

## Aislamiento bacteriológico y caracterización de lesiones histopatológicas en tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) de la cuenca amazónica peruana

BACTERIOLOGICAL ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF HISTOPATHOLOGICAL LESIONS IN TETRA BLEEDING HEART (*Hyphessobrycon erythrostigma*) OF THE PERUVIAN AMAZON BASIN

Adhemir Valera A.<sup>1,3</sup>, Jessica Jurado P.<sup>1</sup>, Alberto Manchego S.<sup>2</sup>, Nieves Sandoval C.<sup>1</sup>

### RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de agentes bacterianos y caracterizar las lesiones histopatológicas en tejidos del pez ornamental ‘tetra bleeding heart’ (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedentes de un acuario comercial de la ciudad de Iquitos, Perú. Para el estudio microbiológico se utilizaron 60 peces, tomándose muestras de bazo y riñón. El aislamiento se hizo en agar MacConkey, agar Tripticasa de Soya, agar selectivo para *Pseudomonas*-*Aeromonas* (GSP) y agar Cytophaga. La identificación de los géneros bacterianos se hizo mediante la coloración Gram y pruebas bioquímicas. Para el estudio histopatológico se utilizaron otros 60 peces, evaluándose los tejidos de piel, ojo, branquias, estómago, intestino, hígado, bazo, músculo, riñón y peritoneo. Se aislaron siete géneros bacterianos: *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Staphylococcus* y *Escherichia*. En los estudios histopatológicos, se observó en las branquias la presencia de esporas de *Mixosporidium* sp, hiperplasia y fusión de lamelas; en hígado y peritoneo se hallaron granulomas parasitarios y bacterianos; en músculo, riñón y bazo se encontraron granulomas bacterianos; y en el estómago e intestino se observó hiperplasia de las células epiteliales, entre otras lesiones. El 52.3% (22/42) de los granulomas bacterianos fueron positivos a la tinción de Ziehl Neelsen, donde se evidenció bacterias bacilares largas acidorresistentes. No se observaron lesiones en los ojos.

**Palabras clave:** *Hyphessobrycon erythrostigma*; estudio microbiológico; estudio histopatológico

<sup>1</sup> Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, <sup>2</sup> Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

<sup>3</sup> E-mail: nieves.sandovalchaupe@gmail.com

Recibido: 6 de marzo de 2017

Aceptado para publicación: 15 de octubre de 2017

## ABSTRACT

The aim of this study was to determine the presence of bacterial agents and to characterize the histopathological lesions in ornamental tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) fish from a commercial aquarium in the city of Iquitos, Peru. For the microbiological study 60 fish were used, samples were taken from spleen and kidney. Isolation was done on MacConkey agar, Trypticase Soy agar, Pseudomonas Aeromonas selective agar (GSP) and Cytophaga agar and the genus identification was done by Gram staining and biochemical tests. Another 60 fish were used for the histopathological study where the skin, eye, gills, stomach, intestine, liver, spleen, muscle, kidney and peritoneum tissues were analyzed. Seven bacterial genera were isolated: *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Staphylococcus* and *Escherichia*. Spores of *Mixosporidium* sp, hyperplasia and lamella fusion were observed in gills. In the liver and peritoneum, parasitic and bacterial granulomas were found. In muscle, kidney and spleen, bacterial granulomas were found, and in stomach and intestine epithelial cell hyperplasia were found, among other lesions. Results showed that 52.3% (22/42) of the bacterial granulomas were positive for Ziehl Neelsen staining, which showed acid-fast bacilli bacteria. No lesions were found in the eyes.

**Key words:** *Hyphessobrycon erythrostigma*; microbiological study; histopathological study

## INTRODUCCIÓN

Un estudio hecho en el Perú en 2006 reveló que 100 000 personas se beneficiaban con la extracción de peces ornamentales (FAO, 2010). La explotación y el comercio de peces ornamentales se ha convertido en una actividad económicamente importante, dado el incremento en la demanda nacional e internacional, exportándose a los Estados Unidos de América, Europa y Asia (Ruiz, 2005; FAO, 2010).

La salud de los peces puede afectarse por enfermedades causadas por diversos agentes patógenos, pudiendo llegar a ocasionarles la muerte (Roberts, 2001). Muchas de estas enfermedades son producidas por bacterias, las cuales ingresan al medio acuático ante un mal manejo sanitario, mientras que otras habitan como flora normal del pez o del agua. Sin embargo, en casos de estrés se tiene una respuesta inmune ineficiente en los peces, que es aprovechada por estas bacterias para provocar infecciones (Chuquipiondo,

2014). Asimismo, diversos agentes patógenos que infectan peces de acuario tienen la capacidad de afectar al humano por lo que tienen una implicancia relevante en salud pública (CFSPH, 2007).

Los 'tetra bleeding heart' (*Hyphessobrycon erythrostigma*), conocidos también como tetra corazón sangrante o tetra de mancha roja, son parte de los peces con mayor demanda a nivel internacional (Araujo y Bances, 2009). En peces ornamentales de Rio Negro, Brasil, incluyendo al 'tetra bleeding heart' se han aislado bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Nocardia*, *Acinetobacter* y *Lactococcus*, bacterias potencialmente patógenas y que proliferan en condiciones de estrés (Carvalho *et al.*, 2015). Es poco lo que se conoce del estado sanitario de esta especie en el Perú, de allí que se requiere estudiar los agentes bacterianos que causan lesiones en los tejidos. En el presente trabajo se realiza el estudio microbiológico e histopatológico de *H. erythrostigma* provenientes de la Amazonía del Perú.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Tipo y Lugar de Estudio

El estudio fue de tipo observacional transversal descriptivo y se llevó a cabo en 2015. Los peces en estudio provinieron de un centro de exportación de peces ornamentales amazónicos ubicado en la ciudad de Iquitos, Loreto, Perú. Los peces son capturados en los ríos de la selva peruana y agrupados, según la especie, en acuarios donde reciben el cuidado necesario para su alimentación y mantenimiento de la calidad del agua.

