



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**



## **LIBRO DE RESÚMENES**

**I CONFERENCIA INTERNACIONAL EN SANIDAD ACUÍCOLA 2017:**  
**“RECIENTES AVANCES EN INVESTIGACIÓN”**

LIMA, 2017

## EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA DENSIDAD DE CULTIVO (KG/M<sup>2</sup>) EN LA TASA DE CRECIMIENTO STRAND 2005 EN EL CULTIVO DE JUVENILES DE LENGUADO (*Paralichthys adspersus*) EN EL CENTRO DE ACUICULTURA MORRO SAMA DE FONDEPES

Zumilda Contreras Mamani, [czumilda@gmail.com](mailto:czumilda@gmail.com) Centro de Acuicultura Morro Sama, Tacna, Perú

La densidad de cultivo, es parámetro que aún no ha sido estudiado específicamente para el lenguado nativo (*Paralichthys adspersus*), por lo que el presente trabajo experimental tiene el objetivo de evaluar el efecto de la densidad de carga en la tasa de crecimiento de juveniles de Lenguado. Para tal propósito, se ha implementado un diseño experimental de tres tratamientos de densidades de carga: T1 (3 Kg/m<sup>2</sup>); T2 (6 Kg/m<sup>2</sup>) y T3 (9 Kg/m<sup>2</sup>), y en comparación a otras especies planas como el Solea solea se estimó la tasa de crecimiento específico y el coeficiente de variación para un intervalo de densidad de 0,56 a 12,6 kg/m<sup>2</sup>. Durante los 55 días que duro el experimento, la mortalidad incremento significativamente con el aumento en la densidad de siembra, sin embargo, el pico de producción se estimó en la densidad de 7.4 kg/m<sup>2</sup> (Schram et al., 2005). Se acondiciono los peces en tanques circulares de 1 m de diámetro y fueron acondicionados una semana, con tres repeticiones por tratamiento, se seleccionó por rangos de talla de 26 a 28 cm, 28 a 30 cm y 30 a 32 cm, con una muestra de 192 lenguados y la biometría se realizó en forma mensual y otros parámetros físico – químicos del agua: temperatura presentándose valores mínimos (15,9 °C) en la semana 4 (agosto), y los máximos (18,5 a 18,6 °C) en la semana 11 (octubre) en los tres tratamientos, oxígeno T1 (3Kg/m<sup>2</sup>) varió de 5,77 mg/l (semana 13) a 6,94 mg/l (semana 5); en el tratamiento T2 (6Kg/m<sup>2</sup>), el oxígeno promedio semanal varió de 5,50 a 6,74 mg/l; asimismo en el T3 (9Kg/m<sup>2</sup>), el oxígeno varió de 5,29 a 6,39 mg/l. Y el potencial de hidrogeno presentando valores de 8,17 y 8,23 son evaluados durante un periodo de 3 meses. En relación a los resultados de la tasa de crecimiento de juveniles de lenguado se obtuvo que el tratamiento T3 (9Kg/m<sup>2</sup>) y T2 (6Kg/m<sup>2</sup>) presentaron las mayores tasas específicas de crecimiento en talla y peso con respecto al tratamiento T1 (3Kg/m<sup>2</sup>). Respecto a los resultados de la tasa de supervivencia, los tratamientos T1 (3Kg/m<sup>2</sup>) y T2 (6Kg/m<sup>2</sup>), obtuvieron tasas de supervivencia del 100%, mientras que el tratamiento T3 (9Kg/m<sup>2</sup>), resultó con 92,6%. En el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia P < 0,05; la tasa específica de crecimiento para talla y peso, existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con la prueba de significación Duncan y se determinó que los tratamientos T3 (9Kg/m<sup>2</sup>), y T2 (6Kg/m<sup>2</sup>) obtuvieron similares resultados, que el tratamiento T1 (3Kg/m<sup>2</sup>).

# PREDICTION OF PROTEIN VACCINE TARGETS AGAINST FRANCISELLOSIS IN OREOCHROMIS NILOTICUS USING REVERSE VACCINOLOGY AND COMPARATIVE GENOMICS

Ulisses de Padua Pereira\* ([upaduapereira@uel.br](mailto:upaduapereira@uel.br)), Raffaella Menegheti Mainardi, Cesar Toshio Facimoto, Suelen Aparecida Suphoronski, Roberta Torres Chideroli

Laboratório de Bacteriologia de Peixes (LABBEP), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Rodovia Celso Garcia Cid | Pr 445 Km 380 | Campus Universitário, Cx. Postal 10.011.

CEP 86.057-970 Londrina - PR. Brazil. Tel: 55 43 33714765.

## Introduction

Francisellosis is an emergent disease in tilapia production caused by bacteria *Francisella noatunensis subsp orientalis* (Fno). In Brazil, francisellosis losses in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in cage tanks have been reported since 2012, and are responsible for up to 60% of mortality rates. The most common clinical signs that have been associated with the infections are: anorexia, melanosis, exophthalmia, erratic swimming, skin ulcers (primarily at the base of the fins), and gill pallor (Leal et al., 2014).

The development of vaccines against francisellosis in fish remain largely an unresolved problem due this bacteria be an intracellular pathogen (facultative intracellular bacterium). No commercial vaccine against fish francisellosis is currently available, and works that used inactivated whole-cell preparations has yielded unsatisfactory protection (Colquhoun and Duodu, 2011).

Thus, the objective of this work is perform a prediction of immunogenic protein candidates using reverse vaccinology for be used in the future studies using tilapia as a experimental model.

## Material and methods

The genome of Fno strain F1 was deposited by our team in GenBank (NZ\_CP018051) and all protein sequences were submitted for reverse vaccinology MED tool (Santos et al, 2013). Briefly, the subcellular localization of proteins are performed classifying then as cytoplasmic (CYT), secreted (SEC), membrane (MEM) or potentially surface-exposed proteins (PSE). Only proteins classified as PSE and SEC were considered as vaccine candidates due are exposed to the host immune system. The reverse vaccinology ordinarily predict the high number of protein candidates, and due this, the mature density of epitopes (MED) present in each protein was used to predict MED score. Among the 50 proteins with highest MED score (excluding the proteins with premature stop codons) were selected for protein conservation analysis using protein BLAST software (> than 95% of conservation of amino acids sequence and > 90% of protein size). Additionally, the conserved proteins that shown MHC I and II binding properties with adhesion probability greater than 0.51 and no similarity to human proteins when submitted to Vaxign (He et al., 2010) were considered good vaccine candidates.

## Results and discussion

The MED servers classify the 1830 proteins (including some repetitive proteins) of genome of F1 strain in 359 membrane, 1153 cytoplasmic, 95 secreted and 223 potentially surface-exposed proteins. The highest MED score was 26.21 and the lowest zero. For select 50 candidates, 28 proteins with high MED score were excluded due have premature stop codons and from these 50 vaccine targets, 18 were considered

conserved. In vaxign, 04 proteins have binding score more than 0.51 and have no similarity with human proteins. In the end of analysis, two potentially surface-exposed proteins were picked as good vaccine candidates, being related to functions lipoproteins and hypothetical protein with unknown function.

Reverse vaccinology has the advantage of using all genes in the genome of the organism, and as limitations the inability to predict non-protein antigens; if the selected targets are immunogenic or not and the large number of targets normally generated by the prediction (Rappuoli, 2000). Lipoproteins are considered antigens capable of inducing a protective immune response (Reffuveille et al., 2011).

In this study, for the F1 genome, lipoproteins with high MED and promising of vaccine antigens were found. Much attention has focused on the development of subunit protein-based vaccines that are relatively inexpensive to produce by recombinant DNA Technologies (Wang et al., 2011). However, few studies have been conducted to determine the role of lipoproteins in *Francisella noatuensis* subsp. *orientalis* virulence or antigenicity. This work open new insights about vaccine development against franciselosis in Nile Tilapia and theses protein vaccine candidates will be tested in vivo soon.

## Acknowledge

Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento -CNPq and Fundação Araucária.

## References

- D.J. Colquhoun, S. Duodu.2011. *Francisella* infections in farmed and wild aquatic organisms. *Veterinary Research* 42 (47): 2-15.
- He Y, Xiang Z and Mobley HL. 2010. Vaxign: the first web-based vaccine design program for reverse vaccinology and applications for vaccine development. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2010: 1-15.
- Rappuoli, R. Reverse vaccinology. 2000. *Current Opinion in Microbiology* 3(5):45-450.
- Reffuveille F, Leneveu C, Sylvie C, Auffray Y, Rincé A, Chevalier S, et al. 2011. Lipoproteins of *Enterococcus faecalis*: bioinformatic identification, expression analysis and relation to virulence. *Microbiology* 157: 3001–3013.
- Santos, A., Pereira, V.B., Barbosa E, Baumbach, J., Pauling, J. et al.2013. Mature Epitope Density - A strategy for target selection based on immunoinformatics and exported prokaryotic proteins. [BMC Genomics](#) 14(6): 2-11.
- Wang W, Singh M. 2011. Selection of adjuvants for enhanced vaccine potency. *World Journal of Vaccine* 7(1): 33-78.

# PREVALENCIA DE LOS PRINCIPALES AGENTES ETIOLÓGICOS EN *Penaeus vannamei* y *Penaeus stylirostris* SILVESTRES DEL MANGLAR DE TUMBES DURANTE EL 2011 A 2016

Beder Ramírez Segura<sup>1\*</sup>, Mervin Guevara Torres<sup>2</sup>, Rubén Alfaro Aguilera<sup>3</sup>, Vanessa Montoya Romero<sup>4</sup>, María Serna Cruz<sup>5</sup>

1-5 Laboratorio de Sanidad Acuícola de Laboratorio Costero del IMARPE sede Tumbes.

bramirez@imarpe.gob.pe

## 1. INTRODUCCIÓN

Las poblaciones silvestres de las especies emparentadas a las de cultivo, son actualmente considerados en los programas de vigilancia sanitaria (OIE 2010) debido a la capacidad que tienen para actuar como reservorios y transmisores de patógenos (Walker y Winton 2010). A nivel mundial, diferentes estudios han demostrado que los langostinos peneidos silvestres son susceptibles y portadores de diversos patógenos conocidos que afectan a los sistemas de cultivo (Motte *et al.*, 2003; Macías-Rodríguez *et al.* 2014). En este sentido, el presente estudio tuvo por objetivo evaluar la prevalencia del virus de la mancha blanca (WSV), el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV), Baculovirus penaei (BP) y la bacteria de la hepatopancreatitis necrotizante (NHPB) en las poblaciones silvestres de *P. vannamei* y *P. stylirostris* que habitan los canales marea de Tumbes adyacentes a los campos de cultivo de *P. vannamei*.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

**Colecta de muestras.** Los muestreos fueron realizados en 7 canales de marea del manglar de Tumbes de forma quincenal. La cantidad total de ejemplares recolectados durante cada año de estudio varió entre 1361 y 2268 langostinos de las especies *P. vannamei* y *P. stylirostris* (Tabla 1)

Tabla 1.- Número de ejemplares analizados.

Especie	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<i>P. vannamei</i>	662	1128	1631	1268	1529	1163
<i>P. Stylirostris</i>	699	667	462	604	739	762
<b>Total</b>	1361	1795	2093	1872	2268	1925

- 2.1. **Extracción de ácidos nucleicos.** Las extracciones de ADN se realizaron utilizando 25 mg de tejido de branquias de cada langostino muestreado mediante el método CTAB-DTAB (Gustincich *et al.* 1991) modificado para tejidos de crustáceos.
- 2.2. **Análisis por PCR.** Los análisis para NHPB, IHHNV y BP fueron realizados mediante PCR convencional, mientras que WSV fue por PCR anidada. Cada ensayo fue realizado en 20  $\mu$ L de reacción con el kit *Taq DNA Polymerase, recombinant (5 U/ $\mu$ L)* de (Thermo Scientific -Fermentas) en 1  $\mu$ L de ADN extraído, y utilizando los iniciadores referenciados por la OIE (2016).

Tabla 2. Relación de iniciadores utilizados para los ensayos de PCR.

Patógeno	Iniciador	Secuencia 5'-3'
NHPB	pf-1	ACGTTGGAGGTTGTCCTTCAG
	pr-1	TCACCCCTTGCTTCTCATTGT
IHHNV	77012F	ATCGGTGCACTACTCGGA
	77353R	TCGACTGGCTGTTTCATC
BP	BPA	GATCTGCAAGAGGACAAACC
	BPB	ATCGCTAAGCTCTGGCATCC
WSV	146F1	ACTACTAACTTCAGCCTATCTAG
	146R1	TAATGCGGGTGTAAATGTTCTTACGA
	146F2	GTAAGTCCCTTCCATCTCCA
	146R2	TACGGCAGCTGCTGCACCTTGT

## RESULTADOS

Los análisis determinaron que durante el periodo 2011 a 2016, la prevalencia de los patógenos analizados ha variado en un rango de 0 a 3.1% en *P. vannamei* y de 0 a 2.72 en *P. stylirostris* (Figura 1).

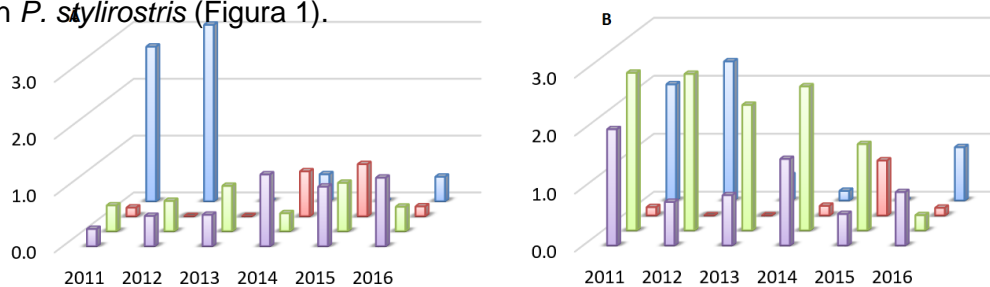


Figura 1. Prevalencia de agentes etiológicos en peneidos silvestres de los canales de marea de Tumbes. A: Prevalencia en *P. vannamei*, B: Prevalencia en *P. stylirostris*, Barras azules: WSV, Barras rojas: IHHNV, Barras verdes: BP y Barras moradas: NHPB.

## DISCUSIÓN

La prevalencia de WSV durante los años 2011 y 2012 en *P. vannamei* y *P. stylirostris* ha seguido una tendencia creciente desde el 2009 en la misma zona de estudio, donde se reportó una prevalencia de 2.75%, siendo superior al periodo 2005 a 2008 (Alfaro et al 2010). La variaciones de prevalencia durante el 2011 y 2012 son ligeramente mayores al 1% reportado para poblaciones de langostinos silvestres (OIE 2016) en condiciones normales y menores que *P. monodon* (0 hasta 89.6%) en India en eventos monónicos (Chakrabarty et al 2014). Las prevalencias máximas de 0.92% y 0.95% encontradas para IHHNV en *P. vannamei* y *P. stilyrostris* respectivamente durante el 2015 son menores a lo reportado en México para *P. stylirostris* (19.5%) (Macías-Rodríguez et al 2014) y en la costa de Ecuador a Panamá para *P. vannamei* (51% a 63%) (Motte et al., 2003). La prevalencia de BP fue mayor en *P. stylirostris*, alcanzando valores superiores al 2% del 2011 a 2014 y decreciendo en los siguientes años; estos valores fueron

ligeramente inferior a lo reportado por Couch (1999) para *P. duorarum* (5%) en México. La prevalencia de NHPB varió de forma similar en *P. vannamei* y *P. stylirostris* llegando hasta 1.5% durante el 2014, estas prevalencias fueron similares a lo reportado para *P. vannamei* (0.77%) y *P. stylirostris* (0.43%) en la misma zona de estudio por Lightner y Redman (1994) e inferiores a lo observado en México para *P. duorarum* (5.6 a 15%) y *P. aztecus* (5 a 17%) (Aguirre-Guzmán et al 2010).

Los resultados obtenidos demuestran que las poblaciones silvestres de *P. vannamei* y *P. stylirostris* de los manglares de Tumbes, son portadores de los patógenos WSV, IHHNV, BP y NHPB con prevalencias inferiores a 3.1% y 2.72 respectivamente a cada especie.

## 1. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre-Guzmán G., Sánchez-Martínez J., Pérez-Castañeda R. y Orta-Rodríguez R. 2010. Detection of necrotizing hepatopancreatitis (NHPB) in wild shrimps from Laguna Madre, Mexico by a multiplex polymerase chain reaction. *Vet. Med.* 40(3): 337-341.
- Alfaro R., Guevara M. y Gonzáles I. 2010. Prevalencia y distribución de los principales agentes etiológicos que afectan los langostinos silvestres en Tumbes, Perú. *Rev. Perú. Biol.* 17(3): 359 – 364
- Chakrabarty U., Mallik A., Mondal D., Dutta S. y Mandal N. 2014. Assessment of WSSV prevalence and distribution of disease-resistant shrimp among the wild population of *Penaeus monodon* along the west coast of India. *Journal of Invertebrate pathology*, 119, 12-18.
- Couch, J. 1999. An enzootic nuclear polyhedrosis virus of pink shrimp: ultraestructure, prevalence, and enhancement. *J. Invertebr. Pathol.* 24:311-331.
- Gustincich S., Manfiolett G., Del Sal G., Schneider C. y Carnici P. 1991. A fast method for high quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques.* 11 (3) 298-302.
- Lightner D. y Redman R. 1994. An epizootic of necrotizing hepatopancreatitis in cultured penaeid shrimp (Crustacea:Decápoda) in northwestern Perú. *Aquaculture* 122:9-18.
- Macías-Rodríguez N., Mañón-Ríos N., Romero-Romero J., Camacho-Beltrán E., Magallanes-Tapia M., Leyva-López N., Hernández-López J., Magallón-Barajas F., Perez-Enriquez R., Sánchez-González S. y Méndez-Lozano J. 2014. Prevalence of viral pathogens WSSV and IHHNV in wild organisms at the Pacific Coast of Mexico. *Journal of Invertebrate Pathology* 116:8-12

## **ABUNDANCIA DE MONOGENEOS EN JUVENILES DE *Myleus schomburgkii* (Pisces: Serrasalminidae), CULTIVADOS EN ESTANQUES DE TIERRA, IQUITOS–PERÚ**

Anai Gonzales<sup>1,2\*</sup>, Gloria Pizango<sup>2</sup>, Christian Fernandez-Mendez<sup>1</sup>, Patrick Mathews<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Carretera Iquitos Nauta km 4.5, AQUAREC, Apartado 784. Iquitos-Perú. E-mail: [\\*anaigonzalessf@gmail.com](mailto:anaigonzalessf@gmail.com)

<sup>2</sup> Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Escuela de Acuicultura. Iquitos-Perú

<sup>3</sup> Universidad Estadual de Campinas, Instituto de Biología. Sao Paulo-Brasil.

### **Introducción**

*Myleus schomburgkii* es un pez que se caracteriza por poseer una franja oscura transversal (Santos et al., 2006), es altamente exportada del medio natural para la acuarofilia. Sin embargo, su estudio en cultivo ha sido escaso. Los peces en cautiverio, son susceptibles a la invasión de agentes parasitarios como monogeneos, que pueden incrementarse en época seca y disminuir en época de lluvia según el grupo (Crespo et al., 1992) y pueden perjudicar la producción (Delgado et al., 2014). El objetivo fue, determinar la relación entre la abundancia de monogeneos y los parámetros físicos y químicos del agua en banda negra.

### **Materiales y Métodos**

Se analizó 30 peces ( $115.024 \pm 20.83$  g y  $17.173 \pm 1.39$  cm) mantenidos en un estanque de tierra, alimentados con dieta al 22% PB. Se evaluaron los parámetros físicos y químicos del agua (temperatura, oxígeno y pH) con una frecuencia de tres veces al día (07, 12 y 16 horas). Los peces se sacrificaron siguiendo las pautas del código sanitario para los animales acuáticos (OIE, 2012) y se obtuvieron muestras de piel, aletas y branquias. Los monogeneos fueron extraídos, contados y fijados en amonio-picrato y glicerina (2v:1v) para la identificación taxonómica (Malberg, 1957). Los índices parasitarios (Bush et al., 1997) calculados fueron: (AT) abundancia total, (AM) abundancia media, (P) prevalencia (%) e (I) intensidad.

### **Resultados**

Se identificó en branquias dos grupos de parasitos de la Clase Monogenea: Solo se encontró monogeneos en las branquias y se identificaron dos grupos de parásitos de la Clase Monogenea: género *Anacanthorus* y especie *Notozothecium bethae*. El género *Anacanthorus* presentó todos los índices parasitarios bajos (AT: 599; AM: 19.96; P: 33.3%; I: 59.8) en comparación con *N. bethae* (AT: 6713; AM: 223.8; P: 100%; I: 223.8). Entre la temperatura del agua y la abundancia de monogeneos existe correlación positiva baja ( $r=0.38$ ;  $p=0,037$ ), es decir, a medida que se incrementan los valores de la temperatura tiende a aumentar la



abundancia de monogeneos. La correlación entre el oxígeno ( $r=0.30$ ;  $p=0.098$ ) y el pH ( $r=0.05$ ;  $P=0.75$ ) con la abundancia de monogeneos no fue significativa, es decir, ninguno de estos dos parámetros influyó en la abundancia (Figura 1).

## Discusión

A pesar de la alta infestación de *N. bethae* en el presente estudio no se observó mortalidad ni estado de enfermedad de los peces, posiblemente debido a que la salud estuvo relacionada con la interacción hospedero-parasito-ambiente (Crespo et al., 1992). Sin embargo, Gonzales et al, (2016) registró el 100% de prevalencia y alta infestación de *N. bethae* ocasionando mortalidad ad de todos los peces analizados. El género *Anacanthorus* presenta mayor patogenicidad (Santos et al., 2013) Sin embargo en el estudio no se observó lesiones, posiblemente debido a la baja prevalencia y abundancia de monogeneos, (Fernandez-Mendez et al., 2015). El incremento de la temperatura del agua ha favorecido la carga parasitaria, sin que los peces manifestaran signo de enfermedad, es decir, existió una relación entre el hospedero, el parásito y el ambiente (Crespo et al., 1992).

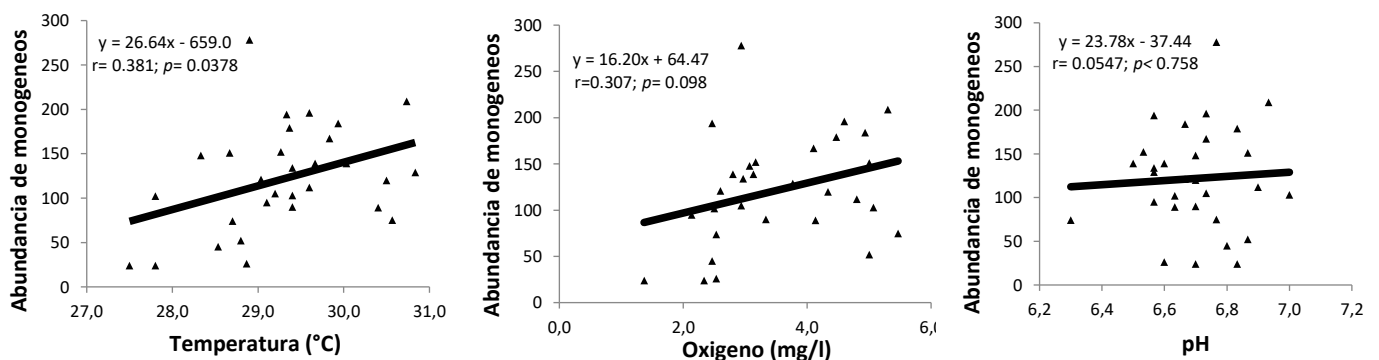


Figura 1. Correlación entre la temperatura, oxígeno y pH del agua con la abundancia de monogeneos.

## Referencias bibliográficas

- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., & Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of parasitology*, 575-583. Ibama, Manaus. 40-43.
- Fernández-Méndez, C., Gonzales, A., & Pizango, G. (2015). Valores hematológicos y parasitológicos de banda negra *Myleus schomburgkii* (Pisces, Serrasalminidae) cultivados en estanques de tierra. *Folia Amazónica*, 24(2), 79-84.
- Gonzales, A. F., Mathews, P. D., Luna, L. E., & Mathews, J. D. (2016). Outbreak of *Notozothecium bethae* (Monogenea: Dactylogyridae) in *Myleus schomburgkii* (Actinopterygii: Characiformes) cultured in the Peruvian Amazon. *Journal of Parasitic Diseases*, 40(4), 1631-1635.

## INFECCIÓN SUBCUTÁNEA EN *Paracheiroidon axelrodi* OCASIONADA POR *Dermocystidium* sp.

Silvia E. Plaul<sup>\*1,2</sup>, Pedro F. Andrés Laube<sup>1,2</sup>, Martín M. Montes<sup>3</sup>, Emilio Topa<sup>3</sup>, Sergio R. Martorelli<sup>3</sup> y Claudio G. Barbeito<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Ictiopatología y Acuicultura, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata (UNLP). La Plata, Buenos Aires, Argentina. [splaul@fcnym.unlp.edu.ar](mailto:splaul@fcnym.unlp.edu.ar)

<sup>2</sup>Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada, Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Centro de Estudios Parasitológicos y Vectores (CEPAVE), CCT-La Plata-CONICET-UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

### Introducción

*Paracheiroidon axelrodi* (Schultz), el tetra cardenal, es utilizado como pez ornamental. Con frecuencia, los peces obtenidos en ambientes silvestres están sujetos a estrés, suelen presentar lesiones y además antes de su comercialización, no tienen el tiempo de cuarentena necesario para prevenir la introducción de patógenos o la aparición de enfermedades infecciosas (Kim *et al.*, 2002). En el Servicio de Ictiopatología y Acuicultura, se recibieron ejemplares de tetra cardenal provenientes de diferentes acuarios que presentaban quistes tubulares localizados en los flancos del cuerpo (Fig. 1). El objetivo del presente trabajo fue identificar al agente etiológico y describir las alteraciones histológicas de las lesiones subcutáneas en los lugares en donde se ubicaban los quistes.



Figura 1. Vista lateral de *Paracheiroidon axelrodi* infectado.

### Materiales y Métodos

Los quistes fueron removidos del hospedador y se observaron bajo microscopio estereoscópico. Además, 10 ejemplares de *P. axelrodi* con infección severa fueron sacrificados por sobredosis anestésica y fijados por inmersión en formalina tamponada al 10%. Las muestras fueron descalcificadas mediante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (Plaul *et al.*, 2017) y procesadas por inclusión en parafina. Se efectuaron cortes de 3-4  $\mu$ m, que posteriormente se colorearon con Hematoxilina y Eosina (H&E), Tricrómico de Masson y Ácido Peryódico-Schiff/ Hematoxilina (PAS/ H).

## Resultados

Al observar los quistes bajo microscopio estereoscópico se identificó al agente etiológico como *Dermocystidium* sp. La observación de las secciones histológicas reveló que los quistes en algunas zonas llegaban a penetrar hasta la musculatura (Fig. 2).

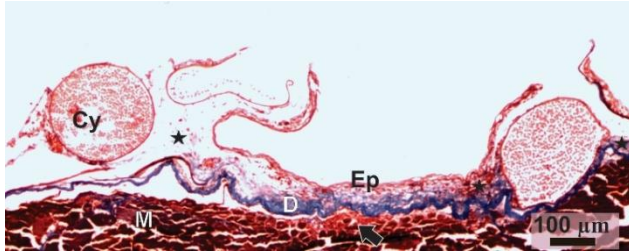


Figura 2. Quiste situado en la epidermis. Tricrómico de Masson. Cy: quiste, Ep: epidermis, D: dermis, M: músculo, infiltración celular (estrella), área hemorrágica (flecha).

