



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD  
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD  
HUMANA**

**TESIS DOCTORAL**

**Evaluación del perfil parasitario con potencial zoonótico en canales de  
Tilapia (*Oreochromis spp.*) en el estado de Hidalgo, como base para el  
diseño de un vehículo de compuestos antiparasitarios como mecanismo de  
control**

Para obtener el grado de  
Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana

PRESENTA

M. en C. Víctor Johan Osvaldo Acosta Pérez

Director

Dr. Fabián Ricardo Gómez de Anda

Codirector

Dr. Vicente Vega Sánchez

Tulancingo de Bravo, Hgo., México., agosto de 2023



ICSa-DCASH-agosto 2023  
Asunto: Autorización de impresión

**Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado**  
**Directora de Administración Escolar**

Por este medio se informa que el comité tutorial asignado al M. en C. Víctor Johan Osvaldo Acosta Pérez con número de cuenta 197600, estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana ha terminado el trabajo de tesis titulado "Evaluación del perfil parasitario con potencial zoonótico en canales de Tilapia (*Oreochromis* spp.) en el estado de Hidalgo, como base para el diseño de un vehículo de compuestos antiparasitarios como mecanismo de control", y por lo tanto se autoriza la impresión del documento en extenso propuesto por el/la estudiante después de haber sido revisado, analizado y evaluado de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 73, VI del Reglamento General de Estudios de Posgrado.

Lo anterior, en función de que, el/la estudiante realizó todas las correcciones, adiciones y/o modificaciones sugeridas por el comité en la revisión previa con fecha 14 de agosto 2023.

Por tal motivo, solicitamos a usted tenga a bien permitir al doctorando dar continuidad al proceso necesario que conlleve a la obtención del grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana.

DR. FABIÁN RICARDO GÓMEZ DE ANDA  
Director de tesis

DR. VICENTE VEGA SÁNCHEZ

DR. TOMÁS EDUARDO FERNÁNDEZ MARTÍNEZ

DR. JAVIER ANORVE MORGA

ATENTAMENTE

Pachuca, Hidalgo, 14 de agosto del 2023

"Amor, Orden y Progreso"

Dra. Rebeca Ma. Elena Guzmán Saldaña  
Directora del Instituto de Ciencias de la Salud  
Dean

Dra. Lydia López Pontigo  
Coordinadora de Posgrado del ICSa  
Director of Graduate Studies of ICSa

Dra. Guadalupe López Rodríguez  
Jefa del Área Académica de Nutrición  
Chair of Academic Area of Nutrition

Dra. Teresita de Jesús Saucedo Molina  
Representante del Programa Educativo ICSa  
Director of Graduate Studies



## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por la beca otorgada para cursar el programa de Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana y a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por todas las facilidades otorgadas en la formación doctoral de un servidor.

Al Instituto de Ciencias de la Salud por el desarrollo y mantenimiento del programa de Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana (DCASH), a la Dra. Esther Ramírez Moreno por su dedicación y atención para el ingreso al programa DCASH y a la Dra. Teresita Saucedo Molina como actual coordinadora del programa en comento.

Al Instituto de Ciencias Agropecuarias y los docentes que coadyuvaron en el desarrollo del presente trabajo de investigación desde diferentes vertientes: Dr. Juan Carlos Ángeles Hernández, Dr. Jesús Armando Salinas Martínez, Dra. Nydia Edith Reyes Rodríguez, Dr. Víctor Manuel Martínez Juárez.

Al comité tutorial encargado de la revisión de este trabajo de investigación conformado por el Dr. Tomás Eduardo Fernández Martínez (ICSA), Dr. Javier Añorve Morgia (ICBI), Dr. Vicente Vega Sánchez (ICAp) y Dr. Fabian Ricardo Gómez de Anda (ICAp), por el apoyo en cada uno de los momentos de planeación, ejecución, revisión y evaluación en mi formación doctoral.

Al Dr. Jorge Luis de la Rosa Arana de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México; al Dr. Jesús Benjamín Ponce Noguez de la Universidad de la Costa, Pinotepa Nacional en Oaxaca, México; a la MCyTA Isabel López Rivera del Comité Estatal de Sanidad Acuícola de Querétaro y al Dr. José Gustavo Ramírez Paredes del Ridgeway Biologicals Ltd., a Ceva Santé Animale Company en Reino Unido por su respectiva participación en asesoría, revisión y capacitación.

Al Comité Acuícola Hidalguense de Sanidad A.C. por las facilidades para realizar una estancia y colaboración en sus instalaciones apoyado de los profesionales técnicos con lo que cuenta la dependencia, en particular agradecer el apoyo del MVZ. Salvador Islas Cruz (Gerente), Biól. Acua. Erik Ramírez Trejo, Biól Mar. José Julián Barrera Gálvez, por su tiempo y dedicación para desarrollar alianzas de colaboración interinstitucional y acciones de divulgación de la ciencia con su personal técnico.

A los productores acuícolas de tilapia del Valle del mezquital que participaron en el presente estudio, por las facilidades para la obtención de muestras, así como facilitar la toma de datos para poder realizar los análisis correspondientes.

A mis docentes del programa DCASH por el compromiso en el seguimiento de elaboración de tesis y de productos de publicación a lo largo de 7 semestre, y por su contribución en mi formación académica

Al CBTa. No. 67 y su director el Ing. Juan Salazar Molares, al AAMVZ de ICAp y al Dr. Vicente Vega Sánchez y al instituto Educa-re y la docente María Guadalupe Monroy Ortiz; a todos ellos por las facilidades otorgadas para desarrollar actividades de retribución social en sus institutos y permitirnos desarrollar divulgación de la ciencia realizada por el DCASH.

## **Dedicatoria**

A mi gran apoyo de vida a la Sra. Irma Pérez Pérez, porque todo comenzó contigo, tu eres un motivo y motivadora, porque sigues creyendo en mi aunque ya no somos niños, por que aun sin entender muchas de las cosas que hago, aun así mi felicidad te hace feliz, gracias por la eterna compañía, por ser mi contraste en la vida, mi enseñanza, mi freno y mi acelerador cuando es necesario, por haberme enseñado casi todo lo que se fuera de una escuela, porque aquí acaba nuevamente algo que nos hizo muy felices a ambos. Gracias por escuchar, por debatir, por hacer eco de mis logros y hacerlos tuyos porque realmente que lo son, gracias eternas por siempre impulsarme a ser mejor cada día en lo que haga y por ayudarme a ser mejor ser humano con cada aprendizaje.

A mi eterno hermano el pequeño Paul, porque tú siempre has sido una inspiración para sacar desde la rebeldía lo mejor de uno, porque me enseñaste a nunca conformarme con lo que el mundo cree que es correcto para mí.

A mi familia por estar siempre conmigo al Sr. Eusebio Acosta Martín y a esa familia que la vida nos ha ido armando con el andar; al MC. Erick Delgadillo Gutiérrez, a la MCA. Karenina Mimila Méndez, al Dr. Pedro de Jesús Parra Gil, a la ME. Jessica Maricruz Olguín Olguín.

Al Dr. Fabián Ricardo Gómez de Anda, por darme un lugar donde crecer, por apoyar mis ideas y reforzarlas, gracias por recibirme y darme un lugar cálido y humano para seguir mi formación académica, por guiarme en horas bajas y tener siempre una actitud positiva para continuar, y aún más por compartir conmigo horas altas; gracias por toda la ayuda para que este proyecto de vida tenga el eco que tuvo, gracias por las comidas, los festejos, gracias por recordarme que hay lugares donde uno puede sentirse en familia, gracias por que además de ser mi director de tesis has sido una excelente persona y un gran ejemplo de ser humano.

A mis compañeros de laboratorio el MC. Antonio Pérez Montes, a la MC. Elizabeth Mérida Lira por las horas y horas compartidas en el confinamiento de la ciencia, por los debates, revisiones y charlas de pasillo que siempre son necesarias para no perder la cordura.

A la Biól. Paola Cordero López, por ser compañera en este viaje, por ser una excelente persona para escuchar, por la paciencia y su apoyo ante las dificultades, por hacer un excelente equipo conmigo, por compartir su conocimiento, por la compañía en horas eternas dentro del laboratorio y aún más por las horas compartidas fuera, por enseñarme de lucha, garra y persistencia, gracias por ser también un ejemplo de valentía y resiliencia.

## Índice

Índice de figuras y fórmulas .....	VI
Índice de tablas .....	X
Resumen.....	1
1.- Introducción .....	2
2.- Marco teórico .....	6
2.1- Obtención de alimentos acuícolas .....	6
2.1.1.-Acuicultura.....	6
2.1.2.- Pesca.....	7
2.2.-Panorama en México .....	8
2.3.- Panorama en el Estado de Hidalgo .....	10
2.4.- La tilapia .....	11
2.4.1.- Sistemas de producción .....	13
2.4.2.- Valor nutritivo de la carne de tilapia.....	14
2.5.- Zoonosis parasitarias transmitidas por los alimentos .....	19
2.6.- Zoonosis parasitarias asociadas al consumo de “Tilapia”.....	20
2.6.1.- Trematodos .....	21
2.6.2.- Nematodos .....	25
2.6.3.- Cestodos .....	28
2.6.4.- Protozoarios .....	30
2.7.- Mecanismos de dispersión parasitaria.....	31
2.7.1.- Antropocéntricos.....	32
2.7.2.- Naturales .....	35
2.8.- Distribución geográfica de los agentes etiológicos .....	37
2.9.- Afecciones en salud pública .....	39
2.10.- Ocurrencia de casos clínicos en humanos .....	41
2.11.- Diagnóstico parasitológico .....	43
2.11.1.- Hospederos primarios.....	44
2.11.2.- Hospederos secundarios.....	44
2.11.3.- Hospederos definitivos y accidentales.....	45
2.12.- Tratamientos en la acuicultura.....	46

2.12.1.- Sistema digestivo en peces teleósteos.....	47
2.12.2.- Sistema respiratorio en peces teleósteos.....	49
2.13.- Administración de tratamientos antiparasitarios en peces.....	51
2.14.- Agentes quimioterapéuticos utilizados en la producción de tilapia.....	52
2.14.1.- Antihelmínticos.....	54
2.15.- Tratamientos alternativos.....	56
2.16.- Uso del ajo en la acuicultura.....	57
2.17.- Capacidad antiparasitaria del ajo.....	57
2.18.- Metabolización del ajo.....	58
2.19.- Encapsulados.....	60
2.19.1.- Encapsulación por gelificación iónica.....	61
2.19.2.- Alginato de sodio como material pared.....	63
2.19.3.- Polimerización del alginato de sodio.....	63
2.20.- Cápsulas en la producción de alimentos acuícolas.....	65
2.21.- Marco legal.....	66
2.21.1.- Normatividad en la inocuidad acuícola.....	66
2.21.2.- Normatividad en la sanidad acuícola.....	68
3.- Planteamiento del problema.....	70
4.- Justificación.....	71
5.- Hipótesis.....	72
6.- Objetivos.....	73
6.1.- General.....	73
6.2.- Específicos.....	73
7.- Materiales y métodos.....	74
7.1.- Área de estudio.....	74
7.1.1.- Puntos de muestreo.....	75
7.2.- Toma de muestras.....	77
7.2.1.- Tilapias.....	77
7.2.2.- Toma de muestras y análisis del agua de cultivo.....	77
7.3.- Análisis parasitológico.....	78
7.3.1.- Necropsia para la observación y recuperación de parásitos.....	78
7.3.2.- Determinación de índices ecológicos y de biodiversidad.....	79

7.3.3.- Análisis de la correlación de la calidad del agua y las cargas parasitarias..	81
7.4.- Caracterización de las cápsulas con extracto acuoso de <i>Hibiscus sabdariffa</i> ...	81
7.4.1.- Obtención de extracto acuoso de <i>Hibiscus sabdariffa</i> .....	81
7.4.2.- Preparación de las cápsulas de alginato de sodio gelatina con extracto acuoso de <i>Hibiscus sabdariffa</i> .....	82
7.4.3.- Determinación de fenoles totales .....	84
7.4.4.- Caracterización fisicoquímica.....	84
7.4.5.- Caracterización morfométrica.....	86
7.4.6.- Flotabilidad .....	87
7.4.7.- Liberación de fenoles en desafío en agua .....	87
7.4.8.- Liberación de fenoles en prueba de simulación gástrica .....	88
7.5.- Caracterización de las cápsulas con harina de ajo ( <i>Allium sativum</i> ) (Lote 19020 Alday®) como agente antihelmíntico .....	89
7.5.1.- Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).....	89
7.5.2.- Preparación de las cápsulas de alginato de sodio gelatina con harina de <i>Allium sativum</i> .....	89
7.5.3.- Caracterización fisicoquímica.....	90
7.5.4.- Caracterización morfométrica.....	90
7.5.5.- Actividad antioxidante.....	91
7.5.6.- Liberación de mgE de aliína por simulación gástrica.....	91
7.5.7.- Ensayo de concentración de aliína con 4 mercaptopiridina (4-MP).....	92
7.6.- Modelo <i>in vivo</i> con <i>Oreochromis spp.</i> .....	93
7.6.1.- Insumos biológicos .....	93
7.6.2.- Grupos para prueba de palatabilidad e inocuidad de las cápsulas.....	94
7.6.3.- Grupos para prueba de ingesta de las cápsulas .....	94
7.6.4.- Prueba de palatabilidad .....	95
7.6.5.- Análisis de partículas de cápsulas post ingesta .....	96
7.6.6.- Análisis de sobrevivencia .....	97
7.6.7.- Cuantificación de aliína en sangre de <i>Oreochromis spp.</i> .....	97
7.6.8.- Efecto de las cápsulas en la comunidad parasitaria de <i>Oreochromis spp.</i> ...	98
7.6.9.- Monitoreo post tratamiento en los peces .....	99
7.8.- Análisis de datos-estadísticos.....	101
8.- Resultados y discusiones.....	102

8.1.-Evaluación de las cargas parasitarias en canales de tilapia en el <i>Valle del Mezquital</i> , Hidalgo, México. ....	102
8.1.1.- Prevalencias parasitarias.....	102
8.1.2.- Biodiversidad parasitaria.....	107
8.1.3.- Índices ecológicos de las parasitosis.....	110
8.1.4.- Parámetros de calidad del agua .....	113
8.1.5.- Correlaciones en el sistema parásito-hospedero-ambiente .....	116
8.2.-Elaboración y caracterización de cápsulas de alginato de sodio-gelatina con extracto de Jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> ).....	119
8.2.1.- Eficiencia y capacidad de encapsulación.....	119
8.2.2.- Características fisicoquímicas (Color, pH, $a_w$ , HWC y capacidad de hinchamiento) .....	123
8.2.3.-Características morfométricas .....	128
8.2.4.- Flotación de las cápsulas.....	131
8.2.5.- Liberación de fenoles en agua.....	132
8.2.6.- Liberación de fenoles por simulación gástrica .....	134
8.3.- Elaboración y caracterización de cápsulas de alginato de sodio-gelatina con harina de ajo ( <i>Allium sativum</i> ) .....	137
8.3.1.- Caracterización óptica de la harina de ajo por FT-IR.....	137
8.3.2.- Encapsulado de la harina de ajo.....	140
8.3.3.- Caracterización fisicoquímica .....	141
8.3.4.- Morfométricos .....	146
8.3.5.- Actividad antioxidante .....	149
8.3.6.- Liberación de mgE de aliína por simulación gástrica.....	151
8.4.- Evaluación <i>in vivo</i> con <i>Oreochromis</i> spp. de la administración oral de cápsulas de harina de ajo .....	153
8.4.1.-Condiciones experimentales.....	153
8.4.2.-Palatabilidad de las cápsulas.....	154
8.4.3.-Inocuidad de las cápsulas y análisis de sobrevivencia .....	155
8.4.4.-Análisis morfométrico de cápsulas recuperadas post-ingesta .....	157
8.4.5.-Aliína en sangre de los peces.....	159
8.4.6.-Efecto del tratamiento sobre poblaciones parasitarias de <i>Oreochromis</i> spp. ....	162
8.5.- Evaluación post tratamiento de las poblaciones de <i>Oreochromis</i> spp. ....	164
8.5.1.- Evaluación de parámetros hemáticos.....	164

8.5.2.- Índices de crecimiento .....	166
8.5.3.- Composición proximal de la canal .....	168
9.- Conclusiones .....	170
10.- Bibliografía .....	172

## Índice de figuras y fórmulas

Figura 1.- Histórico de producción nacional en México para el periodo 14-18, Fuente: SIAP.....	9
Figura 2.- Histórico de producción nacional por especie obtenidas de acuicultura y pesca, se consideran los últimos 5 años de reporte disponibles por el SIAP.....	10
Figura 3.- Ejemplar macho cíclido perteneciente al género <i>Oreochromis</i> spp.. Fuente: CONABIO, 2014.....	12
Figura 4.- Ciclo de vida del trematodo heterofídico <i>Heterophyes heterophyes</i> . Fuente: Adecuación a partir de (CDC, 2021a). ....	22
Figura 5.- Ciclo de vida del nematodo <i>Gnathostoma spinigerum</i> . Fuente: Tomado de (CDC, 2021b).....	26
Figura 6.- Ciclo de vida de las tenias de la familia Diphyllbothriidae. Fuente: Modificado a partir de (CDC, 2019).....	29
Figura 7.- Metabolización de la aliína del ajo hasta la sulfona de metilo de alilo para su excreción ante la ingesta en humanos. Fuente: Modificado a partir de (Scheffler <i>et al.</i> , 2018). ....	59
Figura 8.- Proceso de formación de cápsulas a partir de solución de alginato de sodio y la interacción iónica con solución de cloruro de calcio, modificada a partir de (Vemmer & Patel, 2013). ....	62
Figura 9.- Formación de gel por medio de los enlaces de grupo aniónico carboxílico del ácido gularónico y iones calcio obtenido de Kim, 2021.....	64
Figura 10.- Distribución geográfica de los recursos hídricos en el Estado de Hidalgo, la región azul marino representa la cuenca Tuxpan-Nautla; tomado del Inventario Estatal Forestal y de Suelos Hidalgo 2014 (Comisión Nacional Forestal, 2014). ....	75
<i>Ecuación a.</i> Cálculo de la prevalencia de infección sobre la población muestral de peces.....	80
<i>Ecuación b.</i> Cálculo de la abundancia parasitaria sobre la población muestral de peces .....	80
<i>Ecuación c.</i> Intensidad de la infección parasitaria sobre la población en que se registra cargas parasitarias.....	80
<i>Ecuación d.</i> Cálculo del índice de <i>Simpson</i> para determinar la diversidad de especies en una comunidad. Donde; $n_i$ = número de individuos para la $i$ ésima especie, $N$ = el número total de individuos de la comunidad bajo estudio.....	80
<i>Ecuación e.</i> Cálculo del índice de <i>Berger-Parker</i> para determinar la dominancia de una especie en una comunidad. Donde; $N$ = al número total de individuos de la comunidad bajo estudio y $N_{max}$ = número total de individuos de la especie con mayor número de individuos dentro de la comunidad.....	80

<i>Ecuación f.</i> Cálculo del índice de correlación de <i>Pearson</i> para variables emparejadas	81
<i>Ecuación g.</i> -Indica el cálculo de la eficiencia de encapsulado .....	92
<i>Ecuación h.</i> - Indica el cálculo de la concentración del compuesto aliína como molécula encapsulada sobre gramo de cápsulas obtenidas .....	92
<i>Ecuación i.</i> - Indica el cálculo de la liberación porcentual del compuesto de interés (aliína), en los desafíos en agua y simulación gástrica a los que se sometieron las cápsulas.....	92
Figura 11.- El proceso de imagen se realizó a partir de la siguiente ruta abrir <sup>1</sup> ->escalamiento de imágenes->conversión de las imágenes a 8 bits <sup>2</sup> ->ajuste de brillo y contraste <sup>3</sup> ->análisis de partículas por ImageJ software <sup>4</sup> .....	96
<i>Ecuación j.</i> - Donde (i) $0 = t_0 \leq t_1 < t_2 < t_i < \dots < t_r$ son los distintos tiempos a los que se han observado las muertes (datos no censurados), (ii) $d_i$ es el número total de muertes observadas (no censurados) al tiempo $t_i$ en todas las muestras, (iii) $N_i$ es el set total en riesgo al tiempo $t_i$ , (iv) $w_i \geq 0$ es un peso arbitrario que es asignado como 1 en la prueba de <i>Cox-Mantel</i> .....	97
<i>Ecuación k.</i> Cálculo de la del factor de conversión alimenticia como un parámetro de aprovechamiento del recurso alimenticio .....	100
<i>Ecuación l.</i> Cálculo del peso ganado por pez como un parámetro que indica monitoreo en los tiempos de cultivo .....	101
<i>Ecuación m.</i> Cálculo del peso ganado por pez por día, como un parámetro de monitoreo del ritmo de crecimiento .....	101
Figura 12.- Parásitos protozoarios identificados en las muestras de tilapia de cultivo en el <i>Valle del Mezquital</i> , a) <i>Apiosoma</i> sp recuperado de branquias y aletas, b) <i>Chilodonella</i> sp. se aislaron a partir de branquias y aletas, se observa junto a un ejemplar de <i>Apisoma</i> sp. c) <i>Costia</i> sp. los ejemplares de aislaron de branquia y aletas. d) <i>Trichodina</i> sp. recuperadas de las branquias. e) <i>Scyphidia</i> sp. se aislaron de branquia. f) <i>Tetrahymena</i> sp.ejemplares recuperados de branquia.....	104
Figura 13.- Parásitos monogéneos identificados en las muestras de tilapia de cultivo en el <i>Valle del Mezquital</i> , a) <i>Cichlidogyrus</i> sp. b) <i>Dactylogyrus</i> sp. c) <i>Dawestrema</i> sp. d) <i>Gyrodactylus</i> sp. y el dinoflagelado e) <i>Oodinium</i> sp.. Las cargas parasitarias correspondientes a estos géneros fueron observadas en la región anatómica branquial en las tilapias de cultivo. ....	105
Figura 14.- Gráficos de globo para los índices ecológicos de abundancia (a) e intensidad (b), calculada para cada género parasitario recuperado de muestras de tilapia de cultivo.....	112
Figura 15.- Matriz de correlación de <i>Pearson</i> entre las prevalencias que presenta cada género de protozoarios determinado en las tilapias de cultivo y las características de calidad del agua presentes en los puntos de muestreo. Valores entre -1 a 1 donde los valores positivos evidencian una correlación positiva. ....	117

Figura 16.- Matriz de correlación de <i>Pearson</i> entre las prevalencias que presenta cada género de monogéneos determinado en las tilapias de cultivo y las características de calidad del agua presentes en los puntos de muestreo. Valores entre -1 a 1 donde los valores positivos evidencian una correlación positiva. ....	119
Figura 17.- Las cápsulas generadas a partir de diferentes tratamientos para la formación del material de la pared se observan en a) T1; 2% alginato-1% gelatina, en b) T2; 2,5% alginato-1,5% gelatina, en c) T3 3% alginato-2% gelatina, en d) T4; 2% gelatina-1% alginato, en e) T5; 2,5% gelatina- 1,5% alginato y en f) T6; 3% gelatina-2% alginato.....	120
Figura 18.- Las cápsulas control generadas a partir de diferentes tratamientos para la formación del material de la pared se observan en a) T1; 2% alginato-1% gelatina, en b) T2; 2,5% alginato-1,5% gelatina, en c) T3 3% alginato-2% gelatina, en d) T4; 2% gelatina-1% alginato, en e) T5; 2,5% gelatina- 1,5% alginato y en f) T6; 3% gelatina-2% alginato.....	121
Figura 19.- Capacidad de encapsulación mostrada por los 6 tratamientos de material pares a base de alginato de sodio-gelatina.....	122
Figura 20.- Eficiencia de encapsulación presente en los 6 tratamientos y controles del sistema alginato de sodio-gelatina como material de pared. ANOVA de una vía y comparación de medias <i>Tukey</i> , superíndices diferentes indican significancia estadística ( $p < 0.05$ ).....	122
Figura 21.- Distribución de tamaño de partícula, los valores se registraron entre 2,21 mm <sup>2</sup> y 11,28 mm <sup>2</sup> . los tratamientos con mayor concentración de alginato en su composición (T1, T2 y T3) presentaron tamaños mayores. Superíndices diferentes indican significancia estadística ( $P < 0.05$ ), análisis mediante ANOVA de una vía y comparación de medias <i>Tukey</i> . ....	129
Figura 22.- Parámetros de flotabilidad; a) la flotabilidad promedio en segundos por tratamiento, diferentes superíndices por eje indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) por ANOVA de una vía y comparación de medias <i>Tukey</i> . b) el porcentaje de cápsulas que flotaron después de 1 hora de exposición. ....	132
Figura 23.- Cinética de liberación de fenoles en desafío en agua. Diferentes índices indican significancia estadística ( $P = < 0.05$ ) mediante un ANOVA anidado y una comparación de medias <i>Tukey</i> . ....	133
Figura 24.- Cinética de liberación de fenoles por simulación gástrica con pepsina; en a) pH 2.6, en b) pH 3.6 y c) pH 4.6, los valores corresponden al porcentaje de liberación para cada tratamiento de cápsula. Superíndices diferentes indican significancia estadística ( $p < 0.05$ ) por ANOVA anidado y comparación de medias <i>Tukey</i> .....	136
Figura 25.- FT-IR de muestras de harina de ajo, los tratamientos hidratado y no hidratado se obtuvieron de fuentes botánicas en el laboratorio, mientras que el tratamiento comercial e industrial se obtuvieron de proveedores comerciales. ....	138

Figura 26.- FT-IR de las soluciones poliméricas para elaborar las cápsulas, ALG: Solución de alginato de sodio, ALG+GEL; Solución de gelatina y alginato de sodio y ALG+GEL+ALL; Solución de alginato de sodio, gelatina y <i>Allium sativum</i> . .....	140
Figura 27.-Cápsulas de <i>Allium sativum</i> , el material pared consta de 2,5% de alginato de sodio y 1,5% de gelatina. a) Ctrl; testigo, b) T2.5%, c) T5% y d) T10%, la base porcentual indica el porcentaje agregado de harina de ajo. ....	141
Figura 28.-Capacidad antioxidante por FRAP presente en una harina de ajo como control, la cápsula control y los tres tratamientos de cápsulas de <i>Allium sativum</i> . Superíndices diferentes indican significancia estadística (P<0.05) mediante ANOVA de una vía y comparación de medias <i>Tukey</i> . ....	150
Figura 29.-Capacidad antioxidante por ABTS <sup>+</sup> presente en una harina de ajo como control, la cápsula control y los tres tratamientos de cápsulas de <i>Allium sativum</i> . Superíndices diferentes indican significancia estadística (P<0.05) mediante ANOVA de una vía y comparación de medias <i>Tukey</i> . ....	151
Figura 30.- Liberación porcentual de mgE de aliína encapsulada, el desafío se realizó por simulación gástrica (pH 2.6) con pepsina. Superíndices diferentes indican significancia estadística (P<0.05) entre los tratamientos mediante ANOVA anidado y comparación de medias <i>Tukey</i> . ....	153
Figura 31.- Análisis de <i>Cox-Mantel</i> , expresa la probabilidad de sobrevivencia en los grupos de peces (n=8) post ingesta de cápsulas, los grupos se indujeron a una ingesta baja (0.1 g/pez), media (0.2 g/pez) y alta (0.3 g/pez). El estadístico corresponde a lo descrito en la ecuación <i>j</i> de la sección 7.6.6. El grupo control dosificación 0 g, se alimentó con una dosificación 0.2 g /pez con alimento Nutripec de Purina® desarrollo con 40% de proteína. ....	157
Figura 32.- [mgE aliína] en plasma sanguíneo, presente en los grupos de peces bajo tratamiento. Cada barra indica la media de 3 repeticiones ± DS (n=3 peces). Superíndices diferentes en las barras indican significancia estadística (P<0.05), mediante ANOVA de una vía y comparación de medias <i>Tukey</i> . ....	161
Figura 33.- Prevalencia parasitaria monitoreada ante la aplicación de tratamiento con cápsulas T5%. La composición de este tratamiento incluyó 5% de harina de ajo y como material pared 2.5% alginato de sodio y 1.5% gelatina. n=10 peces por muestreo. ...	163
Figura 34.- Parámetros de crecimiento en los diferentes grupos experimentales de tilapia, FCA=factor de conversión alimenticia que presentaron las poblaciones experimentales (n=15 peces). El monitoreo fue de 21 días post tratamiento. ....	168
Figura 35.- Descripción de la composición proximal de filetes de pescado (%). Los parámetros expresan la media de 3 repeticiones ± DS (n= 3 peces). Superíndices diferentes indican significancia estadística (P<0.05) mediante ANOVA de una vía y comparación de medias <i>Tukey</i> . ....	170

## Índice de tablas

Tabla 1.- Uso de sustancias quimioterapéuticas para el tratamiento de cargas parasitarias en la acuicultura. ....	53
Tabla 2.- Caracterización de los productos de la pesca referente al control de materias primas. ....	67
Tabla 3.- Especificaciones de los niveles máximos tolerables en los productos acuícolas denominados como frescos. ....	68
Tabla 4.- Caracterización de los puntos de muestreo para la obtención de muestras de tilapia en el Estado de Hidalgo. ....	76
Tabla 5.- Descripción de las formulaciones para la obtención de las soluciones a y b, que conforman el material pared en las cápsulas de alginato de sodio (Droguería Cosmopolita®)-gelatina (grado alimenticio). ....	83
Tabla 6.- Datos de identificación por grupo experimental para la dosificación oral de aliína en el modelo <i>in vivo</i> de <i>Oreochromis</i> spp. ....	95
Tabla 7.- Prevalencias de las cargas parasitarias que afectan a la tilapia de cultivo, determinación parasitaria a partir de sistemas de producción acuícola del Estado de Hidalgo. ....	106
Tabla 8.- Diversidad parasitaria por punto de muestreo, se indica el índice de <i>Simpson</i> y la especie dominante por cálculo de índice de <i>Berger-Parker</i> . ....	109
Tabla 9.- Parámetros de calidad del agua relacionados al cultivo de tilapia, las muestras de agua analizadas corresponden a los puntos de muestreo en los que se obtuvieron muestras de tilapia para el análisis parasitológico <sup>1</sup> . ....	115
Tabla 10.- Parámetros fisicoquímicos para los diferentes tratamientos de cápsulas con extracto acuoso de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> ) <sup>1</sup> ....	127
Tabla 11.- Características morfométricas de las cápsulas de extracto acuoso de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> ) <sup>1</sup> ....	130
Tabla 12.- Parámetros fisicoquímicos de las cápsulas con diferente concentración de harina de ajo ( <i>Allium sativum</i> ) <sup>1</sup> ....	145
Tabla 13.- Parámetros morfométricos de las cápsulas con diferente concentración de harina de ajo ( <i>Allium sativum</i> ) <sup>1</sup> ....	148
Tabla 14.- Monitoreo de aceptación de las cápsulas de alginato de sodio-gelatina, a diferentes concentraciones de dosificación <sup>1</sup> . ....	155
Tabla 15.- Parámetros morfométricos de las cápsulas recuperadas a nivel intestinal de las tilapias en desafío (ingesta oral del vehículo de alginato de sodio-gelatina) <sup>1</sup> .....	159

Tabla 16.- Parámetros hemáticos determinados en las tilapias bajo tratamiento con administración oral de harina de ajo por medio de cápsulas de alginato de sodio-gelatina<sup>1</sup>. ..... 166

## Resumen

La acuicultura proporciona productos cárnicos con alto valor nutricional y produce 173 millones de toneladas de alimentos en todo el mundo cada año. Sin embargo, la industria no está exenta a desafíos específicos, incluidos los relacionados con el monitoreo epidemiológico de las cargas parasitarias y el uso de agentes terapéuticos. En este contexto, se analizaron 134 muestras de tilapia y 11 muestras de agua recolectadas en 10 sitios de muestreo en el Estado de Hidalgo; se identificaron un total de 6910 parásitos con una prevalencia global de 57,46%; *Trichodina* spp. y *Apiosoma* spp. mostraron la abundancia (35 y 29) e intensidad (241 y 66) mayor, respectivamente. Las cargas parasitarias por protozoarios mostraron una correlación positiva con la concentración de  $\text{CaCO}_3$ , mientras que las cargas parasitarias por monogéneos mostraron una correlación positiva con la presencia de  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NH}_4^+$ . Como estrategia de control, se caracterizaron 6 tratamientos de perlas obtenidas por gelificación iónica, elaboradas con diferentes concentraciones de alginato de sodio-gelatina, para el encapsulado de extracto de jamaica como marcador biológico; el tratamiento T2 (2.5% alginato y 1.5% gelatina) mostró el mejor balance de atributos; valores más altos de balance RAV ( $13.83 \pm 2.52$ ), circularidad ( $0.81 \pm 0.05$ ), flotabilidad (48 segundos) y una eficiencia de encapsulación del 95.47%. Esta formulación del material pared, se utilizó para el encapsulado de 2.5%, 5% y 10% de harina de ajo. La caracterización óptica por FT-IR en las mezclas poliméricas evidenció la presencia de grupos S=O ( $991.47 \text{ cm}^{-1}$ ) y grupos S-S ( $707.45 \text{ cm}^{-1}$ ) presentes en la alicina como molécula de interés. Cuando el porcentaje de ajo en polvo agregado fue mayor, las cápsulas mostraron mayor tendencia al color oscuro ( $64,78 \pm 4,43$  balance RAV) y

acidez (pH 5,11), así como índice de hinchamiento menor (194,36%) y CRA (0,30 g H<sub>2</sub>O). La evaluación de antioxidantes mostró que el tratamiento con polvo de ajo al 10% tuvo el mejor efecto; FRAP y ABTS<sup>+</sup> fueron 40,19 µmol ET/g y 16,04 µmol ET/g, respectivamente. La cuantificación de azufre orgánico mostró una tasa de liberación *in vitro* de 24,64% (mgE del organoazufrado aliína). Finalmente las cápsulas fueron administradas a un modelo *in vivo* de tilapia, donde se registró hasta el 95.80 ± 1.69% de aceptación, y una probabilidad de sobrevivencia del 100% ante una ingesta de 0.1 y 0.2 g de cápsula, el análisis morfométrico de cápsulas recuperadas a nivel intestinal mostró la degradación de las mismas en el tracto digestivo de las tilapias, así mismo se logró una dosificación de hasta 23.85 ± 0.73 mgE de aliína en plasma sanguíneo, sin derivar desordenes hemáticos en los peces y con un efecto positivo que permitió erradicar hasta el 100% de prevalencias en parásitos como *Trichodina* spp.. En contraste se observó aumento de la proteína (21.0.2%) en la composición proximal de los filetes obtenidos al administrar harina de ajo encapsulado a los peces. Las cápsulas mostraron buenas propiedades técnicas como estrategia de administración oral en acuicultura. Por lo que otros estudios se sugieren para la evaluación de estos vehículos en la cadena de producción de cárnicos acuícolas.

## **1.- Introducción**

La carne de pescado es una importante fuente alimentaria a nivel mundial (Okoye *et al.*, 2014), su consumo aporta a la dieta proteína altamente digerible y ácidos grasos que aportan beneficios a la salud (Ariño *et al.*, 2012; Baldissera *et al.*, 2020); su consumo se ha asociado a la disminución de incidencia de diabetes tipo 2 (Zhang *et al.*, 2019), como promotores del desarrollo cerebral y del hígado en etapa lactante y

disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares, trastornos inflamatorios (Fatel *et al.*, 2021) y tumores (Solomando *et al.*, 2020). A nivel mundial se obtienen cerca de 173 millones de t de pescado, de esta producción destaca la tilapia como un producto que se obtiene por métodos de pesca y de acuicultura (Savaya *et al.*, 2020) y que además muestra características de resistencia ambiental y contra patógenos (Fajer-Ávila *et al.*, 2017). La industria proyecta un aumento en su producción de 6 millones de t reportadas en 2020 a 7.3 millones de t en 2030 (Abdel-Latif *et al.*, 2020). En algunos estados de México este producto representa hasta el 91% del pescado obtenido para la venta (Domínguez-May *et al.*, 2020) y es un producto que se consume regularmente a pie de granja en platillos regionales como el ceviche (Lango-Reynoso, 2011). No obstante, la buena proyección de la industria de la tilapia, la especie cuenta con retos particulares por atender, entre ellos, la vigilancia epidemiológica y el control de las cargas parasitarias de tipo zoonótico (Bao *et al.*, 2019). La naturaleza de las especies acuícolas (Ananda-Raja & Jithendran, 2015) y las características del desarrollo de las infecciones parasitarias en el ser humano parecen dificultar aspectos de monitoreo, diagnóstico y tratamiento de los patógenos (Franssen *et al.*, 2019). Por lo anterior resulta importante aplicar un monitoreo constante de la contaminación biológica de origen en los productos como la tilapia; en este contexto se estima que cerca de 18 y 20 millones de personas pueden estar cursando una infección por trematodos y cestodos respectivamente (Chi *et al.*, 2008; Wiriya *et al.*, 2013), pero que además son 500 millones de personas las que se encuentran en riesgo a nivel mundial (Lima dos Santos & Howgate, 2011). Estos agentes parasitarios se transmiten al ser humano mediante el consumo de carne cruda de pescado infectado (Wang *et al.*, 2017)

y son responsables de afecciones particulares, que van desde cuadros diarreicos hasta casos crónicos que derivan en colangiocarcinoma (Wang *et al.*, 2018a; Wiriya *et al.*, 2013). Los agentes etiológicos que se han descrito en la tilapia de consumo incluyen reporte para: trematodos, nematodos y cestodos en infecciones por helmintos (Diaz-Camacho *et al.*, 2002; Lobna *et al.*, 2010; Scholz *et al.*, 2018), protozoarios como *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. (Ghoneim *et al.*, 2012; Koinari *et al.*, 2013), e incluso reportes para la amiba *Vermamoeba* spp.. Las cargas parasitarias presentes en el ambiente presentan un potencial de dispersión debido a características como la globalización de hábitos culinarios (Vicente-Pardo, 2016), los altos niveles de productos en el mercado actual (Arafa *et al.*, 2019) y la actividad migratoria y de turismo (Herman, 2009). Factores que se suman a los mecanismos naturales de dispersión (hospederos finales como aves ictiófagas) (Scholz & Salgado-Maldonado, 2000). Debido a la importancia socioeconómica de la tilapia y el riesgo parasitario que puede significar su consumo, surgen estrategias, como la encapsulación por gelificación iónica como un mecanismo de control parasitario en las ciencias veterinarias (Ponce-Nogues, 2020). Estas cápsulas se forman a partir del uso del alginato de sodio como material pared (Ching *et al.*, 2017), en donde el carácter polianiónico de la molécula permite la interacción entre los grupos carboxilo del ácido gulturónico y los iones divalentes de calcio para formar geles irreversibles, que permiten la formación de encapsulados de compuestos de interés (Han *et al.*, 2019). Su uso en la acuicultura se ha reportado para mejorar aspectos de nutrición (Rodríguez *et al.*, 2018) y de sanidad de peces como la tilapia (Pinpimai *et al.*, 2015; Pirarat *et al.*, 2015). Sin embargo, su uso no se ha documentado para la encapsulación y administración oral de antihelmínticos, por ello el

presente trabajo pretende desarrollar un estudio epidemiológico para determinar las especies parasitarias de tipo zoonótico asociadas a la cadena de producción de tilapia en el Estado de Hidalgo. Esta información epidemiológica permitirá encapsular el tratamiento antihelmíntico adecuado, la caracterización de las cápsulas y su administración experimental en organismos de *Oreochromis niloticus*, en búsqueda de coadyuvar en el desarrollo de una estrategia de control de uso específico en la acuicultura de tilapia.

## **2.- Marco teórico**

### **2.1- Obtención de alimentos acuícolas**

El pescado tiene un impacto notable en la vida de individuos y comunidades en todo el mundo, principalmente como fuente de proteína animal esencial y asequible (Okoye *et al.*, 2014). La industria de alimentos acuícolas es considerada una de las de mayor proyección a nivel mundial, con un crecimiento considerable en las últimas décadas (Gjedrem *et al.*, 2012). La obtención de productos pasó de 98 millones de t en 1990 a 173 millones en 2017, en esta producción el mayor aporte proviene del continente asiático; China, India e Indonesia, ocupan en ese orden los primeros lugares en producción a nivel mundial (FAO, 2019). Este crecimiento permite a la pesca y acuicultura representar un sector que contribuye a la seguridad alimentaria, la creación de empleos y a la activación económica alrededor del mundo (Adugna *et al.*, 2020; Chibwana *et al.*, 2020). Solo en China se desempeñan 5 millones de acuicultores y cerca de 9.4 millones de pescadores (Huang & He, 2019), aunque se estima que 100 millones de personas a nivel mundial son dependientes económicos de estas dos actividades (González-Razo *et al.*, 2017).

#### **2.1.1.-Acuicultura**

Para la obtención de carne de pescado por métodos de acuicultura, se utilizan sistemas de recirculación (reutilización del agua), sistemas de flujo, cultivo en jaulas y sistemas muy variados de estanquería. El nivel de inversión,

infraestructura e insumos implementados permiten clasificar a los sistemas para la acuicultura en rústicos, semi intensivos, intensivos y súper intensivos (Fitzsimmons, 2000; Ortega & Valladares, 2015). Estos modelos presentan una tendencia global a la progresión de sistemas extensivos a intensivos (Ghamkhar *et al.*, 2021).

Los sistemas de estanquería estáticos son los más recurrentes, en Estados Unidos de Norteamérica representan cerca del 65% de la práctica de la acuicultura, y cuentan con la variante de corriente rápida o “raceway” con recambios de agua más veloces (Dauda *et al.*, 2019). En Egipto y Nigeria, la mayor parte de la producción (80%) proviene de pequeñas fincas privadas que practican acuicultura semi-intensiva en estanques de hormigón, complementadas con sistemas de invernadero (Kaleem & Bio Singou Sabi, 2020). En México la acuicultura se define como el “conjunto de actividades dirigidas a la reproducción controlada, pre engorda y engorda de especies de la fauna y flora realizadas en instalaciones ubicadas en aguas dulces, marinas o salobres, por medio de técnicas de cría o cultivo, que sean susceptibles de explotación comercial, ornamental o recreativa” (DOF, 2007).

### **2.1.2.- Pesca**

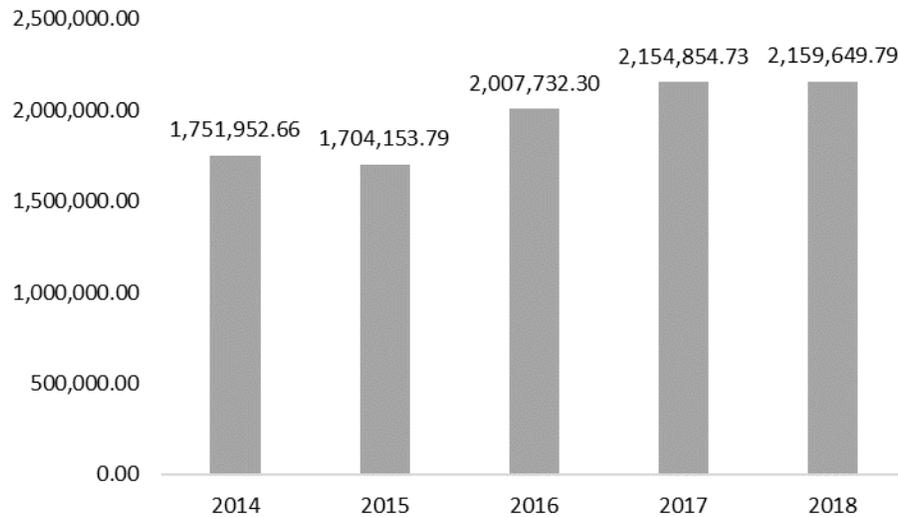
Una de las variantes más recurrente en aguas continentales, es la práctica de la acuicultura de almacenamiento en embalses, este sistema incluye la siembra de crías en presas, lagos y lagunas, de forma similar que en la acuicultura. Pero con

la captura de peces bajo criterios de ordenamiento pesquero (Fitzsimmons, 2000). En este contexto la ordenación pesquera se refiere al conjunto de regulaciones legales, sociales, económicas y políticas, que permiten la gestión de la pesca en un tiempo y área geográfica definida (Huang & He, 2019). Los productos de la pesca a nivel mundial se obtienen y distribuyen principalmente a partir del continente asiático, donde China, Indonesia e India ocupan los tres primeros lugares en el rubro (FAO, 2019). En China la actividad destaca por la captura de 1050 especies de peces de agua dulce, por medio de diversos métodos de captura que incluyen: pesca de arrastre, red de arrastre para pesca de cerco, red de estiba, red de inmersión, cubierta red, red cuadrada, pesca con palangre, pesca con caña y pesca en jaula (Huang & He, 2019). La pesca en aguas interiores, al igual que otras modalidades en práctica en México, se define por ley como; “el acto de extraer, capturar o recolectar, por cualquier método o procedimiento, especies biológicas o elementos biogénicos, cuyo medio de vida total, parcial o temporal, sea el agua” (DOF, 2007).

## **2.2.-Panorama en México**

La actividad acuícola en México representa una fuente alimentaria que además suma características socioeconómicas como creación de empleos directos e indirectos, desarrollo de pequeñas y medianas empresas y generación de servicios complementarios como el turismo (Huerta-Mata & Valenzuela-Oyadener, 2019). A nivel nacional se reportó para 2018 una producción neta de 2.1 millones

de t de alimentos acuícolas y pesqueros, con un aumento de 400,000 mil t en los últimos 5 años (Figura 1) (SIAP, 2020).



**Figura 1.- Histórico de producción nacional en México para el periodo 14-18, Fuente: SIAP.**

Las especies que destacan en la producción pesquera son; la sardina y la anchoveta con 587 mil y 152 mil t, mientras que en la acuicultura destacan; el camarón y la mojarra, con 230 mil y 168 mil t de producto reportado solo para 2018, con variaciones anuales desde 2014 (SIAP, 2020) (Figura 2). La obtención de alimentos en la acuicultura continental se complementa con el cultivo de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), bagre (*Ictalurus punctatus*) y carpa (*Cyprinus carpio*) (Platas-Rosado *et al.*, 2017). Sin embargo, el aporte de estas especies es menor a 70,000 t anuales (SIAP, 2020). Para el desarrollo de acuicultura de estas especies en México, se realiza la importación de organismos o variedades de peces que han sido seleccionados y probados para su producción en otros países (Dávila-Camacho *et al.*, 2019).

