

PROYECTO: PLAN SANITARIO SALMONIDOS



Aspectos Sanitarios en el Cultivo de Salmónidos

Septiembre 2007



Secretaría de Agricultura,
Ganadería, Pesca y Alimentos



Dirección
de
Acuicultura



SENASA

PLAN NACIONAL SANITARIO DE ANIMALES ACUATICOS

Primera etapa: Embalse Alicurá Salmónidos

Participantes

Dirección de Acuicultura – Subsecretaria de Pesca y Acuicultura – SAGPYA

Contacto: Lic Marcela A Alvarez (malvare@mecon.gov.ar)

Dirección de Lucha Sanitaria – Dirección Nacional de Sanidad Animal - SENASA

Contacto: MV Mariano Bacci (mbacci@senasa.gov.ar)
Lic Daniela Bottino (dbottino@senasa.gov.ar)

Dirección de Laboratorio y Control Técnico – SENASA

Coordinación BPPZ bppz@senasa.gov.ar o czenobi@senasa.gov.ar
Coordinación de Virología virologia@senasa.gov.ar o srusso@senasa.gov.ar

Centro de Ecología del Neuquén

acuiculturacean@gmail.com

Relevamientos de campo

Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas
Provincia de Neuquén – CEAN Dirección Provincial de Medio Ambiente
Provincia de Río Negro – Dirección de Pesca de la Provincia de Río Negro

INDICE

1.- Guía de las principales enfermedades de salmónidos

- A) Septicemia vírica hemorrágica.
- B) Necrosis hematopoyética infecciosa.
- C) Necrosis hematopoyética epizótica.
- D) Necrosis pancreática infecciosa.
- E) Anemia infecciosa del Salmón.
- F) Enfermedad bacteriana renal.
- G) Piscirickettsiosis.

2.- Métodos para desinfección de establecimientos de acuicultura

ANEXOS

1.- Protocolo Detallado de Necropsia y Toma de muestra.

2.- Protocolo de Necropsia para organismos acuáticos del SENASA

**GUIA DE LAS PRINCIPALES
ENFERMEDADES DE SALMONIDOS**

Autor: Dr. Luis Romano

SEPTICEMIA VÍRICA HEMORRÁGICA

Aspectos clínicos y macroscópicos: Esta enfermedad, producida por un rhabdovirus, se puede dividir en tres estadios. La fase aguda (estadio I) de la enfermedad se caracteriza por alto índice de mortalidad. Los peces se observan hiper Cromáticos, letárgicos y con hemorragias petequiales en la base de las aletas y en las branquias. Macroscópicamente se observa una congestión vascular generalizada con hemorragias petequiales en branquia y vísceras abdominales. Los peces que mueren en esta fase generalmente presentan un hemoperitoneo.

En la fase crónica (estadio II) predomina la hiperpigmentación predominantemente dorsal, exoftalmos y palidez branquial debido a una anemia severa y persistente.

Macroscópicamente se pueden observar hemorragias organizadas y adherencias entre la serosa peritoneal y las vísceras.

En la fase tardía o clínica (estadio III), cesa la mortalidad y es una etapa donde no se observan virus. Lo que se observa en esta etapa son las secuelas de la enfermedad con signos neurológicos focales y trastornos natatorios. En esta fase, contrariamente a las anteriores se observa despigmentación cutánea, la piel presenta áreas hiperpigmentadas asociadas con áreas hipopigmentadas.

Histopatología: Las lesiones histológicas están relacionadas el endoteliotropismo del virus. Se pueden observar hemorragias en todos los tejidos, pero son más frecuentes en tejidos altamente vascularizados. Las hemorragias del músculo esquelético puede ser masiva con abundantes eritrocitos entre las fibras musculares. La anemia es generada por las hemorragias y por la necrosis del tejido hematopoyético. En la fase crónica se observa un aumento del depósito del pigmento férrico en melanomacrófagos especialmente del bazo. En esta fase suele observarse fibrosis del tejido hematopoyético compensada por hiperplasia focal de este tejido en pronefros, bazo e hígado. En el ojo se puede observar hemorragia de la coriodes acumulación de material hemático retroocular lo que explica el exoftalmos.

En el sistema nervioso, en el estadio III se observan lesiones secundarias a hipoxia, como focos de necrosis edema y proliferación glial. En esta fase es frecuente la existencia de leucopenia y destrucción de melanomacrófagos así como la metamorfosis grasa hepática muchas veces masiva.



SVH en alevinos de trucha arco-iris con melanosis generalizada y exoftalmos bilateral. (Kinkelin P., Michel Ch., Ghittino P: Précis de pathologie des poissons)



SVH: Hemorragia difusas abdominales. (Kinkelin P., Michel Ch., Ghittino P: Précis de pathologie des poissons)

NECROSIS HEMATOPOYÉTICA INFECCIOSA

Esta enfermedad afecta especialmente a los establecimientos productores de alevinos y juveniles de trucha arco iris en agua dulce, que puede resultar en altas mortalidades, ya que son más susceptibles a la misma. Los peces incrementan su resistencia a la infección con la edad hasta el período reproductivo, donde comienzan a ser altamente susceptibles y puede trasladarse el virus en los productos sexuales.