### Tamaño de Muestra

El tamaño de muestra se basó en una frecuencia de 50% de casos esperados, como escenario conservador, un nivel de confianza del 95% y un error aceptado del 10%. Con esta base, se seleccionaron 120 peces 'tetra bleeding heart' (*H. erythrostigma*). Debido al pequeño tamaño de los peces (6 cm de longitud) y de sus órganos (bazo de 2 mm de diámetro, riñón de 3 x 2 mm), la mitad de los peces se empleó en el estudio microbiológico y la otra mitad en el estudio histopatológico,

### Material Biológico

Los peces se encontraban en aparente buen estado de salud y recibían alimento pelletizado. Fueron trasladados 140 peces al Laboratorio de Ictiopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en Lima, en bolsas con agua de su propio acuario y con suficiente oxígeno. Se les mantuvo en ayunas por 12 h para vaciar su tubo digestivo, con la finalidad que el agua de transporte permanezca limpia. El tiempo del transporte fue de tres horas.

A la llegada, los peces fueron trasladados a acuarios, pero no fueron puestos directamente con el agua de estos recipientes

para evitar diferencias en cuanto a temperatura y oxígeno disuelto. Se hizo un cambio gradual durante 24 h. Los peces recibieron alimento pelletizado hasta realizar el proceso experimental, donde se seleccionaron 120 peces.

### Necropsia

Los peces fueron anestesiados mediante adición al agua de benzocaína 1 g por cada 20 l (Ross L y Ross B, 2008) y sacrificados mediante corte medular con hoja de bisturí entre el cerebro y la medula espinal (Roberts y Sheperd, 1980; Rosenthal, 2013). La necropsia se realizó según los procedimientos de rutina (Reimschuessel *et al.*, 1988).

### Estudio Microbiológico

Con ayuda de una lupa, se realizaron punciones en el riñón y el bazo en los 60 peces, utilizando un ansa estéril de punta para el aislamiento de las bacterias.

Las muestras fueron sembradas en medio agar Trypticase de Soya (TSA) a 30 °C por 24 h, Agar Cytophaga a 30 °C por 96 h, agar específico el aislamiento de bacterias del género *Flavobacterium*, Agar GSP a 30 °C por 96 h, agar específico para el aislamiento de *Aeromonas* sp y *Pseudomonas* sp, y Agar MacConkey a 30 °C por 24 h para el crecimiento de bacterias gramnegativas. Para la identificación bacteriana se utilizó el diagrama de identificación propuesto por Orvay (1993), así como el Manual de Determinación Bacteriológica de Bergey's (Hoelt *et al.*, 2000). Los primeros aislados fueron conservados en refrigeración (8 °C) en espera del crecimiento de todas las muestras. Para la identificación y caracterización de las colonias se utilizó la coloración Gram y pruebas bioquímicas como: oxidasa, catalasa, Medio LIA, Agar Simmons Citrato, Medio TSI, Rojo de Metilo-Vogues Proskauer, Medio SIM y la prueba de óxido-reducción.

## Estudio Histopatológico

Luego del sacrificio, se separó la cabeza, cola y aletas del resto del cuerpo, y fueron colocados en un frasco rotulado que contenía formol tamponado al 10% hasta su procesamiento. Se realizó la tinción convencional de hematoxilina y eosina a todas las muestras, y la tinción Ziehl-Neelsen en las muestras que presentaban granulomas con sospecha de ser causadas por *Mycobacterium* sp. Las láminas histológicas fueron observadas con un microscopio óptico de luz con aumentos de 10X, 40X, 100X para determinar lesiones patológicas en bazo, riñón, hígado, estómago, intestino delgado, peritoneo, ojo, piel, músculo esquelético y branquias. Los hallazgos fueron categorizados según el grado de afección (normal, escaso, leve, moderado y severo) y tipo de trastorno (de crecimiento, parasitario, circulatorio, inflamatoria y degenerativo) propuestos por Reimshuessel *et al.* (1992).

## Análisis de Datos

Se realizaron estimaciones de frecuencias de los géneros bacterianos aislados y de las lesiones histopatológicas encontradas, según Bland y Alman (1986).

## Consideraciones Éticas

En el estudio se contemplaron las normas éticas para la investigación señaladas por el Comité de Ética y Bienestar Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## RESULTADOS

En el cultivo microbiológico de las muestras de bazo y riñón se identificaron siete géneros bacterianos: *Flavobacterium* (16/60; 26.7%), *Bacillus* (13/60; 21.6%), *Staphylococcus* (11/60; 28.3%), *Aeromona* (6/60; 10%), *Pseudomona* (3/60; 5%), *Lactobacillus* (1/60; 1.7%), *Plesiomona* (1/60; 1.7%) y *Escherichia* (9/60; 15%).

En el estudio histopatológico del bazo solo se observaron granulomas bacterianos (Figura 1A en el 13.3% (8/60) de las muestras, con un grado de afección escaso y leve.

En la piel se encontró necrosis epitelial (3.3%; 2/60) e infiltración de células inflamatorias en el 20% de los casos (12/60) (Figura 1B).

En el músculo esquelético se observaron pocos quistes de *Microsporidium* sp (5%; 3/60) (Figura 1C), granulomas bacterianos (5%; 3/60) (Figura 1D), infiltración de células inflamatorias (73.3%; 44/60) y necrosis de las fibras musculares (95%; 57/60) (Figura 1E), siendo estos dos últimos hallazgos de grado escaso y leve.

