



Orinoquia

ISSN: 0121-3709

orinoquia@hotmail.com

Universidad de Los Llanos

Colombia

Eslava Mocha, P. R.; Malagón Rozo, P.; Figueroa, J.; Lombo Castellanos, P. E.
Caracterización clínico patológica de la enfermedad granulomatosa de pterophyllum scalare (escalar)
en confinamiento

Orinoquia, vol. 8, núm. 1, 2004, pp. 34 - 56

Universidad de Los Llanos

Meta, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89680107>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



Caracterización clínico patológica de la enfermedad Granulomatosa de *Pterophyllum scalare* (escalar) en confinamiento

Eslava Mocha P. R.* Malagón Rozo P* Figueroa J.** y Lombo-Castellanos P. E*

*Instituto de Acuicultura de los Llanos IALL y **Laboratorio de Microbiología Veterinaria Universidad Nacional de Colombia
(Recibido: Octubre 17 de 2003 - Aceptado: Marzo 15 de 2004)

R E S U M E N

Para la caracterización clínico-patológica de la enfermedad granulomatosa de peces escalar *Pterophyllum scalare* en sistemas de cultivo se propuso: hacer el seguimiento de cuatro planteles establecidos, además de tener en cuenta los casos recibidos en el servicio de diagnóstico del IALL, se describieron signos y lesiones en animales clínicamente enfermos, identificando lesiones y posibles agentes etiológicos con H-E tradicional y diferenciarlos con coloración Ziehl-Neelsen. De forma complementaria, a partir de animales enfermos, aislar y cultivar los agentes etiológicos. Adicionalmente, el estudio pretendió revisar y discutir factores de manejo asociados a la enfermedad en sistemas de producción de los Llanos de Colombia. Para el efecto se observaron 92 animales durante 90 días en el Laboratorio de Bioensayos del IALL en Villavicencio, Meta, Colombia, procedentes de 5 fuentes diferentes, en las cuales se presentaron casos de enfermedad evidente: De los animales observados 43 desarrollaron signos clínicos; se toma-

ron 20 ejemplares adultos para estudios anatomopatológicos y 19 para aislamientos microbiológicos. En los sistemas de producción se encontró: alta densidad de siembra, mala calidad del agua y uso indiscriminado de drogas antibióticas, factores que pueden predisponer a la presencia de la enfermedad. Los animales afectados fueron únicamente adultos. Los signos clínicos principales fueron: depresión, letargo, nado errático, focos de descamación y úlceras en la piel. Macro y microscópicamente el órgano interno más afectado fue el bazo, pudiéndose establecer el mayor grado de severidad y extensión de la lesión granulomatosa (3 en una escala de 0 a 3). Los aislamientos fueron positivos al grupo de las Micobacterias; se aislaron colonias de tres de las muestras en medio Lowenstein Jensen, dos de ellas por cultivo a 28 °C, con pigmento amarillo de crecimiento entre dos y tres meses y otra con crecimiento a 28 °C con pigmento al mes de incubación, estudios de identificación por métodos genotípicos y fenotípicos; se halló fenotípi-

camente *Mycobacterium fortuitum* en los dos aislamientos y genotípicamente; *Mycobacterium fortuitum* tipo 1 y *Mycobacterium peregrinum* tipo 2 respectivamente. La incidencia de la infección micobacteriana en planteles de reproductores de escalar es relativamente alta -el 46% de los animales observados desarrolló signos clínicos- posiblemente asociada a factores estresantes como el hacinamiento, mala nutrición, fluctuaciones de temperatura, calidad del agua y manipulación inadecuada. Mientras se profundiza en aspectos epidemiológicos y se establece otro tipo de aproximación preventiva, se recomienda, evitar el uso de antibióticos de forma indiscriminada, mejorar condiciones de manejo: desinfección, calidad de agua, densidad y nutrición adecuadas, ayudarían a disminuir el estrés y la susceptibilidad de los animales.

Palabras Claves: *Pterophyllum scalare*, Micobacteriosis. Enfermedad granulomatosa de peces ornamentales.



A B S T R A C T

For the clinical-pathological characterization of the granulomatous disease of angel fish *Pterophyllum scalare* in culture systems intended: to make the pursuit of four established facilities, besides keeping in mind the cases received in the service of diagnosis of the IALL, signs and lesions were described in clinically sick animals, identifying lesions and possible etiologic agents with H-E traditional and to differentiate them with Ziehl-Neelsen stain. In a complementary way, starting from sick animals, to isolate and to cultivate the etiologic agents. Additionally, the study sought to revise and to discuss handling factors associated to the disease in production systems of the Plains of Colombia. For the effect 92 animals were observed during 90 days in the Laboratory of Bioassays of the IALL in Villavicencio, Meta, Colombia, coming from 5 different sources, in which cases of evident illness were presented: Of the

observed animals 43 developed clinical signs; 20 mature specimens were taken for anatomopathologic studies and 19 for microbiologic isolations. In the production systems were: high sowing density, bad water quality and indiscriminate use of antibiotic drugs, factors that can predispose to the presence of the disease. The affected animals were only adults. The main clinical signs were: depression, lethargy, erratic swimming, flake-out focuses and skin ulcers. Macro and microscopically, the most affected internal organ was the spleen, being able to establish the biggest degrees of severity and extension of the granulomatous lesion (3 in a scale of 0 at 3). The isolations were positive to the Mycobacterium group; colonies of three of the samples were isolated between Lowenstein Jensen medium, two of them for cultivation to 28° C, colonies with yellow pigment of growth between two and three

months and another with growth to 28° C with pigment to the month of incubation, typification studies characterized the cultivations like with *Mycobacterium fortuitum*. The incidence of the mycobacterium infection in facilities of reproducers of scalar is relatively high -46% of the observed animals developed clinical signs - possibly associated to stressant factors like the accumulation, bad nutrition, fluctuations of temperature, water quality and inadequate manipulation. While we are deepened in epidemic aspects and another type of preventive approach settles down, is recommended, to avoid the use of antibiotics drugs in an indiscriminate form, to improve handling conditions: disinfection, water quality, densities and adapted nutrition, they would help to diminish the stress and susceptibility of the animals.

Key words: *Pterophyllum scalare*, Micobacteriosis, granulomatous disease of ornamental fish.

INTRODUCCIÓN

La producción de peces tropicales de acuario es una actividad productiva de gran potencial para Colombia, debido a la abundante biodiversidad biológica de organismos nativos con potencial zootécnico y al interés de los aficionados que viven en países desarrollados por adquirirlos. Sin embargo, la legislación establece criterios sanitarios para estas especies, que deben cumplirse para acceder a la comercialización en los mercados internacionales. De igual manera, es importante garantizar que los sistemas de cultivo con especies nativas promisorias como los escalares *Pterophyllum spp.* sean adecuadamente diagnosticados y

monitoreados desde el punto de vista sanitario.

La mortalidad de los peces ornamentales a lo largo de la cadena comercial antes de llegar al consumidor final supera el 40% en el país. Se han realizado algunas recomendaciones para manejar animales en la cadena extracción, producción y comercialización (Ajiaco y Ramírez 2000; Arias 2000). Sin embargo, en Colombia existen muy pocos estudios dirigidos a conocer dicha mortalidad, y sobre la búsqueda de estrategias razonables de prevención y control, siendo muy difícil encontrar reportes sistemáticos sobre problemas de sanidad

de peces ornamentales en condiciones de cautiverio o en sistemas de producción para explotación comercial, esta última modalidad se ha comenzado a incentivar con expectativas de mercadeo internacional, esto ha generado un aumento de la casuística recibida por los laboratorios de diagnóstico del IALL en Villavicencio y de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá en los tres últimos años.

La presencia de una enfermedad con lesiones de tipo granulomatoso que se ha asociado con micobacteriosis ha sido observada en peces de acuario en sistemas confinados



de acopio y de cultivo de los Llanos Orientales de Colombia; tal enfermedad causada por bacterias del género micobacterias reportada recientemente (Verjan *et al.*, 2002) conocida como tuberculosis en los peces, es de potencial zoonótico, lo cual hace tener presente consideraciones de salud pública (Roberts, 1978). La enfermedad ha sido descrita en gran variedad de peces que incluyen más de 150 especies (Adams, 1976), los patólogos la describen como una afección crónica progresiva que presenta en el pez múltiples focos tuberculoideos en vísceras y en oca-

siones úlceras de la piel (Conroy, 1984). Las lesiones histopatológicas típicas se presentan como granulomas de los órganos internos particularmente en hígado, riñón y bazo (Reimschuessel *et al.*, 1988). En Colombia la enfermedad fue descrita por Verjan *et al.*, (2002), y el primer aislamiento de micobacterias a partir de peces corresponde al reporte Tesis Dr. Saúl Serna Univ. INCA (1980).

Entre los principales objetivos del presente estudio se propuso: caracterizar los signos clínicos y las lesiones macroscópicas de

Pterophylum scalare con enfermedad granulomatosa, describir las lesiones presentes y compararlas con la literatura disponible e identificar posibles agentes etiológicos en cortes de órganos teñidos con H-E y diferenciados con coloración Ziehl-Neelsen (ZN). De forma complementaria, a partir de animales clínicamente enfermos cultivar, aislar e identificar los agentes etiológicos involucrados. Adicionalmente, el estudio se propuso discutir algunos factores de manejo asociados a la enfermedad en sistemas de producción de los Llanos de Colombia.

ENFERMEDAD GRANULOMATOSA DE LOS PECES

Tradicionalmente los textos de ictiopatología han descrito una enfermedad granulomatosa que se desarrolla con lesión(es) proliferativa(s) nodular(es) multifocal(es), progresiva o fibrosas. Tal enfermedad no es característica, sino que las lesiones en realidad son posibles como manifestación de muchas enfermedades de peces. La lesión nodular tradicionalmente determinada en ictiopatología como granuloma, es una lesión blanca o amarilla que podría tener una consistencia dura o hasta calcificada, similar a los granulomas de mamíferos pero en general de menor desarrollo y complejidad (Noga, 1989). Los granulomas pueden ser causados por cuerpos extraños tales como silicato, bacterias como *Mycobacterium spp* y *Nocardia sp* o ciertos hongos como *Ichthyophonus hoferi* (Roberts, 1978). En algunos casos se ha detectado la combinación de micobacteriosis con micosis renal (Ashburner, 1977). Se han encontrado granulomas en diferentes estados de formación (Timur & Roberts, 1977). En los estados primitivos de la micobacteriosis el bazo, hígado y riñón son los órga-

nos donde primero se ve la infección.

Un daño considerable de los órganos internos de peces afectados ocurre antes de las manifestaciones externas usualmente observadas, en peces *Scomber scombrus* con presuntiva micobacteriosis, algunos de ellos fueron examinados y no mostraron signos externos obvios de su condición interna pero la relación entre infección, longitud y factor de condición sugieren un efecto adverso sobre el crecimiento normal del pez, generando la hipótesis de que la micobacteriosis inhibe el crecimiento de peces jóvenes y dilatan el desove por un año. Puede llegar a ser más grave la reducción en la producción de huevos producida por la enfermedad que la reducción de biomasa debido al crecimiento retardado. (MacKenzie, 1988).