Las especies susceptibles son la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), trucha marron (*Salmo trutta*), salmón del Pacífico incluido, chinook (*O. tshawytscha*), sockeye (*O. nerka*), chum (*O. keta*), masou (*O. masou*), coho (*O. kisutch*), y el Salmón del Atlántico (*Salmo salar*).

Aspectos clínicos y macroscópicos: Como la anterior esta enfermedad esta producida por un rhabdovirus. Se caracteriza por que los peces muestran letargo con hiperactividad esporádica, hipererromatismo generalizado, exoftalmo, hemorragia en la base de las aletas, palidez de branquias y distensión abdominal. Los peces liberan heces blanquecinas por el recto. En la necropsia se puede observa ascitis con liquido sanguinolento, palidez de los órganos abdominales y petequias viscerales, peritoneales y en el tejido adiposo.



*NHI: Alevinos de truchas con ascitis y cilindros mucosos fecales
(Roberts R. J. Fish Pathology Roberi R.J.ed. Bailliere Tindall)*

Histopatología: Se observan hemorragias focales en casi todos los tejidos. En el tejido hematopoyético se existen cambios degenerativos en todas las progenies celulares. Las alteraciones degenerativas comienzan con tumefacción, las células afectadas tienen un aspecto en vidrio esmerilado, posteriormente muestran degeneración hidrópica, los núcleos se ponen picnoticos y el citoplasma eosinófilo, posteriormente se observa cariorexis y carilosis terminando en necrosis. Es interesante mencionar la necrosis de las células granulares eosinófilas del estrato compacto y granuloso intestinal. Algunos autores consideran esta alteración como patognomónica de esta enfermedad. También es característico la dilatación de los senos vasculares renales con abundantes eritrocitos en su luz, como así la presencia de focos necróticos rodeado de infiltrado linfoide en hígado y páncreas. En este último órgano se suelen ver inclusiones intracitoplasmáticas pleomórficas que no se consideran patognomónicas de la enfermedad.

NECROSIS HEMATOPOYETICA EPIZOOTICA

Se trata de una enfermedad infecciosa, producida por un Iridovirus y que afecta tanto a salmónidos, Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) como a pércidos, Perca común (*Perca fluviatilis*). La enfermedad presenta una gravedad extrema en perca, siendo menos grave en Trucha arco iris.

Por el momento la enfermedad parece estar localizada en Australia, si bien está considerada como una de las enfermedades exóticas de riesgo de introducción en Europa.

Los estudios del agente etiológico han determinado que se trata de un Iridovirus de forma icosaédrica y que presenta gran similitud antigénica con otros Iridovirus de especies acuáticas, especialmente con los aislados en siluros (*Silurus glanis*) y de pez gato (*Ictalurus melas*), lo que podría dar lugar a reacciones cruzadas en el diagnóstico. Una característica importante de esta enfermedad es que hasta el momento no se han detectado anticuerpos en los animales infectados, lo que parece indicar que se trata de un agente con nulo poder inmunógeno.

Desde el punto de vista epidemiológico se ha observado que la enfermedad afecta a animales en aguas con temperaturas entre 12 y 20°C, no se presenta con temperaturas bajas, inferiores a los 10-12 °C, ni con temperaturas elevadas, superiores a los 21°C, así como también se ha observado que es frecuente su presentación en aguas de baja calidad físico-química.

Aspectos clínicos y macroscópicos: La enfermedad se manifiesta tanto en adultos como en juveniles, si bien estos últimos son más susceptibles a la misma, siendo mucho mayor la letalidad entre los mismos. La transmisión de la enfermedad se produce por mecanismos horizontales directos, contacto enfermo y sano, o por mecanismos indirectos a través de reservorios y vehículos inanimados. Las vías de eliminación del agente, entrada en el animal sano así como la posible transmisión vertical de la enfermedad se encuentran en la actualidad en estudio. Parece ser que los reservorios más importantes de esta enfermedad son los animales de vida salvaje que habitan los ríos donde se localizan las piscifactorías de producción, puesto que una vez presente la enfermedad en la explotación es prácticamente imposible de eliminar a pesar de las medidas aplicadas.



Alevino infectado mostrando hemorragias en el saco vitelino

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad se caracterizan por la presentación de edemas, hemorragias y necrosis en las paredes de los vasos, hígado, bazo y riñón. Si bien las manifestaciones son en general comunes a otras enfermedades. Algunos autores consideran que la necrosis hepática podría ser considerada patognomónica de la enfermedad.

