2).

En las catorce granjas estudiadas se mantiene constante una microflora bacteriana, con representantes de las cuatro familias en todas y cada una de las granjas, variando el número de patógenos diferentes que se encuentran, las granjas 1 y 4 registraron el 78% y 74% de la variedad bacteriana, las granjas 9 y 10 el 65%, la 2, 3 y 5 un 57%, las granjas 11, 12 y 14 el 40%, en las granjas 7, 8, y 13 registraron entre el 30% y 26% (cuadro 2).

La variedad de la microflora bacteriana detectada en los tres ambientes fue constante, sin embargo, el agua de los estanques es el ambiente que presentó mayor número de microorganismos diferentes por granja, siendo las granjas 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10 y 11 las que manifestaron mayor variedad bacteriana, siguiendo el ambiente de organismos cultivados en manifestar mayor cantidad de microorganismos, las granjas 1, 3, 4, 6 y 9 presentaron mayor variedad de géneros. El alimento balanceado registró menos géneros bacterianos, pero de importancia ictiopatólogica, en las granjas 1, 4, 6, 9 y 11. las cuales tienen diferentes proveedores del alimento balanceado.

La muestra de organismos cultivados en la granja 5 no registra ningún dato (cuadro 2), no se pudo efectuar el análisis bacteriológico ya que no se disponía del alimento, en el momento en que se efectuó el muestreo. Asimismo, en las granjas 6 y 8 se registro poca variedad de patógenos, pero de alto riesgo ictiopatógenico.

Las especies identificadas con mayor frecuencia fueron del género Aeromonas, se identificaron siete táxones diferentes: Aeromonas calco var. anitrant y var lowffi presente en 12 granjas y en los tres ambientes; Aeromonas hydrophila está presente en todas las granjas y en los tres ambientes; Aeromonas formicans, Aeromonas proteolytica, Aeromonas punctata, Aeromonas shigelloides, registradas con menos frecuencia que las anteriores, en los tres ambientes.

Vibrio está representado en los tres ambientes por las especies; Vibrio fluvialis registrada en doce granjas, Vibrio parahemolyticus, presente en 10 granjas aunque en menor cantidad en los tres ambientes, Vibrio alginolyticus y V. vulnificus se encontraron con frecuencia mucho menor, Vibrio cholerae El tor, se registró en siete granjas y en los tres ambientes.

Pseudomonas manifestó una frecuencia importante en las granjas y en los tres ambientes, sobre todo Pseudomonas spp. Otras Pseudomonas identificadas fueron: Pseudomonas mallei y Pseudomonas malthophilia (cuadro 2).

Las enterobacterias presentes en todas las granjas y en todos los ambientes, representadas por siete géneros patógenos de animales y humanos, son: Enterobacter cloacae, Enterobacter agglomerans, Ewingella americana, Klebsiella spp., Serratia plymuthica, Yersinia ruckeri y Alcaligenes spp. (cuadro 3)

Los microorganismos más frecuentes en estas granjas fueron Aeromonas hydrophila, Aeromonas calco, var. anitrant, Vibrio fluvialis, Vibrio alginolyticus, Pseudomonas spp., Pseudomonas malthophilia, Enterobacter agglomerans, Serratia plymuthica y Alcaligenes spp.

En el ambiente acuático dominan las mismas especies, al igual que en el ambiente orgánico. En el alimento aunque dominan los mismos géneros, disminuye notoriamente su frecuencia, se aprecia sobre todo la presencia constante de; Aeromonas hydrophila, Vibrios fluvialis, enterobacterias y Pseudomonas (cuadro 3).

De este grupo, las bacterias identificadas invariablemente en las granjas de los estados de México y Morelos, como patógenos ya reconocidos de peces son; Aeromonas formicans, Aeromonas hydrophila, Aeromonas proteolitica, Aeromonas punctata, Aeromonas shigelloides, Yersinia ruckeri y Vibrio alginolyticus, Pseudomonas spp. Se desconoce la interacción de microorganismos como:

Alcaligenes, Serratia plymuthica, Vibrio fluvialis, Vibrio parahaemolyticus y Vibrio vulnificus con el huésped (cuadro 3).

Se registraron once microorganismos patógenos de peces de los cuales Aeromonas hydrophila, Serratia plymuthica, Pseudomonas spp y Vibrio fluvialis, se aislaron con mayor frecuencia en las granjas, los restantes géneros entre ellos las enterobacterias y Pseudomonas: Alcaligenes spp Enterobacter agglomerans, Pseudomonas maltophilia, se registraron con alta incidencia (cuadro 3).

Las granjas con más presencia de patógenos de alto riesgo para los organismos cultivados en ellas son la 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11 y 13, calificaron además con bajo puntaje en el manejo sanitario (cuadro 4).

El suero sanguíneo de los peces con los que se llevó a cabo la titulación de inmunoglobulinas, previa experimentación, presentaron aglutinación en los lotes inoculados con Vibrio fluvialis, Aeromonas hydrophila, Pseudomonas spp y Flavobacterium meningosepticum, los demás lotes no presentaron aglutinación a ningún nivel (cuadro 6).

Los signos y necropsias observados en cada uno de los lotes experimentales se reportan en el cuadro 7. En el grupo de peces inoculados con Vibrio fluvialis (lote 1) se inició la signología con derrames sanguinolientos en el cuerpo y alteraciones en la piel como exceso de moco, enturbiamiento de la córnea de ambos ojos, las aletas se erosionan progresivamente, el comportamiento de los peces fue de aletargamiento, y nado lento. Toda esta signología fue agudizándose rápidamente hasta la muerte de todos los organismos, tres de ellos a las 24 horas y dos a las 36 horas de ser inoculados. El signo más aparente en la necropsia en todos los organismos (cuadro No. 7) fue corazón, riñón e hígado desecho con puntos blancos.

Vibrio alginolyticus inició la signología con fuerte inflamación en la zona del inóculo, con necrosis a medida que avanzaba la infección, desprendimiento de escamas y de la piel del dorso del pez. Manifestó exoftalmia, marcada deformación del cráneo, y aletas erosionándose progresivamente. El comportamiento inquieto del pez se tomó lento e inmóvil, terminó con nado desequilibrado y finalmente convulsivo. La necropsia se realizó, después de un periodo largo de infección, en los diez peces. Fue marcado el daño en los tejidos de todos los órganos incluyendo el

tejido muscular, además de hemorragia generalizada, con presencia de líquido ascítico. el cráneo deformado contenía gran cantidad de moco.

El cuadro clínico iniciado con la infección provocada por Aeromonas hydrophila (lote 3) originó la muerte al quinto día a todos los peces. La signología se generalizó en todos los organismos mostrando piel enrojecida con zonas oscuras y manchas pequeñas blancas, cuerpo cubierto de moco, escamas caedizas, las aletas erosionadas terminaron sumamente dañadas, el opérculo se mantuvo abierto y enrojecido, córnea opaca con acentuada exoftalmia, vientre abultado y anorexia. El comportamiento se manifestó inquieto con nado espasmódico, vertical con boqueo en la superficie del acuario. Posterior a la necropsia se observó el tubo digestivo lisado, ano rojizo, riñón y gónadas lisadas, hígado inflamado necrosado con derrame biliar, el corazón presentó manchas granulosas blancas, y ascitis aguda (cuadro 7).

Pseudomonas spp (lote 4) provocó en todos los casos pérdida del color de la piel, la zona de infiltración necrosada, excesiva producción de moco y descamación, con aletas erosionadas y con furúnculos, el cuerpo de estos organismos mostraron abultamiento a los costados con el eje longitudinal deformado, presentaron puntos blancos con apariencia algodonosa, exoftalmia y anorexia. Los organismos manifestaron inquietud con boqueo en la superficie del acuario, nado incoordinado, y convulsivo, durante el experimento presentaron diarrea. Tres de los cinco peces murieron a los seis días de provocada la enfermedad. Los resultados de la necropsia reportó; riñón necrosado con muy mal olor, puntos blanquecinos en el hígado, corazón e hígado desecho. Los peces que sobrevivieron después de presentar un cuadro agudo hasta el quinto día, presentaron mejoría con ligeras recaídas durante diez días más, a partir de los cuales los peces superaron la enfermedad, continúan vivos y aparentemente sanos (cuadro 7)

Los peces infectados con Flavobacterium meningosepticum murieron todos después de manifestar un curso largo de enfermedad se observó la siguiente signología: zona del inóculo y punta de las aletas oscuras, descamación, abundante producción de moco, cuerpo inflamado con manchas algodonosas, nado irregular con boqueo en la superficie del acuario, las aletas se erosionaron, inmovilidad progresiva hasta su parálisis, estos peces se golpearon con las paredes del acuario,

mostraron inquietud, convulsiones, anorexia, exoftalmia y córnea opaca. La necropsia indicó; el labio inferior de la boca ennegrecido, tubo digestivo dañado, riñón ulcerado, hígado dañado con ruptura de vesícula biliar, corazón llisado al igual que el bazo y las gónadas, muy marcado el color verde de las heces, se presentó hemorragia interna generalizada.

De los diez individuos inoculados con Serratia plymuthica sobrevivieron únicamente tres, todos los peces mostraron la siguiente signología: el cuerpo se oscureció notoriamente, escamas caedizas, aletas con erosión y repliege, ligeras manchas oscuras en los opérculos, exoftalmia, pérdida del apetito, comportamiento inicialmente nervioso y nado irregular, se tornó lento e inmóvil. La lesión más evidente fue la caída de escamas, la destrucción del paquete muscular, hasta perforar músculo en el dorso del pez. La necropsia manifestó hemorragia generalizada en todos los órganos, con un daño importante al tejido muscular. Los tres peces sobreviven a dos meses del inóculo, han logrado cicatrizar la herida, que quedó con apariencia de quemada.