Muchas lesiones dérmicas y subdérmicas pueden involucrar la piel y causar atrofia de esta por cubrir su espacio natural, adelgazamiento de la dermis y ulceración en enfermedades como forunculosis por *Aeromonas sp*, vibriosis y

micobacteriosis. La submucosa gástrica bien vascularizada es un sitio frecuente de la lesión en las infecciones micobacterianas, también se han observado dilatación gástrica en animales de acuario con granulomas submucosos y pérdida difusa y severa de epitelio gástrico o formación de granulomas en la lámina propia o submucosa que pueden generar daños funcionales, pérdidas de proteínas y mala absorción. Se han encontrado en cíclidos gran número de granulomas que están diseminados a través del ventrículo y en su superficie, pero estas lesiones no tienen significado clínico (Roberts, 2001).

Los intersticios renales también son sitios donde se forman granulomas, las lesiones algunas veces son muy extensas y causan compresión de estructuras especialmente capilares peritubulares con daño de tejidos por anoxia. Puede haber granulomas focales en hígado, bazo, y cualquier víscera. Ocasionalmente se observa peritonitis y quistes fibrosos sobre la cápsula hepática y esplénica (Roberts, 2001).



MICOBACTERIOSIS

La micobacteriosis es una infección crónica y progresiva provocada por bacterias ácido-alcohol resistentes (Van Duijn, 1981; Gómez et al 1993; Plumb, 1994), es la causa común de la enfermedad crónica úlcerativa de la piel en peces y ha sido reportada en todo el mundo en peces dulce-acuícolas y marinos procedentes de aguas tropicales, subtropicales y frías, tanto en especies de consumo humano como el salmón (*Oncorhynchus tshawytscha*) (Ashburner, 1977), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Peterson, 2000), Striped Bass (*Morone saxatilis*) (Rhodes et al., 2001), y en especies ornamentales como el escalaf (*Pterophyllum scalare*), Betta (*Betta splendens*), (Verjan et al., 2002; Lescenko et al., 2003) gurami dorado gigante (*Trichogaster trichopterus sumatranus*) (Kimberly & Steve,

2001), y Dorados (*Carassius auratus*) (Clavijo et al., 1999).

Esta enfermedad causa varios signos clínicos, incluyendo pérdida de peso, ascitis, deformidades esqueléticas, pérdida del equilibrio y anomalías de nado (Kimberly & Steve, 2001; Conroy & Conroy, 1999; Roberts, 2001), erosiones dérmicas, nódulos blanquecinos que lesionan piel y músculo (Santacana et al., 1980; Clavijo et al., 1999; Antonio et al., 2000).

Histológicamente se observan bacterias ácido-alcohol resistentes en tejidos teñidos con coloración ZN presentes principalmente en riñón, bazo e hígado de peces enfermos. (MacKenzie, 1988; Diamant, 2000; Roberts, 2001; Noga, 1986).

Kimberly & Steve (2001), repor-

taron casos de escalares con lesiones úlcerativas cutáneas en cabeza, abdomen y pedúnculo caudal; la citología de piel de estas lesiones ulcerosas reveló acúmulos de células epiteliales y mononucleares, sugiriendo inflamación granulomatosa característica de infecciones crónicas micobacterianas; la tinción ácido-alcohol-resistente del raspado de piel reveló muchas bacterias típicas.

Verján et al., (2002) describieron algunas manifestaciones clínicas y patológicas de la infección granulomatosa sistémica compatible con micobacteriosis responsables de mortalidad en peces ornamentales incluyendo *Pterophyllum scalare* mantenidos en acuarios y provenientes del medio natural, algunos de ellos de la región de los Llanos Orientales de Colombia.

DESCRIPCIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS MICOBACTERIAS

Las micobacterias son bacilos curvados y en la familia se incluye desde saprófitos del suelo y agua, hasta gérmenes capaces de producir en la especie humana lesiones crónicas granulomatosas, tales como lepra y tuberculosis. La familia *Mycobacteriaceae*, lo mismo que Corinebacterias y Nocardias, tienen pared celular tipo IV con arabinosa, galactosa y ácido micólico. A esta familia pertenecen un único género, *Mycobacterium*, que presenta como rasgos característicos el tratarse de bacilos Gram +, rectos o curvados, a veces filamentosos, inmóviles y no esporo-formadores que miden 0.2 – 0.6 μm por 1.0 - 10 μm . Su condición más importante es la ácido-alcohol-resistencia. El compuesto clave para la ácido-alcohol-resistencia es el ácido micólico,

fracción lipídica exclusiva de las micobacterias. El ácido micólico forma un complejo con el peptidoglicano de la pared de las micobacterias, dicho complejo impide de alguna manera el contacto con el disolvente ácido-alcohol en la etapa de la decolorización (Madigan et al., 1999).

Este género comprende múltiples especies que se dividen en tres grupos (Pumarola, 1987):

1. Complejo tuberculoso:

M. tuberculosis
M. avium
M. bovis

2. Complejo lepra:

M. leprae
M. lepraemurium

3. Complejo atípicas:

M. marinum
M. fortuitum
M. chelonae

Las especies patógenas para los peces son las del complejo atípicas, producen una micobacteriosis que es una tuberculosis húmeda que afecta un amplio rango de especies de agua dulce y agua salina, pero particularmente peces de acuario, generando enfermedad crónica sistémica que forma granulomas externos e internos diseminados por el cuerpo. (Frerichs, 1993; Thoen & Schliesser, 1994; Stoskopf, 1993; Noga, 1996; Sanders & Swaim, 2001).

Las micobacterias pueden separarse en dos grupos principales: las de crecimiento lento y las de



crecimiento rápido. *M. tuberculosis* es el típico ejemplo de crecimiento lento necesita días o incluso semanas de incubación para producir colonias visibles en un inoculo diluido. Cuando crecen en medios sólidos las micobacterias suelen formar colonias apretadas, compactas, arrugadas y amontonadas, no suelen estar esparcidas por toda la superficie del agar. El crecimiento lento probablemente es debido, al menos en parte, al carácter hidrofóbico de la superficie celular, que hace a las células muy impermeables a los nutrientes; las especies con menos lípidos crecen más rápido. Para el crecimiento suele emplearse un medio de glicerina y huevo completo (Lowenstein – Jensen) (MacKenzie, 1988; Madigan et al., 1999; Rhodes et al., 2001).

Otra característica de las micobacterias es la capacidad de formar pigmentos carotenoides amarillos. Teniendo en cuenta estos pigmentos las micobacterias se clasifican en tres grupos: Las no pigmentadas incluyen *M. tuberculosis*, *M. bovis*, las que forman pigmentos cuando sólo se cultivan con luz (fotocromogénesis) incluyen *M. kansasii* y *M. marinum* y las que forman pigmentos incluso en la oscuridad (escotocromogénesis) incluyen *M. gordonae* (Madigan et al., 1999).

Los aspectos a considerar para la caracterización de las cepas micobacterianas en particular son: la morfología, pigmentación, temperatura óptima de desarrollo y velocidad de crecimiento (Pumarola, 1987).

M. marinum crece con rapidez a 30-32°C en medio Lowenstein-Jensen, las colonias son blancas

grisáceas con estrías de color amarillo pálido, pero expuestas a la luz y en temperatura ambiente desarrollan una intensa pigmentación amarillo naranja. *M. fortuitum* y *M. chelonae* se encuentran en los mismos tipos de infección, y han recibido el nombre de complejo Mf-Mc. Las colonias son de crecimiento lento, se desarrollan luego de 72 horas de incubación a 37°C en el medio Middlebrook 7H10, son no pigmentadas, habitualmente grandes y rugosas, pero en otros medios se desarrollan también colonias ceras y lisas (Pumarola, 1987).

Métodos de biología molecular e inmunohistoquímica se han utilizado en varios estudios para la identificación, caracterización y tipificación de micobacterias (Wayne & Kubica, 1986; Rychlik & Pavlik, 1997; Matlova et al., 1998; Antonio et al., 2000; Heckert et al., 2001; Ucko et al., 2002).

La micobacteriosis húmeda es una enfermedad sistémica, crónica y progresiva que presenta varias características clínicas dependiendo de la especie y las condiciones ecológicas. En la mayoría de los reportes de especies de acuarios tropicales marinos y de agua dulce se cita depresión, anorexia, emaciación, disnea, exoftalmia, decoloración de la piel y lesiones externas desde pérdida de escamas hasta nódulos, úlceras, necrosis de las aletas, edema, peritonitis, deformación de la espina dorsal (Wolke & Stroud, 1978; Floyd et al., 2002; Conroy & Conroy, 1999), branquias hiperémicas y petequias alrededor del opérculo (Astrofsky, 2000). En salmónidos de agua dulce pueden no haber signos externos de enfermedad, ni mortalidad

pero si grados variables de decoloración de la piel, retardo en el crecimiento o desarrollo sexual tardío (Parisot, 1958; MacKenzie, 1988). Internamente, la naturaleza y distribución de las lesiones es similar en peces de agua dulce o salada. Se pueden encontrar granulomas grandes o microscópicos, negros, grises y blancos, distribuidos o agrupados en cualquier tejido parenquimatoso pero especialmente en bazo, hígado y riñón, órganos agrandados, peritonitis y edema (Frerichs, 1993; Clavijo et al., 1999), congestión en el hígado, con inflamación y zonas multifocales de necrosis hepática (Astrofsky et al., 2002). Verján et al., (2002) reporta múltiples nódulos de color blanco amarillento en la superficie del hígado, bazo, riñón y mesenterio y esplenomegalia. En los sitios de úlcera al corte fluyó un material de aspecto purulento.

Los granulomas típicos encontrados en peces inoculados con micobacterias, experimentalmente, son similares a los observados en infecciones espontáneas (Amlacher, 1970; Hatai et al., 1993) Los mismos tipos de granulomas han sido descritos y clasificados como granulomas suaves y duros de acuerdo a la existencia o falta de necrosis central (Hastings et al., 1982).

La mayoría de estudios morfológicos realizados en casos espontáneos de tuberculosis en teleosteos marinos han revelado que las lesiones tienen las características de respuesta inflamatoria crónica de los vertebrados superiores con células gigantes multinucleadas de tipo Langhans solo en las etapas iniciales de la enfermedad (Timur & Roberts,



1977). Ocasionalmente hay indicaciones de formación de células gigantes en granulomas de peces de acuario inoculados con *Mycobacterium* en la cavidad peritoneal que involucró ovarios, hígado, riñones y pared abdominal (Amlacher, 1970). Esta lesión se describe conformada de células fibroblásticas, elementos vasculares y un gran número de células fagocíticas mononucleares. Entre esos elementos dos tipos de células gigantes y multinucleares fueron vistas en gran número: tipo Langhans cuyos núcleos se encuentran en la periferia de las células, y las células tipo cuerpo extraño con núcleos centrales. Estas células son de tamaño variable; la mayoría contenían muchas vacuolas con material granular. Dentro del tejido de granulación se hallan colecciones de células epitelioides entre los nódulos necróticos (Gómez, 1998).

Talaat et al. (1998), inocularon diferentes dosis (10^2 a 10^9 UFC) de *M. marinum* en Goldfish (*Carassius auratus*), la histopatología se caracterizó por una severa peritonitis y necrosis en las dosis más altas, formación de granulomas en páncreas y peritoneo rodeando el intestino, bazo, hígado y riñón. Los granulomas se caracterizaron por tener un centro necrótico rodeado de macrófagos, células epitelioides, encapsulados por tejido conectivo fibroso. Ocasionalmente encontraron células de Langhans y células gigantes en los granulomas de riñón. La tinción de ZN reveló un gran número de bacterias en forma de bastón, ácido-alcohol resistentes, que miden entre 5 – 6 μm de longitud dentro de los macrófagos y células gigantes, así como entre las cavidades peque-

ñas (Gómez, 1998; Talaat et al., 1998).

