

**Evaluación del comportamiento de
mortalidad post vacunación en
tilapia (*Oreochromis niloticus*) con relación al
tamaño de siembra y calibre de aguja
utilizado**

Martin Eduardo Vasquez Castillo

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Honduras

Noviembre, 2019

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Evaluación del comportamiento de
mortalidad post vacunación en
tilapia (*Oreochromis niloticus*) con relación al
tamaño de siembra y calibre de aguja
utilizado**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Martin Eduardo Vasquez Castillo

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2019

Evaluación del comportamiento de mortalidad post vacunación en tilapia (*Oreochromis niloticus*) con relación al tamaño de siembra y calibre de aguja utilizado

Martin Eduardo Vasquez Castillo

Resumen: La vacunación intraperitoneal en tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) es una de las rutas más efectivas para inducir protección, debido a que permite administrar una dosis idéntica y adyuvantes que permiten protección por más tiempo. En el ensayo se evaluó el efecto que tienen las agujas de vacunación con respecto a la mortalidad post-vacunación. Los tratamientos fueron agujas de 3 mm y 4 mm para peces medianos y agujas de 4 mm y 5 mm para peces grandes, el ensayo fue realizado en la empresa AquaFinca Saint Peter Fish, Cortes, Honduras. Las variables medidas fueron: los milímetros insertados (MI) dentro de la cavidad abdominal, la mortalidad post-vacunación, punto óptimo de inyección y presencia de vacuna. Las unidades experimentales iniciaron en jaulas de 15 m y luego pasaron a jaulas de 18 m, tres jaulas con aguja de 3 mm y 4 mm y tres jaulas con aguja de 4 mm y 5 mm. El análisis estadístico se realizó a través un análisis de varianza ($P \leq 0.05$) y prueba de Duncan en SAS® 2015. En peces medianos las agujas de 3 mm y 4 mm presentaron diferencia significativa 1.44 y 2.27 respectivamente, al igual en peces grandes las agujas de 4 mm y 5 mm presentaron diferencia significativa 1.63 y 2.38. En peces medianos la aguja de 4 mm es la más recomendable, y en peces grandes la aguja de 5 mm, sin embargo, los niveles de mortalidad no se ven afectados al sobrepasar más de 2.5 mm dentro de la cavidad abdominal.

Palabras clave: cavidad abdominal, engorde, jaula, milímetros insertados.

Abstract: Intraperitoneal vaccination in gray tilapia (*Oreochromis niloticus*) is one of the most effective routes to induce protection, because it allows to administer an identical dose and adjuvants that allow protection for a longer time. The trail evaluated the effect of vaccination needles in regard to the post-vaccination mortality. The treatments were 3 mm and 4 mm needles for medium sized fish and 4 mm and 5 mm needles for large fish, the trial was carried out at the company AquaFinca Saint Peter Fish, Cortes, Honduras. The measured variables were the inserted millimeters (IM) inside the abdominal cavity, post-vaccination mortality, and optimal injection point and vaccine presence. The experimental units started in cages of 15 m and then moved to 18 m cages, three cages with 3 mm and 4 mm needle and three cages with 4 mm and 5 mm needle. The statistical analysis was performed through an analysis of variance ($P \leq 0.05$) and Duncan test with SAS® 2015. In medium fish, the 3 mm and 4 mm needles showed a significant difference of 1.44 and 2.26 respectively, as in large fish, the 4 mm and 5 mm needles presented a significant difference of 1.63 and 2.38. In medium fish, the 4 mm needle is the most recommended, and in large fish the 5 mm needle, however, the mortality levels are not affected when exceedingly more than 2.5 mm inside the abdominal cavity.

Key words: abdominal cavity, weight gain, cage, inserted millimeters.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	9
4. CONCLUSIONES.....	16
5. RECOMENDACIONES.....	17
6. LITERATURA CITADA	18
7. ANEXOS	20

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros		Página
1.	Características de jaulas pre-vacunación en el lote de pre-engorde	4
2.	Características de jaulas en engorde al pasar por vacunación	4
3.	Dimensiones de malla utilizada en jaulas de engorde de Regal Springs, Honduras	5
4.	Alimentación para un índice de conversión alimenticia óptimo para pre-engorde.....	5
5.	Cantidad, frecuencia y raciones para la alimentación en pre-engorde	6
6.	Milímetros insertados (MI) en peces medianos vacunados con aguja de 3 mm y 4 mm.....	9
7.	Milímetros insertados (MI) en peces grandes vacunados con aguja de 4 mm y 5 mm.....	10
8.	Eficiencia de presencia de vacuna y punto de inyección en la cavidad abdominal en peces de talla mediana	14
9.	Eficiencia de presencia de vacuna y punto de inyección en la cavidad abdominal en peces de talla grande	15
Figuras		Página
1.	Vista aérea de la Represa Hidroeléctrica el Cajón y lote de Pre-engorde San Isidro.....	3
2.	Corte transversal para sacrificar los peces.....	8
3.	Corte longitudinal para medir la profundidad inyectada.....	8
4.	Punto de inyección óptimo en las seis jaulas de engorde de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	10
5.	Presencia de vacuna en las seis jaulas	11
6.	Gráfico de dispersión de los milímetros insertados y peso del pez, peces medianos – aguja 3 mm.....	12
7.	Gráfico de dispersión de los milímetros insertados y peso del pez, peces medianos – aguja 4 mm.....	12
8.	Gráfico de dispersión de los milímetros insertados y peso del pez, peces grandes – aguja 4 mm.....	13
9.	Gráfico de dispersión de los milímetros insertados y peso del pez, peces peces – aguja 5 mm	13
10.	Mortalidad de peces de talla mediana hasta el día 14 pos-vacunación	14
11.	Mortalidad de peces de talla grande hasta el día 14 pos-vacunación	15

Anexos	Página
1. Proceso de vacunación en el lote San Isidro	20
2. Punto de inyección optimo	20
3. Jaula de engorde con diámetro de 18 metros.....	21
4. Penetración de la aguja dentro de cavidad abdominal.....	21

1. INTRODUCCIÓN

Llevar a cabo una producción en la acuicultura que sea sostenible, requiere de mucho desempeño, ya que es un papel esencial en la seguridad alimentaria y nutricional, además, la acuicultura es de gran sustento a millones de personas. En los últimos años ha representado una proporción creciente en la producción global de alimentos de origen acuático (FAO 2019). El término acuicultura se refiere a todos los tipos de explotación tanto animales como plantas acuáticas de agua dulce o salada. La acuicultura tiene el mismo objetivo de la agricultura, la cual es definida por la FAO (2006) como “conseguir una producción controlada de bienes alimenticios para mejorar el abastecimiento del consumo”.

La tilapia es un pez teleosteo (peces con esqueleto parcial o totalmente osificado), proveniente del orden Perciforme perteneciente a la familia Cichlidae originario de África (Trewavas 1983). La tilapia habita en la mayor parte de las regiones tropicales del mundo, donde las condiciones son favorables para su crecimiento y reproducción (Saavedra Martínez 2006). Es un pez que puede ser cultivado en estanques o jaulas con facilidad, resisten condiciones ambientales diversas, tolera bajas condiciones de oxígeno, soporta altas densidades y es de rápido crecimiento (Nicovita 2010).