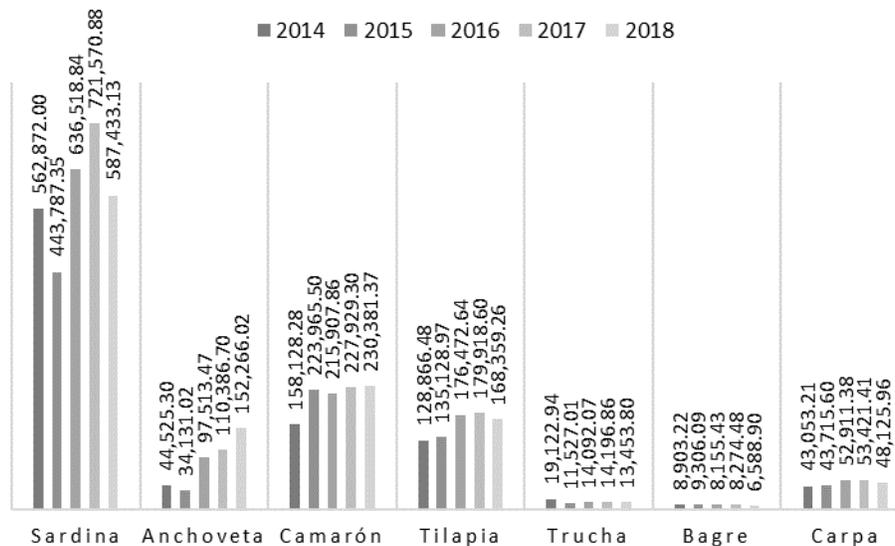


Figura 2.- Histórico de producción nacional por especie obtenidas de acuacultura y pesca, se consideran los últimos 5 años de reporte disponibles por el SIAP.

### 2.3.- Panorama en el Estado de Hidalgo

El Estado de Hidalgo cuenta con recursos hídricos que permiten la práctica de la acuacultura y pesca. Cuenta con las cuencas hidrológicas Pánuco y Tuxpan-Nautla, y 42 fuentes hídricas entre las que destacan; El río Amajac, río Mezquitlán, río Tula y la presa Ingeniero Fernando Hiriart Balderrama como las de mayor extensión/volumen (INEGI, 2017). En la entidad existen 610 unidades de producción registradas, donde se realiza la engorda de las especies; carpa común variedad espejo (*Cyprinus carpio specularis*), barrigona (*Cyprinus carpio rubrofruscus*), herbívora (*Ctenopharyngodon idellus*), cabezona (*Aristichthys nobilis*) y plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), tilapia azul (*Oreochromis aureus*) y tilapia mossambica (*Oreochromis mossambicus*) (Velasco-Amaro et al., 2015).

Hidalgo reportó para 2018 un total de 8,645 t de productos acuícolas, la mitad de esta producción sustentada por el producto tilapia (4,456 t), con un valor de mercado cercano a los 132 millones de pesos. La producción se complementa en orden descendente con el aporte de los productos carpa (3,951), trucha (214 t) y bagre (15 t) (SIAP, 2020). Este potencial de producción ha colocado a la actividad acuícola Hidalguense en segundo lugar a nivel nacional, entre los estados sin litoral (Velasco-Amaro *et al.*, 2012).

#### **2.4.- La tilapia**

El nombre tilapia deriva de la palabra pez en el dialecto bushman africano, y hace referencia a los peces de agua dulce pertenecientes a la familia *Cichlidae*, se han descrito aproximadamente 70 especies de tilapia, agrupadas en tres géneros principales; *Oreochromis* spp., *Sarotherodon* spp. y *Tilapia* spp., entre ellos destaca el género *Oreochromis* con 32 especies descritas (El-Sayed, 2020). Es un pez con distribución en aguas tropicales, de alimentación omnívora, presentan un cuerpo comprimido de manera lateral, cubierto por escamas cicloides de color grisáceo y en los lados laterales en color rosado (Figura 3). La especie *Oreochromis niloticus* fue introducida a México en 1978 proveniente de Panamá (Morales-Serna *et al.*, 2018a). En México encuentra condiciones climáticas adecuadas para su establecimiento (CONABIO, 2014; El-Sayed, 2020).



**Figura 3.- Ejemplar macho cíclido perteneciente al género *Oreochromis* spp.. Fuente: CONABIO, 2014**

Es una especie que cuenta con excelentes características para su explotación, presenta fácil reproducción y alta adaptabilidad a cambios de ambientes, alimentos y parámetros de calidad del agua (Vega *et al.*, 2010). Destaca por su alto rendimiento de conversión alimenticia y de energía en proteína (Gjedrem *et al.*, 2012). Se cataloga como un pez resistente a enfermedades y a condiciones desfavorables en la calidad del agua como temperaturas bajas, oxigenación baja, pH desfavorable, alto contenido de amonio, nitritos y CO<sub>2</sub> (Fajer-Ávila *et al.*, 2017); no obstante, su mejor rendimiento se logra con temperaturas entre 27-30°C y disponibilidad de oxígeno entre 5-23 mg/L (Makori *et al.*, 2017).

La tilapia es un pez que se obtiene de la pesca y de la acuicultura, es la segunda especie más cultivada en el mundo solo detrás de los ciprínidos y representa un aporte de 6 millones de t por año a nivel mundial. Su producción ha crecido en los últimos 20 años, con una tasa de 10% anual (Savaya *et al.*, 2020) y prevé alcanzar un aporte de 7.3 millones de t para 2030 (Abdel-Latif *et al.*, 2020). Estos peces de origen africano representan hasta un 65% de la producción acuícola en Egipto (Kaleem & Bio Singou Sabi, 2020). Mientras que en México la especie representa hasta el 91% de la producción nacional, donde su venta es principalmente en presentaciones de eviscerado o vivo (86.5%) (Domínguez-May *et al.*, 2020).

Los estados de mayor aporte en la producción son; Veracruz, Michoacán, Sinaloa, Tabasco y Jalisco (61.1% en conjunto) y es la cuarta especie de mayor importancia pesquera en México (González-Razo *et al.*, 2017). La carne de tilapia obtenida se consume de forma heterogénea en el área restaurantera y a pie de granja, es una materia prima que se utiliza en una amplia variedad de platillos regionales entre ellos el ceviche (Lango-Reynoso, 2011), este platillo incluye en su elaboración carne cruda de tilapia que es marinada en una base de jugo de limón (Leroy *et al.*, 2017).

#### **2.4.1.- Sistemas de producción**

El cultivo de tilapia es posible en diferentes sistemas de producción, incluyendo estanques rústicos de talud, estanques de concreto y cultivos en jaulas que pueden estar situados en cuerpos de agua lóticos de rivera o lénticos como presas (Platas-Rosado *et al.*, 2017). Estos organismos se producen en diferentes niveles de intensidad en los sistemas de producción; desde los más rudimentarios (extensivos) hasta las granjas tecnificadas (intensivos y super-intensivos) (Kaleem & Bio Singou Sabi, 2020; Vega *et al.*, 2010). En México el uso de tecnologías en el sector acuícola todavía es limitado, y un alto porcentaje de las 4,623 granjas de tilapia que operan en el país son predominantemente extensivas y semi intensivas (Betanzo-Torres *et al.*, 2019). Por ejemplo, en el Estado de México (centro del país), el cultivo de tilapia es predominante en sistemas semi-intensivos (González-Razo *et al.*, 2017).

Al sureste del país, en Yucatán, las granjas extensivas permiten cultivos de 950 a 4500 peces por tanque. Además, en la misma zona existen granjas semi-intensivas que permiten un cultivo de hasta 11,000 peces por estanque (Domínguez-May *et al.*, 2020). No obstante, paulatinamente se han incorporado tecnologías para intensificar la producción de tilapia, entre ellas el uso de sistemas de recirculación (RAS por sus siglas en inglés “Recirculatory Aquaculture System”), acuaponía (policultivo con hortalizas) y biofloc’s (consorcios bacterianos en estanquería). Sistemas que atienden perspectivas de sustentabilidad y de equilibrio ecológico (Ornelas-Luna *et al.*, 2017). En los estados de Veracruz, Yucatán, Chiapas, Jalisco y Sinaloa se ha documentado un incremento de hasta el 44% en la producción, mediante el uso de sistema biofloc (Betanzo-Torres *et al.*, 2019). Estas tecnologías permiten aumentar la obtención de recursos alimenticios cárnicos.

#### **2.4.2.- Valor nutricio de la carne de tilapia**

El valor nutricional de la carne de tilapia es competitivo frente a otras carnes de consumo (Gjedrem *et al.*, 2012). Los peces teleósteos como la tilapia son el grupo de peces de mayor aprovechamiento en la industria alimentaria. El rendimiento de la canal en estos productos es cercano al 70%, con mayor porción de tejido muscular comestible debido a su composición baja de tejido óseo, graso y conectivo (Ariño *et al.*, 2012). Es un alimento de percepción saludable en el mercado (Ljubojevic *et al.*, 2015) que aporta principalmente ácidos grasos poliinsaturados (Omega-3) y proteína a la dieta de poblaciones extensas a nivel

mundial (Adedeje *et al.*, 2012). La composición proximal de la carne de tilapia cuenta con una humedad del 80.17%, 13.66% de proteína cruda, 0.54% de grasas y 1.36% de cenizas (Olopade *et al.*, 2016)

#### **2.4.2.1.- Lípidos**

El perfil de ácidos grasos en la carne de tilapia incluye, altos niveles de ácido cis-9-octadecenoico (ácido oleico (C18:2n6cis); 39.40 g/kg), ácido palmítico (C16:0; 29.64 g/kg) y ácido cis-9,12-octadecadienoico (ácido linoleico (C18:2n6 cis); 13.07 g/kg), además de un importante aporte de ácido cis-4,7,10,13,16,19-docosahexenoico (DHA (C22:6); 0.94 g/kg) y de 17 ácidos grasos más (Baldissera *et al.*, 2020; Duarte *et al.*, 2021). La ingesta diaria recomendada de ácidos grasos eicosapentaenoico (EPA, C20:  $\omega$  -3) y docosahexaenoico (DHA, C22:  $\omega$ -3) en la dieta, es de aproximadamente 0.25 – 0.5 g por persona por día, estos componentes en la dieta promueven el desarrollo cerebral y del hígado en etapa lactante y disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares, trastornos inflamatorios y tumores (Solomando *et al.*, 2020).

La ingesta de ácidos grasos de cadena larga a partir del consumo de tilapia y otros peces, se recomienda debido a la dificultad de síntesis metabólica de estas grasas (20:5n-3 y 22:6n-3) en el ser humano (Gbadamosi & Lupatsch, 2018). En Japón la ingesta de pescado y de grasas poliinsaturadas  $\omega$ -3 se han asociado con bajos niveles de metilación del ADN (gen ABCA1). Condición que mejora los resultados cardiometabólicos en personas con curso de enfermedades cardiovasculares y

cáncer (Fujii *et al.*, 2021). Así mismo, en China, se documentó la asociación del consumo de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -3 con un riesgo menor de desarrollo de diabetes tipo 2. Cuando la dieta fue baja o moderada en consumo de pescado, se reportó mayor probabilidad de presentar la patología (entre 54 y 69%) (Zhang *et al.*, 2019). Además, los  $\omega$ -3PUFA pueden actuar como moduladores de los mecanismos antiinflamatorios (velocidad de sedimentación globular (VSG), proteína C reactiva, DAS28-CRP, adiponectina e IL-6), en enfermedades como artritis reumatoide (Fatel *et al.*, 2021) y en patologías como la enfermedad crónica de obstrucción pulmonar (EPOC), aunque la asociación de consumo y riesgo en EPOC, se describió con una significancia marginal (razón de probabilidades (OR) 1.22) (Fulton *et al.*, 2019).

Debido a los beneficios a la salud asociados a la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados, diferentes investigaciones promueven mejoras de zootecnia en el cultivo de tilapia, direccionadas a obtener mayores niveles de estos compuestos en la carne. Por ejemplo; en el manejo de los sistemas de oxigenación, debido a que los procesos de hipoxia han demostrado disminuir el contenido de  $\omega$ -3PUFA (Lv *et al.*, 2021), mientras el control de la alcalinidad del agua reditúa en mayores niveles contenidos de ácidos grasos EPA y DHA en la carne de tilapia (Cheng *et al.*, 2020). Además, la adición de componentes en la dieta como aceite de pescado (Duarte *et al.*, 2021), aceite de camelina (*Camelina sativa*) (Toyes-Vargas *et al.*, 2020), nanoesferas de nerolidol (Baldissera *et al.*, 2020) y algas (*Nannochloropsis salina*) (Gbadamosi & Lupatsch, 2018), se han utilizado para

mejorar la síntesis y contenido de ácidos grasos poliinsaturados en la carne de tilapia, al tiempo que mejoran otras facetas en la salud de los organismos.

#### **2.4.2.2.- Proteínas**

El pescado y otros alimentos acuícolas son una excelente fuente de proteína, aportan cerca de 22 g/100 g, alrededor de una tercera parte de la ingesta diaria recomendada. Esta proteína es rica en aminoácidos esenciales (lisina, metionina y treonina), y de fácil digestión para personas de diferentes grupos etarios (Ariño *et al.*, 2012). En la carne de tilapia los aminoácidos de mayor presencia son glicina, alanina y ácido glutámico con 459.8, 252.7 y 145.2 mg/kg respectivamente. La composición además incluye 14 aminoácidos más; Asp, Lys, Ser, Pro, Thr, Arg, Leu, Met, Val, Tyr, Ile, Phe e His (Cheng *et al.*, 2020). Pese al buen perfil de proteína, la carne de tilapia y otros peces, presenta problemas en el almacén, ya que cuentan con un músculo fácil de degradar. Por ello, se recomienda la cosecha de algunas tallas específicas ( $665 \pm 85$  g) que han mostrado tendencia menor a la proteólisis, debido a una expresión menor de caltaspainas (CAST) (Morais *et al.*, 2020).

#### **2.4.2.3.- Otros componentes**

Comparado con otras carnes de obtención en granja la carne de pescado cuenta con un mejor perfil de micronutrientes como fósforo, selenio y hierro (Baldissera *et al.*, 2020) y una aportación de calcio, yodo y zinc. Esta carne presenta un aporte

de vitaminas D, A y B (Morais *et al.*, 2020). Entre las que destaca el aporte de vitaminas B6 y B12 a un nivel similar que en la carne magra de mamíferos (Ariño *et al.*, 2012).

#### **2.4.2.4.- Consumo de pescado/tilapia**

Impulsado por las características nutricias, los niveles de consumo de pescado muestran tendencias positivas, similares a la tasa de crecimiento observada en la producción; la ingesta a nivel mundial se duplicó de la década de los 60's al 2011 (de 9.9 a 18.8 kg por persona) (González-Razo *et al.*, 2017). En el mercado, la carne de pescado representa hasta el 15% de la proteína de origen animal en la dieta humana a nivel mundial. Entre los principales consumidores destacan áreas y países con mayor tradición culinaria en la ingesta de pescado; por ejemplo, países del mediterráneo donde se reporta un consumo per cápita superior a los 50 g<sup>-1</sup> al día (Ariño *et al.*, 2012), o en África donde destaca Nigeria, ahí se ha documentado un consumo que alcanza las 3.2 millones de t al año (Kaleem & Bio Singou Sabi, 2020).

En México el consumo per cápita de pescado se encuentra en 14.7 kg/año, ligeramente inferior que el promedio mundial y superior al valor reportado para América Latina (10.5 kg/año) entre este consumo, la tilapia representa el 21% de la ingesta (3.08 kg/año), este valor casi se triplicó en el periodo de 2012 a 2018 (Martínez-Cordero *et al.*, 2021); sin embargo, pese a la buena proyección de la industria alimentaria, actualmente existen retos particulares que atender, entre

ellos la vigilancia epidemiológica de las enfermedades parasitarias con potencial de afección al ser humano (Bao *et al.*, 2019; Franssen *et al.*, 2019).

## **2.5.- Zoonosis parasitarias transmitidas por los alimentos**

Las infecciones denominadas como enfermedades zoonóticas se refieren a las patologías de ocurrencia clínica humana, que son transmitidas de un huésped animal (vertebrado, molusco, artrópodo) a un vertebrado como el ser humano (Mills *et al.*, 2010). En la epidemiología de estos agentes etiológicos los alimentos pueden participar como vectores de transmisión; por ejemplo, para *Cryptosporidium parvum* (leche), *Toxoplasma gondii* (leche, carne de puerco, res, oveja y de cacería), *Spirometra* spp. (carne de rana y serpiente) y *Trichinella* spp. (carne de puerco y de cacería) (Franssen *et al.*, 2019). Estos alimentos albergan estadios parasitarios viables, como larvas de helmintos o colonias de trofozoítos y, son fuente de infecciones que provienen de animales que son parte del ciclo de vida de los parásitos.

En la obtención de alimentos acuícolas los parásitos son un componente natural presentes en diferentes ambientes, incluso la mayoría de las especies que parasitan a los peces no representan un peligro directo para el ser humano (Adams *et al.*, 1997). Sin embargo, también existe una amplia diversidad de parásitos de tipo zoonótico reportados para especies de peces, los de mayor ocurrencia son los helmintos del género *Anisakis* spp., especialmente las especies *Anisakis simplex* y *Anisakis pseudoterranova*. Además, se han reportado cestodos

del género *Diphyllobothrium* spp. y trematodos de las familias *Heterophyidae*, *Opisthorchiidae* y *Nanophyetidae* (Adams *et al.*, 1997; Franssen *et al.*, 2019). La mayoría de los organismos parasitarios de tipo zoonóticos asociados al consumo de pescado, tienen ciclos de vida con múltiples hospedadores (Fang *et al.*, 2018), entre los que se encuentran un solo hospedador definitivo y uno o más hospedadores intermediarios, que se catalogan como primarios, secundarios y paraténicos (Chibwana *et al.*, 2020; Hung *et al.*, 2015).

## **2.6.- Zoonosis parasitarias asociadas al consumo de “Tilapia”**

La participación de los peces en la transmisión de parásitos al ser humano se ha documentado con anterioridad, debido a su función como hospederos intermediarios de tipo secundario (Jones, 2015; Lima dos Santos & Howgate, 2011; Okoye *et al.*, 2014). A nivel mundial se han descrito cerca de 70 especies de tilapia, varias de ellas susceptibles de explotación y consumo (El-Sayed, 2020), así mismo se han documentado un número considerable de infecciones parasitarias transmitidas por la tilapia, que pueden significar un riesgo de ocurrencia de casos clínicos humanos (Dao *et al.*, 2017; Fleming *et al.*, 2011; Lobna *et al.*, 2010; Onyedineke *et al.*, 2010; Wiriya *et al.*, 2013). Las cargas parasitarias en los productos cárnicos estropean su calidad y la posibilidad de comercialización. Además, el hecho de que la tilapia actúe como transmisor de parásitos, plantea una problemática de salud pública (Aduagna *et al.*, 2020; Chibwana *et al.*, 2020). A continuación, se describen los principales grupos taxonómicos que se han reportado infectando canales de tilapia.

## **2.6.1.- Trematodos**

### **2.6.1.1.-Agente etiológico**

Los trematodos pertenecen al grupo taxonómico de los platelmintos invertebrados que se caracterizan por ser acelomados, protostomados y triblásticos (Negrete & Damborenea, 2017). Estos organismos se encuentran de vida libre y como parásitos. Los trematodos incluyen especies zoonóticas. La mayoría de ellos con ciclos de vida complejos que involucran varios hospedadores (Fang *et al.*, 2018). Su ciclo de vida comienza con un organismo adulto monoico que oviponen huevos que se dispersan en el agua, de ahí emerge la primera larva, llamada miracidio, esta larva busca a su primer hospedador intermediario (molusco), donde se desarrolla en esporoquiste, este a su vez en redias y finalmente en cercarias. Las cercarias pueden nadar y dispersarse hasta encontrar a su segundo hospedador intermediario (como el pez) (Zhao-Rong *et al.*, 2005). En el músculo esquelético del segundo hospedador intermediario, las cercarias enquistan en metacercarias, rodeadas de una pared de quitina que la protege. El pez infectado por metacercaria es ingerido crudo por el hospedador definitivo, las metacercarias se liberan de la cápsula y se establecen en alguna de las vísceras del sistema digestivo, dependiendo del ciclo de vida del trematodo, para convertirse en gusanos adultos y reiniciar el ciclo (Burton *et al.*, 2019) (Figura 4).

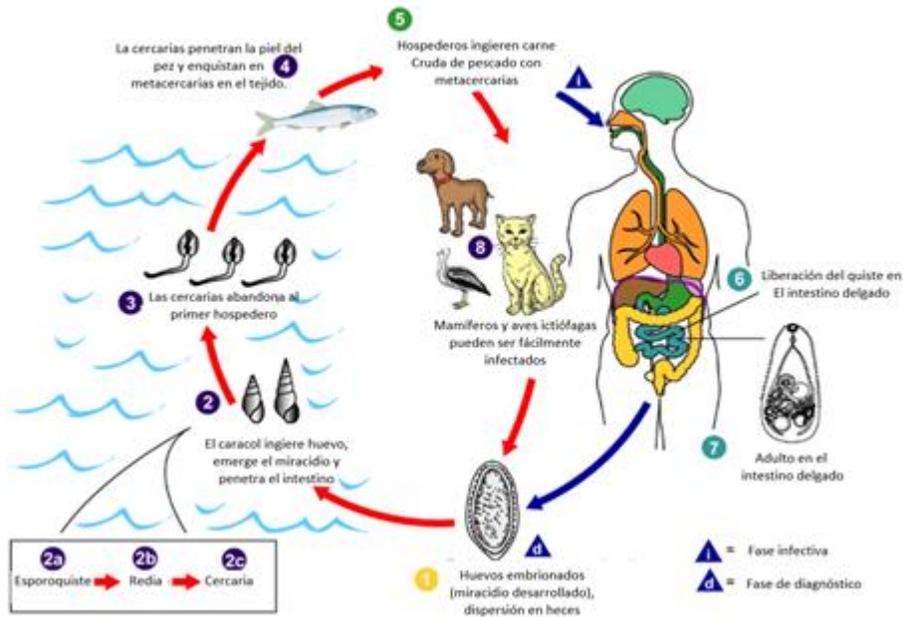


Figura 4.- Ciclo de vida del trematodo heterofídico *Heterophyes heterophyes*. Fuente: Adecuación a partir de (CDC, 2021a).

### 2.6.1.2.- Infección en tilapias

Las infecciones por metacercarias de trematodos en tilapia se han reportado en una amplia diversidad de sistemas de cultivo y captura, y representan el grupo de helmintos de abundancia y diversidad mayor asociados al riesgo de zoonosis en la carne de tilapia; se ha documentado ocurrencia de metacercarias de los trematodos hepáticos *Opisthorchis felineus*, *Opisthorchis viverrini* y *Clonorchis sinensis* en tilapias de los géneros *Oreochromis* spp. y *Tilapia* spp. (Naegel, 1990; Petney *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2018a; Williams *et al.*, 2020; Zhao-Rong *et al.*, 2005).

En embalses con práctica de captura de la provincia de Binh Dinh en Vietnam se ha registrado una prevalencia de 18.8% de metacercarias de *Opisthorchis viverrini* en tilapias jóvenes de la especie *Oreochromis niloticus* (Dao *et al.*, 2017). En una presa en Zimbabwe se registró la presencia de metacercarias de *Clinostomum* spp. con una prevalencia 62.8% en *Oreochromis mossambicus* (Mutengu *et al.*, 2018). En el lago Agulu en Nigeria, la prevalencia en *Tilapia zillii* de metacercarias de *Clinostomum tilapiae* fue de 1.54%, este estudio, mostró prevalencia mayor en peces hembras (1.1%) que en peces machos (0.9%) y ocurrencia mayor en el mes de mayo (Okoye *et al.*, 2014). Por otro lado, en agua lólicas, en el río Nigeria se registró una prevalencia de metacercarias del 50% de *Clinostomum* spp. en *Tilapia zillii* (Onyedineke *et al.*, 2010). Incluso los cuerpos de agua artificiales son susceptibles de monitoreo, Pinto y colaboradores en 2014 reportaron metacercarias de *Centrocestus formosanus* (31.3%) en *Oreochromis niloticus* en un lago artificial recreativo en Belo Horizonte, Brasil.

Resultado de las relaciones ecológicas en el medio silvestre, se han reportado multiparasitismos en poblaciones de tilapia por las especies de trematodos; *Heterophyes heterophyes*, *Heterophyes aequalis*, *Pygidiopsis genata*, *Haplorchis pumilio*, *Haplorchis yokogawai*, *Phagicola ascolonga* y *Stictodora tridactyla*, en organismos de tilapia nilótica y *Tilapia zillii* en el lago Manzala y Río Nilo en Egipto, con prevalencias de hasta 64.9% (Elsheikha & Elshazly, 2008a, 2008b; Hegazi & Abo-elkheir, 2014). Aunado a lo anterior, en el canal de agua dulce de Ismailia, se reportó en *Tilapia zilli* una prevalencia de 47.4%, 21.4% y 3.64% para los trematodos *Haplorchis yokogawi*, *Pygidiopsis genata* y *Phagicola ascolonga*,

respectivamente (Ibrahim & Soliman, 2010). Esto denota cierta resistencia de los peces a las cargas parasitarias y un riesgo mayor en la ingesta de estos productos.

En las instalaciones acuícolas con producción de tilapia también existen antecedentes de infecciones por trematodos zoonóticos. En China en estanques de mono y policultivo en la provincia de Guangdong, se registró una prevalencia de 1.5% para metacercarias de las familias de trematodos *Heterophyidae* y *Echinostomatidae* parasitando *Oreochromis niloticus* (Kang *et al.*, 2013). En Vietnam se describió una prevalencia de 32% y 24% de metacercarias de *Haplorchis pumilio* y *Haplorchis taichui* en *Oreochromis niloticus* colectadas en estanques de producción asociados al cultivo de arroz y en estanques familiares (Madsen *et al.*, 2015; Van Phan *et al.*, 2010). Además, *Haplorchis pumilio* se ha descrito afectando estanques de engorda (12.5%) y de crías (entre 2.5 y 11.8%) de *Oreochromis niloticus* (Thien *et al.*, 2009), en estas últimas en co-infección con metacercarias de *Centrocestus formosanus* (Chi *et al.*, 2008), trematodo que también se ha asociado a piscifactorías de alevines de tilapia en Costa Rica (Cortés *et al.*, 2010).

En prácticas de acuicultura ribereña como en los denominados whédos en Benín África, se registró la ocurrencia de metacercarias del género *Clinostomum* spp. en *Oreochromis niloticus* con una prevalencia de 6.17%, la infección se localizó en diferentes órganos como piel, branquias, intestino y cavidad oral (Sèdogbo *et al.*, 2019), esta misma relación *Clinostomum* spp.- *Oreochromis* spp. se describió con

una prevalencia de 22% en cuatro unidades de producción ubicadas en Uganda (Walakira *et al.*, 2014).

## **2.6.2.- Nematodos**

### **2.6.2.1.- Agente etiológico**

Los nematodos son helmintos invertebrados pseudocelomados, se han descrito más de 25,000 especies, entre los que se encuentran gusanos de vida libre y parásitos. (Molnár *et al.*, 2006). En los nematodos se puede encontrar diferentes estrategias para dar continuidad a su ciclo de vida. En las especies que incluyen a la tilapia como hospedero; un organismo adulto dioicos (la hembra) alojado en el intestino del hospedador definitivo ovipone, los huevos son liberados con las heces y larvan en el ambiente (L1) (Diaz-Camacho *et al.*, 2002). Posteriormente, un copépodo crustáceo (p. ejem. *Cyclops* spp.) actúa como hospedero primario y permite a la fase L1 desarrollar a L2; los hospedadores intermediarios secundarios, como la tilapia, resultan infectados, cuando se alimentan de los pequeños crustáceos que albergan a la larva de segundo estadio (L2). En el músculo esquelético de la tilapia se desarrolla la larva de tercer estadio (L3) (Leroy *et al.*, 2017; Martínez-Cruz *et al.*, 1989; McCarthy & Moore, 2000). Finalmente, el consumo de la carne cruda de pescado puede ser el vector de infección en el ser humano (Figura 5) (Carrique-Mas & Bryant, 2013).

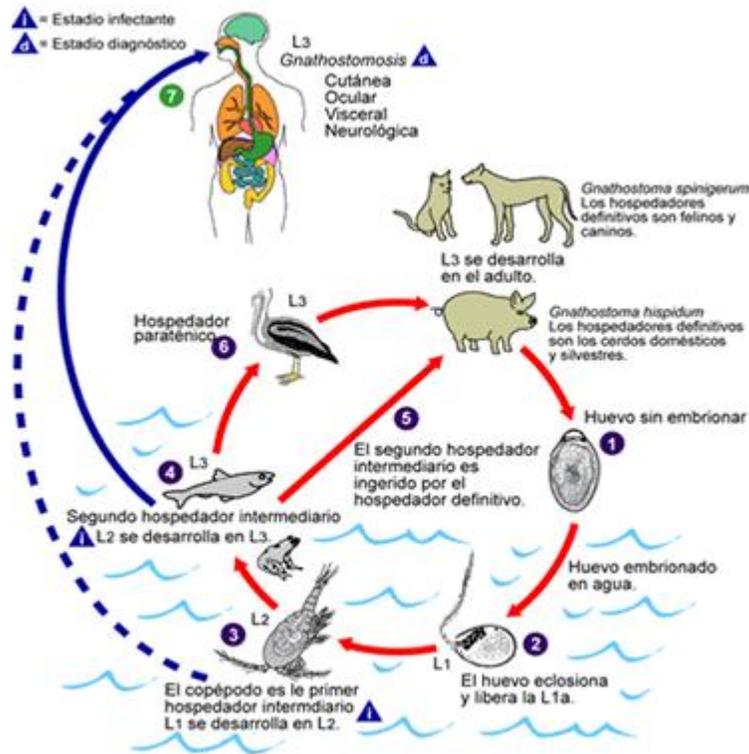


Figura 5.- Ciclo de vida del nematodo *Gnathostoma spinigerum*. Fuente: Tomado de (CDC, 2021b).

### 2.6.2.2.- Infección en tilapias

Aunque en menor medida que para trematodos zoonóticos, muestras de tilapia en cuerpos de agua lenticos y loticos, han mostrado prevalencias para nematodos con potencial zoonótico. Ejemplares de *Oreochromis niloticus*, *Tilapia galilaeae* y *Tilapia zillii* presentaron larvas del nematodo *Contraecum* spp., los peces se colectaron del lago Nasser en Egipto y en el lago Turkana en Kenia, con una prevalencia de 35.6, 0.14 y 18.2%, respectivamente; los parásitos se encontraron alojados en la cavidad corporal y en el hígado (Motamedi *et al.*, 2019; Otachi *et al.*, 2015). Además, en la presa Nyumba ya Mungu en Tanzania se describió en muestras de *Oreochromis amphimelas* cargas parasitarias de *Coentraecum*

spp.. El estudio además mostró prevalencia mayor en machos (46.7%) que en hembras (33.3%) (Chibwana *et al.*, 2020). De igual modo en África se ha descrito la parasitosis concomitante de *Contracaecum* spp. (5.48-27.39%,) y los trematodos *Heterophyes* spp. y *Clinostomum* spp. afectando tilapias de las especies *Oreochromis leucostictus*, *Tilapia zillii* y *Oreochromis niloticus*. Los peces fueron colectados en el lago Naivasha en Kenia y en la reserva Koka en Etiopía (Gulelat *et al.*, 2013; Otachi *et al.*, 2014b).

En México, se ha documentado la ocurrencia del género *Gnathostoma* spp. en *Oreochromis* spp. (Diaz-Camacho *et al.*, 2002). En la presa Temascal en Oaxaca, larvas de la especie *Gnathostoma binucleatum* fueron recuperadas de 3 especies de tilapia (*Oreochromis aureus*, *Oreochromis mossambicus* y *Oreochromis niloticus*), con prevalencias de 1.2, 1.7 y 2.1%, respectivamente (Salgado-Maldonado *et al.*, 2005). Sumado a lo anterior, se han descrito parasitosis por *Gnathostoma* spp. en peces de *Oreochromis mossambicus* (26%) y *Oreochromis niloticus* (7%), colectados en diferentes cuerpos de agua en los Estados de Campeche, Chiapas, Guerrero, Jalisco, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Veracruz (León-Règagnon *et al.*, 2005).

Por otra parte, en casos relacionados a piscifactorías se ha descrito una prevalencia del 10% para el nematodo *Contracaecum* spp. en *Oreochromis niloticus* en estanques de producción en Egipto (Mahmoud *et al.*, 2016). Este nematodo también fue identificado en granjas de cría de *Oreochromis niloticus* en la zona de Gojam en Etiopía, con una prevalencia de 58.8% y con infección concomitante con el trematodo *Clinostomum* spp. (32.4%). En estos casos las

crías con cargas parasitarias representan un riesgo potencial de dispersión hacia las granjas circundantes (Adugna *et al.*, 2020; Cortés *et al.*, 2010; Thien *et al.*, 2009).

### **2.6.3.- Cestodos**

#### **2.6.3.1.- Agente etiológico**

Los cestodos agrupan a cerca de 4,000 especies, la mayoría con ciclos biológicos complejos que involucran varios hospedadores, en los que se alojan como endoparásitos y ectoparásitos. Presentan el cuerpo en forma de cinta constituido de una serie de segmentos llamados proglótidos. En general, el ciclo de vida inicia con el gusano adulto monoico que libera proglótidos con las heces del hospedero final (Machado-Pinto & Laborne, 2016). Los proglótidos contienen huevos que se diseminan en el ambiente donde se desarrolla una larva ciliada llamada coracidio, esta larva infecta a un crustáceo copépodo (1er hospedero) donde se desarrolla la larva procercoide (Lima dos Santos & Howgate, 2011). Los peces (2do hospedero) se parasitan al ingerir a los crustáceos infectados, en el músculo del pez se forma la larva plerocercide y finalmente el ser humano adquiere la parasitosis al ingerir carne cruda de pescado infectada con larvas plerocercoides, permitiendo el desarrollo a estadio adulto y reiniciar el ciclo (Saari *et al.*, 2019) (Figura 6).

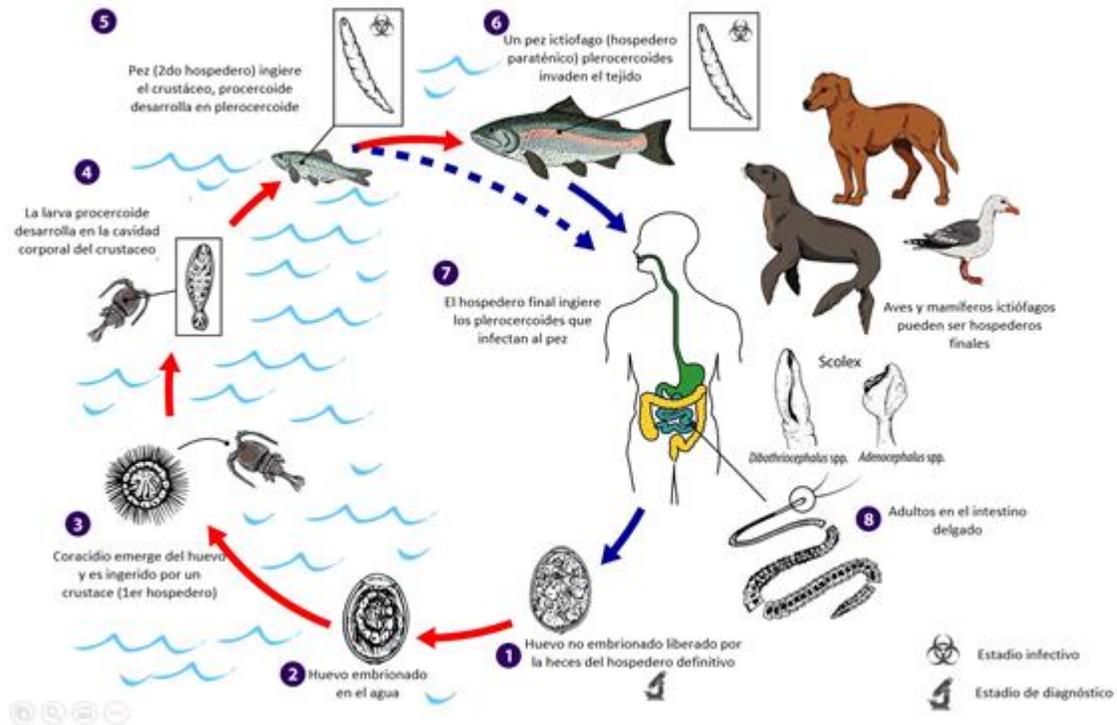


Figura 6.- Ciclo de vida de las tenias de la familia Diphylobothriidae. Fuente: Modificado a partir de (CDC, 2019).

### 2.6.3.2.- Infección en tilapias

Los estudios de tilapias parasitadas por cestodos zoonóticos todavía son escasos; sin embargo, se ha podido aislar ejemplares del cestodo *Schyzocotyle acheilognathi* (syn. *Bothriocephalus acheilognathi*) de los peces *Oreochromis aureus*, *Oreochromis niloticus* y *Oreochromis mossambicus* colectados de dos zonas de rivera en México (Pérez-Ponce *et al.*, 2018). Recientemente se documentó que el pez cíclido *Ptychochromis* cf. *Inornatus* nativo de la isla de Madagascar, mostró infección natural por el cestodo *Schyzocotyle acheilognathi*, un cestodo con potencial zoonótico que puede establecerse hasta en 200 especies de peces de agua dulce; sin embargo, en este estudio, no se

recuperaron ejemplares de *Schyzocotyle acheilognathi* de la tilapia *Oreochromis niloticus* (Scholz *et al.*, 2018).

## **2.6.4.- Protozoarios**

### **2.6.4.1.- Agente etiológico**

Los protozoarios son organismos microscópicos que pueden ser de vida libre o de naturaleza parasitaria, son habitantes de ambientes húmedos y acuáticos (agua dulce y salada) que tienen la capacidad de infectar al ser humano. En general, los protozoarios tienen dos estados de desarrollo; trofozoítos (metabolismo activo) y quistes (estructura de dispersión) (Brooke & Melvin, 1964). En la transmisión de protozoarios, como *Cryptosporidium molnari*, el agua es la principal fuente de infección; sin embargo, el rol de los invertebrados como reservorios es determinante para que la infección en los humanos pueda generarse (Alvarez-Pellitero & Sitjà-Bobadilla, 2002). La especie de crustáceo *Artemia franciscana*, se ha reportado como vehículo para la transmisión de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. (Ryan & Cacciò, 2013). Además, la dispersión se lleva a cabo por fosis, por ejemplo, por contacto con los peces o por contaminación cruzada de los alimentos con aguas no tratadas (Fayer, 2010; Ghoneim *et al.*, 2012; Milanez *et al.*, 2017). El ser humano puede infectarse al ingerir carne de pescado contaminada y por contacto con los ambientes en que se desarrollan los peces.

#### **2.6.4.2.- Infección en tilapias**

Milanez y colaboradores en 2017 reportaron infección por *Vermamoeba vermiformis* en las branquias e intestinos de *Oreochromis niloticus*, las muestras se obtuvieron del lago Taal en Filipinas y presentaron una prevalencia entre el 24 y 25%. Cabe señalar que los trofozoitos de *V. vermiformis* se documentan como agentes etiológicos de problemas oculares en el ser humano (Milanez *et al.*, 2017). En prácticas acuícolas de tilapia en Egipto se identificó infección por *Giardia duodenalis* en peces *Oreochromis niloticus* (2.1%), el mismo estudio registró prevalencia de 4.5% para muestras colectadas en el Río Nilo (Ghoneim *et al.*, 2012). En otro estudio en estanques de Papúa Nueva Guinea se aisló el protozooario *Cryptosporidium parvum* sub-tipos IIaA14G2R1 y IIaA19G4R1 a partir de muestra de tilapias (2.4%), el mismo estudio no mostró prevalencias en peces de vida libre (Koinari *et al.*, 2013). La infección por protozoarios en el ser humano está asociada al consumo de agua contaminada, su ocurrencia indica calidad baja del agua en los sistemas de producción y captura.

#### **2.7.- Mecanismos de dispersión parasitaria**

Evidentemente existe un riesgo de zoonosis parasitaria asociado al consumo de tilapia, la dispersión de estos agentes etiológicos es clave, para afectar al ser humano, de manera recurrente estos organismos se propagan mediante vehículos de transmisión como; el ser humano, la fauna nociva, alimentos crudos, el agua contaminada, tierra e incluso el aire (Bao *et al.*, 2019; Betson *et al.*, 2020; Nadler

*et al.*, 2005; Saltos Solórzano *et al.*, 2018). Especialmente las acciones del hombre como; la urbanización, intensificación de producción alimentaria, la modernización de los mercados y los cambios en los hábitos alimenticios, exponen a las poblaciones al contacto con cargas parasitarias no habituales, entre ellas de helmintos y protozoarios de tipo zoonótico (Carrique-Mas & Bryant, 2013; Pinheiro *et al.*, 2019). Mecanismos antropocéntricos y naturales son clave en la introducción y colonización de especies parasitarias en nuevas áreas geográficas.

### **2.7.1.- Antropocéntricos**

#### **2.7.1.1.- Globalización de los hábitos culinarios**

La carne de pescado se ha posicionado en el mercado como sustituto de carnes de res, puerco, e incluso de pollo, ya que el consumidor demanda carne baja en grasas como parte de nuevas tendencias en los estilos de vida (Virginia *et al.*, 2018). Desafortunadamente, el consumo de carne cruda de pescado es parte de la tendencia gastronómica, los platillos que la incluyen pueden influir en la adquisición y dispersión de parásitos zoonóticos (Scholz & Kuchta, 2016); debido a que la mayoría de los casos de infección en humanos se relacionan al consumo de platillos que incluyen carne cruda en su elaboración (Adams *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2017). Alimentos como sushi o sashimi exponen al ser humano (Chi *et al.*, 2009) a afecciones particulares causadas por trematodos, cestodos y nematodos adquiridos por el consumo de la tilapia (Wang *et al.*, 2017). En Perú se documentó la transmisión de los trematodos *Centrocestus formosanus* y *Haplorchis pumilio* asociados al consumo de ceviche (Pulido-Murillo *et al.*, 2018). Mientras que

Vicente-Pardo en 2016 reporta que las Larvas L3 del género *Anisakis* spp. se han relacionado con el consumo de carne cruda de peces o cefalópodos en platillos como sushi, sashimi, ceviche, gravlax, lomi-lomi, e incluso en pescados bajo conservas en escabeche, vinagre, desecado y ahumados.

#### **2.7.1.2.- Mercadeo de alimentos acuícolas**

La globalización del comercio ha influido en el comportamiento epidemiológico de las cargas parasitarias de tipo zoonótico (Scholz & Kuchta, 2016). Por ejemplo, los nemátodos *Anisakis simplex* s.s. y *A. pegreffi*, se han reportado en arenque ahumado y caballa congelada, productos para consumo en Egipto. En análisis molecular (ITS-1, 5.8S e ITS-2) los parásitos mostraron relación filogenética con parásitos de China, Noruega y Holanda, países desde donde se importaba la carne de pescado (Arafa *et al.*, 2019). Incluso en la adquisición de productos acuícolas pueden existir malas prácticas de comercio, Williams y colaboradores en 2020 reportaron, recurrencia en la falsificación de carne de pargo (pez para la elaboración de sushi) por carne de tilapia. Las muestras de tilapia en el estudio presentaron infección por tres especies de parásitos zoonóticos: *Gnathostoma* spp., *Cryptosporidium parvum* y *Dibothriocephalus latus* (sin. *Diphyllobothrium latum*). Respecto al control de parásitos en los alimentos, instancias como FAO-WHO (*Codex Alimentarius*) y la Unión Europea (regulación EC no 853/2004) establecen la aplicación de congelado en productos acuícolas y de la pesca como medida de prevención (Lima dos Santos & Howgate, 2011). Sin embargo, el riesgo de infección es latente ante el nivel de flujo en el mercado actual.

### 2.7.1.3.- Importación/exportación de organismos

Las tilapias han sido introducidas en aproximadamente 90 países en todo el mundo, inicialmente con fines de acuicultura, sin embargo, en muchos casos han colonizado cuerpos de agua como ríos, lagos, arroyos y presas, situación que representa ventajas y desventajas en diferentes aspectos socioeconómicos y ambientales (Gu *et al.*, 2019). Entre las problemáticas, se ha asociado la disminución de los recursos pesqueros con la introducción de especies exóticas (Espinosa-Lemus *et al.*, 2009). Conjuntamente la dispersión parasitaria parece potenciarse con la importación de organismos con finalidad zotécnica. En México, la introducción de *cíclidos* (Macpherson, 2005; Martínez-Cruz *et al.*, 1989; McCarthy & Moore, 2000; Ogata *et al.*, 1998) y gasterópodos (*Melanoides tuberculata*) en la presa Miguel Alemán, parecen haber sido los detonantes de un brote de gnathostomiasis en la población durante la década de los 70's (Scholz & Salgado-Maldonado, 2000).

Otros estudios sugieren la co-introducción de parásitos junto con ciprínidos importados desde Asia. En la laguna de Mezitlán en Hidalgo (México), embalse con pesca y consumo de ciprínidos y *Oreochromis niloticus*, se ha identificado la presencia de metacercarias de *Clinostomum complanatum*, de larvas del nematodo anisákido *Contracaecum* spp. y de larvas del cestodo *Bothriocephalus acheilognathi* (Monks *et al.*, 2005). Mientras que la identificación del cestodo *Schyzocotyle acheilognathi*, se ha logrado en tilapias de áreas geográficas aisladas como las islas de Hawái, Puerto Rico, Cuba y Sri Lanka, esta especie fue

identificada por primera vez en Japón en cultivos de carpa (*Acheilognathus rombeus*) (Scholz *et al.*, 2018). Además, este parásito se ha documentado en regiones continentales de México, donde coexisten cíclidos y ciprínidos (Pérez-Ponce *et al.*, 2018). Estos estudios denotan una relación entre la movilización de organismos y la dispersión de cargas parasitarias.

#### **2.7.1.4.- Actividad migratoria**

Las migraciones humanas, incluida la movilidad temporal como el turismo (Chai & Jung, 2017), conforman un mecanismo de dispersión de agentes parasitarios y de otros agentes infecciosos (Scholz & Kuchta, 2016; Secretaría de Salud, 2020). Por ejemplo, en Corea se han identificado humanos portadores de *Heterophyes heterophyes* y *H. dispar*, los pacientes reportaron haber viajado con anterioridad a Sudán, un área de alto endemismos de estos parásitos (Chai & Jung, 2017). En un caso similar, el hospital de enfermedades tropicales de Londres reportó en 2009, 2 casos de Gnatostomiasis. La encuesta epidemiológica mostró que ambos pacientes, habían viajado a Botswana y consumieron platillos que incluían carne cruda en su preparación, el diagnóstico permitió identificar a *Gnathostoma spinigerum* como el agente etiológico (Herman, 2009).