Los bacilos ácido-alcohol resistentes en ocasiones se ven en los centros necróticos y en el citoplasma de las células epitelioides que los rodean y dentro de los macrófagos. Los bacilos se ven libres flotando dentro del lumen del citoplasma de células epitelioides muertas (Anderson et al., 1987). Las secciones teñidas por inmunohistoquímica revelaron una reacción positiva, tanto dentro de los macrófagos como en las células gigantes, que confirmó la naturaleza micobacteriana de la lesión (Gómez, 1998).

Clavijo (1999), reportó la presencia de granulomas en el parénquima renal caracterizado por el desarrollo de un cuerpo hialino, esférico, en un medio en el cual se observa un centro necrótico con presencia de formas baciliformes, alargadas y gruesas, con extremo romo con afinidad por la coloración para bacilos ácido-alcohol resistente, en la periferia de estas estructuras hialinas se encontraron células mononucleadas conformando una corona simple, acompañada de escasa reacción fibrilar. Esta descripción de la lesión es compatible con un tubérculo.

Sakanari et al., (1983) reportaron lesiones micobacterianas en peces localizadas normalmente en la piel y órganos internos. Estas lesiones consisten en estructuras nodulares con características de granulomas. Estos estaban compuestos por un centro que contenía células epitelioides y macrófagos. El tamaño de los granulomas varió entre 80 y 500 μm . La micobacteriosis se divide en dos

formas: una subaguda y la otra crónica (Wolke & Stroud, 1978). En la forma subaguda, hay una distribución difusa de células reticuloendoteliales y macrófagos con amplias áreas caseo-necróticas. Bacilos ácido-alcohol resistentes se ven diseminados dentro de las células reticuloendoteliales y entre el citoplasma de los macrófagos que las han fagocitado. La forma crónica es caracterizada por la formación de granulomas blandos y duros. Los granulomas blandos se distinguen por tener varias capas; en el centro hay un área de necrosis caseosa con o sin restos nucleares, rodeado por una capa de células epitelioides; la siguiente capa aplana produce una alta eosinofilia con células epitelioides y la última capa se compone de fino tejido conectivo fibroso rodeando la lesión y encapsulándola. Los granulomas duros se componen de células epitelioides encapsuladas por tejido conectivo fibroso, la capa de células epitelioides encierran la zona caseosa y la cápsula fibrosa no se observa en todos los granulomas. (Noga et al., 1989). Esto indica que las células que participan en la respuesta inflamatoria crónica de micobacterias no se derivan de fagocitos mononucleares; en realidad la clasificación de estas células no es muy acertada por lo cual se propuso el nombre de inflamación crónica foci o focal (CIF) en lugar de granuloma o tubérculo (Chinabut, 1999).

Los centros melanomacrófagos son encontrados en granulomas de bazo y riñón de peces infectados (Ferguson, 1989). Según algunos autores la presencia de células gigantes no es típica de la micobacteriosis de peces (Wolke & Stroud, 1978; Anderson et al., 1987).



CONDICIONES MEDIO AMBIENTALES QUE FAVORECEN LA PROLIFERACIÓN MICOBACTERIANA, POSIBLE INFECCIÓN ZONÓTICA

Los investigadores han encontrado una alta prevalencia de micobacterias en pantanos, y se relaciona el incremento de microorganismos con condiciones medio ambientales como bajos niveles de oxígeno disuelto, bajo pH, niveles altos de materia orgánica, y aguas cálidas (Roberts, 2001); éstas condiciones son similares a las encontradas en algunos sistemas acuícolas de nuestro medio. Otros investigadores asocian la alta prevalencia de micobacterias no tuberculosas con niveles bajos de salinidad, trazas aumentadas de minerales, particularmente zinc y hierro (Floyd & Yanong, 2002).

Se han detectado bacterias ácido-Alcohol resistentes morfológicamente compatibles con *Mycobac-*

terium sp., en 100% de los frotis de los órganos, así como en las heces de peces afectados. El hallazgo en las heces es de importancia para la salud pública pues a través de ellas se diseminan las bacterias pudiendo contaminar directa o indirectamente al hombre (Plumb, 1994).

M. marinum induce en el humano granulomas cutáneos en el codo, rodilla, dedos y pies, que pueden ulcerar pero usualmente sanan espontáneamente después de varios meses (Noga, 1996; Roberts, 2001).

Estas lesiones causadas por traumas superficiales en contacto con acuarios tropicales o piscinas infectadas involucran la piel, pero el

organismo puede ser aislado de pulmones, nódulos linfáticos y otros órganos internos. *M. chelonae* se ha aislado de infecciones de las articulaciones de rodillas, abscesos por inyecciones e infecciones postoperatorias en el hombre, pero esas cepas son capaces de crecer a 37 °C y son fenotípicamente distintas a las aisladas en peces; hasta hoy el riesgo de enfermedad en humanos es baja (Frerichs, 1993). También se ha reportado artritis, osteomielitis, sinovitis, linfadenitis, otitis y formas diseminadas de la enfermedad en pacientes inmunocomprometidos, y con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (Nemetz & Shotts, 1993; Howard & Byrd, 2000).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se desarrolló en el municipio de Villavicencio, departamento del Meta, en el laboratorio de Bioensayos y en el laboratorio de Ictiopatología del Instituto de Acuicultura de los Llanos Orientales (IALL), ubicados en el kiló-

metro 12 vía Puerto López, a 420 m.s.n.m., el clima se caracteriza por una temperatura promedio de 25 °C, precipitación pluvial anual de 4.050mm y una humedad relativa del 75%.

El aislamiento y cultivo de los agentes involucrados se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

MUESTREO DE ANIMALES

Se contactaron 5 fincas productoras de peces ornamentales, entre ellos escalares, en condiciones relativamente estables de manejo, de las cuales se llevó a cabo un muestreo de animales en tres explotaciones que habían reportado casos clínicos de enfermedad granulomatosa al laboratorio de ictiopatología del IALL, así como

las explotaciones del departamento del Meta que reportaron casos durante el desarrollo de la investigación.

Estos animales fueron llevados vivos al IALL donde se tuvieron en observación por 3 meses en el laboratorio de Bioensayos, en condiciones óptimas de temperatura,

pH y oxígeno; allí se llenó una historia clínica (Anexo 1), con datos sobre la explotación, densidad de siembra, número de animales afectados, morbilidad, mortalidad, además del estado macroscópico externo (Signos clínicos: anomalías de piel, patrón de nado, etc.) de los escalares con enfermedad granulomatosa.



Para la observación clínica de los animales en el laboratorio de Bioensayos, fueron divididos en cinco lotes según su procedencia: los primeros tres, constituidos por animales afectados en los diferentes planteles de producción, además, cada semana se escogían los ani-

males con los signos mas severos, se anestesiaron con 2-fenoxietanol a una dosis de 0.5ml/l de agua (Noga, 1996), para hacer un examen detallado anotando las alteraciones externas. Los otros dos lotes fueron constituidos por animales provenientes del plantel de

producción de peces del IALL (7 ejemplares adultos) y animales traídos por productores al servicio de diagnóstico del Laboratorio de Ictiopatología del IALL (25 animales adultos).

PROCESO DE NECROPSIA E HISTOPATOLOGÍA

De los animales en observación se escogieron 20 ejemplares con signos clínicos y lesiones más representativas; fueron anestesiados sumergiéndolos en una solución de 1ml de fenoxietanol por 2 litros de agua (Noga, 1996), por 2 minutos para poder realizar la desensibilización mediante un corte de médula espinal caudal al cráneo y al margen superior de los opérculos con el fin de sacrificar

los ejemplares. Se hizo necropsia de manera cuidadosa y exhaustiva (Reimschuessel et al., 1988; Pelletero et al., 1988). Se evaluaron todos los órganos y tejidos expuestos (color, forma, posición que ocupa, consistencia, nódulos, puntos hemorrágicos, etc.), los hallazgos fueron consignados en un formato de necropsia. Se procedió a hacer disección a los tejidos que fueron destinados a histopatología,

(hígado, riñón, bazo, tracto digestivo, branquias, corazón, encéfalo), los órganos fueron sumergidos en formalina bufferada al 3.7% y procesadas por la técnica de rutina hematoxilina eosina (H-E) (Roberts, 2001), y se hizo la coloración adicional de Ziehl-Neelsen para observar bacilos ácido - alcohol resistentes en tejidos afectados por micobacterias (Kinkelin & Ghuitino, 1985).

EVALUACIÓN DE LOS TEJIDOS

Se procedió a observar los cortes al microscopio con objetivos de 5x, 10x, 40x, 100x y se describieron las lesiones o alteraciones patológicas de cada órgano minuciosamente con el fin de caracterizar y

detectar morfologías compatibles con micobacterias en los tejidos. De cada lesión se hizo un cuadro comparativo sobre severidad (intensidad del daño, agresividad con que se presenta la lesión) y exten-

sión (área o superficie cubierta por la lesión en el órgano) de acuerdo a los parámetros propuestos por Bernet et al (1999), modificado de acuerdo a la necesidades de este trabajo (Tabla 1).

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se estableció la existencia de un patrón morfológico de tipo granulomatoso en los animales afectados, se realizaron evalua-

ciones de las lesiones y microfotografías de las mismas. Se correlacionaron los hallazgos con aspectos como edad, alimentación,

manejo, calidad de agua en los casos presentes. Se compararon los hallazgos con literatura disponible para peces.



Tabla 1. Criterios establecidos para la severidad y extensión de las lesiones granulomatosas mediante observación microscópica 4X.

GRADOS	SEVERIDAD	EXTENSIÓN
0	No se observa lesión.	No se observa lesión
1	LEVE (tanto la actividad de las células como de la arquitectura de la lesión granulomatosa ligera y visible con alguna dificultad).	FOCAL Aproximadamente de 1-30% del órgano.
2	MODERADA (tanto las células como la arquitectura de la lesión granulomatosa muestran una actividad medida pero fácilmente evidente).	MULTIFOCAL Aproximadamente de 30-60% del órgano.
3	SEVERA (tanto la actividad celular como la arquitectura de la lesión granulomatosa son agresivas, la arquitectura del órgano se ve seriamente transformada en ocasiones dificultando su identificación).	GENERALIZADA Más del 60% del órgano.

MICROBIOLOGÍA

19 escalares con signos clínicos, procedentes de los lotes observados en el Laboratorio de Bioensayos del IIAL, fueron remitidos al laboratorio de microbiología veterinaria de la Universidad Nacional en grupos de 6 ó 7 en bolsas de plástico con oxígeno suficiente para su transporte.

Los animales fueron anestesiados con tricaina metanosulfonato (MS 222) y sacrificados mediante corte medular. Se practicó la necropsia, se hicieron frotis para tinción con Ziehl Neelsen y para el estudio bacteriológico se tomaron muestras de hígado, bazo, riñón y músculo.