Además, los tejidos conectivo y muscular presentaban hemorragias. En el infiltrado observado alrededor de los quistes se hallaron principalmente linfocitos y macrófagos.

## Discusión y Conclusiones

Hasta la fecha, hay tres informes sobre Dermocistidiosis en tetra cardinal (Reichenbach-Klinke, 1982; Lewisch, 2010; Langenmayer *et al.*, 2015). Esta es una enfermedad con una alta tasa de mortalidad (Hassan *et al.*, 2014). En conclusión, debido a las lesiones subcutáneas observadas en *P. axelrodi* y a las características morfológicas del quiste asociado a las mismas, el diagnóstico histopatológico sería dermatitis-miositis producida por el parásito *Dermocystidium* sp.

## Referencias

- Hassan, M.A., Osman, H.A.M. & Mahmoud, M.A. (2014). Studies on Dermocystidiosis (yellow muscle disease) among some marine fishes of Arabian Gulf and Red Sea coast, Jeddah, Saudi Arabia. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 22, 478-487.
- Kim, J.H., Hayward, C.J., Joh, S.J. & Heo G.J. (2002). Parasitic infection in live Fresh water tropical fishes imported to Korea. *Diseases of Aquatic Organisms*, 52, 169-173.
- Langenmayer, M.C., Lewisch, E., Gotesman, M., Hoedt, W., Schneider, M., El-Matbouli, M. & Hermanns, W. (2015). Cutaneous infection with *Dermocystidium salmonis* in cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi* (Schultz, 1956). *Journal of Fish Diseases*, 38, 503-506.
- Lewisch E. (2010). *Dermocystidium* sp. bei Neon salmlern und Roten Neon. *Aqua Terra Austria*, 6, 34.
- Paul, S.E., Andrés Laube, P.F., Pacheco Marino, S.G., Santamaría Martín, C.J., Moyano, D.A. & Barbeito, C.G. (2017). Morphological techniques used in ichthyopathological diagnosis. En A. Méndez-Vilas (Ed.), *Microscopy and imaging science approaches to applied research and education* (pp. 269-280). Zaragoza, España.

Reichenbach-Klinke H. (1982). Eine Dermocystidium-Art im Neon fisch. Die Aquarien und Terrarien Zeitschrift, 35, 145.

## **FLAVOBACTERIOSIS EN *Oncorhynchus mykiss*, *Piaractus brachypomus* Y *Colossoma macropomum*, EN PISCIGRANJAS DE LA REGIÓN CUSCO.**

Mora S., C. P.

c\_mora\_s@hotmail.com

Dirección Regional De Producción – Gobierno Región del Cusco.

El presente trabajo reporta la presencia de patologías macroscópicas e infecciones sistémicas causadas por por flavobacterias en la crianza intensiva de las especies *Oncorhynchus mykiss*, *Piaractus brachypomus* y *Colossoma macropomus*, en el ámbito de la región Cusco, considerándose como enfermedades emergentes .

El cuadro clínico observado en *Oncorhynchus mykiss* en la parte externa fue la presencia frecuente por delante de la aleta dorsal lesiones ulceradas, con bordes necrosados, melanosis; internamente esplenomegalia, renomegalia, palidez del hígado y riñón, a veces con presencia de ascitis; en el caso de las especies *Piaractus brachypomus* y *Colossoma macropomus* en la parte externa fue la existencia de una mancha blanca en parte o todo el cuerpo del pez que posteriormente se ulcera, melanosis, llegando a observarse en casos graves el sistema óseo, internamente esplenomegalia, palidez del hígado y riñón. Observándose que la muerte en ambos casos es en forma aguda.

Para el diagnóstico las muestras fueron tomadas de peces vivos, de las úlceras así como de la disociación de tejido esplénico y renal, las cuales fueron llevados a laboratorio en un medio de transporte, amies, para luego ser coloreados (Gram) y cultivados en medios nutritivos para su recuperación ( tioglicolato y TSA) y finalmente en medios selectivos para el aislamiento de microorganismos aerobios. La identificación de las bacterias se realizó mediante el método de biotipificación (micro Scan),

Del análisis clínico y de laboratorio se pudo tener un diagnóstico confirmativo que el agente etiológico fue *Flavobacterium spp*; probablemente *Flavobacterium psychrophilum* causante de la enfermedad conocida como “silla de montar” en *Oncorhynchus mykiss* y *Flavobacterium columnare*, causante de la enfermedad conocida como “columnaris” en *Piaractus brachypomus* y *Colossoma macropomus*



Imagen 1 : alevines de *Oncorhynchus mykiss* afectado por Flavobacteriosis,



Imagen 2 : alevines de *Colossoma macropomun*, afectado por Flavobacteriosis,



Imagen 3 : *Piaractus Brachypomus*, afectado por Flavobacteriosis,

# ANÁLISIS DE SECUENCIAS REPETIDAS EN EL GENOMA DE *Escherichia coli* AISLADA EN LANGOSTINO (*Litopenaeus vannamei*) Y CAMARÓN DE RIO (*Cryphiops caementarius*) DE LIMA-PERÚ MEDIANTE LA TÉCNICA DE (REP)-PCR

André Sánchez V.<sup>1\*</sup>, Enrique Serrano-Martínez<sup>2</sup>, Luis LLanco A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Becario FONDECYT- Cienciactiva. Maestría en Sanidad Acuícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

<sup>2</sup>Docente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

\*[andre.sanchez.v@upch.pe](mailto:andre.sanchez.v@upch.pe)

**Agradecimientos:** A Cienciactiva del CONCYTEC por el apoyo financiero brindado al Programa de Maestría en Sanidad Acuícola de la UPCH (Convenio de Gestión N° 230-2015 FONDECYT)

## INTRODUCCIÓN

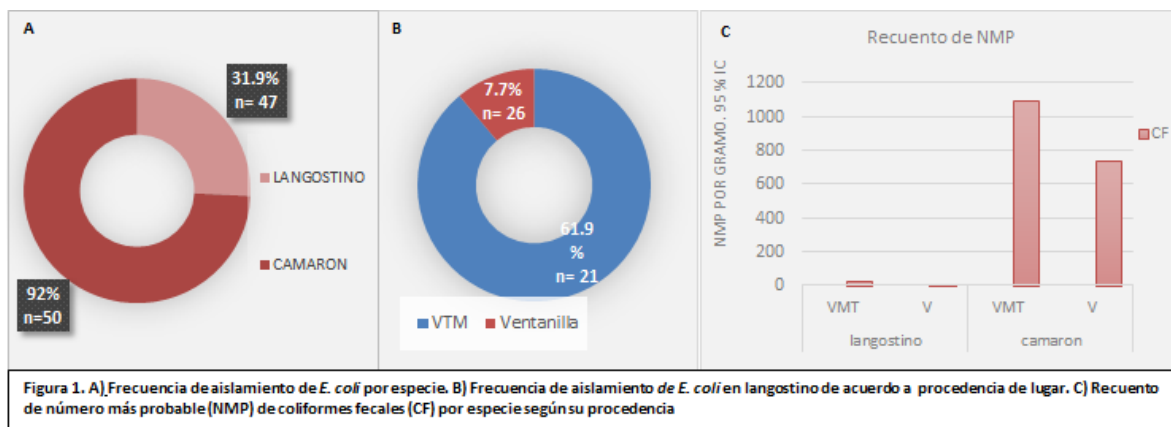
El langostino (*Litopenaeus vannamei*), explotado en la acuicultura, y el camarón de río (*Cryphiops caementarius*), capturado en su estado salvaje, son comercializados en terminales pesqueros de la región de Lima. Estas especies, cuando son consumidas de forma semicruda, pueden actuar como transmisores de *Escherichia coli*, bacteria coliforme causadora de diarreas, cuya transmisión es asociada a mala calidad del agua y manipulación de alimento (Chakravarty *et al.*, 2015). 2016). El objetivo del estudio es determinar la diversidad genética de *E. coli* mediante la técnica REP-PCR.

## MATERIALES Y METODOS

Las muestras procedieron del Terminal Pesquero de Ventanilla (V) y Villa María del Triunfo (VMT). El total de muestras colectadas fue 97; la enumeración de *E.coli* realizada de acuerdo al Método BAM (FDA, 2013), considerando únicamente la parte comestible de ambas especies. Finalmente, la diversidad genética intraespecie se determinó por la técnica de REP-PCR (Versalovic *et al.*, 1998).

## RESULTADOS, DISCUSION Y CONCLUSIONES

*E. coli* fue aislada con mayor frecuencia en el camarón de río que en el langostino (Figura 1.A), esto puede deberse a la elevada carga bacteriana que reciben los ríos, contaminados por desechos de origen humano (Chakravarty *et al.*, 2015). Asimismo, el mercado de Ventanilla presenta langostinos en mejores condiciones higiénicas que las de VMT (Fig.1B); en camarón esto no es significativo (100% de prevalencia en ambos lugares). El recuento de número más probable (NMP) de coliformes fecales ofreció valores por encima del límite máximo permisible (230 NMP/100g) que sugiere el SANIPES en camarón de río (Figura 1C). Adicionalmente, los ensayos para evaluar la diversidad intraespecie de *E. coli* permitieron identificar clonalidad así como aislados con diferentes perfiles genéticos, demostrando que ambas especies cargan múltiples subtipos de esta bacteria (Mohapatra *et al.*, 2007). Por tanto, se concluye que ambas especies acuícolas son positivas para *E. coli*, genéticamente diferenciables; el camarón de río presenta mayor carga bacteriana, representando un peligro para la salud pública y el mercado de VMT presenta mayor número de muestras contaminadas de langostino.



## REFERENCIAS

Chakravarty M., Ganesh P., Amaranth D., Shanti Sudha B., Subhashini M. 2015.

*Escherichia coli* – ocurrence in the meat of shrimp, fish, chicken and mutton and its antibiotic resistance. *European Journal of Experimental Biology*. 5(7):41-48.

[FDA] U.S FOOD AND DRUG. Feng P., Weagan S., Jinneman K. 2013 [internet] [acceso 27 septiembre 2016]. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm>

Versalovic J., Koeuth T., Lupski R. 1991. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*.19(24): 6823-6831

Mohapatra B., Broersma K., Mazumder A. 2007. Comparison of five rep-PCR genomic

fingerprinting methods for differentiation of fecal *Escherichia coli* from humans, poultry and wild birds. *FEMS microbiology letters*. 277(1):98-106.

## **DETECCIÓN DE *Perkinsus sp* EN EL BIVALVO *Anadara tuberculosa* TUMBES-PERÚ.**

K.Pretell\*, K. Zapata, P. Masias, J. Lignot, V. Cedeño, E. Mialhe, B. Diringier.

BIOTECOOP, INCA BIOTEC, MARBEC, CONCEPTO AZUL

[Krizmar\\_5@hotmail.com](mailto:Krizmar_5@hotmail.com).

**AGRADECIMIENTO:** CONCYTEC, Universidad Nacional de Tumbes

### **INTRODUCCIÓN.**

Los parásitos del género *Perkinsus* han causado considerables pérdidas en poblaciones silvestres y cultivadas de bivalvos alrededor del mundo (Audemard, 2008) existiendo dos especies; *P.olseni* y *P. marinus*, de reporte obligatorio a la OIE.(OIE, 2017). El uso de técnicas adecuadas de diagnóstico para la detección e identificación a nivel de especie es un desafío. En Ecuador la presencia de *P. Chesapeake* fue reportada en reproductores asintomáticos y moribundos de concha negra *A. tuberculosa*. En Perú; *A. tuberculosa* constituye el sustento de poblaciones dedicadas a su extracción y comercialización. El objetivo del estudio fue detectar mediante técnicas de diagnóstico molecular la presencia de *Perkinsus* en poblaciones silvestres de *A. tuberculosa* en Tumbes- Perú.

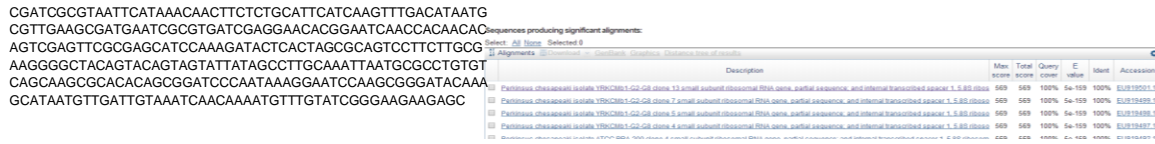
### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los individuos fueron extraídos a partir de bancos naturales de *A. tuberculosa* en los años 2016- 2017. El diagnóstico se realizó a partir de branquias. La extracción y amplificación del ADN se realizó por Semi Nested PCR para cada muestra; los amplicones positivos fueron secuenciados. Los análisis de histopatología fueron de tejidos de animales positivos fijados por 24 horas en formalina 10% (v/v), y observados por microscopía electrónica (Arzul, 2012). La extracción de proteínas se realizó usando el método de Shevchenko, 2013 y analizadas por "Shotgun proteomic"/espectrometría de masa MALDI TOF/TOF.



## RESULTADOS

Sesenta individuos fueron analizados por semi nested PCR, obteniendo 5% (3/60) de positivos (370pb) con un porcentaje de cobertura e identidad 100% a *P. chesapeaki*.

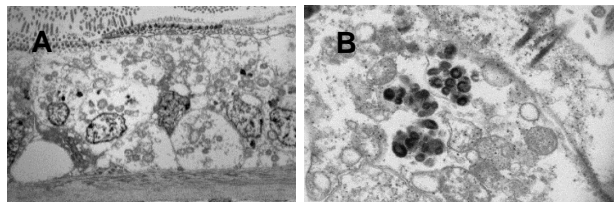


**Fig 01:** (A) Secuencia nucleotídica de la región ITS *P. chesapeaki* (B) Análisis bioinformático

El análisis proteómico permitió detectar 14 secuencias peptídicas pertenecientes al género *Perkinsus* a partir de 5 de las 60 (8.3%) muestras de branquias evaluadas.

Best Sequence	Description	Query cover	Ident
KEMEAMEEQMNNPLVQMRRL	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
RLMPPEIDLNTLFDWLDVDR	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
HKMVDTSLQVGPFLYRPTVAAPHR	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
ARPSPCITTTNGEVAVQDSDEGTPVK	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
GKALDQARTLNALYEOAETEVGRK	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
QLSRMGALQRSVETMDRKNANALK	conserved hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
ACLATNIATHSFFIVYAFILTSR	type v p-type ATPase isoform, [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
RTAGKNSGVSRPFLSLALSVGNELAK	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
QCMVILDWDDTIMPTGVLDHGGK	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
RLMPPEIDLNTLFDWLDVDR	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
SEAASMDDEGRWDDGFSWEVDR	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
GLSVCLDLTIIVSSRNEDSAVLQR	hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
VVEEITAGGEAIPNYSVTDGEAIK	estradiol 17 beta-dehydrogenase [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%
YVKGTCVLEK	conserved hypothetical protein [Perkinsus marinus ATCC 50983]	100%	100%

**Tabla1:** Secuencias aminoacídicas analizadas con Protein Blast obtenidas a partir de branquias de *A. tuberculosa*



**Fig 2:** (A) y (B) Presencia de células de *Perkinsus sp* en branquias del bivalvo *A. tuberculosa* detectadas mediante microscopia electrónica.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Se confirma a *A. tuberculosa* como hospedero del parásito *P. chesapeaki*. Los animales analizados eran asintomáticos, pudiendo ser diagnosticados únicamente en la segunda PCR. Es el primer reporte del uso del Maldi ToF ToF como herramienta de diagnóstico de patógenos en invertebrados marinos. Esta técnica presenta muchas ventajas frente a otros métodos de diagnóstico, sin embargo su sensibilidad y especificidad deben ser validadas con más muestras y en comparación con el diagnóstico por PCR y RFTM.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

Audemard, C., Carnegie, R., & Burreson, M. (2008). Shellfish tissues evaluated for Perkinsus spp. using the Ray's fluid thioglycollate medium culture assay can be used for downstream molecular assays. *Diseases of aquatic organisms*, 80(3), 235-239.

Arzul, I., Chollet, B., Michel, J., Robert, M., Garcia, C., Joly, J. P., & Miossec, L. (2012). One Perkinsus species may hide another: characterization of Perkinsus species present in clam production areas of France. *Parasitology*, 139(13), 1757-1771.

Organización Mundial de Sanidad animal. (2017). Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos OIE. Recuperado de <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-acuatico/acceso-en-linea/>

Shevchenko, A., Tomas, H., Havlis, J., Olsen, J., & Mann, M. (2007). In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. *Nature protocols*, 1(6), 2856-2860.

## “DIVERSIDAD GENÉTICA POR LA TÉCNICA RAPD-PCR DE *Escherichia coli* AISLADA DE *Argopecten purpuratus* PROCEDENTES DEL DEPARTAMENTO DE ANCASH-PERÚ”.

Joysi Carbajal R.<sup>1,3</sup>, Enrique Serrano-Martínez<sup>2</sup>, Luis LLanco A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Becario FONDECYT- Cienciactiva. Maestría en Sanidad Acuícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

<sup>2</sup>Docente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

<sup>3</sup>E-mail: joysi.carbajal.r@upch.pe

**Agradecimientos a:** Cienciactiva del CONCYTEC por el apoyo financiero brindado al Programa de Maestría en Sanidad Acuícola de la UPCH (Convenio de Gestión N° 230-2015 FONDECYT) “Programa de Maestría en Universidades Peruanas”, que permitió la obtención de datos para la ejecución del estudio.

## INTRODUCCIÓN

*Argopecten purpuratus* es una de las principales especies acuícolas en nuestro país, debido a su producción y comercialización, siendo Ancash la segunda mayor región productora (PRODUCE, 2015). Este animal es netamente filtrador y puede acumular bacterias patógenas

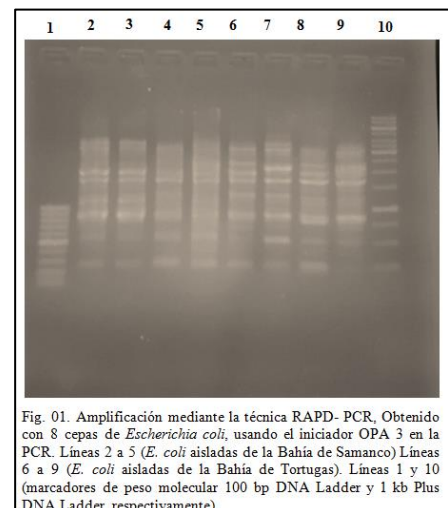
como *Escherichia coli*, de los patotipos enteropatogénico (EPEC), enterohemorrágico (EHEC) y adherencia difusa (EAEC), responsables de enfermedades diarreicas, cuando consumido semicrudo. Molecularmente, se han identificado diferentes genotipos de esta bacteria en humanos, peces y moluscos (Huapaya *et al.*, 2001; Barbosa *et al.*, 2016). Esto deja clara la ubicuidad de *E. coli* como patógeno que puede ser fácilmente transmitido con los alimentos de origen animal o por un inadecuado aseo. El presente trabajo evaluó molecularmente la diversidad genética de *Escherichia coli* aislada de *Argopecten purpuratus* procedentes del departamento de Ancash- Perú”.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras fueron colectadas en las Bahías de Samanco y Tortugas (Ancash), el tamaño muestral fue de 60, considerando cada “muestra” como la homogenización de todas las partes blandas de 3 especímenes. Se realizó el procesamiento de las muestras siguiendo el Manual de Ensayos SANIPES (2009). La extracción de ADN se realizó con el kit DNAeasy blood & Tissue. La evaluación de la diversidad genética se hizo mediante la técnica de RAPD-PCR (Williams *et al.*, 1990; Pizarro *et al.*, 2014). Finalmente, las bandas fueron analizadas y los dendogramas construidos mediante el programa NTSYS utilizando el algoritmo UPMGA

## RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se aislaron 74 colonias de *E. coli*, 44 provenientes de la Bahía de Samanco y 30 de la Bahía de Tortugas, obteniéndose un 75.51% de positividad (74.57% y 76.92%, respectivamente). IMARPE (2015), reportó que la Bahía de Tortugas posee altas concentraciones de Coliformes Totales, sobrepasando los límites de calidad para aguas. El análisis por RAPD-PCR ha mostrado que existe clonalidad entre los aislados de la misma procedencia. Similarmente, Mitsuda *et al.*, (1998), empleando la misma técnica, demostró que todas las cepas obtenidas de pasta de atún eran idénticas. Así mismo, hemos detectado la presencia de subpoblaciones entre los lugares de muestreo (fig. 01). Similar resultado obtuvieron Tim *et al.*, (2003), mediante la técnica de BOX-PCR, afirmando que las cepas de *E. coli* de humanos y animales se relacionan genéticamente según su procedencia. Se concluye que las conchas de abanico de las zonas de muestreo cargan altas concentraciones de *E. coli*, indicando que



el consumo de estos moluscos representa un riesgo para la salud pública, que los aislados presentan elevada diversidad genética entre ellos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Barbosa L J., Ribeiro LF., Lavezzo LF.,Barbosa MMC., Rossi GAM, Do Amaral LA. 2016. Detection of pathogenic *Escherichia coli* and microbiological quality of chilled shrimp sold in street markets. Letters in Applied Microbiology: 62(5):372-378.
- Pizarro M., Orozco J., Degarbo S., Calderón A., Nardello A., Laciari A., Rüttler M. 2013. Virulence profiles of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and other potentially diarrheagenic *E. coli* of bovine origin, in Mendoza, Argentina. Brazilian Journal of Microbiology: 44(4): 1173-1180.
- [PRODUCE] Ministerio de la Producción. 2015. Anuario estadístico pesquero y Acuícola.196 p
- Huapaya B., Huguet J., Suarez V., Torres Y., Montoya Y., Salazar E., Sakuray S., Tejada C., Gambirazio C., Gómez J. 2001. Primer aislamiento de *Escherichiacoli* 0157:H7 Enterohemorrágica en el Perú. Rev. Méd. Exp: 18: 1-2.
- [IMARPE] Instituto del Mar del Perú. 2015. Calidad del Ambiente Marino y Costero de la Región Ancash, 2012:42:(4):436-459 p.
- Mitsuda T., Muto T., Yamada M.,Kobayashi N.,Toba M.,Aihara Y., Ito A.,Yokota S.1998. Epidemiological study of a food-borne outbreak of enterotoxigenic *Escherichia coli* O25: NM by pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA analysis. J Clin Microbiol: 36(3):652-656.
- Williams JGK., Kubelik AR., Livak KJ., Tinguey SV.. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research: 18: 6531- 6535.
- [SANIPES] Organismo Nacional de Sanidad Pesquera. 2009. Manual de Métodos de Ensayo para Mariscos y Aguas.140 p.
- Tim K., Mackereth R., Tien Y., Topp E. 2003. A comparison of AFLP and ERIC-PCR analyses for discriminating *Escherichia coli* from cattle, pig and human source. FEMS Microbiology Ecology: 47: 111-119

## DETERMINACIÓN DE *Vibrio* sp Y *Salmonella* spp. EN *Donax* spp. PROCEDENTES DE BANCOS NATURALES DE LAMBAYEQUE, PERÚ

Fernández R. \*<sup>1</sup>, Shiva C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Peruana Cayetano Heredia

Av. Honorio Delgado 430, Urb Ingeniería, Lima - Perú

\* [rosa.fernandez@upch.pe](mailto:rosa.fernandez@upch.pe)

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT-CIENCIA ACTIVA) por el apoyo financiero brindado al Programa de SANIDAD ACUÍCOLA (contrato 230-2015 FONDECYT. Concurso

PROGRAMAS DE MAESTRÍA EN UNIVERSIDADES PERUANAS”) de la UPCH, que permitió los análisis y la capacitación técnica de nuestros investigadores para la ejecución del estudio.

## **Introducción**

Lambayeque posee grandes expectativas en la maricultura de la región norte del Perú, siendo el recurso hidrobiológico “palabritas”, uno de los más valorados y solicitados por los pobladores costeros, el cual se extrae de manera artesanal de bancos naturales. Esta actividad se realiza de manera libre y sin conocimiento del estado sanitario de este recurso en especial, dejando al consumidor vulnerable de contraer diversas enfermedades tras su consumo. A la par de esto, ocurre un lamentable deterioro y contaminación ambiental de fuentes hídricas y zonas aledañas al litoral a causa de la acción antropogénica. Si a esto se le suma la naturaleza filtradora de los moluscos, el consumo de este recurso hidrobiológico representa un riesgo a la salud de los consumidores; como menciona Bosch *et al.*(2001) sobre el brote de hepatitis A ocurrido en 1999 en España asociado al consumo de “palabritas” congeladas provenientes de Perú. Se necesitan investigaciones en relación a bacterias saprófitas de ambientes marinos como *Vibrio* sp. y de aquellas que no son usualmente aisladas, como *Salmonella*, ambas causantes de enfermedades diarreicas en humanos, por lo cual son de gran importancia para la salud del consumidor; por lo que el conocimiento sanitario de un recurso tan solicitado es necesario. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de *Vibrio* sp. y *Salmonella* spp. en ejemplares de *Donax* spp. “palabritas” procedentes de bancos naturales de Lambayeque, región ubicada al norte de Perú.

## **Materiales y métodos**

El muestreo se ejecutó en tres bancos naturales de la región, ubicados en las playas Los Lobos (6°57'36.9"S 79°51'02.0"W), Santa Rosa (6°52'52.5"S 79°55'28.1"W) y San Pedro (6°36'52.2"S 80°09'51.6"W), durante los meses de mayo y agosto, realizándose dos muestreos quincenales por mes. Se utilizó el protocolo para aislamiento de cepas de *Vibrio* sp. y *Salmonella* spp., establecido para el análisis microbiológico de alimentos de la FDA (*Food & Drug Administration*) (FDA,2016: FDA,2004) ; siendo utilizados ejemplares de talla comercial, mayor a 22 milímetros de longitud valvar. A las colonias compatibles con *Vibrio* se les enfrentó al agente vibriostático O/129 y caracterizados con el sistema API®20E. En el caso de *Salmonella*, se caracterizaron con pruebas bioquímicas y a las sospechosas con API®20E.

## Resultados

En el caso de *Vibrio* sp., se encontraron muestras positivas en todos los meses, siendo el último muestreo caracterizado como *Vibrio alginolyticus*. No se encontraron muestras positivas para *Salmonella* spp.

## Discusión y Conclusiones

Diversos estudios han confirmado la presencia de *Vibrio* sp. en productos de origen marino, encontrándose entre las principales especies *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. alginolyticus*. Leyva (2012) identificó nueve especies de *Vibrio* sp. entre los principales productos hidrobiológicos. En el Perú, Aliaga (2010) aisló e identificó un 4% (6/134) muestras de moluscos positivas a *V. parahaemolyticus*. En México se exige una ausencia de *V. cholerae* O:1 y no O:1 y *V. vulnificus* en 50 g; y *V. parahaemolyticus*, 10<sup>4</sup> NMP/g. La presente investigación encontró presencia de *Vibrio* sp. en *Donax* spp. “palabritas” procedentes de bancos naturales de Lambayeque, teniendo importancia para la salud del consumidor. No se reportó la presencia de *Salmonella* spp. en este recurso; sin embargo, por el reducido número de muestreos no se tiene evidencia suficiente para afirmar que no existe esta bacteria en ambientes marinos ya que esta es una bacteria que no es aislada frecuentemente, siendo encontrada mayormente donde existe presencia de aguas residuales. El aislamiento de *Salmonella* procedente de recursos hídricos e hidrobiológicos es poco frecuente, sin embargo es de gran importancia para la salud del consumidor; por lo que el conocimiento sanitario de un recurso tan solicitado es necesario.