#### **2.7.2.- Naturales**

Los hospederos finales silvestres de los parásitos, participan de manera activa en la propagación de estos agentes etiológicos a diferentes escalas espaciales; entre

ellos las aves silvestres y especialmente las de conductas migratorias pueden representar un vector de larga distancia para una amplia diversidad de microorganismos (Tsiodras *et al.*, 2008). En las infecciones zoonóticas en las que participan las tilapias, se han identificado como hospederos finales a varias aves piscívoras: *Ardeola grayii* y *Bubulcus ibis*, relacionadas al ciclo de vida de *Haplorchis pumilio* (Umadevi & Madhavi, 2006), la aninga africana (*Anhinga rufa*) al de *Clinostomum* spp. (Mutengu *et al.*, 2018) y la garza (*Butorides striatus*) con *Centrocestus formosanus* (Scholz & Salgado-Maldonado, 2000). En parásitos nemátodos, las aves garceta (*Egretta alba*), gran garza (*E. alba*), pelícano americano blanco (*Pelecanus erythrorhynchos*), gran garza azul (*Ardea herodias*), garza blanca (*E. thula*), cormorán neotropical (*Phalacrocorax olivaceus*), pelícano pardo (*P. occidentalis*) han presentado infección por *Gnathostoma* spp. (Díaz-Camacho *et al.*, 2002; Mosqueda-Cabrera *et al.*, 2009).

Incluso otros grupos taxonómicos de hábitos ictiófagos intervienen en los ciclos de transmisión parasitaria; a este respecto poblaciones de tortugas (*Kinosternon integrum*) y sapos (*Rana zweifeli*) se han relacionado a cargas parasitarias de nemátodos del género *Gnathostoma* spp. (Mosqueda-Cabrera *et al.*, 2009). Además, algunos anfibios (*Lithobates megapoda* y *Ambystoma dumerilii*) y serpientes (*Thamnophis melanogaster*) se han asociado al cestodo *Schyzocotyle acheilognathi* (syn. *Bothriocephalus acheilognathi*) (Pérez-Ponce *et al.*, 2018). Estas relaciones ecológicas evidencian el potencial de dispersión que estos parásitos mantienen en la red trófica.

## 2.8.- Distribución geográfica de los agentes etiológicos

Las características de los hospederos naturales y las acciones antropocéntricas a las que son sometidos influyen en la distribución parasitaria. Actualmente Asia cuenta con varios países de alto endemismo, quizá influenciados por sus hábitos culinarios que incluyen el consumo de carne cruda. Vietnam, China, Tailandia, Laos, Filipinas e India, cuentan con reportes de parásitos trematodos asociados a la tilapia como: *Opisthorchis* spp. (Dao *et al.*, 2017), *Clonorchis* spp. (Thi *et al.*, 2010; Van De *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2017), *Haplorchis* spp. (Hop *et al.*, 2007), *Heterophyes* spp. (Kang *et al.*, 2013), *Stellantchasmus* spp. (Wiriya *et al.*, 2013), *Echinostoma* spp. (Tangtrongchitr & Monzon, 1991), *Procerovum* spp. (Hung *et al.*, 2015), y *Centrocestus* spp. (Chi *et al.*, 2008). En menor medida se han reportado otros grupos taxonómicos en el continente; en Irán se identificó el nemátodo *Contraecaecum* spp. (Motamedi *et al.*, 2019), en Nueva Guinea el protozoario *Cryptosporidium parvum* subtypes IlaA14G2R1 y IlaA19G4R1 (Koinari *et al.*, 2013) y en Filipinas la ameba *Vermamoeba vermiformis* (Milanez *et al.*, 2017).

El continente africano se destaca por la biodiversidad parasitaria en muestras de tilapia, solo en Egipto se ha documentado la presencia de los trematodos; *Ascocotyle (Phagicola) ascolonga*, *Haplorchis pumilio*, *Haplorchis yokogawai*, *Heterophyes aequalis*, *Heterophyes heterophyes*, *Phagicola ascolonga*, *Pygidiopsis genata* y *Stictodora tridactyla* (Elsheikha & Elshazly, 2008a, 2008b; Hegazi & Abo-elkheir, 2014; Ibrahim & Soliman, 2010; Lobna *et al.*, 2010). Así mismo en otros países de alta actividad acuícola como; Nigeria, Kenia, Zimbabwe, Etiopía, Benín y Uganda, se ha documentado la presencia de metacercarias de

*Clinostomum* spp. (Adugna *et al.*, 2020; Echi *et al.*, 2009b; Echi *et al.*, 2009a; Mutengu *et al.*, 2018; Okoye *et al.*, 2014; Onyedineke *et al.*, 2010; Sèdogbo *et al.*, 2019; Walakira *et al.*, 2014), *Centrocestus* spp. (Mahmoud *et al.*, 2016) y *Heterophyes* spp. (Ojwala *et al.*, 2018; Otachi *et al.*, 2015). Además, los reportes se complementan con la presencia del nematodo *Contraecaecum* spp. en Kenia, Tanzania y Etiopía (Adugna *et al.*, 2020; Chibwana *et al.*, 2020; Gulelat *et al.*, 2013; Otachi *et al.*, 2015; Otachi *et al.*, 2014a; Yimer, 2000), y el cestodo *Schyzocotyle acheilognathi* en Madagascar (Scholz & Kuchta, 2016).

En Europa la diversidad de parásitos es menor, no obstante, se cuenta con antecedentes de los trematodos *Clonorchis sinensis*, *Heterophyes heterophyes*, *Heterophyes dispar*, *Haplorchis taichui* y *Haplorchis pumilio*, junto con el nematodo *Gnathostoma* spp. en países como Grecia, Italia, Turquía, Francia (Chai, 2014; Chai & Jung, 2017, 2020), España (Chai & Jung, 2020; Hung *et al.*, 2013), Rusia (Wang *et al.*, 2018a), Ucrania (Hegazi & Abo-elkheir, 2014), Alemania, Reino Unido, Suiza y Bélgica (Leroy *et al.*, 2017).

En América, los estudios han mostrado la ocurrencia de parásitos por el consumo de platillos de origen asiático (Castellanos-Garzón *et al.*, 2019). Los esfuerzos de muestreo se han aplicado en Venezuela para *Haplorchis pumilio* (Díaz *et al.*, 2008) y en Brasil, Costa Rica y Estados Unidos para *Centrocestus formosanus* (Cortés *et al.*, 2010; Fleming *et al.*, 2011; Pinto *et al.*, 2018). En este contexto, en México todavía es poca la información respecto a la distribución de parásitos zoonóticos asociados al consumo de tilapia, sin embargo, en la cuenca del río Papaloapan en los estados de Veracruz, Oaxaca y Puebla, se describieron 39 familias de

helmintos parasitando a 35 especies de peces; entre estos el trematodo *Centrocestus formosanus* se aisló de 16 peces hospedadores, incluidas dos especies de cíclidos (*Cichlasoma fenestratum* y *Cichlasoma urophthalmus*) (Salgado-Maldonado *et al.*, 2005).

En otro estudio realizado en el Estado de Chiapas; se documentaron 72 especies de helmintos identificados en un total de 54 especies de peces de agua dulce entre ellas 10 cíclidos, los trematodos *Clinostomum* spp. se aislaron de cíclidos del género *Vieja* spp.. en el mismo estudio las especies *Ascocotyle* (*Ascocotyle*) *tenuicollis* y *Ascocotyle* (*Leighia*) *nunezae* se recuperaron del cíclido *Thorichthys meeki* y *Centrocestus formosanus* de *Astatherops robertsoni* y *Vieja synspila* ambos cíclidos de hábitos silvestres (Salgado-Maldonado *et al.*, 2011). Finalmente, *Anisakis* spp. se ha documentado en riveras de Campeche, Chiapas, Jalisco, Michoacán y Tabasco, parasitando al pez cíclido *Cichlasoma urophthalmus* a nivel de gónadas, corazón, intestinos, riñón, hígado, mesenterio, y estómago (Garrido-Olvera *et al.*, 2006).

## **2.9.- Afecciones en salud pública**

El ser humano se encuentra cada vez más expuesto a agentes patógenos, se estima que el 50% de 1500 enfermedades infecciosas que afectan al ser humano tiene un origen zoonótico (Shapiro, 2017). Entre estos patógenos los parásitos también representan un problema de salud pública, solo en 2010, se reportaron 91.1 millones de casos de infección de origen parasitario y 51,909 decesos

asociados a estas infecciones a nivel mundial. Además, se estima que un 48% de estos casos son de origen alimentario (Franssen *et al.*, 2019). Entre los riesgos asociados a la tilapia, los protozoarios pueden ser una importante causa de infección intestinal y de eventos de diarrea en el ser humano, al año se registran alrededor 500,000 muertes por enfermedades diarreicas, que afectan principalmente a niños menores de 5 años (Burgess *et al.*, 2017).

Así mismo, los helmintos que han sido reportados en peces pueden ser causantes de hasta 18 millones de infección solo en Asia (Ibrahim & Soliman, 2010; Mahmoud *et al.*, 2016; Wiriya *et al.*, 2013), conjuntamente cerca de 20 millones de personas podrían estar infectadas por cestodos. Sin embargo, se calcula que 500 millones de personas se encuentran en riesgo de parasitosis a nivel mundial. Como referencia Europa proyecta una tasa de infección de 3.8 casos por cada 100,000 habitantes, para infecciones por nematodos (Chi *et al.*, 2008; Lima dos Santos & Howgate, 2011), mientras que en México se reportaron 39.81 casos por cada 100.000 habitantes solo para ascariasis en 2015 (Gutiérrez-Jiménez *et al.*, 2019). En este contexto, México es un país con alta población y extensión territorial, cuenta con una alta actividad migratoria y rápido crecimiento poblacional (Secretaría de Salud, 2020; Shamsi, 2019). Además, en el país existen poblaciones susceptibles de infecciones gastrointestinales, debido a condiciones de desnutrición (Gutiérrez-Jiménez *et al.*, 2019). Estos factores en conjunto o de manera aislada pueden generar sinergia para el desarrollo de infecciones en el ser humano.

## 2.10.- Ocurrencia de casos clínicos en humanos

El curso de la enfermedad infecciosa por parásitos puede ser muy variable en el ser humano; la manifestación clínica va desde subclínica hasta polisintomática, donde el grado de severidad es dependiente de diversos factores como la carga parasitaria, el estado inmunológico del hospedador y la exposición previa al agente etiológico (Chai, 2014). Los trematodos hepáticos pueden presentar periodos largos de latencia, con afecciones graves en estado crónico. *Opisthorchis verrini* y *Clonorchis sinensis* pueden desarrollar afección hepática, pancreatitis, colangitis, coledocolitiasis y colangiocarcinoma (Dao *et al.*, 2017; Hung *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2018a), incluso *Opisthorchis viverrini* se cataloga como agente carcinógeno (Dao *et al.*, 2017; Tesana *et al.*, 2014) y *Clonorchis sinensis* como carcinógeno de clase I por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (Wang *et al.*, 2018a). También se ha documentado que el trematodo *Opisthorchis felineus*, puede ser el causante de cirrosis hepática (Naegel, 1990).

Además, los organismos del género *Clinostomum* spp. causan daño al ser humano en la faringe, la región aritenoides, pared orofaríngea y banda linfática lateral, causando malestar en la garganta, dolor al ingerir alimentos, flema sanguinolenta y fiebre (Acosta *et al.*, 2016). Los síntomas se diagnostican como faringitis, laringitis o el síndrome de halzoun (Echi *et al.*, 2009b; Fang *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2017; Williams *et al.*, 2020). Por otro lado, los trematodos intestinales (*Heterophyidae* y *Echinostomatidae*) pueden causar diferentes grados de necrosis focal e inflamación de la mucosa intestinal, infecciones graves pueden causar eosinofilia, dolor abdominal, diarrea severa, anemia y anorexia (Petney &

Taraschewski, 2011; Wiriya *et al.*, 2013). Así mismo, los huevos heterofídicos pueden transferirse a través de torrente sanguíneo a sitios ectópicos inusuales (Hegazi & Abo-elkheir, 2014), produciendo granuloma eosinofílico en corazón, cerebro y columna vertebral (Elsheikha & Elshazly, 2008a, 2008b; Hop *et al.*, 2007; Kang *et al.*, 2013). La infección por *Heterophyes heterophyes* puede manifestarse con dolor abdominal leve a moderado, diarrea, letargia, anorexia y pérdida de peso, además, puede presentar parasitismo errático extraintestinal en órganos como corazón, cerebro y médula espinal (Chai, 2014).

Ante una infección por el nematodo *Gnathostoma* spp. el cuadro clínico incluye malestar abdominal intermitente, movilidad corporal del dolor, hinchazón de bazo, prurito, abultamiento subcutáneo e hinchazón en las áreas cutáneas afectadas, además se presenta movilidad de larva (*larva migrans*). De forma regular los pacientes presentan cuadros de eosinofilia (mayor a  $0.4 \times 10^9$  células/L) (Díaz-Camacho *et al.*, 2002; Herman, 2009; Martínez-Cruz *et al.*, 1989). Conjuntamente puede desencadenar enfermedad visceral, hepática, pulmonar, gastrointestinal, y con menor frecuencia urogenital (Carod-Artal *et al.*, 2017; McCarthy & Moore, 2000). En los casos más graves hay afección cerebral y ocular que puede inducir al paciente a radiculomielitis con paraplejía, mieloradiculoencefalitis, y hemorragia subaracnoidea o cerebral (Leroy *et al.*, 2017).

Además, los parásitos protozoarios *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. son agentes etiológicos de cuadros diarreicos polisintomáticos que se manifiestan con distensión abdominal, vómito, fiebre y pérdida de peso (Ghoneim *et al.*, 2012; Koinari *et al.*, 2013; Ryan & Cacciò, 2013; Šlapeta, 2013; Squire & Ryan, 2017).

Por otro lado, la amiba *Vermamoeba vermiformis* puede ser agente causal de patologías oculares como la queratitis, enfermedad que afecta principalmente a la población que labora en la acuicultura y pesca. Además, este patógeno es portador simbiótico de otros microorganismos de importancia sanitaria como *Legionella* spp., *Mycobacterium* spp. y el virus *Faustovirus* spp. (Milanez *et al.*, 2017).

## **2.11.- Diagnóstico parasitológico**

Uno de los retos más importantes a los que se enfrentan las poblaciones respecto a las infecciones parasitarias es el diagnóstico. Características como baja ocurrencia de brotes, diseminaciones lentas y la tendencia a la cronicidad, dificultan la atención de la enfermedad (Franssen *et al.*, 2019). Sin embargo, por la importancia en salud pública de algunas enfermedades, se continúa con investigación para la mejora de las herramientas de diagnóstico, incluyendo inmunoensayos, enfoque molecular, proteómica, espectrometría de masas, entre otros (Ndao, 2009). Estas herramientas buscan complementar los métodos clásicos de diagnóstico, y pueden clasificarse como macroscópicas, microscópicas, histológicas, microbiológicas, inmunológicas y moleculares. Su aplicación es diferencial de acuerdo con la taxonomía del parásito que se busca diagnosticar, y atienden desde un diagnóstico presuntivo hasta el aislamiento e identificación del agente etiológico (Sitjà-Bobadilla & Oidtmann, 2017). Para la determinación parasitaria de las zoonosis que afectan a la tilapia, el diagnóstico puede dirigirse a los diferentes hospedadores intermediarios.

### **2.11.1.- Hospederos primarios**

El estudio de las cargas parasitarias en los hospederos primarios no es una tarea recurrente, sin embargo, organismos gasterópodos como *Melanooides tuberculata* (Cortés *et al.*, 2010; Dzikowski *et al.*, 2003; Hung *et al.*, 2013; Petney *et al.*, 2013; Pinto *et al.*, 2014; Zhao-Rong *et al.*, 2005), *Pirenella conica* (Chai, 2014; Chai & Jung, 2017; Hung *et al.*, 2013) y copépodos del género *Cyclops* spp. se han identificado como hospederos en el ciclo de vida de algunos parásitos transmitidos por el consumo de tilapia (Leroy *et al.*, 2017). El diagnóstico en moluscos gasterópodos, incluye su aislamiento en frascos transparentes con agua, en ellos se observa la expulsión del parásito en estadio de cercarias que serán diferenciadas por su morfología y por métodos moleculares; por ejemplo, la determinación de *Opisthorchis viverrini* se logra mediante la amplificación del gen COI (Dao *et al.*, 2017).

### **2.11.2.- Hospederos secundarios**

Para muestras de tilapias y otros peces en los que se sospechan cargas de parásitos zoonóticos, el diagnóstico es posible mediante biopsia de branquias, citología de piel, examinación fecal y necropsia general realizada inmediatamente después del deceso (6-8 horas máximo) (Scott & Govett, 2009). Para la observación de ectoparásitos por microscopía (40x- 100x) se realiza con un raspado sobre la piel en dirección craneal-caudal, sobre las aletas y branquias, la

examinación de branquias se complementa con microscopía estereoscópica. La recuperación de endoparásitos requiere la disección de órganos diana como hígado, bazo, tracto digestivo y la cavidad visceral (Mjakakhamis & Sagweorina, 2017). Para la recuperación de metacercarias de trematodos enquistadas, la carne seccionada se observa entre dos placas de vidrio a contraluz, utilizando una fuente luminosa de 100 w (Diaz-Camacho *et al.*, 2002). Las muestras se procesan por digestión artificial con pepsina, y el material resultante es filtrado y lavado con solución salina fisiológica al 0.85% para poder realizar el aislamiento (Elsheikha & Elshazly, 2008a, 2008b).

### **2.11.3.- Hospederos definitivos y accidentales**

En el diagnóstico de helmintos en hospederos finales silvestres, es importante la localización anatómica. Ejemplares de trematodos, nematodos y cestodos, se recuperan regularmente del sistema digestivo de aves, el prolapso cloacal puede ser signología de infección. Los huevos se aíslan a partir de excretas y los adultos a partir de estudios post-mortem (Atkinson *et al.*, 2009). En pacientes como el ser humano, se requiere de técnicas de diagnóstico no invasivas; por ejemplo, la concentración por flotación, este procedimiento coproparasitológico, permite la identificación de huevos de helmintos a partir de muestras de excretas, donde los huevos con una gravedad específica mayor a 1,18g/mL flotan inmersos en una suspensión saturada de cloruro de sodio (Kapel *et al.*, 2009). A menudo el diagnóstico final para nematodos se basa en epidemiología clínica, química sanguínea (hipereosinofilia y prueba serológica positiva) y aislamiento de larvas en

biopsias de piel, aunque esta raramente se realizan (Clément-Rigolet *et al.*, 2004; Leroy *et al.*, 2017). La recuperación de los diferentes estadios parasitarios requiere de su deposición en solución de etanol al 70% (Marques & Cabral, 2007) para su posterior caracterización morfométrica e identificación mediante claves taxonómicas (Sepulveda & Kinsella, 2013).

## **2.12.- Tratamientos en la acuicultura**

Ante los problemas de salud pública y debido al aumento en la intensidad de cultivo de tilapia y al brote de enfermedades, los peces se encuentran cada vez más expuestos al uso de fármacos (Han *et al.*, 2020). Un escenario poco favorable debido a que la medicación en poblaciones de tilapias es un área naciente en la acuicultura y todavía más en la pesca. Incluso en la práctica acuícola se ha reportado el uso de medicamentos o compuestos antiparasitarios que están diseñados para otros grupos de organismos como aves o mamíferos (Lieke *et al.*, 2019). No obstante, cada vez se desarrollan más alternativas de administración antiparasitaria en los organismos acuáticos que cursan patologías. Estos tratamientos y su vía de administración obedecen a las características morfológicas y fisiológicas de los organismos acuáticos.

## **2.12.1.- Sistema digestivo en peces teleósteos**

### **2.12.1.1.- Anatomía**

El sistema digestivo y sus parámetros fisiológicos juegan un papel importante en absorción de los fármacos administrados en los peces; las tilapias son organismos monogástricos (Dauda *et al.*, 2019) que cuentan con un sistema digestivo, similar al de los mamíferos, el esófago desemboca en el estómago, lugar donde transita el alimento para llegar posteriormente al intestino (Polk *et al.*, 1994). Los hábitos alimenticios de la tilapia corresponden a una dieta omnívora (Awaad *et al.*, 2014), en la cual suelen ingerir pequeños invertebrados y microalgas. Así mismo, los peces teleósteos (peces óseos) como la tilapia, cuentan con labios que ayudan a la captura del alimento. En la cavidad oral cuentan con el órgano epibranchial (de función respiratoria) y válvulas que suelen estar provistas de papilas gustativas. La lengua es inmóvil y posee un soporte esquelético y de tejido conectivo, poseen faringe y una válvula faríngea. El esófago se describe como un tubo digestivo de epitelio columnar estriado (Kapoor *et al.*, 1976).

El estómago de la tilapia nilótica está compuesto por diferentes túnicas: mucosa, submucosa, muscularis y serosa. La túnica mucosa consta de una serie de pliegues longitudinales altos que se proyectan al lumen. La superficie de la mucosa tiene apariencia de mosaico. Las células epiteliales superficiales se caracterizan por la presencia de vacuolas yuxtancleares y microvellosidades. En la mucosa hay presencia de fosas gástricas (foveolas) que segregan mucinas neutras y ácidas. La capa muscular consta de dos o tres capas compuestas enteramente por células de músculo liso (Osman & Caceci, 1991). El intestino de

las tilapias adultas de la especie *Oreochromis niloticus* presenta una longitud total entre 294-451 cm, se conforma por 5 regiones denominadas bucle hepático, bobina principal proximal, asa gástrica, bobina distal mayor y segmento terminal, estas regiones se posicionan en la cavidad torácica del pez en forma de espiral descendente (centrípetas) y ascendente (centrifugas) (Smith *et al.*, 2000).

#### **2.12.1.2.- Factores biológicos asociados a la administración de compuestos antiparasitarios en peces**

El pH del estómago en los peces fluctúa en intervalos de 1.5 a 6, su variación es dependiente de factores como los estados de ayuno y alimentación, el tipo de alimento ingerido y la etapa de digestión en que se encuentra el organismo (Polk *et al.*, 1994). Además, la temperatura juega un papel importante en la digestión, a temperatura menor disminuye la reacción de ingesta en los peces, la temperatura promedio en teleósteos para su correcta alimentación ronda los 17-20°C, mientras en la tilapia es óptima entre 27-30°C (Kapoor *et al.*, 1976). A nivel estomacal los componentes del tejido conectivo tanto de la lámina propia de la mucosa como de la túnica submucosa contienen células inmunocompetentes, particularmente linfocitos, macrófagos, granulocitos y mastocitos (Osman & Caceci, 1991). La sección del intestino es el lugar donde se lleva a cabo la absorción de nutrientes; además, regula el equilibrio iónico e hídrico y funciona como barrera contra patógenos invasores (Trần Ngọc, 2017).

El transporte de sustancias a través del epitelio intestinal se logra mediante diferentes mecanismos, que ocurren en los enterocitos; para moléculas que siguen

su gradiente electroquímico, sin carga y solubles en lípidos actúa el transporte por difusión simple. Cuando se trata de moléculas más grandes, con carga y solubles en agua actúa el sistema de transporte por difusión facilitada, conjuntamente cuando las moléculas van contra gradiente electroquímico se activa el transporte activo primario, mientras que el transporte activo secundario utiliza la energía generada por el gradiente electroquímico de otra sustancia (Sundell *et al.*, 2017). La absorción de elemento como azúcares y aminoácidos, se da por este último tipo de transporte, y es dependiente de la energía proporcionada de manera secundaria por el gradiente de  $\text{Na}^+$  y bombas de  $\text{Na}^+$  ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasas) que atraviesan la membrana basolateral (Collie & Ferraris, 1995).

Las enzimas digestivas en los peces, se secretan al lumen a través de la mucosa gástrica, ciego pilórico, páncreas, y la mucosa intestinal para la hidrólisis de proteínas, péptidos, carbohidratos y grasas. En principio el estómago genera HCl y la mucosa gástrica proteasas de actividad a pH bajos, el jugo pancreático contiene principalmente tripsina de actividad en medio alcalino, además, contiene amilasa, maltasa y lipasa, mientras que el ciego pilórico y el intestino medio generan una variedad de enzimas que digieren proteínas, carbohidratos y grasas que son activas a un pH neutro o ligeramente alcalino (Kapoor *et al.*, 1976).

## **2.12.2.- Sistema respiratorio en peces teleósteos**

### **2.12.2.1.- Anatomía**

Los peces son organismos acuáticos que utilizan el oxígeno disuelto en el agua para su respiración, y son dependientes de su disponibilidad para la activación

metabólica, que les permite llevar a cabo diferentes funciones vitales (Job, 1969). Las branquias son los órganos encargados de realizar el intercambio gaseoso ( $O_2$ - $CO_2$ ), la estructura consta de un arco branquial de estructura ósea que recubre la arteria aferente (encargada de retorno de la sangre). Del arco branquial ramifican vasos sanguíneos y los filamentos branquiales, las puntas culminan en estructuras denominadas lamelas que son estructuras digitiformes, cubiertas por un epitelio plano simple (epitelio lamelar). En las branquias se encuentran células calciformes secretoras de mucina, que forman la mucosa que actúa como capa mecánica de protección (Torres *et al.*, 2010). Además, el revestimiento bucal y la faringe de algunos teleósteos está ricamente vascularizado como apoyo en la función del intercambio aéreo de gases (Kapoor *et al.*, 1976).

#### **2.12.2.2.- Mecanismos biológicos asociados con la administración de compuestos antiparasitarios en peces**

Para poder realizar el intercambio gaseoso en los peces, los capilares ubicados en las lamelas cuentan con un endotelio y un epitelio lamelar que en conjunto forman una barrera hemodinámica, que expone a los eritrocitos lo más cerca del medio acuático. Conjuntamente en la base de las lamelas y en el epitelio opercular, las tilapias cuentan con célula osmorreguladoras de cloro, las que secretan NaCl a través de un gradiente electroquímico producido por la acción de una ATPasa  $Na^+/K^+$ , este gradiente participa en el balance ácido base y en procesos de aclimatación cuando los peces cambian de ambiente (Torres *et al.*, 2010). Características como el tamaño del pez, salinidad, temperatura y presión de

oxígeno influyen en la tasa respiratoria; oscilando entre 5 a 40 mL/h para organismos de entre 5 a 80 g en la especie *Tilapia mossambica* (Job, 1969).

### **2.13.- Administración de tratamientos antiparasitarios en peces**

La gama de agentes antiparasitarios disponibles para su uso en la acuicultura son administrados por diferentes vías: oral, intraperitoneal y respiratoria, esta última se aplica de manera regular por medio de baños de inmersión, el procedimiento requiere de la disolución del fármaco en pequeñas porciones de agua o directamente en el estanque, su acción permite eliminar a los parásitos y todas sus estadios presentes y la duración del baño es dependiente de la velocidad del recambio de agua con que cuenta el sistema (Prieto, 2004). Esta terapéutica se ha utilizado para la administración de antibióticos en la tilapia, por ejemplo, ciprofloxacina (Okoroafor *et al.*, 2017) y oxitetraciclina (Julinta *et al.*, 2017), conjuntamente es una vía de administración para antihelmínticos y otros compuestos antiparasitarios (Athanasopoulou *et al.*, 2009; Thing *et al.*, 2016).

Por otro lado, la administración de fármacos por vía oral es una alternativa menos recurrente; sin embargo, se ha reportado la administración oral de compuestos quimioterapéuticos como la ivermectina y sulfonamidas en peces (Athanasopoulou *et al.*, 2009). Además, un antihelmíntico como el praziquantel se ha administrado a poblaciones de tilapia por vía oral, en este procedimiento el fármaco es adherido al alimento comercial para poder dispensar a los peces (El-Banna *et al.*, 2008). El albendazol es otro antihelmíntico que se ha incorporado al alimento para su

administración oral, incluso adherido con una base de gelatina para evitar su desprendimiento (Shaikh *et al.*, 2003). En los tratamientos tradicionales el fármaco presenta contacto con el agua de estanquería, por lo que podría generar efectos no deseados en el sistema de producción (Athanasopoulou *et al.*, 2009).

Finalmente, la vía intraperitoneal, es la aplicación de un fármaco por medio de una inyección en la región dorsal del pez (Dunn *et al.*, 1990). Las inyecciones pueden administrarse también por vía intramuscular, aunque su uso es considerado impráctico en algunos casos y se ha utilizado históricamente en organismos de alto valor genético o de mercado (Inglis, 2000). Entre las diversas vías de administración la vía oral cuenta con algunas ventajas como una administración que no genera estrés en las poblaciones, puede cubrir un alto número de organismos y no genera costos laborales extras (Polk *et al.*, 1994).

#### **2.14.- Agentes quimioterapéuticos utilizados en la producción de tilapia**

Conforme han evolucionado los procesos y sistemas de producción acuícola, se han utilizado diferentes compuestos quimioterapéuticos en el tratamiento de cargas parasitarias, por ejemplo, compuestos inorgánicos como cianuro, permanganato de potasio, cal viva y pellets de fosfina. Algunos con un alto riesgo de toxicidad para el usuario (Baird, 1994) y para el medio ambiente (Dauda *et al.*, 2019). Estos tratamientos son aplicados por baño de inmersión o vía oral (Tabla 1) y se enfocan en el control de ectoparásitos, monogeneos, isópodos, copépodos y

protozoarios como; *Ambiphria ameiuri*, *Costia* spp., *Chilodonella* spp., *Epistylis* spp., *Trichodina* spp. e *Ichthyophthirius* spp. (Athanasopoulou *et al.*, 2009).

**Tabla 1.- Uso de sustancias quimioterapéuticas para el tratamiento de cargas parasitarias en la acuicultura.**

Grupo	Biológico	Componente	Vía de administración	Dosis/Concentraciones
<b>Objetivo</b>				
<b>Isopodos</b>	<b>y</b>	Ivermectina	Oral	0.05 mg/kg en dos dosis
<b>copepodos</b>		Emamectina	Oral	50 µg/ kg/ semana
		Tefrubenzuron	Oral	10 mg/ kg/ semana
		Organofosfatos	Baño de Inmersión	0.15 ppm/20 min
		Dicloros	Baño de Inmersión	0.5 ppm/30 min
		Azametifos	Baño de Inmersión	0.01 ppm/1 hora
		Piretrinas y Piretroides	Baño de Inmersión	0.1 ppm/1 hora
		Peróxido de Hidrógeno	Baño de Inmersión	1500 ppm/ 30 min
		Cloramina-T	Baño de Inmersión	2.5-10 ppm/ 1 hora
		Deltametrín	Baño de Inmersión	0.01 ppm/30 min
<b>Monogeneos</b>	<b>y</b>	Levamisol	Baño de Inmersión	2 ppm/24 horas
<b>otros helmintos</b>		Ivermectina	Baño de Inmersión	0.05 mg/kg en dos dosis
<b>Protozoarios</b>		Formalina	Baño de Inmersión	200 ppm/1 hora
<b>endoparásitos</b>		Organofosfatos	Baño de Inmersión	0.15 ppm/ 20 min
		Amprolium	Oral	190 g/t biomasa
		Quinina	Baño de Inmersión	30 ppm/1 hora por 3 semanas
		Salinomicina	Oral	30 mg/kg de biomasa
		Sulfonamidas	Oral	5-10 ppm/4 horas
		Toltrazuril	Baño de Inmersión	25 mg/kg por 10 días
<b>Protozoarios</b>		Fumagilina	Baño de Inmersión	3 mg/kg/ 8 semanas
<b>externos</b>		TNP-470	Baño de Inmersión	0.1-1 mg/kg/ 4 semanas
<b>Oodinium spp.</b>		Formalina	Baño de Inmersión	200 ppm/1 hora
		Reducción de Sal	Baño de Inmersión	-----
		Sulfato de Cobre	Baño de Inmersión	0.75 ppm/2 semanas

Fuente: Athanasopoulou *et al.*, 2009.

### **2.14.1.- Antihelmínticos**

En el mercado farmacéutico existen diferentes compuestos utilizados para el control y erradicación de parásitos helmintos, estos pueden clasificarse de acuerdo a la clase química a la que pertenecen; los más relevantes son piperazinas, benzimidazoles, imidazotiazoles, tetrahidropirimidinas, isoquinolinas y salicilanilidas (Vardanyan & Hruby, 2016). Sin embargo, para el tratamiento de cargas parasitarias helmínticas en peces, los profesionales tienden al uso de estrategias alternas en la medicina veterinaria, debido a la baja disponibilidad de fármacos específicos para organismos acuáticos con una autorización de comercialización legal (Bader *et al.*, 2019). Instancias como la Organización de Uso Responsable de Medicamentos en la Agricultura (RUMA) de Gran Bretaña cataloga inexistentes los tratamientos contra tenías en los cultivos acuícolas (Ruma, 2010).

#### **2.14.1.1.- Administración de Antihelmínticos en peces**

No obstante, algunos fármacos como el albendazol se han documentado en su administración oral en especies de importancia comercial como; trucha (*Oncorhynchus mykiss*), tilapia híbrida (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) y salmón (*Salmo salar*). Desafortunadamente, la cinética en la tilapia muestra evidencia de la presencia de albendazol y otros metabolitos (metabolitos albendazol sulfóxido, albendazol sulfona y albendazol aminosulfona) a las 24 horas de la administración (Shaikh *et al.*, 2003). En Brasil la administración oral de albendazol (10 mg kg<sup>-1</sup>) en tilapias, mostró concentraciones

de metabolitos de hasta 637 ng g<sup>-1</sup> a las 12 horas post administración (Portela *et al.*, 2020). Mientras que el praziquantel cuenta con antecedentes en la acuicultura contra parásitos intestinales de la especie *Atractolytocestus huronensis*. (El-Banna *et al.*, 2008). Y contra infecciones de los monogeneos *Tagia ecuadori* y *Neobenedenia melleni* en el pez globo diana (*Sphoeroides annulatus*), aunque su uso fue en combinación con ivermectina, pirantel y fenbendazol (Adecto ®) (Morales-Serna *et al.*, 2018b). Además, el praziquantel se ha utilizado para el control de cargas parasitarias en infecciones por; *Dactylogyrus* spp. y *Gyrodactylus* spp., aunque su aplicación fue por medio de baños de inmersión (Bader *et al.*, 2019).

Por otro lado, en países como Estados Unidos se encuentra aprobado el uso de praziquantel en la acuicultura, siempre que el fármaco esté preparado y aprobado para otras especies de vertebrados en la categoría animal (Bader *et al.*, 2019). Sin embargo, es bien sabido que los procesos de farmacocinética (absorción, metabolismo, distribución y excreción de fármacos) y farmacodinamia, suelen ser distintos entre diferentes grupos taxonómicos en tratamiento, además, las diferencias pueden encontrarse entre individuos de diferentes sexos, hábitos alimenticios, peso, condición corporal, entre otros. El panorama plantea que la extrapolación en la medicación entre especies es irracional y que es conveniente conocer la farmacología de los medicamentos para cada especie (Ruiz, 2001). Ante este panorama el uso de tratamientos alternativos surge como una estrategia recurrente y que presenta un área de oportunidad de explorar en el cultivo de tilapia y otras especies.

## 2.15.- Tratamientos alternativos

Pese a la eficiencia reportada para algunos fármacos en su uso en el cultivo de tilapia (Rairat *et al.*, 2020; Shaikh *et al.*, 2003), se han reportado poblaciones de parásitos protozoarios con importancia en salud pública como *Plasmodium*, *Leishmania* y *Trypanosoma*, que presentan resistencia a artemisinina, antimoniales pentavalentes y pentamidina (Capela & Moreira, 2019). Ante esta situación una alternativa viable es el uso de compuestos naturales; en este rubro se ha reportado el uso de limoneno ante larvas de *Anisakis* spp. este terpeno a una concentración de 5% en solución salina fue capaz de afectar la movilidad de los parásitos desde las 8 horas de exposición (Giarratana *et al.*, 2015). Además, se han reportado la evaluación *in vitro* de extractos de plantas como *Perilla frutescens* (5%), *Zingiber officinale* (5% y 2,5%), *Wasabia japonica* (5% y 2,5%) y *Allium sativum* (5%), estudio que reportó la inmovilización de larvas L3 a 24 horas de exposición con el uso de (62,5 µg/mL) y [6]-gingerol (250 µg/mL) (Ormeño, 2017). Así mismo, extractos directos de ajo y cebolla se han utilizado en el tratamiento de afecciones sanitarias en la acuicultura (CAHSAC datos sin publicar); el efecto de los bulbos se ha reportado contra el parasitismo del copépodo *Lernantropus kroyeri*, en lobina (*Dicentrarchus labrax*), los autores reportan mortandad de los parásitos en el desafío de extracto de ajo y cebolla al 100% (Yavuzcan *et al.*, 2019). Además, se ha reportado el uso de ajo para el control de infecciones parasitarias por *Opalina ranarum*, *O. dimidicita*, *Balantidium entozoon*, *Entamoeba histolytica*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Leptomonas*, y *Crithidia* (Morck, 2015). Mientras que el uso de cebolla se encuentra reportado

para el tratamiento principalmente de parásitos crustáceos externos (Assefa & Abunna, 2018). De acuerdo con lo anterior el uso de componentes botánicos se reporta como una buena alternativa para el control de parasitosis.

### **2.16.- Uso del ajo en la acuicultura**

El ajo (*Allium sativum*) es una planta que presenta amplias propiedades biológicas ante su consumo, se ha reportado con función antitrombóticas, antimicrobiales, anticancerígenas, antioxidantes, para el fortalecimiento del sistema inmune (Kim *et al.*, 2016; Kinalski & Noreña, 2019). En peces, la adición de ajo en el alimento de la tilapia se ha reportado como un elemento promotor de crecimiento. A una concentración de 1%, las tilapias mostraron mejor crecimiento diario y conteos de elementos sanguíneos mayores como eritrocitos ( $1.74 \times 10^6$  células/mm<sup>3</sup>) y hemoglobina (6.04 g/100 mL) (Setijaningsih *et al.*, 2021). Además, el uso de ajo a 40 g/kg alimento, permite la disminución de coliformes en agua, músculo e intestinos en las tilapias, con efecto similar como el observado para cloranfenicol, en búsqueda de la obtención de productos inocuos (Shalaby *et al.*, 2006).

### **2.17.- Capacidad antiparasitaria del ajo**

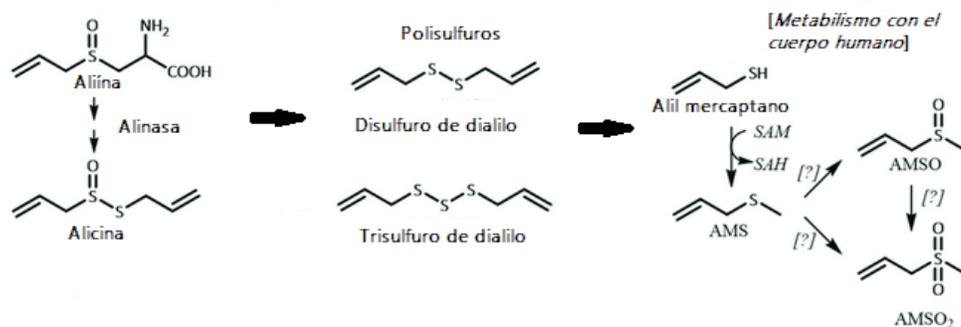
Los bulbos de ajo, así como otras fracciones vegetales, han reportado capacidad antiparasitaria (Millet *et al.*, 2011; Valenzuela-Gutiérrez *et al.*, 2021), esto debido a que, entre las diferentes moléculas bioactivas presentes en los bulbos de ajo, se encuentra la alicina, molécula que se produce a partir del daño tisular donde el aminoácido no proteínogénico aliína (S-alilcisteína sulfóxido) es su precursor, por medio de una reacción catalizada por la enzima alinasa (Borlinghaus *et al.*, 2014).

Este componente ha permitido el uso de ajo como antiparasitario en la acuicultura, un ejemplo de ello es contra larvas L<sub>3</sub> de *Anisakis* spp., un parásito zoonótico que infecta a los peces como hospedero intermediario (Kasuya *et al.*, 1988; Ormeño, 2017). Además, su uso se ha reportado contra *Lernantropus kroyeri*, un parásito copépodo que infecta poblaciones de lobina (*Dicentrarchus labrax*) (Yavuzcan *et al.*, 2019) y contra los protozoarios *Trypanosoma* spp. y *Leshmania* spp. patógenos de interés en salud pública (Krstin *et al.*, 2018). Entre estos protozoarios *Trypanosoma* spp. se ha reportado parasitando peces de vida silvestre y de acuicultura como tilapias de la especie *Oreochromis niloticus* (Barbetta *et al.*, 2018). La capacidad antihelmíntica asociada al ajo se atribuye principalmente a los metabolitos secundarios que contienen azufre como la alicina (Krstin *et al.*, 2018). En particular la alicina presenta la capacidad antihelmíntica al asociarse e inhibir la función de los compuestos de bajo peso molecular que contienen grupos tiol, como el glutatión; molécula encargada del equilibrio redox en el medio intracelular, además, esta molécula inhibe algunas proteínas con funciones vitales que contienen cisteína en su estructura, la inhibición de estas moléculas, induce a los parásitos a una movilidad baja o nula y una baja energética que deriva en una eventual muerte (Borlinghaus *et al.*, 2014; Krstin *et al.*, 2018; Nikoo *et al.*, 2011).

## **2.18.- Metabolización del ajo**

Entre un 2-3% de los bulbos de ajos corresponden a compuestos organosulfurados, entre los que se encuentra la alicina, donde su molécula

precursora es la de mayor presencia porcentual en las muestras vegetales (Arellano-Buendía *et al.*, 2021), esta molécula se degrada en diferentes metabolitos antes de llegar a hígado, en donde se aloja solo en altas concentraciones (Kemper, 1991), de la alicina se deriva la presencia de disulfuro de dialilo, que se ha demostrado en su administración oral que deriva en la presencia de alil mercaptano, sulfuro de metilo de alilo (AMS), sulfóxido de metilo de alilo (AMSO) y sulfona de metilo de alilo (AMSO<sub>2</sub>) (Figura 7), entre estas moléculas solo las últimas dos han mostrado una excreción significativa en orina (Germain *et al.*, 2002). Los efectos de citotoxicidad se pueden revertir mediante el uso de β-mercaptoethanol, molécula que induce la formación de puentes disulfuro con las moléculas de alicina y algunos de sus metabolitos, sin embargo, en parásitos como *Trypanosoma* spp. y *Leishmania* spp., solo se cuenta con una molécula análoga al glutatión (tripanotiona), por lo que el efecto antiparasitario del ajo se potencia en estos microorganismos (Krstin *et al.*, 2018)



**Figura 7.- Metabolización de la aliina del ajo hasta la sulfona de metilo de alilo para su excreción ante la ingesta en humanos. Fuente: Modificado a partir de (Scheffler *et al.*, 2018).**

## 2.19.- Encapsulados

Como se ha mencionado con anterioridad la administración de tratamientos en la acuicultura cuenta con retos particulares, ante este panorama la encapsulación surge como una estrategia que ha permitido mejorar procesos de medicación oral en las ciencias veterinarias (Ponce-Nogues, 2020), la innovación en los sistemas de encapsulación tiene una amplia aplicación en la farmacéutica y en las tecnologías alimentarias (Vemmer & Patel, 2013). Estas estructuras permiten proteger los compuestos de interés ante la degradación por condiciones ambientales como la humedad o calor (Gibbs *et al.*, 1999) y, se han utilizado como vehículos orales de compuestos quimioterapéuticos en la producción animal, para estimular la ingesta de compuestos con mal sabor, evitar la reactividad con las matrices alimentarias, así como coadyuvar en la correcta dosificación y biodisponibilidad (Ponce-Nogues, 2020).

Los encapsulados se obtienen a partir del revestimiento de una sustancia de interés mediante el uso de un material pared, el tamaño que presentan permite clasificarlos en nanocápsulas (menor a 200 nm), microcápsulas (de 0.2  $\mu\text{m}$  a 0.5  $\mu\text{m}$ ) y macrocápsulas (mayores a 0.5  $\mu\text{m}$ ) (Abd El Kader & Abu Hashish, 2020). La elección del material pared es un punto clave, su elección depende en gran medida del ingrediente activo a encapsular y de las características que se buscan en el producto final, como su viabilidad de digestión por parte de los peces omnívoros como la tilapia (Kapoor *et al.*, 1976). En la formulación de las cápsulas es recurrente el uso de diferentes combinaciones de materiales de revestimiento (Öztürk & Temiz, 2018); de manera recurrente se utilizan carbohidratos, gomas,

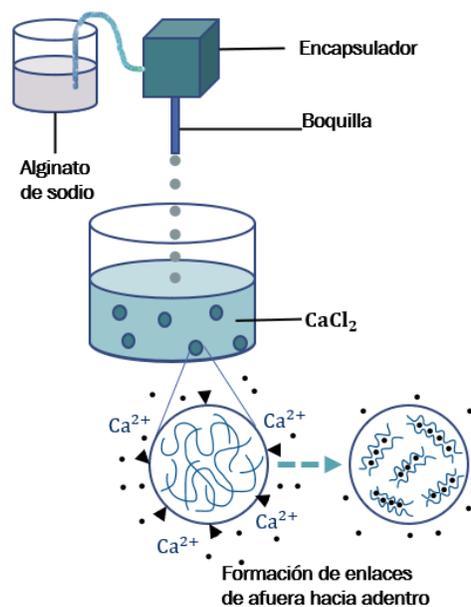
lípidos y proteínas como almidón, maltodextrinas, goma güar, alginatos, diacilgliceroles, ceras, gluten, caseínas y gelatina entre otros (Poornima & Sinthya, 2017).

Los productos obtenidos además pueden presentar variación en su estructura como unidades irregulares, tipo depósito o matriz, de pared múltiple o con múltiples núcleos (Öztürk & Temiz, 2018). Esta amplia gama de productos es posible gracias a las diferentes técnicas de encapsulación que se encuentran disponibles. Actualmente, los encapsulados se pueden obtener por diferentes metodologías: por procesos físicos (secado por aspersión, enfriamiento por pulverización, liofilización, extrusión y co-cristalización), fisicoquímicos (evaporación de solvente, liposomas, coacervación simple y por complejo) y químicos (polimerización interfacial e inclusión molecular) (Abd El Kader & Abu Hashish, 2020; Nedovi *et al.*, 2011). Entre los encapsulados de tipo químicos resalta la encapsulación iónica por el tamaño de las cápsulas obtenidas como una opción para su uso en la acuicultura (Rodríguez *et al.*, 2018).

### **2.19.1.- Encapsulación por gelificación iónica**

Entre los mecanismos de encapsulación destaca la gelificación iónica por su uso en el desarrollo de productos farmacéuticos y por la obtención de perlas mayores a 1 mm de diámetro (Ching *et al.*, 2017; Dong *et al.*, 2006). La formación de las perlas implica una interacción de un polímero iónico como el quitosano y alginato con un ion de carga opuesta, los productos obtenidos son hidrofílicos y pueden

presentar hinchamiento ante su exposición con fluidos biológicos; algunos estudios han mostrado resistencia de las cápsulas ante condiciones de simulación gástrica (Timilsena *et al.*, 2020). La producción de las cápsulas puede ser por método de extrusión o de emulsión, en el primer caso una solución de alginato que contiene el componente bioactivo, se deja caer en forma de gotas por un aguja o boquilla en una solución de cloruro calcio (Figura 8), mientras que en el método por emulsión se agrega solución de cloruro de calcio en una solución de emulsión que contiene alginato de sodio, el agente bioactivo y un aceite vegetal (Celli *et al.*, 2015).