El lote inoculado con Alcaligenes spp manifestó en todos los peces signología general: descamación, aletas con ligera erosión, anorexia temporal e inmovilidad pasajera. Estos signos se manifestaron los cinco primeros días de ser infectados; posteriormente tanto su comportamiento como apariencia fue normal.

El lote control registró organismos sanos en un principio, uno de los peces (pez 3) al décimo día manifestó un cuadro clínico agudo, con necropsia parecida con el lote experimental 2. Tres organismos manifestaron signos generales de enfermedad; oscurecimiento de la piel, puntos algodonosos, moco sobre el cuerpo. La infección fue superada y los peces sobrevivieron sanos (cuadro 8).

La comparación diagnóstica, experimental y bibliográfica reportada por otros investigadores da un índice 1, con excepción de la signología obtenida por el módulo de Alcaligenes spp (cuadro 9).

La titulación de inmunoglobulinas efectuada a todos los peces que sobrevivieron se registró en el cuadro 10. Los peces inoculados con Pseudomonas spp, registraron aumento de nivel de título de inmunoglobulinas, Flavobacterium meningosepticum en los seis peces sobrevivientes aumentaron también el nivel de IgG, los peces

sobrevivientes al inóculo de Alcaligenes spp registraron un título de 1 : 1280, al igual que Serratia plymuthica.

Después de la necropsia como resultado del análisis bacteriológico efectuado a todos los peces muertos, se recuperó en todos los casos el patógeno inoculado (cuadro 11).

En las muestras de los lotes inoculados con Vibrio fluvialis, Aeromonas hydrophila, Pseudomonas spp y Flavobacterium meningosepticum se aisló e identificó además otras enterobacterias y Pseudomonas (cuadro 9). En los organismos que no fallecieron durante el proceso infeccioso, no se efectuó, por lo mismo, la recuperación de patógeno.

Uno de los patógenos con mayor presencia y que mayor daño ocasionó a los cultivos acuáticos fue Aeromonas hydrophila, por lo cual se seleccionó para instrumentar el método artesanal.

En la Fase I, se presentaron los signos y lesiones en todos los peces inoculados con la cepa Aeromonas hydrophila, aislada de las granjas muestreadas.

Murieron el 100% de los peces a las 43 horas de ser infectados. Se recuperó en todas las muestras el patógeno inoculado, se identificó también otras bacterias de las familias de Enterobacteriaceae y Pseudomonadaceae.

En el lote experimental de peces vacunados con suero obtenido de los conejos, Fase II A, sobrevivieron el 50% de los peces sin manifestar signos de infección 10 peces, del restante 50% fueron muriendo a partir de las 46 horas de inoculado el patógeno activo, mostraron comportamiento y lesiones propias de bacteriosis: nado desordenado, formación excesiva de moco, aletas erosionadas y caedizas, hemorragia en la base de las aletas e inquietud extrema.

En la Fase II B, del lote de peces vacunados con suero obtenido directamente de peces, se logró una sobrevivencia del 77% de los organismos, el restante 23% de los peces murió dentro de un periodo de cinco días después de ser inoculados, manifestaron los mismos signos y lesiones que presentaron los organismos en la fase anterior.

Por último todos los organismos del lote control, no vacunados, Fase III, murieron antes de las 46 horas, mostrando los signos generales de bacteriosis ya mencionados.

DISCUSIÓN

Con fundamento en Kinkelin *et al.* (1985), Austin y Austin (1987) y Kinne (1980) en todas las granjas se encuentran los condicionantes ambientales, biológicos y de explotación, para que se exprese la infección ya que todos los patógenos registrados se aislaron directamente del riñón de los peces (Munro *et al.*, 1976). Se expresa con esta disposición el modelo clásico de desequilibrio entre patógeno-hospedero-ambiente propuesto por Piper *et al.* (1992), que altera el equilibrio salud-enfermedad, con elevadas probabilidades de una epizootia.

El tipo de acuicultura desarrollada en las granjas estudiadas es en su mayoría de estanquería rústica, que se bien tienen características de tamaño adecuado para la especie que cultivan, las acciones preventivas sanitarias no son observadas en su totalidad, carecen de medidas de higiene y limpieza en general (Piper, *et al.*, 1992 y Contreras, 1988).

Se observaron peces con signos generales de bacteriosis cultivados en agua de baja calidad, con presencia de bacterias de riesgo ictiopatólogico, representando un alto riesgo de epizootias.

La microflora bacteriana varió en cada granja dependiendo de las condiciones generales del manejo sanitario y de la calidad de agua que surten los estanques, así las granjas 1, 2, 3, 4, 9 y 10 se hace uso de sistema de estanquería cerrado sin flujo ni recambios adecuados de agua y en las restantes instalaciones, el flujo de agua es constante y en un sistema de estanquería abierto.

Igualmente las muestras de los ingresos de alimento balanceado, presentaron contaminación con bacterias de riesgo ictiopatógeno, enterobacterias y pseudomonas. Al ser estas bacterias, aisladas en todas las muestras, de origen fecal humano y animal supone la ineficiencia de los filtros de los estanques, y un estrecho contacto con estos contaminantes.

En cuanto a la calidad bacteriológica del alimento de todas las granjas es deficiente a excepción de la granja 5, que alimenta a los organismos cultivados con alimento vivo (artemia), la cual minimiza su carga bacteriana al ser trasladada en un

ambiente salobre (en donde se cultiva) a un ambiente dulce en donde es consumida por los peces (Gómez Gil, 1994).

El grupo de bacterias que se aisló caracterizó e identificó en el presente estudio de interés ictropatológico se agrupan dentro de las familias Aeromonadaceae, Vibrionaceae, Enterobacteriaceae y Pseudomonadaceae.

Aeromonas el grupo con mayor representantes de patógenos de peces, pueden ser también invasores secundarios de infecciones virales. Se reportan como patógenos de otros animales como mamíferos acuáticos, reptiles ranas y serpientes, causando la enfermedad de las piernas rojas y septicemia hemorrágica, y del mismo humano a quien le ocasiona gastroenteritis. Las especies de mayor importancia son Aeromonas proteolytica, Aeromonas shigelloides y Aeromonas punctata que se encontrarán como sinonimia de Aeromonas hydrophila. (Popoff y Veron, 1976).

Las Aeromonas calco var. anitrani y var. hoffi no se encuentran hasta el momento reportadas como patógenos de peces, se desconoce la relación que pueda establecer con su huésped, dadas las condiciones ambientales de las granjas estudiadas. Igualmente son registradas en el acervo de cepas del Analytical Profile Index (1989), y, sin embargo, no son citadas, en la literatura especializada, hasta el momento por ningún autor.

La segunda familia en importancia desde el punto de vista ictiopatológico Vibrionaceae, se representa por una amplia gama de especies tales como Vibrio parahemolyticus, habita aguas estuarinas y hábitats costeros, se conoce como agente causal de gastroenteritis en humanos asociada con alimentos de origen marino. Otros vibrios encontrados en ambientes marinos han sido reportados ocasionalmente asociados con humanos como Vibrio alginolyticus (Sakazaki, et al. 1968), Vibrio metschnikovii (Gametera, 1988) y Vibrio cholerae El tor.

Es necesario considerar que la familia Vibrionaceae es objeto de trabajos que llevarán a la modificación de los taxones ya reconocidas, ampliándose la lista de estos patógenos para peces como es el caso de Vibrio fluvialis (Lee et al., 1981), vibrio marino patógeno para el hombre (Kinkelin et al. 1985). La relación que establece V. fluvialis con su huésped en este caso los peces, no se encuentra

registrada hasta el momento en la literatura científica, siendo un aporte original en este trabajo.

La presencia de Vibrio parahemolyticus, Vibrio fluvialis, Vibrio cholerae El tor y Vibrio vulnificus, en las muestras de alimento de las catorce que se analizó en el presente estudio, se puede deber a el uso de organismos marinos, (contaminados con los patógenos) como insumo (harina de pescado) en la elaboración de las dietas balanceadas para consumo de los organismos acuáticos cultivados en las granjas piscícolas y, o bien se puede deber al mal procesado de este alimento, que al permanecer los microorganismos aún después del tiempo y la temperatura de cocción al que se somete durante su elaboración no se encuentra libre de ellos.

Son pocos los estudios realizados sobre la dieta balanceada de los peces y de estos como vectores de enfermedades, Trust (1971) reportó la presencia de una basta variedad de bacterias viables, incluyendo miembros del género Salmonella en al dieta balanceada de peces, y sugiere dar mayor atención a esta flora microbiana.

Las industrias pesqueras son severamente afectadas por algunas enfermedades que ocasionan las Enterobacterias. Los salmónidos y las truchas presentan serios problemas con el microorganismo reportado anteriormente como R.M. bacterium (Ross et al. 1966), actualmente denominado Yersinia ruckeri (Ewing et al., 1978) y que provoca la enfermedad denominada de la boca roja (red-mouth).

Las fuentes de contaminación por Enterobacterias pueden ser muy diversas, algunas Enterobacterias reportadas en el presente trabajo tales como: Enterobacter cloacae se ha encontrado en heces humanas y de animales, en aguas residuales (Breed y Murray, 1976) y ha sido reportada tambien en perros, vacas, puercos, caballos y pollos enfermos (Sakazaki y Manioka, 1960); Enterobacter agglomerans se considera patógenos oportunista causa escozor, heridas e infecciones en el tracto urinario, ocasionalmente septicemia hemorrágica y meningitis (Ewing y File, 1972) y Ewingella americana grupo creado por Grimont (1983), se ha aislado de medios clínicos humanos, es un patógeno oportunista ocasional (Holt et al., 1994).