Histopatología: El diagnóstico de la enfermedad desde la perspectiva clínica y epidemiológica debe ser orientativo, debiendo confirmarse en el laboratorio. La técnica más adecuada es el aislamiento en cultivos celulares de la línea continua BF-2 a temperatura de 12-14°C. El virus aislado puede identificarse por Inmunofluorescencia, E.L.I.S.A o por Microscopía electrónica, siendo inútil para la identificación la seroneutralización.



Otras alternativas de diagnóstico consisten en la aplicación de Inmunofluorescencia o técnicas de Inmunoperoxidasa sobre cortes de órganos de animales con manifestaciones clínicas fijados en fórmol.

Signos clínicos de la enfermedad donde se ve oscurecimiento de la piel, hemorragias en el abdomen y alrededor de la pupila ocular.
Cita FAO Technical paper, 402/2 Asia Diagnostic guide to Aquatic Animal Diseases.

NECROSIS PANCREATICA INFECCIOSA

Es una enfermedad viral altamente contagiosa en juveniles de salmónidos producidos en cultivos intensivos. La enfermedad ocurre más característicamente en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*), trucha marron (*Salmo trutta*), salmón del Atlántico (*Salmo salar*), y muchas de las especies del salmón del Pacífico (*Oncorhynchus spp.*). Generalmente la susceptibilidad clínica disminuye con la edad y la resistencia a la enfermedad clínica cuando los salmones alcanzan cerca de los 1500 grados - días, excepto para smolts de salmón del atlántico, que pueden verse afectados después de la transferencia desde el agua dulce al mar.

Aspectos clínicos y macroscópicos: Es una enfermedad causada por un reovirus ARN de doble cadena bisegmentada, que ocurre en salmónidos muy jóvenes. Los peces afectados muestran hiperpigmentación, y una tendencia a nadar en forma espiral, esto se asocia con signos neurológicos focales, exoftalmo y distensión abdominal. Macroscópicamente en la grasa abdominal donde se encuentra predominantemente el tejido pancreático se observan abundantes petequias, el hígado y el bazo están edematosos, pálidos con aislados focos hemorrágicos. En el estomago e intestino se observa un exudado mucoide con congestión de la mucosa y pared intestinal.

Histopatología: La característica histológica de esta enfermedad es la necrosis difusa o focal del páncreas exócrino. La extensión de esta lesión varía considerablemente, desde algunos acinos necróticos con otros vecinos sin lesiones hasta una necrosis masiva de todos los acinos. Los cambios necróticos se extienden por que las células acinares al destruirse liberan enzimas como lipasa y amilasa. Las células antes de su necrosis se observan edematosas con núcleos picnóticos y un halo basófilo perinuclear. Menos frecuentemente se encuentran lesiones necróticas en el hígado y riñón. En el epitelio de los ciegos pilóricos se puede observar una característica necrosis eosinófila, células epiteliales edematosas con cariorexis e intensa eosinofilia citoplasmática. La necrosis del epitelio puede ser extensa con descamación total del mismo en la luz. La actividad mucosecretora más la necrosis generan el exudado mucoide. Las células con necrosis eosinófila forman del exudado. Con anticuerpos policlonales o monoclonales se puede demostrar la presencia de virus en las células acinares conservadas.



IPN en alevinos de trucha arco- iris donde se observa distensión abdominal y exoftalmos. (Kinkelin P., Michel Ch., Ghittino P: Práctis de pathologie des poissons)

ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN

Se trata de una enfermedad infecciosa de etiología no claramente conocida, si bien en la actualidad se acepta que es un proceso vírico. La enfermedad afecta, por el momento, exclusivamente al Salmón del atlántico (*Salmo salar*). No obstante el papel de otras especies debe estudiarse a fondo ya que se trata de una enfermedad de muy reciente descripción (en 1984 por vez primera) y que a nivel experimental si se ha observado que la Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y la Trucha común (*Salmo trutta*) pueden actuar como portadores asintomático.

Por el momento la ISA solamente se ha detectado en Noruega donde ha producido tasas de mortalidad muy elevadas, próximas al 100% de las poblaciones de salmón en la mayoría de los casos.

Desde el punto de vista epidemiológico, se ha observado que la enfermedad sólo se presenta en agua salada (nunca cuando el salmón está en agua dulce). Por otro lado, la enfermedad se presenta especialmente en primavera y parece que pudiera existir un componente genético asociado a la resistencia de la enfermedad, ya que la mayoría de los salmones salvajes son resistentes a la misma.

La enfermedad se transmite de forma horizontal tanto directa como indirecta, ya que agente etiológico parece que es transportado a través de reservorios, en la materia orgánica y en el propio agua, ya que en aquellos lugares donde la enfermedad se ha presentado ha resultado muy compleja de eliminar a pesar de las medidas de tipo higiénico-sanitario instauradas.

