

Inducción de bacteriosis en *Cyprinus carpio*, con bacterias aisladas de organismos enfermos cultivados en granjas piscícolas

Pilar Negrete Redondo¹
y Jorge Romero Jarero²

¹Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, El Hombre y su Ambiente, Caizada del Hueso 1100, Villa Quietud, Coyoacán, México.

²Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Ciudad Universitaria, Coyoacán, Apdo. Postal 04510, México.

Negrete R., P. y J. Romero J., 1998. Inducción de bacteriosis en *Cyprinus carpio*, con bacterias aisladas de organismos enfermos cultivados en granjas piscícolas. *Hidrobiológica* 8 (2): 107-116.

RESUMEN

Se indujo experimentalmente bacteriosis a peces (*Cyprinus carpio*) inoculando de forma intramuscular: *Vibrio fluvialis*, *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas putida*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Serratia plymuthica* y *Alcaligenes* spp., aisladas de peces enfermos cultivados en granjas acuícolas de los estados de México y Morelos. Con el objeto de comprobar 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 los individuos que sobrevivieron. Se estableció la relación ictiopatógena entre estos microorganismos y el hospedero, al mismo tiempo que se caracterizaron las formas clínicas de las infecciones provocadas. Se definieron a los patógenos estudiados como oportunistas.

Palabras clave: Bacteriosis, inducción experimental, granjas acuícolas, *vibrio*, *aeromonas*, *pseudomonas*, Enterobacteriae.

ABSTRACT

Specimens of *Cyprinus carpio* were experimental induced, by intramuscular injection with *Vibrio fluvialis*, *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas putida*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Serratia plymuthica* y *Alcaligenes* spp., isolated from sick fishes growing in farms in the states of México and Morelos. The goals to the determination the capacity to genery illness, in order to the accomplishment the Koch's postulates, and the generation of the presence of antibodies in the survived fishes. The etiologic relationship between bacteria and their host were established, at the same time we characterized the clinical forms of this infection. The bacteria studied were defined as opportunistic.

Key words: Bacterial infection, enterobacteria, experimental transmission, fish farms

INTRODUCCIÓN

Un gran número de bacterias patógenas tienen como hábitat los medios acuáticos. En el caso específico de la acuicultura se propicia la ocurrencia de enfermedades infecciosas de origen bacteriano por la compleja relación entre el hospedero, el agente infeccioso y este ambiente

en donde el inicio de infecciones es fuertemente influido por la susceptibilidad del hospedero, la virulencia del patógeno y las condiciones ambientales y de manejo (Pillay, 1992).

Una de las mayores dificultades para el estudio de las enfermedades infecciosas en peces cultivados en granjas

acuícolas ha sido su replicación bajo condiciones experimentales (Amed, 1969 y Anderson, 1972).

Ya se ha logrado establecer experimentalmente la relación etiológica de algunas bacterias. Dentro del grupo de las Gram negativas por ejemplo: *Flexibacter columnaris* (Pacha y Ordal, 1970), *Pseudomonas chlororaphis* (Waluga, 1962), *Pseudomonas anguilliseptica* (Wakabayashi y Egusa, 1972), *Yersinia ruckeri* (Ross, et al., 1966), *Edwardsiella tarda* (Meyer y Bullock, 1973), *Edwardsiella ictaluri* (Hawke et al., 1981), *Vibrio anguillarum* (Cisar y Fryer, 1969), *Vibrio ordalii* (Ranson et al., 1984), *Aeromonas hydrophila* (De Figuereido y Plumb, 1977), *Aeromonas salmonicida* (McGraw, 1952) *Aeromonas masoucida* (Kimura, 1970), *Aeromonas achromogenes* (McCarthy, 1975), *Pasteurella piscida* (Kimura y Kitao, 1971). Sin embargo, dada la creciente contaminación por desechos urbanos y agropecuarios orgánicos e inorgánicos que se vierten a los cuerpos de agua que surten los estanques de granjas acuícolas, la calidad bacteriológica de ésta ha disminuido, aislándose del riñón de los organismos, gran variedad de bacterias de importancia ictiopatógena (Austin y Austin, 1987) cultivados en estos centros, sin establecerse aún completamente la relación que se pudiese manifestar entre estos microorganismos, el hospedero y en este ambiente.

Ante esta incertidumbre es de gran trascendencia el conocimiento de las bacteriosis que se presentan en la acuicultura, debido a las pérdidas económicas que ocasionan en cultivos extensivos; por su impacto sobre poblaciones naturales y por la amenaza sanitaria que representa para la salud pública al ser organismos destinados para consumo humano (Kinkelin, et al., 1981).