En el estómago se observó hiperplasia de las células epiteliales (85%; 51/60) y atrofia de las células epiteliales (10%; 6/60) (Figura 2A), ambas en grado leve. Además, se encontraron lesiones degenerativas como desprendimiento de las células epiteliales (20%; 12/60) y necrosis del epitelio estomacal (43.3%; 26/60) (Figura 2B), mayormente de grado escaso. En el peritoneo solo se observaron granulomas bacterianos (31.6%; 19/60), granulomas de tipo parasitario (36.6%; 22/60) e infiltración de células inflamatorias (16.6%; 10/60) (Figuras 2C, D).

En el hígado, las lesiones más frecuentes fueron la degeneración hidrópica (88.3%) y la degeneración grasa (43.3%) (Figura 3A) en grados de afección severos. Además, se encontraron granulomas parasitarios (33.3%) (Figura 2F) (ver Cuadro 2).

En las branquias, todas las muestras presentaron hiperplasia del epitelio, fusión de lamelas secundarias (Figura 3A) y esporas de *Mixosporidium* sp (Figura 3B). Asimismo, se encontró infiltración de células inflamatorias en el 63.3% de las muestras (Figura 3B) (ver Cuadro 1). En el riñón, los túbulos renales presentaban degeneración hidrópica (93.3%) y edema peritubular (61.6%) (Figura 3C), además de granulomas bacterianos (13.3%) (Figura 3D) (ver Cuadro 4).

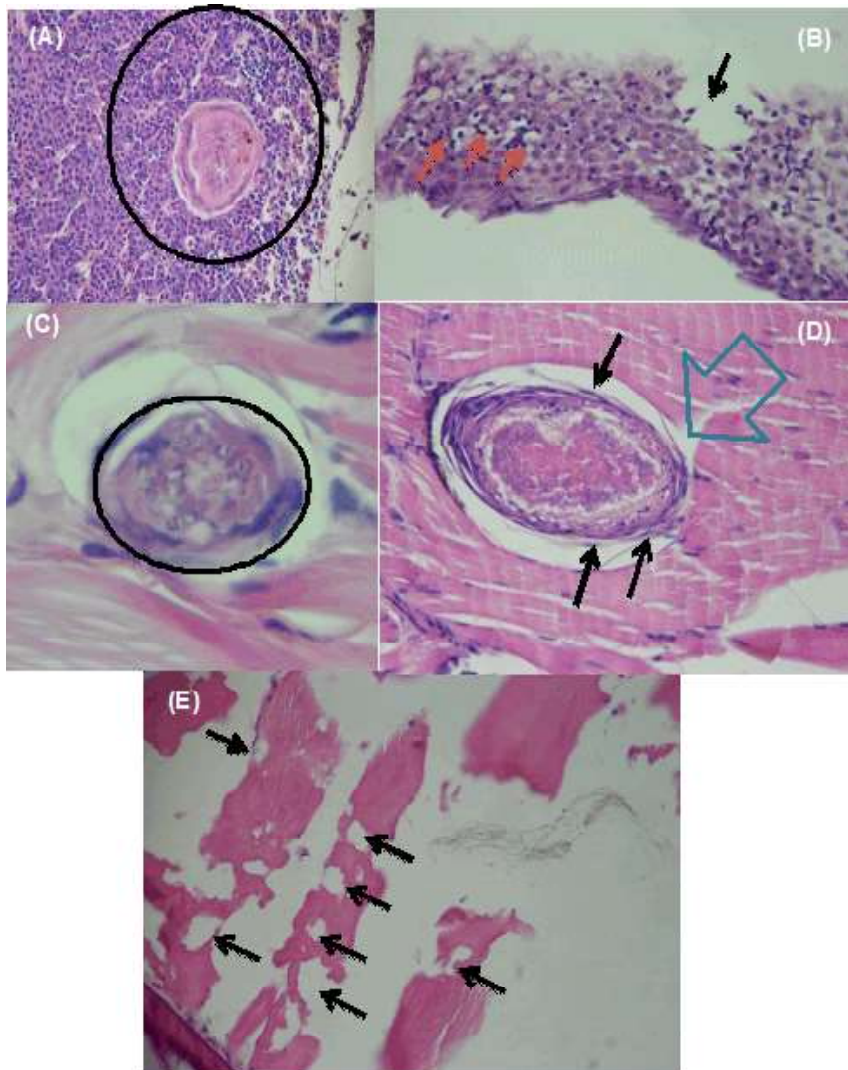


Figura 1. Cortes histológicos de órganos de ‘tetra bleeding heart’ (*Hyphessobrycon erythostigma*). A. Granuloma en el tejido esplénico (círculo). B. Necrosis del tejido epitelial (flecha negra) e infiltración de células inflamatorias de tipo linfocitaria (flechas rojas). C. Quiste con esporas de microsporidios (círculo) en músculo. D. Granuloma bacteriano (flecha verde) en tejido muscular, nótese alrededor los fibroblastos (flechas negras). E. Áreas de necrosis en las fibras musculares (flechas negras). F. Necrosis (flechas negras) y desprendimiento de las células epiteliales (flechas rojas). H-E. 400X

En la histología del intestino, el 78.3% de las muestras presentaron hiperplasia de los enterocitos (Figura 3E) y el 41.6% presentaba necrosis de los enterocitos (Figura 3F), desde grado escaso a moderado (Cuadro 1). Por otro lado, no se encontraron lesiones histopatológicas en ojos.