La mayoría de las especies del género Klebsiella ocurren en el tubo respiratorio y normalmente en el intestino de humanos y animales. Se reconoce como causante de enfermedades clínicas (Prokaryotes, 1981)

Al fertilizarse los estanques con aguas residuales no tratadas y con otros desechos, estos pueden contener patógenos humanos cuyo hábitat es también acuático tales como Serratia plymuthica (Lehmann y Neumann, 1986) y Flavobacterium meningosepticum aislados de ambientes dulce-acuicolas y marinos (Prokaryotes, 1981). El género Alcaligenes spp. se encuentra en ambientes acuáticos y heces de humanos sanos (Dubos y Hirsh, 1965) y ha sido catalogada como sapróbica de animales humanos.

La presencia de este grupo de Enterobacterias (cuadros 1 y 2) nos indica una contaminación por fecalismo de animales de sangre caliente incluyendo al hombre.

Pseudomonas tienen géneros patógenos para el hombre, animales domésticos y plantas cultivadas, las especies de esta familia reportadas en el presente estudio (cuadros 1 y 2) son Pseudomonas mallei provoca la enfermedad de Glanders o Farey en caballos, descrita por Löfer en 1982, puede ser transmitida a otros animales domésticos y al hombre, aunque es muy rara; Pseudomonas malthophilia es otra especie que se aisló y, que ha sido relacionada con enfermedades nosocomiales, (Kekessy, 1972), aunque no reportada como patógeno de peces.

Los organismos cultivados en la granja 10, presentan muy baja presencia bacteriana (cuadros 3 y 4) debido a que al permanecer en los estanques solo el tiempo necesario para su crecimiento y posterior comercialización, no se llegan a contaminar, como es el caso de los organismos que permanecen por más tiempo en la estanquería de cultivo.

Los organismos con interés ictopatológico que se aislaron con mayor frecuencia en los tres ambientes, en todas las granjas son: Aeromonas hydrophila, Aeromonas calco var. anitrant, Aeromonas calco var. lowffi, Vibrio fluvialis, Serratia plymuthica y Pseudomonas spp., con menor frecuencia pero de gran importancia: Vibrio alginolyticus, que se considera al igual que Flavobacterium meningosepticum y Alcaligenes spp., como representantes de contaminación fecal.

Debido a lo anterior, estos organismos se seleccionaron para inducir experimentalmente la relación que puedan establecer con los organismos en cultivo de las granjas acuícolas. En el experimento se presentaron dos condiciones diferentes: para los lotes inoculados con Aeromonas hydrophila, Vibrio fluvialis,

Pseudomonas spp y Flavobacterium meningosepticum, los organismos experimentales procedían de una de las granjas acuícolas estudiada, por lo que la titulación de las IgG efectuada previa inoculación, demostró contacto previo con los microorganismos ha inocular; los peces inoculados con Vibrio alginolyticus, Alcaligenes spp, Serratia plymuthica, procedían de la planta acuícola de UAM-I, al titular las IgG de estos peces no aglutinaron contra ninguna bacteria de las mencionadas, lo que indica ausencia de contacto previo con alguno de los patógenos a estudiar (cuadro 6).

Se presentó en todos los lotes experimentales un cuadro clínico básico semejante de bacteriosis en peces (Kinkelin *et al.*, 1985 y Piper *et al.*, 1992); nado desordenado (complicaciones en vejiga natatoria), dificultades respiratorias (boqueo), enteritis (emisión de material mucoso en forma de filamentos largos en la base del abdomen) adelgazamiento, hidropesía, exoftalmia bilateral, hemorragia en la base de las aletas, y zona perianal, Petequias sobre los flancos, aletas erosionadas, úlceras hemorrágicas, caída de escamas, palidez branquial, hemorragia interna, y derrame de líquido ascítico. Sin embargo, las necropsias lograron manifestar dentro de ciertas generalidades signos específicos: en el lote 1 inoculado con Vibrio fluvialis, presentaron granulaciones blancas en los órganos internos sobre todo en hígado y riñón. Tanto Vibrio fluvialis como Vibrio alginolyticus, se observaron como los más agresivos manifestaron la caracterización diagnóstica más compleja y aguda, se coincidió en ambos casos con Collins, (1970), Espinosa de los Monteros (1987) y Hjeltnes *et al.* (1993), también con las necropsias descritas por Roberts 1986 y Amlacher (1984), para una vibriosis provocada experimentalmente, específicamente por Vibrio anguillarum. Hay que reflexionar en que Vibrio fluvialis fenotípicamente parece ser intermedia entre Aeromonas y ciertas especies de Vibrio tales como Vibrio anguillarum (Lee, *et al.* 1981), de aquí probablemente la semejanza de los cuadros clínicos que provocan. Con la excepción de que la enfermedad provocada por Vibrio fluvialis se manifestó sumamente rápida, con muerte de los organismos dentro de las 24 horas después de inoculados y Vibrio alginolyticus causó la deformación del cráneo de los peces con gran cantidad de moco dentro del mismo

en todos los casos. Debido a su rápida y aguda agresividad se les consideró patógenos secundarios.

Los peces infectados experimentalmente con Aeromonas hydrophila, presentaron furúnculos en la piel, hemorragia interna, además de micosis generalizada en toda la superficie del cuerpo de los peces. La caracterización diagnóstica provocada por esta bacteria tiene una alta similitud con la reportada por Roberts, (1986) y Amlacher (1984), como Furunculosis. Estos cuadros clínicos corresponden a una dermonecrosis destacando las ulceraciones por lo que en acuerdo con Roberts y Bromage (1993) se le consideró patógeno secundario.

La caracterización signológica registrada por los peces inoculados con Pseudomonas spp coinciden con Meyer y Collar (1963) y Reinchenbach (1988) con el cuadro de signos y necropsia provocada por Pseudomonas putida, sin embargo, coincidió también en el síndrome mio-entero-hepático fase intestinal, provocada por Aeromonas liquefaciens, (Schäperclaus 1930), comparación que se reafirma con la asociación de este patógeno con Pseudomonas fluorescens y Pseudomonas putida (Amlacher 1984).

Los peces infectados con Pseudomonas spp. al efectuar la disección emanaron un marcado mal olor, además de derrame biliar.

Si bien es cierto que Flavobacterium meningosepticum es una enterobacteria patógena de humanos, no se reporta ni como oportunista patógena de peces, la caracterización de esta infección coincide con la generada por un Flavobacterium (Roberts, 1981) en su signología general. Sin embargo, además presentó el cuadro básico de signos, y necropsias de cualquier bacteriosis, con marcada similitud con la tuberculosis provocada por Myxobacterium piscium reportada por Amlacher (1984). En el caso de Flavobacterium meningosepticum debe de realizarse un diagnóstico diferencial para evitar confusión en patógenos que presentan el mismo perfil bioquímico, la mayoría de las cepas de F. meningosepticum son pigmentadas, por lo que es de fácil confusión con otros bacilos negativos como Pseudomonas que tienen también el mismo mecanismo oxidativo (Friorito, 1970). En este caso se hace muy evidente el comportamiento inquieto de los peces, coincidiendo con Roberts (1981), quien reporta granulomatosis con lesiones distribuidas en el sistema nervioso.

En el lote inoculado con Alcaligenes spp la signología anteriormente, se manifestó de forma temporal y subaguda, superada por todos los individuos expuestos a la bacteria experimentalmente, mismos que generaron en todos los casos anticuerpos, por tanto, al manifestarse signos de enfermedad y formar inmunoglobulinas se cumplen los requisitos de los postulados de Koch. Comportándose como patógeno oportunista, en situaciones críticas como puede ser el presente experimento (Kinkelin et al., 1985) y con la dosis empleada (McCarthy, 1977) de células inoculadas, 10^7 unidades formadoras de colonias. La comparación diagnóstica, con la propuesta por otros autores no se pudo efectuar, la bibliografía revisada la menciona únicamente en relación con otras enterobacterias, como causa de polibacteriosis, en estado de shock o estrés de los peces (Kinkelin et al., 1985).

La enterobacteria Serratia plymuthica provocó, además de la signología general mencionada, signos y lesiones más agudos, que los registrados por otros autores. (Nieto et al., 1990 y Stevenson et al., 1993) quienes reportan no manifestar lesiones externas. Contrarió a lo que registra la necropsia, coincide con una septicemia hemorrágica aguda generalizada a todos los órganos internos. El daño grave registrado en el paquete muscular, implica dos aspectos importantes; el encontrar patógenos en músculo de un organismo destinado al consumo humano, implica riesgo de salud pública, y, por otro lado, el daño provocado sobre el cuerpo de los peces es de gran importancia para la industria piscícola por el aspecto que produce y deteriorar la calidad del producto a comercializar.

Por lo tanto esta bacteria aislada de peces enfermos, produjo un cuadro clínico infeccioso y los peces sobrevivientes generaron anticuerpos. Se le considera igualmente patógeno secundario, oportunista.

La comparación obtenida experimentalmente con la reportada por otros investigadores, coincide en todos los casos con los criterios seguidos, a excepción de Alcaligenes, que no reporta caracterización signológica específica. Se consideró índice comparativo de 1, al coincidir en todos los signos y necropsia reportadas por los diferentes autores consultados (cuadro 9).

La serie de signos manifestados en cuatro de los diez peces que se mantuvieron como control, se piensa sean provocados por las condiciones estresantes que

implicó el experimento, por un lado y por otro, a que estos peces coincidieron con ser de los que procedían de la granja acuícola y portaban una carga bacteriana previamente.

El aislar las bacterias inoculadas, del análisis bacteriológico efectuado a todos los organismos experimentales que no sobrevivieron, expresa la recuperación de los patógenos estudiados en cultivos puros.