Aun en condiciones favorables, la enfermedad es un fenómeno propio a cualquier ser vivo y este se potencializa cuando el ser vivo es sometido en condiciones que le provocan estrés (Penagos 2009). Una producción intensiva de animales es bastante favorable que se den las condiciones para que se altere el equilibrio que hay entre ambiente-patógeno-hospedero, conduciendo a una enfermedad y mortalidad (FAO 2006). Debido a la producción acelerada se comienza a evidenciar problemas serios, uno de los principales problemas son las enfermedades, entre estas, las infecciosas representan grandes pérdidas económicas (Shoemaker y Klesius 1997; Georgiadis 2001).

El rápido crecimiento de la producción y el incremento consecuente de las enfermedades infecciosas, muchas de ellas causadas por bacterias (Shoemaker y Klesius 1997; Georgiadis 2001), causa la investigación a soluciones viables para el productor, para poder minimizar los efectos causados por las patologías, además, ofrecer al consumidor un producto limpio, disminuir las posibilidades de resistencia bacteriana (FAO 2006).

Para lograr controlar las enfermedades infecciosas, han surgido diferentes sustancias químicas y antibióticas, pero estos productos son poco deseables tanto para el productor como para el consumidor, por sus efectos colaterales como la acumulación del producto en el músculo del pez, o el desarrollo de resistencia bacteriana y contaminación de los ambientes acuáticos (Penagos 2009). Para los productores afecta bastante por el costo de implementación y el hecho de que estas sustancias se aplican en el alimento y se utilizan en peces con poco apetito, lo que conlleva a un gasto de dinero innecesario (Dixon 1994; Shao 2001).

Una de las mejores herramientas para prevenir las enfermedades es la vacunación, además de que es una gran alternativa de las sustancias químicas y antibióticas, nos asegura un producto limpio y sin efectos sobre el ambiente. Uno de los obstáculos de las vacunas es el pobre conocimiento que se tiene acerca del sistema inmune de los peces, al igual de la gran variabilidad intra e interespecífica de los mecanismos de respuesta que presenta (Shoemaker y Klesius 1997; FAO 2006).

La vacunación intraperitoneal es una de las rutas más efectivas para introducir protección; este tipo de vacunación asegura una dosis idéntica en todos los individuos e incluso permite la adición de adyuvantes que estimulan protección por más tiempo en el animal (Midtlyng 1996). Sin embargo, las dificultades para implementar, los costos, el estrés excesivo que se provoca en los peces y la poca viabilidad en peces pequeños, hacen que la inyección de vacunas se limite a ciertas especies de peces, a patógenos determinados y a sistemas de producción particulares, como es el caso de la vacunación de tilapia contra *Streptococcus* (Midtlyng 1996).

Los primeros casos de *Streptococcus* se registraron en 1957 en Japón, afectando a trucha arcoíris y desde entonces muchas otras especies se han demostrado susceptibles ante la bacteria (Hoshina et al. 1958). Clínicamente los peces afectados dejan de alimentarse y presentan nado letárgico. Macroscópicamente presentan exoftalmia, hemorragias en todo el cuerpo, pero prevalecen más en la región cefálica y caudal y el mayor problema alta mortalidad (Perera et al. 1998). En la empresa Regal Springs Honduras es una de las enfermedades que causa mayor mortalidad, siendo esta de un 25% a 30% de la producción. Sin embargo, al ser vacunada los porcentajes de mortalidad rondan de 5% a 10%.

En tilapias que son vacunadas contra *Streptococcus*, se producen grandes niveles de anticuerpos sin importar la vía de administración de la vacuna y el pico de respuesta de anticuerpos contra *Streptococcus iniae* y *Streptococcus agalactiae* se da entre los 30-65 días. Debido a esto, los experimentos de inmunización contra los desafíos bacterianos se hacen en ese periodo (Klesius et al. 2000). La empresa ha determinado un lapso de 14 días post-vacunación para el pico de respuesta de la vacuna, con lo que se tiene previsto una mortalidad por debajo del 2.5%.

Diferentes tipos de vacunas son utilizadas en la acuicultura, las cuales tienen diferentes modos de acción, ventajas y desventajas en cada una (Dadar et al. 2017). En la empresa Regal Springs se utiliza las vacunas monovalentes y bivalentes. Las vacunas monovalentes son las que contienen un solo serotipo de un microorganismo y las bivalentes presentan dos diferentes serotipos de un mismo microorganismo. La mejor formulación es una vacuna polivalente que protege a los peces de la mayoría de las enfermedades. Sin embargo, para utilizar una vacuna polivalente se deben seleccionar los serotipos de una forma adecuada para utilizar todo su potencial y lograr la inmunidad deseada en los peces (Heppell y David 2000).

- El objetivo de este estudio fue la evaluación de diferentes aspectos de la práctica de vacunación sobre la mortalidad en la etapa de engorde de tilapia gris (*Oreochromis niloticus*).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del ensayo.

El ensayo se llevó a cabo en la empresa Regal Springs Honduras, en el centro de producción El Cajón, el lote de pre-engorde San Isidro, específicamente en el área de vacunación; ubicado en el departamento de Cortes, Honduras. La superficie de embalse o espejo de agua es de 94 km². El lugar está a 260 msnm y cuenta con una precipitación entre 975 y 1200 mm por año, la época con mayor precipitación se presenta en los meses de mayo a octubre y la época de menos precipitación se presentan de diciembre hasta abril.

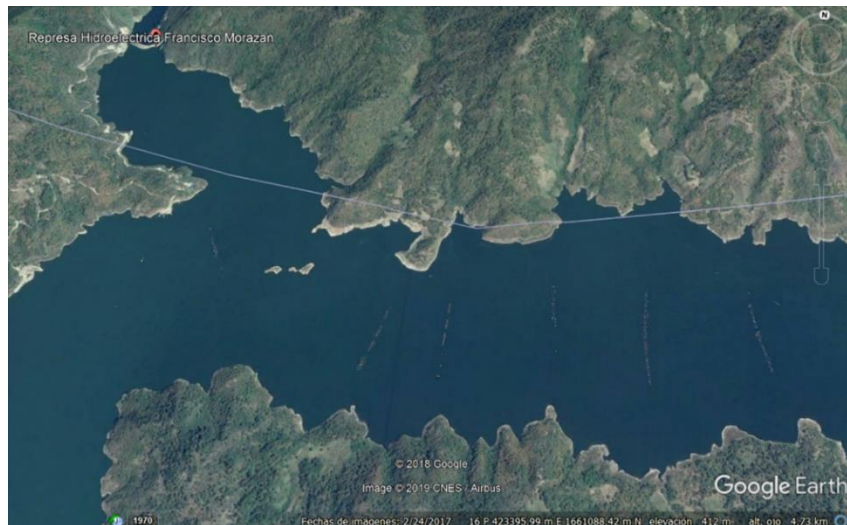


Figura1. Vista aérea de la represa Hidroeléctrica El Cajón y lote de Pre-engorde San Isidro. Fuente: Google Earth 2017

Equipo.

El equipo utilizado es el que tradicionalmente se utiliza en el área de vacunación de Regal Springs: redes para la captura de peces en las jaulas, clasificadora de peces Pentair VAKI de grado circular, anestesia Dolical 80% (Tricaina metanosulfonato 80%) e inyectoras Kaycee Twin Dose.

Las vacunas suministradas fueron: AquaVac[®] Strep Sa, emulsión acuosa que contiene células inactivadas de *Streptococcus agalactiae* Ib y Alpha Ject micro[®] 1 Tila, emulsión oleosa que contiene células inactivadas *Streptococcus agalactiae* Ib. Para revisar la penetración de la aguja dentro de la cavidad intraperitoneal se utilizaron tijeras de disección estilo punta curva, marca Metzenbaum-Nelson, un calibrador digital vernier Stanley 78440, una balanza digital marca A&D SJ-2000HS con capacidad de 2000 g y agujas de 3 mm, 4 mm y 5 mm.