Los estudios efectuados sobre el desarrollo de estas bacteriosis, bajo condiciones experimentales, se han llevado a cabo en su totalidad con cepas aisladas en centros acuícolas en otros países. Hasta el momento no se han efectuado este tipo de estudios con cepas nativas de nuestro país.

En el presente trabajo se desarrolló experimentalmente bacteriosis por inyección intramuscular de bacterias aisladas de peces enfermos (*Cyprinus carpio*) a otros individuos susceptibles. Se definió, al mismo tiempo, la caracterización diagnóstica de las formas clínicas de las infecciones provocadas.

Se estableció la relación etiológica entre las bacterias inoculadas y la enfermedad manifiesta en el hospedero (Austin y Austin, 1987), siguiendo metodológicamente una cadena de eventos experimentales mejor conocidos como postulados de Koch (Fuerst, 1981).

MATERIALES Y MÉTODOS

Por un periodo de ocho días se mantuvieron en observación dos lotes de peces (*Cyprinus carpio*) de diferente procedencia: uno provenía de una granja piscícola que representa las condiciones de manejo en estos centros de producción y el otro de la planta de producción acuícola de la UAM-I, que mantienen condiciones sanitarias de manejo óptimas. Después de aclimatarlas se seleccionaron aquellos individuos que no manifestaron lesiones corporales ni signos de enfermedad.

Se prepararon nueve lotes de diez peces cada uno, siete lotes fueron experimentales, a los cuales se les inoculó un patógeno diferente y dos lotes se mantuvieron como control; uno de cada procedencia. 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 su sangre directamente del corazón con jeringas estériles previamente heparinizadas; que se depositó en tubos Eppendorf, se centrifugó por un minuto a 2000 revoluciones por segundo, con una microcentrífuga Eppendorf. Con el suero se tituló a las inmunoglobulinas de los peces por el método de dilución paralela (Bradshaw, 1973). Simultáneamente se preparó el inóculo usando siete cepas aisladas del riñón de peces que manifestaron signos de infección (Austin y Austin, 1987 y Munro, 1982) cultivados en granjas acuícolas de los estados de México y Morelos (Negrete, 1996). Después de ser purificadas, se efectuó la tinción de Gram y se identificaron por la técnica AP1-20E (Analytical Profile Index, 1989), se seleccionaron las especies de mayor importancia ictiopatógena correspondiendo a *Vibrio fluvialis*, *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas putida*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Serratia plymuthica* y *Alcaligenes* spp.

El inóculo se preparó siguiendo la técnica estandarizada por Michel (1980), cada una de las cepas problema se diluyó a la décima (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}) en frascos de vidrio con tapón de rosca de baquelita con 90 ml de infusión cerebro corazón (BHI) estéril. De cada dilución se extrajo 0.1 ml que fue sembrado homogéneamente sobre placas de agar de BHI mediante el uso de una varilla de vidrio acodada, se incubó a 24°C durante 24 horas, después se contaron las unidades formadoras de colonias, con un contador de colonias tipo Quebec, para establecer la dosis letal (Michel, 1980).

Los peces fueron inoculados por vía intramuscular, por debajo de la aleta dorsal y por arriba de la línea lateral. La

cantidad de inóculo se estableció en proporción a la talla de cada pez de acuerdo con Michel (1982). Cada lote de diez peces, se inoculó con una bacteria diferente. Los grupos control, formados por diez individuos cada uno; de una granja piscícola y de la planta piloto acuícola de la UAM-I, fueron preparados de igual forma que los experimentales, con excepción de que el inóculo estaba preparado sólo con agua destilada estéril con objeto de producir el mismo estrés experimental.

A partir de este momento se inició el registro de todos los cambios de comportamiento, alteraciones, lesiones corporales y finalmente se sacrificaron los organismos y se realizó la necropsia de cada sujeto experimental y de control, siguiendo los criterios de Collins (1970), Espinosa y Labarta (1988), Nieto y López (1990) y Reinchenbach (1982) y Roberts y Bromage (1993) para la caracterización diagnóstica.