El aislamiento de otras bacterias, que si bien se consideran dentro de la microflora bacteriana normal de los peces (Horsley, 1977), del riñón junto con otras bacterias, como las inoculadas pueden llegar a provocar la disminución de comportarse las defensas del pez (Piper *et al.* 1992), comportarse como patógenos oportunistas, propiciar y facilitar la acción patógena de las bacterias que ingresaron al pez vía el inóculo, y desencadenar una polibacteriosis como fue el caso de los lotes 1, 3, 4 y 5.

La ausencia de otros microorganismos en los lotes 2, 6 y 7, confirma a cada una de las bacterias inoculadas como únicos agentes etiológicos de las bacteriosis inducidas.

El incremento de los niveles de titulación para los lotes de las *Pseudomonas* spp., *Flavobacterium meningosepticum*, y alto del título para *Alcaligenes* spp. y *Serratia plymuthica* confirman un proceso de formación de anticuerpos (Fuerst, 1976) en los peces que sobrevivieron.

Al ser la *Aeromonas hydrophila* la bacteria presente con mayor frecuencia en los tres ambientes y en todas las granjas visitadas, y si bien es considerada como patógeno oportunista de organismos cultivados, las condiciones sanitarias de manejo de estas granjas aunado a la presencia de otros patógenos también oportunistas, puede cambiar su relación huésped-patógeno y provocar el desequilibrio natural establecido y causar graves daños para la producción acuícola en estos centros.

El control sanitario mediante el uso de químicos no presenta una alternativa óptima de solucionar el problema (Drinan *et al.*, 1978, y Aoki *et al.*, 1971), deja el paso para la instrumentación de un método artesanal de vacunas que en este caso resultó exitoso; y con respuesta inmune superior en el lote experimental de los peces que fueron inmunizados con suero que se obtuvo directo de peces, que los inmunizados con suero extraído de mamíferos, en este caso de conejos.

Aeromonas hydrophila provocó en los lotes experimentales de la Fase I y control de la Fase II, cuadros clínicos semejantes, correspondiendo a una dermonecrosis, destacando las ulceraciones. Los patógenos aislados conjuntamente con los inoculados experimentalmente son considerados dentro de la microflora bacteriana normal de los peces (Horsley, 1977), que bajo alteraciones fisicoquímicas y biológicas dentro del ambiente acuático pueden causar graves problemas a las poblaciones en cultivo.

CONCLUSIONES

1.1.- Las condiciones de manejo desde el punto de vista sanitario no son las adecuadas para lograr condiciones óptimas ambientales de explotación.

Los ingresos de agua y alimento balanceado se encuentran contaminados con bacterias ictiopatógenas además de Enterobacterias y Pseudomonas de origen fecal, tanto humano como de otros animales.

Los organismos cultivados presentan signos claros de bacteriosis, por lo que se puede esperar que dadas las condiciones ambientales, el equilibrio entre el patógeno y el huésped se alteren en detrimento del huésped, presentándose un alto riesgo de epizootias.

El monitoreo de vigilancia permanente de los parámetros ambientales y el conocimiento de los patógenos bacterianos en los ingresos de agua a los estanques, así como el control de calidad bacteriano de las dietas balanceadas para la nutrición de los organismos cultivados, puede ayudar a prevenir la manifestación de infecciones provocadas por estos patógenos.

1.2.- Se determinó la presencia de cuatro familias de bacterias Gram negativas; Aeromonadaceae, Vibrionaceae, Enterobacteriaceae y Pseudomonadaceae, además de un género "incerta sedis"; Flavobacterium, en los tres ambientes analizados; lo que manifiesta una microflora bacteriana constante.

Las especies identificadas en cada familia representan microorganismos de interés ictiopatólogico de gran importancia como son: Aeromonas hydrophila, Vibrio fluvialis, Vibrio parahaemolyticus, Vibrio alginolyticus, Pseudomonas spp. y Yersinia ruckeri, que de no observarse las medidas preventivas sanitarias necesaria pueden llegar a causar graves daños en la producción, y de riesgo para la salud pública como Aeromonas; el Vibrio cholerae El tor, Pseudomonas y Enterobacterias, que al encontrarse infectando a organismos para el consumo humano pueden ocasionar enfermedades como gastroenteritis.

La presencia de estos patógenos son indicadores de aportes de desechos agropecuarios, forestales y de asentamientos humanos irregulares, manifestando la carencia en las condiciones sanitarias en el manejo de las granjas acuícolas que

formaron parte de este estudio, y del riesgo latente en cualquier momento de una epizootia, así como el alto riesgo en el consumo del producto que puede ser portador de bacterias con un alto índice de morbilidad.

No se cuenta hasta el momento con una normatividad y reglamentación que establezca los límites de tolerancia, la ausencia y/o presencia de bacterias en el alimento balanceado para nutrir, sin riesgos, a los organismos en el cultivo.

2.1.- Las especies estudiadas en el presente trabajo; Vibrio fluvialis, Vibrio alginolyticus, Aeromonas hydrophila, Pseudomonas spp y Flavobacterium meningosepticum, si bien son considerados dentro de la microflora bacteriana normal de peces Teleósteos (Horsley, 1977), también son microorganismos asociados al ambiente acuático que al variar los factores ambientales como temperatura, pH, oxígeno disuelto, incrementar el número de microorganismos en los tejidos del huésped en condiciones estresantes para el pez son capaces de propiciar la enfermedad llegando a alcanzar niveles de epizootias (Bullock y Snieszko, 1972, Allen y Pelczar, 1967). Se presentaron los elementos propiciantes de la enfermedad, a) patógenos virulentos, b) huésped receptivo y c) condiciones estresantes (experimentales) (Kinkelin et al., 1985).

Estos patógenos de acuerdo con Roberts, et al. (1993), son considerados secundarios por poseer un potencial de infección limitado y actuar conjuntamente con otros patógenos, aunque su caracterización diagnóstica los ubica como patógenos primarios probablemente debido a la dosis inoculada y la forma intraperitoneal de administrar el inóculo.

Las bacterias inoculadas pueden ser asociadas con diferentes patologías registradas, dado que manifestaron cuadros generales de bacteriosis, con muy pocas especificaciones, predominando respuestas o arquetipos septicémicos (Roberts, et al., 1993).

Las cepas puras de las bacterias: Alcaligenes spp, Serratia plymuthica, aisladas de peces enfermos de granjas piscícolas, al ser inoculadas en peces sanos, provocaron bacteriosis en diferentes grados de agudeza.

Los peces que sobrevivieron a la enfermedad inducida, generaron anticuerpos contra los microorganismos inoculados, así como los que no superaron la infección.

Los patógenos inoculados fueron recuperados en todos los casos. Como consecuencia lógica de la cadena de los acontecimientos experimentales expuestos anteriormente; y siguiendo los Postulados de Koch, se evidencia la conexión etiológica entre las bacterias Alcaligenes spp, Serratia plymuthica, Flavobacterium meningosepticum, Vibrio fluvialis, Aeromonas hydrophila Pseudomonas spp, Vibrio alginolyticus y las enfermedades caracterizadas por cada una de ellas (Fuerst, 1976). Restaría efectuar estudios de mecanismos de adhesión, penetración y toxicidad, para comprobar la patogenicidad de cada una de las bacterias estudiadas.

Los resultados sugieren que la respuesta inmune que muestra mayor porcentaje de efectividad fue la obtenida del suero sanguíneo de peces; este resultado así como el alto título obtenido de la titulación del suero sanguíneo de los peces (Negrete y Romero, 1993), indican mayor cercanía inmunológica entre los mismos peces que con los mamíferos. Esto puede deberse a que la producción IgG que manifiestan aglutinación son producidas en mayor cantidad en los sistemas inmunológicos de peces, no así en los mamíferos en donde la producción de IgG es menor, además de la elaboración de otras inmunoglobulinas con mayor especificidad para combatir infecciones en mamíferos. Otro aspecto importante a considerar es la relación evolutiva, se ha reportado que las distancias inmunológicas de las albúminas, transferrinas y lisozimas es elevada en diferentes especies de peces teleósteos (Burch, et al., 1984).

Las condiciones anteriormente citadas, representan una gran ventaja para obtener vacunas con una alta especificidad inmunológica y una gran producción de IgG con un costo de producción muy bajo, ya que se pueden producir en la misma granja con un mínimo de equipo y un entrenamiento técnico para la elaboración de las vacunas, sin que ello implique un costo elevado en el pago de patentes nacionales y transnacionales ya que actualmente se producen vacunas que a su vez, no tienen la misma especificidad, ya que están producidas a partir de cepas atenuadas alóctonas y no de la región donde se puede generar el problema.

Este estudio es pionero pues uno de los objetivos principal es producir una vacuna en forma artesanal, por lo que queda mucho que estudiar, tanto del sistema

inmunológico de los peces que son cultivados para la acuicultura, como las relaciones antígeno - anticuerpo.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Allen, N. y J.M. Pelczar, 1967. Bacteriological studies of white perch (Roccus americanus). Chesapeake Science 8(3):135-139
- Analytical Profile Index, 1989. Enterobacteriaceae and other Gram negative Bacteria, 9th Edition 1989
- Amlacher, E., 1984. Textbook of fish diseases T.H. Publications. Inc., pp 53-167
- Austin, B. y D.A. Austin, 1987. Bacterial fish pathogen diseases in farmed and wild fish pp 196-224 Ellis Horwood. Ltd. England.
- Aoki, T., S.O. Egusa. y T. Watanabe, 1971. Detection of resitence factors in fish pathogens Aeromonas liquefasciens. J. Gen. Microbiology. 65: 343-349
- APHA 1992. Standard Methods for examination of water and wastewater, 17th. Ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Bejerano, y, Sarigs, M.T. Home, y J.R. Roberts, 1979. Mass mortalities in Silver carp Hipophtamichthys moliteix (Valencienes) asociated with bacterial infection, following, handling Journal of Fish Disease 2; 49-56
- Biosca, E.G., 1991. First record of V. alginolyticus biotype 2 from diseases of European eel Anguilla anguilla .L. Journal of Fish Diseases. 14: 103-111.
- Breed, R.S., y E.G.D. Murray, 1976. Family IV. Enterobacteriaceae, Rhan 1973. pp. 333, 341-347, 350-351. En Breed, R.S., Murray, E.G.D. Y Smith N.R. (eds). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 7th. Ed. Baltimore. Williams and Wilkins.