Unidades experimentales.

Los peces que se utilizaron en el ensayo fueron tilapia gris (*Oreochromis niloticus*), producidos en Regal Springs, Honduras. Un promedio de 100,000 peces fue sembrado por jaula (426,113 peces en total), con un peso promedio de 3 g por pez y una biomasa total promedio de 300 kg. Cuando los peces obtuvieron 29 g de peso promedio aproximadamente en 40 días, fueron clasificados, vacunados y trasladados al lote de engorde con el fin de observar la mortalidad post vacuna en 14 días. El Cuadro 1 presenta los parámetros productivos de la pre-vacunación y el Cuadro 2 presenta los parámetros productivos de jaulas al pasar por la vacunación.

Cuadro 1. Características de jaulas pre-vacunación en el lote de pre-engorde.

Jaula	# Peces	Días*	Peso (g)	Biomasa (kg)	ICA	Mortalidad %
224	91,840	32	23.38	2147.39	0.94	8.28
219	91,804	36	24.57	2255.39	0.96	8.26
232	98,659	47	34.24	3378.17	0.94	1.74
233	123,522	43	32.84	4056.08	0.94	1.57
209	122,824	49	33.17	4073.61	0.94	2.09
210	122,406	49	33.10	4051.45	0.94	2.64

Días*: desde la siembra hasta un día antes de vacunación.

ICA: Índice de Conversión Alimenticia.

Cuadro 2. Características de jaulas en engorde al pasar por vacunación.

Jaula	Tamaño de Siembra	# Peces	Peso (g)	Biomasa (kg)
446	Mediano	75,432	24	1810.4
474	Mediano	58,220	32	1863.1
003	Mediano	57,750	32	1848.0
447	Grande	75,633	40	3025.3
475	Grande	58,270	52	3030.1
002	Grande	57,750	53	3060.7

Jaulas.

Los peces empezaron en seis jaulas de 15 m de diámetro, al ser clasificados y vacunados pasaron al lote de engorde a jaulas de 18 m de diámetro y seis metros de profundidad, con capacidad de albergar 75,000 peces a una densidad de 54 peces por metro cubico y capacidad de 1380 m³ de agua. Las jaulas flotantes son estructuras circulares de plástico High Density Polyethylene (HDPE) de 25.4 cm, sujetas por un cable de acero. Las jaulas cuentan con cuatro tipos de malla: malla externa, interna, malla sombra y malla anti pájaro, en el Cuadro 3 se pueden observar las dimensiones de las mallas. Un mes después las mallas externas e internas fueron cambiadas a una sola malla luz de 5.08 cm.

Las jaulas de engorde también cuentan con un aireador mecánico de paleta que son activados cuando los niveles de oxígeno son inferiores a 3 ppm, los aireadores eran

encendidos de forma manual; las paletas salpican agua hacia el aire esto permite que haya más contacto del agua con el aire, también las burbujas que se crean dentro del agua aumentan el área de contacto y con esto los niveles de oxígeno en el agua son elevados (Paz 2014).

Cuadro 3. Dimensiones de malla utilizada en jaulas de engorde de Regal Springs, Honduras.

Diámetro (m)	Malla Interna (cm)	Malla Externa (cm)	Malla Sombra (%)	Malla Anti-pájaro (cm)
15	1.27	2.54	50%	6.35 & 10.16
18	4.45	5.72	50%	6.35 & 10.16

Alimento.

El alimento suministrado a los peces de pre-engorde fue Aquafeed (AF) 40/10 ST (2 mm). La alimentación es una de las mayores bases del cultivo, ya que representa más de un 50% de los costos variables de producción (Paz 2014). Debido a que la tilapia es una especie que tiene ya definidos sus requerimientos nutricionales, el alimento suministrado se ajusta perfectamente a sus necesidades. En cuanto a la cantidad de alimento la empresa utiliza el indicador tasa de alimentación específica o specific feeding rate (SFR), el cual nos aporta la cantidad de alimento diaria que se debe suministrar según la biomasa de la jaula según el peso del pez (Cuadro 4). En la estrategia de alimentación se utilizan parámetros de cantidad, frecuencia y raciones (Cuadro 5). Para los tiempos diarios de alimentación, estos se dividieron en seis raciones, empezando a las 9:00 a.m. y terminando a las 2:00 p.m.

Cuadro 4. Alimentación para un índice de conversión alimenticia óptimo para pre-engorde.

Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	SGR (%)	SFR (%)	ICA	Mortalidad (%)	GDP
1	3	7.71	6.50	0.84	1.47	
3	14	6.94	5.36	0.77	0.16	0.48
14	44	4.77	3.52	0.74	0.36	1.20
44	99	3.63	3.36	0.93	0.12	2.49
100	199	2.95	3.20	1.09	0.15	4.35

Fuente: Aquafinca 2019.

SGR: Specific Growth Rate/ Tasa de Crecimiento Específico

SFR: Specific Feeding Rate/ Tasa de Alimentación Específica

ICA: Índice de Conversión Alimenticia

GDP: Ganancia Diaria de Peso

Donde:

Tasa de Crecimiento Específico (SGR): porcentaje diario de crecimiento con base en cantidad de alimento suministrado, calculado por la fórmula 1:

$$SGR = SFR/FCR \quad [1]$$

Tasa de Alimentación Específica (SFR): porcentaje de alimento suministrado por día al pez de acuerdo con su peso, calculado por la fórmula 2:

$$SFR = SGR \times FCR \quad [2]$$

Índice de Conversión Alimenticia (ICA): proporción de alimento suministrado y biomasa cosechada, calculado por la fórmula 3:

$$FCR = \text{Alimento suministrado} / \text{biomasa} \quad [3]$$

Mortalidad (Mort): mortalidad expresada en porcentaje del total de peces en la jaula.

Ganancia Diaria de Peso (GDP): el dato se obtiene por la fórmula 4:

$$GDP = (\text{Peso promedio final} - \text{peso promedio inicial}) / \text{días de prueba} \quad [4]$$

Cuadro 5. Cantidad, frecuencia y raciones para la alimentación en pre-engorde.

Alimento/día (kg)	Tiempo Alimentación	# Raciones	Alimento/ración (kg)
22.68	50 minutos	6	3.78
45.36	50 minutos	6	7.56
68.04	50 minutos	6	11.34
90.72	50 minutos	6	15.12
113.40	50 minutos	6	18.90
136.08	50 minutos	6	22.68
158.76	50 minutos	6	26.46
181.44	50 minutos	6	30.24

Fuente: Aquafinca 2019.

Vacunación.

El proceso en el área de vacunación y clasificación cuenta con: bomba de succión, que dirige los peces de la jaula origen a la clasificadora, la cual en su parte superior tiene un clasificador que es el que separa los peces por tamaño, para que luego pasen a un tanque de anestesia. El tanque contiene Dolical 80% que tiene como ingrediente activo la tricainametilsulfonato 80%. Se utiliza de 120 a 150 mg/litro de agua y según Vera y Aguirre (2015), los peces no deben permanecer más de 50-70 segundos en el tanque. El tanque mantiene sus niveles de oxígeno con la ayuda de una rejilla circulatoria que es la que envía los peces a la mesa de vacunación. Posteriormente, una vez en la mesa de vacunación, la

cual tiene capacidad para 2,000 peces, estos no deben de permanecer por más de tres minutos porque pierden el efecto de la anestesia y al momento de inyectar se pueden lastimar. Al ser vacunados, pasan por un microcounter marca VAKI y modelo micro & macro, que digita el número de peces de las tres tallas, medianos, grandes y descarte. El proceso de vacunación se detalla en el Anexo 12.