En 42 muestras de órganos teñidas con H-E se observaron granulomas bacterianos. Estos fueron sometidos a tinción de Ziehl Neelsen encontrando 22 muestras positivas (52.3%, 22/42), correspondiendo al hígado (3/4), riñón (4/8), músculo esquelético (1/3), bazo (2/8) y peritoneo (12/19). En las láminas posi-

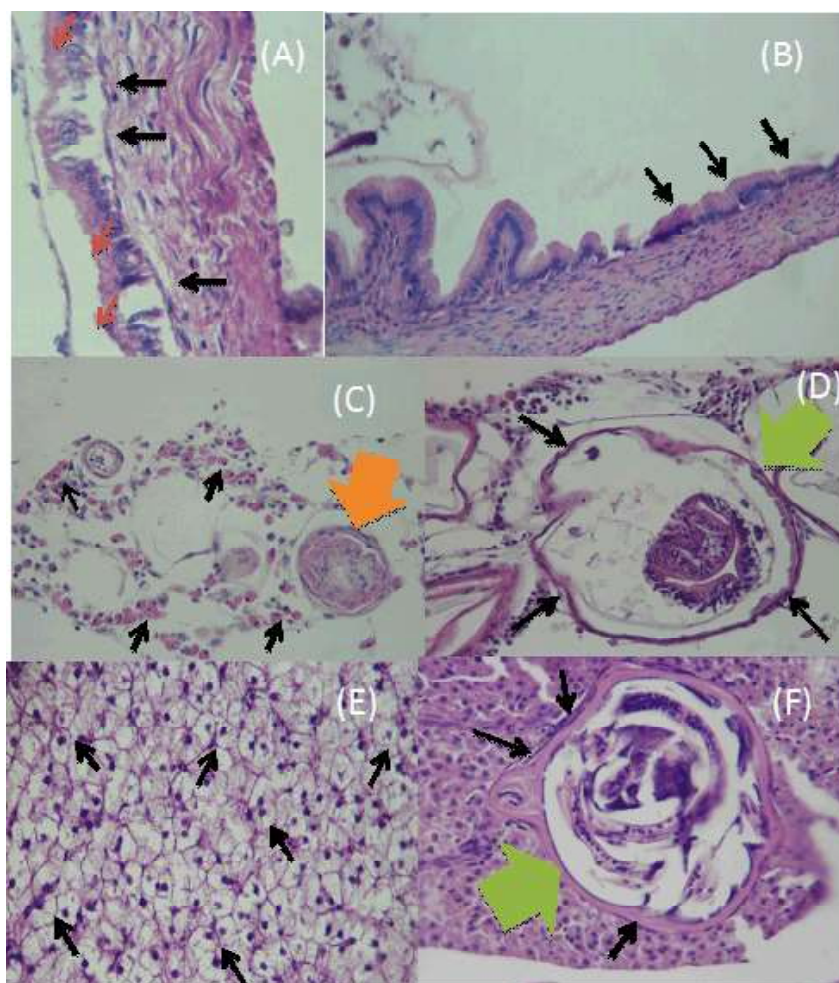


Figura 2. Cortes histológicos del estómago, peritoneo e hígado de 'tetra bleeding heart' (*Hyphessobrycon erythrostigma*). A. Necrosis (flechas negras) y desprendimiento de las células epiteliales (flechas rojas) del estómago. B. Áreas con atrofia en la mucosa gástrica (flechas negras). C. Granuloma bacteriano (flecha naranja) e infiltración de células inflamatorias (flechas negras) en peritoneo. D. Granuloma parasitario (flecha verde), fibroblastos (flechas negras) en peritoneo. E. Degeneración grasa en hígado. Se puede observar a los hepatocitos redondos y con su núcleo excéntrico (flechas negras). F. Granuloma parasitario en hígado (flecha verde), fibroblastos (flechas negras). H-E. 400X

tivas se evidenciaron bacterias bacilares ácido resistentes en el interior de los granulomas (Figura 4).

Lesiones histológicas como granulomas que contienen bacilos acidorresistentes fueron pruebas sólidas de la presencia de bacterias del género *Mycobacterium* en peces (Center for Food Security and Public Health, 2006).

## DISCUSIÓN

Los resultados indican una frecuencia elevada de peces infectados con siete géneros bacterianos potencialmente patógenos. Esto es similar a los valores hallados por Palacios *et al.* (2015) en tetra neón