En los casos en que se presentó la muerte de los peces, al iniciarse la necropsia, se aisló una muestra de riñón (Munro, 1982) con un asa bacteriológica y se sembró en placas de agar de BHI, se purificó la cepa por resiembras sucesivas en placas con agar del mismo medio hasta obtenerse homogeneidad en la morfología de colonia y celular de la cepa obtenida, esto último se verificó por observación de preparación de las colonias aisladas en microscopio de contraste de fases (APHA, 1992). Después de efectuar la tinción de Gram, se identificaron las cepas por la técnica API-20E (Analytical Profile Index, 1989).

La formación de anticuerpos contra las bacterias inoculadas (Fuerst, 1981) se comprobó por titulación de inmunoglobulinas de la sangre de los peces que sobrevivieron a la infección siguiendo las técnicas descritas anteriormente (Bradshaw, 1973). Todo el experimento se replicó con cepas de colección *Vibrio fluvialis* ATCC 33809, *Vibrio alginolyticus* ATCC 7749, *Aeromonas hydrophila* ATCC 9071, *Pseudomonas putida* ATCC 2633, *Flavobacterium meningosepticum* ATCC 3253, *Serratia plymuthica* ATCC 33765 y *Alcaligenes* spp. ATCC 31555.

RESULTADOS

El suero sanguíneo de los peces con los que se llevó a cabo la titulación de inmunoglobulinas antes de inocular a los individuos presentó aglutinación contra: *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas putida* y *Flavobacterium meningosepticum*, con un título bajo; para *Serratia plymuthica* y *Alcaligenes* spp. no se presentó aglutinación.

La caracterización diagnóstica de las formas clínicas de las infecciones desarrolladas por cada una de las bacterias inoculadas se registraron en la tabla 1.

En el grupo de peces inoculados con *Vibrio fluvialis* (Tabla 1), se inició la signología con derrames sanguinolentos en el cuerpo y alteraciones en la piel con 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. 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 fue corazón, riñón e hígado desecho con puntos blancos.

El lote inoculado con *Vibrio alginolyticus* (Tabla 1) inició la signología con fuerte inflamación en la zona del inóculo, necrosándose a medida que avanzaba la infección, se presentó desprendimiento de escamas y de la piel del dorso de los peces. Manifestó exoftalmia, marcada deformación de cráneo y aletas, erosionándose progresivamente. El comportamiento inquieto de los peces se tornó de lento a inmóvil, terminó con nado desequilibrado y finalmente convulsivo. La necropsia se realizó después de un período largo de infección en los diez peces. Fue marcado el daño en los tejidos de todos los órganos incluyendo el 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* (Tabla 1) 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.

Pseudomonas putida (Tabla 1) provocó en todos los casos pérdida del color de la piel, la zona de infiltración: necrosada, excesiva producción de moco y descamación, aletas erosionadas y con forúnculos, el cuerpo de estos organismos mostraron abultamiento a los costados con el eje longitudinal deformado, presentaron puntos blancos con

Tabla 1. Caracterización diagnóstica de los Peces (*Cyprinus carpio*) inoculados con: *Vibrio fluvialis*, *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomona putida*, *Serratia plymuthica*, *Alcaligenes* spp y *Flavobacterium meningosepticum*.