- Bullock, C. G, y S.F. Snieszko, 1969. Bacteria in blood and kidney of apparently healthy hatchery trout. Trans. Amer. Fish. Soc. No. 2 pp. 268-271
- Burch . S.J., R. Lawson, y H. Davies.- 1984. The relationship of cartilaginous fishes an imunological study of serum Transferrins of holcephalans and elasmobranchs. Journal Zool. London: 203: 303-309
- Campbell. E.J.M., J.G. Scadding y R.S. Roberts, 1979. The concepts of disease. Britis Medical Journal 2: 757-762
- Colorni, A. y Paperna, 1981. Bacterial infections in gillthead sea bream (Sparus auratus) cultures of E. Lat. Acuaculture. 23: 257-267
- Contreras F. L.E., 1988. Manual de prevención de enfermedades que afectan a los organismos en cultivo. Secretaría de Pesca. 1ª edición pp.
- Collins, V.G., 1970. Recent studies of bacterial pathogens of freshwater fish. J. Soc. Wat. Treat. Exam. 19: 3-31
- Dubois Rish, y J.G. Hirsch, 1965. Bacterial and mycotic infections of man. 4 th. ed. p. 335 London Lippincott.
- Drinan. E, W. Sheeran., y P.R. Smith, 1978. Antibiotic resistance of strains of Aeromonas salmonicida isolated from hatchery-reared salmon. Fish pathology. Group Report II. University College Galway. p.5
- Ellis E., 1988. Fish vaccination, General principles of fish vaccination. cap. 1 pp 1-18 Edited by Dr. A. E. Ellis, Academic Press.
- Espinosa de los Monteros, 1987. Patología en Acuicultura. CAICYT. España. pp. 15-45

- Ewing, W.H., A.J. Ross, D.J. Brenner, y G.R. Fanning, 1978. Yersinia ruckeri spp nov. The red-mouth (R.M. bacterium) International Journal of Systematic Bacteriology. 28: 37-44
- Ewing, W.H., y M.A. Fife, 1972. Enterobacter agglomerans (Berjerinch) comb. nov. (The herbicola lathyre bacteria). Journal of Systematic Bacteriology. 22: 4-11
- Fuerst Robert, 1981. Microbiologia de Frobisher y Fuerst 14th. Ed. Interamericana pp 8-90.
- Friorito, M. S., 1970. Bioquímica Panamericana. Metodología para el estudio bacteriológico. Voi 1, No. 1, Septiembre-October.
- Fujitara, M.P. y R.E. Nakatari, 1970. Antibody production and immune response o rainbow trout and Coho salmo to Chondrococcus columnaris.
- Gamelera, M, 1988. Vibrio metschnikovii (n. sp.) et rapports of eels microbe, du cholera asiatique. Annales de l' Institut Pasteur (Paris) 2: 482-488
- Gomez Gil Bruno, 1994. Estudio bacteriológico de quistes y nauplios de la población de Artemia franciscana (Kellog, 1906) del Gran lago salado de Yuta. Tesis de Maestría de Ciencias del Mar. UNAM.
- Hjeltnes, B., y R.J. Roberts, 1993. Vibriosis in bacterial diseases of fish. Ed. por Inglis. W., Roberts R.J. y Bromage R. N. cap. 6
- Holt, G.J. et. al., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Ed. Williams and Wilkins.
- Horsley, R. W., 1977. A review of bacterial flora of teleosty and elasmobranchs, including methods for its analysis. J. fish. biol. 10: 529-552

- Jiménez, G.F., S.L. Galaviz. et. al., 1986. Parásitos y enfermedades del Bagre. (Ictalurus spp). Secretaría de pesca.

- Johnson, S.K., 1991 Fish prawn and craw fish pathology. Short course

- Kinkelin, P., Michel G., y P Ghittino., 1981. Tratado de enfermedades de peces. Zaragoza Madrid.

- Kinkelin, P. Michel G. y P. Ghittino, 1985. Tratado de las enfermedades de peces Ed. Acribia. 53-117

- Kinne, O., 1980. Diseases of marine animals. Vol. 1 General Aspects. Protozoa to Gastropoda Chinchester. Wiley.

- Klontz, G.W., W.T. Ysutake y John Ross, 1966. Bacterial disease in the Western United States. Pathogenesis of furunculosis in rainbow-trout. Am J. Vet. Res. 27: 1455-1460

- Lee, J. V., P Shread, A.L. Furniss, y T.N. Bryant, 1981. Taxonomy and description of Vibrio fluvialis sp. nov. (Synonym. Group f. Vibrios EF6) J. Appl. Bacteriol, 50: 73-94

- Lehman, K.B. y R. Newmann, 1986. Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speciellen bakteriologischen Diagnostik. T. II. Munich Lehmann.

- Meyer F. P. y J. D. Collar, 1963. Description and treatment of a Pseudomonas infection In white catfish. Applied Microbiology, vol. 12, No. 3: 201-203

- Michel, C., 1980. A standardized of experimental furunculosis in rainbow trout, (Salmo gairdneri). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 37: 746-760

- Michel, C., 1982. Development of Bacteria in fish and in water during a standardized experimental infection of rainbow trout (Salmo gairdneri) with Aeromonas salmonicida. Microbiological diseases of fish. Edited by R.J. Roberts. Academic Press London, England.

- Mc. Carthy, D.H., 1977. Some ecology aspects of the bacterial fish pathogen. Aeromonas salmonicida, pp. 299-322. Edited. by Skinner, F.A. y Shewan J. H. Academic Press. London, England.

- Mc. Faddin, J.F., 1990. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed. Panamericana. pp. 301

- Mortimer, P. S. (Ed.) 1981. Prokaryotes, A handbook on habitats, isolation and, identification of bacteria. Vol. I y II. Berlin, Springer-Verlag.

- Munro A.L.S., J. Leverside y K.G.R. Elson, 1976. The distribution and prevalence of infections pancreatic necrosis virus in wild fish lonch. Awe. Porc. Ruy. Soc. Edinh (B) 75: 223-232

- Munro A.L.S., 1980. The pathogenesis of bacterial diseases of fishes. Microbial diseases of fishes Ed. by R.J. Roberts. pp. 131-149

- Muroga. R. y Takahashi 1979. Non choleral Vibrio isolated from diseased ayu. Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries. 50: 591-596

- Negrete. R.P. y J.M. Romero, 1993. Elaboración de vacunas contra la furunculosis en peces susceptibles de cultivo. Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería. Vol 3, No. 1 y 2. pp fa 14- fa 17

- Nieto T.P., L.R. López, 1990. Isolation of Serratia plymuthica as an opportunistic pathogen in rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson. Journal of Fish Diseases 13: 175-177

- Phillips, M.J., M.C.M. Beveridge y L.G Ross., 1985. The enviromental impact of salmonid cage culture in island fisheries. Present status and future trends. J. Fish. Biol. 27 (A), 123-137.

- Pillay, T.V.R. 1992. Aquaculture and the enviroment Fishing News Book. pp. 49-98

- Piper G.R. 1992. Fish hatchery management. Departement of interior. U.S. Fish and Wildlife Service. 264-368

- Popoff, M. y M. Veron, 1976. A taxonomic study of the Aeromonas hydrophila - Aeromonas punctata group. Journal. of General Microbiology 94: 102-104

- Reinchenbach, K., - 1982. Enfermedades de los peces. Ed. Acribia España. 496 pp.

- Ross, A.J., R.R. Rucker. y W.H. Ewing, 1966. Description of a bacterium associated with red-mouth disease of rainbow trout. (Salmo gairdneri). Canadian. Journal of Microbiology 12: 763-770

- Roberts, R.J. y N. R., Bromage, 1993. Bacterial diseases of fish. Edited by Ingles Valerie.

- Roberts, R.J. y J.C. Sheperd, 1986. Handbook of trout and salmon diseases. Fishing. New Book L.T.d. Second Edition pp 46-88

- Roberts. R.J., 1981. Patologia de los peces. Edición Mundi Prensa.