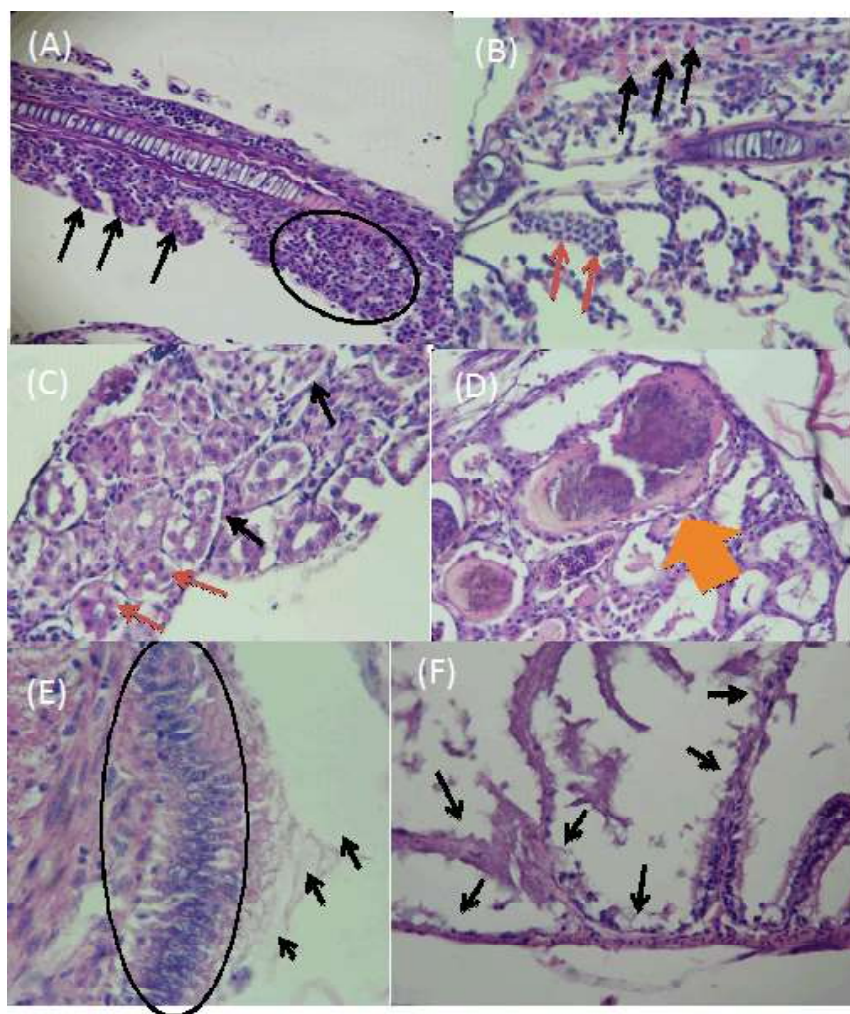


Figura 3. Cortes histológicos de branquias, riñón e intestino de ‘tetra bleeding heart’ (*Hyphessobrycon erythrostigma*). A. Hiperplasia de lamelas (flechas negras), fusión de lamelas (círculo negro) en branquias. B. Células inflamatorias (flechas negras), esporas de *Mixosporidium* sp (flechas rojas) en tejido branquial. C. Edema peritubular (flechas negras) y degeneración hidrópica de las células renales que conforman el túbulo renal (flechas rojas). D. Granulomas bacterianos (flechas rojas) en tejido renal. E. Hiperplasia de los enterocitos (Círculo negro), desprendimiento de las células epiteliales de la mucosa intestinal (flechas negras). F. Áreas de necrosis en el epitelio intestinal (flechas negras). H-E. 400X

(*Paracheirodon innesi*), donde se ha encontrado bacterias de los géneros *Flavobacterium*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* y *Bacillus*; indicando que ambas especies de peces son susceptibles a infectarse con bacterias de los mismos géneros.

Los peces del estudio fueron considerados como clínicamente sanos; sin embargo, el 27.1% se encontraba infectado con *Flavobacterium* sp. Se ha demostrado en peces que las respuestas inmunes innatas y adquiridas que se activan frente a patógenos

bacterianos permiten que las infecciones subclínicas se tornen en clínicas cuando los peces son sometidos a condiciones inmunosupresoras como el estrés de captura y de cautiverio en acuarios (Ellis, 2001).

Las lesiones de hiperplasia en branquias se consideran como respuestas adaptativas frente a afecciones tisulares, pero cuando la hiperplasia no es lo suficientemente rápida para proteger a las lamelas ocurre la fusión lamelar (Ramírez *et al.*, 2009). Estas lesiones pueden ser causadas por agentes bacterianos, parasitarios e incluso por una mala calidad del agua (Noga, 2000). Según Domitrovic (1998), estas lesiones también pueden ser causadas por *Mixosporidium* sp, lo cual concuerda con este estudio donde se observó la presencia de estas esporas en todas las muestras. Similar conclusión fue dada por Iregui *et al.* (1999) en cachama blanca (*Piaractus brachyomus*) quienes reportan una severa atrofia de las lamelas ante la presencia de estos parásitos.

Las lesiones en piel fueron poco frecuentes (infiltración de células inflamatorias, necrosis e hiperplasia de células epiteliales). Estos hallazgos están relacionados a procesos inflamatorios asociados a bacterias de los géneros *Escherichia*, *Pseudomonas* y *Aeromonas* entre otros. *Escherichia* spp puede causar daño a nivel intestinal o producir lesiones en las branquias y en piel, como ha sido observado en peces ornamentales tropicales *Poecilia* sp y *Carassius* sp (Austin B y Austin D, 2007). Este tipo de lesiones son similares a las encontradas en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) infectadas naturalmente por *Pseudomonas fluorescences* y *Aeromona hydrophila* (Mohamed E y Mohamed M, 2008). Es importante señalar que bacterias del género *Aeromonas* son parte de la microflora intestinal normal de peces (Trust *et al.*, 1974) y que cuadros de enfermedad por *Pseudomonas* ocurre ante una baja de la inmunidad (Salcido, 1998) como puede ocurrir ante el estrés por el transporte de los peces.

El 5% de muestras de músculo esquelético afectadas por quistes de *Microsporidium* sp y 5% por granulomas bacterianos difiere del reporte de Palacios *et al.* (2015), quienes encontraron quistes de *Microsporidium* sp en la mayoría de individuos tetra neón (*P. innesi*). Por otro lado, Ferguson (2006) sostiene que la mayoría de los microsporidios con estadios inmaduros parecen producir una leve a nula respuesta inflamatoria y, generalmente, son encontrados como hallazgos incidentales en el trabajo de rutina diagnóstica. La necrosis muscular observada en este estudio pudo estar relacionada con agentes bacterianos o parasitarios, pero también podría haber estado asociada a deficiencias nutricionales (Rajeshkumar y Munuswamy, 2011), ya que estas lesiones fueron leves y escasas, pero presentes en el 95% de las muestras y muchas veces acompañada de leve infiltración de células inflamatorias.