## Referencias

- Aliaga R., Miranda J., Zevallos J. (2010) Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 en pescados y moluscos bivalvos procedentes de un mercado pesquero de Lima, Perú. Rev Med Hered v.21 n.3
- Bosch A., Sánchez G., Le Guyader F., Vanaclocha H., Haugarreau L., Pintó R. (2001) Human enteric viruses in coquina clams associated with a large hepatitis A outbreak. Water Sci Tech 43:61–65
- Food and Drugs Administration [base de datos en Internet]. Bacteriological Analytical Manual Chapter 5. *Salmonella* : 2016
- Food and Drugs Administration [base de datos en Internet]. Bacteriological Analytical Manual Chapter 9. *Vibrio* : 2004
- Leyva V., Puig Y., Espino M., Pereda G., Aportela N. (2013) Especies patógenas de *Vibrio* aisladas en alimentos de origen marino. Rev Panam Infectol 2013;15(1-4):25-32

Universidad Nacional Autónoma de México. Límites Máximos Permisibles para Productos de la pesca. Microbiológicos NOM-242-SSA1-2009. Disponible en [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Limitespermisibles\_18844.pdf]

## **EXPORTACIONES PERUANAS DE PESCA Y ACUICULTURA RECHAZADAS POR INCUMPLIMIENTO DE ESTÁNDARES SANITARIOS Y FITOSANITARIOS POR LOS PAÍSES DE ESTADOS UNIDOS Y ESPAÑA 2010-2016**

Quispe Girón, Claudia\*<sup>1</sup>; Falcón Pérez, Néstor<sup>2</sup>; Casas Velásquez, Gina<sup>3</sup>

\*<sup>1</sup> Becario FONDECYT- CIENCIACTIVA. Maestría en Sanidad Acuícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Perú. [Claudia.quispe.g@upch.pe](mailto:Claudia.quispe.g@upch.pe)

<sup>2</sup> Docente Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima – Perú.

<sup>3</sup> Práctica Privada, Lima – Perú.

---

### **RESUMEN**

**Agradecimientos:** Los autores agradecen al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT-CIENCIA ACTIVA) por el apoyo financiero brindado al Programa de SANIDAD ACUÍCOLA - UPCH (contrato 230-2015 FONDECYT. Concurso PROGRAMAS DE MAESTRÍA EN UNIVERSIDADES PERUANAS”), que permitió los análisis y la capacitación técnica de nuestros investigadores para la ejecución del estudio.

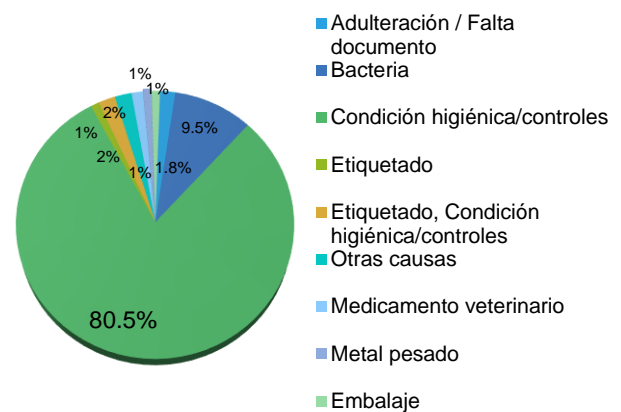
**Introducción:** Para el año 2016 las exportaciones pesqueras peruanas han alcanzado 1 050 622 toneladas métricas según PROMPERU (2016). Los productos pesqueros y acuícolas de consumo humano directo (CHD) representaron el 41% del total exportado por el sector. Ese mismo año, el Perú exportó productos pesqueros a un total de 93 mercados, 12 menos con respecto al año anterior. Los principales mercados de las exportaciones de productos pesqueros CHD fueron Estados Unidos con 22% de participación, España con 18%, luego Corea del Sur con 10%. Nuestro país presenta notificaciones de rechazo de exportaciones que generalmente son por el incumplimiento de estándares sanitarios y fitosanitarios. El objetivo fue determinar las principales causas del rechazo de exportaciones de productos de pesca y acuicultura, por incumplimiento de estándares sanitarios y fitosanitarios durante el periodo por parte del mercado Estadounidense y España en el periodo 2010-2016.

**Metodología:** Se realizó una revisión de reportes de exportaciones pesqueras y productos de la acuicultura que se encuentran registrados en el sitio web INTrade BID (2017) como rechazados.

**Resultados:** Se recopilaron 221 notificaciones de rechazo de importaciones pesqueras de CHD, 200 fueron de Estados Unidos y 21 de España, entre año 2010 al 2016. El 80.5% (178) fueron rechazados por condición higiénica/controles (el productos parece contener material

sucio o descomposición). El 9,5%(21) fue rechazado por presencia bacteriana (salmonella, listeria) detectada en el producto; mientras que el 1.8 %(4) fue por adulteración del producto y falta de documentación (El fabricante no presentó información sobre el proceso de producción del producto de baja acidez; La empresa no está registrada en el FDA como fabricante de productos), las empresas no estuvieron registradas en el FDA (Food and Drug Administration), y otros 8,2% (etiquetado; etiquetado, condiciones higiénica/controles; medicamento veterinario; metal pesado; embalaje y otras causas). Para más detalle ver figura 1.

**Discusión:** El estudio realizado por Boza et al. (2016), analizó los rechazos para exportaciones de alimentos Chilenos desde el año 2002 hasta el 2013, recopilando un total de 607 notificaciones, 42% correspondió productos de la pesca y acuicultura de CHD, la causa principal fue presencia de pesticidas y presencia de bacterias por encima de los límites admisibles. Por otra parte, Rivers (2013) también recopiló notificaciones de rechazo de alimentos de América y El Caribe, donde el



**Figura 1:** Porcentaje de exportaciones peruanas de productos pesqueros CHD rechazadas por incumplimiento de estándares sanitarios y fitosanitarios por los mercados de Estados Unidos y España.

13% fue a pescados y productos de pesca de CHD rechazados por Estados Unidos para el año 2002, la causa principal fue condición higiénica inadecuada y controles. En cuanto a los productos rechazados por la Unión Europea el mayor porcentaje fue para los pescados y productos de la pesca que significó un 30% del total de exportaciones rechazadas, para el año 2008, la causa fue, igualmente, por contaminantes alimentarios.

**Conclusiones:** Las condiciones higiénicas, que incluye principalmente el manejo de la cadena de frío, son la principal causa de rechazo de exportaciones peruanas en el periodo 2010 - 2016 para importaciones de Estados Unidos y España representando un punto crítico en el proceso de exportación que debe ser atendido con urgencia por autoridad sanitaria de productos hidrobiológicos SANIPES (Organismo Nacional de Sanidad Pesquera y por los empresarios.

## Referencias

Boza S., Rozas J. y Rivers R. 2016. Case studies of Latin American food related export refusals for reasons related to technical non-tariff measures. Revista de Direito Internacional, Brasília, v. 13, n. 1, 2016 p. 122-131.

Rivers, Rodolfo [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013. FAO Noticias, Relevancia de la Inocuidad en el Comercio Agroalimentario de ALC: Casos de



rechazos para exportaciones por razones de inocuidad alimentaria. Rodolfo Rivers. Oficial Nacional de Inocuidad y Calidad Alimentaria Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. [Internet], [20 de junio 2017]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/FAONoticias/4-rodolfo-rivers>

INTrade BID-Information System on Integration and Trade. 2017. Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (MSF) [Internet], [20 de junio 2017]. Disponible en: <http://www.intradebid.org/app/web/herramientas/origin-rules>

Informe anual 2016 [PROMPERU] Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo. 2016. Desarrollo del comercio exterior pesquero en el Perú. [Internet], [20 de junio 2017]. Disponible en: [http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/sectoresproductivos/2016\\_Desenvolvimiento\\_Pesquero\\_Promperu.p](http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/sectoresproductivos/2016_Desenvolvimiento_Pesquero_Promperu.p)

## **CONTROL PARASITARIO EN *Oreochromis niloticus* CON DIFERENTES NIVELES DE *Allium sativum* EN POLVO EN LA DIETA**

Déborah O. Rodrigues<sup>1\*</sup>; Fabrício S. Rodrigues<sup>2</sup>, Caniggia L. Andrade<sup>3</sup>, Anderson P. de Moraes<sup>4</sup>, Elieny M. de Abreu<sup>4</sup>, Fernanda G. de Paula<sup>5</sup>, Eugênio G. de Araújo<sup>5</sup>, Lívia M. Pascoal<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Estudiante de Curso de Medicina Veterinária en Universidad Federal de Goiás – Goiânia – Go- [deboraholiveirar@hotmail.com](mailto:deboraholiveirar@hotmail.com)

<sup>2</sup>Maestrado en Ciência Animal en Universidad Federal de Goiás – Goiânia – Go

<sup>3</sup>Maestrado en Zootecnia en Universidad Federal de Goiás

<sup>4</sup>Estudiante de Curso de Zootecnia en Universidad Federal de Goiás – Goiânia – Go

<sup>5</sup>Docentes de la Universidad Federal de Goiás – Goiânia – Go

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

### **Introducción**

Brasil ocupa el octavo lugar en el ranking de producción de peces de agua dulce, siendo *Oreochromis niloticus* (tilapia del Nilo) quien representa el 41,9% de la producción intensiva del país (Ministério da Pesca e Aquicultura, 2012).

Las afecciones parasitarias ocurren principalmente debido a la intensificación de producción y a la mala calidad del agua. Los monogéneos son ectoparásitos pertenecientes al filo platelminto y tienen localización preferente por las branquias y la superficie corporal de los peces. La patogenia consiste principalmente en lesiones externas y aumento de producción de moco (Pavanelli et al., 2008).

Con el aumento de casos de enfermedades, el uso de productos químicos se hizo común lo cual presenta un gran problema para el medio ambiente; de esta manera la utilización de productos de origen natural como ajo en polvo en la ración, se torna una alternativa para minimizar la incidencia de enfermedades, manteniendo así la sustentabilidad de la producción (Fazlolahzadeh et al. 2011).

El principal objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antiparasitario de productos naturales como ajo en polvo, utilizado en la ración de tilapias del Nilo.

### **Materiales y métodos**

El experimento fue realizado en el sector de piscicultura de la Universidad Federal de Goiás- Brasil. Fueron utilizados animales juveniles de la especie tilapias del Nilo, linhagen Supreme, provenientes de piscicultura Aquabel (Turvania, GO). El experimento consistió en cuatro tratamientos (0%; 0,5%; 1%; y 1,5%) de ajo en polvo en la dieta que fue agregado y homogeneizado manualmente a la ración con una solución conteniendo 8% de agua a 45°C y 0,5% de gelatina insípida; después fue sometida a secado natural. El análisis parasitario fue realizado en 32 peces(8 por cada

tratamiento) los cuales fueron desensibilizados por choque térmico en agua con hielo (proporción 1:1) y eutanasia con el método de disección de médula espinal con bisturí. Posteriormente, fue establecida la presencia de parásitos por la suma de los parásitos encontrados en raspado de la superficie corporal y fragmentos branquiales, los cuales fueron observados al microscopio. Los resultados fueron sometidos al análisis de varianza y las medias fueron comparadas por el test Scott-Knott (5%).

## Resultados, Discusión y Conclusiones

La infestación parasitaria por monogeneos fue significativamente menor ( $p = 0,0001$ ) en animales alimentados con ajo en polvo, independientemente de la cantidad utilizada, al ser comparados con el grupo control (Tabla 01).

Los resultados de los análisis parasitológicos obtenidos concuerdan con los obtenidos por otros laboratorios en donde tilapias fueron suplementadas con ajo en polvo en la ración, tuvieron hasta 70% menos de infestación con monogeneos (Militz et al., 2013).

Por todo esto se concluye que la adición de polvo de *Allium sativum* a la ración de *Oreochromis niloticus* en fase juvenil, reduce la infestación de monogeneos.

### Figuras y tablas:

TABLA 01- Promedio de ectoparasitos encontrados en tilapia del nilo

Parásito	Niveles de ajo en polvo en la ración				CV (%)	p
	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%		
Monogeneo	6 a	4 b	4 b	3 b	53,45	0,0001

### Referencias

Brasil, Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2010 (2012). Ministério da Pesca e Aquicultura

Fazlolahzadeh F, Keramati K, Nazifi S, Shirian S, Seifi S. (2011). Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Hematological Parameters and Plasma Activities of ALT and AST of *Rainbow trout* in Temperature Stress. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 5(9), 84-90

Pavanelli GC, Eiras JC, Takemoto RM. (2008). Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. 3ª Ed. Maringá; Editora da Universidade Estadual de Maringá, p. 311.

Militz TA, Southgate PC, Carton AG, Hutson KS. Dietary supplementation of garlic (*Allium sativum*) to prevent monogenean infection in aquaculture. Aquaculture. 2013; 95–99:408–409

## AISLAMIENTO DE BACTERIAS NATIVAS DE *Oncorhynchus mykiss* CON POTENCIAL PROBIÓTICO FRENTE A *Yersinia ruckeri* EN PUNO.

W. Reinaldo Quispe G.\*<sup>1</sup>, Belisario Mantilla M.<sup>1</sup>, Alberto Ccama S.<sup>1</sup>, Yessica Ortega A.<sup>2</sup>  
& Nieves Sandoval Ch.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Altiplano

\*Urb. El Mirador, Mz. C - Lt.8 Puno-Perú; w\_reinaldo@hotmail.com

<sup>2</sup>Organismo Nacional de Sanidad Pesquera – SANIPES

<sup>3</sup>Sección de Ictiopatología Facultad de Medicina Veterinaria-UNMSM

### Introducción:

La “trucha arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) es la principal especie dulceacuícola cultivada en el Perú. Siendo la provincia de Puno el primer productor a nivel nacional (RNIA, 2017). En la acuicultura, la etapa de alevinaje es la más susceptible a las enfermedades y presentan alta mortalidad; debido a que su sistema inmune aún no es competente. Esto sumado a prácticas de manejo inadecuadas como: altas densidades de carga, transferencia al lago con pesos y tallas pequeñas, estrés, etc., favorecen el desarrollo de eventos mórbidos, principalmente las de etiología bacteriana. *Yersinia ruckeri* es el agente bacteriano que se ha identificado más veces en brotes que generan alta mortalidad de peces en las regiones de Ancash, Junín, Huancavelica y Puno (Sandoval, 2015). Para su control, los productores han usado diversos antimicrobianos, sin previos diagnósticos de laboratorio. El objetivo de esta investigación fue aislar bacterias nativas del tracto intestinal de trucha arcoíris y evaluar *in vitro* su efecto inhibitorio frente a *Y. ruckeri*. De esta forma se busca brindar una alternativa saludable y amigable con el medioambiente, frente al uso de antimicrobianos.

### Materiales y métodos:

Se seleccionaron un total de 48 truchas sanas, entre los estadios de alevín y juvenil, con un peso promedio de 4 g y 90 g y con talla promedio de 6 cm y 18.5 cm respectivamente, provenientes de la eclosería del CIPBS Chucuito-Puno de la UNA. Los peces fueron eutanasiados con una sobre dosis de eugenol, a una concentración de 40-60 ppm (Keeme *et al.*, 1998) para el aislamiento de bacterias se tomó asépticamente muestras del intestino medio-posterior, mediante raspado de la mucosa. Las muestras fueron sembradas en agar MRS, para el aislamiento de *Lactobacillus* y *Bacillus*. Posteriormente, los aislados identificados y caracterizados *Lactobacillus* (colonias

pequeñas, blanquecinas cremosas) y *Bacillus* (colonias rizoides cremosas irregulares). fueron desafiados *in vitro* contra *Y. ruckeri*, para este proceso los *Lactobacillus* sp., y *Bacillus* sp., se sembraron en agar MRS e incubados a 28 - 30° C por 24 a 48 horas; luego del cual se retiraron discos de inhibición realizando un corte de 9 mm de diámetro del medio de cultivo MRS; utilizando un tubo de ensayo estéril. Dichos discos de inhibición fueron sobrepuestos en el medio de cultivo de agar Mc Conkey; recién sembrados con la cepa de *Y. ruckeri* (2.7 x 10<sup>7</sup> UFC) e incubadas a 28 - 30° C por 24 a 48 horas. Se realizaron tres repeticiones por cada bacteria nativa aislada. Siendo considerados inhibitorios los discos que presentaron formaciones de halos mayores a 9 mm de diámetro.

### Resultados:

Se identificaron 4 aislados, 3 pertenecientes al género *Lactobacillus* y 1 aislado perteneciente al género *Bacillus*.

Tabla 1: Halos de inhibición de *Lactobacillus* y *Bacillus* frente a *Yersinia ruckeri* (Puno – junio 20017).

AISLADOS	<i>Yersinia ruckeri</i>				□
	Repetición	1ra	2da	3ra	
	Identificación	Halos de inhibición (mm)			
<b><i>Lactobacillus</i> sp.</b>	LP	19	20	20	19,7
	LG	17	19	18	18,0
	LD	18	17	19	18,0
<b><i>Bacillus</i> sp.</b>	BS	15	13	17	15,0

### Discusión:

Dichos resultados, son congruentes con lo reportado por Balcázar *et al* (2007) y Wittwer (2012); quienes manifiestan que los principales grupos de bacterias aisladas del tracto gastrointestinal de salmónidos son bacterias ácido láctica. Asimismo, Henríquez (2013) reportó el aislamiento de *Lactobacillus* spp., y *Bacillus* spp en heces de salmónes. Adicionalmente, Muthukumar y Kandeepan (2015) reportaron que aislados de peces, como *Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp., y *Macrococcus* spp., pueden tener un alto potencial para adherirse a la mucosa de los peces.

### Conclusiones:

Desde el tracto intestinal de la “trucha arco iris” (alevines y juveniles) se logró aislar bacterias nativas, que pertenecen a los géneros *Lactobacillus* y *Bacillus*. Los tres aislados de *Lactobacillus* sp., (LP, LG, LD) inhibieron *in vitro* a *Y. ruckeri*, con halos promedios de inhibición de 19.7, 18.0 y 18.0 mm, respectivamente. El aislado de *Bacillus* sp., inhibió *in vitro* a *Y. ruckeri*, con un halo de inhibición de 15 mm. Se proyecta que la utilización de estos probióticos nativos, podrían mejorar la condición sanitaria de las truchas y, constituir una alternativa frente al uso de los antibióticos en la truchicultura peruana. Mejorando de esta forma, la inocuidad del producto final.

## Referencias:

- RNIA. (2017). *Áreas prioritarias. Estadística y mercados. Producción*. Recuperado de [http://rnia.produce.gob.pe/index.php?option=com\\_content&view=article&id=61&Itemid=79](http://rnia.produce.gob.pe/index.php?option=com_content&view=article&id=61&Itemid=79).
- Keeme, J. L., Noakes, D. L., Moccia, R. D., & Soto, C. G. (1998). The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29, 89-101.
- Balcázar, J. L., Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Vendrell, D., Gironés, O., & Múzquiz, L. (2007). Sequencing of variable regions of the 16S rRNA gene for identification of lactic acid bacteria isolated from the intestinal microbiota of healthy salmonids. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 30, 111–118.
- Muthukumar, P., & Kandeepan, C. (2015). Isolation, Identification and Characterization of Probiotic Organisms From Intestine of Fresh Water Fishes. *International Journal of Current Microbiology Applied Sciences*, 4(3), 607-616.
- Henríquez, C. P. (2013). *Caracterización de propiedades probióticas de microorganismos del tracto digestivo de salmónidos* (tesis de maestría). Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Wittwer, G. (2012). *Caracterización bacteriana de intestino de salmón del atlántico adulto* (tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Sandoval, N. (2015, Octubre). ¿Cuáles son los principales problemas sanitarios y de crianza en las especies acuícolas de piscigranjas del Perú? Mensual. Recuperado de <http://www.cmv1.pe/wp-content/uploads/2015/11/Revista-CMVL3.pdf>

## **ESTABLISHMENT OF A EXPERIMENTAL MODEL OF *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* INFECTION IN *Oreochromis niloticus* THROUGH THE INTRAPERITONEAL ROUTE**

Fernandez-Alarcon M.F.<sup>1\*</sup>, Santana, A.M<sup>1</sup>, Manzini, B.<sup>1</sup>, Innocente, A.C.<sup>1</sup>, Lopes, I.G.<sup>4</sup>, Viadanna, P.H.O.<sup>1,2</sup>, Neto, J.D.<sup>1</sup>, Rodrigues, C.G<sup>1</sup>, Neto, O.C.F<sup>3</sup>, Furlan, L.R.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>PREVET-Sanidade Aquícola, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>2</sup>UNIPAC-Faculdade Antônio Carlos de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil; <sup>4</sup>Aquaculture Center of UNESP, São Paulo State University, São Paulo, Brazil. Email: miguelffa@hotmail.com

**Acknowledgements:** This work was supported by São Paulo Research Foundation (FAPESP) [Grant process number: 2016/25347-1].

### **Introduction:**

*Francisella* spp. is an emerging bacterial pathogen that causes acute or chronic disease in fish species in both warm and cold weather (Soto et al., 2009). In Brazil, the major occurrence of outbreaks of *Francisella* is observed in juvenile tilapia during the cold seasons, causing high economic losses (Jatobá et al., 2016). Fish infected by *F. noatunensis* present, in the majority of organs, disseminated multifocal nodules and multifocal granulomatous lesions containing coccobacilli (Soto et al., 2009). Considering the importance of the disease, the establishment of adequate models of experimental infection that could enable the study of treatments, diagnostic tools and vaccines, among others, is important. The goal of the current study was to establish a tilapia infection model for *Francisella* spp. by using the intraperitoneal route.

### **Materials and methods:**

A preliminary study for determination of lethal dose 50% (LD50) was performed with the isolate 84161CL (PREVET bank), and a LD50 of  $1.32 \times 10^7$  CFU was calculated and established as a challenge dose. Posteriorly, inoculum was prepared by seeding 84161CL strain on cysteine heart agar (24°C, 72 h). Once bacterial growth was observed, 10-fold serial dilutions were performed in saline to obtain  $1.32 \times 10^7$  CFU. 150 tilapia, 20g each, provided from "CAUNESP, Jaboticabal, SP, Brazil", were equally

distributed in 10 tanks and underwent a 10-day period of acclimatization at room temperature of 22°C, and posteriorly received two different treatments: 75 tilapias (5 tanks) inoculated (intraperitoneal injection) with 100 µl of saline solution (G1: Control group) and with 100 µl of bacterial solution (*F. noatunensis* subsp. *orientalis*) containing  $1.32 \times 10^7$  UFC (G2: Infected group). All tilapias were monitored for a period of 21 days post-infection (dpi), where survival rates were monitored. To evaluate the systemic infection, 5 tilapias of each group were euthanized (7, 14, 21 dpi), and organs were examined for typical *Francisella* gross pathologies, while histopathological evaluation was performed on liver, spleen, gill and heart of the same animals. To confirm the systemic infection, *Francisella* isolation was confirmed by PCR at 7 dpi, in the spleen of the same animals used for gross pathologies. PCR analysis was performed using specific primers (F:GCGGATTAAAGGTGGCCTTTGC; R:CCTGCAAGCTATTA ACTCACAGG - Hsieh et al., 2007) to identify *F. noatunensis*, with an expected band pattern of 286 bp.

### **Results:**

Survival rates in tilapias from G1 were of 90.66%, and significantly higher than G2, of 50.66% (Figure 1A). Tilapias from G1 and G2 euthanized at 7, 14 and 21 dpi and after the experimental period, were necropsied, and granulomatous lesions in the spleen were observed in almost all fish of G2 (Figure 1C) and not in fish from G1. Histopathological analysis of tissues from G1 did not display any lesions in the spleen (Figure 1D) and other tissues at all-time points evaluated. No granulomatous lesions were found in the gills, heart and liver of fish from G2. However, tilapias from G2 presented granulomatous lesions in the spleen (Figure 1E) at 7, 14 and 21 dpi. Molecular analyzes confirmed the presence of *F. noatunensis* subsp. *Orientalis* in the spleen of all tilapias tested from G2. The bands obtained aligned around 286 bp, as expected (Figure 1B).



**Discussion/Conclusion:** The results allow us to conclude that the intraperitoneal administration of  $1.32 \times 10^7$  CFU of *F. noatunensis subsp. Orientalis* was effective in inducing francisellosis and therefore is a suitable challenge dose to be applied in tilapia infection model caused by *Francisella* spp.

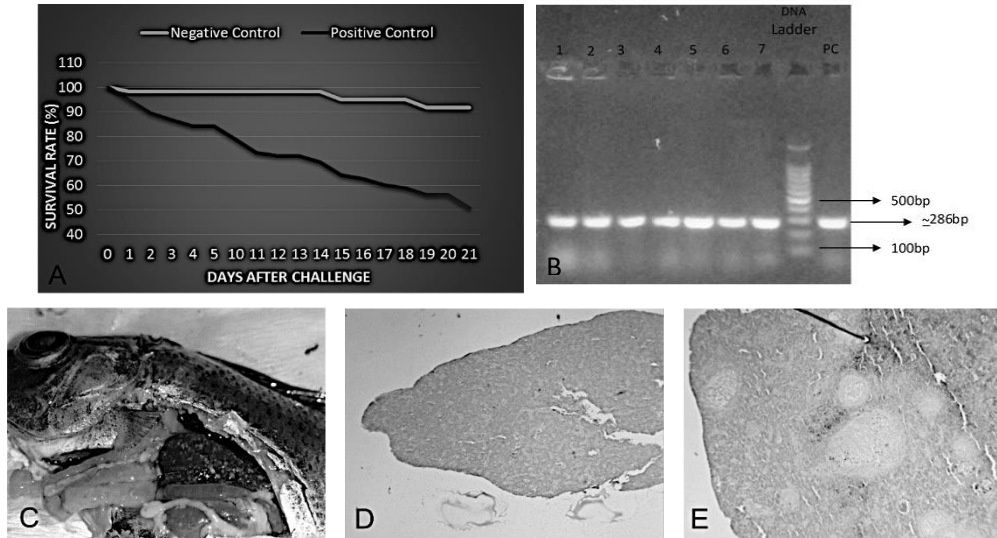


Figure 1. A) Line graph showing the survival rate of Negative (G1) and Positive Control (G2); B) Agarose gel (2%) showing bands obtained in spleen samples from G2 with primers pairing around 286 Bp (1-7). PC=PCR positive control; C) Granulomatous lesions in the spleen of fish belonging to G2; Histopathological photomicrographs of tilapia spleen at 21 dpi showing mild splenopathy in G1 (D) and granulomatous splenitis in G2 (E). (HE, 4X).

**References:**

Hsieh, C.-Y.; Wu, Z.-B.; Tung, M.-C.; Tsai, S.-S. 2007. PCR and in situ hybridization for the detection and localization of a new pathogen Francisella-like bacterium (FLB) in ornamental cichlids. *Dis. Aquat. Organ.* 75: 29-36.

Jatobá, A.; Klipp, S.P.; Hoppe, R. 2016. First report of *Francisella noatunensis* subspecies *orientalis* in southern of Brazil - Cause Report. *Acta Vet. Brasilica.* 10: 172-176.

Soto, E.; Hawke, J.P.; Fernandez, D.; Morales, J.A. 2009. *Francisella* sp., an emerging pathogen of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in Costa Rica. *J. Fish Dis.* 32: 713-722.