Signos	(Lote 1)	(Lote 2)	(Lote 3)	(Lote 4)	(Lote 5)	(Lote 6)	(Lote 7)
	VIBRIONACEAE <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	AEROMONADACEAE <i>Aeromonas hydrophila</i>	PSEUDOMONADACEAE <i>Pseudomona putida</i>	ENTEROBACTERIACEAE <i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Serratia plymuthica</i>	<i>Alcaligenes</i> spp
Coloración	Decoloración	Obscurecimiento	Zonas oscurecidas Enrojecimiento maculoso	Decoloración	Obscurecimiento	Obscurecimiento	
Piel	Mucosidad	Mucosa-caída de piel. Manchas algodonosas	Mucosidad Manchas blancas	Mucosidad Necrosis punto infiltración	Puntos rojos Mucosidad excesiva	Desprendimiento Musculo expuesto	Oscurecimiento
Escamas	Descamación	Descamación	Caedizas herizadas	Descamación	Descamación	Descamación	Descamación
Aletas y Cola	Erosionadas	Erosionadas repliegue hemorrágicas	Enrojecimiento basal inmóviles	Furunculós en aletas Erosionadas	Furunculós inmovilidad progresiva. Erosión	Replegadas Erosionadas	Erosión de la cauda
Boca	Cierre deficiente	Normal	Boqueo manchas algodonosas	Sin alteración	Labio inferior Ennegrecido	Normal	Normal
Branquias	Oscurecidas	Hemorrágicas	Opérculo abierto Enrojecidas	Sin alteración	Mucoides Hemorrágicas blancas	Manchas negras en los operculos	Normal
Ojos	Opacos	Exoftalmia-Opacidad en ambas corneas	Cornea enturbiada	Enturbiamiento	Opacos exoftalmia	Exoftalmia	Ligera exoftalmia
Cuerpo	Derrames sanguíneos	Inflamado. Ulcerado. Cabeza deformada	Vientre abultado Máculas blancas	Vientre abultado Ano prolapsado Eje deformado	Ensanchamiento Micosis	Inflamado Ano enrojecido	Mucoide
Apetito	Anorexia	Anorexia	Anorexia	Anorexia	Anorexia	Anorexia	Anorexia temporal
Comportamiento	Busca rincones Inmovilidad prolongada Espasmódica	Inmovilidad prolongada	Nerviosos-Huidisos Marcha espasmódica	Irritabilidad Boqueo rápido Inmovilidad	Boqueo-nerviosismo. Golpeo contra paredes	Nerviosismo	Agrupados en las esquinas de acuarios inmovilidad
Nado	Errático y espasmódico	Pérdida del equilibrio	Vertical-lento	Descordinado espasmódico	Irregular	Lento-desequilibrado	Irregular
Otros	Aletas y Abdomén con hemorragia	Destrucción del tejido Muscular en zona inoculo	Cubierta algodonosa	Convulsiones-diarrea	Convulsiones		
Necropsia							
Boca	Sin alteración	-	Depósitos algodonosos Pegadas con moco	Puntos algodonosos	Normal	Normal	N
Tubo digestivo	Ano rojizo-enteritis	Hemorrágico	Desbaratado con ano enrojecido enteritis	Desecho, distención abdominal	Enteritis ano Prolapsado intestino destrozado	Hemorrágico	O
Riñón	Desbaratado	Hemorrágico Desbaratado	Desecho	Septicemia y mal olor	Presenta úlceras y el tejido destrozado	Hemorrágico	M U
Hígado	Granulos blancos	Hemorrágico	Inflamado necrosado descolorido	Puntos blancos	Despedazado	Hemorrágico	R I
Vesícula Biliar y Bazo	Inflamada	-	Sin alteración	Derrame biliar	Ruptura de vesícula	-	E R
Vejiga natatoria	Completa	Colapsada	Dañada	Sin alteración	Pérdida de piel	Colapsada	O
Corazón	Puntos blancos	Necrosado	Enrojecido/con puntos blancos	Necrosado	Ulceraciones blancas	Hemorrágico	N
Gónadas	Inflamadas y fragmentadas	Hemorrágicas Desbaratadas	Desechas	Sin alteración	Dañadas	Destruídas	
Otros	Septicemia generalizada	Cerebro con moco Paquete muscular dañado	Branquias mucosidad Edema generalizado	Muy mal olor al abrir el animal	Diarrea verde/moco aletargamiento	Ulceraciones	

apariciencia algodonosa, exoftalmia y anorexia. Los organismos manifestaron inquietud con boqueo en la superficie del acuario, nado incordiando, y convulsivo, durante el experimento presentaron diarrea. Ocho de los diez peces murieron a los seis días de provocada la enfermedad. Los resultados de la necropsia reportaron: riñón necrosado con muy mal olor; puntos blanquecinos en el hígado; corazón y riñón desecho. Los peces que sobrevivieron después de manifestar 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.

De los peces infectados con *Flavobacterium meningosepticum* (Tabla 1) murieron seis 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 lisado 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* (Tabla 1) sobrevivieron únicamente tres, todos

Tabla 2. Caracterización diagnóstica de los lotes control.