En el intestino, las lesiones como hiperplasia de los enterocitos y de las células productoras de mucus puede estar asociada a un periodo de ayuno prolongado o una situación de estrés (como la captura y traslado), generándose cambios en la permeabilidad intestinal (Farhadi *et al.*, 2003; Lambert, 2003). Asimismo, Magi *et al.* (2009) demostraron que *Pseudomonas anguillisepticum* causaba hiperplasia de los enterocitos, infiltración de células inflamatorias, necrosis y desprendimiento de la mucosa.

No se disponen de muchos estudios acerca de lesiones en el estómago de peces. Las lesiones encontradas de hiperplasia, desprendimiento y necrosis de células epiteliales, y atrofia podrían estar explicadas por el efecto de contaminantes en el río Amazonas, el cual tiene altas cargas de materia orgánica y diversos tipos de desechos tóxicos, los cuales pueden afectar la mucosa gástrica, tal y como lo indica Haloi *et al.* (2013) en un estudio sobre cambios patológicos en el estómago de *Chana Punctatus*. Por otro lado, la degeneración grasa del hígado está asociada, tanto a dietas ricas en grasas (Reyna, 1993), como



Cuadro 1. Frecuencia de alteraciones histológicas de las branquias, según el tipo de trastorno y su grado de afección en el ‘tetra bleeding heart’ (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos, Perú

Trastorno	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (%)
<b>Del crecimiento</b>						
- Hiperplasia del epitelio lamelar	0	0	29	31	0	100.0
- Fusión de lamelas	0	0	28	28	0	100.0
- Atrofia de los filamentos	53	0	4	3	0	11.6
<b>Parasitarios</b>						
- Esporas de <i>Mixosporidium</i> sp	0	0	27	33	0	100.0
<b>Circulatorios</b>						
- Edema perilamelar	27	4	19	10	0	55.0
- Congestión lamelar	43	0	13	4	0	28.3
<b>Inflamatorios</b>						
- Infiltración de células inflamatorias	22	2	24	12	0	63.3

Cuadro 2. Frecuencia de alteraciones histológicas en hígado, según el tipo de trastorno y su grado de afección, en el ‘tetra bleeding heart’ (*Hyphessobrycon erythrostigma*), procedente de Iquitos, Perú

Trastorno	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (%)
<b>Circulatorios</b>						
- Congestión hepática	39	0	14	7	0	35.0
<b>Inflamatorios</b>						
- Granuloma parasitario	40	11	9	1	0	33.3
- Granuloma bacteriano	56	4	0	0	0	6.6
- Infiltración de células inflamatorias	48	0	12	0	0	20.0
<b>Degenerativos</b>						
- Degeneración hidrópica	7	1	2	21	29	88.3
- Degeneración grasa	34	0	10	11	5	43.3
- Necrosis de los hepatocitos	50	2	7	1	0	16.6

Cuadro 3. Frecuencia de alteraciones histológicas en riñón, según el tipo de trastorno y su grado de afección, en el 'tetra bleeding heart' (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos, Perú

Trastorno	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (%)
<b>Del crecimiento</b>						
- Atrofia de los túbulos renales	59	1	0	0	0	1.6
<b>Circulatorios</b>						
- Edema peritubular	23	35	2	0	0	61.6
<b>Inflamatorios</b>						
- Granuloma bacteriano	25	8	0	0	0	13.3
- Infiltración de células inflamatorias	52	7	0	1	0	13.3
<b>Degenerativos</b>						
- Degeneración hidrópica	4	0	16	33	7	93.3
- Necrosis de los túbulos renales	46	13	0	1	0	23.3

Cuadro 4. Frecuencia de alteraciones histológicas en intestinos, según el tipo de trastorno y su grado de afección, en el 'tetra bleeding heart' (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos, Perú

Trastorno	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (%)
<b>Del crecimiento</b>						
- Hiperplasia de las células epiteliales	13	2	24	17	4	78.3
- Hiperplasia de las células productoras de mucus	53	0	6	1	0	11.6
- Atrofia de las células epiteliales	58	1	1	0	0	3.3
<b>Inflamatorios</b>						
- Infiltración de células inflamatorias	53	3	4	0	0	11.6
<b>Degenerativos</b>						
- Degeneración hidrópica	54	0	5	1	0	8.3
- Desprendimiento de las células epiteliales	48	9	3	0	0	20.0
- Necrosis de los enterocitos	35	6	10	9	0	41.6

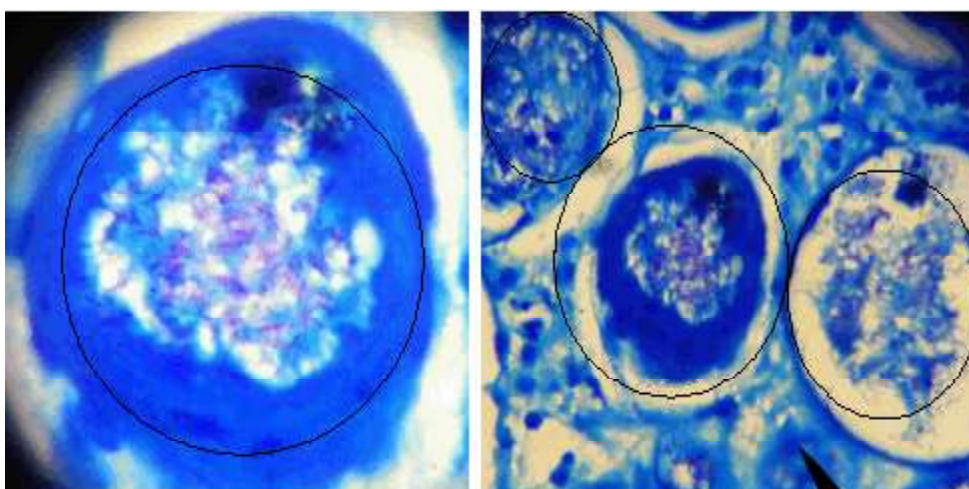


Figura 4. Granulomas bacterianos positivos a Ziehl Neelsen. Obsérvese bacterias bacilares ácido-resistentes en el interior de los granulomas (círculo). 1000X

a una movilización rápida de las reservas lipídicas por ayunos prolongados (Vigliano *et al.*, 2002).