## EXPERIMENTAL INDUCTION OF STREPTOCOCCOSIS IN *Oreochromis niloticus* BY ORAL INOCULATION ROUTE

Fernandez-Alarcon M.F.<sup>1\*</sup>, Santana, A.M.<sup>1</sup>, Manzini, B.<sup>1</sup>, Innocente, A.C.<sup>1</sup>, Lopes, I.G.<sup>4</sup>, Viadanna, P.H.O.<sup>1,2</sup>, Neto, J.D.<sup>1</sup>, Rodrigues, C.G.<sup>1</sup>, Neto, O.C.F.<sup>3</sup>, Furlan, L.R.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>PREVET-Sanidade Aquícola, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>2</sup>UNIPAC-Faculdade Antônio Carlos de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil; <sup>4</sup>Aquaculture Center of UNESP, São Paulo State University, São Paulo, Brazil. Email: miguelffa@hotmail.com

**Introduction:** Streptococcosis is a systemic and severe disease that can affect humans and fish, being that particularly in the fish industry, *S. agalactiae* and *S. iniae* are the main species involved (Evans et al. 2002). Despite the importance of this disease in fish, and although the gastrointestinal route had already been suggested as a potential entry site of *S. iniae* in Nile tilapia (Shoemaker, Evans and Klesius, 2000) and for *S. agalactiae* in Queensland grouper (Delamare-Deboutteville et al., 2014), only recently direct evidence of colonization and invasion of the gastrointestinal epithelium by *S. agalactiae* has been demonstrated, in red tilapia (Iregui et al., 2016). In this sense, recent research using experimental oral administration exposition to this bacterium were successful in reproducing the disease by *S. agalactiae* in Queensland grouper (Delamare-Deboutteville et al., 2014) and red tilapia (Iregui et al., 2016). In the other hand, although oral challenge has been performed in Nile tilapia (Soto et al., 2016) very low percentage mortalities were observed. Therefore, the goal of the current study was to experimentally reproduce streptococcosis in Nile tilapia by oral inoculation route.

**Materials and methods:** Three *S. agalactiae* strains (Prevet bank: 19173B, 43172A, 40172B) isolated during outbreaks in fish farms located in Brazil were used to conduct the experimental infection. 80 tilapias, 20g each, were distributed in 8 tanks, kept at 31.0°C water temperature, and received four different treatments: tilapias (2 tanks) inoculated (intra-gastric inoculation) with 300 µl of saline solution (G1: Control group, n=20); tilapias (2 tanks) inoculated (intra-gastric inoculation) with 300 µl of bacterial solution containing  $3.0 \times 10^7$  CFU of three different strains of *Streptococcus agalactiae*, named strain 1 (19173B) (G2, n=20), 2 (43172A) (G3, n=20) and 3 (40172B) (G4, n=20). During the experiment, a system with filters working 1h on and 1h off to cause a reduction of water oxygenation was applied. Tilapias were monitored up to 21 dpi for clinical signs and mortality rates.

**Results:** Typical clinical signs were only observed in G3 and G4, starting 12 days after challenge, and were characterized by bilateral exophthalmia and bilateral ocular opacity (Figure 1B, 1C, 1D and 1E). Exophthalmia is a common finding that may develop as a result of retrobulbar infection (Pulido et al., 2004). Fishes from the control group (G1) had lower mortality rates at the end of the experiment (15.0% of death), and were similar to mortality rates observed in fishes inoculated with strain 1 (G2). In the other hand, mortality rates caused by strain 2 (G3) (65.0% of death) and strain 3 (G4) (65.0% of death) at the end of the experiment were significantly higher than G1 and G2 (Figure 1A).

**Discussion/Conclusion:** It is important to notice that deaths between 0-7 days after challenge (first week) in G3 and G4 were lower (G3: 2 fishes, G4: 2 fishes) than between 8-14 days (second week) (G3: 3 fishes, G4: 6 fishes) and between 14-21 days (third weeks) (G3: 7 fishes, G4: 5 fishes), which suggests that clinical signs and occurrence of tissue damage leading to death tend to appear later when oral inoculation is performed, when comparing to intracoelomic injection and intramuscular injection, as showed by Soto et al. (2016). Results allow us to conclude that the oral administration of *S. agalactiae* was effective in inducing streptococcosis in Nile tilapia since typical clinical signs and high death rates were observed during the experimental infection.

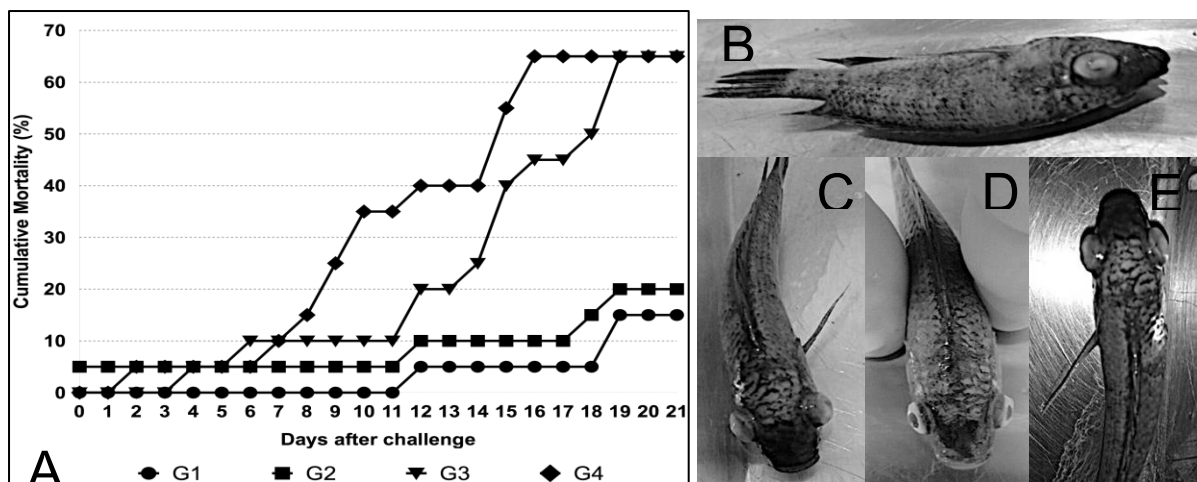


Figure 1. A) Cumulative Mortality rate of different inoculum concentrations (Figure 1A); Dead fish presenting bilateral exophthalmia and bilateral ocular opacity (Figure 1B, 1C, 1D and 1E).

**References:**

Delamare-Deboutteville J.; Bowater R.; Condon K.; Reynolds A.; Fisk A.; Aviles F.; Barnes A.C. 2014. Infection and pathology in Queensland grouper, *Epinephelus lanceolatus* (Bloch), caused by exposure to *Streptococcus agalactiae* via different routes. *Journal of Fish Disease*. 38: 1021-1035.

- Evans J.J.; Klesius P.H.; Gilbert P.M.; Shoemaker C.A.; Al- Sarawi M.A.; Landsberg J.; Duremdez R.; Al Markouk A.; Al Kenzi S. 2002. Characterization of B-haemolytic group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day), in Kuwait. *Journal of Fish Disease*. 25: 505-513.
- Iregui C.A.; Comas J; Vásquez G.M.; Verján, N. 2016. Experimental early pathogenesis of *Streptococcus agalactiae* infection in red tilapia *Oreochromis* spp. *J. Fish Dis*. 39: 205-215.
- Pulido E.A.; Iregui C.A.; Figueroa J.; Klesius P. 2004. Estreptococosis en tilapias *Oreochromis* spp. cultivadas en Colombia. *Revista AquaTIC*. 20: 97-106.
- Shoemaker C.A.; Evans J.J.; Klesius P.H. 2000. Density and dose: factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*. 188: 229-235.
- Soto E.; Zayas M.; Tobar J.; Illanes O.; Yount S.; Francis S.; Dennis M.M. 2016. Laboratory-controlled Challenges of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) with *Streptococcus agalactiae*: Comparisons between Immersion, Oral, Intracoelomic and Intramuscular Routes of Infection *Journal of Comparative Pathology*. 155: 339-345.

## **EVALUATION OF *Oreochromis niloticus* RESPONSE TO INFECTION WITH PATHOGENIC *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* THROUGH INTRAPERITONEAL ROUTE: DETERMINATION OF LETHAL DOSE 50% (LD50)**

Santana, A.M<sup>1\*</sup>, Fernandez-Alarcon M.F.<sup>1</sup>, Manzini, B.<sup>1</sup>, Innocente, A.C.<sup>1</sup>, Lopes, I.G.<sup>4</sup>, Viadanna, P.H.O.<sup>1,2</sup>, Neto, J.D.<sup>1</sup>, Rodrigues, C.G<sup>1</sup>, Neto, O.C.F<sup>3</sup>, Furlan, L.R.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>PREVET-Sanidade Aquícola, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>2</sup>UNIPAC-Faculdade Antônio Carlos de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil; <sup>4</sup>Aquaculture Center of UNESP, São Paulo State University, São Paulo, Brazil. Email: andrevetms@gmail.com

**Acknowledgements:** This work was supported by São Paulo Research Foundation (FAPESP) [Grant process number: 2016/25347-1].

### **Introduction:**

*Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* (FNO) is an emerging pathogen of warm water fish responsible for outbreaks in many countries (Leal et al., 2014). FNO primarily affects fry and fingerling stages of fish, which can present systemic granulomatosis with multifocal granulomas in liver, spleen and kidney (Soto et al., 2009). Considering that this bacterium is responsible for high economic losses, the establishment of adequate models of experimental infection that could enable the study of treatments, diagnostic

tools and vaccines, is important. The goal of the study was to evaluate tilapia response to infection with pathogenic FNO, through intraperitoneal route, to establish a lethal dose 50% (LD50) that could be further used to characterize a tilapia infection model for FNO.

### **Materials and methods:**

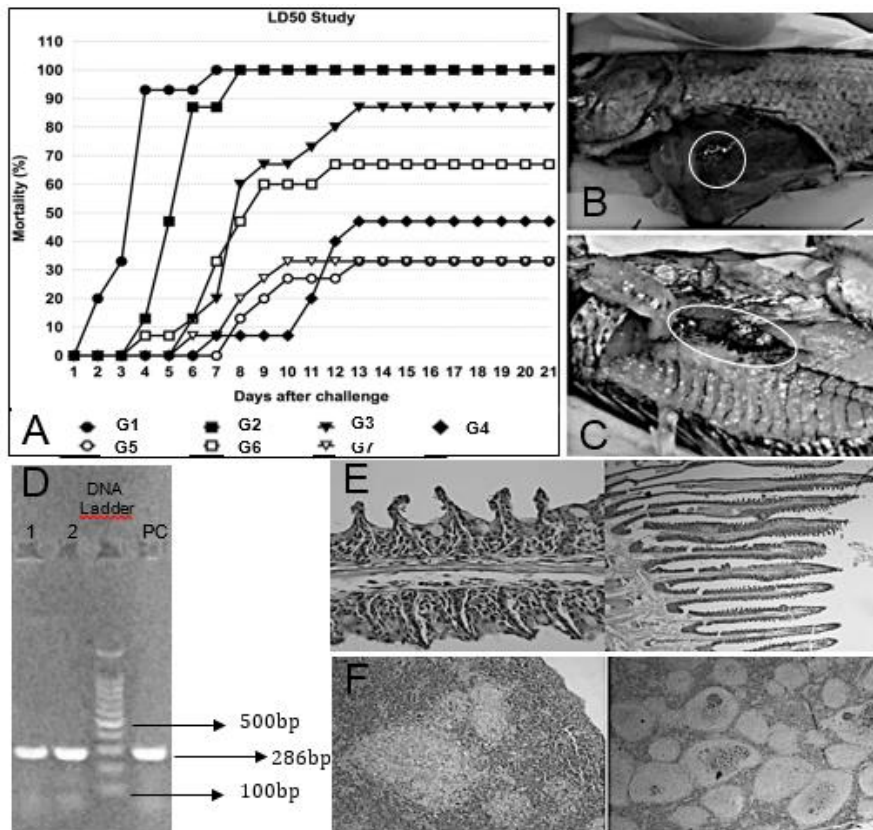
Isolate 84161CL (Prevet bank) was prepared by seeding the strain on cysteine heart agar (24°C, 72 h). Colonies obtained were suspended in 0.85% saline solution at an optical density of 1.2 to  $A_{600}$ . Subsequently, 10-fold serial dilutions were performed in saline to obtain seven preparations ( $1.32 \times 10^{11}$  to  $1.32 \times 10^5$  CFU/mL). 105 tilapia, 20g each, were distributed in 7 tanks, kept at 22°C room temperature, and received seven different treatments: Tilapias were inoculated (intraperitoneal injection) with 100  $\mu$ l of bacterial solution containing  $1.32 \times 10^{10}$  CFU (G1),  $1.32 \times 10^9$  CFU (G2),  $1.32 \times 10^8$  CFU (G3),  $1.32 \times 10^7$  CFU (G4),  $1.32 \times 10^6$  CFU (G5),  $1.32 \times 10^5$  CFU (G6) and  $1.32 \times 10^4$  CFU (G7). Tilapias were monitored up to 21 dpi, and mortality rates were monitored to calculate the LD50. Necropsies and histopathological evaluation of spleen, liver, gills, heart and kidneys of the tilapias were performed. FNO isolation was performed by PCR at 7 dpi, in the spleen of the same animals used for gross pathologies, using specific primers (F: GCGGATTAAGGTGGCCTTTGC; R: CCTGCAAGCTATTA ACTCACAGG - Hsieh et al., 2007) to identify FNO (band pattern of 286 bp).

### **Results:**

The two most concentrated inoculum (G1, G2) caused total mortality of the fishes up to 7dpi, while the other inoculum tested (G3 to G7) resulted in lower mortality rate (33.0% to 87.0%, Figure 1A). According to the mortality rates observed in all groups, the most indicated inoculum for LD50 was from G4 ( $1.32 \times 10^7$  CFU) (46.7% of death). The results of necropsies were as follows: at all groups, except G7, granulomatous lesions in the spleen and kidneys were observed in at least 50% of the fish (Figure 1B,1C). Histopathological analysis showed moderate inflammation of the gills (Figure 1E) and multiple foci of granulomatous inflammation in the spleen (Figure 1F). Molecular analyzes confirmed the presence of FNO in the spleen of tilapias tested, and bands aligned around 286bp (Figure 1D).

### **Discussion/Conclusion:**

Results allow us to conclude that LD50 established in this study was of  $1.32 \times 10^7$  CFU of FNO. Therefore, considering that LD50 was effective in inducing francisellosis, it can be indicated to be further tested as a challenge dose for tilapia infection model caused by FNO.



**Figure 1.** A) Mortality rate of different inoculum concentrations; Granulomatous lesions in spleen (B) and kidney (C); D) Agarose gel (2%) showing bands obtained in spleen samples with primers pairing around 286 bp (1,2); PC=PCR positive control; E) Histopathological photomicrographs of spleen with multiple foci of granulomatous inflammation, with necrotic centers surrounded by macrophages and melanomacrophages, that coalesce in areas of splenic parenchyma. F) Histopathological photomicrographs of gills with moderate inflammation and lamellar hyperplasia, leading to diffuse lamellar fusion, congestion and necrotic foci.

**References :**

Hsieh, C. -Y.; Wu, Z. -B.; Tung, M. -C.; Tsai, S. -S. 2007. PCR and in situ hybridization for the detection and localization of a new pathogen Francisella-like bacterium (FLB) in ornamental cichlids. *Diseases of Aquatic Organisms*. 75: 29-36.

Leal, C. A.; Tavares, G. C.; Figueiredo, H. C. 2014. Outbreaks and genetic diversity of *Francisella noatunensis* subsp *orientalis* isolated from farm-raised Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Brazil. *Genetics and Molecular Research*. 13: 5704-5712.

Soto, E.; Hawke, J. P.; Fernandez, D.; Morales, J. A. 2009. Francisella sp., an emerging pathogen of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in Costa Rica. *Journal of Fish Disease*. 32: 713-722.

## CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA Y MÍNIMA BACTERICIDA DE FLORFENICOL EN BACTERIAS *Aeromonadales* MÓVILES AISLADAS DE PECES CULTIVADOS EN URUGUAY

Alejandro Perretta\*<sup>1</sup>, Nora Mestorino<sup>2</sup> y Gonzalo Suárez<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Pesqueras, Facultad de Veterinaria – Universidad de la República, Uruguay. \* [aleperretta@gmail.com](mailto:aleperretta@gmail.com)

<sup>2</sup> Cátedra de Farmacología Especial y Toxicología, Facultad de Veterinaria – Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

<sup>3</sup> Área Farmacología, Facultad de Veterinaria – Universidad de la República, Uruguay.

**Agradecimientos:** A la Comisión Sectorial de Investigación Científica de la Universidad de la República por la financiación otorgada para la ejecución del proyecto de investigación “Terapéutica e inocuidad alimentaria del uso racional de Florfenicol en el cultivo de esturiones”.

**Introducción:** Los *Aeromonadales* móviles son responsables de severas patologías que afectan a los peces de cultivo, poniendo en riesgo la economía de los productores y la salud tanto de los operarios de las piscigranjas como del consumidor final (Cipriano, 2001; Janda y Abbott, 2010, Rasmussen-Ivey *et al.*, 2016a). Una de las alternativas para el tratamiento de estas afecciones en piscicultura es el empleo de antibioticoterapia (Austin y Austin, 2007). Debido al riesgo para la salud pública que deriva del empleo de antimicrobianos en los animales destinados al consumo humano, la *Food and Drug Administration* permite únicamente el uso de tres principios activos para el tratamiento de peces de consumo. Entre ellos se destaca el Florfenicol (FLO) como un antimicrobiano efectivo en el control de las infecciones debidas a este grupo bacteriano. El objetivo de este estudio fue determinar la concentración de FLO capaz de inhibir el crecimiento *in vitro* de los aeromonadales móviles y el efecto que tiene la temperatura de incubación sobre dicho parámetro.

### **Materiales y Métodos:**

Se determinó las concentraciones inhibitoria mínima y bactericida mínima de FLO (CIM<sub>FLO</sub> y CBM<sub>FLO</sub> respectivamente) en 33 aislamientos de *Aeromonas spp.* correspondientes a seis especies diferentes del patógeno (*A. allosaccharophila*, *A. bestiarium*, *A. caviae*, *A. hydrophila*, *A. punctata* y *A. veronii*) aisladas de peces de agua dulce cultivados en Uruguay que presentaban síntomas de septicemia por *Aeromonas* móviles (*Acipenser spp.*, *Carassius auratus*, *Cyprinus carpio*, *Corydoras paleatus*, *Gymnotus omarorum*, *Poecilia reticulata* y *Prochilodus lineatus*). Se empleó la

metodología recomendada por el *Clinical & Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2012). Las diferencias entre tratamientos se determinaron mediante el empleo de Modelos Lineales Mixtos (MLM) con un nivel de confianza del 95%. Se llevaron a cabo ensayos independientes empleando dos temperaturas de incubación (15°C y 25°C) que representan las condiciones climáticas en temporadas frías o cálidas de los criaderos de peces de Uruguay.

### **Resultados:**

Si bien no se halló variabilidad entre especies, se encontraron diferencias en la CIM<sub>FLO</sub> y CMB<sub>FLO</sub> promedio de todos los aislamientos estudiados en función de la temperatura a la que fueron cultivadas las placas, de modo tal que la CIM<sub>FLO</sub> a 15°C fue de 1,93 µg/mL y a 25°C fue 31,3 µg/mL (MLM, p<0,05); siendo 42,7 µg/mL la CMB<sub>FLO</sub> a 15°C y 53,3 µg/mL a 25°C (MLM, p<0,05).

### **Discusión y Conclusión:**

Los valores de CIM<sub>FLO</sub> para aeromonadales móviles reportados en la bibliografía son variados y dependen del origen de los aislamientos empleados en la determinación. Godoy *et al.* (2008), por ejemplo, hallan diferencias en los valores de CIM<sub>FLO</sub> entre aeromonadales móviles aislados de peces enfermos o agua de estanque en la acuicultura brasilera, obteniendo valores que van de los 0,5 a 16 µg/mL. Es de destacar, a su vez, la diferencia existente entre los valores de CIM y CMB en función de la temperatura de incubación de los aislamientos en nuestro estudio, dichas diferencias están relacionadas con la cinética de crecimiento y muerte bacterianos a diferentes temperaturas y también dependen de la influencia que tiene la temperatura sobre la tasa de metabolización del fármaco por parte de los microorganismos (Mackowiak *et al.*, 1982). Estos hallazgos permitirán ajustar la terapéutica con FLO en peces en función de la temperatura de cultivo para asegurar la efectividad de los tratamientos y disminuir el riesgo de desarrollo de resistencia a los antimicrobianos.

### **Referencias**

- Austin, B. & Austin, D. 2007. Bacterial fish pathogens: diseases in farmed and wild fish. Springerlink and Praxis Publishing eds., Chinchester, UK. pp:552.
- Cipriano, R. 2001. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. US Fish and Wildlife Publications. Revision of Fish Disease Leaflet 68. pp:25.



- CLSI. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. pp:68
- Godoy, D.; Mian, G.; Zanol, R.; Yuhara, T.; Faria, F. & Figueredo, H. 2008. Patterns of resistance to florfenicol and bicyclomycin in Brazilian strains of motile aeromonads. *Aquaculture* 285:255-259
- Janda, M. and Abbott, S. 2010. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 23(1):35-73.
- Mackowiak, P.; Marling-Cason, M. and Cohen, R. 1982. Effects of temperature on antimicrobial susceptibility of bacteria. *The Journal of Infectious Diseases*. 145(4):550-553.
- Rasmussen-Ivey, C.; Figueras, M.; McGarey, D. and Liles, M. 2016a. Virulence Factors of *Aeromonas hydrophila*: In the Wake of Reclassification. *Frontiers in Microbiology*. 7:1337. doi: 10.3389/fmicb.2016.01337.

**EFFECTO DEL ALIMENTO VIVO EN EL CRECIMIENTO, DESEMPEÑO  
RPRODUCTIVO Y SOBREVIVENCIA DE POST LARVAS DE *Arapaima gigas* EN  
CONDICIONES CONTROLADAS**

Nadhia Herrera-Castillo\*, Carmela Rebaza-Alfaro, Roger Bazán-Albitez.

Laboratorio de Manejo adaptativo de peces Amazónicos - Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana – IIAP - Carretera Federico Basadre Km 12.400, Yarinacocha - Ucayali- Perú.

\*[nherrera@iiap.org.pe](mailto:nherrera@iiap.org.pe)

## INTRODUCCIÓN

*Arapaima gigas*, es una especie de importancia económica, ecológica y social, debido a sus características fisiológicas y biológicas, como su rápido crecimiento y ganancia de peso (8 y 12 Kg año<sup>-1</sup>), filete 57%, buen sabor, color y textura (Fernández, 2010; Chu-Koo & Alcántara, 2009). Sin embargo, las dietas balanceadas no contienen los requerimientos nutricionales que la especie requiere para su crecimiento óptimo en fases tempranas (larvas y post-larvas), aunado a su alto costo y al desarrollo incompleto de las glándulas digestivas (Meza *et al.*, 2002), han llevado a investigar alternativas para la alimentación, optando el uso de organismos vivos (artemia, fitoplancton y zooplancton), debido a su composición bioquímica, ya que contienen elementos

nutritivos que garantizan la sobrevivencia y el óptimo desarrollo. El presente estudio tuvo como objetivo determinar, el crecimiento, desempeño productivo y sobrevivencia de post-larvas de *Arapaima gigas*, sometidos a diferentes dietas en base a alimento vivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se distribuyeron 360 post-larvas, con peso promedio de  $0.22 \pm 0.008$  g, colocados en 12 tanques de fibra de vidrio de  $0.05 \text{ m}^3$  de volumen, a una densidad de 30 post-larvas por tanque, por un periodo de 14 días. El estudio fue conducido mediante diseño experimental Completamente al Azar (DCA) con tres tratamientos experimentales y el control por triplicado: T0 (control), nauplios de *Artemia salina* (100%); T1, nauplios de *Artemia salina* (90%) y *Chlorella* sp (10%); T2, Mix zooplancton (90%) y *Chlorella* sp (10%) y T3, Mix Zooplancton (45%), nauplios de *Artemia salina* (45%) y *Chlorella* sp (10%). La frecuencia de alimentación fue cada dos horas (7:00 a 21:00 horas) *ad libitum* hasta conseguir un saseo aparente y la frecuencia del registro de las biometrías fue al inicio y al final.

## RESULTADO

Durante el trabajo de investigación se registró una estabilidad entre los parámetros fisicoquímicos del agua ( $P > 0,05$ ), temperatura de agua, concentración de oxígeno disuelto, el pH, y el amoníaco los promedios fueron de  $26.5 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $4,6 \text{ mg L}^{-1}$ , 7.5 unidades,  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente. Los tratamientos T0, T1 y T3 no fueron significativos ( $P > 0,05$ ) entre tratamientos, alimentados con dietas a basa de alimento vivo a post-larvas de *A.gigas*, obteniendo las mayores ganancias de peso húmedo ( $0.61$ ,  $0.64$  y  $0.51 \pm 0.389$  g respectivamente) y longitud final ( $1.68$ ,  $1.75$  y  $1.54 \pm 0.127$  cm respectivamente), pero estos si fueron estadísticamente significativo con el T2  $0.33 \pm 0.389$  g y  $1.13 \pm 0.127$  cm (Tabla 1).

**Tabla 1.** Parámetros de crecimiento de post-larvas de *Arapaima gigas*, alimentados con diferentes dietas a base de alimento vivo.

Parámetros de crecimiento	TRATAMIENTOS				ESM
	T0	T1	T2	T3	
Peso húmedo inicial (g)	0.22 <sup>a</sup>	0.217 <sup>a</sup>	0.220 <sup>a</sup>	0.216 <sup>a</sup>	0.0084
Peso húmedo final (g)	0.83 <sup>a</sup>	0.86 <sup>a</sup>	0.55 <sup>b</sup>	0.72 <sup>a</sup>	0.0385
Ganancia de peso húmedo (g)	0.61 <sup>a</sup>	0.64 <sup>a</sup>	0.33 <sup>b</sup>	0.51 <sup>a</sup>	0.3888
Longitud inicial (cm)	3.47 <sup>a</sup>	3.45 <sup>a</sup>	3.43 <sup>a</sup>	3.47 <sup>a</sup>	0.0666
Longitud final (cm)	5.15 <sup>a</sup>	5.22 <sup>a</sup>	4.57 <sup>b</sup>	5.01 <sup>a</sup>	0.0740
Ganancia de longitud (cm)	1.68 <sup>a</sup>	1.75 <sup>a</sup>	1.13 <sup>b</sup>	1.54 <sup>ab</sup>	0.1273

Letras diferentes en la columna indican diferencias estadísticas entre las medias (n=30), p-value< 0.05.

En la tasa de crecimiento específico (SGR), se observó diferencia significativa ( $P<0.05$ ) entre tratamientos, con mayor porcentaje de crecimiento por día con el T1 ( $9.67\pm 0.35\%$  día<sup>-1</sup>) y menor con el T2 ( $6.59\pm 0.35\%$  día<sup>-1</sup>). Los tratamientos T0, T1 y T3, alimentados con dietas a base de alimento vivo a post-larvas de *A.gigas*, obtuvieron las menores tasas de alimentación  $70.65$ ,  $76.85$ ,  $79.93\%$  día<sup>-1</sup> respectivamente ( $P>0,05$ ) y con mayor tasa para el T2  $117.34\%$  día<sup>-1</sup> (Tabla 2). Sin embargo la supervivencia y el factor de condición, no se vieron afectadas significativamente entre tratamientos sometidos a diferentes dietas a base a alimento vivo, la tasa media de supervivencia fue alta y variaron desde  $88,9\pm 1.811$  a  $100\%$  (Tabla 2).

**Tabla 2.** Tasa de crecimiento específica (SGR), tasa de alimentación diaria (TDA), factor de condición y supervivencia de post-larvas de *A. gigas*, alimentados con diferentes dietas a base de alimento vivo.

Parámetros	TRATAMIENTOS				ESM
	T0	T1	T2	T3	
SGR (% día <sup>-1</sup> )	9.52 <sup>ab</sup>	9.67 <sup>a</sup>	6.59 <sup>c</sup>	8.48 <sup>b</sup>	0.3522
TDA (% día <sup>-1</sup> )	70.65 <sup>a</sup>	76.85 <sup>a</sup>	117.34 <sup>b</sup>	79.93 <sup>a</sup>	5.3685
Factor de condición (K)	0.61 <sup>a</sup>	0.60 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a</sup>	0.56 <sup>a</sup>	0.0001
Supervivencia (%)	100 <sup>a</sup>	88.9 <sup>a</sup>	90 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	1.8105

Letras diferentes en la columna indican diferencias estadísticas entre las medias (n=30), p-value< 0.05.