Para el cultivo microbiológico los órganos fueron homogenizados en solución salina fisiológica (SSF) en

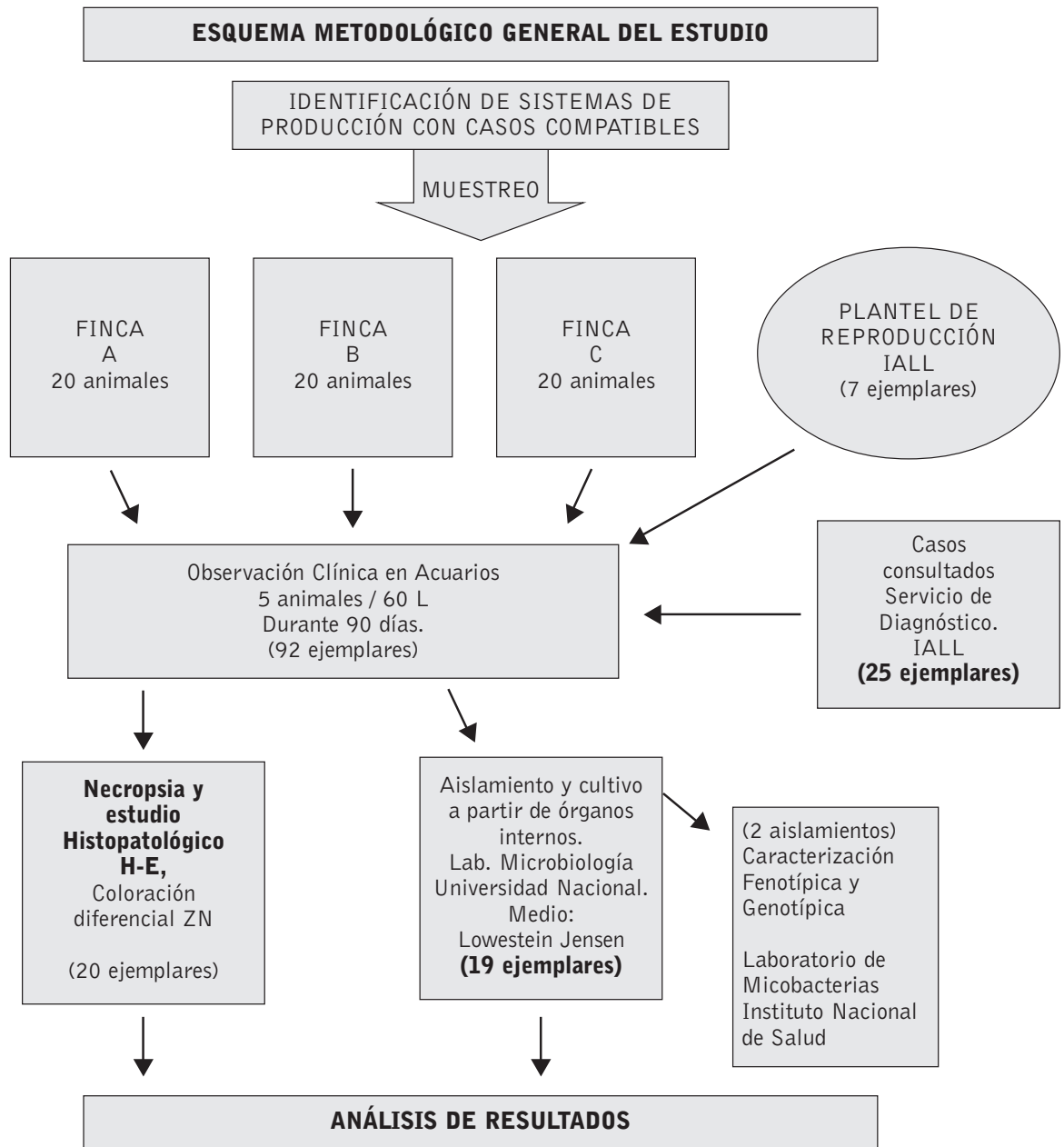
proporción del 20% P/V y luego de ser filtrados mediante gasa estéril, fueron descontaminados con hidróxido de sodio al 4% a partes iguales durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las muestras fueron neutralizadas con ácido clorhídrico 1N empleando como indicador rojo de fenol al 0.1%. Se obtuvo el sedimento mediante centrifugación a 3.500 rpm/ 15 min. Lavado por dos veces con SSF, finalmente se resuspendió en SSF y se inoculó en tubo. En alguno de los casos se empleó adicionalmente medio MGIT (BBL) suplementado con OADC (BBL) y antibiótico PANTA (BBL) (Conroy & Conroy, 1999).

La técnica fue simplificada permitiendo la descontaminación con

1 mL de NaOH al 4% por 10 min. a temperatura ambiente y sembrando directamente 0,1 mL en los medios de cultivo. Los tubos sembrados por ambas técnicas fueron incubados a 28 y 37 °C por espacio de tres meses.

Los cultivos que presentaron crecimiento de colonias características fueron confirmados por tinción de Ziehl Neelsen.

Posteriormente, a las colonias aisladas se les realizaron pruebas según protocolos del Laboratorio de Micobacterias del Instituto Nacional de Salud; efectuando su caracterización genotípica (PCR-PARA, Telenti et al., 1993) y fenotípica (Métodos Bioquímicos. CDC Atlanta).



RESULTADOS

CARACTERIZACIÓN DE LOS SISTEMAS DE REPRODUCCIÓN

Aunque se recibieron ejemplares de 7 explotaciones piscícolas diferentes -sumando casos de muestreo más los de consulta o diagnóstico-

en las cuales se realiza acopio y cría de escalares; se muestrearon poblaciones de animales adultos en edad reproductiva, dado fue en este

grupo (adultos) en los que se reportaron signos clínicos. Solo se hizo muestreo y caracterización productiva de tres fincas y del plan-



tel del IALL. En otras ocasiones se habían tomado alevinos y juveniles sin evidencia de signos o lesiones en todas las explotaciones revisadas.

Los sistemas de producción se caracterizaron por realizar labores de producción de peces ornamentales (escalares, guppies, discos, entre otros, algunos mezclan peces nativos y otros peces ornamentales de interés comercial, de origen exótico) ejecutando también, acti-

vidades de acopio de peces nativos extraídos del medio natural para su posterior mercadeo entre mayoristas y distribuidores de otras ciudades diferentes a Villavicencio.

En general usan acuarios, piletas en Eternit y piletas en cemento, con suministro de aire, la fuente de agua es de pozos profundos, con pH ácido 5.5 a 6.8, con bajo recambio de agua, apenas reponen lo evaporado. Alimentan una vez al día con concentrados comerciales (no se

determinó marca ni calidad de los mismos), en algunas ocasiones tienen más de una especie en la misma piletta o sistema de cultivo, se observaron acúmulos de materia orgánica, pobres condiciones de limpieza y desinfección. Los productores reportan también el uso de fármacos y de vitaminas de manera preventiva en la mayoría de las ocasiones. Los principales datos se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Resumen de las condiciones generales de los sistemas muestreados en el presente estudio.

Finca	No. TOTAL DE ANIMALES	DENSIDAD DE SIEMBRA	PROMEDIO DE TAMAÑO	EDAD DE LOS PECES AFECTADOS	ESTANQUE PILETA ACUARIO	FUENTE DE AGUA	ESPECIES EN EL SISTEMA	ALIMENTO	MORTALIDAD ANUAL	TRATAMIENTOS REALIZADOS
A Productor particular	1.200	18.5/mt ³	7-8cm longitud	Adultos	Estanque	Pozo profundo	Tilapia Cachama Yamú Bocachico Carpa	Concentrado comercial	90%	Rifampicina Metronidazol
B Productor particular	1.500	12/mt ³	8-9cm longitud	Adultos	Piletta y estanque	Pozo profundo	Tilapia Cachama Carpa Bocachico	Concentrado comercial	10-12%	Tetraciclina
C Productor Particular	7.500	14.5/mt ³	7-8cm longitud	Adultos	Estanque	Pozo profundo	Cachama Rayas	Concentrado comercial	15-30%	Tetraciclina Metronidazol Vitaminas C y complejo B.
D UNILLANOS	250	10 /mt ³	8-9 cm	Adultos	Acuarios 50 litros y Piletas 3m ³	Pozo profundo	Otros peces ornamentales nativos	Concentrado y mezcla preparada	10-20%	Terramicina, Metronidazol

SIGNOS CLÍNICOS

Los principales signos clínicos observados en animales con enfermedad granulomatosa en el presente estudio se reportan en la tabla. 3. Los signos más sobresalientes fueron: depresión, letargo, nado errá-

tico (Fig.1), permanencia en el fondo del acuario (Fig.2), aumento de los movimientos operculares; también se presentaron arqueamientos del dorso y pérdida de posición normal de nado con patrones latera-

les e invertidos del mismo, en menor proporción. Las lesiones más frecuentes detectadas por el examen clínico fueron: focos de descamación, erosiones y úlceras de piel (Fig.2).



Tabla 3. Signos clínicos observados en escalares con enfermedad granulomatosa.

SIGNO(S)	Finca A	Finca B	Finca C	Casos clínicos en el IALL	Casos clínicos reportados al IALL
Depresión letargia	X	X	X	X	X
Permanencia en el fondo	X			X	X
Anorexia	X			X	
Nado errático	X	X	X	X	X
Exoftalmia	X				X
Opacidad del ojo	X			X	X
Deformidad del labio superior	X				
Deformidad opercular	X				
Deformaciones esqueléticas					X
Oscurecimiento de la piel	X		X	X	X
Focos de descamación	X	X	X		X
Erosión de la piel, úlceras	X		X	X	X
Aumento de los movimientos operculares	X	X	X	X	X
Distensión abdominal	X			X	X

EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

De los 20 animales sacrificados sometidos al examen de necropsia, la evaluación macroscópica de órganos y tejidos reveló como hallazgos sobresalientes: ascitis, hígado friable, congestionado y con

pigmentos oscuros, bazo aumentado de tamaño, nódulos de color blanco amarillento en bazo, úlceras en piel con líquido de aspecto purulento.

Los tejidos (hígado, bazo, riñón,

tracto gastrointestinal, branquias, corazón y encéfalo) la tinción de Zeehl Neelsen, fue positiva para bacterias ácido-alcohol resistentes en los tejidos afectados, especialmente en el bazo.

HISTOPATOLOGÍA

Se encontraron lesiones nodulares, multifocales de tipo granulomatoso en bazo, riñón, hígado, peritoneo, arcos branquiales y músculo, en diferente grado de evolución y desarrollo, a las cuales se les adjudicaron diferentes grados de severidad y extensión. (Tabla 3).

Tabla 4. Grados de severidad y extensión, hallazgos por órgano.

Grados	0	1	2	3	Órganos afectados
Severidad					
	0	7	3	10	Bazo
	7	6	4	3	Riñón
	13	3	3	1	Hígado
	12	6	1	1	Peritoneo
	19	1	0	0	Músculo
	19	1	0	0	Branquias
Extensión					
	0	7	3	10	Bazo
	7	6	4	3	Riñón
	13	3	3	1	Hígado
	12	6	1	1	Peritoneo
	19	1	0	0	Músculo
	19	1	0	0	Branquias

n = 20 animales analizados.



Figura 1. *Pterophyllum scalare* con permanencia en el fondo del acuario.



Figura 2. *Pterophyllum scalare* con úlcera en la base de la aleta dorsal.



Figura 3.



Figura 4.



Figura 5.



Como se evidencia en la tabla 4 y en las Figuras 5, 6 y 8 el bazo fue el órgano que se encontró afectado en la mayoría de los casos, con una extensión y severidad grado 3 en el 50% de los animales procesados.

Se observó abundante presencia de granulomas en diferentes estadios de formación en todos los órganos (Fig. 5, 6 y 10), focos severos de necrosis en bazo y riñón con activación de centros melanomacrófagos (CMM) de color oscuro (Fig. 7) y grandes áreas afectadas que estaban empezando a ser encapsuladas (Fig. 7).