**Figura 8.-** Proceso de formación de cápsulas a partir de solución de alginato de sodio y la interacción iónica con solución de cloruro de calcio, modificada a partir de (Vemmer & Patel, 2013).

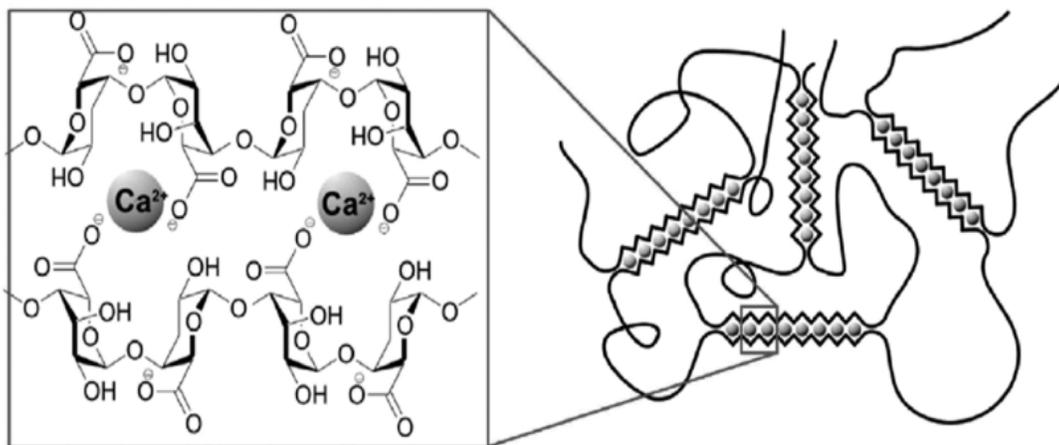
### **2.19.2.- Alginato de sodio como material pared**

El alginato es utilizado como material pared en la formación de cápsulas por gelificación iónica, este polímero resulta atractivo para su aplicación biológica debido a que es biocompatible, no presenta toxicidad, es biodegradable y relativamente barato (Ching *et al.*, 2017). Además, los alginatos presentes en algas pardas han mostrado efecto positivo en la estimulación de respuesta inmune en salmónidos, su administración vía intraperitoneal en trucha arcoíris aumentó la actividad fagocítica, estallido respiratorio y expresión de citocinas en leucocitos periféricos (Fajer-Ávila *et al.*, 2017). Este polisacárido se puede encontrar de manera natural formando sales de los cationes  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Na}^+$ ; su estructura consta de un arreglo lineal polimérico (ácido algínico), constituido por unidades de ácido  $\alpha$ -L-gulurónico y ácido  $\beta$ -D-manurónico, unidos por enlace 1-4. La proporción de estos componentes determina las características del polímero en la formación de cápsulas y es variable de acuerdo a la fuente de obtención del alginato (Avendaño-Romero *et al.*, 2013; Celli *et al.*, 2015).

### **2.19.3.- Polimerización del alginato de sodio**

La formación de gel en la producción de las cápsulas está asociada con las características estructurales del alginato, el compuesto cuenta con bloques homopoliméricos de ácido  $\alpha$ -L-gulurónico G (-GGG-) y de ácido  $\beta$ -D-manurónico M (-MMM-) y heteropoliméricos que combinan ambos monómeros GM (-GMGM-), en el copolímero lineal y las secciones homopoliméricas de ácido gulurónico se unen

cooperativamente con iones de calcio para formar una estructura de gel tridimensional, conocida como modelo de caja de huevos (Figura 9) (Han *et al.*, 2019). El polímero debe su propiedad polianiónica a los grupos carboxilo a lo largo de la cadena, por tanto, el contenido de ácido gulurónico confiere al gel características de flexibilidad o rigidez (Avendaño-Romero *et al.*, 2013; Reddy & Reddy, 2010).



**Figura 9.- Formación de gel por medio de los enlaces de grupo aniónico carboxílico del ácido gulurónico y iones calcio obtenido de Kim, 2021.**

El alginato cuenta con la capacidad de formar estructuras poliméricas (hidrogeles), en conjunto con otras moléculas para obtener materiales pared; la combinación alginato-gelatina ha mostrado una buena compatibilidad molecular (Urruela-Barrios *et al.*, 2019). Estudios por infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) mostraron una asociación por la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos N-H y O-H de la gelatina y el alginato respectivamente (Dong *et al.*, 2006); su combinación en una matriz proporciona polímeros hidrofílicos reticulados que pueden hincharse sin disolverse al contacto con el agua. El uso de gelatina en la formación de gel de alginato funciona formando enlaces covalentes cruzados, que

permiten conservar las propiedades mecánicas del gel ante el posible flujo de los iones fuera de la matriz polimérica (Aroguz *et al.*, 2014).

## **2.20.- Cápsulas en la producción de alimentos acuícolas**

El uso de vehículos orales a base de alginatos en organismos acuáticos todavía es limitado y no se cuenta con su uso a nivel comercial; no obstante, esta estrategia de administración y liberación de compuestos se ha documentado de forma experimental; por ejemplo, en aspectos de nutrición se formularon cápsulas semipermeables de quitosano-alginato para la administración de proteína digerible (albúmina) en peces (Polk *et al.*, 1994). Además, las cápsulas se utilizan para producir alimentos inertes de reemplazo, con respecto a ello se han utilizado microcápsulas de gelatina y acacia con medidas de 200  $\mu\text{m}$  de diámetro para el suministro de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en larvas de ostras en cultivo (Planas *et al.*, 1990). Su uso también se reporta en aspectos de sanidad acuícola (Dunn *et al.*, 1990), en el bagre de canal se administraron microcápsulas de alginato/quitosano que contenían proteína rSrr para la inmunización ante infecciones por *Streptococcus iniae*, los peces mostraron la activación de lisozimas séricas en sangre a las 8 semanas post administración (Wang *et al.*, 2018b).

En la producción de tilapia los encapsulados de alginatos se han utilizado para atender aspectos de nutrición y sanidad; en peces de la especie *Oreochromis niloticus* se han administrado extracto de proteasas enzimáticas obtenidas del camarón *Pleoticus muelleri*, el tratamiento aumentó en un 27% la actividad de

proteasas en los organismos (Rodríguez *et al.*, 2018). En esta especie de pez, también se han administrado probióticos encapsulados, entre ellos *Lactobacillus rhamnosus* y *Saccharomyces cerevisiae*, los tratamientos lograron un conteo de células viables mayor para las bacterias y lograron disminuir la mortalidad de las tilapias en desafíos de infección por *Streptococcus agalactiae* en ambos casos (Pinpimai *et al.*, 2015; Pirarat *et al.*, 2015). Estos vehículos incluyeron en la formulación del material pared elementos como alginato bentonita, suero de leche y quitosano, mostrando la compatibilidad del alginato de sodio con otras moléculas (Rodríguez *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018b). Finalmente, para la administración de antihelmínticos Shaikh y colaboradores en 2003 reportaron la administración de albendazol en tilapias mediante el uso de una base de gelatina para adherir el fármaco al alimento; sin embargo, no se han encontrado reportes para la administración de compuestos antihelmínticos utilizando cápsulas de alginato como vehículos orales.

## **2.21.- Marco legal**

### **2.21.1.- Normatividad en la inocuidad acuícola**

Actualmente en México existen Normas Oficiales que enmarcan los lineamientos para el desarrollo de la acuicultura y la pesca en el territorio nacional, la Ley General de Pesca y Acuicultura Sustentables (LGPAS) (DOF, 2007) es la de mayor relevancia, en ella se expresa que los procesos de certificación en inocuidad y sanidad corren a cargo del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) (SENASICA, 2008). La certificación en inocuidad acuícola es evaluada y en su caso otorgada a los puntos de producción

denominados “Unidades de Producción Acuícolas”, en concordancia con diversas Normas Oficiales Mexicanas, entre ellas; la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, que indica la aplicación de prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios (DOF, 2009b) esta norma enlista las características organolépticas que debe de cumplir la carne de pescado considerada como materia prima; sin embargo, las condicionantes de rechazo solo incluye una descripción cualitativa, dejando de lado la evaluación de microorganismos entre ellos los de tipo parasitario (Tabla 2).

**Tabla 2.- Caracterización de los productos de la pesca referente al control de materias primas.**

Atributo	Aceptación	Rechazo
Color	Agallas rojo brillante	Gris o verde en agallas
Apariencia	Agallas húmedas, ojos saltones, limpios, transparentes y brillantes	Agallas secas, ojos hundidos y opacos con bordes rojos.
Textura	Firme	Flácida
Olor	Característico	Agrio, putrefacto o amoniacal

Fuente: NOM-251-SSA1-2009

Por otro lado, la legislación establece en la NOM-242-SSA1-2009 que la presencia de cargas parasitarias son motivo de rechazo comercial, sin embargo, los parásitos enlistados por norma corresponden solo a dos géneros; *Gnathostoma* spp. para peces de agua dulce y *Paragonimus* spp. (Tabla 3) para crustáceos (Chai & Jung, 2019). Esta norma indica que ante la sospecha de presencia de parásitos se debe aplicar un tratamiento de congelación (-18°C/24 hr) y un examen visual entre laminillas de acrílico a contraluz con una fuente luminosa de 1500 lux (DOF, 2009a).

Finalmente, el control y erradicación de enfermedades parasitarias a nivel poblacional exige la aplicación de grandes esfuerzos económicos y logísticos (Kilpatrick & Randolph, 2012). En México, uno de los componentes gubernamentales implementados como estrategia de control es “la guía de operación para la implementación de las actividades integradas para la desparasitación”. Esta guía se enfoca en la desparasitación de estratos vulnerables de la población pre-escolar y escolar (WHO, 2015). No obstante, los reportes indican que las parasitosis transmitidas por peces afectan en mayor medida a personas de estratos etarios en vida adulta y al personal que labora en actividades de pesca y acuicultura (Hung *et al.*, 2015; Lobna *et al.*, 2010; Milanez *et al.*, 2017).

**Tabla 3.- Especificaciones de los niveles máximos tolerables en los productos acuícolas denominados como frescos.**

Contaminante	Especificación	Especie -Producto	Límite máximo
Biológico parasitario	Parásitos del género <i>Gnathostoma</i> y <i>Paragonimus</i> (Sólo en peces de agua dulce o salobre)	Pescado	Ausente
	Parásitos con cápsula >3 mm de diámetro	Pescado	2/kg de unidad de muestra
	Parásitos no encapsulados > 10 mm de longitud	Pescado	1/kg de unidad de muestra

Fuente: NOM-242-SSA1-2009.

### 2.21.2.- Normatividad en la sanidad acuícola

La LGPAS, delega la vigilancia epidemiológica de patógenos y la certificación sanitaria en organismos acuáticos al SENASICA (DOF, 2007); la evaluación de los procesos de certificación, deriva en el otorgamiento de la documentación legal que

avalan a las unidades de producción con el Certificado de Sanidad Acuícola para Instalaciones en las que se Realizan Actividades Acuícolas, y/o Movilización de especies acuícolas vivas, sus productos y subproductos (SENASICA, 2021). La obtención de esta distinción se logra en concordancia con normatividad que incluye El sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SIVE), fundamentado en la NOM-046-ZOO-1995, para el monitoreo y reporte de enfermedades y plagas epizootiológicas (DOF, 1995). Conjuntamente en 2018 se publicó en México el “ACUERDO mediante el cual se dan a conocer en los Estados Unidos Mexicanos las enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatoria de los animales terrestres y acuáticos”, este acuerdo se establece en concordancia con las disposiciones de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), con el objetivo de apoyar los esfuerzos para evitar la introducción y propagación de patógenos en los animales terrestres, acuáticos y, en su caso de enfermedades zoonóticas a las personas. Desafortunadamente, entre los casos de notificación obligatoria en la tilapia no se incluyen patógenos de carácter parasitario, para estos peces son de notificación obligatoria casos detectados para virus de la tilapia del lago (*Orthomyxovirus*) e infección por *Francisella noatunensis* (DOF, 2018).

Los procesos de certificación en inocuidad y sanidad de organismos acuáticos en México presentan áreas de oportunidad en la investigación de la epidemiología de cargas parasitarias. El riesgo documentado de parasitosis transmitidas por organismos cíclidos como la tilapia y las características que propician su dispersión, sugieren continuar con su monitoreo. Por todo lo anterior, el presente

trabajo de investigación busca contribuir en el estudio de las cargas parasitarias en las canales de pescado, asociadas a una especie de alto valor socioeconómico como la tilapia, además de coadyuvar en el desarrollo de una estrategia de administración oral de compuestos antiparasitarios para peces, para su posible aplicación en el periodo prepatogénico de estas afecciones en el ser humano.

### **3.- Planteamiento del problema**

Actualmente existe una basta producción y captura de productos acuícolas a nivel mundial, entre ellos destaca la carne de tilapia; desafortunadamente, el riesgo que corre el ser humano de adquirir parasitosis zoonóticas ante el consumo de tilapia es latente. Se estima que cerca de 500 millones de personas están en riesgo de sufrir una infección parasitaria, mientras que en 2010 se registraron 51,909 defunciones atribuidas a estas infecciones a nivel mundial. En la carne de tilapia se han documentado cargas parasitarias de carácter zoonótico; hasta quince especies de trematodos de afección intestinal y hepática, cuatro especies de nematodos (géneros *Contracaecum* spp. y *Gnathostoma* spp.), un cestodo (*Schyzocotyle acheilognathi*), dos protozoarios (*Cryptosporidium parvum* y *Giardia duodenalis*) y una ameba (*Vermamoeba vermiformis*). El desarrollo patogénico de estas infecciones en el ser humano deriva en sinología que va desde polisintomática subclínica con dolor abdominal, vómito y diarrea, hasta procesos de colangiocarcinoma causado por las duelas hepáticas. Estas infecciones presentan dificultades del diagnóstico, tratamiento y eliminación del agente etiológico. Además, son de progresión lenta, provocando una tasa baja de cumplimiento terapéutico. Ante este panorama, la industria demanda el desarrollo

de estrategias de prevención y monitoreo de agentes zoonóticos, conjuntamente con la realización de investigaciones respecto a la eficiencia y efectos de los compuestos quimioterapéuticos utilizados en organismos acuáticos.

#### **4.- Justificación**

México es un país de alta producción y consumo de carne de pescado (2.1 millones de t/año), entre las especies de consumo destaca la carne de tilapia, que aporta hasta el 91% de los productos obtenidos por cultivo. En el Estado de Hidalgo se cuenta con 610 unidades de producción y captura acuícola, cerca del 80% destinadas a la obtención de tilapia, su distribución corresponde principalmente a las zonas del *Valle del Mezquital*, *Sierra Otomí-Tepehua*, *Huasteca Hidalguense* y *Sierra alta*. En el estado se produjeron 4,456 t de carne de tilapia en 2018, con un valor de mercado cercano a los 132 millones de pesos denotando la importancia socioeconómica de la especie. La carne de este pez se consume de manera regular en presentación en fresco a pie de granja, en una amplia variedad de platillos regionales como el ceviche, por lo que el producto no es sometido a procesos de cocción o de congelación de manera recurrente. Esta situación y otras características antropocéntricas podrían colocar a la tilapia como hospedero y transmisor de cargas parasitarias de tipo zoonótico. Desafortunadamente, en el Estado de Hidalgo y otras regiones geográficas del país no se cuenta con programas de vigilancia epidemiológica para estos agentes etiológicos. El monitoreo de los patógenos permite conocer la diversidad y el comportamiento de las enfermedades parasitarias, conjuntamente la determinación parasitaria permite enfocar esfuerzos de investigación para el

desarrollo de estrategias preventivas de aplicación en salud pública. Por otro lado, los procesos de medicación para el tratamiento de cargas parasitarias en peces cuentan con diferentes retos particulares; entre ellos el control de la dosificación, el uso de sustancias altamente oxidantes, la mezcla de tratamientos en el agua de cultivo, la contaminación y el efecto indeseado de los fármacos en otros organismos en el medio silvestre, entre otros. Ante estas dificultades el uso de cápsulas obtenidas por gelificación iónica (alginato de sodio), resultan en una estrategia alterna para la mejora de los procesos de administración oral de compuestos antihelmínticos. El alginato de sodio como material pared cuenta con características destacadas como inocuidad en su ingesta, alta compatibilidad con otras moléculas para la formación del material pared, es biodegradable y relativamente barato. Por todo lo anterior, el presente estudio busca colaborar en la identificación de agentes parasitarios en las canales de tilapia obtenida en puntos de venta en el Estado de Hidalgo, y coadyuvar en el desarrollo de una estrategia de intervención mediante la administración oral de compuestos en la cadena de producción de tilapia, que coadyuve en un impacto ambiental menor.

## **5.- Hipótesis**

El desarrollo y caracterización de una cápsula polimérica a base alginato de sodio puede mejorar los procesos de administración oral de compuestos antiparasitarios en organismos de *Oreochromis* sp., respecto a la aplicación de tratamientos tradicionales contra parásitos comunes en las poblaciones en cultivo.

## **6.- Objetivos**

### **6.1.- General**

Realizar la evaluación del perfil parasitario en canales de tilapia cultivadas en el *Valle del Mezquital*, Hidalgo, para contar con bases para el desarrollo de un vehículo oral, para administración de compuestos antihelmínticos.

### **6.2.- Específicos**

1.- Determinar las cargas parasitarias en canales de tilapia mediante identificación por métodos taxonómicos para el reconocimiento de la fauna parasitaria asociada al consumo de tilapia en granjas del Estado de Hidalgo.

2.- Evaluar la correlación entre las cargas parasitarias y la calidad del agua, por métodos estadísticos, para identificar parámetros que permitan el manejo de las cargas parasitarias.

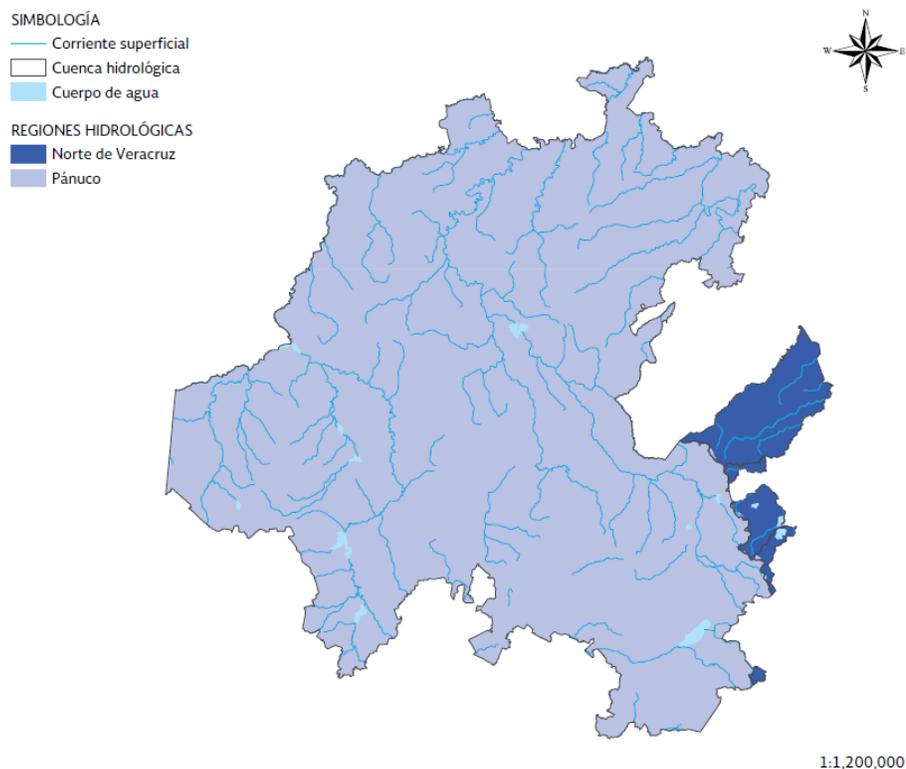
3.- Diseñar una cápsula polimérica elaborada por gelificación iónica como vehículo de compuestos antiparasitarios para *Oreochromis* sp., como una estrategia de control de las cargas parasitarias.

4.- Caracterizar la administración oral de compuestos antiparasitarios encapsulados, mediante desafío *in vivo* en *Oreochromis* sp. para evaluar la viabilidad del vehículo polimérico desarrollado.

## **7.- Materiales y métodos**

### **7.1.- Área de estudio**

El estudio se desarrolló en la entidad federativa del Estado de Hidalgo, uno de los estados de extensión territorial menor en México. Este se encuentra en la zona centro del país y colinda en la parte sur con la CDMX, característica que impulsa el desarrollo de actividades económicas y el uso de bienes ambientales en su territorio, la zona sur es la región económicamente más estable en la entidad (OECD, 2019). Hidalgo cuenta con 84 municipios, entre ellos la división geopolítica clasifica a los municipios de Pachuca de Soto (Capital), Tulancingo de Bravo, Mineral de la Reforma y Huejutla de Reyes con los niveles de población más altos con 277, 161, 150 y 129 mil pobladores, respectivamente (INEGI, 2017). El clima es predominante templado subhúmedo con lluvias en verano en un 31.42% de su territorialidad, seguido de un clima semiseco templado en un 29.65% de la territorialidad (Comisión Nacional Forestal, 2014). La temperatura mínima anual es de 13.1°C. Conjuntamente el Estado de Hidalgo cuenta con recursos hídricos que permiten el desarrollo de actividades de acuicultura y pesca; 24 ríos, 11 presas, 4 arroyos, 3 lagunas, cuerpos de agua que corresponden a las cuencas hidrológicas Pánuco y Tuxpan-Nautla (Figura 10) (INEGI, 2017). El estado centra su actividad acuícola en la región denominada *Valle del Mezquital*, una zona de actividad agrícola intensa (Pérez Díaz *et al.*, 2018) Además, su cercanía con la Ciudad de México coloca a la región en estatus de vulnerabilidad ante la contaminación por actividades antropocéntricas (Chamizo-Checa *et al.*, 2020).



**Figura 10.- Distribución geográfica de los recursos hídricos en el Estado de Hidalgo, la región azul marino representa la cuenca Tuxpan-Nautla; tomado del Inventario Estatal Forestal y de Suelos Hidalgo 2014 (Comisión Nacional Forestal, 2014).**

### 7.1.1.- Puntos de muestreo

Los puntos de venta se seleccionaron con apoyo de información proporcionada por el Comité Acuícola Hidalguense de Sanidad A.C., organismo oficial en sanidad, inocuidad y vigilancia epidemiológica acuícola en el Estado de Hidalgo (DOF, 2007). Se identificó el universo muestral a partir de un total de 362 unidades de producción acuícola distribuidas en 59 municipios. A partir de este universo se seleccionaron los puntos de muestreo por medio de un muestreo intencional, de acuerdo con antecedentes sanitarios de ocurrencia de parásitos zoonóticos (Otzen & Manterola, 2017). El tamaño de muestra se determinó en 11 puntos de venta,

mismos que en conjunto con el Comité Acuícola Estatal, se codificaron y distribuyeron como se observa en la tabla 4.

**Tabla 4.- Caracterización de los puntos de muestreo para la obtención de muestras de tilapia en el Estado de Hidalgo.**

ID	Municipio	Latitud	Longitud	No. Peces	Peso g	Talla cm	Estadio del pez
G1lx	Ixmiquilpan	20.425037	-99.16348	34	0.80 ± 0.25	3.80 ± 0.46	Cría
G2Hu	Ixmiquilpan	20.232929	-98.561080	10	171.32 ± 22.34	20.77 ± 1.31	Juvenil
G3lx	Ixmiquilpan	20.423151	-99.165259	10	251.47 ± 31.30	24.52 ± 0.64	Juvenil
G4lx	Ixmiquilpan	20.424129	-99.164666	10	46.89 ± 21.34	13.77 ± 2.40	Juvenil
G5Ch	Chilcuautla	20.305693	-99.228399	10	278.25 ± 61.58	24.28 ± 1.22	Juvenil
G6lx	Ixmiquilpan	20.418005	-99.170325	10	19.58 ± 10.59	10.46 ± 1.94	Juvenil
G7Te	Tezontepec de Aldama	20.186341	-99.253102	10	152.54 ± 66.36	20.22 ± 1.39	Juvenil
G8Te	Tezontepec de Aldama	20.192473	-99.285839	10	135.36 ± 42.81	19.25 ± 2.18	Juvenil
G9Te	Tezontepec de Aldama	20.182211	-99.304982	10	96.08 ± 30.64	14.89 ± 3.20	Juvenil
G9.1Te	Tezontepec de Aldama	20.18237	-99.304968	10	1.18 ± 0.11	3.71 ± 0.49	Cría
G10Pr	Progreso de Obregón	20.273165	-99.185246	10	132.81 ± 33.31	17.45 ± 1.61	Juvenil
<b>Totales</b>				<b>134</b>	<b>96.13 ± 98.83</b>	<b>13.60 ± 7.95</b>	

**Nota: las muestras se obtuvieron por oportunidad de pesca con ayuda de los productores locales.**

## **7.2.- Toma de muestras**

### **7.2.1.- Tilapias**

Los peces se obtuvieron de lotes de engorda para consumo local, la colecta de tilapias se llevó a cabo de manera aleatoria y por conveniencia, de acuerdo a la oportunidad de pesca. La colecta la llevaron a cabo pescadores locales, quienes llevaron el proceso de acuerdo a sus usos y costumbres. Los peces vivos se trasladaron en bolsas plásticas de 60x90 cm con agua y con inyección de oxígeno a una saturación  $>5 \text{ mg L}^{-1}$  (Muthiah, 2014). Los peces se mantuvieron a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) hasta su procesamiento en el laboratorio de parasitología del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. La eutanasia se llevó a cabo por punción craneal y cada individuo fue pesado y medido para la búsqueda de ectoparásitos (Scott & Govett, 2009) y endoparásitos (Amaechi, 2015).

### **7.2.2.- Toma de muestras y análisis del agua de cultivo**

Se colectaron 200 mL de agua de estanquería por triplicado en cada punto de colecta de tilapias. Las muestras se depositaron en frascos de vidrio a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) hasta su análisis en el laboratorio de parasitología del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. El pH del agua y la concentración de nitritos ( $\text{mg L}^{-1} \text{NO}_2^-$ ), nitratos ( $\text{mg L}^{-1} \text{NO}_3^-$ ), amonio ( $\text{mg L}^{-1} \text{NH}_4^+$ ),  $\text{CO}_2$  ( $\text{mg L}^{-1} \text{CO}_2$ ), dureza ( $\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$ ) y alcalinidad se obtuvieron mediante un kit colorimétrico Hanna® (Hannapro, S.A. de C.V. ©2020, CDMX, México) por determinación colorimétrica (Wanja *et al.*, 2020), los códigos de los productos que conforman el kit fueron HI98107 (pH), HI3873

(nitritos), HI3874 (nitratos), HI3824 (amonio), HI3818 (CO<sub>2</sub>), HI3812 (Dureza) y HI3811 (Alcalinidad) Hanna®. Se siguieron los instructivos del fabricante para la obtención de los parámetros.

### **7.3.- Análisis parasitológico**

#### **7.3.1.- Necropsia para la observación y recuperación de parásitos**

Los organismos se sacrificaron por punción craneal. La necropsia se realizó de manera inmediata posterior al deceso de los organismos de acuerdo con lo descrito por Scott y Govett en 2009; para las observaciones de ectoparásitos se realizó un barrido con cubreobjetos en la piel en dirección craneal-caudal y un pool de raspado de aletas para cada región lateral del pez, además, se realizó un raspado para el primer arco branquial izquierdo. Los raspados se hidrataron con agua destilada en un portaobjetos, para montarlos en frotis. Las observaciones se realizaron de 40x a 100x en un microscopio LEICA DM500. Posteriormente se extrajeron las branquias y se separaron las lamelas desde la base del arco branquial y estas fueron examinadas por microscopía estereoscópica con un equipo ECOLINE BY MATIC (Scott & Govett, 2009). Para la observación de endoparásitos se revisaron los órganos diana y la cavidad visceral de los organismos (hígado, bazo y tracto digestivo de boca a ano) mediante disección desde el ano hasta la mandíbula inferior con un par de tijeras de disección. Los órganos se colocaron en una placa de Petri y se bañaron con solución de cloruro de sodio 9 g/L para la recuperación de parásitos. Las vísceras y el contenido intestinal se observaron por microscopía óptica de campo claro (Amaechi, 2015). La recuperación de helmintos digestivos se realizó de acuerdo a la metodología

descrita por Justine y colaboradores en 2012; mediante la extracción de los órganos de la cavidad abdominal y la apertura longitudinal del sistema digestivo, estos se colocaron en solución salina (NaCl al 9%), las muestras se agitaron hasta homogeneizar, enseguida se decantaron en solución salina tantas veces como fue necesario hasta limpiar el contenido, para finalmente fijar inmediatamente los parásitos en una solución salina casi hirviendo. Se obtuvieron fotografías con una cámara acoplada a un microscopio WF10x Zeigen (nopCommerceCopyright© 2022 Zeigen Microscopios, CDMX, México), para posteriormente ser procesadas mediante software de uso libre ImageJ 64-bit Java 1.8.0 (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Los protozoarios y monogoneos recuperados fueron depositados de etanol al 95% y mantenidos a 22°C (Justine *et al.*, 2012). La identificación taxonómica se realizó mediante el uso de claves estándar.

### **7.3.2.- Determinación de índices ecológicos y de biodiversidad**

A partir de la determinación parasitaria se calcularon los índices ecológicos y de biodiversidad, de acuerdo con lo reportado por Bautista-Hernández y colaboradores en 2013. Los índices ecológicos describen el comportamiento epidemiológico de la infección en la población de peces. La descripción incluyó el cálculo de prevalencia como el porcentaje de peces infectados a partir de una muestra analizada, la abundancia como el número de helmintos por pez examinado  $\pm$  desviación estándar, e intensidad media como el promedio de helmintos por pez infectado (*Ecuación a, b y c*).

$$Prevalencia = \frac{\text{no. peces infectados}}{\text{no. de peces muestreados}}$$

**Ecuación a.** Cálculo de la prevalencia de infección sobre la población muestral de peces

$$Abundancia = \frac{\text{no. parásitos}}{\text{no. de peces muestreados}}$$

**Ecuación b.** Cálculo de la abundancia parasitaria sobre la población muestral de peces

$$Intensidad = \frac{\text{no. parásitos}}{\text{no. de peces infectados}}$$

**Ecuación c.** Intensidad de la infección parasitaria sobre la población en que se registra cargas parasitarias

Por otro lado, los índices de biodiversidad describen aspectos de riqueza biológica en las áreas de estudio. La determinación de especies permitió calcular el índice de *Simpson* (ecuación d) como una medida de diversidad parasitaria; y finalmente el índice de *Berger-Parker* (ecuación e) como una medida de la dominancia numérica (Bautista-Hernández *et al.*, 2019; Moreno, 2001).

$$D_s = 1 - \frac{\sum ni(ni - 1)}{N(N - 1)}$$

**Ecuación d.** Cálculo del índice de *Simpson* para determinar la diversidad de especies en una comunidad. Donde; ni= número de individuos para la iésima especie, N= el número total de individuos de la comunidad bajo estudio.

$$d = \frac{N}{N_{max}}$$

**Ecuación e.** Cálculo del índice de *Berger-Parker* para determinar la dominancia de una especie en una comunidad. Donde; N= al número total de individuos de la comunidad bajo estudio y N<sub>max</sub>= número total de individuos de la especie con mayor número de individuos dentro de la comunidad.

### 7.3.3.- Análisis de la correlación de la calidad del agua y las cargas parasitarias

La influencia de la calidad del agua en las infecciones parasitarias se analizó mediante la prueba de correlación de *Pearson* usando el software de uso libre RSstudio (Boston, MA, USES). El índice calculado por correlación de *Pearson* arroja un valor entre -1 a 1, donde un índice de 0 indica que no hay relación entre las variables, 1 indica una alta similitud, mientras que los valores cercanos a -1 indican poca relación donde una serie de datos aumenta, mientras la otra disminuye. Para el cálculo del índice se procesaron dos series de datos emparejados, y se obtuvieron a partir de la suma de los productos de las diferencias, entre la suma de los productos de las diferencias al cuadrado aplicando la *ecuación f*), donde x y y representa las series de datos comparadas (Berman, 2018).

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \tilde{x})(y_i - \tilde{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \tilde{x})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \tilde{y})^2}}$$

*Ecuación f.* Cálculo del índice de correlación de *Pearson* para variables emparejadas

## 7.4.- Caracterización de las cápsulas con extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa*

### 7.4.1.- Obtención de extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa*

Se trabajó con cálices de *Hibiscus sabdariffa* deshidratada que fue adquirida en el mercado municipal de Tulancingo de Bravo, Hidalgo. 50 gramos (g) de cálices se colocaron en 950 mililitros (mL) de agua destilada, en un vaso de precipitado de

1000 mL; la mezcla se llevó a ebullición plena durante 15 minutos (min), posteriormente el líquido se filtró para separar los cálices, el extracto acuoso se colocó un vaso de precipitado y se dejó enfriar a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), durante 15 min. El extracto fue preparado el mismo día en el que se realizó la elaboración de las cápsulas, 20 min antes de ser encapsulado (Salinas-Moreno *et al.*, 2012).

#### **7.4.2.- Preparación de las cápsulas de alginato de sodio gelatina con extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa***

Se prepararon 6 tratamientos de perlas, junto con sus respectivos controles, constituidos de 2 soluciones para la formación del material pared (Tabla 5). En una solución, denominada solución A, se agregaron los sólidos en la base porcentual indicada para cada tratamiento en un vaso de precipitado de 500 mL, posteriormente se agregaron 300 mL de extracto de *Hibiscus sabdariffa*, los elementos fueron mezclados con ayuda de un procesador de alimentos Hamilton Beach® (modelo 59765) hasta homogenizar los componentes, esta formulación fue la mezcla para la formación de las perlas tipo matriz. Para la elaboración de la solución B, se agregaron los sólidos en la base porcentual indicada para cada tratamiento en un vaso de precipitado de 500 mL, posteriormente se agregaron 300 mL de agua destilada, la solución se homogenizó con ayuda del procesador, esta formulación constituyó la mezcla para la cobertura de solución A formando entre ambas estructuras perlas de tipo multi-pared (Gibbs *et al.*, 1999). Para realizar el proceso de encapsulación, se empleó la técnica de gelificación iónica, con base a la metodología de Pinpimai y colaboradores (2015) con

modificaciones. Las soluciones encapsulantes se mantuvieron a baño María a 45°C para evitar su solidificación; la solución A se cargó en una jeringa de 20 mL provista de una aguja 18Gx1/2" (NIPRO, México), posteriormente la punta de la aguja cargada fue sumergida en la solución B, y se realizó la descarga de una gota de la solución A embebida en la solución B, una vez formadas las perlas, fueron colocadas en una solución catiónica de CaCl<sub>2</sub> al 10% para su solidificación durante un tiempo de 30 min a 4°C. Las cápsulas fueron filtradas de la solución catiónica para su colecta y lavadas con agua destilada dejándose secar a temperatura ambiente (22°C) durante 72 horas. Una vez secas fueron resguardadas en frascos ámbar a temperatura ambiente hasta su caracterización.

**Tabla 5.- Descripción de las formulaciones para la obtención de las soluciones a y b, que conforman el material pared en las cápsulas de alginato de sodio (Droguería Cosmopolita®)-gelatina (grado alimenticio).**

Id	Predominancia	Solución A			Solución B		
		% Alg	% Gel	Extracto*	% Alg	% Gel	Extracto
T1	Alginato de sodio (PA)	2	1	+	2	1	-
T2		2.5	1.5	+	2.5	1.5	-
T3		3	2	+	3	2	-
T4	Gelatina (PG)	1	2	+	1	2	-
T5		1.5	2.5	+	1.5	2.5	-
T6		2	3	+	2	3	-
C1	Alginato de sodio (PA)	2	1	-	2	1	-
C2		2.5	1.5	-	2.5	1.5	-
C3		3	2	-	3	2	-
C4	Gelatina (PG)	1	2	-	1	2	-
C5		1.5	2.5	-	1.5	2.5	-
C6		2	3	-	2	3	-

\*Extracto acuoso de calices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)

#### **7.4.3.- Determinación de fenoles totales**

Los fenoles totales se determinaron por el procedimiento Folin-Ciocalteu con algunas modificaciones de acuerdo de lo reportado por Aceval-Arriola y col en 2016. 1 mL de muestra se colocó en tubos de vidrio de 4 mL, previamente cubiertos por papel aluminio para evitar el contacto de la luz con la muestra, de esta muestra se tomaron alícuotas de 100  $\mu$ L por triplicado y se colocaron en un tubo de vidrio de 4 mL. A cada muestra se agregaron 600  $\mu$ L de agua destilada y 150  $\mu$ L de solución doblemente diluida de Folin-Ciocalteu (dilución en agua), se dejaron 5 min de reacción, posteriormente se agregaron 750  $\mu$ L de solución de carbonato de sodio al 2%, se dejó reaccionar durante 15 min. Finalmente, se midió la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 750 nm con ayuda de un espectrofotómetro Genova 2251. La curva de calibración se preparó con ácido gálico (dilución en agua) ( $y=0.0367 x=0.1679 r^2=0.99$ ). La determinación de fenoles totales se realizó para el extracto utilizado, los residuales de la encapsulación y en los medios de desafío de las cápsulas. Los resultados se expresaron en mg EAG mL<sup>-1</sup> (mg equivalentes de ácido gálico por mL de muestra) y % de fenoles liberados.

#### **7.4.4.- Caracterización fisicoquímica**

**Color:** Para la obtención de los parámetros de color se utilizó el software de uso libre ImageJ 64-bit Java 1.8.0 (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Se tomaron 10 micrografías por tratamiento de cápsulas y 10 micrografías para cada control. Las fotografías se tomaron con una cámara amzoom® acoplada a un microscopio estereoscópico a 2x a una distancia constante de 19.5 cm entre la

lente y las cápsulas. Los parámetros de color se obtuvieron mediante la metodología descrita por Harting en 2013, se obtuvieron 20 réplicas para los valores de intensidad ponderada, balace RAV, rojos, azules y verde, mediante la distribución de las intensidades de píxeles en la imagen por histograma.

**pH:** Los valores de pH se obtuvieron por triplicado mediante el uso de un potenciómetro Hanna® modelo HI 98107, se tomaron 3 g de muestra para cada tratamiento y los controles, y se colocaron en un vaso de precipitados de 50 mL, se agregaron 27 mL de agua destilada y se mantuvieron en agitación durante 5 min para posteriormente capturar los valores.

**$a_w$ :** La evaluación de la actividad de agua ( $a_w$ ) en las cápsulas, se obtuvo por triplicado, siguiendo la metodología de Aguirre-Calvo y Santagapita (2016) mediante el uso del equipo AquaLab S3TE a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

**Capacidad de retención de agua (CRA):** Para esta prueba se siguió la metodología reportada por Abbasiliasi y colaboradores (2019) con algunas modificaciones. Se pesaron 2 gr de muestra y se colocaron en tubos Falcon® de 15 mL, a los que se les colocó 4 mL de agua destilada. Las muestras se mantuvieron 1 hora a temperatura ambiente con agitación cada 20 min, posteriormente se llevaron a centrifugación a 2800g por 20 min, finalmente el agua se decantó y las cápsulas fueron pesadas nuevamente, los resultados se expresan como g de agua retenidos por gramo de muestra.

**Capacidad de hinchamiento:** La capacidad de hinchamiento se midió de acuerdo a lo reportado por Fadlan y colaboradores (2020) con modificaciones. Se tomaron

40 cápsulas de cada tratamiento y 40 cápsulas de los controles, estas fueron pesadas con ayuda de una báscula OHAUS PA214C, posteriormente se colocaron en un vaso de precipitados de 50 mL, se adicionaron 30 mL de agua destilada y se mantuvieron en agitación constante a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante 72 h. Finalizado el tiempo de exposición se decantó el agua destilada, las perlas fueron pesadas nuevamente. Los resultados se expresaron como % de peso ganado por la retención de agua.

#### **7.4.5.- Caracterización morfométrica**

La caracterización morfométrica se realizó con ayuda del software de uso libre ImageJ 64-bit Java 1.8.0 (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Se tomaron 10 micrografías por tratamiento de cápsulas y 10 micrografías para cada control. Las fotografías se tomaron con una cámara amzoom® acoplada a un microscopio estereoscópico a 2X a una distancia constante de 19.5 cm entre la lente y las cápsulas. Las imágenes se procesaron por medio de un análisis de partículas de acuerdo a lo reportado por Cuervas-Mons y colaboradores (2019). Para ello se realizó la conversión de píxeles a mm para cada imagen procesada, después se convirtieron a escala de grises de 8 bits y posteriormente a imágenes binarias (blanco y negro), finalmente se realizó el análisis de partículas para la obtención de los parámetros área, perímetro, circularidad, diámetro de feret, aspecto de radio y redondez, los resultados se analizaron en mm.

#### **7.4.6.- Flotabilidad**

La flotabilidad de las cápsulas se determinó de acuerdo a lo descrito por Orire y Sadiku (2015) con algunas modificaciones. Se tomaron 10 cápsulas de cada tratamiento y se colocaron en un vaso de precipitados con 250 mL de agua destilada. El tiempo de flotabilidad se midió por cronómetro por unidad de cápsula, con ayuda de video y de cronómetro, la duración del monitoreo tuvo un corte a 1 min y otro a los 60 min, para el primer corte se obtuvo la media de flotabilidad en segundos, mientras que en el segundo corte se obtuvo el % de cápsulas que se mantuvieron en flotación después de 60 min.

#### **7.4.7.- Liberación de fenoles en desafío en agua**

Se tomaron nueve muestras de 0.75 g para cada tratamiento de cápsulas cargadas con extracto de jamaica, y se colocaron en tubos de ensayo de 50 mL, en cada tubo se adicionaron 30 mL de agua y se llevaron un baño de agitación SW22 Julabo (Equipar México D.F.), a una temperatura de 22°C y movimientos programados a 60 mpm (movimientos por minuto), las muestras se analizaron en una cinética de liberación de 72 horas a las horas 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, y 72, tomando las alícuotas (100  $\mu$ L por triplicado) correspondientes para la determinación de fenoles totales en el medio de desafío (agua) (Aceval-Arriola *et al.*, 2016).

#### **7.4.8.- Liberación de fenoles en prueba de simulación gástrica**

Las cápsulas deberán pasar a través del estómago de la tilapia para llegar al intestino, donde se desarrollará absorción del antihelmíntico. La integridad y diferencia de pesos de las cápsulas se evaluó ante un desafío con solución extracapsular ácida simulando las condiciones estomacales. El estudio de la liberación de fenoles *in vitro* se realizó a una temperatura de 25°C, con una agitación constante de 60 mpm en un baño de agitación SW22 Julabo (Equipar México D.F.), se pesaron 12 muestras de 0.75 g por tratamiento de cápsulas cargadas con extracto de jamaica y se colocaron en tubos de ensayo de 50 mL, en cada tubo se adicionaron 30 mL de solución digestora para la simulación gástrica de acuerdo a lo reportado por Wong y colaboradores (2021) con algunas modificaciones. Para la preparación de fluido de simulación gástrica se utilizaron 2 g de NaCl, 3.2 g de pepsina y 7 mL de HCl 12 M para la obtención de 1 litro de fluido. La mezcla de los componentes se realizó una hora antes del desafío de las cápsulas. El pH se ajustó para realizar la prueba a valores de 2.6, 3.6 y 4.6. Se analizaron 4 muestras por tratamiento, las cuales se colocaron en cada nivel de pH en el baño de agitación y cada hora durante cuatro horas se tomaron muestras del fluido gástrico para evaluar la liberación de fenoles (100 µL por triplicado).

## **7.5.- Caracterización de las cápsulas con harina de ajo (*Allium sativum*) (Lote 19020 Alday®) como agente antihelmíntico**

### **7.5.1.- Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)**

Los grupos funcionales se evaluaron para 4 tratamientos de harina de ajo, así como para las soluciones poliméricas de alginato de sodio (ALG), gelatina (GEL) y ajo (ALL). Las muestras fueron analizadas por medio de FT-IR. Los espectros de FT-IR se obtuvieron por medio de un espectrómetro FT-IR (Cary 630, Agilent Technologies 194 Inc. USA) equipado con un solo accesorio ATR de diamante de rebote, La región del FT-IR utilizada para la lectura fue de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros se recopilaron mediante la adición conjunta de 32 escaneos sobre la muestra a una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Los datos se procesaron y graficaron con ayuda de Microsoft® Excel® 2019 MSO (versión 2208 compilación 16.0.15601.20148) de 64 bits (Morales-Martínez *et al.*, 2018).

### **7.5.2.- Preparación de las cápsulas de alginato de sodio gelatina con harina de *Allium sativum***

Se prepararon 3 tratamientos de perlas y un control, las cápsulas se constituyeron en el material pared con 2.5% de alginato de sodio y 1.5% de gelatina para la preparación de 400 mL de solución encapsulante, se prepararon tres soluciones con un agregado porcentual de 2.5, 5 y 10% de harina de ajo (*Allium sativum*), los elementos fueron mezclados con ayuda de un procesador de alimentos Hamilton Beach® (modelo 59765) hasta homogenizar los componentes, esta formulación fue la mezcla para la formación de las perlas tipo matriz. Para la elaboración de la solución B, se agregaron 2.5% de alginato de sodio y 1.5% de gelatina para la

preparación de 400 mL de solución polimérica, la mezcla se homogenizó con ayuda del procesador; esta formulación constituyó la mezcla para la cobertura de solución A formando entre ambas estructuras perlas de tipo multi-pared (Gibbs *et al.*, 1999). Las cápsulas se obtuvieron por gelificación iónica, con base a la metodología de Pinpimai y colaboradores (2015) con modificaciones de acuerdo a lo descrito en el apartado 7.4.2. de este trabajo.

### **7.5.3.- Caracterización fisicoquímica**

Se obtuvieron parámetros de color con base a la metodología descrita por Harting (2013); valores de pH (Amiri *et al.*, 2017),  $a_w$  de acuerdo a lo realizado por Aguirre-Calvo & Santagapita (2016), así como la obtención de parámetros de capacidad de retención de agua (CRA) (Abbasiliasi *et al.*, 2019) y capacidad de hinchamiento (Fadlan *et al.*, 2020) de acuerdo a lo descrito en el numeral 7.4.4.

### **7.5.4.- Caracterización morfométrica**

Los parámetros para la descripción morfométrica se obtuvieron mediante el software ImageJ 64-bit Java 1.8.0 (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) de uso libre, por medio de un análisis de partículas de acuerdo a lo reportado por Cuervas-Mons y colaboradores (2019). Como se especifica en el apartado 7.4.5.