Signos	Lote control procedente de una granja piscícola del Edo. de Méx.				Lote control de la UAM-I	
	PEZ 1	PEZ 2	PEZ 3	PEZ 4	PEZ 5	PEZ 6-10
COLORACIÓN	Obscurecimiento	Normal	Obscurecimiento	Obscurecimiento		N
PIEL	Normal	Puntos rojos	Normal	Normal		
ESCAMAS	Descamación	Descamación	Descamación	Normal		O
ALETAS Y COLA	Enrojecimiento	Erosionadas	Erosionadas	Normal		R
	Erosionadas					
BOCA	Puntos blancos	Labios inf. ennegrecidos	Normal	Puntos algodonosos		
BRANQUIAS	Normal	Normal	Pálidas	Normal		M
OJOS	Exoftalmia	Exoftalmia	Opacos	Opacos		
CUERPO	Abdomen inflamado	Inflamado	Cubierto de moco	Cubierto de moco		A
APETITO	Irregular	Normal	Normal	Normal		
COMPORTAMIENTO	Boqueo	Normal	Boqueo	Boqueo		L
NADO	Irregular	Irregular	Irregular	Irregular		
OTROS						E
NECROPSIA			Al abrir mal olor			
BOCA			Normal			S
TUBO DIGESTIVO			Normal			
RIÑÓN			Normal			
HÍGADO			Normal			
VESÍCULA BILIAR			Normal			
VEJIGA NATATORIA			Normal			
CORAZÓN			Normal			
GÓNADAS			Normal			
OTROS			Branquia con moco blanco			
	Sobreviven	Sobreviven	Murió	Sobreviven	Sobreviven	Sobreviven

los peces mostraron la siguiente signología: el cuerpo se oscureció notoriamente, escamas caedizas, aletas con erosión y repliegue, ligeras manchas oscuras en los opérculos, exoftalmia, pérdida del apetito, comportamiento inicialmente nervioso y el 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 que sobrevivieron al inóculo, cicatrizaron la herida que quedó con apariencia de quemada.

El lote inoculado con *Alcaligenes* spp. (Tabla 1) manifestó en todos los peces signología general: descamación, aletas con ligera erosión, anorexia e inmovilidad temporal. Estos signos se manifestaron los cinco primeros días de ser infectados posteriormente el comportamiento y apariencia fue normal.

El lote control (Tabla 2) registró organismos sanos en un principio. Uno de los peces 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

Tabla 3. Recuperación de patógenos (análisis bacteriológico Post Mortem)

	<i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Aeromona hydrophila</i> <i>Aeromona hydrophila</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Pseudomona putida</i> No Murió	<i>Flavobacterium meningosepticum</i> <i>Flavobacterium Aeromona hydrophila</i>	<i>Serratia plymuthica</i> <i>Serratia plymuthica</i>	<i>Alcaligenes</i> spp No Murió
PEZ 1	<i>Vibrio fluvialis</i> <i>Aeromona hydrophila</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Aeromona hydrophila</i>		<i>Enterobacterias</i> <i>Flavobacterium</i>		
PEZ 2	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Aeromona hydrophila</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	No Murió <i>Pseudomona</i> spp	<i>Pseudomona</i> spp <i>Enterobacterias</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Serratia plymuthica</i> <i>Serratia plymuthica</i>	No Murió No Murió
PEZ 3	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Aeromona hydrophila</i>	<i>Aeromona hydrophila</i> <i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp	<i>Enterobacterias</i> <i>Flavobacterium</i>		
PEZ 4	<i>Vibrio fluvialis</i> <i>Aeromona hydrophila</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Aeromona hydrophila</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp	<i>Vibrio fluvialis</i> <i>Enterobacterias</i> <i>Flavobacterium</i>	<i>Serratia plymuthica</i>	No Murió
PEZ 5	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio fluvialis</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Aeromona hydrophila</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp	<i>Vibrio fluvialis</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Flavobacterium</i>	<i>Serratia plymuthica</i>	No Murió
PEZ 6	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Aeromona hydrophila</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Enterobacterias</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp	<i>Serratia plymuthica</i>	No Murió
PEZ 7	<i>Aeromona hydrophila</i> <i>Pseudomona</i> spp	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Pseudomona</i> spp	No Murió	<i>Serratia plymuthica</i>	No Murió
PEZ 8	<i>Vibrio fluvialis</i> <i>Aeromona hydrophila</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Aeromona hydrophila</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Pseudomona</i> spp	No Murió	No Murió	No Murió
PEZ 9	<i>Aeromona hydrophila</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp <i>Aeromona hydrophila</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Pseudomona</i> spp	No Murió	No Murió	No Murió
PEZ 10	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Enterobacterias</i> <i>Pseudomona</i> spp	<i>Pseudomona</i> spp	No Murió	No Murió	No Murió

algodonosos y moco sobre el cuerpo. La infección fue superada y los peces sobrevivieron.

La titulación de inmunoglobulinas efectuada a los peces sobrevivientes inoculados; con *Pseudomonas putida* registraron aumento de nivel de título de inmunoglobulinas 1:690 a 1:1280; *Flavobacterium meningosepticum* los cuatro peces sobrevivientes aumentaron también el mismo nivel, los peces sobrevivientes al inóculo de *Alcaligenes* spp. presentaron título a 1: 1280, al igual que los inoculados con *Serratia plymuthica*.