SGR, Tasa de crecimiento específico (% día<sup>-1</sup>) = (ln peso final – ln peso inicial x100) / tiempo;

TDA, Tasa de Alimentación Diaria (% día<sup>-1</sup>) = 100 x ingesta total (g) / biomasa media (g) x total días de alimentación.

FC, Factor de condición =Peso (g) / (longitud (cm))<sup>3</sup> \* 100

S, Supervivencia (%)= (Peces finales / Peces iniciales) \* 100

## DISCUSIÓN

Las mayores ganancias de peso húmedo y longitud finales fueron con tratamientos T0, T1 y T3 (Tabla 1), estos resultados favorables pudieron deberse a la proteína que presenta los nauplios de artemia, que está constituida principalmente por proteínas de pesos moleculares bajos, las cuales pueden ser fácilmente digeribles (Meza *et al.*, 2002). En tanto que para el T2 ( $0.33 \pm 0.3888$  g), fue menor, estos resultados pudieron deberse a la dieta basada en zooplancton, ya que no reúnen los requerimientos nutricionales esenciales, especialmente en lo que respecta a la calidad de los ácidos grasos polinsaturados (HUFA) (Nash y Novotny, 1995), así mismo según (López, J. 2014), indica que la inadecuada cantidad de proteína en la dieta para post-larvas de peces, se ve reflejada en la reducción de crecimiento.

## CONCLUSIÓN

Concluimos que existen diferencias en los desempeños de crecimiento de *A. Gigas* en estadio de post-larva sometidas a 04 dietas de alimento vivo, siendo la dieta a base de nauplios de *A.salina* (90%) y *Chlorella* sp (10%) la que registró los mejores resultados; y por tanto es, recomendable para su aplicación en el cultivo comercial de esta especie.

## REFERENCIAS

1. Chu-Koo, F. & F. B. Alcántara. 2009. Cultivo de paiche doméstico: Perspectivas económicas. *Revista Pesca Responsable*, 57 (marzo-abril): 32-33.
2. Fernandez, B. 2010. Efecto de la densidad de siembra en el crecimiento de juveniles de paiche (*Arapaima gigas*) en estanques de la Estación Pesquera Ahuashiyacu. Tesis para optar el título profesional de Ing. Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín Facultad de Ciencias Agrarias. Tarapoto-Perú. 78pp.
3. García-Ortega, A. 2000. Valor nutricional de los quistes de *Artemia* y su uso como fuente de proteína en dietas artificiales para larvas de peces. En: Cruz-Suárez, L. E.; D. Ricque-Marie; M. Tapia-Salazar; M. A.Nash C, Novotny A. (Eds.). *Production of aquatic animals: fishes*. Elsevier Science BV Amsterdam 1995; 405.
4. López, J. 2014. *Nutricion y alimentación Piscícola*. Editorial Universidad de Nariño. Colombia.
5. Meza O, Benítez J, Paredes B, Gonzales M. 2002. Descripción histológica del sistema digestivo en larvas de *Chirostoma humboldtianum* en la primera alimentación exógena. *CIVA*: 313-322.
6. Nash C, Novotny A. 1995. *Production of aquatic animals: fishes*. Elsevier Science BV Amsterdam; 405.

## **AISLAMIENTO DE *Enterococcus faecium* Y *Pediococcus pentosaceus* A PARTIR DEL INTESTINO DE *Oreochromis niloticus*: ACTIVIDAD PROBIÓTICA E IDENTIFICACIÓN DE PÉPTIDOS DE INTERÉS ANTIMICROBIAL**

Arnaldo Castañeda Vargas\*<sup>1</sup>, Pedro Masías Ramírez<sup>2</sup>, Odalis Toledo Valdiviezo<sup>1</sup>, Manuel Feria Zevallos<sup>1</sup>, Deysy Castillo Chunga<sup>3</sup>, Jorge Aguilar Zavaleta<sup>1</sup>, Adrián Zatán Valdiviezo<sup>1</sup>, Mario Cueva Távara<sup>3</sup>

1Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes, Perú

2Inca'Biotec S.A.C, Tumbes, Perú

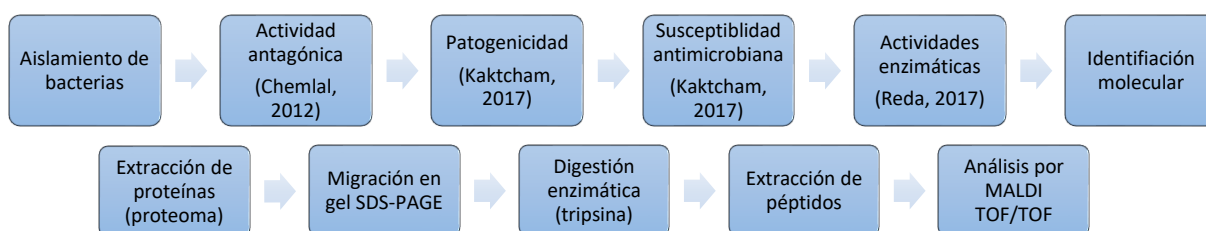
3Cooperativa de trabajadores BIOTECOOP, Tumbes, Perú

\*arnaldoc\_ve@hotmail.com

Agradecimientos a Cienciactiva del CONCYTEC, Universidad Nacional de Tumbes y a la Empresa de Formación e Investigación en Biotecnología – Inca'Biotec S.A.C.

**INTRODUCCIÓN:** El uso de antibióticos ha solucionado parcialmente las infecciones bacterianas que afectan la producción acuícola, sin embargo se sabe que éstos conllevan al desarrollo de resistencia antimicrobiana, residuos de antibióticos y contaminación ambiental (Bidhan *et al.*, 2013). Una de las alternativas encontradas son los probióticos, que se definen como microorganismos vivos o muertos, incluso un componente de estos, que actúan bajo diferentes modos de acción, confiriendo efectos benéficos al hospedero o a su medio ambiente; además éstos actúan de diferentes maneras, produciendo péptidos antimicrobianos o estimulando el sistema inmune del hospedero (Zorriehzahra *et al.*, 2016). Varios métodos han sido desarrollados para su estudio, desde los genéticos hasta el uso de la espectrometría de masas (MS), herramienta altamente sensible para la identificación bacteriana y/o péptidos de interés antimicrobial (Zendo *et al.*, 2007). El objetivo del estudio fue evaluar la actividad probiótica de diferentes cepas aisladas a partir del intestino de *O. niloticus*; así mismo, validar las identificaciones taxonómicas y determinar características probióticas de interés mediante la espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF.

### **MATERIALES Y MÉTODOS:**



**RESULTADOS:** Las dos cepas con mejores actividades probiótica fueron IP5-2a e IP5-2b (Tabla 1), las cuales mostraron un 98 y 99% de similitud con *Enterococcus faecium* y *Pediococcus pentosaceus* respectivamente. El análisis por MALDI TOF/TOF mostró diferentes péptidos de interés antimicrobial (Tabla 2), destacando la secuencia EAQVSNTSSNYIDAVLNADSLADAIGR, con una confianza del 99% (NCBI-Blast y

Protein Pilot), la cual corresponde a la proteína SagA propio de *Enterococcus faecium*.

**Tabla 1.** Actividad antimicrobiana de bacterias ácido lácticas frente a seis patógenos.

Código	Localización intestinal	Zona de inhibición (mm)					
		<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Plesiomonas Shigelloides</i>	<i>Vibrio harveyi</i>
IP3-2a	Posterior	++	-	-	-	-	++
IP3-d	Posterior	-	-	-	-	-	-
IP5-2a	Posterior	+++	+++	++	++	++	+++
IP5-2b	Posterior	+++	++	++	++	++	+++

“-” no hubo halo de inhibición, “+” zona de inhibición de 2 a 5 mm, “++” zona de inhibición de 6 a 10 mm, “+++” zona de más de 10 mm.

**Tabla 2.** Identificación de péptidos obtenidos mediante MALDI TOF/TOF

Prec MW	Prec m/z	Best Sequence	Protein	Plataform	Ident
2793.37	2794.38	EAQVSNTSSNYIDAVLNADSLADAIGR	SagA	Protein Pilot	99%
2283.19	2284.19	LFRTDLSAIVQVRAARAPGR	Lantibiotic dehidratase	NCBI Blast	100%
2793.42	2794.42	PETKNPEALLNRLVNYIRSVALAGR	bacteriocin immunity protein	NCBI Blast	77%
1674.74	1675.75	LDLFAAGSGGLAIEAVSR	16S rRNA (guanine(966)-N(2))-methyltransferase RsmD	NCBI Blast	100%

**DISCUSIÓN:** Lara-Flores & Olvera-Novoa (2013), reportaron *E. faecium* como potencial probiótico aislado del intestino de tilapia; además Petersen & Dalsgaard (2003) mencionaron al género *Enterococcus* como el más predominante aislado del intestino de peces. Por otro lado, Pedicord *et al* (2016) reportaron que la proteína SagA es capaz de incrementar la expresión epitelial de efectores de defensa y péptidos antimicrobianos. Finalmente, se identificaron secuencias correspondientes a lantibióticos, los cuales son el grupo más extenso de bacteriocinas (peptidos antimicrobianos) (Álvarez *et al.*, 2016).

## REFERENCIAS

- Bidhan C, Meena D, Behera B, Pronob D, Mohapatra P & Sharman A. 2014. Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiology and Biochemistry*. DOI: 10.1007/s10695-013-9897-0.
- Zendo T, Nakayama J, Fujita K & Sonomoto K. 2007. Bacteriocin detection by liquid chromatography/mass spectrometry for rapid identification. *Journal of Applied Microbiology*. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03575.x

Zorriehzahara M, Delshad S, Adel M, Tiwari R, Karthik K, Dhama K & Lazado C. 2016. Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. *Veterinary Quarterly*. DOI: 10.1080/01652176.2016.1172132

Lara-Flores & Overa-Novoa. 2013. The use of lactic acid bacteria isolated from intestinal tract of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), as growth promoters in fish fed low proteins diets. *Lat. Am. J. Aquatic. Res.* DOI: 103856/vol41-issue3-fulltext-12

## **ANÁLISIS PROTEÓMICO DEL MUCUS EPIDÉRMICO DE *Arapaima Gigas* POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDI-TOF-TOF**

Manuel Alberto Feria Zevallos\*<sup>1</sup>, Arnaldo Castañeda Vargas<sup>1</sup>, Odaliz Toledo Valdiviezo<sup>1</sup> Deysy Castillo Chunga<sup>1,2</sup>, Erick Louis Mialhe<sup>1,3</sup>, Petter Baca Benitez, Pedro Masias Ramirez<sup>3</sup>, Mario David Cueva Távara<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes, Perú.

<sup>2</sup>Cooperativa de trabajadores BIOTECOOP, Tumbes, Perú

<sup>3</sup>Empresa de Formación e Investigación en Biotecnología-Inca'Biotec S.A.C, Tumbes, Perú.

\* [manuelfezevallos@gmail.com](mailto:manuelfezevallos@gmail.com)

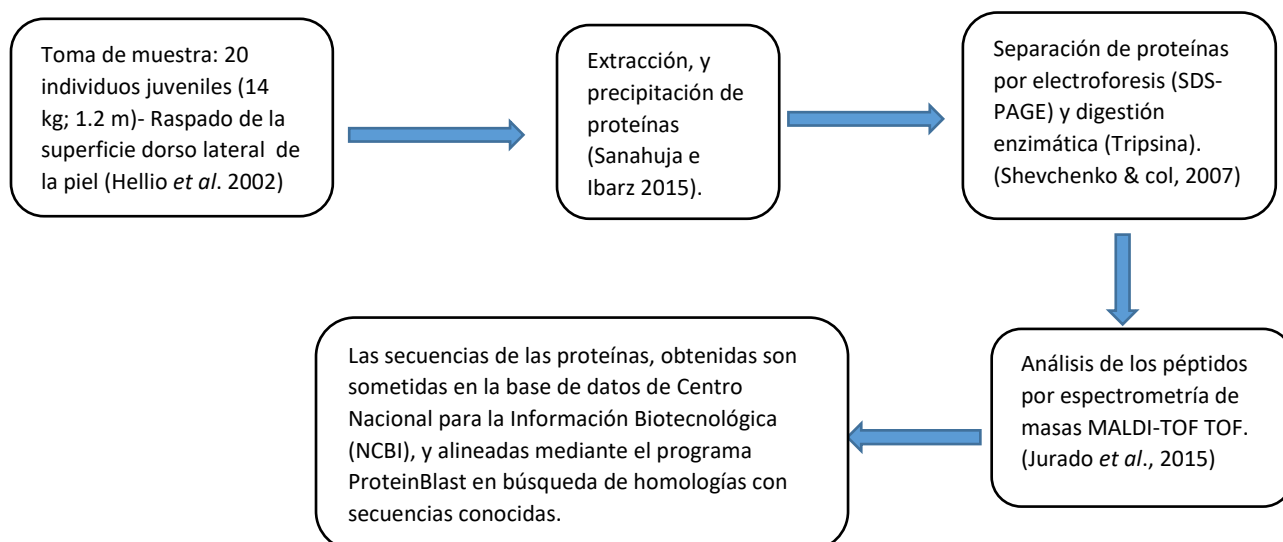
Agradecimientos a la Universidad Nacional de Tumbes y a la Empresa de Formación e Investigación en Biotecnología-Inca'Biotec S.A.C, Tumbes, por permitir el desarrollo de investigación que contribuye a la generación de nuevo conocimiento y así fortalecer las capacidades técnico-científicas de investigadores nacionales.

### **Introducción:**

En el Perú, la piscicultura ha evolucionado de forma positiva. Según cifras oficiales de PRODUCE de un total de 25 978 TM cosechadas en el año 2005 se pasó a 115 269 para el 2014 (PRODUCE 2015), mostrando el gran potencial de la acuicultura, especialmente la amazónica. Actualmente especies como el paiche *Arapaima gigas* se perfila como potencial especie de cultivo a gran escala (IIAP, 2006), además su producción se ha cuadruplicado desde el año 2012 al 2014 (FAO. 2017) por lo tanto se ha enfocado un gran interés científico sobre esta especie. El Objetivo de este estudio es analizar mediante el uso de la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF TOF los componentes del mucus epidérmico del paiche, permitiéndonos profundizar en la identificación, caracterización y análisis de las interacciones y función de los complejos proteicos del mucus de la piel de esta especie, ya que este tiene como función principal servir como una barrera biológica directa con el ambiente, evitando la fijación y entrada de patógenos al organismo, a través de su secreción continua (Li, 2013).

## Material y métodos:

Secuencia	Proteína	Identidad	N° Accesoión	Plataforma
VLDVSNDFHFVKMRGMGHR	toll-like receptor 9 [Cynoglossus semilaevis]	100%	<a href="#">XP_005987154.1</a>	NCBI-Blast
TLGMKGSRYEQMVEDR	toll-like receptor 3 [Astyanax mexicanus]	100%	<a href="#">XP_007243397.1</a>	NCBI-Blast
SWYCNKLEFIR	toll-like receptor 9 [Dentex tumifrons]	100%	<a href="#">ABY79218.1</a>	NCBI-Blast
KLVMTPKSTGSR	Interleukin-18 receptor 1-like [Oryzias latipes]	100%	<a href="#">XP_011489116.1</a>	NCBI-Blast
AGQSMFLMAELTLR	MULTISPECIES: lauroyl-Kdo(2)-lipid IV(A) myristoyl transferase [Edwardsiella]	100%	<a href="#">WP_034165191.1</a>	NCBI-Blast
AGLVMIDPQSARVR	hypothetical protein [Pseudomonas alcaligenes]	100%	<a href="#">WP_076578722.1</a>	NCBI-Blast
SYFSSDTPQPEDDER	type 4 prepilin-like proteins leader peptide-processing enzyme [Aeromonas salmonicida]	100%	<a href="#">WP_005314162.1</a>	NCBI-Blast
AGKREHRAAMDRAR	hypothetical protein SPRG_02430 [Saprolegnia parasitica CBS 223.65]	100%	<a href="#">EST47443.1</a>	NCBI-Blast
QVNIQLDDGMYDPYEDNSV NR	Kelch repeat-containing protein [Spironucleus salmonicida]	100%	<a href="#">EST45497.1</a>	NCBI-Blast



## Resultados:

Mediante el análisis por espectrometría de masas realizado, se pudieron identificar diferentes proteínas, detalladas en el siguiente cuadro.

**Tabla 1:** Proteínas identificadas en base a su secuencia de aminoácidos, obtenidas mediante el análisis por EM-MALDI TOF-TOF, y alineadas en la base de datos NCBI. El porcentaje de identidad es determinada por el programa ProteinBlast.

## Discusión:

Las barreras epiteliales aíslan los tejidos subyacentes de los agentes potencialmente nocivos del medio ambiente. Estas barreras están formadas por células epiteliales, células productoras de moco, células neuroendocrinas y un sistema inmune intrínseco,



dichas células interactúan directamente con patógenos y comensales. Expresan PRR (receptores de reconocimiento de patrones) que incluyen lectinas, receptores nod-like (NLR) y receptores tipo toll (TLR) (Gomez *et al.* 2013). Ensayos de infección en peces como *Danio rerio* contra *Mycobacterium marinum*; (Meijer *et al.*, 2004), *Paralichthys olivaceus*; contra *Edwardsiella tarda* (Takano *et al.*, 2007) ó *Pelteobagrus fulvidraco* contra *Aeromonas hydrophila* (Zhang *et al.* 2017), muestran sobreexpresión de TLR-9; revelando una posible participación de TLR-9 en la respuesta del pez frente a patógenos. En este estudio nosotros logramos identificar receptores tipo toll 9 y 3, así como interleucina 18. En esta investigación hemos logrado identificar proteínas de microorganismos asociados a la piel, de importancia por ser considerados agentes causantes de enfermedades en peces como *Saprolegnia parasítica*, la cual ya ha sido aislada e identificada en *Arapaima gigas* (Castro *et. al* 2014) ; *Spironucleus salmonicida*, el cual es un importante patógeno de salmónidos (Buchmann 2013), este además ha sido reportado anteriormente en *Arapaima gigas* (Cueva 2016).

### Referencias:

- Buchmann, K. 2013. Impact and control of protozoan parasites in maricultured fishes. Laboratory of Aquatic Pathobiology, Section of Biomedicine, Department of Veterinary Disease Biology, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Denmark.
- Castro, V., Serrano, E., León, J. 2014. Aislamiento e identificación morfológica de *Saprolegnia sp.* en paiche (*Arapaima gigas*) proveniente de criaderos artesanales en Iquitos, Perú. AquaTIC, nº 41, pp. 08-18.
- Cueva, M. (2016). Aplicación de la espectrometría de masas MLADI TOF-TOF a la endocrinología, inmunología y patología del paiche *Arapaima gigas*. Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes. Disponible en: <http://repositorio.concytec.gob.pe/bitstream/CONCYTEC/263/1/Tesis%20%20Cueva%20T%C3%A1vara%20Mario%20David.pdf> f
- FAO. 2017. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Branch. Obtenido de: <http://www.fao.org/fishery/statistics/en>
- Gomez, D., Oriol, J., and Salinas, I. 2013. The mucosal immune system of fish: the evolution of tolerating commensals while fighting pathogens. *Fish Shellfish Immunol*, pp 1729–1739. doi:10.1016/j.fsi.2013.09.032.
- IIAP. (2006). Cultivando Peces Amazónicos. San Martín. Obtenido de: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/M006.pdf>
- Li, C. 2013. Understanding the complexity of mucosal immunity in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Biotechnology*, 4-6. Obtenido de: <https://etd.auburn.edu/handle/10415/3784>.
- Meijer, A.H., Gabby Krens, S.F., Medina Rodriguez, I.A., He, S., Bitter, W., Ewa SnaarJagalska, B., Spaink, H.P., 2004. Expression analysis of the Toll-like receptor and TIR domain adaptor families of zebrafish. *Mol. Immunol.* 40 (11), 773–783.
- Jurado, J., Fuentes-Almagro, C., Guardiola, F., Cuesta, A., Esteban, M., & Prieto, M. 2015. Proteomic profile of the skin mucus of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Biotechnology*, 4-9. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25753121>
- Hellio C, Pons AM, Beaupoil C *et al.* 2002. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of extracts from fish epidermis and epidermal mucus. *Int J Antimicrob Agents* 20:214–9 Doi: 10.1016/S0924-8579(02)00172-3

- PRODUCE. (2015). Anuario Estadístico Pesquero y Acuícola. *PRODUCE*, 197-210. Obtenido de <http://www.produce.gob.pe/documentos/estadisticas/anuarios/anuario-estadistico-pesca-2015.pdf>
- Sanahuja I, Ibarz A. 2015. Skin mucus proteome of gilthead sea bream: a non invasive method to screen for welfare indicators, *Fish and Shellfish Immunology*, Doi: 10.1016/j.fsi.2015.05.056.
- Shevchenko, A., Havlis, J., Olsenn, J., & Mann, M. 2007. In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. *Nature*, 2856-2860. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17406544>.
- Takano, T., Kondo, H., Hirono, I., Endo, M., Saito-Taki, T., Aoki, T., 2007. Molecular cloning and characterization of Toll-like receptor 9 in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Mol. Immunol.* 44 (8), 1845–1853.
- Zhang X-T, Zhang G-R, Shi Z-C, Yuan Y-J, Zheng H, Lin L, Wei K-J, Ji W .2017. Expression analysis of nine Toll-like receptors in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) responding to *Aeromonas hydrophila* challenge, *Fish and Shellfish Immunology*. doi: 10.1016/j.fsi.2017.02.021.

## **ESTRATEGIAS REPRODUCTIVAS Y DESARROLLO EMBRIONARIO DEL PEZ *Betta splendens* EN CONDICIONES DE LABORATORIO, PIEDEMONTE ANDINO AMAZÓNICO-COLOMBIA**

Betselene Murcia-Ordoñez\*, Luis Carlos Chaves-Moreno\*, Wilson Fernando España-Pérez, Lisbet Chaves-Murcia  
Universidad de la Amazonia, Grupo de investigación en Biodiversidad y Desarrollo Amazónico "BYDA", Florencia-Caquetá- Colombia. [b.murcia@udla.edu.co](mailto:b.murcia@udla.edu.co) – [bmurcia@gmail.com](mailto:bmurcia@gmail.com) – [l.chaves@udla.edu.co](mailto:l.chaves@udla.edu.co)

Agradecimientos a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad de la Amazonia. Grupo BYDA. Semilleros FA-UA y AMAZONFISH.

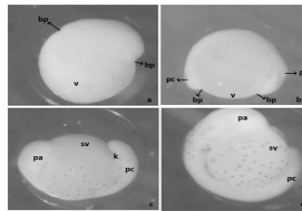
**Introducción:** Los estudios sobre reproducción de peces con fines comerciales se incrementan cada día más, principalmente los relacionados a los primeros estadios vitales (huevos, larvas y etapas tempranas de juveniles) ya que son críticos para las fluctuaciones en la abundancia de las poblaciones de peces explotadas (Saborido, 2008), como en el caso de *Betta splendens*, apetecido comercialmente (Ortiz, 2007, Murcia *et al*, 2016) por su estructura faríngea (laberinto) que le permite tomar oxígeno atmosférico cada 3 min aproximadamente (Arboleda y Duván, 2005), dimorfismo sexual, (policromía) y el cuidado parental del macho en las primeras fases de desarrollo (fertilización a eclosión) (Fosgren *et al*, 2002). A pesar de ello, el tiempo de desarrollo así como las características embrionarias de *B. splendens* son poco conocidas, por lo cual resulta necesario profundizar conocimientos acerca de sus estrategias reproductivas (proceso de cortejo, fecundación, fertilización e incubación), así como conocer su desarrollo embrionario, datos que aportarían ventajas para su producción y comercialización.

## Metodología.

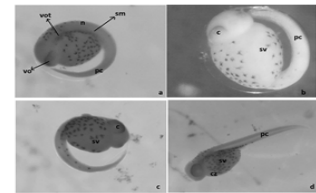
El estudio se realizó en los laboratorios de investigación de fisiología animal e ictiología de la Universidad de la Amazonia (Florencia, Caquetá, Colombia), localizados a 1°36'25.95 N y 75°36'27.12 W, con una altitud de 350 msnm., temperatura promedio de 25°C y humedad relativa del 80%. Se tomaron 100 huevos previamente fecundados de cuatro parejas de *B. splendens*, mantenidas en acuarios (Petrovicky, 1990; Arboleda y Duván, 2005; Navarro 2007), se realiza observación y descripción de la estrategia reproductiva. Para la descripción de los cambios morfométricos y embriológicos se extrajo una muestra equivalente al 33% de ovocitos fecundados (Radael *et al*, 2013), los cuales fueron clarificados y fijados (Chaves *et al*, 2011) para su observación. Se siguió la metodología de Rosas *et al*, (2008) para la recolección de muestras en cada estadio embrionario, su descripción (Ortiz *et al*, 2005), morfometría y merística (Vargas, 2003; Ortiz *et al*, 2005) y las abreviaciones usadas por Murcia *et al*, (2016). Todas las medidas fueron registradas con una cámara de video profesional USB (1280 x 1024X) dispuesta en un estereomicroscopio (Zeiss Stemi 2000C) y analizadas con un programa computacional analizador de imágenes (Toup View versión 2.1 vimicro USB 2.0 UVC).

## Resultados.

Se observó el proceso de cortejo y fertilización que inició con la formación del nido por el macho (Figura 1a), seguidamente, se inicia la danza de cortejo, la cual consistió en mover y ampliar sus ornamentos sexuales (los opérculos y la extensión de su aleta anal) alrededor de ella. Tras una persecución no exenta de golpes y mordeduras, la hembra lo aceptó y se da el abrazo sexual ejerciendo presión sobre su vientre haciendo que desove (extrucción) entre 60 y 85 huevos aproximadamente, acto seguido, él liberó el semen **fertilizando** los huevos (Figura 1b). A partir de esto, se inicia el **cuidado parental** por el macho subiendo los huevos uno por uno y pegándolos al nido (Figura 1b). En la **Incubación y eclosión**, los oocitos fertilizados se transformaron en embriones, anexados a la membrana coriónica y al disco germinal. Este último registró un tamaño de 529,39 µm. El saco vitelino midió 679,43 µm (Figura 2). La temperatura del agua de incubación fue de 27,8±1,5°C y un pH de 6,8±0,2. La tasa de fecundación de los desoves realizados fue de 83±2,0%. El tiempo transcurrido desde la fecundación hasta la eclosión fue de 36:13 h; durante este tiempo el embrión atravesó por los períodos de cigoto (Figura 2), clivaje o blástula (Figura 3 y 4), Gástrula, (Figura 5), segmentación (Figura 5c y 5d) organogénesis (Figura 6a y 6b), eclosión y estado larvario (Figura 6c y 6d).

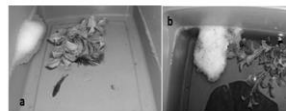


**Figura 5.** Estadio de gástrula. a) Epibolia del 30% aproximadamente; b) Inicio de la formación del embrión; c) y d) Embrión en formación diferenciado antero-posterior (eje cráneo-caudal) en forma arqueada. Se observa BP, V, A, PC, K y SV.

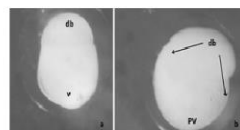


**Figura 6.** Estadios de organogénesis y eclosión. a) Organogénesis temprana, aparecen las VO y VOT; b) Embrión avanzado en forma arqueada, diferenciación total del eje cráneo-caudal, inicia desprendimiento de la cola y se observa el C; c) y d) Larva eclosionada. Se observa PC, SV y CZ.