### **7.5.5.- Actividad antioxidante**

La actividad antioxidante se midió en la harina de ajo, así como en los tres tratamientos de cápsulas con harina de ajo (2.5, 5 y 10%) y el tratamiento control. El perfil de capacidad antioxidante se obtuvo mediante las pruebas de FRAP (2,4,6-tri(2- pyridyl)-1,3,5-triazine), ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico]-sal de diamonio) y DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), de acuerdo a metodología de Xiao y colaboradores (2020), con algunas modificaciones. Se pesaron muestras de 0.01 g y se colocaron en tubos Falcon<sup>®</sup> de 15 mL estos se homogenizaron y de esta se tomaron alícuotas para las diferentes pruebas (400µL para FRAP; 50µL para ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>); para FRAP las lecturas de absorbancia se tomaron a 593 nm, para ABTS<sup>•+</sup> a 732 nm y para DPPH<sup>•</sup> a 517 nm, por medio de un espectrofotómetro Genova 2251. Para la conversión de la absorbancia se elaboró una curva de calibración con Trolox a una concentración entre 0.2-0.8 mg/mL. Finalmente, los resultados se expresaron como µmol TE/g de muestra.

### **7.5.6.- Liberación de mgE de aliína por simulación gástrica**

La liberación de aliína *in vitro* se realizó a una temperatura de 25°C y un pH de 2.6, con una agitación constante de 60 movimientos por minuto (mpm) en un baño de agitación SW22 Julabo (Equipar México D.F.), se pesaron tres muestras por tratamiento de cápsulas (3 g cada una), incluyendo el control y se colocaron en tubos de ensayo de 50 mL, en cada tubo se adicionaron 30 mL de solución digestora para la simulación gástrica de acuerdo a lo reportado por Wong y colaboradores (2021) con modificaciones. Para la preparación de fluido de

simulación gástrica se utilizaron 2 g de NaCl, 3.2 g de pepsina y 7 mL de HCl 12 M para la obtención de 1 litro de fluido. La mezcla de los componentes se realizó una hora antes del desafío de las cápsulas. Finalmente se tomaron alícuotas de 500  $\mu$ L para la cuantificación de aliína a las horas 1, 2, 3 y 4 de desafío. La determinación de equivalentes de aliína se realizó en la harina de ajo, los residuales de la encapsulación y en los medios de desafío de las cápsulas, los resultados se expresaron en mgE aliína mL<sup>-1</sup>, g y % de mgE aliína liberados para poder expresar la eficiencia de encapsulación (*ecuación g*), la concentración de compuesto encapsulado (*ecuación h*) y la liberación de fenoles (*ecuación i*).

$$\text{Eficiencia \% (EE\%)} = \frac{(\text{mgE Aliína g}^{-1} \text{ de harina} - \text{mgE Aliína mL}^{-1} \text{ del residual}) * 100}{\text{mgE Aliína g}^{-1} \text{ de harina}}$$

***Ecuación g.-*** Indica el cálculo de la eficiencia de encapsulado

$$\text{Concentración (CE mgE Aliína g}^{-1}\text{)} = \frac{(\text{mgE Aliína mL}^{-1} \text{ del extracto})(\text{mL de extracto utilizado})(\text{EE\%})}{\text{g de cápsulas obtenidos}}$$

***Ecuación h.-*** Indica el cálculo de la concentración del compuesto aliína como molécula encapsulada sobre gramo de cápsulas obtenidas

$$\text{Liberación \% (LA\%)} = \frac{(\text{CE} - \text{mgE Aliína mL}^{-1} \text{ en alícuotas del desafío}) * 100}{\text{CE}}$$

***Ecuación i.-*** Indica el cálculo de la liberación porcentual del compuesto de interés (aliína), en los desafíos en agua y simulación gástrica a los que se sometieron las cápsulas.

### **7.5.7.- Ensayo de concentración de aliína con 4 mercaptopiridina (4-MP)**

La concentración de aliína se cuantificó en muestras de fluido de simulación gástrica los valores se obtuvieron de acuerdo a la metodología reportada por Miron y colaboradores en 2002. Alícuotas de 500  $\mu$ L se incubaron a temperatura

ambiente en 1.0 mL de 4-MP ( $10^{-4}$  M) disuelta en fosfato de sodio a 50 mM, ajustada a un pH de 7.2 con EDTA a 2 mM (Buffer A). Las muestras se incubaron durante 30 min y se realizaron las lecturas por medio de un espectrofotómetro Genova 2251 a una absorbancia de 324 nm. Se realizó una curva de calibración con un estándar de aliína a 0.015 mg/mL bajo las mismas condiciones que para las muestras ( $y=0.0008x-0.1041$   $r^2=0.99$ ). Los resultados se expresaron como mgE de aliína/mL de muestra, y se utilizaron para calcular la liberación de organoazufrados expresados como % de liberación en la prueba de simulación gástrica.

## **7.6.- Modelo *in vivo* con *Oreochromis* spp.**

### **7.6.1.- Insumos biológicos**

Las cápsulas evaluadas en el modelo *in vivo* corresponden a las descritas en su elaboración en el punto 7.5.2. del presente trabajo, con ello se contaron con cápsulas multi-pared con una composición de 2.5% alginato y 1.5% gelatina, con 4 tratamientos: control, y agregados con 2.5%, 5% y 10% de harina de ajo. Para la realización de las pruebas *in vivo* se obtuvo un total de 168 peces de una unidad de producción de crías localizada en Cañada Chica, Ixmiquilpan, Hidalgo ( $20^{\circ}25'30.801''$  N y  $99^{\circ}9'49.572''$  O), con un peso medio de  $3 \pm 1.5$  g los peces se trasladaron en bolsas plásticas de 60x90 cm con inyección de oxígeno a una saturación de  $>5$  mg L<sup>-1</sup>, 30 peces se analizaron para determinación de ectoparásitos (Scott & Govett, 2009) y endoparásitos (Amaechi, 2015) y se llevaron a engorda hasta alcanzar  $52.3 \pm 9.3$  g, mediante administración con alimento Nutripec de Purina® desarrollo con 40% de proteína y con cálculo de

alimentación mediante biometría. Una vez alcanzada esta talla los peces fueron separados por grupos para las diferentes pruebas, el manejo de los organismos se efectuó bajo la aprobación del comité de ética de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (Identificación del dictamen: Comiteei.icsa 4/2021, Hidalgo, México).

#### **7.6.2.- Grupos para prueba de palatabilidad e inocuidad de las cápsulas**

Para la prueba de palatabilidad e inocuidad de ingesta se colocaron 4 grupos de 12 peces en peceras de 20 litros, los grupos correspondieron a un control (solo alimento Nutripec de Purina® desarrollo con 40% de proteína) y tres dosificaciones de cápsulas sin harina de ajo 0.1, 0.2 y 0.3 g /pez (baja, media y alta) (Wang *et al.*, 2018b).

#### **7.6.3.- Grupos para prueba de ingesta de las cápsulas**

Para la prueba de ingesta se colocaron 6 grupos de 15 peces en tinas de 120 l, los grupos correspondieron a Tina 1; Cápsula control, Tina 2; Cápsula con 2.5% de harina de ajo, Tina 3; Cápsula con 5% de harina de ajo, Tina 4; Cápsula con 10% de harina de ajo, Tina 5; Alimento con 10% de harina de ajo adherido, Tina 6; Control 2 solo alimento. En todas las pruebas, los ejemplares tuvieron 15 días de aclimatación en grupo, se alimentaron de acuerdo a cálculo por biometría y se mantuvieron en un sistema de oxigenación a  $>5 \text{ mg L}^{-1}$  y una temperatura del agua entre 25 a 28 °C (Pirarat *et al.*, 2015). En los contenedores se aplicó un recambio de agua del 50% cada 24 horas (Rodríguez *et al.*, 2018). Para la administración oral de los tratamientos los peces se acondicionaron con 24 horas

de ayuno para el vaciado intestinal e incentivar la ingesta de las cápsulas (Trentín-Corral *et al.*, 2018). Las cápsulas y el alimento (Nutripec de Purina® desarrollo con 40% de proteína) fueron administrados por voleo ajustando las dosis de ingesta de acuerdo con el cálculo por biometría, como se especifica en la tabla 6.

**Tabla 6.- Datos de identificación por grupo experimental para la dosificación oral de aliína en el modelo *in vivo* de *Oreochromis spp.***

Tina	1	2	3	4	5	6
Tratamiento	Ctrl	2.50%	5%	10%	Adhe	Alim
mgE Alliin/g cápsula	0	2.48	5.24	10.28	10.28	0
No. de peces por tratamiento	15	15	15	15	15	15
Meso medio de los peces (g)	49.36	50.92	49.44	46.66	71	46.42
Biomasa por tina (g)	740.4	763.8	741.6	699.9	1065	696.3
Alimento por biomasa (g)	29.61	30.55	29.66	27.99	42.6	27.852
Alimento por ración (5 raciones)	5.92	6.11	5.93	5.59	8.52	5.57
50% ajuste de alimento	2.96	3.05	2.96	2.79	4.26	2.78
Aliína por día (mgE aliína)	0	15.17	31.13	57.60	87.66	0
Dosis de tratamiento (mgE aliína)	0	106.22	217.92	403.26	613.63	0
Dosis total por pez (mgE aliína)	0	7.08	14.52	26.88	40.90	0

Nota: todos los cálculos de alimentación se realizaron al 4% de la biomasa de acuerdo a tablas estándar de alimentación para tilapia. 2 dosis de alimento fueron sustituidas por tratamiento en las tinas 2, 3, 4 y 5. El complemento de la alimentación se mantuvo de acuerdo a biometría con Nutripec de Purina® desarrollo con 40% de proteína.

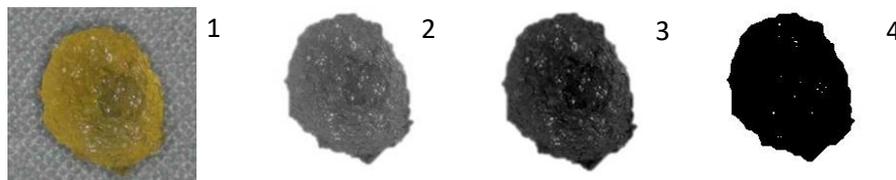
#### 7.6.4.- Prueba de palatabilidad

El test de palatabilidad se desarrolló acorde a lo descrito por Trentín-Corral y colaboradores en 2018 con modificaciones. cuatro grupos de 12 peces en peceras de 20 litros, al control no se administró cápsula, mientras que a los tres grupos restantes se administró una dosis baja (0.1g/pez o 63 cápsulas por pecera, media (0.2 g/pez o 123 cápsulas por pecera) y alta (0.3 g/pez o 195 cápsulas por pecera). Los peces se monitorearon durante 8 horas, recuperando y contando las

cápsulas a las horas 2, 4 y 8. La tasa de ingesta se reportó en número de cápsulas y en porcentaje de ingestión de alimento.

#### 7.6.5.- Análisis de partículas de cápsulas post ingesta

De cada grupo establecido para la prueba de inocuidad, se sacrificó 1 pez cada hora post tratamiento en las horas 1, 2, 3 y 4, se realizó la inspección visual y por microscopio estereoscópico del contenido intestinal (Acosta-Pérez *et al.*, 2022), de cada pez se recuperaron tres cápsulas ingeridas (Rodríguez *et al.*, 2018), a estas cápsulas se les realizó determinación morfométrica de acuerdo a lo reportado por Ponce Nogues en 2020. El análisis morfométrico se realizó mediante el procesamiento de fotografías en formato jpg. por identificación automatizada de los contornos de las partículas y análisis de partículas mediante el uso del software de uso libre ImageJ del National Institutes of Health, USA en su versión 1.5e. (Cuervas-Mons *et al.*, 2019). Los parámetros seleccionados para su cuantificación fueron *área, perímetro, diámetro de Feret y circularidad* de las partículas. El procesamiento de las imágenes se describe en la figura 11.



**Figura 11.- El proceso de imagen se realizó a partir de la siguiente ruta abrir<sup>1</sup>->escalamiento de imágenes->conversión de las imágenes a 8 bits<sup>2</sup>->ajuste de brillo y contraste<sup>3</sup>->análisis de partículas por ImageJ software<sup>4</sup>.**

### 7.6.6.- Análisis de sobrevivencia

Posterior a la prueba de palatabilidad y de recuperación de cápsulas, se conservaron 8 peces por pecera, para su seguimiento durante 14 días, esto para evaluar la inocuidad de las cápsulas en las tres dosificaciones otorgadas (baja, media y alta) (Ellison *et al.*, 2018). El efecto de los tratamientos se midió por análisis de *Cox-Mantel* en un análisis de sobrevivencia, a partir de la *ecuación j* (Sawyer, 2005), elaborado por medio del software de uso libre R (Boston, MA, USES).

$$V_1 = \sum_{i=1}^r w_i \left( d_{i1} - \frac{d_i N_{i1}}{N_i} \right)$$

**Ecuación j.-** Donde (i)  $0 = t_0 \leq t_1 < t_2 < t_i < \dots < t_r$  son los distintos tiempos a los que se han observado las muertes (datos no censurados), (ii)  $d_i$  es el número total de muertes observadas (no censurados) al tiempo  $t_i$  en todas las muestras, (iii)  $N_i$  es el set total en riesgo al tiempo  $t_i$ , (iv)  $w_i \geq 0$  es un peso arbitrario que es asignado como 1 en la prueba de *Cox-Mantel*.

### 7.6.7.- Cuantificación de aliína en sangre de *Oreochromis* spp.

Seis grupos de 15 peces se colocaron en seis tinajas de 120 l cada una los tratamientos fueron administrados vía oral de acuerdo a lo reportado por Wang y colaboradores (2018b), con algunas modificaciones, el tratamiento se aplicó por un total de 7 días, y las mediciones de mgE de aliína en sangre se aplicaron en los días 1, 7, 14 y 21 post tratamiento. De cada grupo experimental se tomaron 3 peces a los días señalados para obtener muestras de sangre, este procedimiento se realizó mediante una punción en aleta caudal con una jeringa de 1 mL y aguja de 23 G, introduciendo la aguja a una distancia media entre las bases anteriores de las aletas pectorales (Alaye-Rahy & Morales-Palacios, 2013). Las muestras se

depositaron en tubos microtainer de 500  $\mu\text{l}$  con EDTA  $\text{K}_2$ , posteriormente se transfirieron a tubos Eppendorf de 1.5 mL, los tubos se llevaron a centrifuga a 2000 x g durante 15 min para la obtención de plasma sanguíneo. Alícuotas de 500  $\mu\text{l}$  de plasma se utilizaron para cuantificar la concentración de aliína de acuerdo a la metodología reportada por Miron y colaboradores (2002). Las alícuotas se incubaron a temperatura ambiente en 1.0 mL de 4 mercaptopiridina (4-MP) ( $10^{-4}$  M) disuelta en fosfato de sodio a 50 mM, ajustada a un pH de 7.2 con EDTA a 2 mM (Buffer A). Las muestras se incubaron durante 30 min y se realizaron las lecturas por medio de un espectrofotómetro Genova 2251 a una absorbancia de 324 nm. Se realizó una curva de calibración con un estándar de aliína a 0.015 mg/mL bajo las mismas condiciones que para las muestras ( $y=0.0008x+0.1041$   $r^2=0.99$ ). Los resultados se expresaron como mgE de aliína/mL de muestra, y se utilizaron para calcular la presencia de organoazufrados post tratamiento en sangre de las tilapias.

#### **7.6.8.- Efecto de las cápsulas en la comunidad parasitaria de *Oreochromis* spp.**

Se colectaron 30 peces (*Oreochromis* sp.) en producción de engorda de una granja ubicada en el municipio de Chilcuautla, Hidalgo.  $20^{\circ} 18' 21.8988$ ,  $-99^{\circ} 13' 42.297''$ , los peces se acondicionaron para su traslado, con un peso medio de  $116.8 \pm 28.7$  g los peces se trasladaron en bolsas plásticas de 60x90 cm con inyección de oxígeno a una saturación de  $>5$  mg  $\text{L}^{-1}$ , los peces trasladados se dividieron en tres grupos de 10 peces cada uno, donde el primer grupo de 10

peces se analizó para determinación de ectoparásitos (Scott & Govett, 2009) y endoparásitos (Amaechi, 2015), para la obtención de los hallazgos iniciales (prevalencias) de la carga parasitaria de origen. Los dos grupos restantes se colocaron en tinas de 120 L, en los contenedores se aplicó un recambio de agua del 50% cada 24 horas (Rodríguez *et al.*, 2018). Para la administración oral de los tratamientos los peces se acondicionaron con 24 horas de ayuno para el vaciado intestinal e incentivar la ingesta de las cápsulas (Trentin-Corral *et al.*, 2018). Posteriormente se administraron cápsulas con 5% de harina de ajo realizadas bajo la metodología de Gibbs y colaboradores y Pinpimai y colaboradores, con la dosificación ajustada a la biomasa de los peces experimentales, donde se calculó una ingesta de 10.16 g de cápsulas al día y una correspondencia de 53.31 mgE de aliína para cada 10 peces. Los grupos fueron complementados con alimento comercial (Nutripec de Purina® desarrollo con 40% de proteína), para completar el alimento diario calculado por biometría. El tratamiento de cápsulas 5% se aplicó durante 7 días, al día 4 de tratamiento se realizó el muestreo parasitológico correspondiente con el grupo 2, y al día 8 post tratamiento se realizó el muestreo parasitológico con el grupo 3. Los resultados se expresan como prevalencias presentes en cada grupo de peces.

#### **7.6.9.- Monitoreo post tratamiento en los peces**

Como parte del seguimiento post tratamiento, se evaluaron los conteos sanguíneos de leucocitos, eritrocitos, hematocrito y hemoglobina de los peces, después de 21 días post tratamiento de acuerdo a lo reportado por Setijaningsih y

colaboradores (2021), tres muestras de sangre de 500 µl se colectaron de tres peces de cada tina de acuerdo a lo descrito por Alaye-Rahy y Morales-Palacios (2013), las muestras se procesaron por método de impedancia y microscopia en el laboratorio clínico BioGeneTicks®, del mismo modo se evaluaron los parámetros de crecimiento post tratamiento, los parámetros calculados fueron los correspondientes a las *ecuaciones k, l y m*, los peces se alimentaron de acuerdo a biometría ajustada durante 21 días, hasta obtener los parámetros biométricos finales, de acuerdo a lo reportado para la especie *Oreochromis niloticus* (Yazıcı *et al.*, 2022; Zafra *et al.*, 2019). Finalmente, las canales obtenidas después de los 21 días post tratamiento fueron analizadas para obtener los parámetros de su composición proximal por medio de los métodos de la AOAC (AOAC, 2015): Proteína; Método Oficial de Análisis de AOAC (2002) subcapítulo 33.2.11AOAC (2002), Grasa: Método Oficial de Análisis de AOAC (2002) subcapítulo 920.39 (AOAC, 2002), Cenizas: Método Oficial de Análisis de AOAC (2002) subcapítulo 4.1.1017a (AOAC, 2002) y Humedad: Método Oficial de Análisis de AOAC (2002) subcapítulo 4.1.0317a. Secado por estufa (AOAC, 2002).

$$\text{Factor de conversión alimenticia} = \frac{\text{Alimento otorgado a la población de peces}}{\text{Biomasa ganada por un tiempo determinado}}$$

**Ecuación k. Cálculo de la del factor de conversión alimenticia como un parámetro de aprovechamiento del recurso alimenticio**

$$\text{Peso ganado por pez} = \frac{\text{Biomasa ganada por la población}}{\text{No. de peces en un tiempo definido}}$$

**Ecuación l.** Cálculo del peso ganado por pez como un parámetro que indica monitoreo en los tiempos de cultivo

$$\text{Peso ganado por pez por día} = \frac{\text{Biomasa ganada} / \text{No. de peces de la población}}{\text{Días de monitoreo}}$$

**Ecuación m.** Cálculo del peso ganado por pez por día, como un parámetro de monitoreo del ritmo de crecimiento

## 7.8.- Análisis de datos-estadísticos

Se realizó el cálculo de índices, y la obtención de datos por triplicado o superior (hasta 15); los datos se sometieron a prueba de normalidad Anderson-Darling, cuando los datos fueron susceptibles se aplicó normalización de los mismo por puntuación tipificada ( $X-\mu/\sigma$ ), la inferencia se realizó mediante ANOVA, con una confiabilidad del 95% y un error alfa de 0.05, la comparación de medias (*Tukey*) se realizó para las variables con efecto de tratamiento significativo, con el uso de Rstudio (Boston, MA, USES). Mientras que para las pruebas de matriz de correlación de *Pearson* se utilizó el estadístico descrito en la *ecuación f* del presente trabajo en la sección 7.3.3., del mismo modo para el análisis de sobrevivencia de *Cox-Mantel*, se utilizó el estadístico correspondiente a la *ecuación j* que se desglosa en la sección 7.6.6., en ambos casos el estadístico se realizó mediante el software de uso libre Rstudio (Boston, MA, USES).

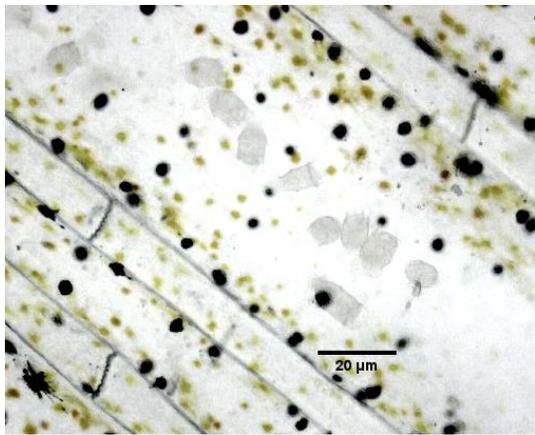
## 8.- Resultados y discusiones

### 8.1.-Evaluación de las cargas parasitarias en canales de tilapia en el *Valle del Mezquital*, Hidalgo, México.

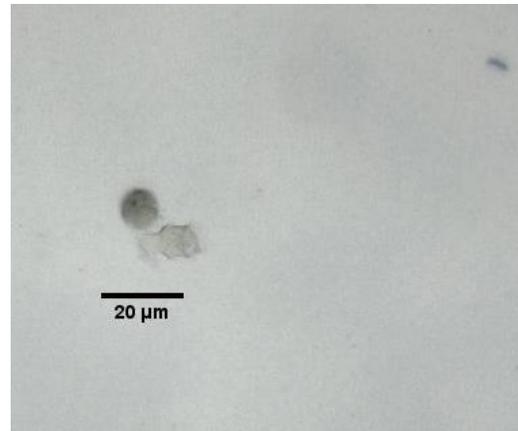
#### 8.1.1.- Prevalencias parasitarias

Los peces muestreados presentaron un peso promedio de  $96.13 \pm 98.83$  g y una talla de  $13.60 \pm 7.95$  cm, la población muestral presentó una prevalencia global del 57.46% para cargas parasitarias, similar a lo reportado por Wanderson y colaboradores (2012) quienes reportaron 64.2% de prevalencias parasitarias, en este estudio 77 peces de 134 se encontraron infectados con al menos un género parasitario. Se recuperaron un total de 6, 910 parásitos en las tilapias, estos correspondieron a 11 géneros que se enlistan en la tabla 7, entre ellos el monogeneo *Dactylogyrus* sp. fue el más prevalente con 42.54% de peces infectados, prevalencia superior a lo reportado en países de mayor cultura de producción acuícola como La India, donde se ha reportado 26% de prevalencia para infección por monogéneos en tilapia de cultivo (Sathish *et al.*, 2021). El protozooario *Trichodina* sp. fue el segundo parásito de prevalencia mayor en el estudio (32.09%), la infección por *Trichodina* sp. en tilapia de cultivo es un riesgo sanitario constante ya que se ha reportado de manera recurrente con afecciones que van de 37.5 a 96.3% de prevalencia (Kolia *et al.*, 2021; Mitiku *et al.*, 2018; Zago *et al.*, 2014). Los peces presentaron cargas parasitarias por 5 protozoarios más entre los que se incluyen; *Tetrahymena* sp. (4.48%), *Scyphidia* sp. (0.75%), *Costia* sp. (1.49%), *Apiosoma* sp. (8.96%) y *Chilodonella* sp. (2.24%) (Figura 12). Así mismo, se aislaron parásitos de 3 géneros más de monogéneos entre los que se encontraron; *Dawestrema* sp. (8.21%), *Gyrodactylus* sp. (10.45%) y

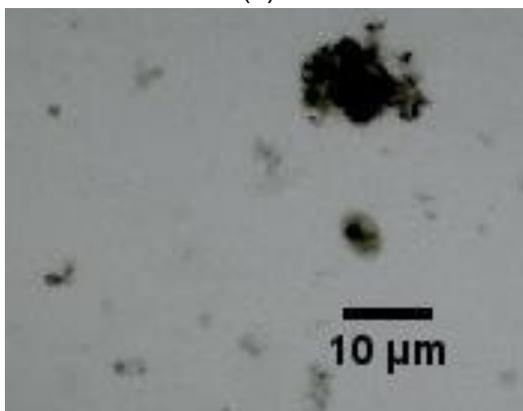
*Cichlidogyrus* sp. (2.99%) (Figura 13). Además, se recuperaron parásitos del género de dinoflagelados *Oodinium* sp. con una prevalencia de 1.49%, estos índices sugieren una carga parasitaria mayor que los reportados para algunos estudios en peces de vida libre (Manbe *et al.*, 2020). Entre las cargas parasitarias el género *Trichodina* sp. presentó ocurrencia en los 11 puntos de muestreo, mientras que parásitos del género *Cichlidogyrus* sp. y *Scyphydia* sp. se aislaron en un solo punto, entre ellos *Scyphydia* sp. presentó la prevalencia menor en el estudio (0.75%).



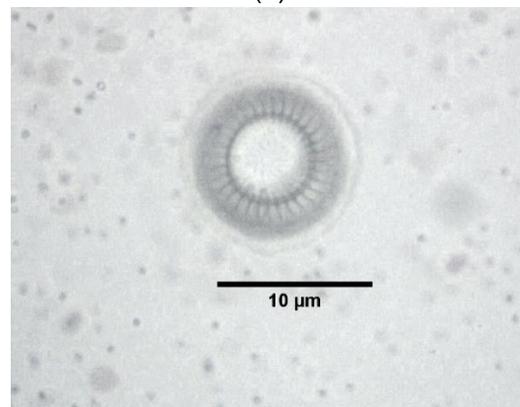
(a)



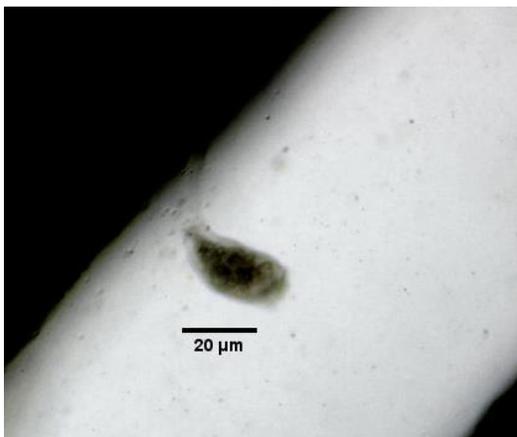
(b)



(c)



(d)



(e)

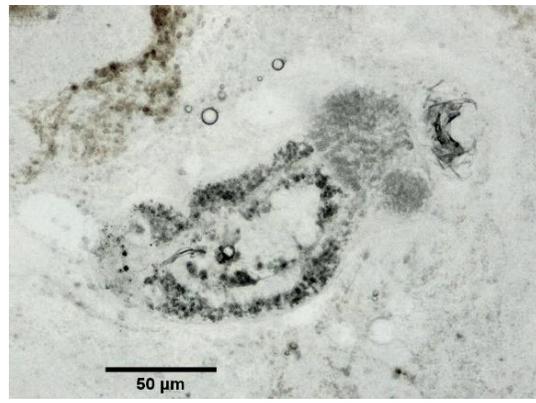


(f)

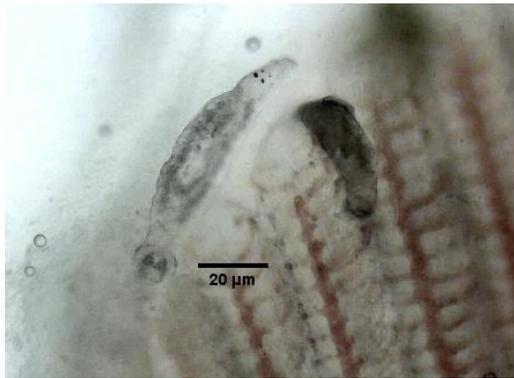
**Figura 12.- Parásitos protozoarios identificados en las muestras de tilapia de cultivo en el Valle del Mezquital, a) *Apiosoma* sp recuperado de branquias y aletas, b) *Chilodonella* sp. se aislaron a partir de branquias y aletas, se observa junto a un ejemplar de *Apisoma* sp. c) *Costia* sp. los ejemplares de aislaron de branquia y aletas. d) *Trichodina* sp. recuperadas de las branquias. e) *Scyphydia* sp. se aislaron de branquia. f) *Tetrahymena* sp. ejemplares recuperados de branquia.**



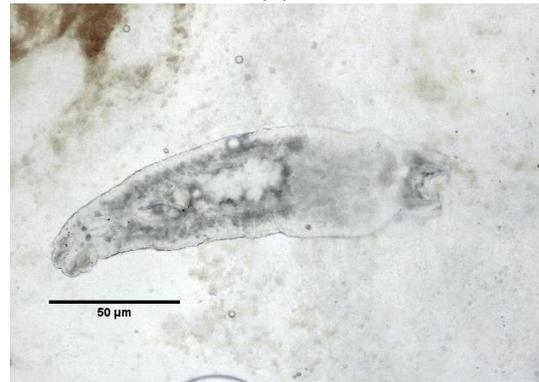
(a)



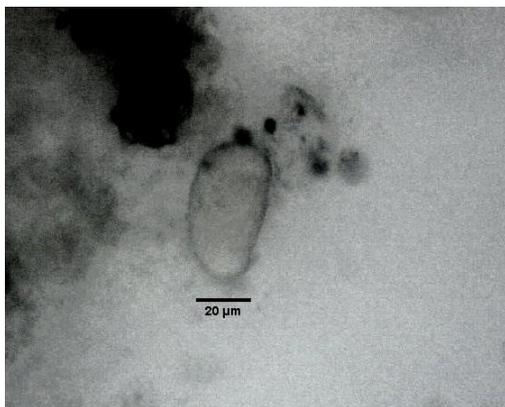
(b)



(c)



(d)



(e)

**Figura 13.- Parásitos monogéneos identificados en las muestras de tilapia de cultivo en el Valle del Mezquital, a) *Cichlidogyrus* sp. b) *Dactylogyrus* sp. c) *Dawestrema* sp. d) *Gyrodactylus* sp. y el dinoglagelado e) *Oodinium* sp.. Las cargas parasitarias correspondientes a estos géneros fueron observadas en la región anatómica branquial en las tilapias de cultivo.**

**Tabla 7.- Prevalencias de las cargas parasitarias que afectan a la tilapia de cultivo, determinación parasitaria a partir de sistemas de producción acuícola del Estado de Hidalgo.**

Género parasitario	Punto de muestreo / No. de peces muestreados											Prevalencia global $\pm$ DS*	IC 95%
	G1/34	G2/10	G3/10	G4/10	G5/10	G6/10	G7/10	G8/10	G9/10	G9.1/10	G10/10		
<b>Protozoarios</b>	<b>Prevalencia (No. de peces infectados)</b>												
<i>Trichodina sp.</i>	5.88 (2)	10.00 (1)	10.00 (1)	40.00 (4)	100.00 (10)	50.00 (5)	20.00 (2)	40.00 (4)	30.00 (3)	100.00 (10)	10.00 (1)	<b>32.09 <math>\pm</math> 34.07</b>	<b>30.10-34.08</b>
<i>Tetrahymena sp.</i>	-	-	-	40.00 (4)	-	-	-	-	-	20.00 (2)	-	<b>4.48 <math>\pm</math> 12.93</b>	<b>3.72-5.23</b>
<i>Scyphydia sp.</i>	-	-	-	-	10.00 (1)	-	-	-	-	-	-	<b>0.75 <math>\pm</math> 3.01</b>	<b>0.57-0.92</b>
<i>Costia sp.</i>	-	-	-	-	10.00 (1)	-	-	-	-	10.00 (1)	-	<b>1.49 <math>\pm</math> 4.04</b>	<b>1.26-1.73</b>
<i>Apiosoma sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	10.00 (1)	100.00 (10)	10.00 (1)	<b>8.96 <math>\pm</math> 29.81</b>	<b>7.22-10.69</b>
<i>Chilodonella sp.</i>	-	-	-	-	-	-	10.00 (1)	-	-	20.00 (2)	-	<b>2.24 <math>\pm</math> 6.46</b>	<b>1.86-2.62</b>
<b>Monogéneos</b>													
<i>Dactylogyrus sp.</i>	38.24 (13)	20.00 (2)	20.00 (2)	60.00 (6)	100.00 (10)	50.00 (5)	10.00 (1)	-	80.00 (8)	50.00 (5)	50.00 (5)	<b>42.54 <math>\pm</math> 30.11</b>	<b>40.78-44.29</b>
<i>Dawestrema sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	10.00 (1)	50.00 (5)	50.00 (5)	-	<b>8.21 <math>\pm</math> 20</b>	<b>7.04-9.37</b>
<i>Gyrodactylus sp.</i>	11.76 (4)	-	-	10.00 (1)	-	-	-	-	30.00 (3)	60.00 (6)	-	<b>10.45 <math>\pm</math> 18.8</b>	<b>9.34-11.55</b>
<i>Cichlidogyrus sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40.00 (4)	-	<b>2.99 <math>\pm</math> 12.06</b>	<b>2.28-3.69</b>
<b>Dinoflagelado</b>													
<i>Oodinium sp.</i>	-	-	-	-	10.00 (1)	-	-	-	-	10.00 (1)	-	<b>1.49 <math>\pm</math> 4.04</b>	<b>1.26-1.73</b>
<b>Totales</b>												<b>57.46 <math>\pm</math> 23.81</b>	<b>56.07-58-85</b>

\*Prevalencias calculadas como índice de la infección, a partir de número de infectados/ número de muestreados por 100, mientras que los intervalos de confianza se calcularon mediante Excel con la función *inetrvalo.confianza.norm*, utilizando un error alfa de 0.5 y la desviación estándar por género parasitario.

### 8.1.2.- Biodiversidad parasitaria

En la cuenta parasitaria los puntos de muestreo G9.1 y G5 mostraron la presencia parasitaria mayor con 4 325 y 1 954 parásitos presentes en las tilapias muestreadas, solo estas dos granjas representaron un 90.86% de los parásitos recuperados en el estudio, mientras que la riqueza parasitaria en *Oreochromis* sp. (2-10) fue similar a lo reportado previamente en *Oreochromis niloticus* en Kenia (11) (Adamba *et al.*, 2020) (Tabla 8). La biodiversidad parasitaria en *Oreochromis* sp. en las diferentes localidades de muestreo evidenció un índice de *Simpson* global de 0.55, valor inferior a lo reportado en ambientes de pesca (Turkana en Kenia) para *Tilapia zillii* (0.88) (Otachi *et al.*, 2015). No obstante, entre las localidades se observaron valores superiores a la media, el punto G2 presentó un índice de *Simpson* de 0.76, seguido del punto G3 con un índice de 0.58, en contraparte los puntos G6 y G8 representaron los puntos de diversidad biológica parasitaria menor con índices de *Simpson* de 0.05 y 0.02 respectivamente, los valores de biodiversidad bajos que presentaron estos puntos pueden estar asociados a la presencia de la especie dominante (Blahoua Kassi *et al.*, 2019), ya que la dominancia de estos puntos fue alta con 0.97 y 0.98 en ambos casos asignada a *Trichodina* sp.. Así mismo, se calculó el índice de dominancia parasitaria global donde nuevamente *Trichodina* sp. fue el género dominante con un índice de *Berger -Parker* de 0.55, además, fue el género dominante de 5 puntos de muestreo con índices entre 0.75 y 0.98. Conjuntamente, el género *Dactylogyrus* sp. fue dominante en la comunidad parasitaria de las tilapias en 5 puntos de muestreo, para este género los índices de *Berger-Parker* mostraron

valores entre 0.53 y 0.91 (Tabla 8), la dominancia de estos géneros en la comunidad parasitaria fue superior a lo reportado por Blahoua Kassi y colaboradores (2019) para monogéneos en el cíclido teleósteo *Tylochromis jentinki* (entre 0.21 y 0.44), lo que evidencia un equilibrio poblacional bajo entre las cargas parasitarias. Finalmente, en el punto G9.1 *Apisoma* sp. fue predominante sobre 9 géneros parasitarios presentes en la muestra, el índice de dominancia que presentó fue de 0.66 (Tabla 8). Los índices de diversidad parasitaria pueden ser indicadores de la estructura la población de los peces hospederos (Marinho *et al.*, 2013; Morris *et al.*, 2019), así mismo, se ha reportado que las variaciones de la comunidad parasitaria que afecta a los peces pueden ser atribuidas a las variaciones en la prevalencia y abundancia de los taxones dominantes (Villalba-Vasquez *et al.*, 2018).

**Tabla 8.- Diversidad parasitaria por punto de muestreo, se indica el índice de *Simpson* y la especie dominante por cálculo de índice de *Berger-Parker*.**

Punto de muestreo	No. de parásitos	Riqueza parasitaria*	Índice de <i>Simpson</i> **	Índice de <i>Berger-Parker</i> **
			$Ds = 1 - \frac{\sum ni(ni - 1)}{N(N - 1)}$	$d = \frac{N_{max}}{N}$
G1	39	3	0.58	0.53 ( <i>Dactylogyrus</i> sp.)
G2	45	2	0.76	0.86 ( <i>Trichodina</i> sp.)
G3	12	2	0.59	0.75 ( <i>Dactylogyrus</i> sp.)
G4	38	3	0.53	0.55 ( <i>Dactylogyrus</i> sp.)
G5	1, 954	6	0.07	0.95 ( <i>Trichodina</i> sp.)
G6	306	2	0.05	0.97 ( <i>Trichodina</i> sp.)
G7	8	3	0.46	0.75 ( <i>Trichodina</i> sp.)
G8	77	2	0.02	0.98 ( <i>Trichodina</i> sp.)
G9	83	5	0.49	0.68 ( <i>Dactylogyrus</i> sp.)
G9.1	4, 325	10	0.46	0.66 ( <i>Apiosoma</i> sp.)
G10	23	3	0.16	0.91 ( <i>Dactylogyrus</i> sp.)
Totales	6,910	11	0.55	0.51 ( <i>Trichodina</i> sp.)

\*Indica el número de géneros parasitarios identificados en las muestras de tilapia correspondientes a los diferentes puntos de muestreo. \*\*Los índices calculados arrojan valor entre 0 y 1 donde a mayor valor existe mayor diversidad y mayor dominancia para *Simpson* y *Berger-Parker*, respectivamente.

### 8.1.3.- Índices ecológicos de las parasitosis

Para la caracterización de la afección parasitaria se calcularon los índices ecológicos de abundancia e intensidad, la abundancia calculada muestra características de la infección en la población muestreada, los 11 géneros recuperados de la tilapia se agruparon en 3 niveles de afección (Figura 14a), estos valores evidenciaron a los protozoarios *Trichodina* sp. (26.62) y *Apisoma* sp. (21.64) como los parásitos de abundancia alta en este estudio, en la clasificación de abundancia media se agruparon *Dactylogyrus* sp. con 1.71 y *Chilodonella* sp. con 0.88, mientras que los 7 géneros restantes conformaron un grupo de abundancia baja con parámetros entre 0.02 a 0.18, los valores fueron contrarios a lo reportado previamente en granjas de tilapia en Yucatán, México, donde la abundancia en monogenos (*Cichlidogyrus sclerosus* 73.84) fue superior a las presentes por protozoarios (1.22-12.04) (Paredes-Trujillo *et al.*, 2016). Del mismo modo, se calcularon los índices de intensidad, este índice caracteriza la afección parasitaria en la población infectada (Akoll *et al.*, 2012), los valores obtenidos colocaron a las cargas parasitarias en tres niveles de afección, entre los parásitos detectados, los géneros *Apiosoma* sp. (241.66) y *Trichodina* sp. (82.97) fueron las infecciones de intensidad alta, la intensidad que presentó *Trichodina* sp. fue similar a lo reportado en tilapias de cultivo en jaula en Brasil ( $96.4 \pm 33.8$ ) (Zago *et al.*, 2014). Por otro lado, en el nivel de intensidad media se encontraron a las cargas parasitarias de *Chilodonella* sp. (39.66), mientras que los 8 géneros restantes se clasificaron como infecciones de intensidad baja, los valores de intensidad en este grupo fueron desde 1.5 para el dinoflagelado *Oodinium* sp. hasta 7 para el

protozooario *Scyphydia* sp. (Figura 14b). La alta intensidad que mostró *Apiosoma* sp. sugiere una infección de tipo emergente en la zona de estudio, mientras que las parasitosis recurrentes por *Trichodina* sp. presentaron intensidad menor dado que se ha reportado que la tilapia de Nilo puede mostrar resistencia contra infecciones reincidentes ante otros parásitos como *Gyrodactylus cichlidarum*, esto atribuido a la respuesta del sistema inmune adaptativo en los peces (Zhi *et al.*, 2020).

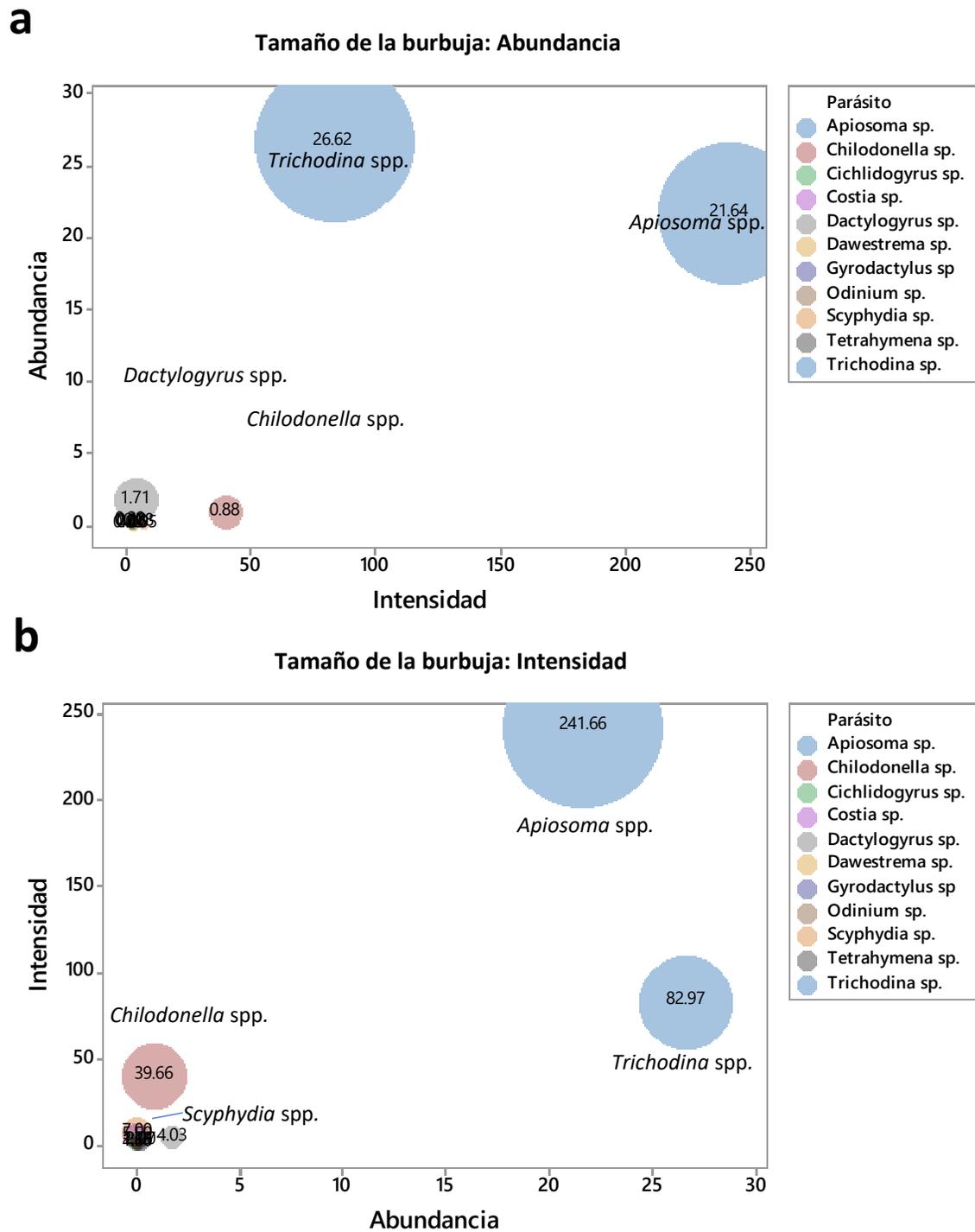


Figura 14.- Gráficos de globo para los índices ecológicos de abundancia (a) e intensidad (b), calculada para cada género parasitario recuperado de muestras de tilapia de cultivo.

#### 8.1.4.- Parámetros de calidad del agua

La calidad del agua fue evaluada en los 10 puntos de muestreo, la media ( $\pm$  la desviación estándar) de los parámetros fisicoquímicos se encuentran en la tabla 9. Los valores de pH se encontraron en el intervalo de 6.46-7.46, entre las diferentes localidades el punto G1 mostró el valor inferior para este parámetro ( $P < 0.001$ ), estos valores se encuentran cercanos a los reportados en estanques de concreto para el cultivo de crías de tilapia en Costa Rica (6.60) (Arguedas *et al.*, 2017), las mediciones de los compuestos nitrogenados en el agua de cultivo mostraron que los niveles de nitritos ( $\text{NO}_2^- \text{-N mg L}^{-1}$ ) se encontraron entre 0-1 con valores superiores ( $P < 0.001$ ) en las granjas correspondientes a los puntos de G6 a G10, las concentraciones de nitratos ( $\text{NO}_3^- \text{-N mg L}^{-1}$ ) presentaron valores de 0 a 33.33, para este parámetro la granja G6 fue estadísticamente superior que los demás puntos de colecta ( $P < 0.0001$ ). Así mismo la concentración de amonio ( $\text{NH}_3 \text{-N mg L}^{-1}$ ) arrojó valores de 0.50 a 2.50 con la granja G1 con la concentración mayor de este compuesto ( $P < 0.0001$ ), las 11 muestras evidenciaron niveles de compuestos nitrogenados por encima de las recomendaciones para el cultivo de tilapia  $< 0.1$ , con énfasis en las concentraciones de amonio (Yusni & Rambe, 2019). Las concentraciones de  $\text{CO}_2$ , evidenciaron una calidad del agua pobre en la granja G6 ( $590 \pm 121.24$ ) seguida de las granjas G9 y G6 con una concentración de  $\text{CO}_2$  de  $290 \pm 17.32$  y  $160 \pm 17.32$  respectivamente, este parámetro puede sugerir que las poblaciones de tilapia se encuentran en densidades altas para su cultivo (Sharmin *et al.*, 2020). Finalmente, las concentraciones de carbonatos de calcio mostraron que la tilapia se cultiva de manera predominante en aguas denominadas duras

con valores de  $\text{CaCO}_3$  mg L<sup>-1</sup> de hasta  $511 \pm 7.54$ , mientras que los valores de alcalinidad del agua fueron de hasta  $507 \pm 27.49$ . Los valores de dureza fueron similares a los reportados por Cavalcante y colaboradores (2014) en tilapias (58-529), mientras que la alcalinidad fue inferior respecto al mismo estudio previo (53-104), no obstante, el agua de las granjas del *Valle del Mezquital* mantuvo una proporción cercana 1/1 entre estos parámetros, favoreciendo el cultivo y el crecimiento de los organismos.