Los granulomas en todos los tejidos en general se caracterizaron por poseer un centro necrótico (detritus celulares) (Fig. 7), con presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes que a la tinción de (ZN) fueron teñidos de color rojo (Fig. 9), conteniendo material granular eosinofílico con presencia de células en diferentes estados de degeneración, en la región capsular interna se ubicaron macrófagos con pigmentos de color amarillo a café (Fig. 7), se apreció una capa de 3 o más células mononucleadas de

núcleo basófilo intenso, se trataba de células epitelioides con núcleos ovales acompañadas de leucocitos (Fig. 7), finalmente se observó en la región externa una capa delgada de células (1-2 niveles) fibroblásticas que rodean y encapsulan la reacción inflamatoria del tejido normal (Fig. 11).

En algunos casos se observaron 2 o más centros necróticos o granulomas encapsulados en una misma capa de células fibroblásticas (Fig 10, 13), en otros casos habían granulomas incipientes y de diferentes tamaños rodeando un granuloma ya formado (Fig. 12) se evidenció la coalescencia de granulomas entre si destruyendo la arquitectura normal del órgano afectado.

En el riñón posterior el 50% de los casos tuvo una extensión y severidad entre grado 1 y 2, se observó gran cantidad de granulomas, necrosis tubular y pérdida de la arquitectura del órgano (Fig. 10).

En el hígado el 25% de los casos procesados la extensión y severidad fue grado 1, se observaron granulomas incipientes (Fig. 11),

donde hasta ahora se observa la organización típica de linfocitos y macrófagos para dar origen a un granuloma.

Se encontraron granulomas con las mismas características ya descritas en el peritoneo (Fig. 12), músculo (Fig. 13) y arcos branquiales. A todos los tejidos se les hizo una coloración paralela de ZN donde revelaron acúmulos de bacilos ácido-alcohol resistente en la región central de los granulomas, observándose también algunos bacilos ZN positivos en tejido parenquimatoso de bazo, hígado, riñón y branquias aún sin lesión evidente (Fig 9). Adicionalmente, en algunos casos se encontraron lesiones no granulomatosas en el tejido nervioso (cerebro), se presentó congestión y cambios degenerativos, infiltración de células MN en las meninges, miocardio, bulbo arterioso, y branquias con activación de CMM.

En las necropsias practicadas además de las lesiones descritas anteriormente, en el 75% de los casos se encontraron parásitos externos enquistados en las aletas, compatibles con *Clinostomum marginatum*

MICROBIOLOGÍA

A partir de 19 escalares empleando el método de descontaminación con neutralización, se evidenció un alto número de tubos contaminados con hongos. Con el segundo método de descontaminación (segundo muestreo), se aislaron colonias de tres de las muestras en medio Lowestein Jensen, dos de ellas por cultivo a 28 °C, colonias con pigmento amarillo de creci-

miento entre dos y tres meses y otra con crecimiento a 28 °C con pigmento al mes de incubación. En ninguno de los casos los tubos compañeros incubados a diferente temperatura mostraron crecimiento alguno. Todas las colonias mostraron al microscopio bacilos típicos ácido-alcohol resistentes.

Las muestras de dos cultivos remi-

tidas al Instituto Nacional de Salud (INS) para su clasificación fenotípica y genotípica dieron como resultado la identificación fenotípica de *Mycobacterium fortuitum* en los dos cultivos y de *Mycobacterium fortuitum* tipo 1 y *Mycobacterium peregrinum* tipo 2 en su caracterización genotípica en cada caso.

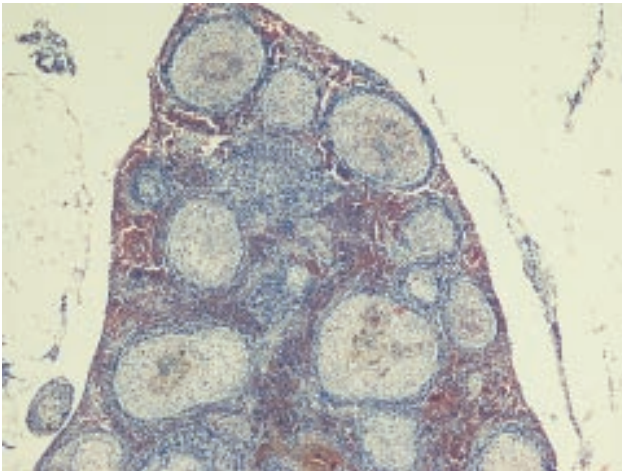


Figura 6. Bazo. Distribución multifocal diseminada de granulomas en diferentes estadios de formación. Se extiende en más del 60% de la superficie del órgano. H-E (aprox. 100x).

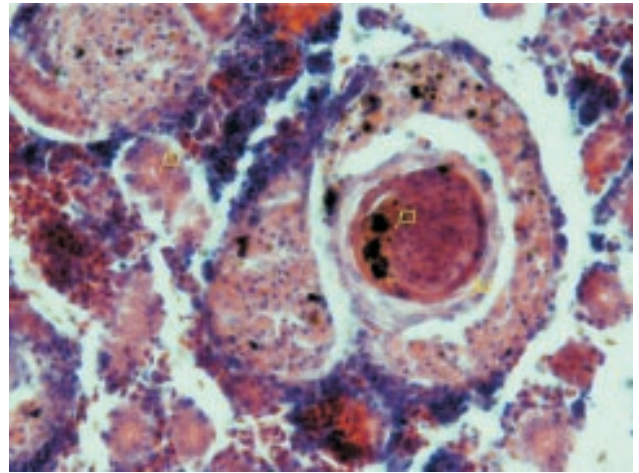


Figura 7. Riñon. Acercamiento de la morfología general de un granuloma en *Pterophyllum scalare* H-E. (aprox. 400X), 1 centronecrótico con pigmentos, 2 capa de células epitelioides, 3 túbulo renal.

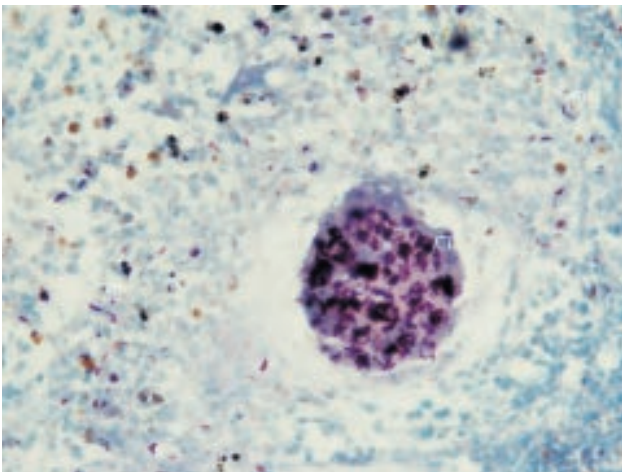


Figura 8. Bazo. Acúmulos de bacilos ácido-alcohol resistentes (1) en el centro del granuloma Ziehl Neelsen. (aprox. 1000X), también se pueden observar bacilos dentro de macrófagos en la periferia.

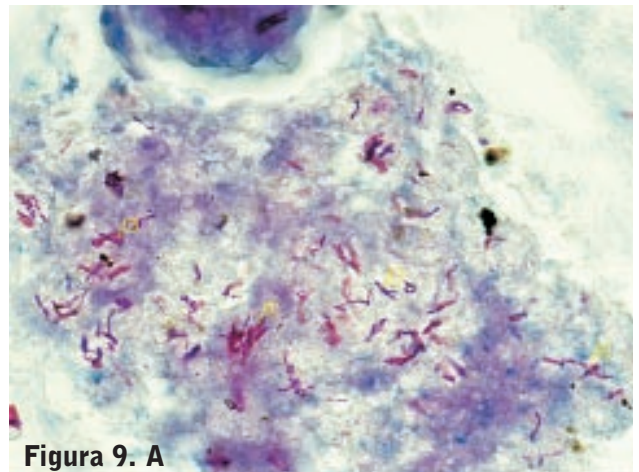


Figura 9. A

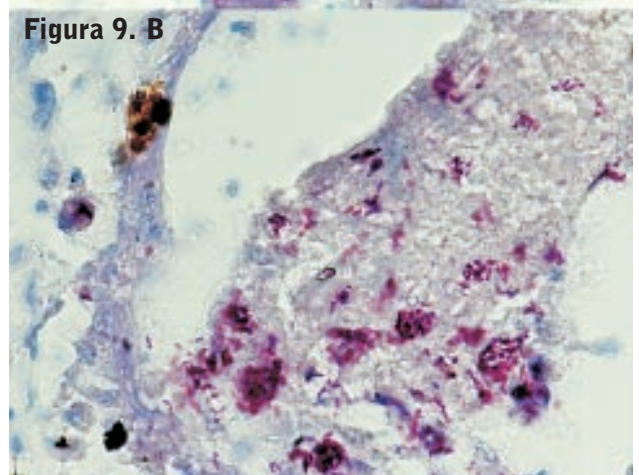


Figura 9. B

Figura 9. A, B. Coloración ZN Bazo. Tejidos granulomatosos con abundantes bacilos ZN positivos(1), pigmentos de CMM (2). (aprox. 1000X)

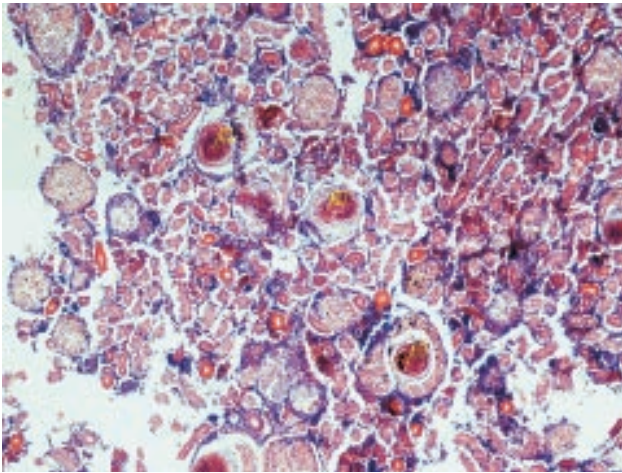


Figura 10. Riñón posterior. Granulomas, con centros de necróticos encapsulados (1,2,3) H-E (aprox. 40X).

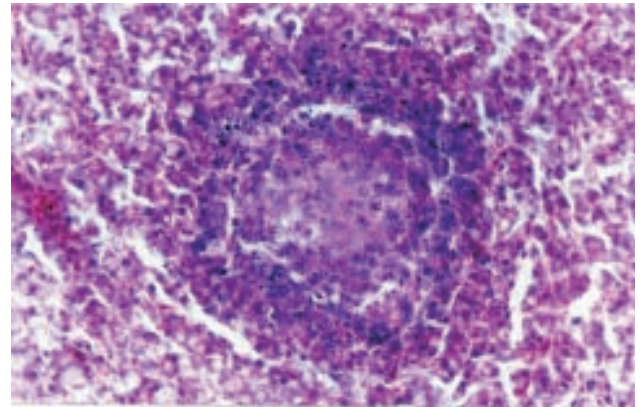


Figura 11. Hígado. Granuloma incipiente, hasta ahora se están organizando las células para aislar la lesión. H-E. (aprox. 400X).