Con respecto a las lesiones encontradas en el riñón, tales como degeneración hidrópica, edema peritubular y necrosis de los túbulos renales, Fathy *et al.* (2013), en su estudio en *Poecilia reticulata* y *Gambusia affinis* expuestos al bisfenol A (compuesto orgánico empleado en la fabricación de plásticos) indican que este tipo de lesiones están relacionadas a causas no infecciosas.

Granulomas bacterianos similares a los encontrados en el presente estudio en hígado, riñón, músculo esquelético, bazo y peritoneo han sido descritos por Huang *et al.* (1999) en tilapias infectadas con *Staphylococcus epidermidis*, demostrando que bacterias del género *Staphylococcus* producen granulomas de manera sistémica. Asimismo, diversas bacterias del género *Mycobacterium* inducen enfermedad sistémica crónica con formación de granulomas en órganos de peces (Frerichs, 1989). Las más comunes en peces de acuario y en el medio natural son *M. marinum*, *M. fortuitum* y *M. chelonae*

(Roberts, 2001), aunque también pueden encontrarse *M. abscessus*, *M. neoaurum*, *M. scrofulaceum* y *M. siniae*; todas ellas con capacidad de infectar al humano (Rhodes *et al.*, 2001). Verján *et al.* (2002) reportaron infecciones por *Mycobacterium* sp con presencia de granulomas en tejidos parenquimatosos y conectivos en siete especies de peces ornamentales (escalar [*Pterophyllum altum*], cardenal [*Parachei-rodon axelrodi*], disco [*Symphysodon aequifasciata*], betta [*Betta splendens*], goldfish [*Carassius auratus*] y gourami [*Trichogaster trichopterus*]).

## CONCLUSIONES

- Se aislaron siete agentes bacterianos en peces 'tetra bleeding heart', pertenecientes a los géneros *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Staphylococcus* y *Escherichia*.
- De las 42 muestras con granulomas bacterianos encontrados en peritoneo, riñón, bazo, hígado y músculo esquelético, 22 de ellas fueron positivas a la tinción

de Ziehl Neelsen, donde se evidenciaron bacterias bacilares largas acidorresistentes.

- Se identificaron agentes parasitarios como los protozoos *Mixosporidium* sp en branquias y *Microsporidim* sp en músculo, así como granulomas parasitarios en peritoneo e hígado.
- Se encontraron diversos hallazgos histopatológicos en branquias, hígado, riñón, bazo, músculo esquelético, peritoneo, intestino delgado y piel.

### Agradecimientos

Los autores manifiestan su agradecimiento al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el financiamiento del estudio.

### LITERATURA CITADA

1. **Araujo A, Bances K. 2009.** Actualización de información de la cadena productiva de peces ornamentales. Iquitos, Perú: Centro de Promoción de la Biodiversidad Amazónica. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP. 24 p.
2. **Austin B, Austin D. 2007.** Bacterial fish pathogens. Diseases of farmed and wild fish. 4<sup>th</sup> ed. Germany: Chichester. 575 p.
3. **Bland JM, Altman DG. 1986.** Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 327: 307-310. doi: 10.1016/S0140-6736(86)90837-8
4. **Carvalho E, Belém-Costa A, Porto J. 2015.** Identificação bioquímica de bactérias patogênicas isoladas de peixes ornamentais no estado do Amazonas. *Rev Bras Saúde Prod Anim* 16: 170-178. doi: 10.1590/S1519-99402015000100018
5. **[CFSPH] The Center for Food Security and Public Health. 2007.** Micobacteriosis. The Center for Food Security and Public Health. *Aquatic Animal Disease* 8: 1-4. Available in: [http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/mycobacterium\\_marinum.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/mycobacterium_marinum.pdf)
6. **Chuquipiondo C. 2014.** Profilaxis y sanidad en peces ornamentales. Iquitos: Stingray Aquarium. 38 p.
7. **Domitrovic HA. 1998.** Histopatología branquial en *Aequidens portalegrensis* (Hensel, 1870): II. Lesiones parasitarias. *Rev Ictiología* 6(1/12): 43-55.
8. **Ellis AE. 2001.** Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. *Dev Comp Immunol* 25: 827-839. doi: 10.1016/S0145-305X(01)00038-6
9. **[FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2010.** Visión general del sector pesquero nacional. Lima, Perú: FAO. Informe técnico. 24 p. [Internet]. Disponible en: [ftp://ftp.fao.org/Fi/document/fcp/es/FI\\_CP\\_PE.pdf](ftp://ftp.fao.org/Fi/document/fcp/es/FI_CP_PE.pdf)
10. **Farhadi A, Banan A, Fields J, Keshavarzian J. 2003.** Intestinal barrier: an interface between health and disease. *J Gastroenterol Hepatol* 18: 479-497. doi: 10.1046/j.1440-1746.2003.03032.x
11. **Fathy M, Walid A, Sayed A. 2013.** Histopathological changes in the kidney of mosquito fish, *Gambusia affinis* and guppy fish, *Poecelia reticulata* exposed to Bisphenol. *Egypt J Aquat Biol Fish* 17: 83-93. doi: 10.21608/ejabf.2013.2188
12. **Ferguson HW. 2006.** Systemic pathology of fish. 2<sup>nd</sup> ed. London: Scotian Press. 366 p.
13. **Frerichs GN. 1989.** Bacterial diseases of marine fish. *Vet Rec* 125: 315-318.
14. **Haloi K, Kalita M, Nath R. 2013.** The study on the histopathological changes of stomach of *Channa punctatus* (Block) by used pesticide endosulfan. *Global J Sci* 13: 1-7.
15. **Holt J, Krieg N, Sneath P, Staley J, Williams S. 2000.** Bergey's manual of determinative bacteriology. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins. 799 p.
16. **Huang S, Chen W, Shei M, Liao I, Chen S. 1999.** Studies on epizootiology and pathogenicity of *Staphylococcus*