**Tabla 9.- Parámetros de calidad del agua relacionados al cultivo de tilapia, las muestras de agua analizadas corresponden a los puntos de muestreo en los que se obtuvieron muestras de tilapia para el análisis parasitológico<sup>1</sup>.**

Parámetros de calidad del agua								
Muestra	pH	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N mg L <sup>-1</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N mg L <sup>-1</sup>	NH <sub>3</sub> -N mg L <sup>-1</sup>	CaCO <sub>3</sub> mg L <sup>-1</sup>	CO <sub>2</sub> mg L <sup>-1</sup>	Alcalinidad Fenolftaleína	Alcalinidad Total
G1EHMP	6.46 ± 0.05 <sup>f</sup>	0.20 ± 3.4e-17 <sup>i</sup>	13.33 ± 5.77 <sup>bc</sup>	2.50 ± 0 <sup>a</sup>	307 ± 9.16 <sup>de</sup>	32 ± 1.73 <sup>d</sup>	250 ± 17.32 <sup>a</sup>	361 ± 4.58 <sup>cd</sup>
G2EHMP	7.03 ± 0.15 <sup>cde</sup>	0.00 ± 0 <sup>k</sup>	0.00 ± 0 <sup>c</sup>	0.50 ± 0 <sup>d</sup>	46 ± 1.73 <sup>g</sup>	160 ± 17.32 <sup>c</sup>	0 ± 0 <sup>b</sup>	65 ± 1.73 <sup>g</sup>
G3EHMP	6.90 ± 0.10 <sup>e</sup>	0.20 ± 3.4e-17 <sup>h</sup>	20.00 ± 0 <sup>ab</sup>	1.00 ± 0 <sup>cd</sup>	273 ± 34.59 <sup>e</sup>	79 ± 4.58 <sup>cd</sup>	0 ± 0 <sup>b</sup>	317 ± 4.58 <sup>e</sup>
G4EHMP	7.03 ± 0.50 <sup>cde</sup>	0.00 ± 0 <sup>j</sup>	10.00 ± 0 <sup>bc</sup>	0.50 ± 0 <sup>d</sup>	275 ± 18.33 <sup>e</sup>	650 ± 17.32 <sup>a</sup>	0 ± 0 <sup>b</sup>	330 ± 3.00 <sup>de</sup>
G5EHMP	7.10 ± 0.10 <sup>bcd</sup>	0.20 ± 3.4e-17 <sup>g</sup>	10.00 ± 0 <sup>bc</sup>	0.66 ± 0.28 <sup>d</sup>	191 ± 6.92 <sup>f</sup>	0 ± 0 <sup>d</sup>	15 ± 0 <sup>b</sup>	370 ± 17.32 <sup>cd</sup>
G6EHMP	7.46 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.00 ± 0 <sup>e</sup>	33.33 ± 11.54 <sup>a</sup>	2.16 ± 0.28 <sup>ab</sup>	197 ± 4.58 <sup>f</sup>	590 ± 121.24 <sup>a</sup>	0 ± 0 <sup>b</sup>	255 ± 30.44 <sup>f</sup>
G7EHMP	6.96 ± 0.05 <sup>de</sup>	1.00 ± 0 <sup>d</sup>	13.33 ± 5.77 <sup>bc</sup>	1.50 ± 0.50 <sup>bc</sup>	379 ± 15.39 <sup>c</sup>	46 ± 3.46 <sup>d</sup>	0 ± 0 <sup>b</sup>	507 ± 27.49 <sup>a</sup>
G8EHMP	7.03 ± 0.05 <sup>cde</sup>	1.00 ± 0 <sup>c</sup>	16.66 ± 5.77 <sup>b</sup>	2.00 ± 0 <sup>ab</sup>	428 ± 4.58 <sup>b</sup>	41 ± 3.46 <sup>d</sup>	0 ± 0 <sup>b</sup>	378 ± 3.00 <sup>bc</sup>
G9EHMP	7.30 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.00 ± 0 <sup>b</sup>	10.00 ± 0 <sup>bc</sup>	1.50 ± 0 <sup>bc</sup>	517 ± 9.16 <sup>a</sup>	290 ± 17.32 <sup>b</sup>	0 ± 0 <sup>b</sup>	369 ± 6.00 <sup>cd</sup>
G9.1EHMP	7.16 ± 0.05 <sup>bcd</sup>	1.00 ± 0 <sup>a</sup>	13.33 ± 5.77 <sup>bc</sup>	2.33 ± 0.28 <sup>a</sup>	511 ± 7.54 <sup>a</sup>	60 ± 3.00 <sup>cd</sup>	0 ± 0 <sup>b</sup>	416 ± 4.58 <sup>b</sup>
G10EHMP	7.26 ± 0.05 <sup>abc</sup>	1.00 ± 0 <sup>f</sup>	13.33 ± 5.77 <sup>bc</sup>	1.16 ± 0.28 <sup>cd</sup>	345 ± 3.00 <sup>cd</sup>	60 ± 3.00 <sup>cd</sup>	0 ± 0 <sup>b</sup>	469 ± 4.58 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Los datos muestran las medias de tres repeticiones ± desviación estándar, superíndices diferentes por columna indican diferencias estadísticas significativas (P < 0.05) entre las muestras. Los puntos de muestreo refieren a granjas acuícolas de producción de tilapia que se localizan en el Estado de Hidalgo.

### 8.1.5.- Correlaciones en el sistema parásito-hospedero-ambiente

Se analizaron los índices de correlación entre las prevalencias parasitarias y los parámetros fisicoquímicos de la calidad del agua mediante una matriz de correlación de *Pearson*. Para el análisis de las prevalencias por protozoarios se observó que los géneros *Chilodonella* sp. y *Apisoma* sp. presentaron índices de correlación positiva con las concentraciones de nitritos, amonio, dureza y alcalinidad en la calidad del agua con valores entre 0.33 a 0.39 donde destaca la correlación de *Apisoma* sp. con la concentración de carbonatos de calcio (0.57), la prevalencia de protozoarios ciliados se ha asociado previamente con la concentración de compuestos nitrogenados en tilapias de Alejandría en Egipto (Ashmawy *et al.*, 2018), el género *Tetrahymena* sp. presentó una fuerte relación con los parámetros de calidad del agua, por ejemplo mostró un índice de 0.55 en su asociación con los niveles de CO<sub>2</sub>. Además, entre los parámetros de calidad del agua también se observaron asociaciones como las que correlacionan a los compuestos nitrogenados entre sí, con índices de 0.27 a 0.49. Mientras que para el dinoflagelado *Oodinium* sp. los índices de correlación con los parámetros de calidad del agua fueron bajos, no obstante, su prevalencia mostró correlación mayor (0.12) con los valores de pH del agua. Por otro lado, las prevalencias parasitarias de los géneros *Costia* sp., *Oodinium* sp. y *Trichodina* sp. presentan índices de correlación positivos entre sus poblaciones con índices de hasta 0.92. entre ellos el índice de correlación más elevado lo presentó la relación del género *Costia* sp. y *Oodinium* sp. respecto a la presencia de *Trichodina* sp. (Figura 15).

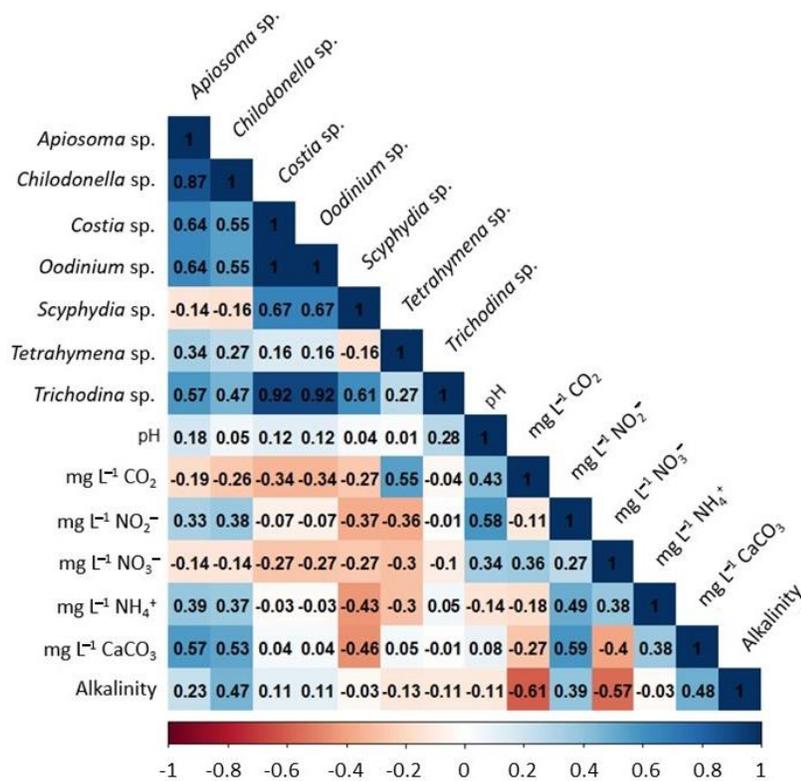


Figura 15.- Matriz de correlación de *Pearson* entre las prevalencias que presenta cada género de protozoarios determinado en las tilapias de cultivo y las características de calidad del agua presentes en los puntos de muestreo. Valores entre -1 a 1 donde los valores positivos evidencian una correlación positiva.

Por otro lado, el análisis de correlaciones para prevalencias de monogéneos, evidenció índices de asociación positiva entre los géneros *Dawestrema* sp., *Cichlidogyrus* sp. y *Gyrodactylus* sp. con los niveles de dureza del agua (CaCO<sub>3</sub> mg L<sup>-1</sup>), con valores de 0.83, 0.51 y 0.58 respectivamente, estos géneros además mostraron correlación con las concentraciones de nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N mg L<sup>-1</sup>) y amonio (NH<sub>3</sub>-N mg L<sup>-1</sup>), los valores se obtuvieron entre 0.33 y 0.55 (Figura 16). Anteriormente se ha reportado la correlación de cargas parasitarias por *Amirthalingamia macracantha*, *Clinostomum* sp., *Contraecacum* sp., *Tylodelphys* sp., *Argulus* sp. y *Neascus* sp. con las concentraciones de compuestos

nitrogenados, esta correlación puede deberse a que estos compuestos deterioran la calidad del agua y predisponen a los peces a infecciones parasitarias (Adamba *et al.*, 2020), conjuntamente *Dawestrema* sp. y *Cichlidogyrus* sp. mostraron índices de correlación con el pH de 0.361 y 0.120 respectivamente, similar a lo reportado por Ojwala y colaboradores (2018) en Kenia donde las infecciones por *Lernea* sp. y *Trichodina* sp. mostraron correlación positiva con el valor de pH. Finalmente, el género de monogeneos *Gyrodactylus* sp. presentó los índices más elevados de correlación con otras cargas parasitarias dentro del estudio con índices de 0.73 y 0.74 en su asociación con *Dawestrema* sp. y *Cichlidogyrus* sp., anteriormente se ha reportado la asociación entre monogeneos que parasitan peces ciclidos (*Cichla monoculus*), como es el caso entre *Gussevia tucunarensis* y *Gussevia arilla* con coeficiente de correlación de Spearman de hasta 0.69, lo que sugiere que no existe una competencia entre estas especies (Oliveira *et al.*, 2019) (Figura 16).

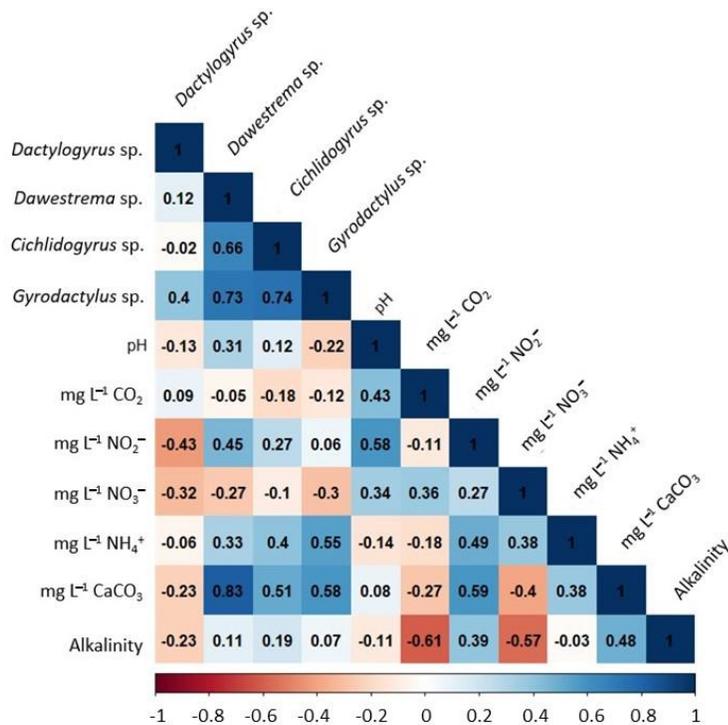


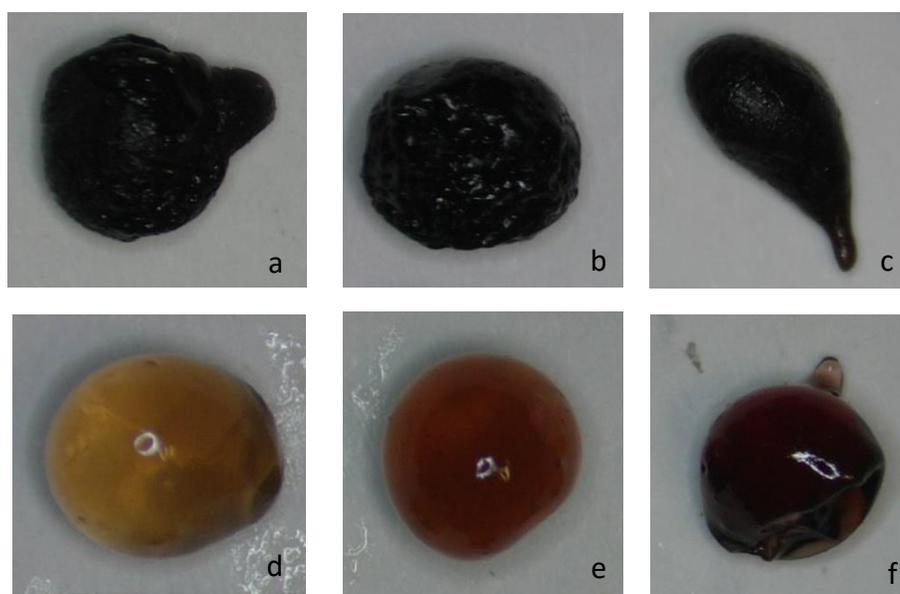
Figura 16.- Matriz de correlación de *Pearson* entre las prevalencias que presenta cada género de monogéneos determinado en las tilapias de cultivo y las características de calidad del agua presentes en los puntos de muestreo. Valores entre -1 a 1 donde los valores positivos evidencian una correlación positiva.

## 8.2.-Elaboración y caracterización de cápsulas de alginato de sodio-gelatina con extracto de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*).

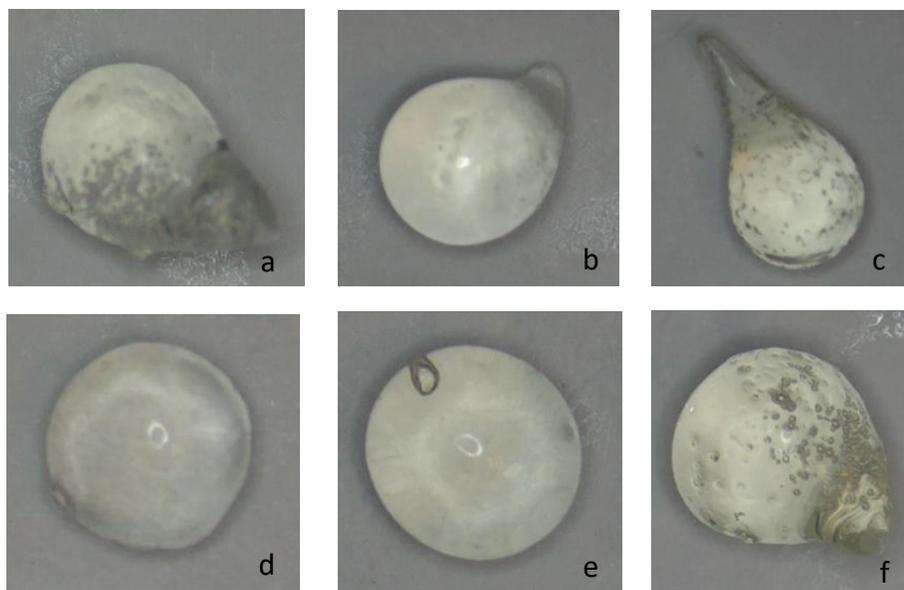
### 8.2.1.- Eficiencia y capacidad de encapsulación

Se obtuvieron seis tratamientos de cápsulas cargadas con extracto acuoso de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) (Figura 17), las cápsulas difirieron entre sí por la concentración de alginato de sodio y gelatina utilizados para la conformación del material pared, elementos que se han reportado anteriormente para la encapsulación de compuestos de interés en la industria alimentaria (Poornima & Sinthya, 2017), y que además, su mezcla permite una buena polimerización en la solución encapsulante (Urruela-Barrios *et al.*, 2019). Así mismo, se elaboraron las

cápsulas control (Figura 18) correspondientes a cada tratamiento. El contenido de fenoles totales en el extracto de Jamaica utilizado fue de 18.69 mg EAG mL<sup>-1</sup>. Las cápsulas predominantes de alginato mostraron una capacidad de encapsulación mayor (Figura 19); entre 423.3- 521.5 mg EAG mL<sup>-1</sup>, mientras que en este rubro el tratamiento T5 presentó la capacidad de encapsulación menor con 153.11. La mayor presencia de alginato de sodio en el material pared puede propiciar un número de enlaces iónicos mayor en la reacción entre los grupos carboxilo terminales de las cadenas de ácido  $\alpha$ -L-gulurónico y los iones calcio, propiciando una mejor formación de gel y por ende aumentando la capacidad de encapsulamiento (Avendaño-Romero *et al.*, 2013).



**Figura 17.-** Las cápsulas generadas a partir de diferentes tratamientos para la formación del material de la pared se observan en a) T1; 2% alginato-1% gelatina, en b) T2; 2,5% alginato-1,5% gelatina, en c) T3 3% alginato-2% gelatina, en d) T4; 2% gelatina-1% alginato, en e) T5; 2,5% gelatina- 1,5% alginato y en f) T6; 3% gelatina-2% alginato.



**Figura 18.-** Las cápsulas control generadas a partir de diferentes tratamientos para la formación del material de la pared se observan en a) T1; 2% alginato-1% gelatina, en b) T2; 2,5% alginato-1,5% gelatina, en c) T3 3% alginato-2% gelatina, en d) T4; 2% gelatina-1% alginato, en e) T5; 2,5% gelatina- 1,5% alginato y en f) T6; 3% gelatina-2% alginato.

En la caracterización de las cápsulas la eficiencia de encapsulación se encontró entre 83.26% y 96.09%, valores similares a los reportados por Aceval-Arriola y colaboradores (2016), donde obtuvieron hasta 97.7% en la eficiencia de encapsulado de extractos de estevia (*Stevia rebaudiana*) en perlas de alginato. Los tratamientos con mayor concentración de alginato (T1, T2 y T3) mostraron una eficiencia de encapsulado mayor ( $P < 0.001$ ) (94.75%-96.09%), en comparación con los tratamientos predominantes en gelatina (T4, T5 y T6), que mostraron porcentajes de encapsulación de 83.73%, 86.60% y 92.74% respectivamente (Figura 20). La eficiencia del encapsulado es dependiente de las diferencias de concentración de las moléculas hidrofílicas presentes en las perlas y el medio circundante que le rodea, lo que provoca una difusión de las moléculas y eficiencia de encapsulado menor (Stojanovic *et al.*, 2012). En este estudio la estrategia para mantener una eficiencia de encapsulado mayor, fue el uso de una cápsula tipo

matriz embebida en una segunda capa de solución encapsulante, formando en conjunto una cápsula multi-pared (Gibbs *et al.*, 1999).

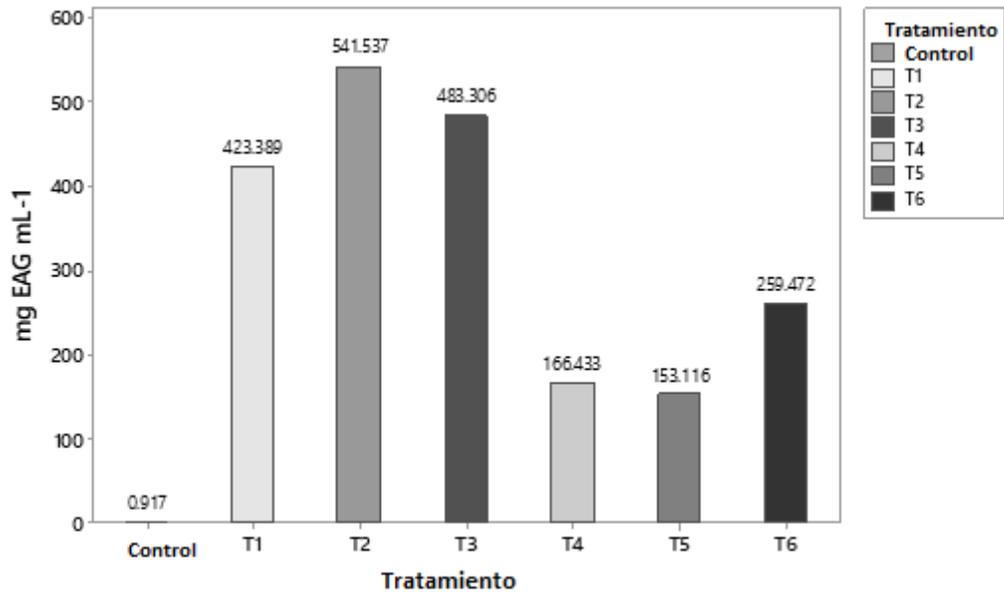


Figura 19.- Capacidad de encapsulación mostrada por los 6 tratamientos de material pares a base de alginato de sodio-gelatina.

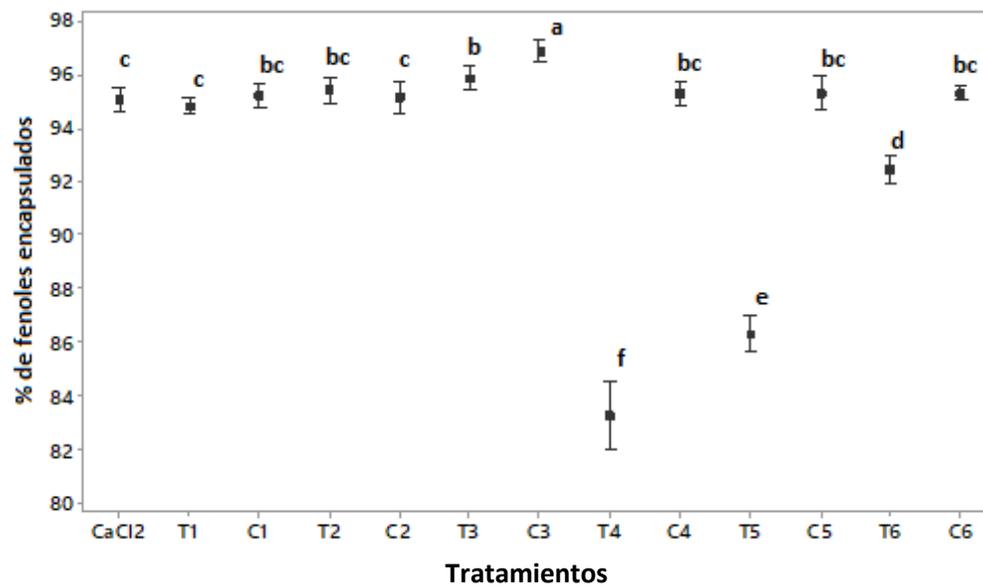


Figura 20.- Eficiencia de encapsulación presente en los 6 tratamientos y controles del sistema alginato de sodio-gelatina como material de pared. ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey, superíndices diferentes indican significancia estadística ( $p < 0.05$ ).

### **8.2.2.- Características fisicoquímicas (Color, pH, $a_w$ , HWC y capacidad de hinchamiento)**

Las cápsulas cargadas con extracto, mostraron diferencias en los parámetros de color ( $P < 0.001$ ) respecto a los controles. En general, las cápsulas cargadas con extracto mostraron valores menores para la intensidad ponderada ( $12.70 \pm 2.20 - 57.05 \pm 10.38$ ), balance RAV ( $12.60 \pm 2.16 - 51.29 \pm 9.32$ ), y valores de rojo ( $12.42 \pm 2.21 - 77.03 \pm 10.81$ ), verde ( $12.95 \pm 2.20 - 53.39 \pm 11.40$ ) y azul ( $12.51 \pm 2.20 - 23.44 \pm 7.71$ ) (Tabla 10). Los valores de color en las cápsulas cargadas pueden estar asociados a la luminosidad baja ( $L^* = 2.1-7.4$ ) y valores de a y b ( $< 10$ ) que presentan los extractos de jamaica (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). La encapsulación de extracto permitió la obtención de perlas más oscuras, una característica favorable en la aceptación del alimento y el desarrollo de peces como la tilapia (El-Sayed *et al.*, 2013). Por otro lado, en los tratamientos predominantes de alginato se observó que a mayor concentración de sólidos agregados se obtuvieron cápsulas más claras; sin embargo, no se observaron diferencias significativas (Tabla 10), mientras que para las cápsulas predominantes de gelatina el comportamiento fue inverso. En todo el bloque el tratamiento T4 mostró los valores más altos para intensidad ( $57.05 \pm 10.38$ ), balance ( $51.29 \pm 9.32$ ), y color rojo ( $77.03 \pm 10.81$ ), verde ( $53.39 \pm 11.40$ ) y azul ( $23.44 \pm 7.71$ ), sin embargo, estos parámetros pueden asociarse a su eficiencia baja de encapsulación (83.26%) y a la menor presencia de extracto que esto significa.

Los valores de pH evidenciaron dos grupos estadísticos ( $p < 0.001$ ); las cápsulas cargadas se encontraron con un pH ácido cercano a 3, mientras que las cápsulas control se encontraron con un pH ácido con tendencia a 5 (Tabla 10). La presencia del extracto puede inducir la disminución en los valores de pH en las cápsulas cargadas, ya que se ha reportado que este cuenta con una acidez entre 2.01 y 3.74 (Fasoyiro, 2014), debido a la presencia de ácidos orgánicos como el hidroxícitrico e hibisco (Zheoat *et al.*, 2019). Entre los tratamientos se observó que, a mayor agregación de alginato de sodio, el pH fue inferior, mientras que a mayor agregación de gelatina el pH fue superior, la presencia de los componentes heteropoliméricos de ácido  $\beta$ -D-manurónico y  $\alpha$ -L-gulurónico pueden ser la base de la tendencia a la acidez a mayor agregación de alginato (Aroguz *et al.*, 2014), mientras que los valores con tendencia a la neutralidad ante la presencia de la gelatina se deben a que esta molécula pueden presentar valores de pH más alcalinos, hasta 10.87, aunque se ha reportado que el valor es dependiente de método de extracción (Hao *et al.*, 2009). En todos los casos, el pH de las cápsulas cargadas de extracto puede direccionar su uso en la acuicultura; se podría sugerir que las cápsulas de pH cercano a 3 puedan otorgarse después de un periodo de ayuno ya que el pH estomacal de los teleósteos en este punto puede ser de hasta 1.5 (Polk *et al.*, 1994).

La actividad de agua ( $a_w$ ) en las cápsulas mostró valores entre 0.64 y 0.69. Los tratamientos predominantes de alginato mostraron los niveles menores ( $P < 0.001$ ) de la prueba, con valores cercanos a 0.64, mientras que los tratamientos predominantes de gelatina y las cápsulas control, conformaron un segundo grupo

estadístico con valores cercanos a 0.69. (Tabla 10), valores similares a los reportados para microcápsulas de alginato ( $<0.6$ ) elaboradas por Otálora y colaboradores (2018). Si bien, lo ideal es contar con  $a_w$  inferior a 0.6 para evitar la contaminación microbiológica en las cápsulas (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2007), se acepta que se necesita cierta cantidad de agua para que se produzcan reacciones enzimáticas, ya que el agua proporciona a las enzimas cierta flexibilidad para que el sitio activo sea accesible para el sustrato (Coleman *et al.*, 2009), lo que puede favorecer la digestibilidad de las cápsulas al ser ingeridas por los peces.

Los componentes como el alginato de sodio cuentan con la capacidad de formar estructuras en red tridimensionales (modelo de caja de huevo) y presentan una capacidad de retención de agua alta (Avendaño-Romero *et al.*, 2013; Kenawy *et al.*, 2019), las cápsulas en este trabajo de la red polimérica alginato-gelatina, mostraron una capacidad de retención de agua (CRA) de entre  $0.25 \pm 0.0003$  y  $0.59 \pm 0.0001$  para las cápsulas cargadas con fenoles, mientras que los controles mostraron valores entre  $0.20 \pm 0.0006$  y  $0.68 \pm 0.0001$  (Tabla 10), en ambos casos se observó que a mayor agregación de sólidos en el material pared, la CRA aumentó. Estudios por FT-IR mostraron una asociación por la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos N-H y O-H de la gelatina y el alginato respectivamente, combinación polimérica de tipo hidrofílica, que permite a mayor agregación mayor retención del agua (Aroguz *et al.*, 2014)

Ante la naturaleza hidrofílica de las cápsulas de alginato, el control de la capacidad de hinchamiento o el desarrollo de propiedades anti hinchamiento pueden ser determinantes en la obtención de cápsulas poliméricas (Yu *et al.*,

2019), para su administración oral en animales como los peces; debido a la ocurrencia de enfermedades no infecciosas como obstrucción intestinal o constipación por ingesta de alimentos no adecuados (Sharma *et al.*, 2012). En el presente estudio las cápsulas de alginato-gelatina presentaron una capacidad de hinchamiento de entre 133.01% y 165.27% para las cápsulas cargadas de extracto, mientras que los controles presentaron valores entre 117.51% y 254.77% (Tabla 10). Al igual que en la capacidad de retención de agua, al aumentar los sólidos en el material pared, aumentaron los valores de hinchamiento, estos valores se encuentran en el intervalo de lo reportado por Wong y colaboradores (2021) en las cápsulas de una polimerización de alginato-quitosano (85%), Sin embargo, en el mismo estudio se reportó hasta ~593%, evidenciando que las cápsulas de este estudio mostraron estabilidad ante la prueba de hinchamiento mayor.

**Tabla 10.- Parámetros fisicoquímicos para los diferentes tratamientos de cápsulas con extracto acuoso de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)<sup>1</sup>.**

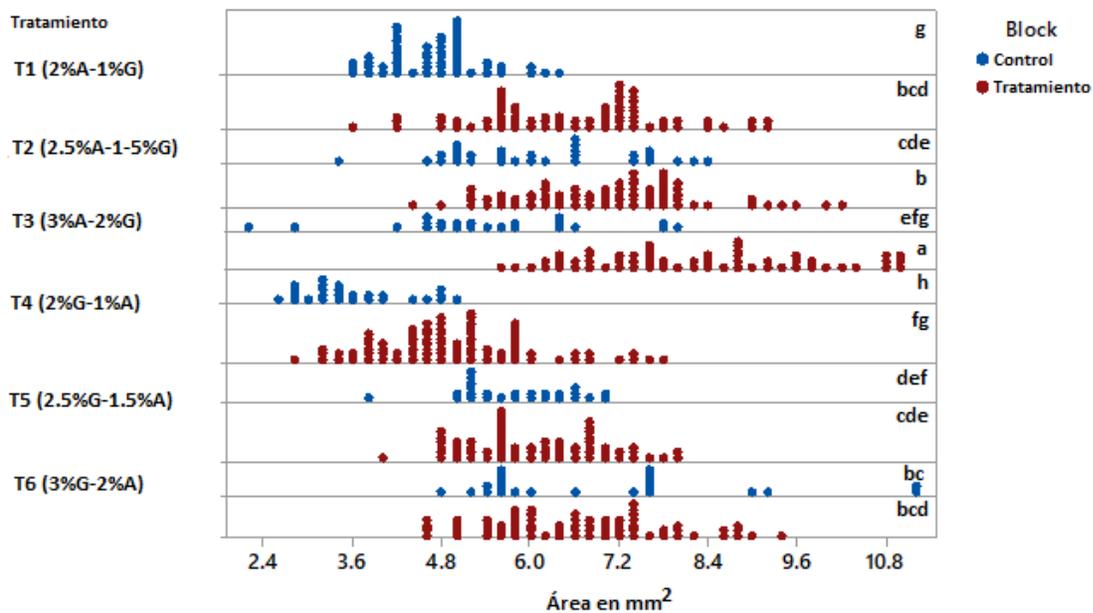
Tratamiento	Color					pH	aw	CRA	Capacidad de Hinchamiento (%)
	Intensidad ponderada	Balance R-A-V	Rojo	Verde	Azul				
<b>T1</b>	12.70 ± 2.20 <sup>e</sup>	12.60 ± 2.16 <sup>e</sup>	12.42 ± 2.21 <sup>e</sup>	12.95 ± 2.20 <sup>e</sup>	12.51 ± 2.20 <sup>d</sup>	3.26 ± 0.11 <sup>f</sup>	0.644 ± 0.0005 <sup>de</sup>	0.25 ± 0.0003 <sup>k</sup>	136.64
<b>C1</b>	175.55 ± 9.35 <sup>ab</sup>	174.58 ± 9.55 <sup>a</sup>	175.25 ± 9.17 <sup>ab</sup>	177.83 ± 9.50 <sup>ab</sup>	170.00 ± 12.22 <sup>a</sup>	5.46 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.688 ± 0.0005 <sup>b</sup>	0.50 ± 0.00005 <sup>g</sup>	144.52
<b>T2</b>	13.90 ± 2.54 <sup>e</sup>	13.83 ± 2.52 <sup>e</sup>	13.64 ± 2.59 <sup>e</sup>	14.15 ± 2.50 <sup>e</sup>	13.70 ± 2.48 <sup>d</sup>	3.03 ± 0.05 <sup>g</sup>	0.646 ± 0.0010 <sup>d</sup>	0.34 ± 0.0001 <sup>j</sup>	145.77
<b>C2</b>	170.95 ± 15.19 <sup>ab</sup>	169.72 ± 14.63 <sup>ab</sup>	170.33 ± 15.19 <sup>abc</sup>	173.78 ± 15.19 <sup>ab</sup>	164.72 ± 15.01 <sup>ab</sup>	5.20 ± 0.10 <sup>d</sup>	0.688 ± 0.0005 <sup>b</sup>	0.20 ± 0.0006 <sup>l</sup>	141.37
<b>T3</b>	13.73 ± 3.19 <sup>e</sup>	13.66 ± 3.19 <sup>e</sup>	13.62 ± 3.11 <sup>e</sup>	13.86 ± 3.24 <sup>e</sup>	13.49 ± 3.23 <sup>d</sup>	2.93 ± 0.05 <sup>g</sup>	0.646 ± 0.0005 <sup>d</sup>	0.35 ± 0.0004 <sup>i</sup>	133.01
<b>C3</b>	177.85 ± 20.98 <sup>a</sup>	172.77 ± 20.49 <sup>ab</sup>	178.06 ± 21.03 <sup>a</sup>	181.38 ± 21.34 <sup>a</sup>	159.87 ± 19.45 <sup>ab</sup>	5.03 ± 0.05 <sup>d</sup>	0.642 ± 0.0015 <sup>e</sup>	0.55 ± 0.0003 <sup>d</sup>	254.77
<b>T4</b>	57.05 ± 10.38 <sup>d</sup>	51.29 ± 9.32 <sup>d</sup>	77.03 ± 10.81 <sup>d</sup>	53.39 ± 11.40 <sup>d</sup>	23.44 ± 7.71 <sup>d</sup>	3.56 ± 0.05 <sup>e</sup>	0.687 ± 0.0005 <sup>bc</sup>	0.53 ± 0.0005 <sup>e</sup>	165.11
<b>C4</b>	163.17 ± 11.17 <sup>bc</sup>	160.83 ± 11.06 <sup>bc</sup>	162.29 ± 10.54 <sup>bc</sup>	165.16 ± 11.54 <sup>bc</sup>	155.29 ± 11.57 <sup>bc</sup>	5.63 ± 0.05 <sup>bc</sup>	0.688 ± 0.0015 <sup>b</sup>	0.39 ± 0.0029 <sup>h</sup>	145.97
<b>T5</b>	50.02 ± 23.49 <sup>d</sup>	45.41 ± 19.92 <sup>d</sup>	74.96 ± 29.17 <sup>d</sup>	43.57 ± 24.11 <sup>d</sup>	17.70 ± 7.52 <sup>d</sup>	3.66 ± 0.05 <sup>e</sup>	0.686 ± 0.0005 <sup>bc</sup>	0.58 ± 0.0002 <sup>c</sup>	148.07
<b>C5</b>	173.17 ± 13.37 <sup>ab</sup>	169.73 ± 13.13 <sup>ab</sup>	173.16 ± 13.07 <sup>ab</sup>	175.62 ± 13.71 <sup>ab</sup>	160.42 ± 12.82 <sup>ab</sup>	5.70 ± 0.10 <sup>b</sup>	0.691 ± 0.0015 <sup>a</sup>	0.68 ± 0.0001 <sup>a</sup>	141.48
<b>T6</b>	18.45 ± 4.63 <sup>e</sup>	18.85 ± 4.81 <sup>e</sup>	25.67 ± 9.03 <sup>e</sup>	15.07 ± 4.75 <sup>e</sup>	15.33 ± 4.95 <sup>d</sup>	3.66 ± 0.11 <sup>e</sup>	0.685 ± 0.0010 <sup>c</sup>	0.59 ± 0.0001 <sup>b</sup>	165.27
<b>C6</b>	156.66 ± 18.79 <sup>c</sup>	153.65 ± 18.57 <sup>c</sup>	156.98 ± 18.29 <sup>c</sup>	159.25 ± 19.07 <sup>c</sup>	144.61 ± 19.09 <sup>c</sup>	5.96 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.688 ± 0.0010 <sup>b</sup>	0.52 ± 0.0005 <sup>f</sup>	117.51

<sup>1</sup>Los datos muestran las medias de tres repeticiones ± desviación estándar, diferentes superíndices por columna indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) entre las muestras mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey. Los tratamientos corresponden a; T1 (2% alginato-1% gelatina), T2 (2,5% alginato-1,5% gelatina), T3 (3% alginato-2% gelatina), T4 (2% gelatina-1% alginato), T5 (2,5% gelatina- 1,5% alginato) y T6 (3% gelatina-2% alginato). La capacidad de hinchamiento se expresa en porcentaje del peso después de 72 horas de exposición al agua. La capacidad de retención de agua (CRA) expresa g de H2O retenido por gramo de muestra

### 8.2.3.-Características morfométricas

La distribución de tamaño de partícula mostró que a mayor agregación de sólidos en el material pared, los tamaños de las cápsulas fueron mayores (Figura 21), se observaron diferencias estadísticas ( $P < 0.001$ ), en donde T1 y C4 presentaron el tamaño menor con  $6.58 \pm 1.25$  y  $4.97 \pm 1.08 \text{ mm}^2$ , mientras que T3 y T6 fueron los de tamaño mayor con  $8.23 \pm 1.49$  y  $6.64 \pm 1.18$  (Tabla 11). Los cambios en la morfometría de las cápsulas probablemente se encuentran relacionados a la agregación del segundo biopolímero (gelatina), anteriormente se ha reportado que una agregación de gelatina de hasta el 50% mejora las propiedades mecánicas de la polimerización con alginato (Dong *et al.*, 2006). Los valores de área fueron similares a los reportados por Aguirre-Calvo y Santagapita (2016), quienes registraron valores cercanos a  $5 \text{ mm}^2$ , para cápsulas de alginato, el mismo estudio mostró que ante la agregación de otros biopolímeros como azúcares, pectinas, goma gúar y arábica, el tamaño, diámetro de Feret y perímetro, disminuyeron, mientras que la circularidad aumento, permitiendo la obtención de cápsulas más redondas. Del mismo modo, en nuestro estudio, se observó que la agregación de gelatina con menor presencia de alginato (T4), formó las cápsulas con área menor ( $4.97 \pm 1.08 \text{ mm}^2$ ), perímetro ( $9.61 \pm 1.15$ ) y diámetro de Feret ( $2.82 \pm 0.27$ ), sin embargo, el tratamiento T3 con 3% de alginato y 2% de gelatina mostró con  $1.91 \pm 0.36$  el aspecto de radio mayor, mientras que la circularidad y redondez mayor la presentaron el T2 ( $0.81 \pm 0.05$ ) y T5 ( $0.87 \pm 0.08$ ) respectivamente. Una característica de suma importancia en la disolución de las cápsulas y en la liberación de las moléculas de interés a administrar (Jambhekar & Breen, 2013).

Resultados similares a los reportados por Ponce Noguez (2020) quien obtuvo circularidad y redondez mayor en cápsulas de alginato al agregar goma xantana ( $0.80 \pm 0.02$  y  $0.83 \pm 0.03$ ). Así mismo, de acuerdo a tablas de alimentación comerciales, las cápsulas obtenidas en este estudio pueden suministrarse a peces de entre 100 y 400 g, ya que la granulometría sugerida para estos peces es cercana a 3 mm de diámetro (Philipps, 2010).



**Figura 21.-** Distribución de tamaño de partícula, los valores se registraron entre 2,21 mm<sup>2</sup> y 11,28 mm<sup>2</sup>. los tratamientos con mayor concentración de alginato en su composición (T1, T2 y T3) presentaron tamaños mayores. Superíndices diferentes indican significancia estadística (P<0.05), análisis mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey.

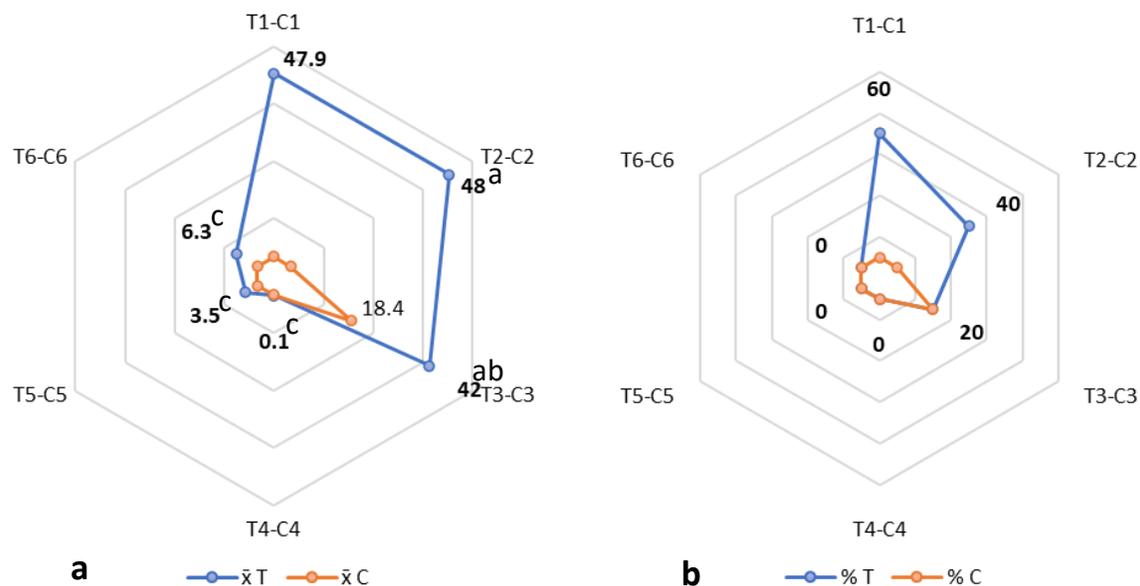
**Tabla 11.- Características morfométricas de las cápsulas de extracto acuoso de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)<sup>1</sup>.**

Tratamiento	No. de partículas	Área	Perímetro	Circularidad	Diámetro de Feret	Aspecto de radio	Redondez
T1	71	6.58 ± 1.25 <sup>bcd</sup>	10.50 ± 1.51 <sup>ef</sup>	0.75 ± 0.10 <sup>ab</sup>	3.33 ± 0.53 <sup>bcd</sup>	1.21 ± 0.21 <sup>bc</sup>	0.84 ± 0.11 <sup>ab</sup>
C1	55	4.70 ± 0.66 <sup>g</sup>	11.03 ± 1.92 <sup>de</sup>	0.53 ± 0.20 <sup>g</sup>	2.70 ± 0.13 <sup>ef</sup>	1.14 ± 0.10 <sup>c</sup>	0.87 ± 0.07 <sup>a</sup>
T2	72	7.04 ± 1.22 <sup>b</sup>	10.44 ± 1.14 <sup>ef</sup>	0.81 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.38 ± 0.44 <sup>bc</sup>	1.20 ± 0.14 <sup>bc</sup>	0.84 ± 0.08 <sup>ab</sup>
C2	30	6.12 ± 1.24 <sup>cde</sup>	12.43 ± 3.06 <sup>bc</sup>	0.55 ± 0.20 <sup>fg</sup>	3.16 ± 0.46 <sup>bcd</sup>	1.13 ± 0.12 <sup>c</sup>	0.89 ± 0.08 <sup>a</sup>
T3	59	8.23 ± 1.49 <sup>a</sup>	12.90 ± 1.91 <sup>ab</sup>	0.63 ± 0.09 <sup>def</sup>	4.81 ± 0.85 <sup>a</sup>	1.91 ± 0.36 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.09 <sup>c</sup>
C3	23	5.39 ± 1.43 <sup>efg</sup>	11.06 ± 1.82 <sup>cde</sup>	0.58 ± 0.19 <sup>defg</sup>	3.03 ± 0.49 <sup>cde</sup>	1.38 ± 0.96 <sup>b</sup>	0.85 ± 0.21 <sup>ab</sup>
T4	83	4.97 ± 1.08 <sup>fg</sup>	9.61 ± 1.15 <sup>fg</sup>	0.68 ± 0.12 <sup>cd</sup>	2.82 ± 0.27 <sup>e</sup>	1.20 ± 0.16 <sup>bc</sup>	0.84 ± 0.10 <sup>ab</sup>
C4	27	3.59 ± 0.68 <sup>h</sup>	8.86 ± 1.44 <sup>g</sup>	0.60 ± 0.16 <sup>defg</sup>	2.36 ± 0.17 <sup>f</sup>	1.13 ± 0.07 <sup>c</sup>	0.88 ± 0.05 <sup>a</sup>
T5	64	6.08 ± 0.93 <sup>cde</sup>	10.91 ± 1.60 <sup>de</sup>	0.66 ± 0.12 <sup>cde</sup>	3.10 ± 0.28 <sup>d</sup>	1.15 ± 0.11 <sup>c</sup>	0.87 ± 0.08 <sup>a</sup>
C5	26	5.80 ± 0.78 <sup>def</sup>	11.90 ± 2.31 <sup>bcd</sup>	0.56 ± 0.20 <sup>efg</sup>	3.00 ± 0.29 <sup>de</sup>	1.10 ± 0.10 <sup>c</sup>	0.90 ± 0.05 <sup>a</sup>
T6	69	6.64 ± 1.18 <sup>bcd</sup>	10.69 ± 1.36 <sup>de</sup>	0.73 ± 0.08 <sup>bc</sup>	3.45 ± 0.49 <sup>b</sup>	1.25 ± 0.16 <sup>bc</sup>	0.80 ± 0.10 <sup>b</sup>
C6	22	6.99 ± 1.85 <sup>bc</sup>	14.19 ± 3.69 <sup>a</sup>	0.50 ± 0.20 <sup>g</sup>	3.26 ± 0.56 <sup>bcd</sup>	1.11 ± 0.10 <sup>c</sup>	0.90 ± 0.07 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Los datos muestran la media de las repeticiones ± la desviación estándar, diferentes superíndices por columna indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (P<0.05), mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey. Los tratamientos corresponden a; T1 (2% alginato-1% gelatina), T2 (2,5% alginato-1,5% gelatina), T3 (3% alginato-2% gelatina), T4 (2% gelatina-1% alginato), T5 (2,5% gelatina- 1,5% alginato) y T6 (3% gelatina-2% alginato).