Después de la necropsia, como resultado del análisis bacteriológico efectuado a todos los peces muertos, se recuperó en todos los casos al patógeno inoculado (Tabla 3). En las muestras de los lotes inoculados con *Vibrio fluvialis*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas putida* y *Flavobacterium meningosepticum* se aisló e identificó además otras enterobacterias y *Pseudomonas*. En los organismos que no fallecieron durante el proceso infeccioso no se efectuó por lo mismo la recuperación de patógeno (Tabla 3).

Las cepas de colección se comportaron de forma semejante a las condiciones experimentales.

DISCUSIÓN

En el experimento se presentaron dos condiciones diferentes: para los lotes inoculados con *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas putida* y *Flavobacterium meningosepticum*, que los organismos experimentales procedían de una de las granjas acuícolas estudiada, la titulación de las inmunoglobulinas efectuada previa inoculación demostró contacto previo con los microorganismos a inocular, y los peces inoculados con *Vibrio alginolyticus*, *Alcaligenes* spp. y *Serratia plymuthica* que procedían de la planta acuícola de UAM-I, las inmunoglobulinas de estos peces no aglutinaron contra ninguna bacteria de las mencionadas, lo que indica ausencia de contacto con alguno de los patógeno estudiados.

En todos los lotes experimentales se presentó un cuadro clínico básico semejante de bacteriosis en peces (Kinkelin *et al.*, 1985 y Piper, 1992); nadó desordenado (complicaciones en vejiga natatoria), dificultades respiratorias (boqueo), enteritis (emisión de material mucoide 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 mas compleja y aguda. Se coincidió en ambos casos con Hjelthnes y Roberts (1993), Stevenson *et al.* (1993), Espinosa y Labarta (1988) y Collins (1970), también con las necropsias descritas por Roberts y Sheperd (1986) y Amlacher (1984), para una vibriosis provocada específicamente por *Vibrio anguillarum*. *Vibrio fluvialis* fenotípicamente es 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 rápidamente, 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 capaces de producir infecciones.

Los peces infectados experimentalmente con *Aeromonas hydrophila*, presentaron forúnculos 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 y Sheperd (1986) y Amlacher (1984), como Furunculosis.

Estos cuadros clínicos corresponden a una dermionecrosis destacando las ulceraciones, por lo que de acuerdo con Roberts y Bromage (1993) se le consideró propiciadores de infección.

La caracterización signológica registrada por los peces inoculados con *Pseudomonas putida* coincide con Reinchenbach (1982) y con Meyer y Collar (1963), sin embargo, coincidió también con el síndrome mio-entero-hepático fase intestinal, provocada por *Aeromonas liquefaciens*, comparación que se reafirma con la asociación de este patógeno con *Pseudomonas fluorescens* (Amlacher, 1984). Al efectuar la disección en los peces infectados con *Pseudomonas putida*, emanaron un marcado mal olor, además de derrame biliar.

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 tuber-

culosis provocada por *Myxobacterium piscium* reportada por Amlacher (1984). En el caso de *Flavobacterium meningosepticum* debe realizarse un diagnóstico diferencial para evitar confusión con patógenos que presentan el mismo perfil bioquímico, la mayoría de las cepas de *F. meningosepticum* son pigmentadas, por lo que es fácil su 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 además reporta granulomatosis con lesiones distribuidas en el sistema nervioso.

En el lote inoculado con *Alcaligenes* spp. la signología se manifestó en 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 (Mc Carthy, 1977) de células inoculadas 10^7 /ml unidades formadoras de colonias. La comparación diagnóstica con la propuesta por otros autores no se pudo efectuar, se 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 y López, 1990 y Stevenson *et al.*, 1993) quienes reportaron que no se presentan lesiones externas. Contrario a lo que registra la necropsia, coincide con 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, el daño provocado sobre el cuerpo de los peces es de gran importancia para la industria piscícola por el mal aspecto que produce deteriorando 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.

La comparación obtenida experimentalmente con la reportada por otros investigadores, coincide en todos los casos con los criterios seguidos, a excepción de *Alcaligenes* spp. que no registra caracterización signológica específica.

La serie de signos manifiestos en cuatro de los diez peces que se mantuvieron como control, fueron provocados

por las condiciones estresantes que implicó el experimento, por un lado y por otro, a que éstos procedían de la granja acuícola y portaban previamente una carga bacteriana.