También se plantea la posibilidad de que algunos parásitos del pez puedan actuar como vectores, no obstante, por el momento son todo hipótesis de trabajo que deben ser demostradas.

Aspectos clínicos y macroscópicos: La enfermedad cursa, en cuanto a sus manifestaciones clínicas de forma sistémica con una intensa anemia, oscurecimiento general de la superficie corporal (no se presenta en todos los animales), ascitis lesiones congestivas y hemorrágicas (petequias) en hígado y bazo que además están aumentados de tamaño.

En ocasiones pueden observarse hemorragias en los ojos. El análisis de sangre pone de manifiesto una intensa anemia con disminución importante en el valor hematocrito que estará por debajo de 10.

Histopatología: A nivel histológico se observa degeneración y necrosis de los hepatocitos, tanto en el parénquima como en los endotelios de los sinusoides hepáticos donde se pueden observar partículas víricas mediante microscopía electrónica. También en los ventrículos cardiacos se ha podido detectar la presencia de esas partículas víricas. En general son los endotelios vasculares los principales puntos de localización del virus así como también los leucocitos polimorfonucleares circulantes.

El diagnóstico de la enfermedad es difícil en la actualidad ya que no existen líneas celulares en las que haya podido ser aislado (algunos autores indican que recientemente se ha podido aislar el virus en líneas celulares de riñón de salmón (SHK-1) utilizando para ello leucocitos infectados).

Por este motivo el diagnóstico se basa en las manifestaciones clínicas, anemia intensa, en los análisis de sangre donde se observa un hematocrito por debajo de 10 y en el estudio anatomopatológico, en el que se ponen de manifiesto las inclusiones en las células eritrocíticas, un importante descenso de leucocitos y las lesiones hepáticas indicadas.

Se trata de un proceso vírico lo que supone que no existe un tratamiento curativo que sea eficaz, debiendo apoyarse la lucha frente a la enfermedad en la instauración de medidas de tipo higiénico-sanitario que eviten la diseminación de la enfermedad. Las medidas a instaurar son la limpieza y desinfección de los estanques aplicando desinfectantes (amonios cuaternarios, formalina, clorados, organofosforados, iodóforos) y evitar los factores desencadenantes de stress en los animales (manejo adecuado, excesiva densidad de población, etc.). La posible intervención de vectores en la transmisión de la enfermedad exige el control de los mismos.



ISA: Branquias pálidas y hepatomegalia (Rocco C. Cipriano, United States Geological Survey National Fish Health Research Laboratory, Lestown Road Kearneysville, U.S.A)

Hasta el momento se desconoce la posibilidad de que la enfermedad se transmita de forma vertical a través de los huevos embrionados por lo que será conveniente realizar la fecundación en presencia de Iodóforos que inactivan el virus. La entrada en la piscifactoría de nuevos animales potenciales portadores o de reservorios potenciales debe controlarse mediante diagnósticos previos y si es posible mediante cuarentenas. Las importaciones de huevos embrionados o peces vivos deben realizarse a partir de piscifactorías que posean certificados de exentas de enfermedades de las listas A y B del código Zoonosanitario Internacional de la O.I.E. y de las listas I y II de la legislación de la Unión Europea para la acuicultura. Una vez instaurada la enfermedad en la piscifactoría, deben establecerse medidas de erradicación que pasan por realizar el vaciado sanitario de la misma durante un período mínimo de 3 meses con desinfecciones continuas. Una vez que se haya cumplido esta etapa, la reintroducción de nuevos animales se realizará a partir de explotaciones que puedan demostrar estar exentas.

ENFERMEDAD BACTERIANA RENAL

La susceptibilidad de los salmónidos hacia el BKD es variable, las especies de salmones del Pacífico del género *Oncorhynchus* son consideradas generalmente como las más susceptibles.

La enfermedad ha sido descrita para Norte América, muchos países de Europa, Japón, Chile e Islandia. La mayoría de los brotes reportados han ocurrido bajo sistemas de cultivo y la dispersión de la enfermedad ha seguido la expansión de la salmicultura.