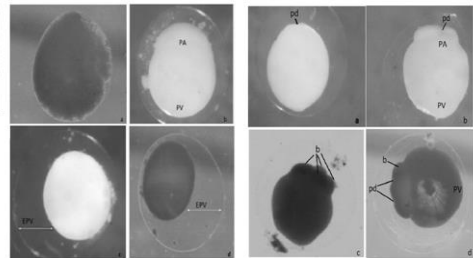
En la **Incubación y eclosión**, los oocitos fertilizados se transformaron en embriones, anexados a la membrana coriónica y al disco germinal. Este último registró un tamaño de 529,39 µm. El saco vitelino midió 679,43 µm (Figura 2). La temperatura del agua de incubación fue de 27,8±1,5°C y un pH de 6,8±0,2. La tasa de fecundación de los desoves realizados fue de 83±2,0%. El tiempo transcurrido desde la fecundación hasta la eclosión fue de 36:13 h; durante este tiempo el embrión atravesó por los períodos de cigoto (Figura 2), clivaje o blástula (Figura 3 y 4), Gástrula, (Figura 5), segmentación (Figura 5c y 5d) organogénesis (Figura 6a y 6b), eclosión y estado larvario (Figura 6c y 6d).



**Figura 1.** a) Cortejo del macho para la realización de la fecundación. b) Huevos fecundados ubicados en el colchón de burbujas.



**Figura 4.** Estadio de blástula. a) Elevación del DB; b) Inicio del descenso del DB.



**Figura 2.** Estadio de cigoto. a) cigoto; b) estadio de una célula, 10 MPF, se observa el PA y PV; c) y d) cigoto, estadio de una célula, 12 MPF y se observa el aumento del EPV.

**Figura 3.** Estadio de clivaje. a) inicio del PD para la formación de B; b) formación de 2 células; c) y d) formación de 4 células.

## DISCUSIÓN.

La descripción de las estrategias reproductivas utilizadas por *B. splendens* se basaron principalmente en características morfológicas (policromía) (Oliveira, 2005),

ecológicas y etológicas (Fosgren *et al*, 2002), cualidades que permite su fácil reproducción y desarrollo en cautiverio. El desarrollo de *B. splendens* desde la fecundación hasta la eclosión (Murcia *et al*, 2016), en esta investigación asumió una duración de 36,13 h similar a Arboleda y Duván (2006), menor que el reportado para *Danio rerio* (Kimmel *et al*, 1995) (48 h), pero mayor para *Piaractus brachypomus* y *Colossoma macropomum* (Atencio *et al*, 2006), que fue de 12 h (Botero *et al*, 2004). En el pez ángel (*Pterophyllum scalare*), la eclosión ocurrió 42,5 h post-fecundación, cuando la incubación se hizo a 28°C (Radael *et al*, 2013). Los oocitos de peces de agua dulce contienen en su mayoría gran cantidad de vitelo (telolecito, al igual que en otros teleósteos) (Botta *et al*, 2010), lo que conlleva la formación de embriones y larvas pequeñas. Este acontecimiento facilita la difusión de oxígeno por todo el cuerpo, cuando la presión molecular de O<sub>2</sub> dentro del embrión o de la larva, es mejor que fuera de sí mismos, haciendo que los gases (oxígeno, dióxido de carbono y amoníaco) se difundan a través de diversas membranas biológicas, incluyendo el corion (Clavijo y Arias, 2004) y en el *B. splendens* de órganos respiratorios especializados situado en las agallas, compuesto por numerosas láminas que permiten respirar aire fuera de la superficie del agua, característica fisiológica posibilita la respiración en aguas con temperaturas muy elevadas y poco oxígeno (García, 2008).

## CONCLUSIÓN

, se aportan datos que profundizan el conocimiento de las estrategias reproductivas y el desarrollo embrionario de *B. splendens*, que en condiciones de laboratorio insumen un lapso relativamente corto en comparación con otras especies, hallazgos que pueden contribuir a mejorar la reproducción de este pez con fines comerciales.

## REFERENCIAS

- Arboleda O, Duván A. (2005). Calidad del agua y mantenimiento de acuarios. Revista Electrónica de Veterinaria, [www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080505.html](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080505.html), Redvet VI: 8.
- Arboleda O, Duván A. (2006). Crianza y producción del betta (*Betta splendens*) para acuaristas no profesionales. Revista Electrónica de Veterinaria, [www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040406.html](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040406.html), Redvet VII: 4.
- Atencio V, Arabia RF, Aristizabal J. (2006). Desarrollo embrionario y larvario de Dorada *Brycon sinuensis*. Comunic. Científ. CIVA. *On line*: <http://www.civa2006.org>, p. 604-618
- Botero M, Fresneda A, Montoya F, Olivera A. (2004). Descripción del desarrollo embrionario de cigotos híbridos obtenidos por el cruce de machos de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*) y hembras de Cachama Negra (*Colossoma macropomum*). *Rev Col Cienc Pec* 17: 8.
- Botta P, Sciara A, Arranz S, Murgas L, Pereira G, Oberlender G. (2010). Estudio del desarrollo embrionario del sábalo (*Prochilodus lineatus*). *Arch Med Vet* 42: 109-114.
- Chaves C, Chacón L, Lozada J, Motta PA, Murcia B. (2011). Evaluación de la reproducción inducida de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) con acetato de buserelina. *Vet Zootec* 6: 47-55.

- Clavijo AJ, Arias CJ. (2004). Avances en el estudio de la embriología del yamú, *Brycon siebenthalae* (Pisces: Characidae). *Dahlia Rev Asoc Col Ictiol* 7: 37-48.
- Fosgren E, Reynolds JD, Berglund A. (2002). Behavioral ecology of reproduction in fish. In: *Handbook of fish biology and fisheries* (Hart PJ, Reynolds JD ed.), vol.1, Blackwell Publishing, Oxford, p. 225-247.
- García L. (2008). Efecto de la especie y color de los oponentes en la agresividad de los machos de *Betta splendens* (Regan, 1910). *An Univ Etol* 2: 37-42.
- Kimmel CB, Ballard WW, Kimmel SR, Ullmann B, Schilling TF. (1995). Stages of embryonic development of the zebrafish. *Develop Dynam* 203: 253-310.
- Murcia-Ordoñez, B., Chaves, L. C., España, W. F., Castañeda, D., & Andrade, J. (2016). Reproductive physiology *Betta splendens* fish in laboratory conditions, Piedemonte Andino Amazon (Colombia). *Revista Veterinaria*, 27(2).
- Navarro MJ. (2007). Selección sexual en guppys (*Poecilia reticulata*, Pisces: Poeciliidae). *An Univ Etol* (Univ. Palmas Gran Canaria, España) 1: 80-84.
- Oliveira RF. (2005). Neuroendocrine mechanisms of alternative reproductive tactics in fish. *Fish Physiol* 24: 297-357.
- Ortiz F, Mejía A, Luz M, Acero PA. (2005). Description of eggs and early larval stages of the frog fish *Antennarius striatus* (Shaw, 1794) in captivity, with notes on its mechanism of reproduction. *Rev Biol Mar & Ocean* 40: 23-31.
- Ortiz VM. (2007). El pez betta, uno de los peces consentidos. On line: [www.acuariolatino.com](http://www.acuariolatino.com), p. 6.
- Petrovicky I. (1990). *La gran enciclopedia de los peces de acuario*, 1ra.ed., Edit. Susaeta, Madrid, 493 p.
- Radael MC, Vázquez JM, Solis LD, Mattos C, Cardoso LD, Souza JH, Corrêa ML, Oliveira FV, Andrade DR. (2013). Desarrollo embrionario del pez ángel (*Pterophyllum scalare*). *Arch Latin Prod Anim*, 7 p. [www.alpa.org.ve/ojs/index/php](http://www.alpa.org.ve/ojs/index/php)
- Rosas J, Mata E, Velasquez A, Cabrera T. (2008). Desarrollo embrionario-larval del pez tropical *Hemirhamphus brasiliensis* (Beloniformes: Hemirhamphidae) a partir de huevos recolectados del medio natural. *Rev Biol Trop* 56: 1449-1458.
- Saborido RF. (2008). *Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos*. Public. Instit Investig Marinas (CSIC), Universidad de Vigo. España, 71 p.
- Vargas Y, Yie T. (2003). Descripción, abundancia y distribución de la comunidad ictioplanctónica presente en el humedal-laguna Navío Quebrado (...), Caribe colombiano. *Tesis Biol.Mar.*, Univ.J.T.Lozano, Santa Marta, Colombia, 80 p.

## EFFECTO DE DOS DIETAS SOBRE EL CRECIMIENTO Y GANANCIA DE PESO EN JUVENILES DE *Macrobrachium brasilienses*, PIEDEMONTE AMAZONICO.

**Autores.** Luis Carlos Chaves-Moreno \*, Betselene Murcia-Ordoñez \*, Lisbet Chaves-Murcia

**Dirección y correo electrónico.** Universidad de la Amazonia, Grupo de investigación en Biodiversidad y Desarrollo Amazónico "BYDA", Florencia-Caquetá- Colombia.  
[l.chaves@udla.edu.co](mailto:l.chaves@udla.edu.co) – [lucachamos@gmail.com](mailto:lucachamos@gmail.com) - [b.murcia@udla.edu.co](mailto:b.murcia@udla.edu.co) – [bmurcia@gmail.com](mailto:bmurcia@gmail.com)

**Agradecimientos.** Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad de la Amazonia. Grupo BYDA. Semilleros FA-UA y AMAZONFISH.

**INTRODUCCIÓN.** Durante los últimos años la camaronicultura ha aumentado su importancia en la industria acuícola generándose como alternativa productiva en el país (García-Guerrero *et al*, 2013). Vergamini *et al.*, (2011), reconocen que los camarones del género *Macrobrachium* se distribuye ampliamente en sudamérica, en variados hábitats de ríos y estuarios de Guyanas, Colombia, Venezuela, Paraguay y Brasil lo que permite su comercialización, entre ellos, los *Macrobrachium brasiliensis*, sin embargo, la información que se conoce sobre su biología, ciclos reproductivos y requerimientos nutricionales es poca (De Grave *et al.*, 2008). Por lo anterior, el objetivo de la investigación fue evaluar *ex situ* dos dietas (alimento balanceado 35% PC y *Artemia salina*) y sus efectos en el crecimiento y ganancia de peso en camarones juveniles dulceacuícolas *Macrobrachium brasiliensis* en el piedemonte amazónico.

**METODOLOGÍA.** La investigación fue desarrollada

en el laboratorio de ictiología LI-UA de la Universidad de la Amazonia en el municipio de

Florencia Caquetá Colombia. Se colectó el pie de cría en el medio natural y el cultivo se realizó *ex situ* en acuarios adaptados para el estudio Se utilizó la metodología propuesta por Espinosa-Chaurand (2012), (Tabla 1), durante tres meses consecutivos se registró diariamente: temperatura del agua, pH, ganancia de peso, conversión alimenticia; cada diez días se realizó la morfometría y cada mes se midió el OD (mg O<sub>2</sub>/L). Se aplicó estadística multivariada mediante paquete estadístico InfoStat (InfoStat 2006).

Tabla 1. Tratamiento y dieta aplicada en el estudio

Tratamiento	% inclusión	Dieta	Replicas	Repetición
T1	10	<i>Artemia salina</i> liofilizada	2	25
	90	Concentrado comercial (35% de PC)		
T2	100	Concentrado comercial (35% de PC)	2	25

**RESULTADOS.** Se encontró una ganancia de peso de 21,6 gr para el T1 y de 35,6 gr para el T2 y en crecimiento de 1 cm y 1,1cm respectivamente (Tablas 2 y 3) lo que indica que T2 es el mas efectivo para el cultivo *ex situ* e *in vitro* de juveniles de *Macrobrachium brasilienses* al presentar mayor incremento en peso durante el estudio. Se puede observar que los datos

de los dos tratamientos se distribuyen normalmente (Figura 1) al encontrarse similitudes en

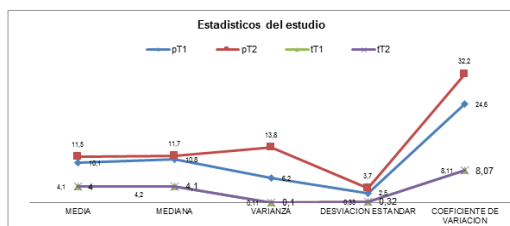
**Tabla 2.** Ganancia de peso (gramos) en juveniles de *Macrobrachium brasilienses* cultivados ex situ. (T1= *Artemia salina* + concentrado comercial; T2= Concentrado comercial; R= Replica. G.D = g/día/grupo (ganancia de gramos por día por grupo total). IP= Incremento de Peso= (Pf-Pi)/Pi. C.A(g)= Conversión alimenticia = [peso final (g) x alimento suministrado (kg)].

Tratamiento	total (g)	G.D	IP	C.A (g)
T1R1	75	0.001	0,8	4,27
T1R2	104	0.0014	1.5	6,1
T1R3	94,3	0.012	2.3	6,6
T2R1	108,4	0,014	1.86	9,5
T2R2	112	0,015	2.46	9,5
T2R3	90.5	0.013	2.26	8.5

**Tabla 3.** Ganancia de talla (gramos) en juveniles de *Macrobrachium brasilienses* cultivados ex situ. (T1= *Artemia salina* + concentrado comercial; T2= Concentrado comercial; R= Replica. G.D = cm/día/grupo (ganancia en cm por día por grupo total). IT= Incremento de Talla= (Tf-Ti)/Ti. TC (cm)= Tasa de crecimiento =100 X IT).

Tratamiento	Total cm	G.D	IT	T.C (cm)
T1R1	30,7	0,38	0,14	5
T1R2	34,7	0,43	0,42	9,8
T1R3	32,7	0,41	0,38	12,4
T2R1	33,5	0,42	0,35	14,8
T2R2	34,6	0,43	0,32	16,2
T2R3	32,8	0,41	0,29	14

los datos de los estadísticos descriptivos de tendencia central. De acuerdo a los



**Figura 1.** Representación esquemática de los estadísticos evaluados en el estudio. (p= peso (g); t=talla(cm); T=tratamiento).

estadísticos de dispersión los datos del tratamiento uno (*Artemia salina* + concentrado comercial) están menos dispersos que los encontrados en el tratamiento dos (Concentrado 35%), lo que se ve reflejado en la varianza y el coeficiente de variación siendo más bajo en T1

(24.6%). Según la tabla 3 la diferencia del incremento en talla entre réplicas no fue notoria, sin embargo el T1R2 presenta mayor ganancia en talla con 0.43cm en comparación de T1R1 0.38cm que fue la más baja.

**DISCUSIÓN.** Los datos obtenidos, posiblemente se deba a que: el alimento suministrado (concentrado) está diseñado para la suplementación en camarones en cautiverio con un olor característico que sirve de atrayente logrando buenos resultados manifestados en la ganancia de peso (Abbaspour-Davassi 2011; Ordoñez, 2017), mientras que el uso de *Artemia salina liofilizada*, macroinvertebrado utilizado en acuicultura, no se recomienda debido al elevado costo y la baja relación nutricional (Cobo & Wouters, 2010). La presencia de la muda o ecdisis, porque las estructuras quitinosas como mandíbulas, maxilas y dientes del molinillo gástrico están recién generados y blandos, por lo tanto dejan de ser funcionales ocasionando una limitante en la articulación mecánica para el proceso de la alimentación y restándole de esta la ganancia en peso por crecimiento (Andrino *et al*, 2013), además de que los vuelven más susceptibles al canibalismo que es propio del género *Macrobrachium* (Reyes-Avalo *et al*, 2010). Se debe tener en cuenta que también influyen otros factores como los físico-químicos (Fonseca-Moreno, 2013), el número de raciones dadas durante el día, la forma de suministrarla, la hora, etc.

**CONCLUSIÓN.** El incremento de talla y peso en *Macrobrachium brasilienses* (in vitro) está influenciada por las características de los alimentos suministrados, el cual juega un papel indispensable en la alimentación y nutrición de camarones dulceacuícolas, siendo mejor el desempeño de los camarones alimentados con alimento balanceado (concentrado), y que mantenga un micro hábitat similar al del medio ambiente.

## REFERENCIAS

- Abbaspour-Davassi L. (2011). Survival and growth of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in relation to different nutrients composition. J Fish Aquat Sci; 6(6): 649-654.
- ANDRINO, K., SERRANO, A., & CORRE, V. (2013). Efectos de la adición de nucleótidos en el alimento sobre el crecimiento y la respuesta inmune de *Litopenaeus vannamei*. AQUA Culture, 34-37.
- COBO, M., & WOUTERS, R. (2010). ¿Se puede sustituir la artemia en la alimentación de larvas de camarón? AQUA Cultura, 30-32.
- De Grave, S., Y. Cai & A. Anker. (2008). Global diversity of shrimps (Crustacea: Decapoda: Caridea) in freshwater. Hydrobiología, 595: 287-293.
- Espinosa-Chaurand, L., Flores-Zepeda, C., Nolasco-Soria, H., Carrillo-Farnes, O., Vega-Villasante, F. (2012). Efecto del nivel proteico de la dieta sobre el desarrollo de juveniles de *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871). Rev.MVZ Córdoba 17(3):3140-3146.
- Fonseca Moreno, Eduardo, González Salas, Raúl y Rico Gutiérrez, René. (2013). Sistema inmune de los camarones. Revista AquaTIC, nº 38, pp. 68-84.
- García-Guerrero, Marcelo U, Becerril-Morales, Felipe, Vega-Villasante, Fernando, & Espinosa-Chaurand, Luis Daniel. (2013). Los langostinos del género *Macrobrachium* con importancia económica y pesquera en América Latina: conocimiento actual, rol ecológico y conservación. *Latin american journal of aquatic research*, 41(4), 651-675. <https://dx.doi.org/103856/vol41-issue4-fulltext-3>.
- InfoStat (2008). InfoStat versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Medidas: Utilizar unidades métricas de medida.
- ORDOÑEZ GUALLAZACA E. R. 2017. Revisión acerca de alternativas de alimentación para reemplazar la *Artemia salina* en el cultivo de larvas de camarón. Tesis. Unidad Académica De Ciencias Agropecuarias. Carrera De Ingeniería Acuícola. Universidad Técnica de Machala UTMACH. Machala. Ecuador.
- Reyes-Avalos, Walter; Gladis Melgarejo-Velásquez, Gladis; Rojas-González, Elizabeth. (2010) Maduración, muda y crecimiento de hembras del camarón de río *Cryphiops caementarius* con ablación del pedúnculo ocular, en condiciones de laboratorio. SCIÉENDO, 13 (2): 20-27.
- Vergamini, F., L. Pileggi & F. Mantelatto. (2011). Genetic variability of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). Contr. Zool., 80(1): 67-83.



# ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO EN *Argopecten purpuratus* PROCEDENTES DE CENTROS DE CULTIVO Y AMBIENTES NATURALES DE ANCASH-PERÚ EN EL PERIODO DE VERANO 2017

Valera A<sup>1\*</sup>, Serrano-Martínez E<sup>1</sup>, Llanco A. L<sup>1</sup>, Sandoval Ch. N<sup>2</sup>.

1 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima

\* [adhemir.valera.a@upch.pe](mailto:adhemir.valera.a@upch.pe)

2 Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú

Agradecimientos al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT-CIENCIACTIVA) por el apoyo financiero brindado al Programa de SANIDAD ACUÍCOLA - UPCH (contrato 230-2015 FONDECYT. Concurso PROGRAMAS DE MAESTRÍA EN UNIVERSIDADES PERUANAS”), que permitió los análisis y la capacitación técnica de nuestros investigadores para la ejecución del estudio.

## Introducción:

La acuicultura en Perú se ha incrementado en 20% durante los últimos años, donde destaca la producción de la Concha de Abanico (*Argopecten purpuratus*) (PRODUCE, 2016). En Perú se conoce poco del estatus sanitario de esta especie, por ello es necesario identificar los agentes parasitarios y las lesiones histopatológicas. El objetivo del presente estudio fue describir todas las lesiones observadas mediante histología en concha de abanico procedente de centros de cultivo y de ambiente natural de la provincia de Casma-Ancash, Perú, en el periodo de verano 2017.

## Material y Métodos:

Se colectaron 90 moluscos procedentes de empresas dedicadas al cultivo, así como también 90 animales del medio natural. Se realizó la evaluación macroscópica de todos los órganos incluyendo las valvas, posteriormente, los órganos internos fueron fijados en el líquido de Davidson (OIE, 2016) por 24 horas, luego fueron colocados en alcohol 50° hasta su procesamiento. Los tejidos fueron procesados mediante el método convencional histológico para tejidos fijados (Shaw y Battle, 1957). Todas las muestras fueron evaluadas mediante microscopía, las lesiones fueron documentadas utilizando el software Leica mycrosystems. Adicionalmente, se realizó la medición de los parámetros fisicoquímicos del agua durante todo el periodo de verano empleando el equipo multiparámetro portátil Hanna Instruments Hi 9828.

## Resultados:

En el caso de las conchas de abanico provenientes de centros de cultivo se detectó la presencia de Nematopsis sp. en 55.5% (55/90) de las branquias, organismos tipo rickettsiales en 24.4% (22/90) e infiltración hemocítica en 81.1%(73/90), necrosis en

musculo aductor 43.3% (39/90), organismo tipo rickettsiales 18.8% (17/90) e infiltración hemocítica en glándula digestiva en 65.5% (59/90). Con respecto a las conchas de abanico extraídas de ambiente natural: organismo tipo rickettsiales en 14% (13/90) de las branquias, infiltración hemocítica en 91% (82/90) y tremátodos en manto 19% (17/90), concreciones en nefridios 20% (18/90), organismo tipo rickettsiales 14% (13/90) e infiltración hemocítica en glándula digestiva en 83% (75/90).

### **Discusión:**

Estos resultados son similares a los encontrados por Lhormann (2009) en conchas de abanico chilenas, sin embargo, en este estudio se encontraron organismos tipo rickettsiales (ORL) en branquias, estos hallazgos se presentaron en conchas de abanico de los dos grupos de procedencia (producción y medio natural), quedando en evidencia que el grupo de producción presentó una mayor prevalencia de ORL en branquias, esto puede ser explicado debido a que estos animales presentan mayor estrés ya que viven en confinamiento a diferencia de los animales de vida libre. Se concluye que las conchas de abanico de producción y de medio natural del departamento de Ancash-Perú presentan diversas lesiones histológicas y son afectados por agentes infecciosos como ORL y tremátodos.

### **Referencias:**

Lohrmann K. 2009. How healthy are cultivated scallops (*Argopecten purpuratus*) from Chile? A Histopathological survey. *Revbiolmar* [Internet] [acceso 20 Mayo 2016]. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/revbiolmar/v44n1/art04.pdf>

OIE. 2016. Organización Mundial de Sanidad Animal. Manual Acuático 2016. [Internet] [acceso 20 Enero 2017] Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-acuático/acceso-en-línea/>

PRODUCE. 2016. Lima: Ministerio de la Producción. [Internet] [acceso 20 Mayo 2016]. Disponible en: <http://www.produce.gob.pe/index.php/prensa/noticias-del-sector/4327-durante-el-2015-un-50-de-la-produccion-acuicola-peruana-fue-para-consumo-interno>.

## **EFICACIA DE LA FAGOTERAPIA CONTRA LA INFECCIÓN CON *Vibrio alginolyticus* EN JUVENILES *Paralichthys adspersus***

Fernández Espinel Carla \*, Flores Dominick Violeta, Medina Morillo Marco

Laboratorio de Patobiología Acuática – Dirección General de Investigaciones en Acuicultura - Instituto del Mar del Perú.

Esquina Gamarra y General Valle S/N Chucuito, Callao

## **Agradecimientos:**

Financiamiento Meta 03 Desarrollo tecnológico - PpR 2017. Los autores agradecen al Laboratorio de Cultivo de Peces Marinos por el material biológico brindado y al Laboratorio de Ecotoxicología Acuática por las facilidades en el uso de sus instalaciones para el presente trabajo.

## **Introducción:**

Está reconocido que las infecciones bacterianas, entre ellas las producidas por la familia Vibrionaceae, son las responsables de la mayoría de brotes infecciosos en acuicultura. Ante esta problemática, para reducir el riesgo del desarrollo y diseminación de las bacterias resistentes causada por el uso indiscriminado de antimicrobianos, surge el empleo de bacteriófagos (Fagoterapia) como una alternativa para control de bacterias patógenas en la acuicultura.

## **Objetivo:**

Evaluar la eficacia del fago Va1 en el control de mortalidad ocasionada por *Vibrio alginolyticus* en juveniles de *Paralichthys adspersus* infectados experimentalmente.

## **Materiales y Métodos**

### **a) Determinación de la vía de infección**

A fin de evaluar la vía de infección por la cual *V. alginolyticus* produce mayor mortalidad en *P. adspersus*, se utilizaron ejemplares (n=90) de  $12.86 \pm 0.68$  cm, acondicionados en 18 unidades experimentales (UE) de 15L cada uno a una densidad de 5 ejemplares por UE.

Las vías de infección evaluadas fueron: Intraperitoneal (IP), intramuscular (IM) y baños de inmersión (B). La dosis utilizada en la infecciones vía IP e IM fue de 0.1 mL de *V. alginolyticus* en fase logarítmica equivalente a  $>10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> en PBS. Para el tratamiento por baños de inmersión se utilizó *V. alginolyticus*  $>10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> en agua de mar esterilizada durante 5 minutos. Los tratamientos se realizaron por triplicado e incluyeron controles sin inóculo bacteriano. Todos los tratamientos fueron llevados a cabo en mesas termoregulables a  $19 \pm 1^\circ\text{C}$  con recambios diarios del 100%.

Los peces fueron observados por 8 días en procura de evidenciar signos de enfermedad y el reisolamiento de la cepa en los casos de mortalidad.

### **b) Ensayos de fagoterapia**

Una vez determinada la vía de infección en la que la cepa bacteriana produjo mortalidad, se evaluó la eficacia de la fagoterapia inoculando 0.1 mL del bacteriófago Va1 ( $10^9$  UFP.mL<sup>-1</sup>) y 0.1 ml de *V. alginolyticus* ( $10^9$  UFC. mL<sup>-1</sup>) en ejemplares de 3 UE de  $12 \pm 0.9$  cm. Las UE fueron evaluadas por 8 días. Los controles fueron ejemplares inoculados con fagos, bacteria y PBS. La supervivencia fue utilizada como el principal parámetro indicador de la eficacia de la fagoterapia.

## **Resultados**

En las UE en las que se realizó la inoculación vía intraperitoneal se evidenció un 46% (7/15) de mortalidad, a comparación de las otras vías de infección experimental evaluadas en las que no se observó mortalidad ni síntomas de enfermedad. Adicionalmente, se aisló la cepa de *V. alginolyticus* a partir de muestras de órganos internos de los peces infectados. Se observó un crecimiento homogéneo y puro de la cepa de *V. alginolyticus* en Agar Trypticase de Soya (TSA) y en Agar Tiosulfato Citrato Bilis Esculina (TCBS).

Por otro lado, los ensayos de fagoterapia utilizando la vía intraperitoneal como vía de inoculación fágica, evidenciaron una supervivencia del 100 % (15/15) de los ejemplares infectados con *V. alginolyticus*. Además, no se observó mortalidad ni síntomas de infección en alguna de las UE pertenecientes a los controles.

## Discusión

Actualmente en acuicultura, la fagoterapia es una opción de tratamiento que se está explorando como una alternativa para combatir a las bacterias patógenas debido a la elevada especificidad para infectar y lisar su bacteria huésped; por ello, el uso de los bacteriófagos puede permitir un control específico de las bacterias patógenas oportunistas (Almeida *et al.*, 2009; Ronda, *et al.*, 2003). En ese sentido, los resultados de la aplicación de fagos en juveniles de *P. adspersus* contra *V. alginolyticus*, fueron efectivos al controlar la infección inducida con esta bacteria.