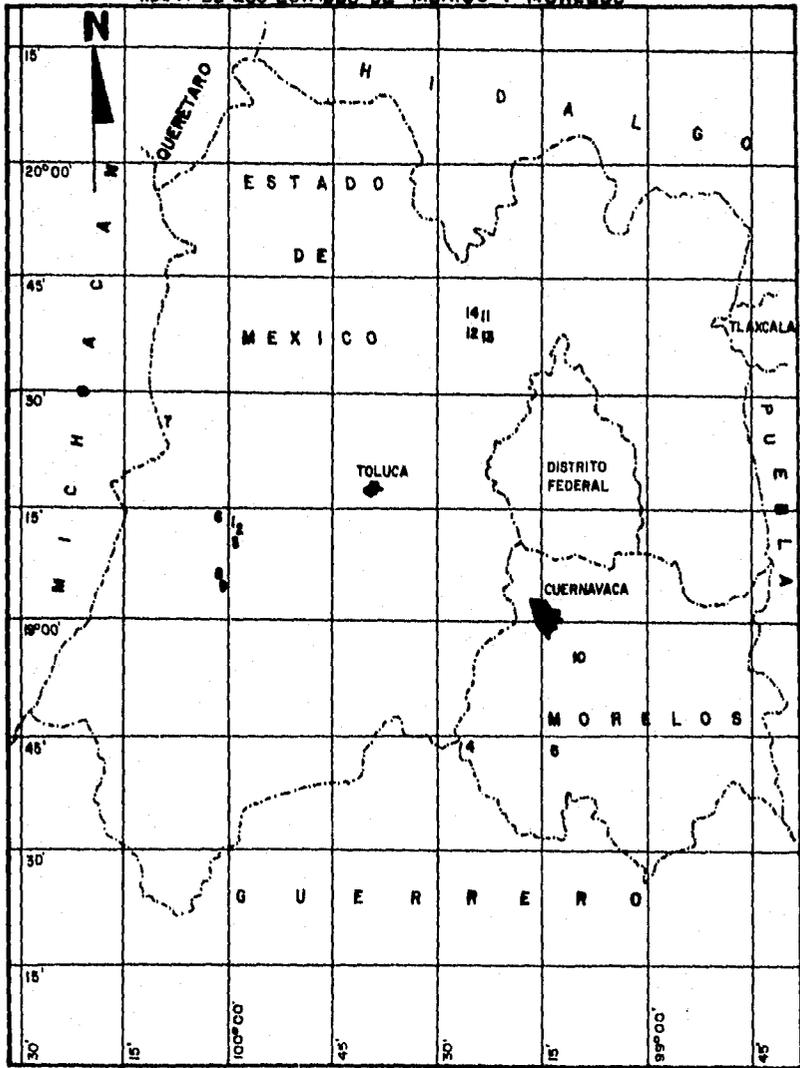
- Sakazaki, R. y S. Namioka, 1960. Serological studies on the cloaca (*Aerobacter*) group of enteric bacteria Japanese Journal. of Medical Science and Biology 13: 1-12

- Sakazaki, R., 1968. Proposal of *Vibrio alginolyticus* for the biotype 2 of *Vibrio parahemolyticus*. Japanese Journal of Medical Science and Biology 21: 359-362

- Stevenson, R. D., Flett, y B.T. Reymond, 1993. Enteric redmouth (ERM) and other enterobacteriae infections of fish. In bacterial diseases of Fish. Ed. Inglis. V., Roberts. R.J., y Bromage. R.N. part 2: Enterobacteriaceae cap. 5 pp. 80-106

- Trust J.T, 1971. Counts of comercial fish diets. J. Fish Res. Bd. Canada 28: 1185-1189.

MAPA DE LOS ESTADOS DE MEXICO Y MORELOS



ANEXO I

CUADRO No. 1
GRANJAS PISCÍCOLAS DEL ESTADO DE MÉXICO Y MORELOS

CONDICIONES DE PRODUCCIÓN (VARIANTES ÓPTIMAS)	Puntaje Máximo	Puntaje													
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	No. 11	No. 12	No. 13	No. 14
INFRAESTRUCTURA	3	2	5	0	3	8	1.5	1.5	3	2	3	0	.5	0	0
Tiene Laboratorio	1	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
Tiene Oficinas	5	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Está cercado	1.5	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-
CONDICIONES DE LABORATORIO	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0
Cuenta con:															
Materiales requerido	1	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
Reactivos Físico - Químicos	1	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
CONDICIONES DE BODEGA	12	0	10	0	12	0	7	4	12	12	12	3	3	10	11
Ventilación adecuada	2	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
Libre de humedad	2	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Aislada de contaminantes	2	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
Secura tar ma	2	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Libre de fauna nociva	2	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Está empacado	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fecha de caducidad	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SERVICIOS	6	0	4	4.5	0	0	1	0	0	0	0	0	3.5	0	0
Cantidad del agua	3	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
Energía eléctrica	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Servicios sanitarios	5	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
Drainaje	5	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
ESTANQUEERÍA	14	0	0	0	0	0	14	0	0	14	14	14	14	2	0
Es apropiada para la especie cultivada	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sistema de aereación adecuado	3	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Temperatura adecuada	3	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+
Sistema de filtros de agua adecuado	3	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
Suministro independiente de Agua	3	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LIMPIEZA E HIGIENE EN GENERAL	22	0	10	7	13	3	22	0	12	7	2	0	7	0	0
Se usa el equipo para alimentación y manejo de organismos	2	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Se desinfectan los estanques	3	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Estancos para cuarentena	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quemadores para enfermar los peces enfermos	2	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-

GRANJAS DE MORELOS 4, 5, 7, 8, 10

**CUADRO No. 1
GRANJAS PISCÍCOLAS DEL ESTADO DE MÉXICO Y MORELOS**

CONDICIONES DE PRODUCCIÓN (VARIANTES OPTIMAS)	Puntaje Máximo	Puntaje													
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	No. 11	No. 12	No. 13	No. 14
Estanques libres de fauna nociva	3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Desinfectan peces de nuevo ingreso	5	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Alimento nutricionalmente adecuado, caducidad vigente.	2	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
HISTORIAL ETIOLOGICO	17	8	8	8	17	8	3	17	17	17	17	17	11	17	17
Se ha presentado epizootias	3	nc	-	nc	+	nc	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Agente causal	3	nc	Vibrio	nc	+	nc	Aeromona	+	+	+	+	+	+	+	+
Se originó en el alimento	2	nc	-	nc	+	nc	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Se originó en el agua	3	nc	+	nc	+	nc	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Por mal manejo	3	nc	+	nc	+	nc	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Por nuevo ingreso de organismos	3	nc	+	nc	+	nc	-	+	+	+	+	+	+	+	+
RECURSOS HUMANOS	4	4	4	8	2	8	4	8	4	2	8	8	8	8	2
Cuenta con el personal capacitado	2	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+
Es suficiente el personal	2	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
CALIDAD DE AGUA	16	11	11	8	11	8	11	8	8	8	8	11	11	11	11
Análisis de O2	2	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Temperatura	2	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+
pH	2	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Dureza	2	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Salinidad	1	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Transparencia	2	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
Microbiológicos	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OBSERVACIÓN DE ORGANISMOS	7	7	7	8	8	8	7	8	8	7	3	7	8	8	7
Aletas y cola deshechados.	1	+	+	-	+	nc	+	nc	nc	+	-	+	+	-	+
Nado irregular y pérdida del equilibrio	1	+	+	-	-	nc	+	nc	nc	+	+	+	+	-	+
Boqueo en la superficie	1	+	+	-	-	nc	+	nc	nc	+	+	+	-	-	-
Hechamamiento	2	+	+	-	-	nc	+	nc	nc	+	-	+	+	-	+
Frotamiento del cuerpo	1	+	+	-	-	nc	+	nc	nc	+	-	+	+	+	+
Pérdida del apetito	1	+	+	-	-	nc	+	nc	nc	+	+	+	+	-	+
Total de Puntaje	189	88	71.8	34.8	74	22	78	38.8	88	84	88	88	42.8	47	88

CUADRO No. 3
RELACION DE BACTERIAS IDENTIFICADAS EN DIFERENTES GRANJAS DE LOS ESTADOS DE MÉXICO Y MORELOS

ORGANISMOS IDENTIFICADOS	Total de Granjas (Cantidad)	AMBIENTE			HUÉSPED			ENFERMEDAD
		Agua	Alimento	OPG	Animalpezo	Vegetal	Humano	
<i>Aeromonas calco</i> var. <i>antraxi</i>	12	9	10	9	?	?	?	?
<i>Aeromonas calco</i> var. <i>hwofii</i>	8	8	5	3	?	?	?	?
<i>Aeromonas formicans</i>	6	4	3	3	+			Septicemia/Gastroenteritis
<i>Aeromonas hydrophila</i>	14	14	12	12	++		+	Forunculosis
<i>Aeromonas proteolytica</i>	8	7	3	6	++		+	Septicemia hemorrágica
<i>Aeromonas punctata</i>	9	8	4	4	++		+	Septicemia/Gastroenteritis
<i>Aeromonas shigelloides</i>	4	4	2	1	++		+	Septicemia/Gastroenteritis
<i>Vibrio fluvialis</i>	12	12	9	7	++		+	Septicemia/Gastroenteritis
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10	7	4	4	++			Septicemia/Gastroenteritis
<i>Vibrio cholerae</i> el. <i>tor.</i>	7	6	3	5				Gastro enteritis
<i>Vibrio alginolyticus</i>	2	2	0	2	*		+	
<i>Vibrio vulnificus</i>	2	2	1	2	*		+	
<i>Pseudomonas</i> spp	11	10	8	9	++	+		
<i>Pseudomonas mellophila</i>	10	7	7	6			+	Nosocomial
<i>Pseudomonas mallei</i>	5	4	2	3	+		Ocasional	Enf. Farcy en caballos
<i>Enterobacter cloacae</i>	9	7	2	4	+		+	Septicemia - Meningitis
<i>Enterobacter agglomerans</i>	12	11	2	3				oportunista
<i>Ewingella americana</i>	5	5	1	2			+	Nosocomial
<i>Klebsiella</i> sp	5	3	2	4	+		+	Tracto respiratorio ent.
<i>Serratia plymuthica</i>	10	10	4	8	+			Mestizo
<i>Yersinia ruckeri</i>	7	6	2	5	++			Enf. entérica de la Boca-roja
<i>Alcaligenes</i> spp.	11	10	8	7	+		+	Saprofita
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	6	1	4	3			+	Nosocomial Meningitis

CUADRO No. 4
RELACIÓN DE BACTERIAS:
PATÓGENAS DE PECES, ENTEROBACTERIAS Y PSEUDOMONAS. IDENTIFICADAS EN LOS TRES
AMBIENTES DE GRANJAS PISCÍCOLAS DE LOS ESTADOS DE MÉXICO Y MORELOS