La clasificadora de peces divide los peces en tres grupos: pequeños y descartes (8-12 g), medianos (15-30 g) y grandes (30-50 g). Los medianos se inyectan con aguja de 4 mm y 3 mm, según su tamaño y los grandes se inyectan con aguja de 5 mm y 4 mm, según su tamaño. Los pequeños, enfermos o deformes son considerados como descarte y van a la planta de harina. Se considera como descarte al pez que pesa menos de 15 g, porque la aguja daña sus órganos si son inyectados. Los enfermos son descartados para reducir costos. Los peces vacunados cumplen 24 horas en ayuno pre-vacunación debido a que su sistema digestivo debe de estar limpio para no dañar los intestinos, y 24 horas post-vacunación por el estrés que se causa en la vacunación.

El punto óptimo de inyección es en la zona ventral (tercio medio de la región ventral), en medio de las aletas pélvicas, a un ángulo de 90°. El Anexo 13 muestra el punto óptimo de vacunación y se debe asegurar que la totalidad de la vacuna quede dentro de la cavidad abdominal y que no sea intramuscular. Para verificar el punto óptimo de inyección se revisan 25 peces por jaula, el cual debe de tener una eficiencia arriba del 90%. Esta revisión asegura la eficiencia de las vacunadoras. Como medida de control se sacrifican 10 o 20 peces por jaula y se revisan en el interior si contienen la vacuna y una buena proporción de ella. La eficiencia de la presencia de vacuna debe de ser mayor al 95%.

Tamaño del bisel de aguja en milímetros (mm) y medición cavidad abdominal.

Para realizar la práctica se tomó una muestra de 50 peces por jaula, del área de vacunación recién vacunados y clasificados. Las jaulas muestreadas fueron las descritas anteriormente en el Cuadro 1, que son las jaulas destino para el lote de engorde. Cada pez se pesó en la balanza digital, marca A&D Weighing y modelo SJ-2000HS, y se realizaron dos cortes: La Figura 2 muestra el corte transversal realizado para esta revisión. La Figura 3 muestra el corte longitudinal, el cual permite observar la trayectoria de la aguja dentro de la cavidad abdominal. Posteriormente, se insertaron las agujas 3 mm y 4 mm para los peces medianos, y las agujas 4 mm y 5 mm para los peces grandes. Al insertar cada aguja se medía la

profundidad insertada en la cavidad abdominal con el calibrador digital marca Stanley y modelo digital caliper 78440. Al terminar los 50 peces, se llevó el conteo de mortalidad en porcentaje de las jaulas hasta los 14 días post-vacunación en la etapa de engorde, para observar la respuesta a la vacuna y comprobar que las agujas utilizadas fueron las correctas.

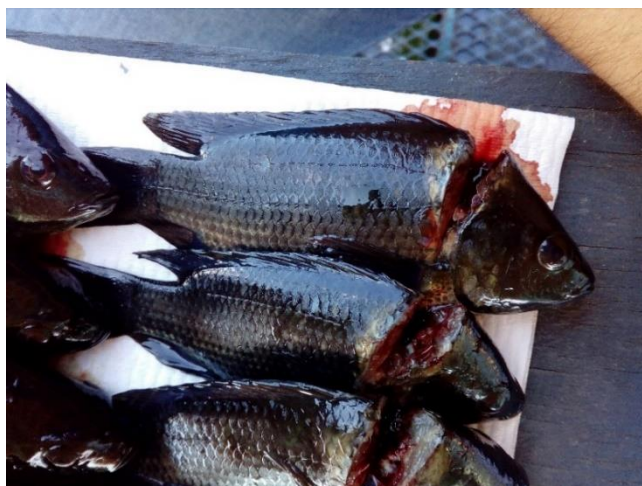


Figura 2. Corte transversal para sacrificar los peces.

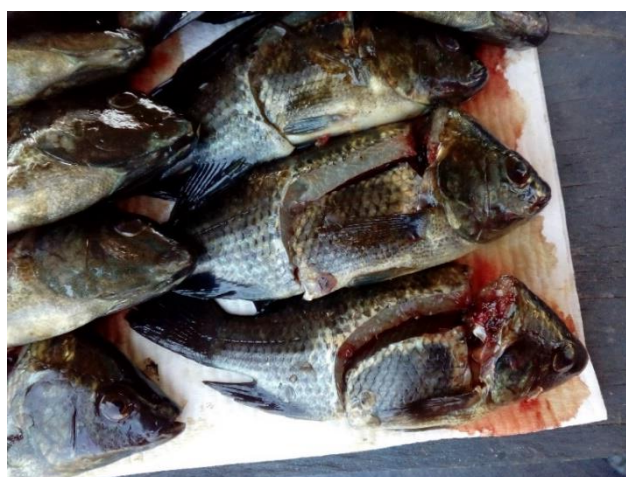


Figura 3. Corte longitudinal para medir la profundidad inyectada.

Diseño experimental y análisis estadístico.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) y los resultados fueron analizados usando un análisis de varianza (ANOVA), con cuatro tratamientos (dos/jaula) y tres repeticiones, y el método de comparación de medias de Duncan en los milímetros insertados (MI). Se utilizó el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS[®] 9.4) con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$. Se utilizaron graficas de dispersión para relacionar los milímetros insertados de cada aguja con el peso individual de cada pez. Para esto se utilizó el programa estadístico MINITAB Statistical Software versión 2017. Las hipótesis para el ANOVA fueron: H_0 = no se debe de sobrepasar más de 2.5 mm de la aguja dentro de la cavidad abdominal, con esto se evita elevar la mortalidad y H_a = la mortalidad no se verá afectada si se pasan más de 2.5 mm en la cavidad abdominal.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Milímetros inyectados en peces inyectados con agujas de 3 mm y 4 mm.

Los peces que fueron inyectados con aguja de 3 mm presentaron diferencia ($P \leq 0.05$) con respecto a los peces que fueron inyectados con aguja de 4 mm (1.4440 y 2.2720, respectivamente) (Cuadro 6). Según el manual de vacunación de PHARMAQ (2015), se debe de hacer monitoreo de presencia de vacuna cuatro veces por jaula, en caso de no encontrar vacuna se debe de aumentar el tamaño de aguja. Según Cericato (2018), la aguja utilizada para la vacunación es apropiada para el proceso y no lastima al pez; estas herramientas veterinarias, además de asegurar el bienestar y salud animal, proporcionan seguridad alimentaria del producto final.

Cuadro 6. Milímetros insertados (MI) en peces medianos vacunados con aguja de 3 mm y 4 mm.

Tratamiento	MI
Aguja 3 mm	1.4440 ^a
Aguja 4 mm	2.2720 ^b
Probabilidad	0.0001

Peces inyectados con agujas de 4 mm y 5 mm.

Los peces que fueron inyectados con aguja de 4 mm presentaron diferencia ($P \leq 0.05$) con respecto a los peces que fueron inyectados con aguja de 5 mm (Cuadro 7). Según el manual de vacunación de PHARMAQ (2017), la temperatura de la vacuna tiene efecto en el calibre de aguja, cuando la vacuna tiene temperaturas bajas se debe de aumentar el tamaño de la aguja, debido a que la vacuna estará más viscosa y aumentar el tamaño de aguja facilitará el proceso.