Alagappan *et al.* 2010, reportaron un efecto protector y correctivo de la aplicación de fagos en larvas de *Penaeus monodon* contra *V. parahaemolyticus*; además, Park *et al.* (2000) reportaron un efecto protector por parte de los fagos en los peces *Seriola quinqueradiata* y *Plecoglossus altivelis*.

Estos hechos ponen en evidencia el potencial protector de estos virus para ser aplicados en acuicultura. Este trabajo preliminar con juveniles de *P. adspersus*, utilizados como modelos biológicos servirán de base para los ensayos de fagoterapia en peces marinos contra bacterias patógenas. Si bien *V. alginolyticus* no se ha reportado como patógeno primario en organismos acuáticos, el ensayo demuestra *in vitro*, que el bacteriófago es eficaz al controlar el crecimiento de esta bacteria bajo condiciones controladas, por lo que, trabajar con patógenos conocidos de organismos acuáticos aplicando la misma metodología podría ayudar a controlar las infecciones en acuicultura en investigaciones posteriores.

## Bibliografía

- Almeida, A., Cunha, A., Gomes, NCM., Alvens, E., Costa, L. & M. Faustino, 2009. Phage therapy and photodynamics therapy: low environmental impact approaches to inactivate microorganism in fish farming plants. *Mar Drugs*. 7:268-313.
- Alagappan, K., Deivasigamani, T., Somasundaram, S. & S. Kumaran. 2010. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and its specific phages from shrimp ponds in east coast of India. *Curr. Microbiol.* 61(4):235-240
- Park, S., Shimamura, I., Fukunaga, M., Mori, K. & T. Nakai. 2000. Isolation of bacteriophages specific to a fish pathogen *Pseudomonas plecoglossicida* as a candidate for disease control. *Applied Environmental Microbiology*. 66: 1416 - 1422.
- Ronda C., M. Vázquez. & R. López. 2003. Los bacteriófagos como herramienta para combatir infecciones en acuicultura. *Revista AquaTIC*. 18:3-10.

## IDENTIFICACION DE *Microsporidium* sp. EN ALEVINES DE *Arapaima gigas* PROVENIENTES DE LA REGION UCAYALI - PERÚ

Garcia E.<sup>1\*</sup>; Mondragón A.<sup>2</sup>; Martínez R.<sup>2</sup>, Contreras G.<sup>3</sup> & Sandoval N.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología, DIDITT - ITP. \*jgarcia@itp.gob.pe

<sup>2</sup>Laboratorio de Parasitología de Fauna Silvestre y Zoonosis, FCB - UNMSM.

<sup>3</sup>Estación Experimental del IVITA - Pucallpa, FMV - UNMSM.

<sup>4</sup>Sección Ictiopatología. Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, FMV - UNMSM.

### Introducción.

*Arapaima gigas* es la principal especie cultivada en la amazonia peruana con grandes perspectivas para la industria acuícola (Train, 2003). Se ha reportado la presencia de estructuras parasitarias compatibles con el Phyla Myxozoa y/o Microspora en la musculatura de alevines de *A. gigas* procedentes de distintos centros productivos que presentaban altas mortalidades. Estos parásitos presentan diferencias en la estructura de sus esporas que no se puede apreciar por tinción H&E, pero si mediante tinción Gram. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de *Microsporidium* sp. en alevines de *A. gigas* mediante la técnica de coloración Gram.

### Material y métodos.

Se muestrearon especímenes de *A. gigas* (n=20) entre la segunda y tercera semana posterior a su levante, con una medida y pesos aproximado de  $5.46 \pm 0.17$  cm y  $0.72 \pm 0.06$  g y con signos clínicos de enfermedad, procedentes de la estación experimental del Instituto de Investigaciones Tropicales y de Altura, región Ucayali. Se sacrificaron mediante corte medular previa anestesia con benzocaína [1g/20 L]. Posteriormente se les realizo un corte sagital, se fijaron en formalina tamponada al 10% y fueron procesadas por la técnica de inclusión en parafina (corte 5 um) y coloreadas con H&E (n=20) y Gram (n=5). Las observaciones se realizaron con un microscopio óptico a 100 X (Leica DM750).

### Resultados y Discusión.

En el 100 % (5/5) de los especímenes muestreados y coloreados con la coloración Gram se observó la presencia de estructuras pequeñas de forma ovaladas que presentan una coloración violácea siendo Gram positivas, midiendo aproximadamente entre 1,2– 1,7 x 0,5-1,0 um, localizadas entre las fibras musculares, las cuales eran compatibles con esporas de *Microsporidium* sp. (Bruno, Nowak, & Elliott, 2006; Noga, 2010) y en el 100

% (20/20) de los especímenes muestreados y coloreados con H&E se observó estas formas no muy diferenciadas (Figura 1).

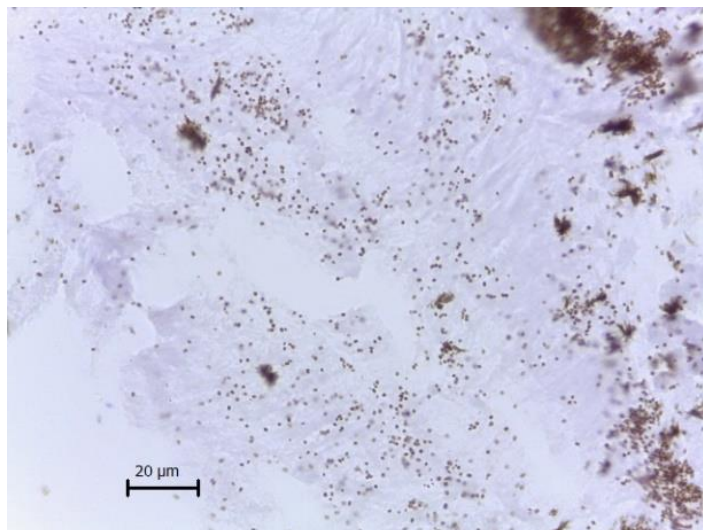


Figura 1. Tejido muscular de *A. gigas*, corte histológico (Tinción Gram, 100 X). Se observa la presencia de esporas de *Microsporidium* sp. dispersas entre las fibras musculares, las cuales presentan una coloración Gram positiva.

### **Conclusiones.**

Se describe la presencia de esporas de *Microsporidium* sp. localizadas entre las fibras musculares de alevines de *A. gigas* procedentes de Ucayali, mediante la técnica de coloración Gram. Este hallazgo es de suma importancia para el sector acuícola de la amazonia peruana, ya que se reporta a uno de los posibles agentes causales relacionados a la alta mortalidad en alevines de *A. gigas*.

### **Referencias**

- Bruno, D., Nowak, B., & Elliott, D. (2006). Guide to the identification of fish protozoan and metazoan parasites in stained tissue sections. *Diseases of Aquatic Organisms*, 70, 1–36.
- Noga, E. J. (2010). *Fish disease: diagnosis and treatment*. *Fish disease: diagnosis and treatment*. John Wiley & Sons.
- Train, R. E. (2003). Seminario Taller Internacional de Manejo de Paiche o Pirarucu. In *Seminario taller internacional de manejo de paiche o pirarucu* (pp. 149–154).

## IDENTIFICACIÓN DE *Vibrio harveyi* ASOCIADO A MORTALIDAD DE *Paralichthys adspersus* EN CAUTIVERIO

Marco Medina<sup>1\*</sup>; Carla Fernández<sup>1</sup>; Violeta Flores<sup>1</sup>; Deivis Cueva<sup>2</sup> & Giovanna Sotil<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Patobiología Acuática – DGIA – IMARPE

<sup>2</sup> Laboratorio de Genética Molecular - DGIA – IMARPE

\* [mmedina@imarpe.gob.pe](mailto:mmedina@imarpe.gob.pe)

### Agradecimiento:

El trabajo se realizó gracias al Financiamiento del PpR 2017: Meta 03 Desarrollo tecnológico. Se agradece al Laboratorio de Cultivo de Peces y Ecotoxicología Acuática del Imarpe por el material biológico y apoyo logístico brindado para los ensayos.

### Introducción:

El lenguado *Paralichthys adspersus* es considerado como una especie prioritaria para la diversificación de la maricultura en el Perú (PRODUCE, 2013), con una alta demanda comercial debido a la calidad de su carne. Si bien su cultivo se viene desarrollando tanto con fines de investigación como a escala piloto comercial, aún son escasos los estudios de las enfermedades vinculadas a esta especie. Por ese motivo, el objetivo de este trabajo fue identificar el agente causal de un evento de mortalidad de *P. adspersus* mantenido en cautiverio, mediante el uso de métodos tanto bioquímicos como moleculares, y la corroboración de la virulencia de las cepas aisladas mediante infecciones experimentales.

### Material y métodos:

Se colectaron ejemplares de lenguados adultos (n=4) de  $36.1 \pm 2.9$  cm obtenidos de un evento de mortalidad registrado en condiciones de cautiverio. Se realizó la necropsia (Noga, 2010) y se tomaron muestras de órganos internos, para posteriormente homogenizarlos y sembrarlos en los medios de cultivo TSA + NaCl (2%), TCBS y FMM (Pazos *et al.* 1993). Las bacterias resultantes fueron purificadas por aislamientos sucesivos e identificadas preliminarmente utilizando métodos bioquímicos y API 20E. Para la identificación molecular, se realizó el análisis de secuencias del gen ARNr 16S (950 nt), y de los genes *house-keeping* recA (790 nt), rpoA (907 nt) y rpoB (1003 nt), las secuencias generadas fueron depositadas en el GenBank con los códigos de acceso MG253582, MG253593, MG253604 y MG253615, respectivamente. Para realizar las infecciones experimentales con cada cepa bacteriana identificada, se acondicionaron 3 unidades experimentales conformadas por acuarios de 15 L de capacidad efectiva a  $19 \pm 1$  °C, cada una con 10 peces de longitud promedio  $13.7 \pm 1.32$  cm, los cuales fueron inoculados vía intraperitoneal con 0.1 µL de inóculo bacteriano en PBS equivalente a  $10^5$  UFC. Además se consideró a un grupo control inoculado solamente con PBS. Los

ejemplares moribundos fueron colectados para los análisis bacteriológicos durante 10 días post-infección.

### **Resultados, discusión.**

Los peces analizados presentaron erosión de las aletas, lesiones ulcerosas a la altura de la aleta pectoral y del pedúnculo caudal. Además, se observaron lesiones petequiales en el músculo de la cavidad peritoneal y líquido ascítico, los cuales fueron similares a los casos de vibriosis reportados en peces por otros autores (Lee, *et al.*, 2002; Zorrilla *et al.*, 2003; Hashem & El-Barbary, 2013). Se aislaron tres cepas bacterianas a partir de los órganos internos y lesiones ulcerosas, las cuales fueron caracterizadas como bacilos cortos Gram negativos, fermentadores de glucosa, motilidad, oxidasa y sacarosa positivos. Las pruebas bioquímicas permitieron identificar a las cepas presuntivamente como *Vibrio alginolyticus* Ca1-1, *Vibrio sp.* Ca1-2 y *V. harveyi* Ca1-3 (Alsina & Blanch, 1993). Los análisis moleculares confirmaron la identidad de las cepas Ca1-1 y Ca1-2 como *V. alginolyticus* utilizando los genes house-keeping (99% de similitud) sin lograr discriminar la especie con el marcador 16S; mientras que Ca1-3 fue identificada como *V. harveyi* utilizando los cuatro marcadores. En las infecciones experimentales, sólo la cepa *V. harveyi* Ca1-3 ocasionó mortalidad en el 100% en los peces, aunque no se evidenciaron úlceras epiteliales tal como se observaron en los ejemplares con infecciones naturales. La condición no virulenta de las otras cepas indicaría probablemente que actuaron como patógenos secundarios en la infección. Finalmente, el presente estudio destaca el potencial patogénico de *V. harveyi* para producir mortalidad en el 100% de *P. adspersus* mantenidos en cautiverio.

### **Referencias**

- Alsina M. & Blanch A. 1993. A set of key for biochemical identification of environmental *Vibrio* species. *Journal of Applied Bacteriology*.76: 79-85.
- Hashem M. & El-Barbary M. 2013. *Vibrio harveyi* infection in Arabian Surgeon Fish (*Acanthurus sohal*) of Red Sea at Hurgada, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research* 39, 199–203
- Lee, K.K., Liu, P.C., Chuang, W.H., 2002. Pathogenesis of gastroenteritis caused by *Vibrio carchariae* in cultured marine fish. *Mar. Biotechnol.* 267–277.
- Noga E. 2010. *Fish disease: diagnosis and treatment*. 2nd edition. Wiley-Blackwell. Ames, Iowa.
- Pazos, F. Y., Santos, A. R., Macias, S., Nufiez, & Toranzo, A. E. 1996. Evaluation of media for the successful culture of *Flexibacter maritimus*. *J. Fish Dis.*, 19: 193-197.



PRODUCE. 2013. (en línea). Programa Nacional de Ciencia, Desarrollo Tecnológico e Innovación en Acuicultura (C+DT+i) 2013-2021. Acceso 05/10/2017.

Zorrilla, I., Arijo, S., Chabrillon, M., Diaz, P., Martinez-Manzanares, E., Balebona, M.C., Morinigo, M.A., 2003. *Vibrio* species isolated from diseased farmed sole, *Solea senegalensis* (Kaup), and evaluation of the potential virulence role of their extracelular products. *J. Fish Dis.* 26, 103–108

## **INCLUSIÓN DE HARINA DE LEVADURA DE CERVECERÍA EN DIETAS DE ALEVINOS DE *Piaractus brachipomus* CRIADOS BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN PUCALLPA**

**Robles, R.<sup>1\*</sup>, Capuñay, L.<sup>2</sup>, Espichan, S.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidad Nacional Agraria de la Selva

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Ucayali <sup>3</sup>Universidad Nacional de Tumbes

\* [rizal.robles@unas.edu.pe](mailto:rizal.robles@unas.edu.pe)

### **Introducción**

El cultivo intensivo de peces, se caracteriza por deteriorar la calidad del agua y exponer a los peces, a condiciones de tensión y estrés provocando enfermedades, bajo rendimiento productivo y alta mortalidad en la acuicultura (Rollo et al., 2006). Con la finalidad de aprovechar los recursos agroindustriales regionales, en la alimentación de peces tropicales, se identificó a la levadura de cerveza líquida, que podría transformarse en harina e incluirse en dietas extrusadas para peces; la levadura, posee importantes cantidades de vitaminas del complejo B, proteína y polisacáridos (beta glucanos) en sus paredes, siendo un insumo que puede reemplazar a insumos proteicos tradicionales y a la vez son fuentes de prebióticos moduladores del equilibrio microbiano del tracto intestinal y del sistema inmune (Jin, 2013). El objetivo fue evaluar los índices biométricos de alevinos de paco alimentados con dietas extrusadas incluidas con diferentes niveles de harina de levadura de cerveza.

### **Materiales y métodos**

El trabajo de investigación se realizó en Pucallpa-Perú, en un ambiente techado de 150 m<sup>2</sup> de área, dónde se instalaron 20 estanques de 0.378 m<sup>3</sup> de volumen, implementada con sistema de abastecimiento de agua (1 L/20 minutos). Levadura de cerveza semi pastosa fue donada por la Empresa Orujo SAC, el cual fue secada en estufas de ventilación forzada a 60 °C por 4 días y molida obteniéndose Harina de Levadura de Cervecería (HLC); 2 muestras de 50 g de HLC fue enviada a los Laboratorios de Nutrición Animal y de Suelos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, reportándose: 9.18% MS; 27.1% PB; 0.14% Calcio y 0.31% Fósforo. Se

formularon 5 dietas isonutrientes (Vásquez-Torres et al., 2002), procesadas en un extrusor con 3 mm  $\phi$ , formándose los tratamientos: T1: Sin inclusión de HLC; T2: 7.5% HLC; T3: 15% HLC; T4: 22.5% HLC; T5: 30% HLC. La tasa de alimentación, fue del 7% de la biomasa para los primeros 30 días y 5% para los últimos 30 días y la frecuencia fue 5 veces/día, durante 60 días del ensayo. 1200 alevinos de paco fueron adquiridos del IIAP – Pucallpa (edad: 30 días; Peso vivo: 2.5 g; Talla: 4.5 cm), los que fueron distribuidos en 5 tratamientos con 4 repeticiones cada uno (60 alevinos/repetición). El análisis de variancia fue realizado mediante el software estadístico InfoStat (Infostat, 2016).

## Resultados

**Tabla 1.** Índices biométricos de alevinos de paco alimentados con dietas extrusadas incluidas con harina de levadura de cervecería, n = 240

Trat.	Peso Inicial, g	Peso Final, g	GDP g	CDA g	CA g/g	LI cm	LF cm	GDL cm	K p/t	DENS kg/m <sup>3</sup>
T1	2.58	6.83	0.07	0.08	1.08	5.82	8.94	0.05	0.76	1.42
T2	2.50	6.69	0.07	0.07	1.02	5.65	8.78	0.05	0.76	1.39
T3	2.41	6.89	0.08	0.08	1.03	5.29	9.02	0.06	0.76	1.43
T4	2.33	6.96	0.08	0.08	1.03	5.70	9.12	0.06	0.76	1.44
T5	2.32	6.18	0.07	0.08	1.17	5.52	9.09	0.06	0.68	1.28
CV, %	18.15	7.97	13.91	11.77	12.02	10.13	8.10	15.7	6.52	7.99
p-valor	0.56	0.30	0.39	0.91	0.46	0.73	0.96	0.83	0.13	0.294

GDP: Ganancia diaria de peso (Peso final – peso inicial / número de días), CDA: Consumo diario de alimento (Alimento ofrecido – alimento sobrante / número de días), CA: Conversión alimenticia (CDA/GDP), LI: Longitud inicial, LF: Longitud final, GDL: Ganancia diaria en longitud (Longitud final – longitud inicial / número de días), K: Factor de condición (Peso / talla), DENS: Densidad (biomasa final, CV: Coeficiente de variación.

## Discusión

Los índices biométricos de alevinos de paco, ( $p > 0.05$ ) no fueron influenciados por la inclusión de harina de levadura de cervecería en dietas extrusadas (Tabla 1); numéricamente, los alevinos alimentados con dietas extrusadas incluidas con 15 y 22.5% de harina de levadura de cervecería reportaron mejores índices biométricos en relación a los otros tratamientos. También, se observa que, alevinos alimentados con dietas extrusadas incluidas con la mayor proporción de harina de levadura de cervecería 30%, numéricamente reportaron deficiente conversión alimenticia (1.17), menor factor de condición (0.68) y menor kilogramo de alevino producido por m<sup>3</sup> (1.28).

Mayores niveles de inclusión de harina de levadura de cervecería acaban desmejorando la conversión alimenticia, debido posiblemente a altos niveles de fibra que reducen la digestibilidad de la proteína (Jin, 2013) y al efecto negativo que pueden causar los  $\beta$ -glucanos sobre el sistema inmune, generando aguda activación del sistema inmune y, por lo tanto, el organismo responde con mayor gasto energético y proteico para su defensa; corroborando a esta afirmación, Ozório et al. (2012) estudiaron la inclusión de 0, 10, 15, 20, 30 y 40% de levadura de cerveza en dietas de juveniles de

tilapia, dónde observaron que a partir de 15% de inclusión el comportamiento productivo de la tilapia mostraron una tendencia lineal negativa. Se concluye que inclusiones de harina de levadura de cerveza al 7.5%, 15% y 22.5% en la dieta extruida para alevinos de *Piaractus brachipomus*, no afectan sus índices biométricos, recomendándose su uso en el cultivo comercial de esta especie.

## Referencias

- INFOSTAT. 2016. Software para análisis estadístico. Córdoba, Argentina.
- JIN, L. 2013. Evaluation of spent brewer's yeast an alternative fish feed. Tesis. Universiti Tunku Abdul Rahman. p. 90.
- OZÓRIO, R. et al., 2012. Effect of dietary yeast (*Sacharomyces cerevisiae*) supplementation in practical of tilapia. *Animals*, v. 2, p. 16-24.
- ROLLO, A., et al. 2006. Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiol. Biochem.*, 321: 167-177.
- VÁSQUEZ-TORRES, W. et al. 2002. Estudos para composição de uma dieta referência semipurificada para avaliação de exigências nutricionais em juvenis de pirapitinga, *Piaractus brachypomus*. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v. 31, p. 283-292.

## IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS: IMPORTACIÓN DE OVAS EMBRIONADAS DE *Oncorhynchus mykiss* DE EEUU CON FINES DE TRUCHICULTURA EN EL PERÚ

Peter Charrie Janampa Sarmiento\*

Instituto de Zootecnia, campus da UFRRJ. Rodovia BR 465, km 07 – Seropédica-RJ Cep: 23890-000

\* [peterjs\\_0126@hotmail.com](mailto:peterjs_0126@hotmail.com)

Agradecimiento a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) por el financiamiento.

**Introducción:** La importación de ovas de trucha arco iris ha permitido el incremento del cultivo comercial de esta especie en el Perú; sin embargo es probable que también sean vehículos de agentes patógenos exóticos con capacidad de transmisión vertical. Dicho esto, el objetivo del presente trabajo fue realizar una identificación de peligros asociados a la importación de ovas embrionadas de trucha arco iris procedentes de Estados Unidos de América.

**Material y Métodos:** La identificación de peligros fue realizada en base al modelo de Análisis de Riesgo dictaminada por la OIE (2017b). Siendo la identificación de peligros la primera de las 04 etapas que la conforman. Se elaboró un listado de “peligros potenciales” de agentes patógenos que estan asociados a enfermedades infecciosas en trucha arco iris. Luego, se sometió cada uno de los agentes potenciales al árbol de escenarios descrito por Figueiredo *et al* (2012) para la obtención de un listado de “peligros identificados”. Los criterios utilizados para responder cada uno de los escenarios fue en base a los reportes en el Sistema de Información Mundial de Sanidad Animal (WAHIS) para el período 2005-2016; y a través de la revisión de la literatura científica disponible para el mismo periodo.

**Resultados:** Se consideró 12 agentes patógenos como “peligros potenciales” que causan enfermedades infecciosas a la especie *Oncorhynchus mykiss* de los cuales, 04

de ellos satisficieron todos los criterios del árbol de escenarios, obteniendo la categoría de “peligro identificado” (Tabla 01).

**Tabla 01:** Lista de “peligros identificados” en las ovas embrionadas procedentes de Estados Unidos de América, que cumplen los criterios del árbol de escenarios.

Enfermedad / agente patógeno	¿Trucha es susceptible?	Trasmisión vertical	Presencia en el Perú	Presencia en EUA
Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (IHN)	Si (OIE, 2017a)	Si (OIE, 2017a)	No reportado (OIE, 2017a)	Si (WAHIS)
Piscine Reovirus	Si (Olsen et al, 2015)	Probable, no confirmado (Olsen et al, 2015)	No reportado (Olsen, 2015)	Si (Olsen et al, 2015)
Virus de la Pancreatitis Infecciosa (IPN)	Si (Molloy, 2013)	Si (Molloy, 2013)	No reportado (Castro, 2010)	Si (WAHIS)
<i>Piscirickettsia salmonis</i> (Bacteria)	Si (Rozas y Enriquez, 2014)	Si (Rozasy Enriquez, 2014)	No reportado (Yunis et al, 2015)	Si (WAHIS)

**Discusión y Conclusión:** La identificación de peligros como componente inicial del Análisis de Riesgos es una herramienta preliminar para indicar los posibles peligros que puedan comprometer la seguridad de los animales acuáticos de un país importador. Actualmente el Perú es un importador de ovas embrionadas sin ningún sistema de vigilancia activa específico para este producto, puesto que el Programa Oficial de Vigilancia del SANIPES (2016) no considera al producto “ovas embrionadas de trucha arco iris” dentro de su alcance. De los 04 “peligros identificados”, sólo el virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa se encuentra enlistada por la OIE (2017) como enfermedad de notificación obligatoria, no obstante se ha reconocido su importancia sanitaria de los otros 03 patógenos (Molloy, 2013; Rozas e Enriquez, 2014; Olsen et al, 2015). Se concluye que existe 04 peligros identificados en el producto ova embrionada de trucha arco iris procedente de Estados Unidos. El presente listado considera al país de origen, Estados Unidos de América, como un todo sin distinción de compartimentos o localizaciones específicas. Se recomienda continuar con la siguiente etapa del Análisis de Riesgo, “Evaluación de Riesgo”, para estimar la probabilidad de entrada, establecimiento y consecuencias de los peligros para el Perú.

#### Referencias:

- Castro Sanguinetti, Gina Ruth. 2010. Estandarización de la técnica RT-PCR a tiempo real para la detección del virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Disponible en <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/692> (Acceso 18/10/2017)
- Figueiredo H.C.P., Cunha E.A.P., Delphino M.K.V.C., Blume L.R., Machado D.P. & Oliveira P.H.S. 2012a. Análise de Risco de Importação: alevinos da espécie *Oreochromis niloticus* (Tilápia do Nilo) originários de aquicultura de Singapura, destinados à multiplicação animal. Ministério da Pesca e Aquicultura, Brasília. 135p.
- Molloy, S. D., Pietrak, M. R., Bricknell, I., & Bouchard, D. A. 2013. Experimental Transmission of Infectious Pancreatic Necrosis Virus from the Blue Mussel, *Mytilus edulis*, to Cohabiting Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Smolts. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(19), 5882–5890. <http://doi.org/10.1128/AEM.01142-13>
- OIE. 2017a. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. Disponible en [http://www.oie.int/index.php?id=2439&L=2&htmfile=titre\\_2.3.htm](http://www.oie.int/index.php?id=2439&L=2&htmfile=titre_2.3.htm) (Acceso en 18/10/2017)

- OIE. 2017b. Código Sanitario para los Animales Acuáticos. [http://www.oie.int/index.php?id=171&L=2&htmfile=chapitre\\_import\\_risk\\_analysis.htm](http://www.oie.int/index.php?id=171&L=2&htmfile=chapitre_import_risk_analysis.htm) (Acceso en 18/10/2017)
- Olsen AB, Hjortaas M, Tengs T, Hellberg H, Johansen R. 2015. First Description of a New Disease in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) Similar to Heart and Skeletal Muscle Inflammation (HSMI) and Detection of a Gene Sequence Related to Piscine Orthoreovirus (PRV). PLoS ONE 10(7): e0131638. doi:10.1371/journal.pone.0131638
- Rozas M. Enriquez R. 2014. Piscirickettsiosis and Piscirickettsia salmonis in fish: a review. Journal of Fish Diseases 2014, 37, 163–188 doi:10.1111/jfd.12211
- SANIPES. 2016. Procedimiento: Programa Oficial de Vigilancia y Control de Enfermedades en Animales Acuáticos. Disponible en <http://www.sanipes.gob.pe/procedimientos/P01-SDSNA-SANIPES-REVO.pdf> (Acceso en 18/10/2017)
- World Animal Health Information Database (WAHIS Interface) – Version 1 Copyright © World Organisation for Animal Health (OIE) Release date: 30 December 2013 August 2012 [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Countryinformation/Countrytimelines](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Countrytimelines) (Acceso en 18/10/2017)
- Yunis A J., Anicama D J., Manchego S.A., Sandoval C.N. 2015. Presencia de Piscirickettsia salmonis en Truchas de Cultivo (*Oncorhynchus mykiss*) en Junín, Perú. Rev Inv Vet Perú 2015; 26(1): 140-145 <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v26i1.10922>

## **INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Aeromonas hydrophila* EM *Piaractus mesopotamicus*: DL50 E SINAIS CLÍNICOS**

Bruno Luis Miani Verri<sup>1\*</sup>, Gustavo Silva Claudiano<sup>1,3</sup>, Jefferson Yunis Aguinaga<sup>2</sup>, Fausto Marinho Neto<sup>1</sup>, Flavio Ruas de Moraes<sup>1,2</sup>, Julieta Rodini Engracia de Moraes<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Unesp. <sup>2</sup>Centro de Aquicultura da UNESP. <sup>3</sup>Instituto de Biodiversidade e Florestas. UFOPA, Pará, Brasil. \* [verrimiani@gmail.com](mailto:verrimiani@gmail.com)

**Agradecimentos:** À Fundação Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP 2014/10231-2 e nº 2011/20280-2 e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (441054/2014-5).