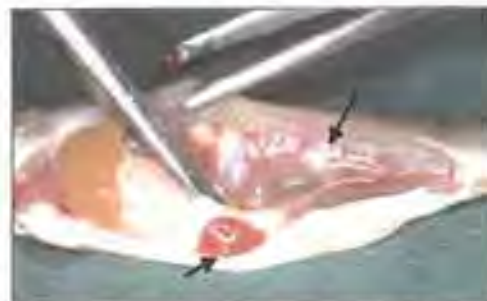
Aspectos clínicos y macroscópicos: Esta enfermedad producida por el *Ranibacterium salmoninarum* que causa considerables pérdidas económicas en cultivos de peces. Los animales afectados presentan hiperpigmentación cutánea con exoftalmo y hemorragias en la base de las aletas pectorales. En la necropsia el riñón se encuentra masivamente agrandado con múltiples lesiones nodulares blanquecinas rodeadas de una halo hiperhémico. Otro órgano frecuentemente afectado es el corazón donde se observa epicarditis fibrinosa y granulomas en el miocardio. Granulomas focales se pueden también observar en el bazo, hígado o en cualquier otra viscera. Ocasionalmente los peces presentan una peritonitis fibrinosa con adherencia superficiales hepáticas y esplénicas. Un peculiar síndrome se ha descrito en esta enfermedades, el denominado "spawning rash", constituido por pequeñas vesículas intradérmicas acompañadas de granulomas que tienden a desaparecer con el tiempo.

Histopatología: El *R. salmoninarum* es un pequeño diplobacilo Gran positivo de localización intracelular que generan en el huésped una reacción tisular granulomatosa o piogranulomatosa. En algunos casos las lesiones pueden caecificarse y cavitarse.

La respuesta celular esta constituida por macrófagos con bacterias en su interior y neutrofilos. Es importante remarcar que las bacterias no se observan con H-E y pueden ser detectadas utilizando PAS y Gran. Cuando hay mucha lesión vascular se puede observar necrosis del endotelio y de la túnica media vascular lo que ocasiona trombosis y extensas hemorragias. Con microscopía electrónica en el glomérulo renal se puede observar depósitos electrodensos subendoteliales y mesangiales proliferación mesangial y lesión podocítica con engrosamiento y edema de los pedicelos. También se puede observar lesión tubular con edema mitocondrial perdida de las crestas y ruptura de estas organelas. Estas alteraciones del nefrón pueden ser secundarias al daño vascular que genera insuficiente aporte sanguíneo.



BKD: Lesiones nodulares blanquecinas características de la enfermedad. (Kinkelin P., Michel Ch., Ghittino P. Précis de pathologie des poissons)



BKD: Lesiones nodulares blanquecinas en el bazo y en el riñón. (Eva Jansson, Department of Pathology, Swedish University of Agricultural Sciences and Department of Fish, National Veterinary Institute, Uppsala Sweden)

PISCIRICKETTSIOSIS

La Piscirickettsiosis es una **enfermedad** sistémica de los salmónidos. El agente causal de la enfermedad es la bacteria *Piscirickettsia salmoni*.

La enfermedad ha sido descrita en Chile, Irlanda, Noruega y alrededor de las costas este y oeste de Canadá.

Aspectos clínicos y macroscópicos: Clínicamente la enfermedad cursa una infección sistémica y crónica que generalmente afecta a salmónidos cultivados en agua salada. Todos los estadios son susceptibles, desde smolts hasta peces de tamaño de mercado. Tanto los signos internos como los externos están bien documentados. La enfermedad comienza aproximadamente un mes después de que los peces fueron introducidos a las jaulas en el mar y el organismo transmisor es considerado como una bacteria marina.



Piscirickettsiosis: Imprinta de hígado con *Piscirickettsia salmoni* teñidas con Giemsa. J.L. Fryer and R.P. Hedrick. Journal of Fish Diseases 2003.

Histopatología: Varios signos macroscópicos pueden estar presentes en los salmónidos infectados con *P. salmonis*. Los peces severamente afectados se ven oscuros, anoréxicos y letárgicos. Siempre nadan próximos a la superficie o el fondo de las jaulas. Los peces con infecciones moderadas suelen no mostrar signos externos anormales. Las infecciones en cerebro pueden causar un comportamiento natatorio errático. En algunos peces también pueden estar presentes lesiones en la piel que aparecen como pequeños parches blancos y que pueden progresar en úlceras superficiales. Tal vez el signo externo más consistente observado en infecciones de *P. salmonis* sea las branquias pálidas como resultado de una anemia importante, pero esto no es patognómico de la enfermedad.

Los cambios histológicos más prominentes son encontrados en el hígado, bazo, riñón e intestino, pero también pueden ser observados cambios patológicos en el cerebro, corazón, ovario y branquias. En el hígado se observan hepatonecrosis multifocales acompañadas por un infiltrado inflamatorio crónico de células mononucleares. También son evidentes en el hígado necrosis vascular y perivascular y es común encontrar coagulación intravascular resultando en trombosis fibrilar dentro de los vasos más grandes.



Piscirickettsiosis: Pequeños nódulos hepáticos y congestión de visceras abdominales. J.L. Fryer and R.P. Hedrick. Journal of Fish Diseases 2003.

Cambios vasculares similares a aquellos en el hígado pueden observarse también en el riñón y bazo. Puede ser observado meningitis, endocarditis, peritonitis, pancreatitis y bronquitis acompañados por cambios vasculares crónicos e inflamatorios similares a aquellos encontrados en el hígado y órganos hematopoyéticos.