El método de vacunación por inyección es uno de los mejores métodos en comparación con la inmersión en baño y administración oral. La vacunación por inyección provee un periodo de protección más largo y un alto nivel de protección, esto se debe a que en la administración oral la vacuna podría ser degradada por los procesos digestivos y en la inmersión en baño no se asegura que el cuerpo del pez absorba todos los fluidos para la protección (Smith 1995).

Cuadro 7. Milímetros insertados (MI) en peces grandes vacunados con aguja de 4 mm y 5 mm.

Tratamiento	MI
Aguja 4mm	1.6362 ^a
Aguja 5mm	2.3833 ^b
Probabilidad	0.0001

Punto óptimo de inyección.

Las seis jaulas muestreadas tuvieron una buena eficiencia de vacuna; solamente en una jaula de peces grandes (jaula 475), se encontró una menor eficiencia, ya que se encontraron dos peces con un punto hemorrágico (Figura 4). En la mayoría de los casos la eficiencia de la vacuna se reduce por un punto de inyección lateral o hemorrágica. Estas inyecciones laterales o hemorrágicas normalmente se dan por la rapidez con la que las vacunadoras trabajan o al movimiento de los peces cuando no tiene la dosis de anestesia correcta; es muy difícil encontrar un punto de inyección caudal o craneal.

Cuando ocurre una desviación en el punto óptimo de inyección la vacuna no flota libremente dentro de la cavidad abdominal, esto puede ser a que el ángulo de inyección no fue el óptimo o la profundidad de la aguja no fue correcta. Según la regulación noruega de la gestión de la acuicultura, la desviación del punto óptimo de inyección no debe ser mayor al 0.1% (Kollevaag 2006).

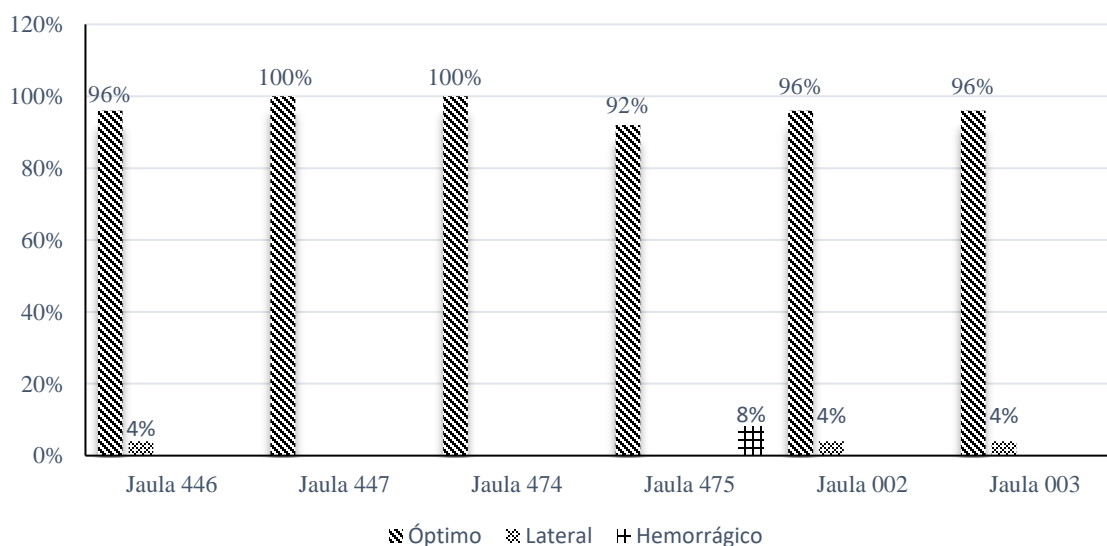


Figura 4. Punto de inyección óptimo en las seis jaulas de engorde de tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Presencia de vacuna.

La presencia de vacuna en las seis jaulas muestreadas tuvo un buen porcentaje (>95%). Uno de los factores que más afecta la presencia de vacuna es una falla técnica de las inyectoras, debido a que en las mangueras se crea un vacío de aire, lo que impide que la vacuna llegue en su totalidad a la inyectora. En salmones vacunados la presencia de vacuna a los 30 días post vacunación se logra observar un cambio de pigmentación en la cavidad abdominal, además de restos de vacuna no absorbidos (Leal 2013). En tilapia no ocurre un cambio en la coloración de la cavidad abdominal. Las vacunas se encapsulan y se pueden lograr ver hasta los 50 días post vacunación (información proporcionada por Yojana Ordoñez, Veterinaria de la empresa Regal Springs Honduras).

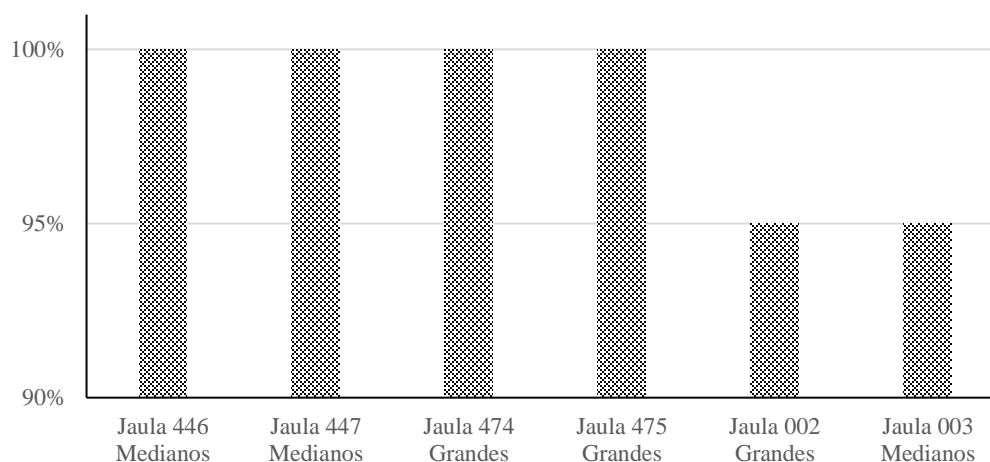


Figura 5. Presencia de vacuna en las seis jaulas.

Peces Medianos.

Las tres jaulas con peces de talla medianos fueron vacunadas con aguja de 3 mm y 4 mm. Con aguja de 3 mm se observó predominancia de profundidad entre 1.2 mm y 1.7 mm con pesos 15 y 30 g de peso. Ninguna muestra sobrepasa los 2.5 mm (Figura 6). Con aguja de 4 mm se observaron muestras entre 2 mm y 2.5 mm en peces de 20 a 30 g de peso, 28 de las muestras sobrepasan los 2.5 mm y el resto de las muestras por debajo de 1.5 mm (Figura 7).