### **Introdução:**

O *Piaractus mesopotamicus* é uma das espécies de maior importância na piscicultura brasileira. Dentre os entraves para a sua produção tem-se as doenças infecciosas (Janda & Abbott, 1998), que são responsáveis por altas taxas de mortalidade. O gênero *Aeromonas* é constituído de agentes bacterianos cosmopolitas que causam septicemias em animais aquáticos e terrestres, seus fenótipos representam ameaça para os animais e para a saúde pública.

**Objetivo:**

Determinar a dose letal 50 ( $DL_{50-96H}$ ) de uma cepa de *Aeromonas hydrophila* em alevinos de pacu e caracterizar os sinais clínicos da infecção experimental.

**Materiais e métodos:**

Foram utilizados 60 pacus, *Piaractus mesopotamicus*, massa média 100-120 g acondicionados aleatoriamente em 6 tanques de 250L (n=10). A cepa de *Aeromonas hydrophila* utilizada foi isolada e identificada por meios microbiológicos e moleculares (Garcia et al. 2009). Foram utilizados 6 grupos experimentais, 1 controle injetado com PBS estéril e 5 tratamentos inoculados com concentrações crescentes de suspensão da bactéria em PBS inoculados intraperitoneal: T1 =  $1.5 \times 10^8$ ; T2 =  $1.8 \times 10^8$ ; T3 =  $2.1 \times 10^8$ ; T4 =  $2.4 \times 10^8$ ; T5 =  $2.7 \times 10^8$  bactérias/mL). A mortalidade foi avaliada por inoculação por 96h. Dos animais sobreviventes foram coletadas amostras de cérebro para análise histopatológica em lâminas coradas com H&E (Luna, 1998). Também foi realizada imunomarcagem anti-iNOS. O resultado da  $DL_{50-96h}$  foi estimado utilizando o teste Spearman-Kärber, a sobrevida seguiu o método de Kaplan-Meier. Para os cálculos estatísticos foi utilizado o software "R".

**Resultado e discussão:**

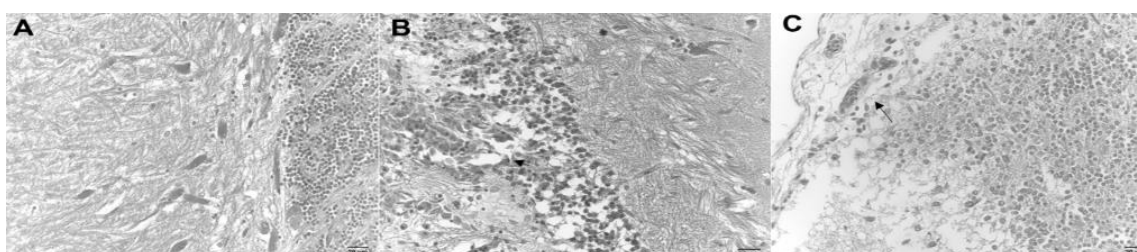
Após a inoculação de *A. Hydrophila* evidenciamos alterações do equilíbrio, apatia, natação errática em círculos ou rodopios, petéquias e sufusões cutâneas; e nas nadadeiras, despigmentação, necroses e úlceras cutâneas. Os sinais clínicos foram mais severos nos tempos mais longos e inóculos mais concentrados (Tabela 1). Na histopatologia, foram caracterizadas: congestão e hemorragias extensas (Figura 1), além de atividade incrementada das células da glia confirmada pela marcação para anti-iNOS. Os peixes do grupo controle não apresentaram sinais clínicos de infecção e foram negativos aos exames bacteriológicos. Os diferentes sinais clínicos causados pela *A. hydrophila* e as variações fisiopatológicas entre os peixes que receberam diferentes concentrações de inóculo decorrem de múltiplas inter-relações entre componentes do hospedeiro e do patógeno, como a variação entre os indivíduos, particularmente pelas características do histórico imunitário do peixe e/ou as variações genéticas.

**Tabela 1.** Sinais clínicos da patogenicidade de *A. hydrophila* em pacus inoculação intraperitoneal durante a DL50-96h

Groups	24 h	48 h	72 h	96 h
Control	WCS	WCS	WSC	WSC
T1	WCS	WCS	cauda comida	Necrose caudal
T2	natação errática (rodopio /> m.op)	petéquias hífema	petéquias hífema	sulfusões e apatia
T3	hemorragia cutânea e nadadeiras, letárgico	petéquias, púrpuras letárgia	sufusão, úlceras letárgia	Descamação (brancas), letárgia, hemorragia na base das nadadeiras
T4	hemorragia nadadeiras e cutânea	hemorragia e úlceras	Perda de equilíbrio, sufusão necrose e despigmentação cutânea	Descamação (brancas), letárgia, hemorragia na base das nadadeiras
T5	natação errática (n=1)	WCS	WSC	WSC

<sup>1</sup> Resultados (n=8) dos sinais clínicos apresentados durante a DL50% (DL (I) (50-96H)) . C = Control (saline solution 0.65%);

T1 =  $1.5 \times 10^8$  cells/mL; T2 =  $1.8 \times 10^8$  cells/mL; T3 =  $2.1 \times 10^8$  cells/mL, T4 =  $2.4 \times 10^8$  cells/mL e T5 =  $2.7 \times 10^8$  cells/mL. H = hours



**Figura 1.** Fotomicrografias de encéfalo de *Piaraactus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila*. (A) tecido nervoso normal. (B) e (C) congestão e hemorragia em tecido nervoso (setas).

### Conclusão:

Neste ensaio a DL50 (96h) foi de  $1.8 \times 10^8$  CFU/mL e os resultados de isolamento bacteriano, microbiológicos, histopatológicos e imunohistoquímicos confirmaram que as alterações neurológicas do *P. mesopotamicus* foram causados pela bactéria inoculada e sugerindo tropismo do microrganismo pelo tecido nervoso. Fato que chama a atenção para a necessidade de diagnóstico diferencial em relação a outras enfermidades neurológicas de peixes que se manifestam da mesma forma.

### Referências:

Garcia, F. & Moraes, F. R. 2009. Hematologia e sinais clínicos de *Piaraactus mesopotamicus* infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*. ActaScientiarum. Biological Sciences, v. 31, p. 17-21

Luna L. G. 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3.ed. New York: McGraw/Hil, p. l258

## **Influência do meio de cultura sobre o crescimento e morfologia das colônias de *Flavobacterium columnare*, e sua virulência em *Piaractus mesopotamicus***

Bruno Luis Miani Verri<sup>1\*</sup>, Jefferson Yunis-Aguinaga<sup>1,2</sup>, Victor Alexander Cueva-Quiroz<sup>1,2</sup>, Fernando Ramos-Espinoza<sup>1</sup>, Flávio Ruas de Moraes<sup>1,2</sup>, Julieta Rodini Engrácia de Moraes<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Aquicultura da Unesp. <sup>2</sup>Departamento de Patologia Veterinária FCAV, Unesp-Jaboticabal.\* [verrimiani@gmail.com](mailto:verrimiani@gmail.com)

### **Agradecimento:**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo FAPESP ([2016/16253-3](#)).

### **Introdução:**

*Flavobacterium columnare* é um dos patógenos que causam maiores perdas econômicas na piscicultura brasileira. Porém ela é ainda pouco estudada em peixes nativos. Existem relatos da influência do meio de cultura na caracterização e virulência das bactérias (Cernicchiaro et al., 2007). Atualmente, são usados vários meios para seu isolamento, nos quais é possível observar características diferentes no tempo de desenvolvimento, caracterização das colônias e virulência.

### **Objetivo:**

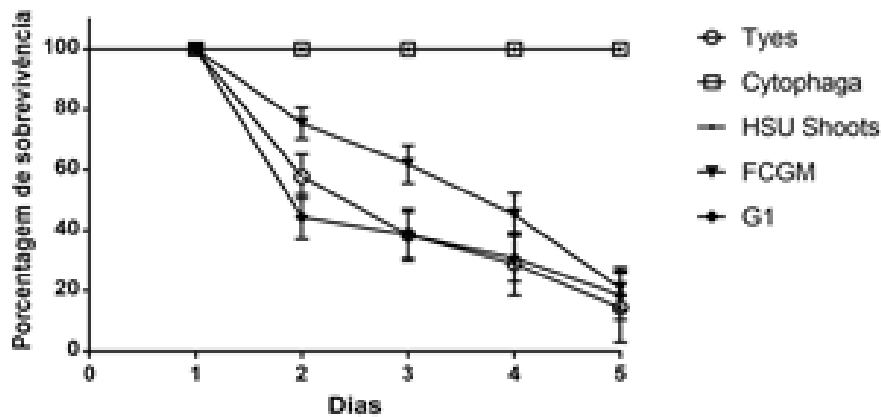
Avaliar o tempo de crescimento, características morfológicas e virulência do patógeno *Flavobacterium columnare* cultivado em 5 meios de cultura e inoculados em *Piaractus mesopotamicus*.

### **Material e métodos:**

Foram utilizados 150 juvenis de *Piaractus mesopotamicus* (~50g) distribuídos em 15 caixas com 10 peixes cada. Foram testados cinco meios de cultura para *F. columnare* (cepa bacteriana coletada de um surto natural nas instalações da universidade), em triplicata: T1: Tyes, T2: Cytophaga, T3: HSU Shoots, T4: FCGM e T5: G1. O crescimento foi avaliado pela densidade ótica das bactérias semeadas em meios líquidos e incubadas por 48 horas e em seguida mensuradas em PBS. Após incubação, as características morfológicas das colônias de cada meio líquido foram avaliadas. Para testes de virulência os tratamentos foram inoculados por injeção intraperitoneal com 0,8 mL contendo  $6 \times 10^8$  UFC (previamente determinado). Os animais foram avaliados clinicamente para observação de sinais clínicos e taxa de mortalidade durante 5 dias. Foram tomadas amostras histopatológicas de rim, baço, brânquias e fígado de 5 peixes de cada tratamento para leitura em microscopia de luz.

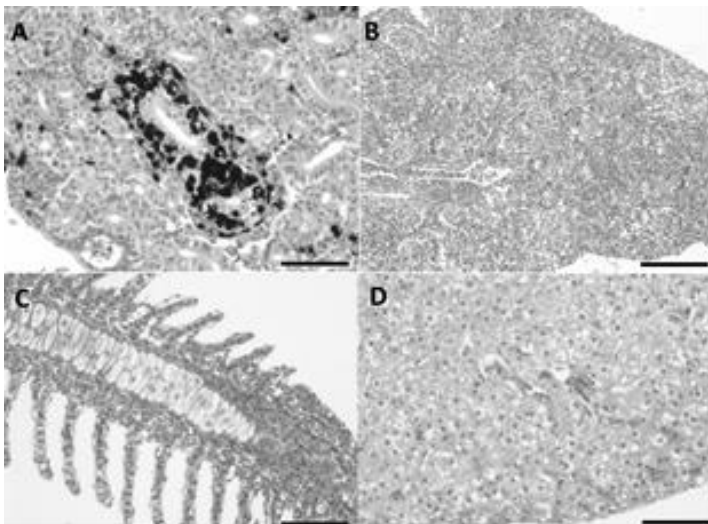


## Resultado e discussão:



**Figura 1:** Porcentagem de Sobrevivência.

Após incubação, o meio Tyes apresentou características morfológicas de gema de ovo pequena, amarela e aderência as placas. O meio Cytophaga apresentou forma de gema de ovo média com bordas lisas e amarelas. HSU Shoots apresentou formas filamentosas de tamanho médio e cor amarela. FCGM e G apresentaram forma arredondada pequena com bordas lisas e coloração amarela. Os meios Tyes, G1 e FCGM apresentaram menor taxa de sobrevivência após 5 dias (Fig. 1). Não foi possível afirmar que a taxa de sobrevivência esteja ligada a alterações de virulência do patógeno pois o crescimento bacteriano foi diferente entre os meios. Foram observadas alterações circulatórias e inflamatórias (Fig. 2) decorrentes no desenvolvimento da infecção por *F. columnare*, compatíveis com os achados por Altinok, (2004).



**Figura 2.** Lesões Histopatológicas (50µm). A: Abundantes MMCs (melanomomacrófagos) no rim. B: Edema e hemorragia esplênica C: Congestão no filamento e nas lamelas branquiais. D: Congestão na periferia do parênquima hepático.

## **Conclusão:**

Concluimos que o meio de cultura influencia no tempo de crescimento da bactéria e nas características morfológicas da colônia. Possivelmente devido a utilização e concentração de Cloreto de Calcio na composição dos meios, já que esse mineral é necessário para o metabolismo da célula.

## **Bibliografia:**

- Cernicchiaro, N., Wells, S. J., Janagama, H., & Sreevatsan, S. (2008). Influence of type of culture medium on characterization of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* subtypes. *Journal of clinical microbiology*, 46(1), 145-149.
- Altinok, I. (2004). Toxicity and therapeutic effects of chloramine-T for treating *Flavobacterium columnare* infection of goldfish. *Aquaculture*, 239(1), 47-56

## **VALORES HEMATOLOGICOS Y BIOQUIMICOS DE JUVENILES ACARAHUAZU *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831) EN CONDICIONES CONTROLADAS**

Anai Gonzales<sup>1\*</sup>; Christian Fernandez-Mendez<sup>2</sup>, Katy Huanuiri<sup>1</sup>, Jorge Vasquez<sup>1</sup>, Franco Guerra<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Carretera Iquitos Nauta km 4.5, AQUAREC, Apartado 784. Iquitos-Perú. E-mail: \*anaigonzalesf@gmail.com

<sup>2</sup> Centro de Investigación y Promoción Popular (CENDIPP). Iquitos-Perú

## **Introducción**

*Astronotus ocellatus* es un pez nativo de la cuenca amazónica, muy apreciado como pez ornamental alrededor del mundo y con un gran potencial para la acuicultura (Machado, 1983). La carne es apreciada por la textura, sabor y ausencia de espinas intramusculares (Fontenele & Nepomuceno, 1983). Los parámetros hematológicos y bioquímicos son usados como referencia para el diagnóstico y pronóstico de patologías, debido a que son indicadores fisiológicos frente a las alteraciones por diferentes factores durante el cultivo (Tavares-Días & Moraes, 2004; Ranzani-Paiva *et al.*, 2013). Existe poca información de los valores hematológicos y hasta el momento no hay trabajos con relación a los valores bioquímicos en condiciones de cultivo de esta especie. El objetivo fue determinar los valores hematológicos y bioquímicos de juveniles de acarahuaquí en condiciones controladas.

## Materiales y Métodos

Se utilizaron un total de 11 juveniles de acarahuazú (Figura 1) con un peso promedio de  $114.12 \pm 22.9$  g y una longitud total promedio de  $18.45 \pm 1.28$  cm por individuo, distribuidos en tanques de concreto con aireación constante a una densidad de pez/20L y alimentados con una dieta al 28% PB en las instalaciones del Centro de Investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra (CIFAB) del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Mediante punción de la arteria caudal a nivel del arco hemal, se extrajo 1 mL de sangre utilizando jeringas desechables conteniendo EDTA al 10%; la sangre extraída fue separada en dos partes: para las muestras hematológicas se colocó la sangre en tubos de 1.5 ml conservadas en refrigeración ( $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) para preservar la viabilidad de las células y para las muestras bioquímicas en tubos de 0,5 mL que fueron centrifugados a 100 rpm por 5 minutos para obtener el plasma sanguíneo.



Figura 1. Juveniles de *A. ocellatus*

## Resultados y Discusión

Los valores de los parámetros hematológicos y bioquímicos de los juveniles de acarahuazú encontrados en el presente estudio se muestran en la Tabla 1. Los valores

Tabla 1. Valores hematológicos y bioquímicos de juveniles de *A. ocellatus* en condiciones

Parámetro	Promedio $\pm$ DE	Mínimo	Máximo
Hematocrito (%)	$24.47 \pm 1.2$	18.8	29.1
Hemoglobina (g/dL)	$8.83 \pm 2.4$	6.4	14.4
Eritrocitos ( $\times 10^6 \mu\text{L}$ )	$1.1 \pm 0.1$	1.0	1.3
VCM (fL)	$222.12 \pm 41.0$	158.8	278.7
CHCM (g/dL)	$36.7 \pm 10.4$	23.1	57.9
HCM (pg)	$80.1 \pm 25.5$	60,7	144.0
Proteína (g/dL)	$3.44 \pm 1.1$	1.84	5.0
Colesterol (mg/dL)	$253.4 \pm 91.2$	146.3	397.0
Glucosa (mg/dL)	$64.39 \pm 28.8$	11.2	106.6

hematológicos se encuentran dentro de los valores normales reportados para alevinos de acarahuazu (Firouzbakhsh *et al.*, 2011). Sin embargo, se observó que algunos parámetros (eritrocitos, hematocrito y hemoglobina) son menores en comparación con ejemplares de mayor tamaño de la misma especie (Iannacone *et al.*, 2006).

En los parámetros bioquímicos solo existe referencia de la concentración de proteína plasmática para esta especie, los cuales son similares a los reportados por el presente estudio (Machado & Duncan, 2017), los demás valores bioquímicos se encuentran dentro de lo reportados para otros peces.

## Referencias bibliográficas

- Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M. K., & Jani-Khalili, K. (2011). Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. *Fish physiology and biochemistry*, 37(4), 833-842.
- Fontenele, O. & Nepomuceno, F.H. (1983). Exame dos resultados da introdução do *Astronotus ocellatus ocellatus* (Agassiz, 1849), em açudes do Nordeste do Brasil. *DNOCS* 41, 85–99.
- Iannacone, J., Falcón, W., & Vargas, R. (2006). Parámetros Hematológicos del Acarahuazú *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831)(Cichlidae: Perciformes) Hematological Parameters of Acarahuazú *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831)(Cichlidae Perciformes). *Biologist (Lima)*, 4(2), 16.
- Machado, R. N., & Duncan, W. P. (2017). Composição química do plasma de peixes teleósteos de um lago de várzea (Lago Janauacá, Amazônia Central). *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, 5(2), 42-47.
- Ranzani-Paiva, M.J.T.R.; Pádua, S.B.; Tavares-Días, M.; Egami, M.I. 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. Editora da Universidade Estadual de Maringá: EDUEM. 139pp.
- Tavares-Días, M.; De Moraes, F.R. 2004. Hematología de peixes teleósteos. 144pp.

## Notas sobre el Patrones de Transmisión de *Adenocephalus pacificus* Nybelin, 1931 (syn. *Diphyllobothrium pacificum*) y otras Helminthiasis Zoonóticas Marinas en el Perú: Rol del Consumo de Ceviche en la Salud Pública Global

Cárdenas – Callirgos, Jorge Manuel (\*)<sup>1</sup>; Del Águila - Pérez, Carlos Alberto<sup>1</sup>;  
Iannacone - Oliver, José Alberto<sup>1,2,3</sup> & Wetzel, Eric J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Global Health Initiative, Wabash College, USA; <sup>2</sup>Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA). Facultad de Ciencias Naturales y Matemática (FCNNM). Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Lima, Perú. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). Lima, Perú. \*E-mail: [jmcardenasc.ghi@gmail.com](mailto:jmcardenasc.ghi@gmail.com)

Los recursos pesqueros marinos constituyen un elemento importante en la dieta cotidiana de la población humana peruana, y gracias al desarrollo culinario en el Perú, se ha convertido en un "plato bandera" que ha trascendido nuestras fronteras y su consumo se ha ido extendiendo por muchos países latinoamericanos, así como a Norteamérica y otros continentes. El ecosistema marino – costero peruano presenta una gran diversidad de peces, moluscos, crustáceos, aves y mamíferos que son parte de complejas redes tróficas donde la depredación es el factor determinante para la transmisión de algunos helmintos parásitos de carácter zoonótico, cuyo ciclo de vida y patrones de transmisión esta intrínsecamente ligado a las relaciones depredador - presa propias de este sistema ecológico, y donde sus componentes actúan como hospederos intermediarios, paraténicos o definitivos contribuyendo de diferentes maneras a su dispersión ecológica y distribución geográfica. *Adenocephalus pacificus* Nybelin,

1931 (syn. *Diphyllobothrium pacificum*) ha sido recientemente reportado en el Perú, gracias a estudios moleculares, como agente etiológico de la difilobotriasis, parasitosis gastrointestinal que se transmite por el consumo de ceviche preparado a base principalmente de musculatura de peces marinos de nuestro litoral, aunque también se pueden usar diversos moluscos y crustáceos, entre otras especies marinas, en su preparación, la cual esta exenta de cocción y cuya única medida profiláctica es el uso de jugo de limón *Citrus limon* (L.) Burm.f. cuyo uso se ha demostrado que es inocuo. Esta infección se ocasiona por la ingestión de la larva plerocercoides que se encuentra parasitando diversos peces de importancia comercial. En el Perú se han reportado varias especies de peces teleósteos, crustáceos y moluscos de importancia comercial que albergan estadios larvarios infectantes, como larvas (L3) de los nematodos: *Anisakis simplex*, *A. physeteris*, *Pseudoterranova decipiens*, *Hysterothylacium pelagicum* y *Contracaecum* spp.; cistacantos de los acantocéfalos *Corynosoma obstucens* y *Profilicollis altmani* y metacercarias del digeneo *Heterophyes heterophyes*. Diversas especies de mamíferos y aves silvestres actúan como reservorios de estos helmintos, en el caso de *A. pacificus* los otaridos como el lobo marino sudamericano (*Otaria flavescens* Shaw, 1800; sinónimo: *Otaria byronia* (de Blainville, 1820)) y el lobo marino de dos pelos (*Arctocephalus australis* Zimmermann, 1783) son los hospederos naturales definitivos de esta parasitosis, donde los carnívoros domésticos y silvestres de ambientes terrestres puede actuar también como hospederos definitivos accidentales, cuando son alimentados con vísceras o musculatura de peces (especialmente teleósteos, dado que en los condriictios no se ha reportado la presencia de la larva infectante), se cree que *Engraulis ringens* Jenyns, 1842 sería el primer hospedero intermediario que albergaría la larva procercoide, y aunque los autores han realizado algunos hallazgos que podrían confirmar esta hipótesis, aun quedan muchos vacíos por investigar para conocer los patrones de transmisión de estas parasitosis y evaluar su real impacto en la salud global pública de los países consumidores de ceviche.

Palabras Clave: Perú, helmintos, ceviche, Adenocephalus, Salud Global

### **Importancia de la Investigación en Parasitismo de Peces Dulceacuícolas de Importancia Comercial de la Amazonia Peruana: Un Enfoque Integral y Multidisciplinario desde la Salud Global**

Cárdenas – Callirgos, Jorge Manuel (\*)<sup>1</sup>; Humberto Arbildo - Ortiz<sup>2</sup>, Fred Chu - Koo<sup>2</sup>; Iannacone - Oliver, José Alberto<sup>1,3,4</sup> & Wetzel, Eric J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Global Health Initiative, Wabash College, USA; <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana, Iquitos, Loreto - Perú; <sup>3</sup>Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA). Facultad de Ciencias Naturales y Matemática (FCNNM). Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Lima, Perú. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). Lima, Perú.

\*E-mail: [jmcardenasc.ghi@gmail.com](mailto:jmcardenasc.ghi@gmail.com)

El ambiente acuático abarca una amplia variedad de parámetros fisicoquímicos y biológicos que influyen sobre el mantenimiento de la homeostasis y que son esenciales para el crecimiento y reproducción adecuada de los peces y otros organismos acuáticos. El ecosistema acuático amazónico es sumamente frágil y si las condiciones se tornan desfavorables, ya sea por factores climáticos naturales o por factores antropogénicos, los agentes infecciosos oportunistas pueden colonizar hospedero gracias a la inmunosupresión ocasionada por el stress fisiológico fruto de estos cambios medioambientales, "proceso cascada" que afecta la virulencia de los patógenos y así la

dinámica poblacional de los peces afectados menguando la tasa de producción acuícola e incrementando al tasa de morbilidad y mortalidad, así como es posible que se desencadenen brotes epizoóticos que tengan un efecto en los patrones de transmisión de algunas helmintiasis zoonóticas y por lo tanto tenga un efecto de la salud pública de la población amazónica, como podría ser el caso del nematodo *Diocotophyme renale* (Goeze, 1782) recientemente reportado por algunos de los autores en perros domésticos de la Iquitos (Loreto, Perú) y que es capaz de infectar a la población humana por medio del consumo de cebiche de peces amazónicos, aunque las características de su ciclo de vida han sido pobremente estudiadas, la misma situación se podría describir para el nematodo *Terranova* sp. (Nematoda: Anisakidae) recientemente reportado en *Zungaro zungaro* (Humboldt, 1821) en la misma localidad. Algunos grupos de parásitos, especialmente algunos ectoparásitos como copépodos y monogéneos, así como los procesos infecciosos asociados a algunos protozoarios mixosporidios que ocasionan una fisiopatología de tipo mecánica y/o son ocasión de infecciones bacterianas secundarias, además cuando son de localización branquial afectan los procesos de intercambio respiratorio, por ejemplo en nuestro medio se han reportado en el paco (*Piaractus brachypomus*) infestación mixta por mixosporidios (*Henneguya* sp. y *Myxobolus* sp.) produciendo nodulosis branquial y monogéneos (*Anacanthorus penilabiatus* cf. y *Mymarothecium viatorum* cf.), produciendo hiperplasia de células epiteliales y producción excesiva de moco.

Debido a que la región amazónica está caracterizada por su alta diversidad biológica, esta también está asociada a la alta diversidad de agentes patógenos, que también son un componente del ecosistema calificado como la "diversidad oculta", solo en el caso de monogéneos, una revisión bibliográfica no detallada nos ha permitido registrar en peces de la amazonia peruana 66 parásitos monogéneos, 48 a nivel de especie y 18 a nivel de género, distribuidos en 24 géneros y 1 en una subfamilia en un total de 47 especies de peces de consumo y ornamental. Un género nuevo (*Tucunarrela* Mendoza-Franco, Scholz & Rozkosna, 2010) y 10 especies nuevas, *Aphanoblastella aurorae* Mendoza-Palmero, Scholz, Mendoza-Franco & Kuchta, 2012; *Ameloblastella unapi* Mendoza-Franco & Scholz, 2009; *Demidospermus centromochli* Mendoza-Franco & Scholz, 2009; *Dimidospermus macropteri* Mendoza-Franco & Scholz, 2009; *Dimidospermus peruvianus* Mendoza-Palmero & Scholz, 2011; *Dimidospermus striatus* Mendoza-Palmero & Scholz, 2011; *Dimidospermus mortenthaleri* Mendoza-Palmero, Scholz, Mendoza-Franco & Kuchta, 2012; *Dimidospermus brevicirus* Mendoza-Palmero, Scholz, Mendoza-Franco & Kuchta, 2012; *Tucunarella cichlae* Mendoza-Franco, Scholz & Rozkosna. Estos datos nos demuestran una alta tasa de endemismos y la alta posibilidad de seguir encontrando especies nuevas, considerando que el porcentaje de peces estudiados del total de peces amazónicos, entre los que también se siguen encontrando especies nuevas. De esta manera el caso de estos helmintos nos demuestra como la diversidad biológica también es tu tema de impacto en la sanidad acuícola, pues las enfermedades causadas por monogéneos, están entre las más importantes para la piscicultura, dado que generan grandes tasas de mortalidad, principalmente en cultivos intensivos, de allí la necesidad de un enfoque multidisciplinario para estudios futuros, como nos los ofrece un enfoque integral desde la Salud Global.

Palabras Clave: Perú, amazonia, peces, zoonosis, Salud Global