La examinación microscópica de las lesiones revela agregados de organismos en el citoplasma de hepatocitos degenerados y macrófagos. Los macrófagos infectados están comúnmente hipertrofiados y repletos de restos celulares. En cortes de tejidos teñidos con hematoxilina – eosina (HyE), el organismo aparece como esferas basófilas o anfófilas de alrededor de 1 μ m de diámetro.

METODOS PARA LA DESINFECCIÓN EN ESTABLECIMIENTOS DE CULTIVO DE PECES

(Manual de Diagnostico de Enfermedades de Animales Acuáticos. Parte 1: Carpeta 1.1.5).

Traducido por la Lic. Marcela Alvarez y el Lic. Fernando Raibenberg. Dirección de Acuicultura.

1.- Principios Generales

La elección de los procedimientos de desinfección depende del tamaño, tipo y naturaleza de los materiales y sitios a ser desinfectados. Con excepción de la piel del personal y las ovas de los peces, las cuales deben ser desinfectadas con productos no corrosivos, las superficies a ser desinfectadas consisten en telas y material tejido (ropa, redes), superficies duras (plástico, cemento) o materiales permeables (tierra y grava). La desinfección para superficies permeables es más dificultosa y requiere más tiempo. En la Tabla 1 se indican las sustancias más comunes y los métodos para su uso basado en este criterio.

El uso de los productos químicos supone la implementación de medidas de protección del personal y de los animales de cultivo además de mitigar los efectos ambientales. Primero es necesario proteger la piel, los ojos del contacto con sustancias peligrosas, utilizando ropa impermeable, botas, anteojos de seguridad y cascos. El tracto respiratorio debe ser protegido por mascarar y el operador no debe tocar ningún alimento si previamente no ha lavado sus manos. Finalmente el producto deber ser guardado de tal forma que no presente ningún peligro directo o indirecto para los animales, peces, humanos o el medioambiente.

El material debe ser cuidadosamente limpiado antes de la desinfección. El material orgánico que se generó durante el procedimiento de limpieza, tal como el sedimento de los estanques, etc. debe también desecharse de manera apropiada para prevenir la dispersión de las enfermedades por el material y ser ambientalmente seguro.

Idealmente los procedimientos aprobados para el uso de desinfectantes en acuicultura debe estar establecido. Un esquema aprobado debe considerar los efectos de la desinfección contra los patógenos considerados, las propiedades toxicológicas y ecotoxicológicas de los productos.

Posterior a la desinfección o erradicación total de patógenos, el establecimiento deberá ser reabastecido a partir de una fuente libre de enfermedades.

Tabla 1 Métodos de desinfección y su uso

| PROCESO | INDICACIONES | METODO DE USO | COMENTARIOS |
|----------------------------------|--|---|--|
| FISICOS | | | |
| Secado al sol | Patógenos de peces en el fondo de barro | Secar por 3 meses a temperatura media de 18°C | El período de secado puede reducirse con el uso de desinfectantes químicos. |
| Secado por calor | Patógenos de peces en superficies de concreto , roca, acero y cerámica | Soplete y soplador secador Aire caliente | |
| Calor húmedo | Patógenos de peces en tanques de vehículos de transporte | Vapor a 100° C o más por 5 minutos | |
| Rayos ultra violeta UVC (254 nm) | Virus y bacterias. | | Dosis mínima letal |
| Rayos ultra violeta UVC (254 nm) | Necrosis pancreática infecciosa (IPN) y nodavirus en agua | 125 (200mj/cm ²) | |
| QUIMICOS | | | |
| Acido acético | Anemia infecciosa del salmón | 0.04-0.13% | |
| Amonio cuaternario | Virus, bacteria, manos, superficies de plástico | 0.1-1 g/litro por 1 a 15 minutos | El virus de IPN es resistente |
| Oxido de calcio* | Patógenos de peces en barro secos | 0.5 Kg./m ² por 4 semanas | Reemplace el agua y vacíe los estanques llevando los efluentes a un Ph de 8,5 |
| Hipoclorito de calcio* | Bacterias y virus en todas las superficies lavables y en el agua | 30mg. de cloro por litro. Dejar que se inactive después de unos días o neutralizar con tiosulfato de Sodio después de 3 hs. | Puede ser neutralizado con tiosulfato de sodio, ver las recomendaciones especiales |
| Cianamida de Calcio* | Esporas en fondos barrosos | 3000 Kg./ha en superficies secas, dejar en contacto por un mes | |
| Cloramina T | Destruye AIS | 1% por 5 minutos | |
| Cloramina T | Destruye IPN | 1% por 30 minutos | |
| Dióxido de Cloro | AIS | 100 ppm por 5 | |