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.

Aislar de riñón de los organismos experimentales, además de las bacterias inoculadas, otras bacterias que son consideradas dentro de la flora bacteriana normal de los peces (Horsley, 1977), indica que ambas intervinieron simultáneamente en el proceso infeccioso, disminuyen el potencial inmunológico de los peces (Piper, 1992), facilitan la acción patógena de las bacterias que ingresaron al pez vía el inóculo y provocan las polibacteriosis descritas con signología de únicos agentes etiológicos de las bacteriosis inducidas.

El incremento de los niveles de titulación para los lotes de *Pseudomonas putida*, *Flavobacterium meningosepticum* y el incremento del título para *Alcaligenes* spp. y *Serratia plymuthica*, confirman un proceso de formación de anticuerpos (Fuerst, 1981) por los peces que sobrevivieron.

LITERATURA CITADA

- AMED, D. F., 1969. Oxytetracyclin efficacy as a treatment of furunculosis in coho salmon. U.S. Bur Sport Fish. Wildl., Teach Pap. 31, p. 6.
- AMLACHER, E., 1984. Textbook of fish diseases. T. F. H. Publication. Jersey City, New Jersey, United States. Inc., 319 p.
- ANALYTICAL PROFILE INDEX, 1989. Enterobacteriaceae and other Gram negative Bacteria, 9th. Edition Buimerioux, Francia, 13 p.
- ANDERSON, D. P., 1972. Virulence and persistence of rough and smooth forms of *Aeromonas salmonicida* inoculated into coho salmo (*Oncorhynchus kitsuch*). *Journal Fisheries Research Board of Canada* 29: 204-206.
- APHA, 1992. *Standard Methods for examination of water and wastewater*. 17th Ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 1011 p.
- AUSTIN, B. y D. A. AUSTIN, 1987. *Bacterial fish pathogen diseases in farmed and wild fish*. Ellis Horwood Ltd. England. London. 364 p.
- BRADSHAW, L. J., 1973. *Laboratory Microbiology*. Second Edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia, U.S.A. 311 p.
- CISAR, J. O. y J. L. FRYER, 1969. An epizootic of vibriosis in Chinook salmon. *Bulletin Wildlife Diseases Association* 5: 73-76.