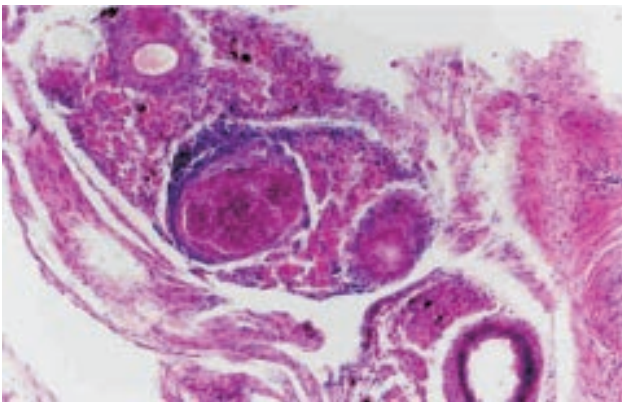


Figura 12. Peritoneo. Se observan dos centros necróticos encapsulados en una capa de fibroblastos. H-E. (aprox. 200X).

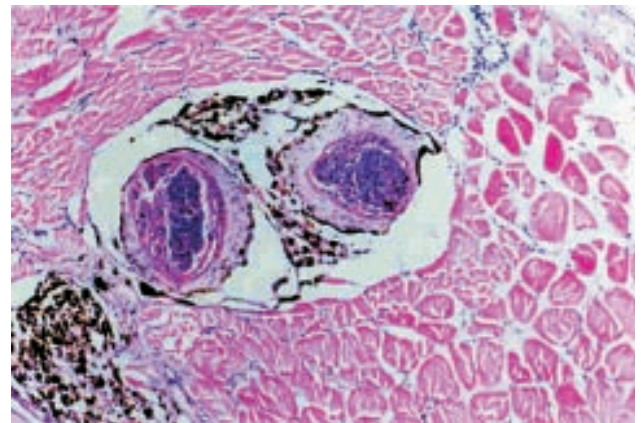


Figura 13. Músculo. Granulomas en tejido muscular con centros melanomacrófagos activados. H-E. (aprox. 200X).

DISCUSIÓN

Aunque el nivel de desarrollo de los sistemas de cultivo de peces ornamentales es incipiente, dado que son mas frecuentes las actividades de extracción y acopio que las de cultivo propiamente dichas, en explotaciones en las cuales se mantienen por largo tiempo planteles de reproductores, la casuística re-

lacionada con enfermedad granulomatosa es frecuente según lo consultado a los productores. En este estudio, se encontraron animales afectados en 3 de cinco explotaciones regulares, con niveles de mortalidad variable, entre el 10 al 90%, la mayoría de las explotaciones utiliza acuarios o piletas con

cuidados de desinfección, recambio de agua y alimentación muy pobres. Exceptuando la información sobre si se usaba o no concentrado comercial, no se determinó la calidad del alimento; hacia el futuro, sería interesante correlacionar el suministro de comida viva, suplementos vitamínicos y otros aspec-



tos de la alimentación, sobre la incidencia de esta y otras enfermedades en los planteles de peces ornamentales.

Dado que la micobacteriosis de peces ornamentales se ha reportado principalmente en animales provenientes del medio natural (Matlova et al., 1998; Conroy & Conroy, 1999; Verjan et al., 2002) las condiciones del acopio y en los nuevos cultivos, en las cuales se asientan los sistemas de producción serían similares y permitirían la presencia de factores de riesgo comunes. Los factores de riesgo de los sistemas de producción evaluados en este estudio se relacionan con la pobre limpieza de los estanques, mala calidad de agua, y prácticas de manejo que inducen estrés prolongado y llevarían a los animales a una inmunosupresión que facilita la infección por bacterias oportunistas (Kimberly & Steve, 2001; Daoust et al., 1989).

Las micobacterias son microorganismos saprófitos que por condiciones medio ambientales o biológicas desfavorables pueden afectar a los peces (Baker & Hagan, 1942). Las explotaciones piscícolas donde se muestrearon los animales manejan condiciones altas de densidad de siembra (más de 10 animales/mt³), además, debe considerarse la mala calidad de agua proveniente de pozos profundos con pH ácido, aguas estancadas con bajas concentraciones de oxígeno disuelto y altos niveles de materia orgánica que favorecen la proliferación de microorganismos (Floyd & Yanong, 2002).

Los estanques de las explotaciones A y B no los limpian adecuadamente y presentan una gran cantidad de materia orgánica lo cual sirve como reservorio de los microorganismos. Una vez establecida la en-

fermedad es difícil de controlar porque las lesiones de piel, tracto digestivo y las heces son una fuente de diseminación de patógenos al agua lo cual incrementa la probabilidad de transmisión de la enfermedad a otros peces (Munro et al., 1983; Kimberly & Steve, 2001). Los animales en el medio natural están en contacto con agentes oportunistas y según la susceptibilidad del individuo puede o no presentarse la enfermedad, al cambiar las condiciones ambientales naturales por un sistema controlado de producción la susceptibilidad aumenta debido al estrés producido por la manipulación en razón a que la micobacteriosis se ha visto principalmente en animales de acuario (Baker & Hagan, 1942).

También en relación con factores de riesgo en las 3 explotaciones muestreadas y en algunas de las que enviaron animales a consulta, se hacen tratamientos con diferentes medicamentos (Rifampicina, metronidazol, tetraciclina) sin control ni dosis indicadas lo cual puede ser de alto riesgo para inducir resistencias microbianas, pues la exposición frecuente e indiscriminada de tales compuestos a bajas dosis permite que los patógenos se hagan resistentes a los antibióticos, de otra parte, la presencia de los compuestos antibióticos puede modificar las dinámicas microbiológicas de los sistemas de producción (Gowen & Bradbury 1987; Iwama, 1991), como lo han descrito los anteriores autores, este riesgo, últimamente ha originado infecciones intratables causadas por bacterias multi-resistentes en humanos ocasionando graves problemas de salud pública (Clavijo et al., 2002).

Roberts (2001) afirma que no hay tratamiento para la micobacterio-

sis, sólo se pueden desinfectar los acuarios afectados, esterilización de implementos, recomienda el sacrificio de animales enfermos y la destrucción de las plantas acompañantes. Clavijo et al., (1999) recomiendan la erradicación del lotes de juveniles enfermos, desinfección de estanques de cemento con cloro al 5% y los estanques de tierra con cal dolomita (500g/m²), este autor trató al lote de reproductores individualmente administrando sulfato de Kanamicina en dosis de 50mg/Kg. de peso vivo IM (3 veces en intervalos de 48 horas), en los meses siguientes los reproductores se veían aparentemente sanos. Floyd & Yanong (2002) consideran que lo mejor para la erradicación de la micobacteriosis es la destrucción del plantel de peces y la desinfección total de las instalaciones antes de volver a utilizarlas coincidiendo con las recomendaciones de Roberts (2001).

Los signos clínicos encontrados en escalares (*Pterophyllum scalare*) con enfermedad granulomatosa en este estudio, son similares a los reportados por Wolke & Stroud (1978); Floyd & Yanong (2002); Conroy & Conroy (1999); y Verjan et al., (2002). Otros signos como la opacidad del ojo, deformidades del labio superior y deformidades operculares no se han encontrado reportados y no necesariamente estarían asociados a la enfermedad. Aunque todos los animales fueron sometidos a observación durante un tiempo mínimo de 90 días, se observaron 43 peces de 92 con signos clínicos, 20 de los cuales fueron procesados para anatomopatología, en algunos ejemplares no se observaron signos clínicos evidentes, como lo reportó Conroy (1984), el daño considerable de los órganos internos de peces infectados con micobacterias



ocurre antes de las manifestaciones externas usualmente observadas. Estos animales aparentemente sanos en etapas iniciales de la enfermedad actuarían como portadores (Clavijo et al., 1999).

Las zonas de descamación y úlceras en la dermis también fueron reportadas por Daoust et al; (1989) en *Perca flavescens*, Ashburner, (1977) en *Stripped bass*, algunas de estas úlceras pequeñas, al insertar una aguja de disección fluyó un material de aspecto purulento como lo reportó Verjan et al (2002), de este material no se hizo ningún extendido. Lesiones en piel al parecer están asociadas al grado de severidad de la infección, que lleva al animal a una condición desfavorable ante otros agentes agresores como parásitos y hongos; además de ser una fuente de diseminación continua de patógenos al agua y por consiguiente a otros peces, lo cual incrementa la probabilidad de transmisión de la enfermedad. Munro et al., (1983); Kimberly & Steve (2001) reportan que las lesiones abiertas de la piel causan mucho estrés al desequilibrar la osmorregulación normal del pez.

La evaluación macroscópica de los tejidos en animales, en los que se registran hallazgos como ascitis, hígado friable y congestionado, bazo aumentado de tamaño con nódulos de color blanco amarillento en la mayoría de su superficie fueron compatibles con los reportados por Frerichs (1993); Clavijo et al., (1999); Astrofsky et al (2000); Verjan et al (2002), con excepción de la ausencia de estos nódulos en hígado y riñón, la lesión granulomatosa observada a simple vista en el bazo (Fig.6) se encontró difusa y se evidenció en un 65% de los casos procesados.

Las descripciones hechas por distintos autores Gómez, (1998); Clavijo, (1999); Verjan, (2002) y las de este estudio, en cuanto a las características de las lesiones granulomatosas, tienen diferencias atribuidas posiblemente a las diferentes etapas de desarrollo de la enfermedad (Hastings et al; 1982).

El bazo posee abundantes linfocitos y macrófagos que participan en la fagocitosis de antígenos circulantes (Ferguson, 1989) y es uno de los órganos que presentó respuesta evidente en este estudio. La reacción inflamatoria crónica que se manifestó en el bazo fue una lesión granulomatosa difusa de moderada a severa, fusionándose entre sí, formando centros necróticos y dañando la estructura del órgano. En el hígado los granulomas fueron incipientes probablemente por tratarse de una fase inicial de la lesión (Lescenko et al., 2003).

Las células tipo Langhans que reportaron Gómez, 1998; Talaat et al., 1998; Roberts, 2001 no se observaron en escalares, pero la descripción de los CMM activados, células gigantes y la estructura de los granulomas sí corresponden con la mayoría de sus componentes descritos en peces (Noga et al., 1989) estos fueron identificados en lesiones granulomatosas de órganos estudiados en estos casos. Se encontraron acúmulos de macrófagos de color café-amarillento asociados a los granulomas y en el parénquima de los órganos afectados, no coincidiendo con lo descrito por Verjan et al (2002) quien los reportó con pigmentos amarillo verdoso en Goldfish, betta y discos, pero no los observó en escalares. Las células de enfermedades crónicas acuícolas semejan células epitelioides mamíferas, estas células tienen características epiteliales, incluyendo nu-

merosos desmosomas y tonofilamentos, estas características pueden no ser producidas en todos los peces, pero la presencia de marcadores epiteliales en peces filogenéticamente distintos así como en respuesta a patógenos no relacionados sugiere que ellas son características de ciertos tipos de inflamación crónica (Noga et al 1989). No se observaron células gigantes características de los granulomas de mamíferos y reportadas en otras especies (Roberts, 2001), al parecer esta la evolución hacia este tipo de células es poco frecuente en teleosteos.

En general, las características morfológicas de las lesiones granulomatosas producidas por micobacterias son similares a las de otros animales y al hombre. Murray et al (1995), compararon las reacciones inflamatorias crónicas causadas por micobacterias en diferentes especies encontrando similitud en la presencia de los principales componentes que conforman un granuloma típico. Talaat et al (1998), observó los granulomas de la infección en Goldfish, morfológicamente son similares a los reportados por Lucas (1988) en humanos infectados con *M. tuberculosis*.