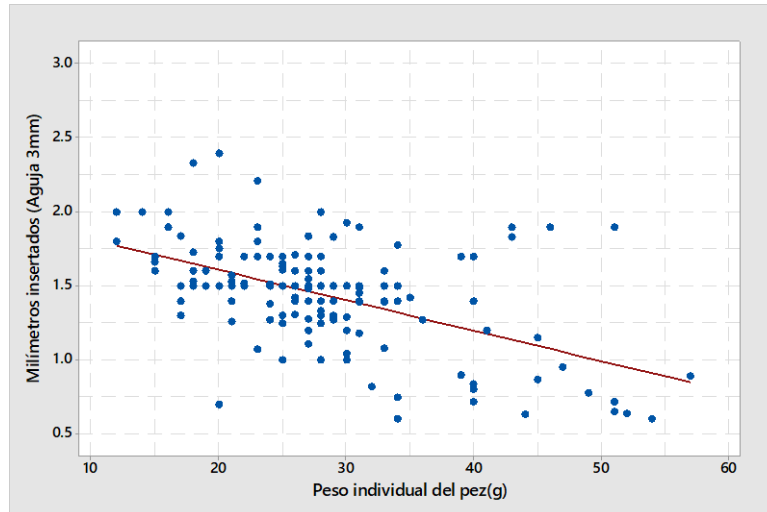


Figura 6. Gráfico de dispersión de los milímetros insertados y peso del pez, peces medianos – aguja 3 mm.

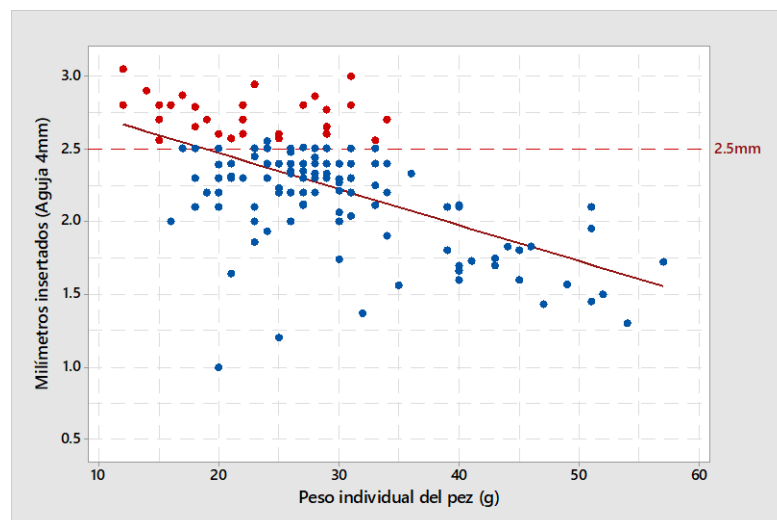


Figura 7. Gráfico de dispersión de los milímetros insertados y peso del pez, peces medianos – aguja 4 mm.

Peces Grandes.

Las tres jaulas con peces de talla grande fueron vacunadas con aguja de 4 mm y 5 mm. Con aguja de 4 mm se observó predominancia de profundidad entre 1.5 mm y 2.2 mm con pesos 30 y 50 g de peso. Solo 1 muestra sobrepasa los 2.5 mm (Figura 8). Con aguja de 5 mm las muestras mostraron profundidades entre 1.7 mm y 2.5 mm en pesos de 40 a 60 g de peso, 38 de las muestras sobrepasan los 2.5 mm y dos están por debajo de 1.5 mm (Figura 9).

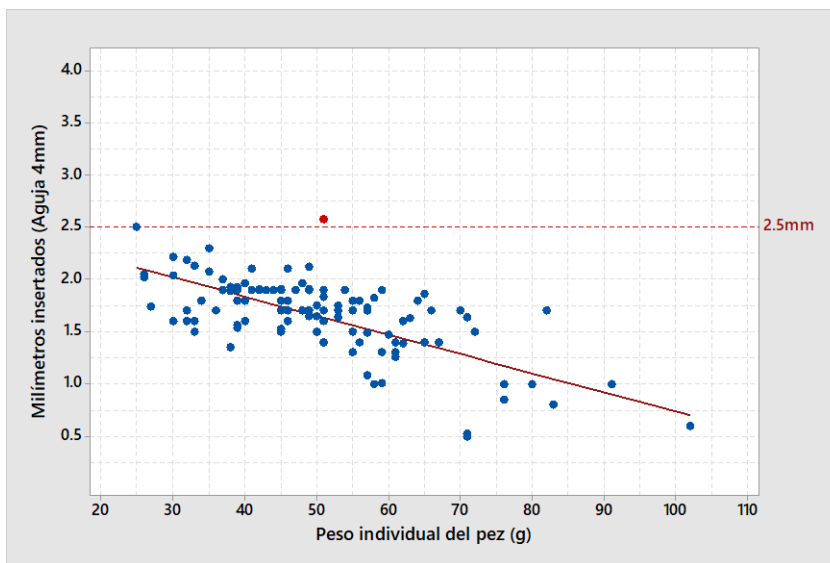


Figura 8. Gráfico de dispersión de los milímetros insertados y peso del pez, peces grandes – aguja 4 mm.

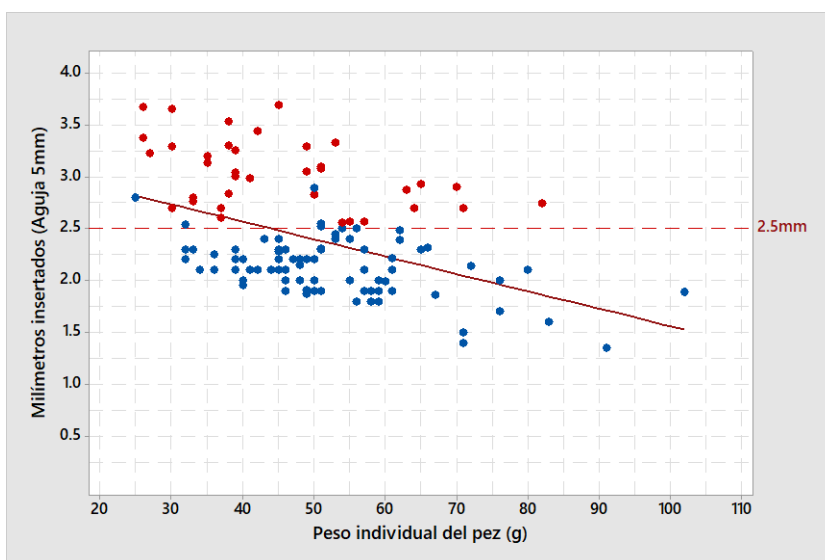


Figura 9. Gráfico de dispersión de los milímetros insertados y peso del pez, peces grandes – aguja 5 mm.

Mortalidad Post-vacunación 14 días.

Debido a que el pico de respuestas en tilapias vacunadas se da entre los 30-65 días y se toman 14 días de evaluación, la mortalidad hasta el día 14 es de suma importancia para saber cómo actúa la vacuna en la tilapia (Klesius et al. 2000). El estrés causado en el proceso de vacunación eleva los niveles de mortalidad a picos altos en los primeros días, como se muestra en la Figura 10. Por otra parte, hay diferentes factores que influyen en la mortalidad post vacunación de los peces, como ser un mal tratamiento al momento de aplicar la vacuna.

El Cuadro 8 muestra la incidencia del punto de inyección óptimo en el cual al menos uno de cada 25 peces tuvo un punto de inyección lateral, el cual indica que quedó intramuscular o la aguja dañó algunos órganos.

En la Figura 10, se logra observar el pico de mortalidad al día tres pos-vacunación, el cual se le puede atribuir por todo el estrés que se causa en el proceso, desde la succión hasta el momento en el que caen en sus nuevas jaulas. El estrés traumático que sufren los peces hace que estén expuestos a bacterias por medio de las lesiones causadas en algunos casos (Auró de Ocampo 1999).