| | | | |
|--|---|--|--|
| | | minutos | |
| Ácido Fórmico | Desechos de pescado para ensilado | Ph 4 después de 24 hs. | Destruye bacterias patógenas de peces e AIS no IPN |
| Formalina | Patógenos de peces en locales cerrados | Liberada de sustancias formogénicas generalmente trioxymetileno. Cumple con instrucciones | Resistentes los Nodavirus |
| Peroxido de hidrógeno (agua oxigenada) | AIS virus | 0.02-0.06% | |
| Yodo | Virus y bacterias en redes, botas y ropa | 200 mg yodo/litro por unos pocos segundos | Observar las recomendaciones especiales. |
| Yodo (Iodoforos) | Manos, superficies lisas | >200 mg/litre por unos pocos segundos | |
| QUIMICOS | | | |
| Ozono | Esterilización de agua, y patógenos de peces | 0.2 a 1 mg/litro por 3 minutos | Costoso y muy toxico para peces y humanos |
| Ozono en agua de mar | Superficies y equipamiento | 0.5 -1 mg/litro ORT (Oxidante residual total) por 30 – 60 minutos | |
| Poroxy Ej. Virkon | IPN virus | 1% por un minuto | |
| Ácido peracético | AIS virus | 0.08-0.25% | |
| Hidróxido de sodio* | Patógenos de peces en superficies resistentes con grietas | Mezcla: Hidróxido de sodio 100 gr. Teepol 10 g Hidróxido de calcio 500 gr. y 10 lts de agua. Se rocía 1 lt cada 10 m2. Dejar actuar por 48 hs. | Uno de los desinfectantes más activos es el hidróxido de calcio que tiñe las superficies tratadas; Teepol es un agente tensioactivo comercial (detergente) |
| Hipoclorito de sodio* | Bacterias y virus en superficies lavables y agua | 30 mg. De Cloro disponible litro. Dejar inactivar por unos días y neutralizar con tiosulfato de sodio después de 3 hs. | |
| Hipoclorito de sodio* | Redes, botas y ropa | 200 mg. a 1 g de Cloro disponible /litro por varios | |

| | | | |
|-----------------------|-------|---|--|
| | | minutos. Dejar inactivar unos días o neutralizar con tiosulfato de sodio después de 3 horas. | |
| Hipoclorito de sodio* | Manos | Enjuagar con agua limpia o neutralizar con tiosulfato | |

* Compuestos Peligrosos (ver precauciones indicadas en las recomendaciones generales)

Las concentraciones indicadas son las correspondientes a la sustancia activa. Los químicos deben estar aprobados para el uso prescripto y ser utilizados de acuerdo a las especificaciones de los fabricantes.



ANEXOS



PROTOCOLOS DE NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRAS

PROTOCOLO MACROSCOPICO N°:

Especie:

N° de ejemplares:

Lugar de origen:

Tamaño:

Peso:

LT:

LS:

Examen externo:

Color, forma y desarrollo acorde con la edad y la especie:

Moco: (visible-aumentado)

Cavidad bucal:

Región anal:

Describir lesiones: (ulceras, verrugas, nódulos, etc.)

Extendido en fresco y fijado para examen parasitológico:

Ojos:

Extendidos en fresco y fijados para examen parasitológico:

Branquias:

Color:

Describir lesiones:

Examen parasitológico en fresco y fijado:

Parásitos macroscópicos:

Observar timo y región tiroidea:

Cavidad abdominal:

Disposición anatómica de los órganos:

Serosa peritoneal:

Contenido:

Adherencias:

Extendido en fresco y fijado para examen parasitológico:

Aparato gastrointestinal:

Tubo digestivo:

Forma:

Tamaño:

Serosa:

Contenido: (parásitos)

Extendidos en fresco y fijados para examen parasitológico:

Mucosa:

Pared:

Hígado:

Forma:

Tamaño:

Peso:

Superficie: (color)

Superficie de corte: (describir lesiones)

Vesícula biliar:

Forma:

Tamaño:

Contenido:

Extendido en fresco y fijado para examen parasitológico:

Bazo:

Forma:

Tamaño:

Peso:

Superficie: (color)

Superficie de corte: (describir lesiones)

Impronta ¹: (para examen citohematológico)

Riñón y vías urinarias:

Riñón anterior: (pronefros)

Forma:

Tamaño:

Superficie:

Superficie de corte:

Impronta: (para examen citohematológico)

Riñón posterior: (metanefros)

Superficie:

Superficie de corte:

Uréter y vejiga:

Calibre:

Trayecto:

Contenido:

Mucosa:

Pared:

Extendido en fresco y fijado para examen parasitológico:

Vejiga natatoria:

Forma:

Tamaño:

Contenido:

Mucosa:

Pared:

Extendido en fresco y fijado para examen parasitológico:

Corazón y sangre:

Forma:

Tamaño:

Peso:

Relación entre Aurícula-Ventrículo y tronco arterioso:

Cavidades:

Capacidad y contenido:

Endocardio:

Miocardio:

Extendido² de sangre para examen citohematológico:

Músculos:

Color:

Consistencia:

Parásitos macroscópicos:

Describir lesiones:

Extendido en fresco y fijado para examen parasitológico en sectores sospechosos:

Esqueleto:

Deformidades óseas:

Reblandecimiento:

Describir lesiones:

Extendido en fresco y fijado para examen parasitológico:

Sistema nervioso:

Central:

Cerebro:

Forma:

Tamaño:

Peso:

Superficie: (color)

Superficie de corte: (describir lesiones)

Médula espinal: (describir lesiones)

Nervios periféricos:

Describir lesiones:

Organos genitales:

Forma:

Tamaño:

Superficie:

Superficie de corte: (describir lesiones)

Extendido para examen en fresco y fijado parasitológico:

1: Impronta: Para hacer una impronta se debe apoyar firmemente el tejido fresco sobre un portaobjeto (lamina de vidrio), luego se retira el tejido quedando la impronta en la superficie del vidrio. Rotular, dejar secar al aire y a temperatura ambiente y colocar en la caja de portaobjetos.

En el rotulo debe decir: Número de protocolo y tejido, por ejemplo, protocolo 10, bazo.

2: Extendido de sangre: Primero se debe extraer la sangre, con una jeringa y aguja, punzando el corazón y retrayendo lentamente el embolo de la jeringa. Para hacer un extendido de sangre se

coloca una gota de esta en un portaobjeto y con otro portaobjeto se extiende en toda su superficie. Rotular, dejar secar al aire y a temperatura ambiente y colocar en la caja de portaobjetos. El resto de la sangre se coloca en un tubo de Koon se tapa con un tapón de goma y se coloca en una heladera familiar.

En el rotulo debe decir: Número de protocolo y tejido, por ejemplo, protocolo 10, sangre periférica.

COMO TOMAR MUESTRAS PARA ESTUDIAR POTENCIALES ENFERMEDADES EN PECES

Para obtener muestras para: Microscopía óptica e inmunocitoquímica:

- 1.- Anestesiarse con dosis letal de cualquier anestésico a los animales.
 - 2.- Perfundir el órgano que se desea estudiar con solución fisiológica hasta la extracción de la totalidad de la sangre.
 - 3.- Perfundir con líquido de fijador (Formol, líquido de Bouin, etc.) durante 5 minutos (ver documento fijadores).
 - 4.- Remover el órgano perfundido, cortar con una hoja de bisturí para obtener fragmentos no mayores de 1 cm² y 3 mm de espesor.
 - 5.- Colocar los fragmentos en el líquido fijador (colocar de este líquido tres veces el volumen del tejido a fijar) durante 4 horas.
 - 6.- Colocar los fragmentos en alcohol etílico al 70% diluido en agua destilada.
- Colocar en un frasco preferentemente de vidrio, cerrar bien, rotular y enviar para su estudio.

Para obtener muestras para: Microscopía electrónica:

- 1.- Anestesiarse con dosis letal de cualquier anestésico a los animales.
 - 2.- Perfundir el órgano que se desea estudiar con solución fisiológica hasta la extracción de la totalidad de la sangre.
 - 3.- Perfundir con Glutaraldehído-Buffer fosfato al 3 % pH 7,2-7,4 durante 5 minutos.
 - 4.- Remover el órgano perfundido, cortar con una hoja de bisturí para obtener fragmentos no mayores de 1 mm².
 - 5.- Colocar los fragmentos en Glutaraldehído-Buffer fosfato al 3 % pH 7,2-7,4 (colocar de este líquido tres veces el volumen del tejido a fijar) durante 24 horas.
 - 6.- Lavar en PBS durante 30 minutos haciendo tres cambios (cada 10 minutos cambiar el líquido).
 - 7.- Post-fijación con tetróxido de osmio al 1% durante 30 minutos.
- Tetróxido de osmio: 1,0 g
PBS: 100 ml.
- Nota: Los vapores de esta solución son altamente tóxicos, por lo que se recomienda utilizar estricta protección.
- 7.- Remover el tetróxido de osmio y lavar en PBS durante 30 minutos haciendo tres cambios (cada 10 minutos cambiar el líquido).
 - 8.- Enviar para su estudio en PBS.

Para obtener muestras para: Técnicas moleculares

- 1.- Anestesiarse con dosis letal de cualquier anestésico a los animales.
 - 4.- Remover el órgano (en el caso de alevinos enviar 50 animales) a estudiar cortar con una hoja de bisturí para obtener fragmentos no mayores de 1 cm² y no más 3 mm de espesor.
 - 5.- Colocar los fragmentos en alcohol etílico absoluto.
- Colocar en un frasco preferentemente, cerrar bien, rotular y enviar para su estudio.