No se encontraron lesiones granulomatosas en el sistema nervioso central. Roberts (2001), reportó que la incidencia de infecciones encefálicas por bacterias y virus es relativamente baja comparada con otros órganos. Los signos clínicos de letargia, nado errático y permanencia en el fondo del acuario no estarían necesariamente relacionados con daños en el sistema nervioso central, pudieran explicarse por situaciones hipóxicas o por alteraciones metabólicas de origen nutricional, correlacionadas con



cambios degenerativos en SNC en primera instancia o como lo reportó Swanson et al (2002), por un fallo de nado en deltas infectados con micobacterias no relacionado con fatiga, sino por alteraciones músculo-esqueléticas o neuromusculares, siendo incapaces de tener un nado normal y con detenciones transitorias.

El bazo en los teleósteos es uno de los mayores filtradores del sistema vascular, remueve antígenos circulantes y células sanguíneas viejas (Ferguson, 1989). Los macrófagos atrapan las micobacterias, éstas resisten a la destrucción intracelular por su capa de lípidos que impide la unión fago-lisosoma, hasta que los macrófagos son activados en una inmunorreacción mediada por linfocitos T; muchos de estos macrófagos ingieren las bacterias pero son incapaces de controlar su multiplicación y mueren. La lesión que se desarrolla en torno a los bacilos invasores consiste en una masa de restos necróticos que contienen microorganismos vivos y muertos, rodeados por una capa de fibroblastos, linfocitos y macrófagos, los cuales en esta localización reciben el nombre de células epitelioides. Las micobacterias son incapaces de multiplicarse en el centro necrótico pero algunas se vuelven latentes y pueden escapar a otros órganos vecinos e infectarlos. La infección para sí el

huésped monta la inmunorreacción adecuada (Th1), si recorre la vía equivocada (Th2) la infección se sigue diseminando y produce grandes lesiones granulomatosas que se fusionan y dañan el parénquima del órgano (Tizard, 2002).

La actividad reproductiva no se tuvo en cuenta en este estudio, pero para futuras investigaciones sería deseable tenerla en cuenta, ya que Ashburner (1977), estudió la micobacteriosis en salmones (*Oncorhynchus tshawytscha*), y sugiere que la enfermedad puede ser transmitida por vía transovarica por infección de líquidos en la cavidad abdominal que afectan a los huevos, esta hipótesis puede conllevar a que la erradicación de la enfermedad sea más difícil y costosa.

Histológicamente la coloración de (ZN) reveló acúmulos de bacterias ácido alcohol resistentes de color rojo de morfología bacilar que concuerda con los reportes hechos de micobacterias por Gómez (1998); Clavijo et al., (1999); Roberts (2001); Floyd & Yanong (2002).

Autores como Lescenko et al., (2003) consideran que la inspección visual de los órganos, exámenes morfológicos con coloración Ziehl-Neelsen que revelen bacterias ácido alcohol resistentes no son suficientes para dar un diagnóstico final de micobacteriosis, porque

la *Nocardia asteroides* es otro organismo gran positivo capaz de inducir un cuadro patológico similar al de la micobacteriosis (Frerichs, 1993) por esa razón, se enviaron muestras de los mismos lotes para cultivo y confirmación por microbiología, especialmente de animales con signos clínicos, de tales animales se aislaron colonias de las muestras sembradas con crecimiento a 28°C que al ser observadas al microscopio fueron positivas a micobacterias. Como resultado de la identificación fenotípica de *Mycobacterium fortuitum* en los dos cultivos y de *Mycobacterium fortuitum* tipo 1 y *Mycobacterium peregrinum* tipo 2 en su caracterización genotípica en cada caso, se correlacionan éstas con especies ya reportadas en peces (Lescenko et al., 2003; Floyd & Yanong, 2002; Frerichs, 1993), sin embargo la discusión de las posibles implicaciones desde el punto de vista de la microbiología y de los posibles riesgos de zoonosis será motivo de otro artículo, en preparación por parte de los autores, y realizado en cooperación con el Instituto Nacional de Salud. Sin embargo, se puede esperar que en consideración de las especies aisladas en este estudio, el riesgo de enfermedad en humanos asociado a esta enfermedad de los escalares cultivados en los Llanos Orientales de Colombia puede considerarse bajo.

CONCLUSIONES

En los sistemas de producción muestreados se encontró una alta densidad de siembra, mala calidad del agua y uso indiscriminado de drogas antimicrobianas, estos factores pueden predisponer a la presencia de la enfermedad.

La incidencia de la enfermedad granulomatosa es relativamente alta en los Llanos Orientales, presentándose en planteles con factores que causan estrés los cuales deben ser tenidos en cuenta. Los animales que se encontraron afec-

tados fueron adultos en planteles de reproducción, este hallazgo puede ser atribuible al tiempo que tarda esta enfermedad en mostrar signos clínicos. Los signos clínicos que deben alertar a los productores son: depresión, letargia, nado errático,



focos de descamación y úlceras en la piel.

Macro y microscópicamente el órgano que se encontró más afectado fue el bazo. A la necropsia es usual encontrar un hígado friable, congestionado con pigmentos oscuros, bazo aumentado de tamaño con nódulos de color blanco amarillento en su superficie y úlceras en la piel con un líquido de aspecto purulento.

La lesión granulomatosa de los órganos que se encontraron afectados se caracterizó por un centro necrótico con presencia de bacilos positivos a la coloración de ZN, rodeados por células en diferentes estadios de degeneración donde se observaron macrófagos agrupados de color amarillo a café (CMM), rodeados por una capa de células mononucleadas y células epiteloides, no se observaron células gigantes multinucleadas; todos

estos componentes descritos se encontraron rodeados por una capa de fibroblastos que encapsula la reacción inflamatoria y la aísla del tejido normal.

Por primera vez se aíslan *Micobacterias* sp.p.cf. de casos clínicos en escalares cultivados y se confirma su presencia mediante cultivo de colonias que crecieron a 28 °C en medio Lowesteing Jensen identificados fenotípicamente como *Mycobacterium fortuitum* y genotípicamente como *Mycobacterium fortuitum* tipo 1 y *Mycobacterium peregrinum* tipo 2.

Se sugiere estudiar, en futuros trabajos, la incidencia del suministro o no de comida viva, la vía transovárica, como vía de infección y comparar la patogénesis con diversas vías de infección.

Cuando se sospecha de la presen-

cia de la enfermedad micobacteriana en los planteles de peces, se debe hacer un diagnóstico exacto con ayuda profesional. Luego de confirmar la presencia de la enfermedad se deben tomar medidas sanitarias (reemplazar reproductores, si es posible renovar animales, desinfección de estanques, acuarios e implementos de manipulación y cuarentena del plantel) que ayuden a erradicar la enfermedad. Una recomendación que se desprende del estudio es evitar el uso de antibióticos de forma indiscriminada, pues además de inducir resistencia de las bacterias a estos, también pueden fluir y permanecer en aguas corrientes y significar un factor de riesgo para la salud pública. En general buenas condiciones de manejo: desinfección, calidad del agua, densidades de población y nutrición apropiadas, ayudarían a disminuir el estrés y la susceptibilidad de los animales a la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad de los Llanos- IIOC, al Instituto Nacional de Salud (Dras: Clara Inés León Franco y Martha Inírida Guerrero), a la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de

Colombia, a sus asistentes técnicos y personal de apoyo en los Laboratorios de Ictiopatología, Histopatología y Microbiología; especialmente a los señores: Carlos Isaquita (IALL) y Gilberto Córdoba (Fac. de MV de la Univ. Nal.)

por el procesamiento de los tejidos, a los estudiantes del Grupo de Estudio de Sanidad de Peces de la UNILLANOS, y a todas aquellas personas que apoyaron este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. ADAMS D.O. 1976. The granulomatous inflammatory response. Am J. Pathol 84: 164 – 191.
2. AJIACO, R & RAMÍREZ, H. 2000. Peces Ornamentales Manejo y Prevención de Enfermedades, Contrato INPA – PRONATTA. No. 971504001. pp 1.
3. AMLACHER E. 1970. Textbook of Fish Diseases. Pp. 103 – 117. T.F.H. Publications, Jersey Cxity. New York.
4. ANDERSON I.G., Shariff, M., and Shamsudin, M.N. 1987. Ornamental fish Micobacteriosis in Malaysia. Kajian Veterinar 19 (1), 61 – 70.
5. ANDERSON D.P 1996. Environmental factors in fish health: Immunological aspects in the fish immune system. Organism, pathogen, and environment (Iwama, G. & Nakanishi, J., eds), pp 289-310 New York: Academic press.



6. ANTONIO D.B., SWANSON C., CECHE J.J., MAGER R.C., DOROSHOV S., HEDRICK R.P. 2000. Prevalence of *Mycobacterium* in wild and captive delta smelt. Calif. Fish Game, 86, 233-243.
7. ARIAS, C. J. 2000. Avances en el Conocimiento Biológico de los Peces Ornamentales de la Orinoquia Colombiana. V Jornada de Acuicultura: "Estado Actual y Perspectivas de la explotación de los Peces Ornamentales en Colombia" Universidad de los Llanos.
8. ASHBURNER L.D. 1977. Micobacteriosis in Hatchery – confined Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum) in Australia. Journal of Fish Biology. 10, 523 – 528.
9. ASTROFSKY K. M., SCHRENZEL M.D., BULLIS R. A., SMOLOWITZ R.M., FOX T.G. 2000. Diagnosis and management of atypical *Mycobacterium* spp. Infections in established laboratory Zebrafish (*Brachydanio rerio*). Facilities. Comp. Med. 50, 666-672.
10. BAKER. J. A. & HAGAN, W. A. 1942. Tuberculosis of the Mexican platyfish (*Platypharodon maculatus*) Journal of Infectious Diseases, 70, 248-252.
11. BERNET D., SCHMLDT H., MELER W., BURKHARDT - HOLM P. AND WAHL T. 1999. Histopathology in Fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. Journal of Fish Diseases. 22: 25 – 34.
12. CHINABUT S, KANAYATI Y, PUNGKACHON BOON T 1994. Study of transovarian transmission of *Mycobacteria* in *Betta splendens* regan in: Chou LM and 10 authors (eds) proceedings of the 3rd Asian fisheries forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, p. 339 – 341.
13. CHINABUT S. 1999. Micobacteriosis y nocardiosis. In: Woo PTK, Bruno DW. Editors. Fish diseases and disorders. Vol 3. Viral, bacterial and fungal infections. Wallington, UK: CAB International; 1999. p.319 -340.
14. CLAVIJO A.M., CONROY G., CONROY A.D. Y SANTANDER J. 1999. Infecciones asociadas con bacterias ácido – resistentes en peces dorados (*Carassius auratus*) cultivados en la región central de Venezuela. Rev. Fac. Cienc. Vets. U.C.V. 40(1): 53 – 58.
15. CLAVIJO A.M. Y COL. 2002. Epidemiología de la Resistencia a Antimicrobianos en Bacterias de Peces de Aguas Dulces. Código de proyecto: 278-4005-004 PHARMA FISH: 4-97.
16. CONROY D. A. 1980. Diseases of Pisces Agents: bacteria. In Diseases of Marine Animals, Vol. IV. Part 1 introduction. Pisces. Kinne. Ed. Pp. 48 – 88. Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland.
17. CONROY G. CONROY D.A. 1999. Acid-fast bacterial infection and its control in guppies (*Lebistes reticulatus*) reared on an ornamental fish farm in Venezuela. Vet. Rev., 144, 177-178.
18. DIAMANT. A, KNIBB. W, KVITT. H, 2000. Micobacteriosis in wild rabbit fish *Siganus rivulatus* associated with cage farming in the gulf of eilat, red sea. Diseases of aquatic organisms. February vol. 39: 211 – 219.
19. DAOUST P.Y., LARSON B.E. AND JOHNSON G.R. 1989. Micobacteriosis en yellow perch (*Perca flavescens*) from two lakes in Alberta. Journal of wildlife diseases. Vol. 25. 1. January.
20. FERGUSON, H.W. 1989. Systemic Pathology of Fish. A text and Atlas comparative tissue response in diseases of teleost. Iowa state University Press. Ames. Pp: 5 – 103.
21. FERNÁNDEZ A.B., BLAS I., RUIZ I. 2001. El sistema inmune de los teleosteos (I): células y órganos. Disponible en: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp>.
22. FLETCHER, J. C. 1986. Modulation of nonspecific host defenses in fish. Vet. Immunol. Immunopathol., 12: 59 -67.
23. FLOYD R. F. Y YANONG R. 2002. Micobacteriosis in fish. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu>.
24. FRERICHS, G.N. 1993. Micobacteriosis: Nocardiosis. In Inglis, V.; Roberts R. J; Bromager (1998). N. R. Bacterial Diseases of Fish Blackwell science. pp 219.
25. GIAVENNI R., FINAZZ M., POLI G. AND GRIMALDI C.N.R. 1980. Tuberculosis in marine tropical fishes in an aquarium. Journal of Wildlife Diseases. 16, 161 – 167.
26. GORDON, R.E. & MIHM, J.M. 1959. A comparison of Four Species of *Mycobacterias*. Journal of General Microbiology. 21, 736 – 748.
27. GÓMEZ, S., BERNABÉ, A., GÓMEZ, M.A., NAVARRO, J.A. Y SÁNCHEZ, J. 1993. Fish Mycobacteriosis: Morphological and immunocytoche-