Cuadro 8. Eficiencia de presencia de vacuna y punto de inyección en la cavidad abdominal en peces de talla mediana.

Jaulas	# Peces	Peso (g)	Presencia de vacuna		Punto de inyección	
			SI	NO	Óptimo	Lateral
446	75,432	24	20	0	96%	4%
474	58,220	32	20	0	100%	0%
003	57,750	32	19	1	96%	4%

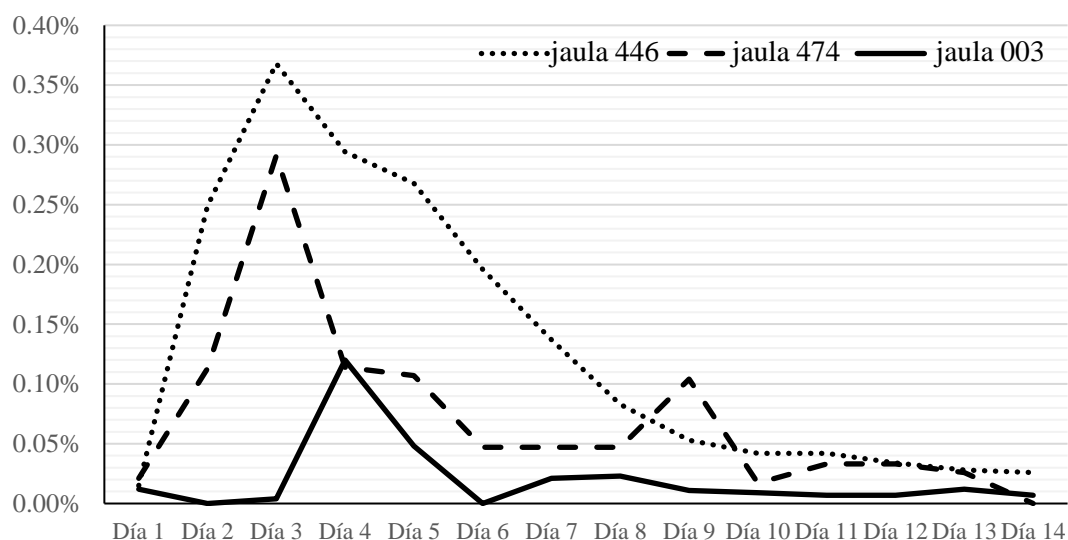


Figura 10. Mortalidad de los peces de talla mediana hasta el día 14 pos-vacunación.

Según Pulido (2014), la enfermedad más importante en la etapa de engorde es la estreptococosis, una vez en la población es difícil de erradicar debido a que la enfermedad se mantiene de manera subclínica a través de peces que se comportan como portadores de la bacteria. En peces de talla grande se observa que la mortalidad no tiende a obtener picos altos en sus primeros días post vacunación (Figura 11).

En peces grandes (jaula 475), dos de cada 25 peces se mostraron hemorrágicos (Cuadro 9), indicando que la aguja dañó alguno de sus órganos provocando a estos peces una mortalidad temprana (a los siete días). El pico de mortalidad observado en la Figura 12, se le puede atribuir al punto de inyección, sumado con otros factores importantes.

Al tener una presencia de vacuna y punto de inyección excelente, la mortalidad se debe a un estrés social. El estrés social es normal en poblaciones combinadas, en los cuales el pez lucha por espacio, alimento, y otros factores que afectan su rendimiento (Summers et al. 2005). La mortalidad en las jaulas grandes tuvo un comportamiento casi similar con las jaulas de talla mediana hasta el día 14, lo que nos indica que hubo un buen manejo del estrés por parte del equipo de vacunación.

Cuadro 9. Eficiencia de presencia de vacuna y punto de inyección en la cavidad abdominal en peces de talla grande.

Jaulas	# Peces	Peso (g)	Presencia de vacuna		Punto de inyección		
			Si	No	Óptimo	Lateral	Hemorrágico
447	75,633	40	100%	0%	100%	--	--
475	58,270	52	20%	0%	92%	--	8%
002	57,750	53	95%	5%	96%	4%	--

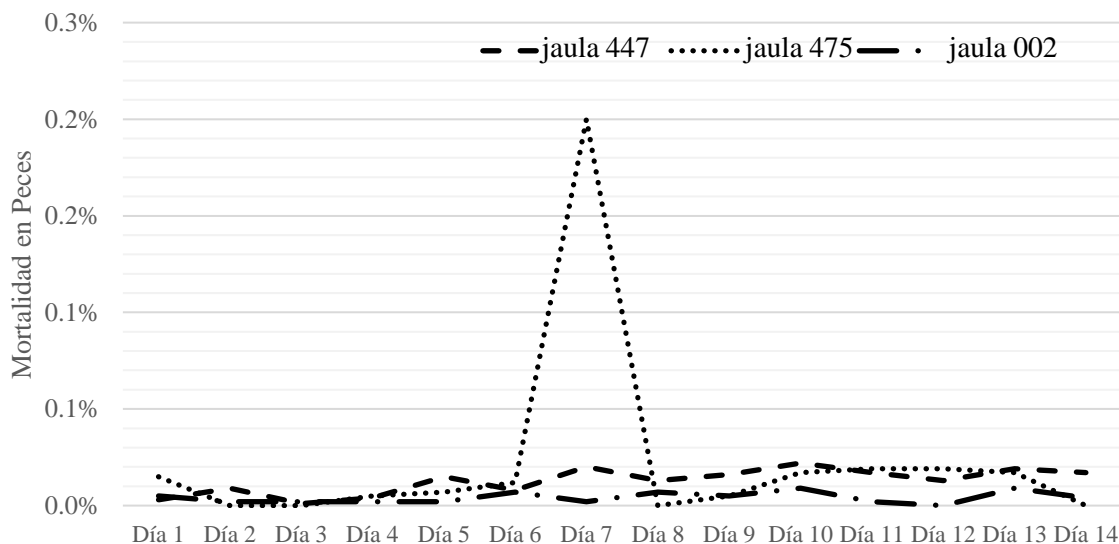


Figura 11. Mortalidad de los peces de talla grandes hasta el día 14 pos-vacunación.

4. CONCLUSIONES

- En peces medianos de 15 a 35 g con aguja de 4 mm la mortalidad no aumenta más de 3.5% de la población de la jaula al sobrepasar la profundidad de la aguja más de 2.5 mm dentro de la cavidad abdominal.
- En peces grandes de 35 a 55 g con aguja de 5 mm la mortalidad no aumenta si la profundidad de la aguja sobrepasa los 2.5 mm dentro de la cavidad abdominal.
- Las agujas pueden llegar a una profundidad de 2.5 mm dentro de la cavidad abdominal del pez y la mortalidad no aumentará del 2.5% de la población.
- Los picos de mortalidad más altos se dan desde el día tres al día siete, por lo que el manejo en esos días debe de ser crítico para la sobrevivencia de los peces.