- COLLINS, V. G., 1970. Recent studies of bacterial pathogens of freshwater fish. *Journal Society Water Treatment Examination* 19: 3-31.
- DE FIGUEREIDO, J. y J. A. PLUMB, 1977. Virulence of different isolated of *Aeromonas hydrophila* in channel catfish. *Aquaculture* 11: 349-354.
- ESPINOSA DE LOS MONTEROS, J. y U. LABARTA, 1988. *Patología en Acuicultura*. CAICYT. Madrid, 550 p.
- FRIORITO, M. S., 1970. *Metodología para el estudio bacteriológico*. Bioquímica. Panamericana. Vol. 1. No. 1. Bogotá, Colombia. 475 p.
- FUERST, R., 1981. *Microbiología de Frobisher y Fuerst*. Bogotá, Ed. Interamericana, 90 p.
- HAWKE, J. P., A. C. Mc WHORTER, A. G. STERGERWALT y D. J. BRENNER, 1981. *Edwardsiella ictaluri* sp. nov., the causative agent of enteric septicemia of catfish. *International Journal Systematic Bacteriology* 31 (4): 396-400.
- HJELTHNES, B. y R. J. ROBERTS, 1993. Vibriosis in bacterial diseases of fish. En: INGLIS W., R. J. ROBERTS y R. U. BROMAGE, (Comps.), New York. 391 p.
- HORSLEY, R. W., 1977. A review of bacterial flora of teleosty and elasmobranchs including methods for its analysis. *Journal Fisheries of Biology* 10: 529-552.
- KIMURA, T., 1970. Studies on a bacterial diseases occurred in the adult "Sukuramasu" (*Oncorhynchus masou*) and pink salmon (*O. gorbuscha*) rearing for maturity. *Scientific reports of Hokkaido Salmon Hatchery* 24: 9-100.
- KIMURA, M. y T. KITAO, 1971. On the etiological agent of "bacterial tuberculosis" of seriola. *Fish. Pathology* 6: 8-14.
- KINKELIN, P., G. MICHEL y P. GHITTINGO, 1981. *Tratado de enfermedades de peces*. Zaragoza, 353 p.
- KINKELIN, P., G. MICHEL y P. GHITTINGO, 1985. *Tratado de las enfermedades de peces*. Ed. Acribia. Zaragoza, Madrid. pp. 53-117.
- 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). *Journal Applied Bacteriology* 50: 73-94.
- Mc CARTHY, D. M., 1975. Fish furunculosis caused by *Aeromonas salmonicida* var. *Achromogenes*. *Journal Wildlife Diseases* 11: 489-493.
- Mc CARTHY, D. M., 1977. Some ecology aspects of the bacterial fish pathogen *Aeromonas salmonicida*, pp. 299-232. En: SKINNER, F.A. y J. H., SHEWAN (Comps.) Academic Press. London, England.
- Mc GRAW, B. H., 1952. Furunculosis of fish U.S. Fish and Wildlife. Service Special Reports Fish. No. 84, 87 p.
- MEYER, F. P. y J. D. COLLAR, 1963. Description and treatment of a *Pseudomonas* infection in white catfish. *Applied Microbiology* 12: 201-203.
- MEYER, F. P. y G. L. BULLOCK, 1973. *Edwardsiella tarda*, a new pathogen of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Applied Microbiology* 25: 155-156.
- MICHEL, C., 1980. A standardized of experimental furunculosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal Fish Aquatic Sciences* 37: 746-750.
- MICHEL, C., 1982. Development of bacteria in fish and in water during a standardized experimental infection of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with *Aeromonas salmonicida*. En: ROBERTS R-J (Comp.). *Microbiological diseases of fish*. Academic Press. London, pp. 375-329.
- MUNRO, A. L. S., 1982. The pathogenesis of bacterial diseases of fishes. En ROBLES R-J. *Microbiol disease of fishes*. Academic Press, London, pp. 131-149.
- NEGRETE, R. P., 1996. Análisis bacteriológico en cultivos de Ciprinidos y Salmonidos en granjas acuícolas de los estados de México y Morelos. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). Facultad Ciencias, UNAM, México, 42 p.
- NIETO, T. P. y 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.
- PACHA, R. E. y E. J. ORDAL, 1970. Myxobacterial diseases of Salmonids. In. Snieszko. S.F. A symposium on diseases of fishes and shell-fishes. American Fosj Society Special Publication. 5: 243-257.
- PILLAY, T. V. R., 1992. *Aquaculture and the environment Fishing*. News Book. New York, U.S. pp. 49-98.
- PIPER, G. R., 1992. Fish hatchery management. Department of Interior. U.S. Fish and Wildlife Service. Washington, D.C. pp. 264-368.
- RANSON, D. P., C. N. LANNAN, J. S. ROHOOVEE y J. L. FYER, 1984. Comparison of histopatology and caused by *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii* in three species of Pacific Salmon. *Journal Fish Diseases* 7: 107-115.
- REINCHENBACH, K., 1982. *Enfermedades de los peces*. Ed. Acribia. España, 496 p.
- ROBERTS, R. J., 1981. *Patología de los peces*. Edición Mundi Prensa. Madrid. España, 366 p.
- ROBERTS, R. J. y J. C. SHEPERD, 1986. *Handbook of trout and salmo diseases*. Fishing. New Book L. T. D. Second Edition. London, England. 222 p.
- ROBERTS, R. J., 1993. Introduction fish. pp. 1-20. En: INGLIS. W. ROBERTS, R. J. y BROMAGE R. N. (Comps.). *Bacterial diseases of fish*. Academic Press. London.

- ROSS, A. J., R. R. RUCKER y W. H. EWING, 1966. Description of a bacterium associated with redmouth diseases of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal Microbiology* 12: 763-770.
- STEVENSON, R. D., D. FLEET y B. T. REYMOND, 1993. Enteric redmouth (ERM) and other enterobacterial infections of fish. pp. 80-106. En: INGLIS V., ROBERTS R-J y BROMAGE R.N.(Comps.). *Bacterial diseases of fish*. Academic Press London.
- WAKABAYASHI, H. y S. EGUSA, 1972. Characteristics of a *Pseudomonas* sp. from a epizootic of pond-cultured eels (*Anguilla japonica*). *Bulletin Japanese Society Sciences Fish.* 38: 577-587.
- WALUGA, D., 1962. Enzoootion of focal colliquative necrosis in *Abramis brama* (L.). *Acta Hydrobiologica* 4: 29-38.

Recibido: 4 de noviembre de 1997.

Aceptado: 21 de mayo de 1998.