- epidermidis in tilapia (*Oreochromis spp*) cultured in Taiwan. Zoological Studies 38: 178-188.
17. **Iregui A, Eslava P, Martínez E, Figueroa J. 1999.** Descripción de un caso de mixosporidiasis clínica en cachama blanca (*Piaractus brachyomus*). *Dahlia* 3: 17-29.
  18. **Lambert G. 2003.** Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *J Anim Sci* 87(Suppl 14): E101-E108. doi: 10.2527/jas.2008-1339
  19. **Magi GE, Lopez S, Magariños GE, Lamas J, Toranzo AE, Romalde L. 2009.** Experimental *Pseudomonas anguilliseptica* infection in turbot *Psetta maxima*: a histopathological and immunohistochemical study. *Eur J Histochem* 53(2): e9. doi: 10.4081/ejh.2009.e9
  20. **Mohamed E, Mohamed M. 2008.** Bacterial causes of skin ulcers affection in *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) with especial reference to its control. VIII International Symposium on Tilapia in Aquaculture. El Cairo, Egypt.
  21. **Noga J. 2000.** Fish disease. Diagnosis and treatment. USA: Iowa State University Press. 497 p.
  22. **Orvay F. 1993.** Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción. España: Ed Universitat Barcelona. 739 p.
  23. **Palacios S, Sandoval N, Bueno C, Manchego A. 2015.** Estudio microbiológico e histopatológico en peces neón tetra (*Paracheirodon innesi*) de la Amazonia Peruana. *Rev Inv Vet Perú* 26: 469-483. doi: 10.15381/rivep.v26i3.11176
  24. **Rajeshkumar S, Munuswamy N. 2011.** Impact of metal on histopathology and expression of HSP 70 in different tissues of milk fish (*Chamos chanos*) of Kaattuppalli Island, South East Coast, India. *Chemosphere* 83: 415-421. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.12.086
  25. **Ramírez W, Rondón I, Vidal H, Eslava P. 2009.** Toxicidad agua y lesiones histopatológicas en cachama blanca (*Piaractus brachyomus*) expuestas a la mezcla de herbicida Roundup® más surfactante Cosmoflux® 411F. *Rev MVZ Córdoba* 14: 1563-1575.
  26. **Reimschuessel R, May E, Bennett R, Lypsky M. 1988.** Necropsy examination of fish. *Vet Clin N Am-Small* 18: 427-433. doi: 10.1016/S0195-5616(88)50040-2
  27. **Reimschuessel R, May E, Bennett R, Lypsky M. 1992.** A classification system for histological lesions. *J Aquat Anim Health* 4: 135:143. doi: 10.1577/1548-8667(1992)004<0135>:CACSFH>2.3.CO;2
  28. **Reyna S. 1993.** Patología celular y tisular. En: Trigo F, Poumián A (eds). *Patología general veterinaria*. México: Nueva Ed Interamericana. p 26-30.
  29. **Rhodes MW, Kator H, Kotob S, van Berkum PV, Kaattari I, Vogelbein W, Floyd MM, et al. 2001.** A unique *Mycobacterium* species isolated from an epizootic of striped bass (*Morone saxatilis*). *Emerg Infect Dis* 7: 896- 899. doi: 10.3201/eid0705.017523
  30. **Roberts J, Shepherd J. 1980.** Enfermedades de la trucha y el salmón. España: Acribia. 187 p.
  31. **Roberts R. 2001.** Fish pathology. 3<sup>rd</sup> ed. Edinburgh: WB Saunders. 472 p.
  32. **Ross L, Ross B. 2008.** Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 3<sup>rd</sup> ed. Scotland, UK: Blackwell Publishing. 222 p.
  33. **Rosenthal S, Sandoval N, Gavidia C, Tabacchi L. 2013.** Frecuencia de lipidosis hepática en truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de fase juvenil en una piscigranja de la sierra central del Perú. *Rev Inv Vet Peru* 24: 118-124. doi: 10.15381/rivep.v24i1.1675
  34. **Ruíz G. 2005.** Estudio de la cadena productiva de peces ornamentales provenientes de la región Loreto en el Perú. Iquitos, Perú: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP. 91 p.



35. **Salcido M. 1998.** Enfermedades bacterianas en sistemas de producción de peces. Tesis de Químico Biólogo. Sonora, México: Univ. de Sonora. 116 p.
36. **Trust T, Bull L, Currie B, Buckley J. 1979.** Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Res Board Can 36: 1174-1179. doi: 10.1139/f79-169
37. **Verján N. 2002.** Sistematización y caracterización de las enfermedades de la cachama blanca (*Piaractus brachipomus*) en algunas regiones de los Llanos Orientales y estudio de la enfermedad septicémica. Tesis de Maestría. Bogotá: Univ Nacional de Colombia. 120 p.
38. **Vigliano F, Quiroga M, Nieto J. 2002.** Adaptaciones metabólicas y realimentación en peces. Rev Ictiol 10: 79-108.