5. RECOMENDACIONES

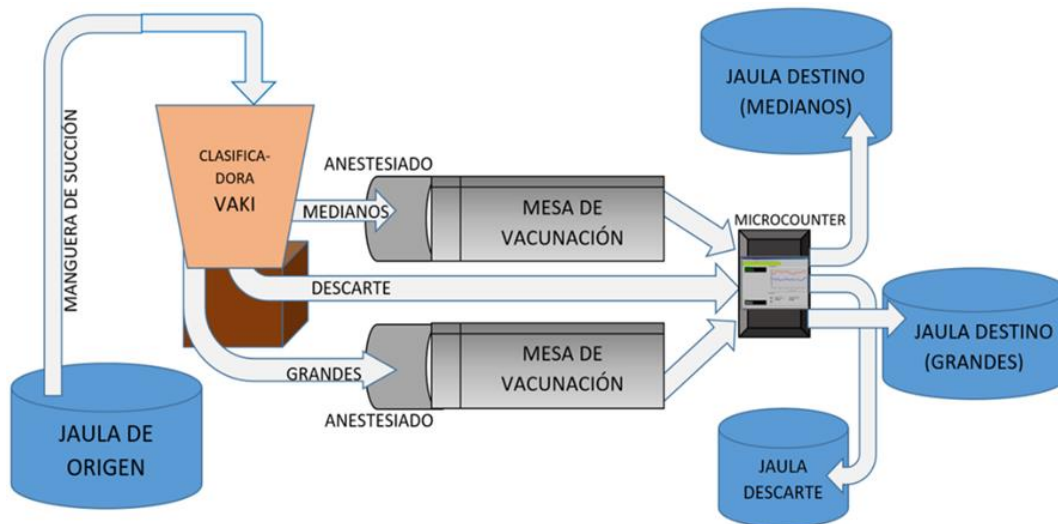
- Utilizar la aguja de 4 mm en los peces por encima de 30 g.
- Utilizar la aguja de 5 mm en los peces por encima de 50 g.
- Realizar pruebas del punto de inyección óptimo para verificar si causa un cambio en la mortalidad o en la presencia de vacuna.
- Calcular el peso promedio de un pez para tener con más claridad que aguja utilizar.

6. LITERATURA CITADA

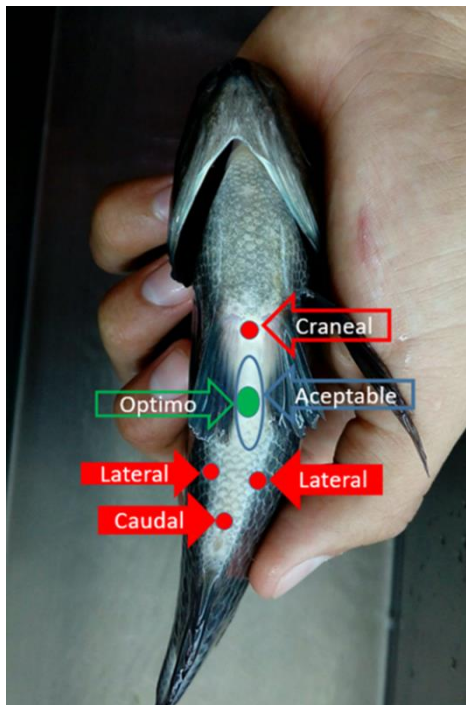
- Auró de Ocampo A, Ocampo Camberos L. 1999. Diagnóstico del estrés en peces. *Veterinaria México*, 30(4): 337-344.
- Dadar M, Dhama K, Vakharia VN, Hoseinifar SH, Karthik K, Tiwari, R, Joshi SK. 2017. Advances in aquaculture vaccines against fish pathogens: global status and current trends. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(3): 184-217.
- Dixon B. 1994. Antibiotic Resistance of Bacterial Fish Pathogens. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25(1): 60-63.
- FAO. 2006. State of world Aquaculture: Fisheries Technical Paper No. 500. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura; [consultado 2019 feb 15]. <http://www.fao.org/3/a0874e/a0874e00.htm>
- FAO. 2019. Desarrollo de la acuicultura. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura; [consultado 2019 mar 13]. <http://www.fao.org/aquaculture/es/>
- Georgiadis MPG. 2001. The role of epidemiology in the prevention, diagnosis, and control of infectious diseases of fish. *Preventive Veterinary Medicine*, 48(4): 287-302.
- Hoshina T, Sano T, Morimoto YA. 1958. *Streptococcus* pathogenic to fish. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, 44: 57-68.
- Klesius P, Shoemaker A, Evans J. 2000. Efficacy of single and combined *Streptococcus iniae* isolate vaccine administered by intraperitoneal and intramuscular routes in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 188 (3-4): 237-246.
- Kollevaag A. 2006. Vaccination of Salmon - Where is the correct injection point? *The Fish Site*; [consultado 2019 jul 3]. <https://thefishsite.com/articles>
- Leal J. 2003. Estudio de seguridad de dos vacunas bivalentes inyectables para la prevención de la necrosis pancreática infecciosa (IPN) y de la Piscirickettsiosis (SRS) en salmones del atlántico (*Salmo salar*) [Tesis]. Universidad Austral de Chile, Valdivia. 48 p.
- Midtlyng P. 1996. A field study on intraperitoneal vaccination of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) against furunculosis. *Fish & Shellfish Immunology*, 6(8): 553-565.
- Nicovita. 2010. Manual de Crianza de Tilapia. Alicorp, Perú. 49 p.
- Paz P. 2014. Aireación Mecánica. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano.

- Penagos G, Barato P, Iregui C. 2009. Immune System and Vaccination in Fish. *Acta Biológica Colombiana* 14(1): 3-26.
- Perera RP, Fiske RA, Johnson K. 1998. Histopathology of Hybrid Tilapias Infected with a Biotype of *Streptococcus iniae*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 10(3): 294-299
- PHARMAQ. 2015. Manual de vacunación. Zona industrial arbolada, Noruega [consultado 2019 mar 15]. www.pharmaq.no
- PHARMAQ. 2017. Manual de vacunación. Anibal Pinto # 200, oficina 61, Puerto Montt, Chile [consultado 2019 abr 23]. www.pharmaq.no
- Pulido E. 2014. Principales Causas De Mortalidad En Cultivos Intensivos y Super Intensivos De Tilapia. *Revistas Academicas-Universidad De Nariño*, 1-8.
- Saavedra Martinez MA. 2006. Manejo del cultivo de tilapia. University of Rhode Island. <https://www.crc.uri.edu/download/MANEJO-DEL-CULTIVO-DE-TILAPIA-CIDEA.pdf>
- Shao ZJ. 2001. Aquaculture pharmaceuticals and biologicals: current perspective and future possibilities. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50(3): 229-243.
- Shoemaker C, Klesius P. 1997. Streptococcal diseases problems and control: A review. in Fitzsimmons K, editor. *Tilapia Aquaculture*, vol. 2. Ithaca, NY. Northeast Regional Agricultural Engineering Service. 671-682.
- Trewavas E. Tilapiine fishes of the Genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. *British Museum (Natural History)*, London.
- Vera M, Aguirre M. 2015. Aspectos prácticos a considerar en vacunaciones IP de Tilapia. PHARMAQ.
- Cericato L. 2018. Aquavac Strep SA, La primera vacuna para tilapia que MSD Salud Animal trajo al país. *La Republica: Agronegocios*, Bogotá, Colombia, julio, 25: 2.
- Heppell J, Davis HL. 2000. Application of DNA vaccine technology to aquaculture. *Advanced Drug Delivery Reviews*; 43(1): 29-43.
- Smith P. 1995. Vacunación en acuicultura. *TecnoVet 3* [internet]. Chile: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias; [consultado 2019 feb 21]. http://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9712%2526ISID%253D429,00.html

7. ANEXOS



Anexo 1. Proceso de vacunación en el lote San Isidro



Anexo 2. Punto de inyección optimo



Anexo 3. Jaula de engorde con diámetro de 18 metros



Anexo 4. Penetración de la aguja dentro de la cavidad abdominal