MICROORGANISMO	GRANJAS														Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
<i>Aeromonas calco</i> var. <i>antrax</i>	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	12
<i>Aeromonas calco</i> var. <i>Lwoffii</i>	+	+	+	+				+	+	+		+			8
<i>Aeromonas formicaria</i> *	*					*			*	*					5
<i>Aeromonas hydrophila</i> *	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	14
<i>Aeromonas proteolytica</i> *	*			*	*	*	*		*	*					7
<i>Aeromonas punctata</i> *	*	*	*	*	*	*	*		*	*					9
<i>Aeromonas ethelae</i> *	*			*	*				*						4
<i>Alcaligenes</i> spp. *	+	+		+	+			+	+	+	+				11
<i>Enterobacter cloacae</i> +			+			+	+		+	+	+		+	+	9
<i>Enterobacter agglomerans</i> +	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+		+	12
<i>Ewingella americana</i> +		+	+	+				+		+					5
<i>Klebsiella</i> spp. +	+	+	+						+	+					5
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	+		+	+	+			+		+	+				6
<i>Yersinia ruckeri</i> *	*	*				*		*	*	*	*				5
<i>Serratia plymuthica</i> *	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	10
<i>Pseudomonas</i> spp. *	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	11
<i>Pseudomonas methophila</i> +	+	+		+	+	+				+	+	+	+	+	10
<i>Pseudomonas maltii</i> +		+	+	+	+									+	5
<i>Vibrio alginolyticus</i> *											*	*	*	*	2
<i>Vibrio fluvialis</i> *	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	13
<i>Vibrio cholerae</i> el tor. +	+	+	+	+		+			+	+					7
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> +	+		+	+	+	+	+		+	+					8
<i>Vibrio vulnificus</i> +		+										+			2
Bacteria patógena de peces *	9	6	5	8	7	7	4	4	7	6	6	4	3	4	
enterobacterias y Pseudomonas +	10	10	11	10	7	7	4	3	5	8	11	6	4	4	6

CUADRO No. 5
CUANTIFICACION DE LA RELACIÓN DE LAS CONDICIONES SANITARIAS DE MANEJO DE GRANJAS
PISCÍCOLAS Y LA PRESENCIA DE BACTERIAS
PATÓGENAS Y OPORTUNISTAS. AISLADAS EN LOS INGRESOS DE AGUA, ALIMENTO Y ORGANISMOS

MICROORGANISMO	GRANJAS													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Condiciones de Bodega P.M = 12	10	10	10	12	6	7	4	12	12	12	3	3	10	11
Estanquería P.M = 14	14	8	5	8	8	14	8	14	14	14	14	2	8	8
Limpieza e Higiene General P.M = 22	10	10	7	13	3	22	5	12	7	2	0	7	0	0
Calidad de Agua P.M = 14	11	11	0	11	0	11	0	0	0	0	11	11	11	11
Organismos Enfermos P.M = 7	7	7	0	0	0	7	0	0	7	3	7	6	8	7
Puntaje por condiciones sanitarias Básicas Subtotal P.M = 69	59	46	22	44	17	61	17	38	30	29	35	29	35	37
Puntaje Total por condiciones de manejo P.M = 14	65	72	25	74	22	77	33	72	57	56	53	43	47	60
Bacterias Patógenas para peces (%) M = 11	9	6	5	8	7	7	4	4	7	6	6	4	3	4
Bacterias Oportunistas (Enterobacterias Y Pseudomonas) M = 12	10	10	11	10	7	4	3	5	8	11	6	4	4	6
Total de Géneros aislados M = 23	19	16	16	18	14	11	7	9	15	17	12	8	7	10

P.M - Puntaje máximo

M - máximo

CUADRO No. 8
NIVELES DE TITULACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS DE LOS PECES (*Cyprinus carpio*)
"ANTES" DE LA INOCULACIÓN DEL PATÓGENO

	Control	<i>Vibrio</i> <i>Ravallei</i>	Control	<i>Vibrio</i> <i>alginolyticus</i>	Control	<i>Aeromonas</i> <i>hydrophila</i>	Control	<i>Pseudomonas</i> spp.	Control	<i>Flavobacterium</i> <i>mentagospilum</i>	Control	Algas	Control	<i>Serratia</i> <i>plymuthica</i>
PEZ 1	0	1:640	0	0	0	1:640	0	1:640	0	1:640	0	0	0	0
PEZ 2	0	1:640	0	0	0	1:320	0	1:640	0	1:640	0	0	0	0
PEZ 3	0	1:640	0	0	0	1:640	0	1:640	0	1:640	0	0	0	0
PEZ 4	0	1:640	0	0	0	1:640	0	1:640	0	1:320	0	0	0	0
PEZ 5	0	1:320	0	0	0	1:640	0	1:640	0	1:320	0	0	0	0
PEZ 6	0	1:320	0	0	0	1:640	0	1:640	0	1:640	0	0	0	0
PEZ 7	0	1:320	0	0	0	1:640	0	1:640	0	1:320	0	0	0	0
PEZ 8	0	1:320	0	0	0	1:640	0	1:640	0	1:640	0	0	0	0
PEZ 9	0	1:320	0	0	0	1:320	0	1:640	0	1:640	0	0	0	0
PEZ 10	0	1:640	0	0	0	1:320	0	1:640	0	1:640	0	0	0	0

CUADRO No. 7
**CARACTERIZACIÓN DIAGNÓSTICA DE LOS PECES (Cuerpo carnio) inoculados con: *Vibrio fluvialis*,
Vibrio alginolyticus, *Aeromonas hydrophila*, *Pasteurella piscicarpa*, *Serratia marcescens*, *Alcaligena* spp y *Flavobacterium meningosepticum*.**

Órgano y Sistema	(Lote 1)	(Lote 2)	(Lote 3)	(Lote 4)	(Lote 5)	(Lote 6)	(Lote 7)
	VIBRIOSITICAE		AEROMONADACEAE	PASTEURONADACEAE	ENTEROBACTERIACEAE		
	<i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Pasteurella piscicarpa</i>	<i>Pasteurella piscicarpa</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Alcaligena</i> spp
Coloración	Decoloración	Ocurecimiento	Zonas oscuras de envicamiento mucoso	Decoloración	Ocurecimiento	Ocurecimiento	Ocurecimiento
Piel	Mucosidad	Mucosidad de piel manchada amarilla	Mucosidad Manchas blancas	Mucosidad necrosis punto infiltración	Puntos rojos mucosidad erosiva	Desprendimiento musculo expuesto	Ocurecimiento
Escamas	Descamación	Descamación	Camas heridas	Descamación	Descamación	Descamación	Descamación
Alas y cola	erosionadas	erosionadas rositiga hemorragicas	Envicamiento base rositas	furunculos en estas erosionadas	furunculos inmovilidad progresiva erosion	Rayagadas erosionadas	erosion de la cauda
Boca	Cierre deficiente	Normal	Saqueo manchas rositas	Sin alteración	Labi inferior enrojecido	Normal	Normal
Branquias	Ocurecidas	hemorragicas	Ojerculo exterior rositadas	Sin alteración	ulceras hemorragicas blancas	Manchas negras en los operculos	Normal
Ojos	Opacos	Exoftalmia-Opacidad en ambas comas	Comas enturbadas	enturbamiento	Opacos exoftalmia	Exoftalmia	Liger exoftalmia
Cuerpo	Derrames sanguineos	Inflamado. Ulcerado cabeza deformada	Ventre abultado maculas blancas	Ventre abultado ano prolapso ano deformado	Enchamiento mucos	Inflamado ano enrojecido	Mucos
Agallas	Anorales	Anorales	Anorales	Anorales	Anorales	Anorales	Anorales temporal
Comportamiento	Buca rictoras inmovilidad prolongada espasmodica	inmovilidad prolongada	Nerviosos-Huidos marcha espasmodica	Inmovilidad saqueo rapido inmovilidad	Saqueo-nerviosismo golpeo contra paredes	Nerviosismo	Agrupados en las esquinas de acuarios inmovilidad
Respiro	Eritico y espasmodico	Pérdida del equilibrio	Vertical-terto	Desorientado espasmodico	Irregular	Lento-desaguijado	Irregular
Otros	Alas y Abdomen con hemorragia	Destrucción del tejido muscular en zona inoculo	Cubierta espolonosa	Convulsiones-clamias	Convulsiones		
Necropsia							
Boca	Sin alteración	-	Depletos espolonosa papilas con moco	Puntos espolonosa	Normal	Normal	N
Tubo digestivo	Ano rojo-erente	Hemorrágico	Desbaratado con ano enrojecido erente	Desecho, distención abdominal	Errente ano prolapso intestino destruido	Hemorrágico	O
Riñón	Desbaratado	Hemorrágico desbaratado	Desecho	septicemia y mal olor	Presencia úlceras y el tejido destruido	Hemorrágico	M U
Hígado	Granulos blancos	Hemorrágico	Inflamado necrosado desbaratado	Puntos blancos	Despedazado	Hemorrágico	R I
Vesícula biliar y Bazo	Inflamado	-	Sin alteración	Derrame biliar	Ruptura de vesícula	-	E R
Vejiga natatoria	Completa	Colapsada	Defecta	Sin alteración	Pérdida de piel	Colapsada	O
Corazón	Puntos blancos	Necrosado	Enrojecido/con puntos blancos	Necrosado	Ulceraciones blancas	Hemorrágico	N
Gonales	Inflamadas y fragmentadas	hemorrágicas desbaratadas	Desechas	Sin alteración	Defetas	Destruidas	
Otros	Septicemia generalizada	Cerebro con moco paquete muscular defecto	Branquias mucosidad edema generalizado	Muy mal olor al abrir el animal	Dianes verdamoco estargamiento	Ulceraciones	