#### **8.2.4.- Flotación de las cápsulas**

Los alimentos que son otorgados a los peces en el cultivo de tilapia presentan de manera regular flotabilidad otorgada por la porosidad y por la maquila de los mismos por procesos de extrudido (Orire & Salihu, 2020). En este estudio las cápsulas cargadas presentaron una media de flotación entre 42 a 47.9 segundos para los tratamientos predominantes de alginato (PA) y de 0.1 a 6.3 segundos en las cápsulas con material pared predominante en gelatina (PG), los tratamientos mostraron diferencias significativas ( $P < 0.001$  Figura 22a), lo que permite sugerir que los tratamientos predominantes de alginato son mejores en este rubro. Además, en la prueba a 1 hora, los tratamientos PG no conservaron flotabilidad en ningún tratamiento, mientras que, en los PA, la flotabilidad fue de 60%, 40% y 20% para T1, T2 y T3 respectivamente (Figura 22b). Resultados inferiores a los reportados por Orire y Sadiku (2015), quienes evidenciaron una flotabilidad de alimentos alternos adicionados con polvo de hornear de hasta el 70% en una prueba de 1 hora.



**Figura 22.-** Parámetros de flotabilidad; a) la flotabilidad promedio en segundos por tratamiento, diferentes superíndices por eje indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) por ANOVA de una vía y comparación de medias *Tukey*. b) el porcentaje de cápsulas que flotaron después de 1 hora de exposición.

### 8.2.5.- Liberación de fenoles en agua

El desafío de las cápsulas en agua, simula las condiciones de su administración en la estanquería de cultivo; los resultados se observan en la figura 23, donde se expresa el porcentaje de liberación de fenoles en una cinética de 72 horas; los tratamientos PG mostraron la liberación porcentual mayor ( $P = < 0.001$ ), con valores por encima del 80% después de la hora 4, además, el tratamiento 6 a la hora 8 mostró el porcentaje de liberación mayor de la prueba con el 98.46%, en contraste los tratamientos PA alcanzaron su liberación mayor después de la hora 6 y ningún tratamiento superó el 80% de liberación, siendo el tratamiento 1 a las 24 horas el de liberación mayor con 76.86%. Diferentes partículas de uso en la acuicultura como el alimento suministrado son susceptibles de lixiviación de componentes,



### **8.2.6.- Liberación de fenoles por simulación gástrica**

La polimerización alginato-gelatina puede disminuir los tamaños de poro y sitios endebles para la digestión enzimática del gel formado (Urruela-Barrios *et al.*, 2019). Por lo anterior las cápsulas con extracto de jamaica, se desafiaron a digestión enzimática por pepsina *in vitro* a tres diferentes niveles de pH, los resultados se observan en las Figuras 24 a, b y c. La tendencia indicó liberación mayor a tiempos de exposición mayores en todos los bloques experimentales. Sin embargo, de forma similar que en el desafío en agua los tratamientos PG mostraron liberación mayor de fenoles, 98.58% para el T4 a pH 2.6, 98.85% para T5 a pH 3.6 y 92.39 para T5 A pH 4.6. La liberación de fenoles mayor se registró a un pH de 2.6 valor cercano a el pH estomacal en los peces posterior a un periodo de ayuno (Polk *et al.*, 1994). Donde la liberación menor fue de 19.21% para T3 a las 2 horas de desafío. Mientras que a pH 3.6 se presentaron los niveles de liberación menores donde el T3 a la hora 3 fue el de liberación menor con 9.06%. Anteriormente se ha reportado que a un pH de 2 la capacidad de hinchamiento aumenta en los sistemas poliméricos de alginato de sodio (polimerización con poli vinil-alcohol) (Shivakumara & Demappa, 2019), situación que puede promover la solubilidad de la cápsula y la liberación de los compuestos de interés. Del mismo modo la temperatura juega un rol importante; por encima de 30°C se ha reportado un efecto en el aumento de la capacidad de hinchamiento en hidrogeles de alginato de sodio-poli vinil alcohol. El desafío en este estudio fue a 25°C (Temperatura media de cultivo) (Makori *et al.*, 2017; Shivakumara & Demappa,

2019). Por lo que su uso en estanques con temperaturas más altas puede potenciar la liberación de los compuestos en la digestión.

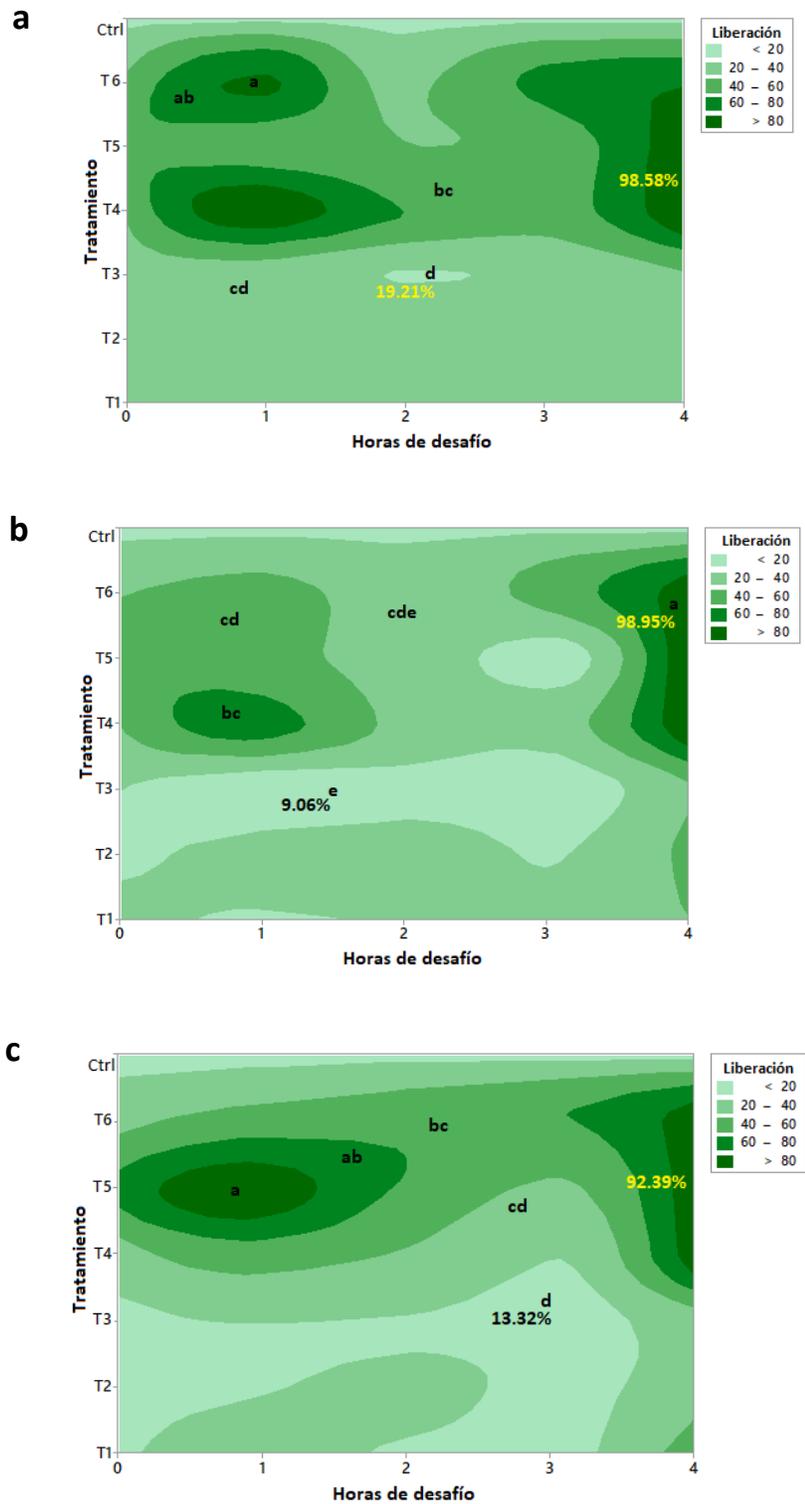


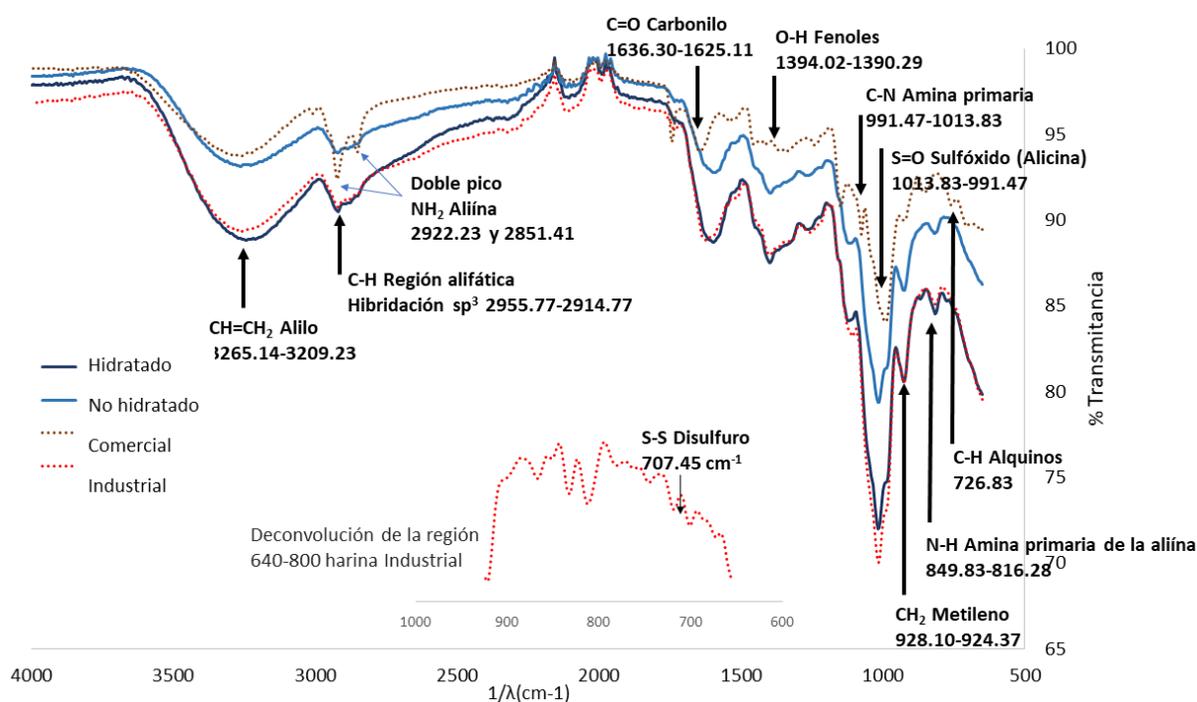
Figura 24.- Cinética de liberación de fenoles por simulación gástrica con pepsina; en a) pH 2.6, en b) pH 3.6 y c) pH 4.6, los valores corresponden al porcentaje de liberación para cada tratamiento de cápsula. Superíndices diferentes indican significancia estadística ( $p < 0.05$ ) por ANOVA anidado y comparación de medias Tukey.

### **8.3.- Elaboración y caracterización de cápsulas de alginato de sodio-gelatina con harina de ajo (*Allium sativum*)**

#### **8.3.1.- Caracterización óptica de la harina de ajo por FT-IR**

La identificación de grupos funcionales en el polvo de ajo se realizó por FT-IR, los espectros correspondientes a los 4 tratamientos evaluados se observan en la figura 25, se puede observar que la estructura de los espectros es igual para los tratamientos hidratado, no hidratado e industrial, mientras que el tratamiento comercial mostró algunas diferencias. El primer pico del espectro muestra al grupo alilo  $\text{CH}=\text{CH}_2$  que se localizó entre  $3265.14$  y  $3209.23 \text{ cm}^{-1}$ , la amina primaria de la aliína (N-H) se localizó a una longitud de onda entre  $849.83$  y  $816.28 \text{ cm}^{-1}$ , este es indicio de la presencia de la aliína como un precursor de la síntesis de la alicina (Borlinghaus *et al.*, 2014; Figueroa-López *et al.*, 2014), los grupos sulfóxidos (S=O) se localizaron entre  $1013.83$  y  $991.47 \text{ cm}^{-1}$ , en conjunto con los grupos disulfuro (S-S) que se localizaron en el pico correspondiente a  $707.45 \text{ cm}^{-1}$ , evidencian la presencia de los compuestos organoazufrados aliína y alicina (Tasci *et al.*, 2016), complementados por la presencia de enlaces disulfuro característicos de la molécula de alicina (Coates, 1971; Figueroa-López *et al.*, 2014), esta molécula es de interés para el encapsulado debido a que la alicina (dialiltiosulfinato) es el compuesto bioactivo de mayor presencia en el triturado de los bulbos de ajo, representa alrededor del 70% de los tiosulfatos totales (Miron *et al.*, 2002). Estos grupos funcionales se identificaron en las tres muestras de polvo de ajo (hidratado, no hidratado e industrial). Mientras que, para la muestra denominada comercial, se observaron picos para los grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) correspondientes a la aliína a una longitud de onda entre  $2922.23$  y  $2851.41 \text{ cm}^{-1}$ ,

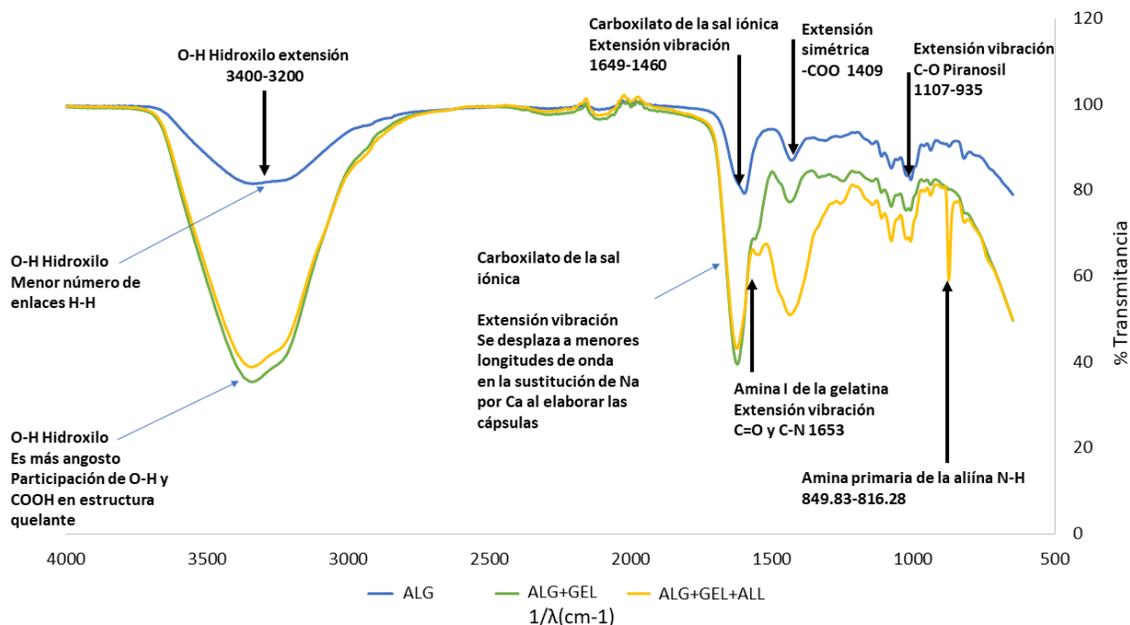
indicios de que esta molécula sigue presente en la muestra aun cuando el ajo ha sido procesado para la obtención de una harina, esto puede deberse a la inhibición de la alinasa por el método de procesamiento (Farías-Campomanes *et al.*, 2014).



**Figura 25.- FT-IR de muestras de harina de ajo, los tratamientos hidratado y no hidratado se obtuvieron de fuentes botánicas en el laboratorio, mientras que el tratamiento comercial e industrial se obtuvieron de proveedores comerciales.**

Del mismo modo se obtuvieron los espectros para tres soluciones poliméricas, en la figura 26 se observa lo correspondiente para la solución de alginato de sodio (ALG), la solución de alginato de sodio y gelatina (ALG+GEL), así como la solución de alginato de sodio, gelatina y polvo de ajo (ALG+GEL+ALL). Los espectros evidenciaron la extensión de los grupos hidroxilo a una longitud de onda entre 3400 y 3200  $\text{cm}^{-1}$ , las sales iónicas del carboxilato se observaron en un pico de vibración y extensión entre 1649 y 1460  $\text{cm}^{-1}$ , el pico correspondiente a la

presencia del hidroxilo (O-H), resulta más estrecha en ALG+GEL y ALG+GEL+ALL en relación al tratamiento ALG, esta diferencia sugiere la participación de grupos hidroxilo y carboxilato del alginato con el ion calcio para formar una estructura quelante evidenciando la disminución del número de enlaces de hidrógeno, del mismo modo, existe un estrechamiento del pico de la sal iónica del carboxilato en el alginato, esto derivado de la sustitución del sodio en el alginato por iones de calcio en la formación del gel (Daemi & Barikani, 2012), las aminas de tipo I correspondientes a la gelatina se evidenciaron con la vibración y extensión de los grupos carbonilo y nitrilo a una longitud de onda de  $1653\text{ cm}^{-1}$  en las dos soluciones que contenían gelatina en su formulación (Dong *et al.*, 2006), los grupos carboxilo terminales (-COO) característicos del alginato de sodio se observaron con una extensión simétrica a una longitud de onda de  $1409\text{ cm}^{-1}$ , en una longitud de onda entre  $1107$  a  $935\text{ cm}^{-1}$  se observa la extensión por vibración de los grupos piranosil, correspondientes a la estructura del alginato de sodio, su presencia se observa en las tres soluciones, de este modo los elementos OH, COOH y NH<sub>2</sub>, presentes en la gelatina están íntimamente ligados al grado de entrecruzamiento con los grupos OH presentes en los grupos piranosil del alginato de sodio (Dong *et al.*, 2006; Reyes-Ortega *et al.*, 2012). Finalmente, se observa a una longitud de onda de entre  $849.83$  y  $816.28$  el pico correspondiente a la amina primaria de la aliína (N-H), este pico se encuentra de forma exclusiva en el espectro correspondiente al tratamiento (ALG+GEL+ALL), que cuenta con la harina de ajo en su formulación, denotando la presencia de compuestos organoazufrados (Figueroa-López *et al.*, 2014; Tasci *et al.*, 2016).

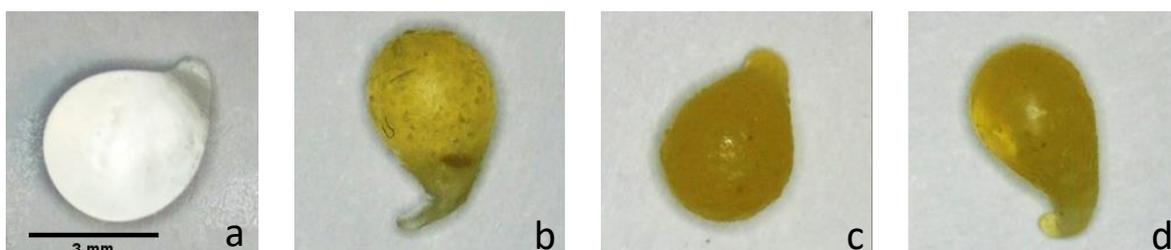


**Figura 26.- FT-IR de las soluciones poliméricas para elaborar las cápsulas, ALG: Solución de alginato de sodio, ALG+GEL; Solución de gelatina y alginato de sodio y ALG+GEL+ALL; Solución de alginato de sodio, gelatina y *Allium sativum*.**

### 8.3.2.- Encapsulado de la harina de ajo

A partir de estas soluciones poliméricas se elaboraron 4 tratamientos de cápsulas con una concentración de alginato de sodio de 2.5% y 1.5% de gelatina en el material pared, la figura 27 muestra las fotografías correspondientes al control (a) y las cápsulas cargadas con 2.5, 5 y 10% de harina de ajo en la formulación (b, c y d). La eficiencia de encapsulado fue de  $88.15 \pm 0.37$ ,  $91.26 \pm 0.17$  y  $93.15 \pm 0.45\%$  respectivamente para las cápsulas cargadas con harina de ajo, similar a lo reportado por Kairam y colaboradores (2020) para extracto de oleoso de ajo (hasta 92%). La concentración de organoazufrados en la harina de ajo encapsulado fue de 77.72 mgE de aliína/g de muestra, el aumento gradual de harina de ajo en las cápsulas mostró aumento en la concentración de compuestos organoazufrados

con 2.48, 5.24 y 10.28 mgE de aliína/g de cápsulas para los tratamientos con 2.5, 5 y 10% de agregado, la presencia de estos compuestos puede relacionarse a un potencial antihelmíntico que se ha reportado desde 2.2 mg de aliína como tratamiento alternativo contra el nematodo *Ascaridia galli* en pollos (Velkers *et al.*, 2011).



**Figura 27.-Cápsulas de *Allium sativum*, el material pared consta de 2,5% de alginato de sodio y 1,5% de gelatina. a) Ctrl; testigo, b) T2.5%, c) T5% y d) T10%, la base porcentual indica el porcentaje agregado de harina de ajo.**

### **8.3.3.- Caracterización fisicoquímica**

Los valores de color (intensidad, balance y RGB) en las cápsulas cargadas con harina de ajo fueron superiores ( $P < 0.05$ ) respecto a los descritos para el control externo donde se utilizó alimento comercial para cíclidos, del mismo modo los valores de los tratamientos con harina de ajo presentaron valores inferiores de acuerdo a lo descrito en el tratamiento de cápsula control (Tabla 12), se observó que a mayor agregado porcentual de harina de ajo los valores disminuyeron con tendencia a color café oscuro, la cápsula control mostró valores de  $171.73 \pm 14.46$  y  $170.45 \pm 13.63$  para intensidad y balance, así mismo presentó valores de  $171.15 \pm 14.44$ ,  $174.65 \pm 14.35$ ,  $165.24 \pm 13.70$  para rojos, verdes y azules

respectivamente, los tratamientos cargados con harina de ajo presentaron valores de  $76.55 \pm 4.81$  a  $106.23 \pm 5.36$  para intensidad;  $64.78 \pm 4.43$  a  $94.36 \pm 4.87$  para balance, además, presentaron tendencia al color rojo mayor, parámetros que puede inducir la ingesta por parte de peces como la tilapia, ya que se ha reportado que estos peces mantienen la predilección de partículas de alimento cuando estas son más oscuras (El-Sayed *et al.*, 2013), el desarrollo de color café oscuro en las cápsulas podría asociarse a procesos de caramelización por reacción de Maillard, donde moléculas como los tiosulfatos tienden a desarrollar coloraciones cafés en su reacción a altas temperaturas (Kinalski & Noreña, 2019). Por otro lado, el control externo presentó valores de  $48.92 \pm 3.96$  y  $44.26 \pm 3.61$  para intensidad y balance, así como valores de  $60.41 \pm 4.58$ ,  $47.78 \pm 4.03$  y  $24.59 \pm 2.53$  para rojos, verdes y azules respectivamente. Los valores de pH evidenciaron una tendencia a la neutralidad por parte de los tratamientos control tanto de cápsula como de alimento comercial, con valores de  $7.5000 \pm 0.06$  y  $7.5500 \pm 0.05$  respectivamente, por otro lado, los tratamientos cargados con harina de ajo mostraron una tendencia a la disminución del pH ( $P= 0.0001$ ) a mayor agregación de ajo, con valores de  $6.6500 \pm 0.12$ ,  $5.8500 \pm 0.58$  y  $5.1167 \pm 0.07$  para el agregado de 2.5, 5 y 10% de harina de ajo respectivamente, la presencia de ácido  $\beta$ -D-manurónico y  $\alpha$ -L-gulurónico en el alginato pueden relacionarse a esta tendencia en el comportamiento del pH (Aroguz *et al.*, 2014), mientras que componentes en el ajo como los ácidos orgánicos  $\beta$ -resorcílico, ácido gálico, ácido protocatequico (Shang *et al.*, 2019), pueden inducir una baja de pH ante un mayor porcentaje de agregación. La actividad de agua ( $a_w$ ) evidenció que el alimento como control presentó menores valores ( $0.6280 \pm 0.0000$ ) respecto a las cápsulas

tanto la de tipo control ( $0.7760 \pm 0.0100$ ) como las cargadas con harina de ajo (entre  $0.7410 \pm 0.0030$  y  $0.7793 \pm 0.0020$ ), donde el tratamiento con 5% de harina de ajo encapsulada, mostró los valores más bajos con  $0.7410 \pm 0.0030$ , de forma contrastante los valores resultaron inferiores a lo reportado por Aguirre-Calvo y Santagapita (2016), quienes elaboraron cápsulas de alginato de sodio en combinación con trealosa y quitosano con  $a_w$  de hasta  $0.983 \pm 0.002$ , el nivel de  $a_w$  en las cápsulas es un parámetro importante ya que a niveles cercanos y por debajo de  $<0.6$  inhiben la contaminación microbiológica en el almacenamiento (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2007), no obstante, la  $a_w$  de agua como la que presentan las cápsulas de este estudio también puede jugar un papel importante como medio acuoso para que se produzcan reacciones enzimáticas durante la digestión de las mismas (Coleman *et al.*, 2009). En cuanto a la capacidad de hinchamiento de las cápsulas se observó que las de tipo control presentaron capacidad de hinchamiento mayor con un valor de 264.58%, mientras que las cápsulas cargadas con harina de ajo mostraron una tendencia a disminuir sus valores conforme se aumentó el agregado de ajo, con valores de 237.75, 233.66 y 194.36% para el agregado de 2.5, 5 y 10% respectivamente (Tabla 12). Además, se podría sugerir que los valores fueron bajos ya que de forma natural el alginato de sodio cuenta con la capacidad de formar estructuras en red tridimensionales que presentan una alta capacidad de retención de agua y de hinchamiento (Avendaño-Romero *et al.*, 2013; Kenawy *et al.*, 2019), que pueden presentar una hinchazón de hasta 593% (Wong *et al.*, 2021). Sin embargo, los bajos valores de CRA y de hinchamiento en este estudio denotan el desarrollo de propiedades anti hinchamiento en las cápsulas poliméricas (Yu *et al.*, 2019), como una estrategia

para la administración oral en peces debido a que la ingesta de alimentos no adecuados en los peces puede ser causales de obstrucción intestinal, constipación e inclusive derivar en la mortandad de organismos en cultivo (Sharma *et al.*, 2012).

**Tabla 12.- Parámetros fisicoquímicos de las cápsulas con diferente concentración de harina de ajo (*Allium sativum*)<sup>1</sup>.**

Tratamiento	Color					pH	a <sub>w</sub>	Capacidad de retención de agua (g)	Capacidad de hinchamiento (%)
	Intensidad ponderada	Balance R-V-A	Rojo	Verde	Azul				
<b>Alimento</b>	48.92 ± 3.96 <sup>d</sup>	44.26 ± 3.61 <sup>d</sup>	60.41 ± 4.58 <sup>d</sup>	47.78 ± 4.03 <sup>d</sup>	24.59 ± 2.53 <sup>c</sup>	7.5500 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.6280 ± 0.0000 <sup>c</sup>	2.56 ± 0.03 <sup>a</sup>	418.15 <sup>a</sup>
<b>Ctrl</b>	171.73 ± 14.46 <sup>a</sup>	170.45 ± 13.63 <sup>a</sup>	171.15 ± 14.44 <sup>a</sup>	174.65 ± 14.35 <sup>a</sup>	165.24 ± 13.70 <sup>a</sup>	7.5000 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.7760 ± 0.0100 <sup>a</sup>	0.36 ± 0.03 <sup>c</sup>	264.58 <sup>b</sup>
<b>2.50%</b>	106.23 ± 5.36 <sup>b</sup>	94.36 ± 4.87 <sup>b</sup>	119.51 ± 5.67 <sup>b</sup>	109.70 ± 5.70 <sup>b</sup>	53.87 ± 4.31 <sup>b</sup>	6.6500 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.7790 ± 0.0030 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.008 <sup>c</sup>	237.75 <sup>c</sup>
<b>5%</b>	81.43 ± 4.14 <sup>c</sup>	69.44 ± 3.80 <sup>c</sup>	96.10 ± 4.45 <sup>c</sup>	84.31 ± 4.48 <sup>c</sup>	27.89 ± 3.96 <sup>c</sup>	5.8500 ± 0.58 <sup>c</sup>	0.7410 ± 0.0030 <sup>b</sup>	0.33 ± 0.008 <sup>c</sup>	233.66 <sup>c</sup>
<b>10%</b>	76.55 ± 4.81 <sup>c</sup>	64.78 ± 4.43 <sup>c</sup>	91.19 ± 4.61 <sup>c</sup>	79.25 ± 5.31 <sup>c</sup>	23.91 ± 3.83 <sup>c</sup>	5.1167 ± 0.07 <sup>d</sup>	0.7793 ± 0.0020 <sup>a</sup>	0.45 ± 0.02 <sup>b</sup>	194.36 <sup>d</sup>
<b>p-valor</b>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

<sup>1</sup>Los datos muestran las medias de tres repeticiones ± desviación estándar, diferentes superíndices por columna indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) entre las muestras mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey. La capacidad de hinchamiento se expresa en porcentaje del peso después de 72 horas de exposición al agua. La capacidad de retención de agua (CRA) expresa g de H<sub>2</sub>O retenidos por gramo de muestra.

#### 8.3.4.- Morfométricos

El análisis de partículas evidenció valores de referencia en la evaluación del control externo (alimento comercial), que mostró valores de  $35.43 \pm 4.028$  de área,  $24.73 \pm 1.90$  de perímetro y  $0.91 \pm 0.04$  para redondez, las cápsulas con agregados porcentuales de haría de ajo, mostraron valores inferiores, con áreas entre  $23.80 \pm 3.37$  y  $30.82 \pm 4.57$ , perímetros de  $20.44 \pm 1.99$  a  $25.76 \pm 2.98$  y entre  $0.57 \pm 0.05$  a  $0.73 \pm 0.06$  para redondez. Anteriormente se ha publicado que la adición de un segundo polímero en la formación de cápsulas de alginato de sodio, pueden inducir en la disminución del tamaño de las partículas obtenidas (Aguirre-Calvo & Santagapita, 2016), no obstante, en este estudio a mayor adición de harina de ajo se propició un aumento de tamaño en las cápsulas obtenidas, esto puede deberse a la presencia de un número de enlaces de tipo puente de hidrogeno mayor, entre los grupos hidroxilo presentes en el alginato de sodio y los grupos amino presentes en la gelatina (Dong *et al.*, 2006), mismos que refuerzan la estructura en red tridimensional de la cápsula permitiendo una retención de los componentes de la harina de ajo mayor, características que derivan en la obtención de cápsulas de tamaño mayor. Entre los tratamientos con harina de ajo, el tratamiento con 5% mostró la circularidad ( $0.71 \pm 0.06$ ) y redondez ( $0.73 \pm 0.06$ ) mayor, en contraste, el tratamiento de cápsula control fueron las de tamaño menor con un área media de  $6.12 \pm 1.24$ , además, presentó los valores de circularidad menores en este estudio con un valor de  $0.55 \pm 0.20$  (Tabla 13), parámetros de relevancia debido a que la esfericidad de las partículas obtenidas resulta determinante para la liberación de los compuestos de interés ya que a valores de

circularidad y redondez mayores se espera una dinámica homogénea de liberación (Jambhekar & Breen, 2013). El tamaño de las cápsulas con harina de ajo sugiere su administración en peces de entre 100 a 400 g de peso, dado que la granulometría alcanza tamaños similares al alimento comercial (2.5 mm de diámetro) (Philipps, 2010).

**Tabla 13.- Parámetros morfométricos de las cápsulas con diferente concentración de harina de ajo (*Allium sativum*)<sup>1</sup>.**

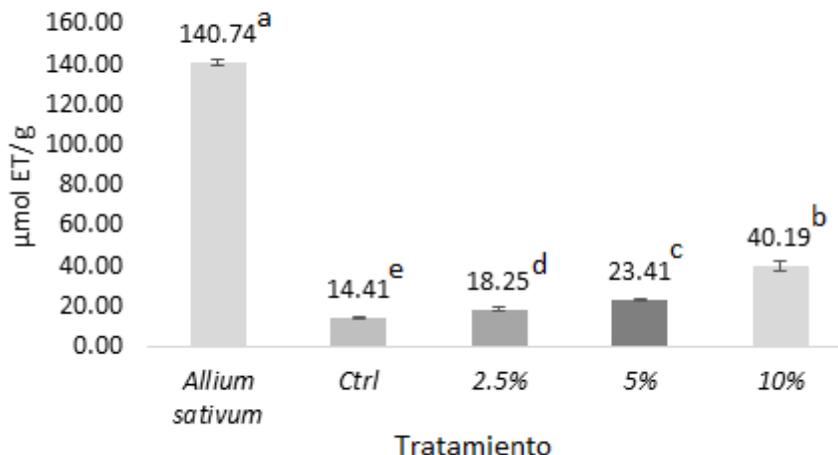
Tratamiento	Área (mm <sup>2</sup> )	Perímetro (mm)	Circularidad (Índice 0-1)	Diámetro de Feret (mm)	Aspecto de Radio (mm)	Redondez (Índice0-1)
<b>Alimento para pez</b>	35.43 ± 4.028 <sup>a</sup>	24.73 ± 1.90 <sup>ab</sup>	0.72 ± 0.04 <sup>a</sup>	7.56 ± 0.55 <sup>b</sup>	1.08 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.91 ± 0.04 <sup>a</sup>
<b>Ctrl</b>	6.12 ± 1.24 <sup>e</sup>	12.43 ± 3.09 <sup>d</sup>	0.55 ± 0.20 <sup>c</sup>	3.16 ± 0.46 <sup>d</sup>	1.13 ± 0.12 <sup>c</sup>	0.89 ± 0.08 <sup>a</sup>
<b>2.50%</b>	27.91 ± 5.01 <sup>c</sup>	24.04 ± 3.52 <sup>b</sup>	0.61 ± 0.08 <sup>b</sup>	7.46 ± 0.89 <sup>b</sup>	1.37 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.73 ± 0.05 <sup>b</sup>
<b>5%</b>	23.80 ± 3.37 <sup>d</sup>	20.44 ± 1.99 <sup>c</sup>	0.71 ± 0.06 <sup>a</sup>	6.79 ± 0.72 <sup>c</sup>	1.37 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.73 ± 0.06 <sup>b</sup>
<b>10%</b>	30.82 ± 4.57 <sup>b</sup>	25.76 ± 2.98 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.07 <sup>bc</sup>	8.77 ± 0.72 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.05 <sup>c</sup>
<b>P-valor</b>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

<sup>1</sup>Los datos muestran las medias de tres repeticiones ± desviación estándar, diferentes superíndices por columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey (P < 0,05).

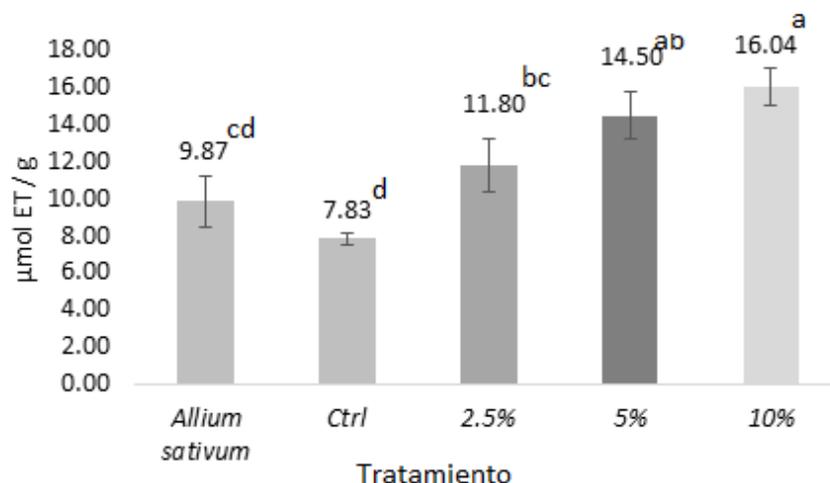
### 8.3.5.- Actividad antioxidante

El ajo (*Allium sativum*) se encuentra entre las fuentes vegetales para obtención de compuestos antioxidantes (Abdel-Hakim *et al.*, 2010; Ahmadniaye Motlagh *et al.*, 2021), en este estudio el perfil de actividad antioxidante mostró una actividad alta en la prueba FRAP para la harina de ajo con un valor de 140.74  $\mu\text{mol ET/g}$ , en la misma prueba las cápsulas mostraron valores de actividad menores. En la cápsula control se observó una actividad de 14.41  $\mu\text{mol ET/g}$ , mientras que las cápsulas cargadas con harina de ajo evidenciaron una tendencia a aumentar su capacidad antioxidante conforme se aumentó el agregado porcentual de harina de ajo, con valores que fueron de 18.25  $\mu\text{mol ET/g}$  a 40.19  $\mu\text{mol ET/g}$  (Figura 28), valores similares a los reportados por Rasul Suleria y colaboradores (2012), quienes obtuvieron una capacidad antioxidante en extractos de ajo con metanol ( $32.66 \pm 0.72$ ) y agua ( $19.90 \pm 0.50$ ) para FRAP, la actividad antioxidante observada puede relacionarse principalmente a la presencia de flavonoides, fenoles y moléculas como S-alilcisteína en el bulbo de ajo (Hussain *et al.*, 2021). Conjuntamente, las muestras se evaluaron en su capacidad antioxidante frente al radical  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , donde la harina de ajo mostró valores de 9.87  $\mu\text{mol ET/g}$ , ante este radical la cápsula control arrojó un valor de actividad de 7.83  $\mu\text{mol ET/g}$ , mientras que los tratamientos de cápsulas cargadas con harina de ajo presentaron valores superiores, con 18.25, 23.41 y 40.19  $\mu\text{mol ET/g}$  para las cápsulas con 2.5, 5 y 10% de harina de ajo, la tendencia observada fue un aumento de la actividad antioxidante conforme se aumentó el agregado de harina de ajo (Figura 29), tanto compuestos fenólicos como los grupos sulfhidrilo del ajo son compuestos probablemente involucrados en la capacidad antioxidante contra el radical  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  (Khan *et al.*, 2016).

Finalmente, las muestras se evaluaron en su actividad antioxidante ante el radical DPPH<sup>·</sup>, sin embargo, no se observó actividad respecto a esta prueba. Anteriormente se ha reportado que diferentes extractos de ajo pueden presentar la capacidad para reducir diferentes cationes, de este modo los compuestos que tienen potencial de inhibición para ABTS<sup>·+</sup>, podrían no tener actividad frente al radical DPPH<sup>·</sup> (Khalid *et al.*, 2014). En el caso de la harina de ajo, está cuenta con una fracción lipofílica que contiene varios fitoquímicos que contiene azufre (sulfano) situación que influye en la afinidad por la inhibición del radical ABTS<sup>·+</sup> en este trabajo (Abiko *et al.*, 2021; Kuskoski *et al.*, 2005).



**Figura 28.-Capacidad antioxidante por FRAP presente en una harina de ajo como control, la cápsula control y los tres tratamientos de cápsulas de *Allium sativum*. Superíndices diferentes indican significancia estadística ( $P < 0.05$ ) mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey.**



**Figura 29.-Capacidad antioxidante por ABTS<sup>+</sup> presente en una harina de ajo como control, la cápsula control y los tres tratamientos de cápsulas de *Allium sativum*. Superíndices diferentes indican significancia estadística (P<0.05) mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey.**

### 8.3.6.- Liberación de mgE de aliína por simulación gástrica

Se desafiaron las cápsulas cargadas con harina de ajo y las cápsulas control a una simulación gástrica con pepsina, la tendencia general fue una liberación de compuestos organoazufrados mayor a un tiempo de desafío mayor, con una liberación máxima del 24.64% de mgE aliína/mL para el tratamiento con agregado porcentual del 2.5% de harina de ajo, esto a las 4 horas de desafío, de acuerdo a la figura 30 el tratamiento con 5% de agregado de harina de ajo mostró una liberación entre el 10 y el 15% a las 4 horas de desafío, el uso de la polimerización alginato de sodio-gelatina en la formación de la cápsulas puede generar puntos de acción enzimática por parte de proteasas como la pepsina (Stanforth *et al.*, 2022), simulando la digestión gástrica de las cápsulas

que pudieran efectuar peces teleósteos de hábitos omnívoros o carnívoros (Njiru, 1998; Rivera Vasconcelos *et al.*, 2018), en general la liberación fue inferior a la reportada por Kairam y colaboradores (2020), quienes obtuvieron el 61.36% de liberación de aceite de ajo en cápsulas de alginato de sodio en un modelo *in vitro*. Así mismo, los tratamientos control y las cápsulas con un agregado de 10% mostraron las liberaciones menores con 0% durante todo el desafío para la cápsula control y con 0% de liberación para la cápsula con 10% de ajo hasta las primeras 3 horas de desafío. La liberación de compuestos organoazufrados a partir de las cápsulas puede asociarse al valor de pH utilizado (2.6), acides en donde los sistemas de alginato de sodio presentan su máxima capacidad de hinchamiento, permitiendo el ingreso de la solución de simulación gástrica y la degradación de las moléculas de gelatina (Shivakumara & Demappa, 2019), del mismo modo los valores bajos de liberación de organoazufrados pueden fundamentarse en la unión de éstas moléculas con los grupos tiol de la cisteína presente en las moléculas de gelatina (Nikoo *et al.*, 2011), incluso puede existir enlace con otras proteínas presentes en la harina de ajo, ya que se ha reportado que los organoazufrados como la alicina del ajo pueden asociarse hasta con 332 proteínas por medio de una S-tioalilación, situación que puede disminuir su detección en la prueba de reacción con 4 mercaptopiridina (Gruhlke *et al.*, 2019).

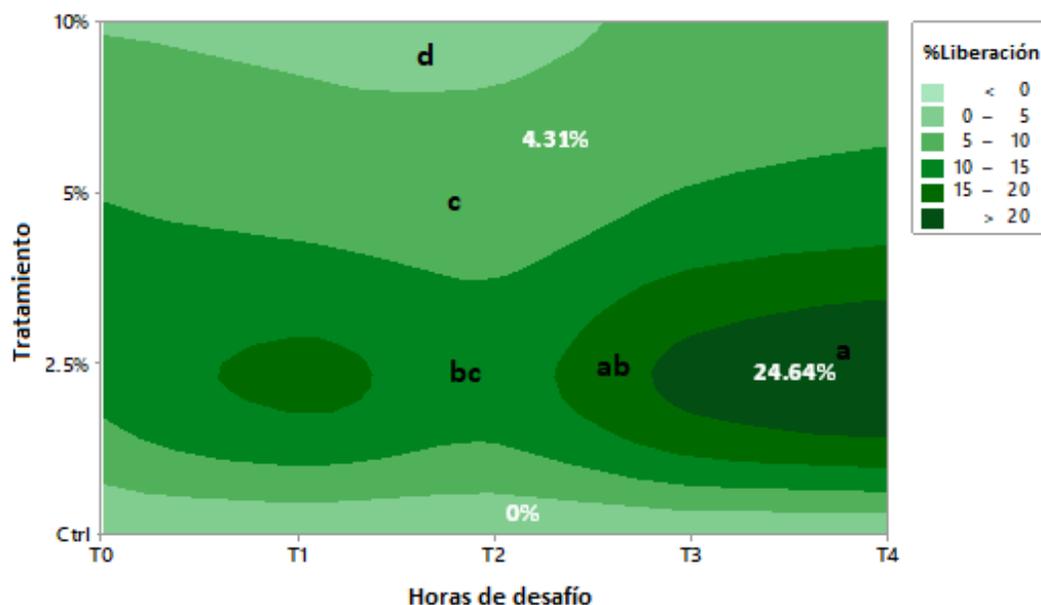


Figura 30.- Liberación porcentual de mgE de aliina encapsulada, el desafío se realizó por simulación gástrica (pH 2.6) con pepsina. Superíndices diferentes indican significancia estadística ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos mediante ANOVA anidado y comparación de medias Tukey.