- mical aspects. Journal of Fish Diseases 16: 137-145.
28. GÓMEZ S, 1998. Unusual Morphopathological Features in a Case of Fish Tuberculosis. Journal of Fish Diseases. 21, 237 – 239.
29. GOWEN RJ, BRADBURY NB 1987. The ecological impact of salmonid farming in coastal waters: A review Oceanogr Mar Biol 25: 563-575.
30. GRANGE, J.M. 1981. Mycobacterium Chelonae tubercle. 62, 273 – 276.
31. HASTINGS T.S., MACKENZIE K & ELLIS A. E. 1982. Presumptive Micobacteriosis in Mackerel (*Scomber scombrus* L.). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. 2, 19 – 21.
32. HATAI K. LAWHAVINIT O., TODA K. & SUGOU Y. 1993. Mycobacterium infection in Pejerrey, *Odonthestes bonariensis* Cuvier & Valenciennes. Journal of Fish Diseases 16, 397 – 402.
33. HECKERT R.A., ELANKUMARAN S., MILANI A., BAYA A. 2001. Detection of a new *Mycobacterium* species in wild striped bass in the Chesapeake Bay. J. Clin. Microbiol., 39, 710-715.
34. HOWARD, S.T AND BYRD, T.E. 2000. The rapidly growing Micobacteria: Saprophytes and Parasites Microbes and Infection, 2: 1845-1853.
35. IMAGAWA, T; HASHIMOTO, Y; KON, Y. AND SUGIMURA, M. 1990. Immunoglobulin containing cell in the head kidney of carp (*Ciprinus carpio*) after bovine serum albumin injection. Journal of Immunology, Sapporo, Japan: Academic press Limited, Vol. 1, pp. 173 – 183.
36. IWAMA G. 1991. Interactions between aquaculture and the environment. Crit. Rev Environ control 21: 177-216.
37. KIMBERLY L., STEVE P. 2001. Use of Enrofloxacin in the Treatment of Piscina Micobacteriosis. Small Animal/Exotic. July pp 623-628.
38. KINKELIN K & MICHAEL, GHITTINO. 1985. Tratado de las Enfermedades de los Peces. Zaragoza – España. Ed. Acribas, pp 258.
39. LESCHENKO, P., MATLOVA, L., DVORSKA, L., BARTOS, M., VAURA, O., NAVRATIL, S., NOVOTNY, L., PAVLIK, I. 2003. Micobacterial infection in aquarium fish. Vet. Med. Czech, 48, (3): 71-78.
40. LUCAS, S.B. 1988. Histopathology of leprosy and tuberculosis – an overview. Br. Med. Bull. 44: 584-599. Medline.
41. LUNA, G. L. 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces. Institut of Pathology. 3ra D. E. Mc Graw – Hill. Toronto – Canada.
42. MACKENZIE K. 1988. Presuntive micobacteriosis in north east atlantic mackerel *scomber scombrus* L. J. Fish Biol. 32: 263 -275.
43. MADIGAN M. T, MARTINKO J.M, PARKER J. 1999. Brock Biología de los Microorganismos. Octava edición, Prentice Hall Iberia, Madrid. Pág. 734-735.
44. MATLOVA L., FISCHER O., KAZDA J., KAUSTOVA J., BARTL J., HORVATHOVA A., PAVLIK I. 1998. Occurrence of Micobacteria in invertebrates and poikilothermic animals and their role in man and other animals (in Czech). Vet. Med.-Czech, 43, 115-132.
45. MUNRO ALS, MC VICAR AH, JONES R. 1983. The epidemiology of infections disease in commercially important wild marine fish. Rapp pv cons Int Explor Mer 182: 21 -32.
46. MURRAY E.H., KREEGER J. M. AND HERRON A.J. 1995. Micobacterial infections of animals: Pathology and Pathogenesis. Laboratory Animal Science. Vol 45, No. 4. August.
47. NEMETZ, T.G AND SHOTTS, E.B. 1993. Zoonotic diseases. In Stoskopf, M. K. Fish Medicine, W. B. Saunders Company.
48. NOGA, E. J., DYKSTRA, M.J. AND WRIGHT, J.F. 1989. Chronic inflammation cells with epithelial cell characteristics in teleosts fish. Veterinary Pathology 26, 429 – 437.
49. NOGA E. J. 1996. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. 1st ed. Mosby.
50. PARISOT. T. J. 1958. Tuberculosis of Fish Bacteriological Reviews. 22. 240 – 245.
51. PELLETERO, BARJA, BLANCH. 1988. Toronto, Figueras, Torroella, Patología en Acuicultura, CAICYT, pp. 394-395.
52. PETERSON J. 2000. Mycobacteriosis in the Missouri River, Montana Fish Health Newsletter Vol. 28, issue 2 April, 2002 pp. 2.
53. PLUMB J.A., 1994. Health Maintenance of cultured fishes: Principal Microbial Diseases C.R.C press. Boca Raton, USA.



54. PUMAROLA. A. 1987. Microbiología y Parasitología Médica. Ed. Salvat, 2 edición.
55. REIMSCHUESSEL, R., MAY E., BENETT, R & LIPSKY M. 1988. Necropsy examination of Fish. Vet. Clin. North Am: Small Anim. Pract. 18 (2), March.
56. RHODES, M. KATOR H., KOTOB S., BERKUM, P. KAATTARI, I., VOGELBEIN, W., FLOYD, M., BUTLER, R., QUINN, F., OTTINGER, C., SHOTTS, E. 2001. A Unique mycobacterium species isolated from an epizootic of Striped Bass (*Morone saxatilis*). Emerging Infectious Diseases. Vol 7, No. 5. Sep-Oct. Fish Biol, 5, 497 – 503.
57. ROBERTS, R.J. 1978. Fish Pathology. Baillere Tindall London.
58. ROBERTS, R.J. 2001. Fish Pathology 3era edicion. W. B. Saunders. London.
59. ROSS. A. J. 1960. Mycobacterium salmoniphilum sp. Now From Salmonid Fishes. American of Respiratory Diseases, 81. 241 – 250.
60. RUIZ I., FERNÁNDEZ A.B , BLAS I. 2003. El sistema inmune de los teleósteos (IV): Principales factores que afectan a la respuesta inmune. Revista Aqua TIOC, N° 19 pp. 1-7.
61. RYCHLIK I., PAVLIK I. 1997. Molecular genetics methods in identification and differentiation of bacterial strains and species (in Czech). Vet. Med.-Czech, 42, 111-123.
62. SANTACANA, J.A., CONROY, D.A., MUJICA, M.E., MARÍN, C. Y LÓPEZ; N. 1982. An outbreak of acid-fast bacterial infection and its control in three-spot gouramis (*Trichogaster trichopterus pallas*). Journal of Fish Diseases 5: 545 - 547.
63. SAKANARI, J.S., REILLY, C.A. AND MOSER, M. 1983. Tubercular lesions in Pacific coast populations of Striped bass. Transactions of the American Fisheries Society 112, 565 – 566.
64. SANDERS G. E., SWAIM L.E. 2001. Atypical piscine micobacteriosis in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Com. Med., 51, 171-175.
65. STOSKOPF M. K. 1993. Fish medicine W.B. Saunders Company, Philadelphia, Tokyo. 882pp.
66. SWANSON C., BAXA D.V., YOUNG P.S., CECH J.J. AND HEDRICK R.P. 2002. Reduced swimming performance in delta smelt infected with Mycobacterium spp. Journal of fish Biology 61, 1.012 – 1.020.
67. TALAAT A.M., REIMSCHUESSEL R., WASSERMAN S.S., TRUCKSIS M. 1998. Goldfish, *Carassius auratus*, a novel animal model for the study of *Mycobacterium marinum* pathogenesis. Infection and Immunity, June, pp. 2.938 - 2.942.
68. TIMUR G. R. ROBERT R. J. 1977. The Experimental Pathogenesis of Focal Tuberculosis in the Plaice (*Pleuronectes platessa* L.). Journal of Comparative Pathology 87, 83 – 87.
69. TIZARD I.R. 2002. Inmunología Veterinaria. 6ta edición, Mc Graw Hill, pp.281 – 282.
70. THOEN C. O., SCHLIESSER T.A. 1994. Micobacterial infections in cold-blooded animals. In Kubica G.P., Wayne L.G. The Micobacteria, part B. 1st ed. New York and Basel. Pp. 1471.
71. UCKO M., COLORNI A., KVITT H., DIAMANT A., ZLOTKIN A., KNIBB W.R. 2002. Strain variation in Mycobacterium marinum fish isolates. Appl. Environ. Microbiol., 68, 5281-5287.
72. VAN DUIJN, C. 1981. Tuberculosis in Fishes. Journal of Small Animal Practice. 22: 391-401.
73. VERJAN N., IREGUI C.A., REY A.L., ESLAVA P.R. 2002. Micobacteriosis en Peces Ornamentales. Rev. Med. Vet. Zoot. 49 : 51-58. Universidad Nacional de Colombia.
74. WAYNE L.G., KUBICA G.P. 1986. Genus Mycobacterium Lehmann and Neumann 1896, 363AL. In : Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J. G. (eds): The Williams & Wilkins Co., Baltimore. 1.436-1.457.
75. WOLKE R. E. & STROUD. R. K. 1978. Piscine Micobacteriosis. In Micobacterial infections of Zoo Animals. (Ed. By R. J. Montali), pp. 269-275. Smithsonian Institute Press, Washington D.C. pp 269-275.