**CUADRO No. 8
CARACTERIZACIÓN DIAGNÓSTICA DE LOS LOTES CONTROL**

SIGNOS	LOTE CONTROL PROCEDENTE DE UNA GRANJA PISCICOLA DEL EDO. DE MEX.					LOTE CONTROL DE LA UAM-I
	PEZ 1	PEZ 2	PEZ 3	PEZ 4	PEZ 5	
COLORACIÓN	OBSCURECIMIENTO	NORMAL	OBSCURECIMIENTO	OBSCURECIMIENTO		N
PIEL	NORMAL	PUNTOS ROJOS	NORMAL	NORMAL		O
ESCAMAS	DESCAMACIÓN	DESCAMACIÓN	DESCAMACIÓN	NORMAL		R
ALETAS Y COLA	ENROJECIMIENTO EROSIONADAS	EROSIONADAS	EROSIONADAS	NORMAL		M
BOCA	PUNTOS BLANCOS	LABIO INF. ENNEGRECIDO	NORMAL	PUNTOS ALGODONOSOS		A
BRANQUIAS	NORMAL	NORMAL	PÁLIDAS	NORMAL		L
OJOS	EXOFTALMIA	EXOFTALMIA	OPACOS	OPACOS		E
CUERPO	ABDOMEN INFLAMADO	INFLAMADO	CUBIERTO DE MOCO	CUBIERTO DE MOCO		S
APETITO	IRREGULAR	NORMAL	NORMAL	NORMAL		
COMPORTAMIENTO	BOQUEO	NORMAL	BOQUEO	BOQUEO		
NADO	IRREGULAR	IRREGULAR	IRREGULAR	IRREGULAR		
OTROS						
NECROPSIA			AL ABRIR MAL OLOD			
BOCA			NORMAL			
TUBO DIGESTIVO			NORMAL			
RIÑÓN			NORMAL			
HÍGADO			NORMAL			
VESÍCULA BILIAR			NORMAL			
VEJIGA NATATORIA			NORMAL			
CORAZÓN			NORMAL			
GÓNADAS			NORMAL			
OTROS			BRANQUIA CON MOCO BLANCO			
	SOBREVIVEN	SOBREVIVEN	MURIO	SOBREVIVEN	SOBREVIVEN	SOBREVIVEN

CUMPRO No. 9

SEMILITUD ENTRE LA CARACTERIZACIÓN DIAGNÓSTICA EXPERIMENTAL Y LA PRESENTADA POR DIFERENTES AUTORES

CARACTERIZACIÓN DIAGNÓSTICA OBTENIDA DEL INÓCULO EXPERIMENTAL DE LOS 7 PATÓGENOS.	CARACTERIZACIÓN DIAGNÓSTICA DE DIFERENTES AUTORES					
	Collins 1970 Espinoso 1987 Muller-Roberts 1983	Roberts 1981 Ortizán 1981	Rosenbach 1982	Roberts 1986	Stevenson- Fitz-Ryanmond 1983	Magala y Romero 1985
	<i>Vibrio</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Serratia spp.</i>	<i>Aeromonas spp.</i>
Caricón de coloración del pez	-	-	-	-	-	-
Sensación escasa de moco	-	-	-	-	-	-
Puntos/áreas rojas y blancas en diferentes partes del cuerpo	-	-	-	-	-	-
Descamación y ensimamiento de escamas	-	-	-	-	-	-
Puntos blanquecinos	-	-	-	-	-	-
Alitas y ocelos enrojecidos	-	-	-	-	-	-
esulfatos y/o corvas opacas	-	-	-	-	-	-
Abultamiento del abdomen	-	-	-	-	-	-
Ano protruido y enrojecido	-	-	-	-	-	-
Comportamiento rítmico: Inmovilidad-busca rincón- golpeo contra paredes	-	-	-	-	-	-
Lesiones en boca	-	-	-	-	-	-
Nado incoordinado	-	-	-	-	-	-
Anarquiz	-	-	-	-	-	-
Convulsiones	-	-	-	-	-	-
Diarrea	-	-	-	-	-	-
Branquitis surfactiva-mucosa color pálido	-	-	-	-	-	-
NECROPSIA	-	-	-	-	-	-
Riñón degenerado con ulceraciones	-	-	-	-	-	-
Riñón necrosado	-	-	-	-	-	-
ASPORES	-	-	-	-	-	-
Distensión abdominal	-	-	-	-	-	-
Ascitis	-	-	-	-	-	-
Hígado desecho ano enrojecido	-	-	-	-	-	-
Hígado dañado	-	-	-	-	-	-
Hígado con puntos blancos	-	-	-	-	-	-
Vesícula biliar roja (bolsa depana)	-	-	-	-	-	-
Vesiga natatoria atrofiada	-	-	-	-	-	-
Gónadas inflamadas y desechas	-	-	-	-	-	-
Corazón desecho o necrosado	-	-	-	-	-	-
Corazón con úlceras blancas	-	-	-	-	-	-
OTROS	-	-	-	-	-	-
Diarrea color blanco	-	-	-	-	-	-
Miel olor al abrir	-	-	-	-	-	-
Septicemia hemorrágica-hemorragia interna	-	-	-	-	-	-
INDICE DE JANCKART	1	1	1	1	1	1

CUADRO No. 10
 NIVELES DE TITULACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS DE LOS PECES (*Cyprinus carpio*)
 "POSTERIOR" A LA INOCULACIÓN EXPERIMENTAL DEL PATÓGENO

	Control	<i>Vibrio</i> <i>fluvialis</i>	Control	<i>Vibrio</i> <i>alginolyticus</i>	Control	<i>Aeromonas</i> <i>hydrophila</i>	Control	<i>Pseudomonas</i>	Control	<i>Flavobacterium</i> <i>mentosaepticum</i>	Control	<i>Alcaligenes</i>	Control	<i>Serratia</i> <i>plymthica</i>
PEZ 1	O		O		O		O	1:1280	O	1:1280	O	1:1280	O	1:1280
PEZ 2	O	M	O	M	O	M	O	1:1280	O	1:1280	O	1:1280	O	1:1280
PEZ 3	O	U	O	U	O	U	O	M	O	1:1280	O	1:1280	O	1:1280
PEZ 4	O	R	O	R	O	R	O	U	O	1:1280	O	1:1280	O	1:1280
PEZ 5	O	I	O	I	O	I	O	R	O	M	O	1:1280	O	1:1280
PEZ 6	O	E	O	E	O	E	O	I	O	U R	O	1:1280	O	1:1280
PEZ 7	O	R	O	R	O	R	O	E	O	I	O	1:1280	O	1:1280
PEZ 8	O	O	O	O	O	O	O	R	O	E R	O	1:1280	O	1:1280
PEZ 9	O	N	O	N	O	N	O	O	O	O	O	1:1280	O	1:1280
PEZ 10	O		O		O		O	N	O	N	O	1:1280	O	1:1280

CUADRO No. 11
RECUPERACIÓN DE PATÓGENOS
(ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO POST MORTEM)

	Vibrio fluvialis	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila	Pseudomonas spp	Flavobacterium meningosepticum	Serratia plymuthica	Alcaligenes spp
PEZ 1	Vibrio fluvialis Aeromonas hydrophila	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Vibrio fluvialis Enterobacterias Pseudomonas	No Murió	Flavobacterium Aeromonas hydrophila Enterobacterias	Serratia plymuthica	No Murió
PEZ 2	Vibrio fluvialis Enterobacterias Pseudomonas	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Enterobacterias Pseudomonas	No Murió	Flavobacterium Pseudomonas Enterobacterias	Serratia plymuthica	No Murió
PEZ 3	Vibrio fluvialis Enterobacterias Pseudomonas	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Vibrio fluvialis Enterobacterias Pseudomonas	Pseudomonas spp Aeromonas hydrophila Enterobacterias	Flavobacterium Vibrio fluvialis Enterobacterias	Serratia plymuthica	No Murió
PEZ 4	Vibrio fluvialis Aeromonas hydrophila	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Enterobacterias Pseudomonas	Pseudomonas spp Enterobacterias	Flavobacterium Vibrio fluvialis Enterobacterias	Serratia plymuthica	No Murió
PEZ 5	Vibrio fluvialis Enterobacterias Pseudomonas	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Vibrio fluvialis Pseudomonas	Pseudomonas spp Enterobacterias	Flavobacterium Vibrio fluvialis Pseudomonas	Serratia plymuthica	No Murió
PEZ 6	Vibrio fluvialis Aeromonas hydrophila Pseudomonas	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Enterobacterias Pseudomonas	Pseudomonas spp Enterobacterias Enterobacterias	Flavobacterium Enterobacterias Pseudomonas	Serratia plymuthica	No Murió
PEZ 7	Vibrio fluvialis Aeromonas hydrophila Pseudomonas	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Enterobacterias Pseudomonas	Pseudomonas spp	No Murió	Serratia plymuthica	No Murió
PEZ 8	Vibrio fluvialis Aeromonas hydrophila	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Vibrio fluvialis Enterobacterias Pseudomonas	Pseudomonas spp	No Murió	No Murió	No Murió
PEZ 9	Vibrio fluvialis Aeromonas hydrophila Pseudomonas	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Vibrio fluvialis Enterobacterias Pseudomonas	Pseudomonas spp	No Murió	No Murió	No Murió
PEZ 10	Vibrio fluvialis Enterobacterias Pseudomonas	Vibrio alginolyticus	Aeromonas hydrophila Vibrio fluvialis Enterobacterias Pseudomonas	Pseudomonas spp	No Murió	No Murió	No Murió