## 8.4.- Evaluación *in vivo* con *Oreochromis* spp. de la administración oral de cápsulas de harina de ajo

### 8.4.1.-Condiciones experimentales

Los peces analizados mostraron una prevalencia parasitaria baja (26.66%), con presencia de 3 géneros parasitarios que son recurrentes en las poblaciones de Tilapia: *Trichodina* spp., *Dactylogyrus* spp. y *Gyrodactylus* spp. (Acosta-Pérez *et al.*, 2022), los peces fueron tratados con sal de grano (García-Magaña *et al.*, 2019) para su posterior asignación de grupos experimentales. Los procesos de aclimatación, alimentación y mantenimiento de los peces experimentales forman parte de los elementos de alta prioridad en el desarrollo de un modelo *in vivo* con peces conocidos como tilapias (Galeana-López *et al.*, 2020; Leite *et al.*, 2021; Yazıcı *et al.*, 2022), las cargas parasitarias identificadas en los peces utilizados en este estudio fueron bajas y

permitieron su asignación en grupos después de la aplicación de un tratamiento profiláctico con sal de grano de acuerdo a lo descrito por García-Magaña y colaboradores en 2019.

#### **8.4.2.-Palatabilidad de las cápsulas**

Las tilapias mostraron una ingesta de las cápsulas que fue en aumento, conforme se suministró una cantidad de cápsulas mayor (Tabla 14), la pecera control (solo alimento), mostró una ingesta mayor de los pellets de alimento, consumiendo hasta 194 pellets en 4 horas, lo que representó el 100% de las piezas administradas, en contraparte, la administración de los tratamientos de cápsula evidenció que las dosificaciones baja y media presentaron porcentajes de consumo mayores con 96.82 y 96.74 respectivamente, finalmente la dosificación alta, presentó el porcentaje menor de ingesta con 93.84%. Los peces utilizados en la prueba de palatabilidad mostraron ingesta de cápsulas mayor conforme se aumentó la disponibilidad de las mismas en las peceras experimentales, anteriormente se ha descrito que características como el tamaño del pellet o el color de los mismo en los alimentos, pueden influir en su aceptación y cantidad de ingesta por los peces (El-Sayed *et al.*, 2013; Ramos-Júdez & Duncan, 2022). En general, los grupos que consumieron cápsulas, mostraron una media de consumo del  $95.80 \pm 1.69\%$ , mientras que la media de consumo por pez fue de  $10.08 \pm 5.08$  cápsulas después de 8 horas de monitoreo, donde el consumo menor se presentó en la pecera 1 con dosificación baja, peces suministrados con un total de 63 cápsulas. Se ha reportado que la frecuencia de alimentación, presenta mejores resultados en las tilapias que son alimentadas bajo cálculo que cuando la

administración de alimento se da *ad libitum* (Daudpota *et al.*, 2016; Pouomogne & Omredane, 2001), por lo que se podría sugerir que la aceptación de las cápsulas con harina de ajo de nuestro estudio es altamente dependiente de las características de la administración oral. Así mismo la buena aceptación (hasta  $95.80 \pm 1.69$ ) puede estar impulsada por la condición de omnívoros que presentan los ejemplares de tilapia (Munguti *et al.*, 2022).

**Tabla 14.- Monitoreo de aceptación de las cápsulas de alginato de sodio-gelatina, a diferentes concentraciones de dosificación<sup>1</sup>.**

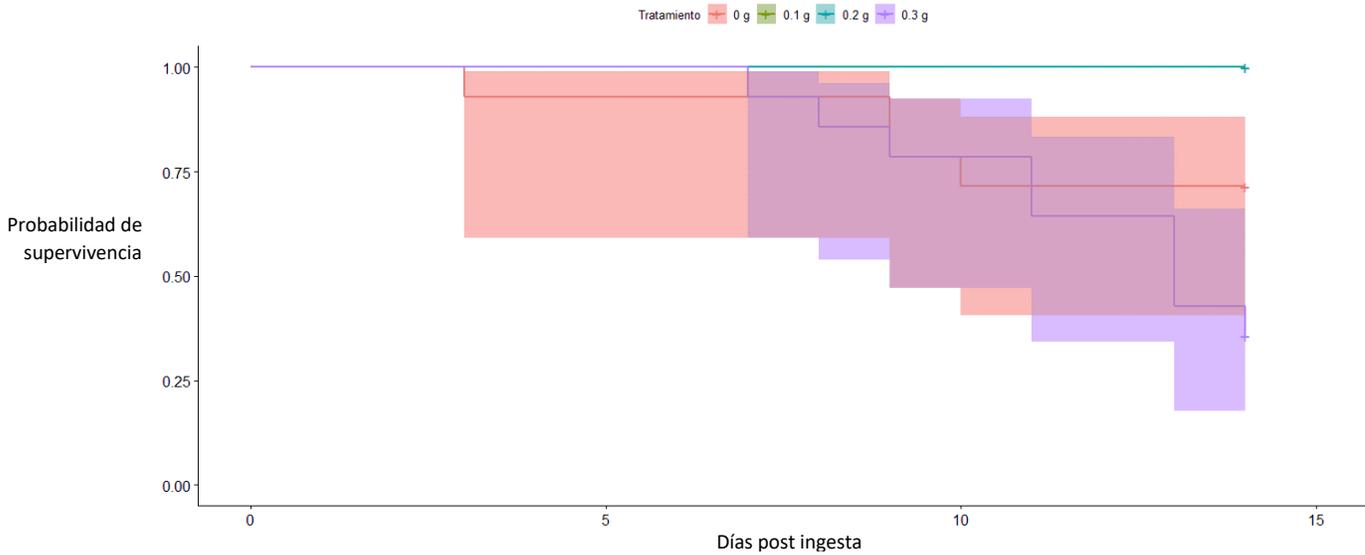
No. de pecera (Dosificación)	Cápsulas (g) /pecera	No. Cápsulas otorgadas	Cápsulas consumidas			Porcentaje de consumo*			Cápsulas consumidas por pez**
			2h	4 h	8 h	2 h	4 h	8 h	
1 (0 g/pez)	0	194	181	194	194	93.29	100	100	16.16
2 (0.1 g/pez)	1.2	63	46	55	61	73.01	87.30	96.82	5.08
3 (0.2 g/pez)	2.4	123	53	96	119	43.08	78.04	96.74	9.91
4 (0.3 g/pez)	3.6	195	82	151	183	42.05	77.43	93.84	15.25
<b>Media</b>	<b>2.4 ± 1.2</b>	<b>127 ± 66.09</b>	<b>60.33 ± 19.08</b>	<b>100.66 ± 48.16</b>	<b>121 ± 61.02</b>	<b>52.71 ± 17.58</b>	<b>80.92 ± 5.52</b>	<b>95.80 ± 1.69</b>	<b>10.08 ± 5.08</b>

<sup>1</sup>El consumo porcentual se calculó en relación a las cápsulas otorgadas de manera inicial. \*\*El consumo por pez se calculó dividiendo el número de cápsulas consumidas entre los 12 peces que conformaron cada grupo. Horas=h. El grupo control dosificación 0 g, se alimentó con una dosificación 0.2 g /pez con alimento Nutripec de Purina® desarrollo con 40% de proteína.

#### 8.4.3.-Inocuidad de las cápsulas y análisis de sobrevivencia

El análisis de sobrevivencia (Figura 31), mostró significancia estadística entre los grupos comparados (P= 0.0478), además, evidenció que los peces control (solo alimento), y los peces con dosificación alta (0.3 g/pez), presentaron menos probabilidad de sobrevivencia al formar parte de estos grupos, siendo el grupo de dosificación alta, el que presentó mortalidad mayor, iniciando con decesos en el día 7 post tratamiento este grupo incluso presenta menos del 50% de probabilidad de sobrevivencia al día 13

del monitoreo, situación contrastante debido a que los componentes administrados vía oral a las tilapias en este estudio se consideran inocuos y de carácter alimenticio (Ching *et al.*, 2017; Poornima & Sinthya, 2017), así mismo, la harina de ajo, el alginato y la gelatina cuentan con antecedentes de administración oral en peces, aunque no se ha evaluado la formación del sistema polimérico como un vehículo oral en tilapias (Fajer-Ávila *et al.*, 2017; Planas *et al.*, 1990; Setijaningsih *et al.*, 2021). Ante esta serie de resultados, se puede considerar la posibilidad de desarrollar problemas mecánicos como obstrucción intestinal o constipación por ingesta de alimentos no adecuados (Sharma *et al.*, 2012), donde además hay que considerar que la inocuidad de las cápsulas puede estar relacionada a su capacidad de albergar y desarrollar poblaciones de microorganismos con características patógenas sobre los peces (Wang *et al.*, 2018b), por lo que la administración de estas cápsulas u otros componentes extraños en la dieta de las tilapias tendrá que aplicarse con discreción y bajo análisis detallado de los requerimientos poblacionales. Por otro lado, el grupo control comenzó con decesos al día 3 del monitoreo, aunque en este caso, la probabilidad de sobrevivencia no fue inferior al 50% en toda la fase experimental, por su parte, los grupos con las dosificaciones baja (0.1 g/pez) y media (0.2 g/pez), no evidenciaron decesos durante el monitoreo post ingesta, los presentes resultados indican que a dosis mayor de ingesta los peces presentan probabilidad de sobrevivencia menor. Situación similar a otras intervenciones en la dieta que se han desarrollado en tilapias del género *Oreochromis* sp. como lo reportado por Trullas y colaboradores en 2022, donde registraron una probabilidad mayor de sobrevivencia (92%) en los grupos de peces cuando se adicionó a su dieta la planta *Helianthus tuberosus* como un prebiótico.



**Figura 31.- Análisis de *Cox-Mantel*, expresa la probabilidad de supervivencia en los grupos de peces (n=8) post ingesta de cápsulas, los grupos se indujeron a una ingesta baja (0.1 g/pez), media (0.2 g/pez) y alta (0.3 g/pez). El estadístico corresponde a lo descrito en la ecuación *j* de la sección 7.6.6. El grupo control dosificación 0 g, se alimentó con una dosificación 0.2 g /pez con alimento Nutripec de Purina® desarrollo con 40% de proteína.**

#### **8.4.4.-Análisis morfométrico de cápsulas recuperadas post-ingesta**

Las cápsulas recuperadas a nivel intestinal, presentaron disminución del área de la partícula, con significancia estadística a la hora 1 de la ingesta ( $P=0.0001$ ), a esa hora las cápsulas presentaron los valores mayores ( $18.22 \pm 2.90$ ), del mismo modo los parámetros de perímetro y diámetro de Feret, evidenciaron que las cápsulas recuperadas a la hora 1 posterior a la ingesta, presentaron los valores mayores con  $17.76 \pm 2.46$  y  $6.22 \pm 1.48$ , respectivamente para estos parámetros, denotando una degradación de las cápsulas conforme pasaron las dos primeras horas, sin embargo, a

las horas 3 y 4, no se observó significancia en la disminución de los valores (Tabla 15), estos resultados evidencian el efecto causado por las condiciones acidas a nivel estomacal e intestinal de la tilapia que puede fluctuar en un pH de 1.5 a 6, esta fluctuación es dependiente del contenido y estatus de ayuno que presenten los peces (Polk *et al.*, 1994), lo que se suma a el movimiento peristáltico intestinal y derivan en la pérdida de la integridad de las cápsulas, esta tendencia se ha reportado anteriormente al administrar cápsulas de alginato en el género *Oreochromis* spp. (Rodríguez *et al.*, 2018), donde además se observó la degradación de las cápsulas en el desafío gastrointestinal en otras especies de interés zootécnico, como los rumiantes (Ponce-Nogues, 2020). Finalmente, el parámetro de circularidad, colocó a las cápsulas de la hora 1 como las de circularidad menor, esto debido a que las cápsulas presentaron forma de gota en su manufactura, sin embargo, el parámetro mostró valores con un máximo a las horas 2 y 3 con  $0.84 \pm 0.02$  y  $0.84 \pm 0.03$  respectivamente, para finalmente, disminuir la circularidad a la hora 4 ( $0.80 \pm 0.01$ ), debido a que las cápsulas comenzaron a deformarse por la degradación. La degradación paulatina que evidenciaron los resultados puede asociarse con la polimerización de los componentes (alginato de sodio-gelatina), misma que permite la obtención de cápsulas por el método de gelificación iónica, donde la presencia de grupos OH, COOH y NH<sub>2</sub> de la gelatina están íntimamente racionados con el grado de entrecruzamiento con los grupos OH presentes en los grupos piranosil del alginato de sodio (Dong *et al.*, 2006; Reyes-Ortega *et al.*, 2012), este entrecruzamiento confiere resistencia a las perlas formadas, y al mismo tiempo provee al sistema de sitios endebles para la acción de actividad enzimática por parte de proteasas como la pepsina, enzima que actúan en la digestión

de la gelatina una vez que los peces han ingerido las cápsulas (Stanforth *et al.*, 2022), estas características evidencian la posibilidad de digestión de las cápsulas, así como la liberación y disponibilidad de los compuestos de interés en la región gastro intestinal de los peces (Trần Ngọc, 2017).

**Tabla 15.- Parámetros morfométricos de las cápsulas recuperadas a nivel intestinal de las tilapias en desafío (ingesta oral del vehículo de alginato de sodio-gelatina)<sup>1</sup>.**

Horas post ingesta	Área	Perímetro	Diámetro de Feret	Circularidad
1	18.22 ± 2.90 <sup>a</sup>	17.76 ± 2.46 <sup>a</sup>	6.22 ± 1.48 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.06 <sup>b</sup>
2	10.55 ± 1.12 <sup>b</sup>	12.55 ± 0.54 <sup>b</sup>	4.18 ± 0.33 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.02 <sup>a</sup>
3	9.61 ± 0.45 <sup>b</sup>	12.00 ± 0.51 <sup>b</sup>	3.98 ± 0.25 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.03 <sup>a</sup>
4	9.77 ± 0.21 <sup>b</sup>	12.35 ± 0.22 <sup>b</sup>	4.09 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.80 ± 0.01 <sup>a</sup>
<b>P- valor</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.002</b>	<b>0.021</b>	<b>0.006</b>

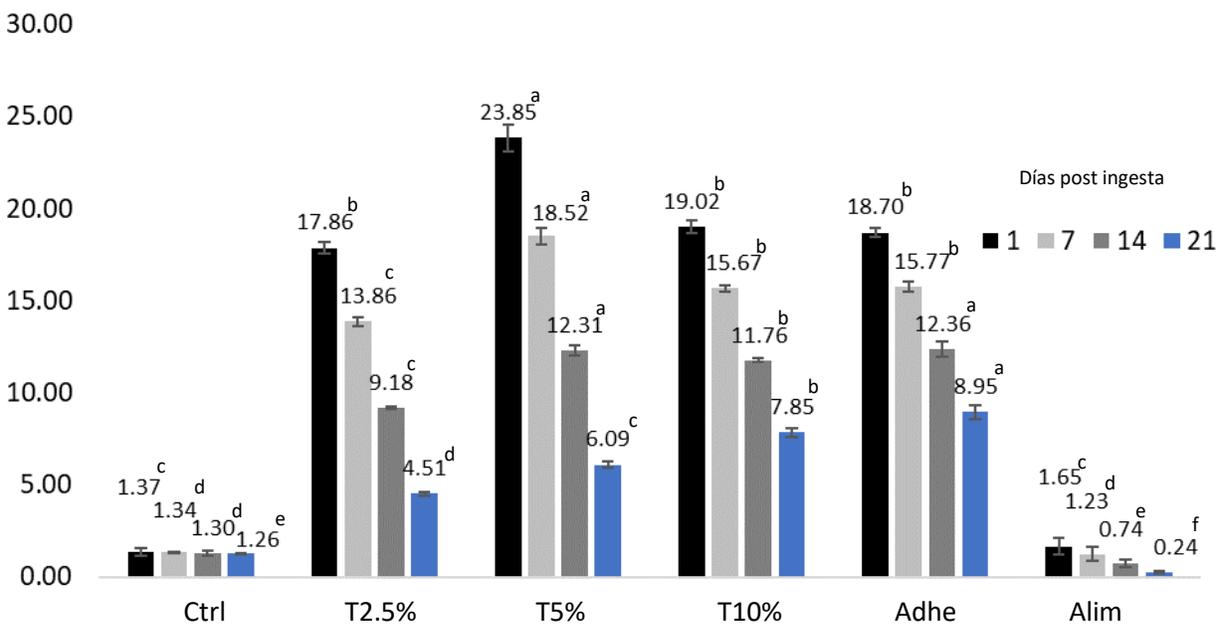
<sup>1</sup>Los datos muestran las medias de tres repeticiones ± desviación estándar, diferentes superíndices por columna indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey. Horas=h.

#### 8.4.5.-Aliína en sangre de los peces

Las muestras de sangre evidenciaron al día 1 de lectura, que el tratamiento de cápsulas con 5% de harina de ajo, permitió mayor presencia de compuestos organoazufrados en plasma sanguíneo con hasta 23.85 ± 0.73 mgE de aliína (P=0.0001) (Figura 32), en este día el resto de tratamientos con adición de harina de ajo, no presentaron significancia entre ellos (P>0.05), con valores de 17.86 ± 0.31, 19.05 ± 0.35 y 18.69 ± 0.24 mgE de aliína para la adición de 2.5%, 10% y 10%

adherido en el alimento respectivamente, la presencia de estos compuestos puede relacionarse a un potencial antihelmíntico que se ha reportado en 2.2 mg de aliína como tratamiento alternativo contra el nematodo *Ascaridia galli* en pollos (Velkers *et al.*, 2011). Mientras que las muestras de plasma sanguíneo para la cápsula control (Ctrl) y con solo administración de alimento, evidenciaron los menores valores con  $1.37 \pm 0.21$  y  $1.65 \pm 0.45$  respectivamente. El comportamiento de la presencia de mgE de aliína en plasma se mantuvo similar durante los días 7 y 14. Al día 21. La administración de ajo ha mostrado efectos antiparasitarios contra larvas L<sub>3</sub> de *Anisakis* spp., un parásito zoonótico que se encuentra parasitando entre otros peces a los salmónidos de consumo humano (Kasuya *et al.*, 1988; Ormeño, 2017). Además, se ha reportado efecto contra el copepodo *Lernantropus kroyeri*, un parásito que infecta poblaciones de lobina (*Dicentrarchus labrax*), cuando los parásitos fueron desafiados al jugo de ajo (Yavuzcan *et al.*, 2019) del mismo modo, el uso de ajo presenta actividad antihelmíntica contra los protozoarios *Trypanosoma* spp. y *Leshmania* spp. que mantienen importancia en la salud pública en diferentes áreas geográficas alrededor del mundo (Krstin *et al.*, 2018). Entre estos parásitos destaca *Trypanosoma* spp. un microorganismo de alto impacto en las poblaciones humanas que ha sido descrito en peces de la especie *Oreochromis niloticus* (Barbetta *et al.*, 2018). Al finalizar las observaciones se obtuvieron los valores menores de mgE de aliína en plasma en todos los grupos bajo tratamiento, con un valor final de  $4.51 \pm 0.31$ ,  $6.09 \pm 0.73$ ,  $7.85 \pm 0.35$  y  $8.95 \pm 0.24$  mgE de aliína para los grupos 2.5%, 5%, 10% y Adhe, respectivamente. Los niveles de [mgE de aliína] en plasma de los peces en nuestro estudio, denota la ingesta de compuestos organoazufrados como la alicina, misma que deriva en la

presencia de diferentes metabolitos antes de llegar a hígado donde suele acumularse alcanzado concentraciones mayores (Kemper, 1991), de la metabolización de la alicina se derivan compuestos como el disulfuro de dialilo, alil mercaptano, sulfuro de metilo de alilo, sulfóxido de metilo de alilo y sulfona de metilo de alilo, finalmente entre los compuestos derivados, solo los dos últimos han reportado una excreción significativa en orina (Germain *et al.*, 2002). Por lo que 21 días de monitoreo sugieren que los componentes organoazufrados continúan siendo excretados por los peces.

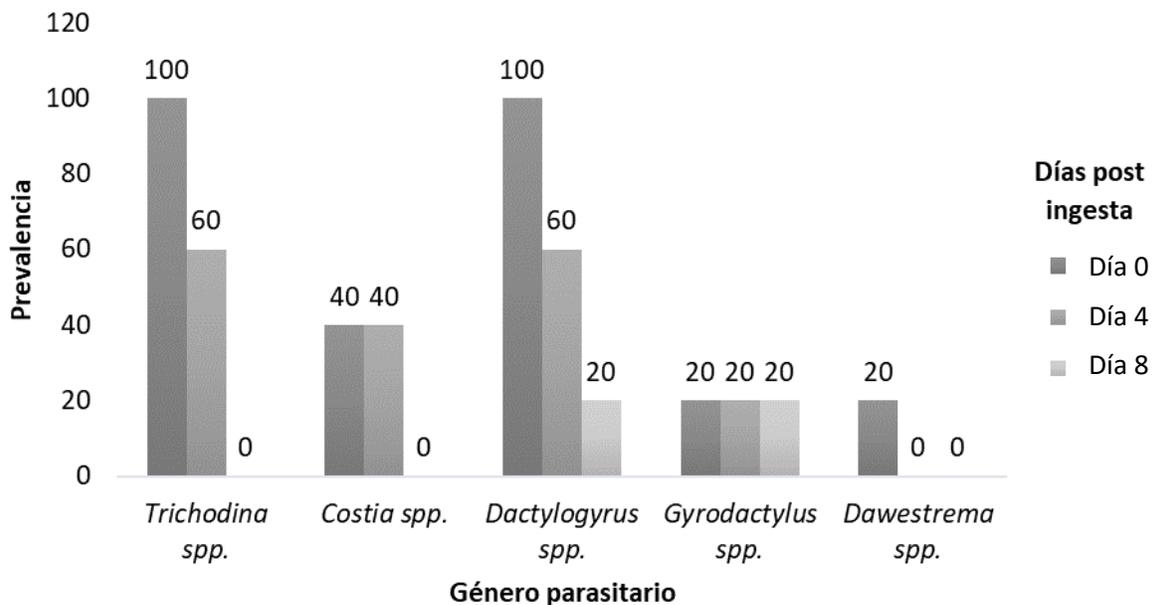


**Figura 32.- [mgE aliína] en plasma sanguíneo, presente en los grupos de peces bajo tratamiento. Cada barra indica la media de 3 repeticiones  $\pm$  DS (n=3 peces). Superíndices diferentes en las barras indican significancia estadística ( $P < 0.05$ ), mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey.**

#### 8.4.6.-Efecto del tratamiento sobre poblaciones parasitarias de *Oreochromis* spp.

El efecto de los tratamientos con cápsulas de harina de ajo se evaluó sobre el índice de prevalencias en las comunidades parasitarias de *Oreochromis* spp. (Figura 33). Donde se identificaron en el muestreo inicial cargas parasitarias para 5 géneros parasitarios: dos protozoarios (*Trichodina* spp. y *Costia* spp.) y tres monogéneos (*Dactylogyrus* spp., *Gyrodactylus* spp. y *Dawestrema* spp.), al día 4 se observó que *Dawestrema* spp. presentó un efecto positivo con prevalencias iniciales de 20% y finales de 0%. No obstante, en este estudio el resto de parásitos presentaron ocurrencia todavía en el segundo muestreo (día 4). Por otro lado, se observó que para el día 8, *Trichodina* spp. y *Costia* spp. presentaron 0% de prevalencia al finalizar el tratamiento, cuando presentaron 100% y 40% de prevalencia inicial, resultados similares a los reportados por Giarratana y colaboradores donde alcanzaron 100 % de inactivación del nematodo *Anisakis* spp. a las 24 horas de exposición con 5% de limoneno en solución salina, sin embargo, en ese caso el estudio se realizó *in vitro*. En contraste, los monogéneos *Dactylogyrus* spp. y *Gyrodactylus* spp. mantuvieron una prevalencia final del 20%, destacando el caso de *Dactylogyrus* spp. que contaba con una prevalencia inicial del 100% y que presentó 20% de prevalencia final. Anteriormente se han desafiado parásitos de peces al ser expuestos a jugo de ajo (hasta 100% de jugo de ajo), donde el copépodo *Lernantropus kroyeri* parásito de la lobina (*Dicentrarchus labrax*), mostró 100% de inmovilización y muerte al ser expuesta 5 min a jugo de ajo una vez que estas fueron desprendidas de los peces (Yavuzcan *et al.*, 2019). Cabe resaltar que, existen pocos estudios del efecto del ajo en las comunidades parasitarias en peces, y resulta importante continuar con su estudio debido al potencial antiparasitario que se ha

reportado el para control de infecciones parasitarias causadas por ejemplo por *Opalina ranarum*, *O. dimidicita*, *Balantidium entozoon*, *Entamoeba histolytica*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Leptomonas*, y *Crithidia* (Morck, 2015). Se ha reportado que la capacidad antihelmíntica del ajo se atribuye a compuestos organoazufrados como la alicina que puede asociarse e inhibir la función de moléculas que cuentan con grupos tiol, situación que afecta el equilibrio redox en el medio intracelular, esta función antihelmíntica induce a los parásitos la inhibición de la movilidad y una baja energética que provoca la mortandad en la poblaciones y comunidades parasitarias (Borlinghaus *et al.*, 2014; Krstin *et al.*, 2018; Nikoo *et al.*, 2011).



**Figura 33.- Prevalencia parasitaria monitoreada ante la aplicación de tratamiento con cápsulas T5%. La composición de este tratamiento incluyó 5% de harina de ajo y como material pared 2.5% alginato de sodio y 1.5% gelatina. n=10 peces por muestreo.**

## **8.5.- Evaluación post tratamiento de las poblaciones de *Oreochromis* spp.**

### **8.5.1.- Evaluación de parámetros hemáticos**

Ante la presencia de diferentes metabolitos derivados del consumo del ajo es importante dar seguimiento a los efectos benéficos que puedan causar en las poblaciones de peces experimentales (Kim *et al.*, 2016; Kinalski & Noreña, 2019). Así mismo los parámetros hemáticos son útiles para proporcionar información referente a la salud y el estado fisiológico de los peces, así como de las condiciones de alimentación y la calidad del agua (Fazio *et al.*, 2013). No obstante, las muestras de sangre analizadas al día 21 post tratamiento, no mostraron significancia entre los grupos experimentales después de la ingesta de cápsulas con harina de ajo, en ninguno de los parámetros hemáticos cuantificados (leucocitos, eritrocitos, hematocrito y hemoglobina) (Tabla 16), esta situación evidenció que no existe un efecto adverso en el perfil hemático de los organismos después de la ingesta de los tratamientos. Sin embargo, se pudo observar un aumento de leucocitos en los tratamientos de cápsulas con 2.5% ( $2.16 \pm 1.10$ ) y 5% ( $2.42 \pm 0.49$ ) de harina de ajo, respecto al control ( $2.09 \pm 0.22$ ), mientras que al adicionar hasta 10% de harina de ajo y en el tratamiento de harina de ajo adherida al alimento, los valores de leucocitos disminuyeron a  $1.27 \pm 0.34$  y  $1.56 \pm 0.28$  respectivamente, estas células son protagonistas por que actúan en la segregación de citoquinas y otros mediadores inflamatorios en la respuesta inflamatoria en los peces (Lieschke & Trede, 2022). En relación a los eritrocitos estos presentaron valores mayores en los tratamientos de cápsula control ( $1.74 \pm 0.51$ ) y en los peces en los que se administró solo alimento ( $1.83 \pm 0.88$ ), mientras que, en los tratamientos adicionados con harina de ajo, los valores disminuyeron entre  $1.71 \pm 0.83$  (10%) y  $1.28 \pm 0.37$  (2.5%), la determinación de eritrocitos, puede ser una herramienta útil en la

determinación de anemia en los peces, debido a que son las células de mayor presencia en sangre, y además son determinantes para mantener los niveles de hemoglobina (Daneshvar *et al.*, 2012; Fazio, 2019). El comportamiento de los eritrocitos fue una tendencia que se mantuvo para los parámetros de hematocrito en los peces, mientras que para los valores de hemoglobina los peces a los que se administró solo alimento (Alim), presentaron los valores mayores ( $10.90 \pm 0.52$ ), mientras que en todos los tratamientos con cápsulas control y adicionados con harina de ajo, los valores fueron inferiores, con un mínimo de  $9.83 \pm 2.47$  (2.5%). Estos resultados obtenidos son similares a los reportados por Daneshvar y colaboradores en 2012, donde registraron valores de  $24.3 \pm 0.9$  a  $58.0 \pm 1.0$  para hematocrito, mientras que los niveles de hemoglobina que obtuvieron son menores (máximo de  $8.2 \pm 0.5$ ) que en nuestro estudio, estos parámetros fueron determinados en diferentes cíclidos incluyendo a *Oreochromis niloticus* ( $24.3 \pm 0.9$ ). Cabe destacar que los niveles de hemoglobina en sangre, se han asociado nivel de resistencia de los peces debido a su relación con la capacidad de oxigenación en sangre, y por ende en el mantenimiento de las tasas metabólicas (Setijaningsih *et al.*, 2021). Los resultados obtenidos, nos permiten sugerir que no existen afectos adversos, en el perfil hemático de los peces que fueron sometidos a tratamiento. Aunque se recomienda realizar más estudios para conocer posibles efectos de citotoxicidad en los organismos expuestos (Krstin *et al.*, 2018).

**Tabla 16.- Parámetros hemáticos determinados en las tilapias bajo tratamiento con administración oral de harina de ajo por medio de cápsulas de alginato de sodio-gelatina<sup>1</sup>.**

Tratamiento	Leucocitos	Eritrocitos	Hematocrito	Hemoglobina
Ctrl	2.09 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.74 ± 0.51 <sup>a</sup>	41.67 ± 5.13 <sup>a</sup>	10.76 ± 0.70 <sup>a</sup>
2.5%	2.16 ± 1.10 <sup>a</sup>	1.28 ± 0.37 <sup>a</sup>	39.67 ± 17.24 <sup>a</sup>	9.83 ± 2.47 <sup>a</sup>
5%	2.42 ± 0.49 <sup>a</sup>	1.42 ± 0.41 <sup>a</sup>	31.33 ± 1.52 <sup>a</sup>	10.40 ± 0.45 <sup>a</sup>
10%	1.27 ± 0.34 <sup>a</sup>	1.71 ± 0.83 <sup>a</sup>	33.33 ± 9.24 <sup>a</sup>	10.30 ± 1.48 <sup>a</sup>
Adhe	1.56 ± 0.28 <sup>a</sup>	1.36 ± 0.62 <sup>a</sup>	41.33 ± 10.69 <sup>a</sup>	10.80 ± 0.26 <sup>a</sup>
Alim	2.12 ± 1.05 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.88 <sup>a</sup>	43.67 ± 10.12 <sup>a</sup>	10.90 ± 0.52 <sup>a</sup>
<b>P valor</b>	<b>0.369</b>	<b>0.85</b>	<b>0.626</b>	<b>0.895</b>

<sup>1</sup>Los datos muestran las medias de tres repeticiones ± desviación estándar (n=3 peces), diferentes superíndices por columna indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey.

### 8.5.2.- Índices de crecimiento

Los parámetros de crecimiento (Figura 34) mostraron que el grupo Ctrl (cápsula vacía) y el grupo de peces administrada solo con alimento, presentaron los valores más altos de factor de conversión alimenticia (FCA) con 9.22 y 2.33 respectivamente, mientras que los peces que fueron administrados con cápsulas con harina de ajo, presentaron un valor de FCA intermedio 1.80 (5%), 1.67 (10%) y 1.38 (2.5%), finalmente, los peces a los que se administró harina de ajo adherida al alimento (Adhe), evidenciaron el menor y mejor FCA con 0.57. Valores similares a los reportados por Ogunji y Wirth quienes modificaron la fuente proteica adicionada a la dieta de las tilapias (*Oreochromis niloticus*), y lograron alcanzar un FCA de hasta 1.11 al adicionar harina de sangre en la dieta. Así mismo, cuando los peces ingirieron vía oral las cápsulas con harina de ajo, presentaron valores de FCA mejores que los reportados por Falaye y Jauncey en 1999, quienes registraron valores mínimos de 3.7 ante la adición de

cascara de cacao. Por otro lado, los valores de peso ganado por el pez, y peso ganado por pez por día, evidenciaron una relación con los valores de FCA, donde todos los tratamientos en que se administró harina de ajo por medio de cápsulas, fueron superiores en peso ganado por pez por día (entre 0.41 g y 0.52 g), respecto a los controles (Ctrl; 0.11 g y Alim; 0.29 g), situación similar a lo observado para el peso ganado por pez durante el periodo de observación, donde los tratamientos con administración oral de harina de ajo por medio de cápsulas presentaron valores entre 8.62 g y 10.88 g, valores superiores respecto a los controles (Ctrl; 2.34 g y Alim; 6.06 g), el crecimiento diario reportado por los peces que consumieron harina de ajo por medio de las cápsulas de alginato, fueron superiores a los descritos por Setijaningsih y colaboradores (2021), quienes obtuvieron un valor máximo de 0.42, cuando adicionaron 1% de ajo en el alimento de las tilapias, no obstante, estos valores no superaron a los del presente trabajo al adicionar harina de ajo adherida al alimento del pez.

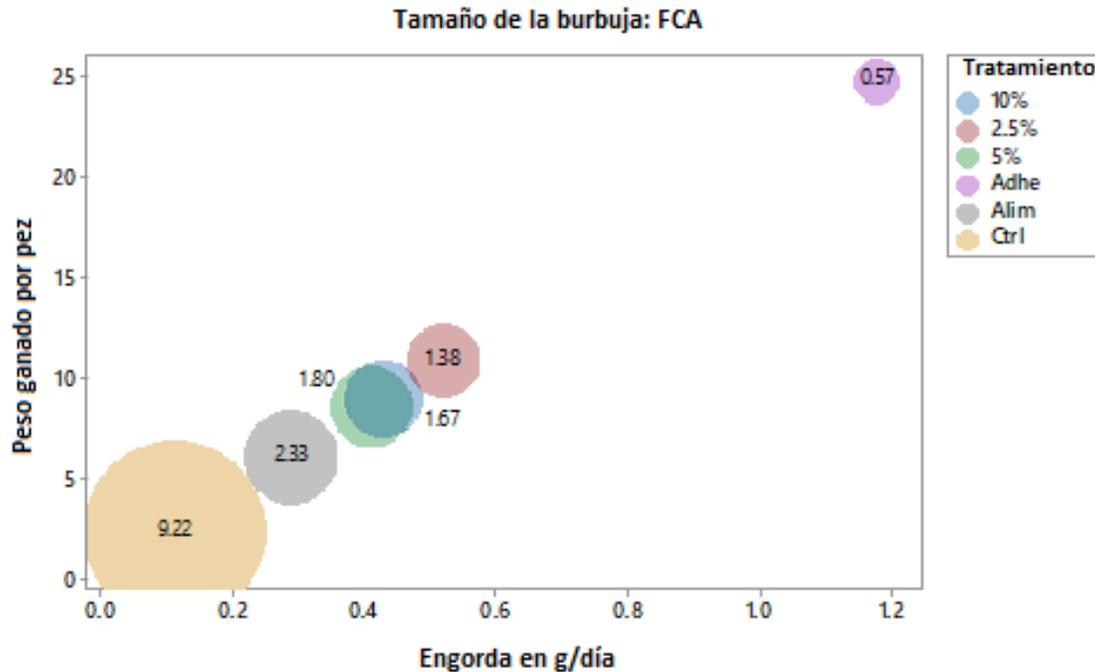


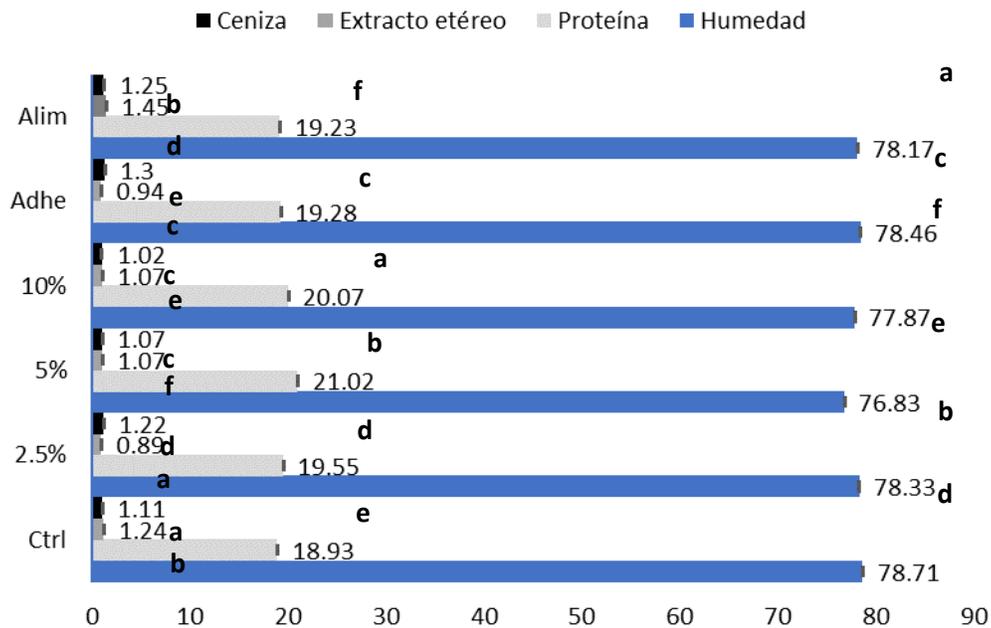
Figura 34.- Parámetros de crecimiento en los diferentes grupos experimentales de tilapia, FCA=factor de conversión alimenticia que presentaron las poblaciones experimentales (n=15 peces). El monitoreo fue de 21 días post tratamiento.

### 8.5.3.- Composición proximal de la canal

Finalmente, las muestras de carne de pescado mostraron en su composición proximal que los peces administrados con 5% y 10% de harina de ajo, presentaron contenido de humedad menor ( $P=0.0001$ ) con  $76.83 \pm 0.02$  y  $77.87 \pm 0.02$  respectivamente, en contraparte estas mismas muestras presentaron valores mayores de contenido proteico con  $21.02 \pm 0.01$  y  $20.07 \pm 0.01$ , superior a todos los tratamientos ( $P=0.0001$ ), donde los valores inferiores los presentaron los controles, tanto la cápsula control ( $18.93 \pm 0.01$ ) como los peces administrados solo con alimento ( $19.23 \pm 0.01$ ) (Figura 35). Lo anterior resulta importante debido a que el pescado proporciona proteína de alto valor biológico a la dieta de poblaciones extensas a nivel mundial (Adedeje *et al.*, 2012). Esta proteína contiene aminoácidos esenciales (lisina, metionina y treonina), de digestión

alta en personas de diferentes grupos etarios (Ariño *et al.*, 2012). La carne de tilapia cuenta con presencia de aminoácidos como la glicina, alanina y ácido glutámico con 459.8, 252.7 y 145.2 mg/kg y además incluye 14 aminoácidos más Asp, Lys, Ser, Pro, Thr, Arg, Leu, Met, Val, Tyr, Ile, Phe e His (Cheng *et al.*, 2020). Por otro lado, para el parámetro de extracto etéreo, los tratamientos 2.5% y Adhe, mostraron los valores menores con  $0.89 \pm 0.005$  y  $0.94 \pm 0.01$ , además, se observó que tanto los tratamientos administrados con harina de ajo como con las cápsulas vacías mostraron valores menores de grasa (entre  $0.89 \pm 0.005$  y  $1.24 \pm 0.005$ ) respecto a la alimentación tradicional (Alim;  $1.45 \pm 0.01$ ). Así mismo, para el contenido porcentual de cenizas los tratamientos con 5% y 10% de harina de ajo, presentaron valor menor ( $P=0.0001$ ) con  $1.07 \pm 0.017$  y  $1.02 \pm 0.005$  respectivamente. Sin embargo, en este rubro el tratamiento Adhe fue el de composición proximal de cenizas mayor con  $1.30 \pm 0.005$ , denotado que la administración de harina de ajo, puede estar relacionada a la mejora de la composición proximal de las canales de *Oreochromis* spp. en producción. Los valores descritos en el presente trabajo, mejoran los valores de humedad presentes en la carne de tilapia ya que se ha reportado un contenido de hasta 81.11% (Olopade *et al.*, 2016) mientras que las tilapias de este estudio mostraron valores máximos de  $78.71 \pm 0.02\%$ , misma situación para el contenido proteico, ya que se ha reportado que la carne de tilapia puede contener cerca del 13.66% (Olopade *et al.*, 2016), mientras que en este trabajo se obtuvieron valores de hasta  $21.02 \pm 0.01\%$  cuando se administraron cápsulas de alginato con 5% de harina de ajo. De este modo, se podría sugerir que el uso de vehículos orales a base de polímeros (alginato-

gelatina), pueden además generar mejoras en la calidad nutricia de los productos acuícolas bajo tratamiento.



**Figura 35.- Descripción de la composición proximal de filetes de pescado (%). Los parámetros expresan la media de 3 repeticiones  $\pm$  DS (n= 3 peces). Superíndices diferentes indican significancia estadística ( $P < 0.05$ ) mediante ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey.**

## 9.- Conclusiones

Las tilapias (*Oreochromis* spp.) de cultivo presentaron infección por siete géneros de protozoarios y cuatro de monogeneos, sus índices ecológicos y los parámetros de calidad del agua sugieren que el manejo de la materia orgánica y de los carbonatos de calcio pueden significar áreas de mejora en los sistemas de producción de tilapia respecto a la dinámica de las infecciones parasitarias. Ante este escenario, las cápsulas de alginato de sodio-gelatina representan una alternativa de control parasitario, donde la formulación de cápsulas multipared con 2.5% de alginato y 1.5%

de gelatina mostraron menores valores en los parámetros de color, un pH más ácido, una  $a_w$  y CRA menor. Así como mejores características de flotabilidad y mejor estabilidad de liberación de fenoles en el desafío en agua. Lo que permitió su uso para el encapsulado de harina de *Allium sativum* como una fuente botánica con capacidad antihelmíntica, estas cápsulas evidenciaron una compatibilidad de polimerización y presencia de grupos funcionales con potencial antihelmíntico por FT-IR, conjuntamente las cápsulas mostraron una tendencia a color café, propiedades anti hinchamiento, capacidad antioxidante y un buen perfil morfométrico, de forma específica el tratamiento con 5% de harina de ajo presentó el mejor perfil para su uso en un modelo de tilapia (*Oreochromis sp.*). Finalmente, el modelo *in vivo* mostró una aceptación alta del tratamiento oral con las cápsulas. Los peces mantuvieron una alta probabilidad de sobrevivencia ante la ingesta. Además, las cápsulas presentaron degradación del sistema polimérico ante la ingesta y liberación de compuestos que reflejaron una [mgE de aliína] en plasma, el tratamiento pudo disminuir prevalencias de cargas parasitarias causadas por *Trichodina spp.* y *Costia spp.*. En adhesión los peces bajo tratamiento no presentaron desordenes hemáticos ( $p \Rightarrow 0.05$ ) y se lograron parámetros de crecimiento competitivos y una mejora en la composición porcentual de proteína en las canales obtenidas. El potencial de las cápsulas como vehículos orales sugieren continuar su estudio en la administración de diversos compuestos de interés en los sistemas de producción de tilapia y otros peces de alto valor de mercado.

## 10.- Bibliografía

- Abbasiliasi, S., Shun, T. J., Tengku Ibrahim, T. A., Ismail, N., Ariff, A. B., Mokhtar, N. K., & Mustafa, S. (2019). Use of sodium alginate in the preparation of gelatin-based hard capsule shells and their evaluation: In vitro. *RSC Advances*, *9*(28), 16147–16157. <https://doi.org/10.1039/c9ra01791g>
- Abd El Kader, A. E., & Abu Hashish, H. M. (2020). Encapsulation techniques of food bioproduct. *Egyptian Journal of Chemistry*, *63*(5), 1881–1909. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2019.16269.1993>
- Abdel-Hakim, N., Lashin, M., Ashry, A., & Al-Azab, A.-D. (2010). Effect of fresh or dried garlic as a natural feed supplement on growth performance and nutrients utilization of the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, *14*(2), 19–38. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2010.2058>
- Abdel-Latif, H. M. R., Dawood, M. A. O., Menanteau-Ledouble, S., & El-Matbouli, M. (2020). The nature and consequences of co-infections in tilapia: A review. *Journal of Fish Diseases*, *43*(6), 651–664. <https://doi.org/10.1111/jfd.13164>
- Abiko, Y., Katayama, Y., Akiyama, M., & Kumagai, Y. (2021). Lipophilic compounds in garlic decrease the toxicity of methylmercury by forming sulfur adducts. *Food and Chemical Toxicology*, *150*(January), 112061. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112061>
- Aceval-Arriola, N. D., De Medeiros, P. M., Prudencio, E. S., Olivera Müller, C. M., & De Mello Castanho Amboni, R. D. (2016). Encapsulation of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni with sodium alginate and its impact on phenolic content. *Food Bioscience*, *13* (01), 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.12.001>
- Acosta-Pérez, V. J., Vega-Sánchez, V., Fernández-Martínez, T. E., Zepeda-Velázquez, A. P., Reyes-Rodríguez, N. E., Ponce-Noguez, J. B., Peláez-Acero, A., de-la-Rosa-Arana, J. L., & Gómez-De-Anda, F. R. (2022). Physicochemical Water Quality Influence on the Parasite Biodiversity in Juvenile Tilapia (*Oreochromis* spp.) Farmed at Valle Del Mezquital in the Central-Eastern Socioeconomic Region of Mexico. *Pathogens*, *11*(10). <https://doi.org/10.3390/pathogens11101076>
- Acosta, A. A., Caffara, M., Fioravanti, M. L., Utsunomia, R., Zago, A. C., Franceschini, L., & Da Silva, R. J. (2016). Morphological and Molecular Characterization of *Clinostomum detruncatum* (Trematoda: Clinostomidae) Metacercariae Infecting *Synbranchus marmoratus*. *Journal of Parasitology*, *102*(1), 151–156. <https://doi.org/10.1645/15-773>

- Adamba, S. W. K., Otachi, E. O., & Ong'ondo, G. O. (2020). Parasite Communities of *Oreochromis niloticus baringoensis* (Trewavas, 1983) in Relation to Selected Water Quality Parameters in the Springs of Lorwai Swamp and Lake Baringo, Kenya. *Acta Parasitologica*, 65(2), 441–451. <https://doi.org/10.2478/s11686-020-00178-2>
- Adams, A. M., Murrell, K. D., & Cross, J. H. (1997). Parasites of fish and risks to public health. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 16(2), 652–660. <https://doi.org/10.20506/rst.16.2.1059>
- Adedeje, O., Okerentugba, P., Innocent-Adiele, H., & Okonko, I. (2012). Benefits, public health hazards and risks associated with fish consumption. *New York Science Journal*, 5(9), 33–61.
- Adekunle, H. L., Sadiku, S. O. E., & Orire, A. M. (2012). Development of Farm Made Floating Feed for Aquaculture Species. *Journal of International Scientific Publications: Agriculture and Food*, 2(4), 579–583.
- Adugna, M., Fishery, N., & Life, A. (2020). The Prevalence of Fish Parasites of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Selected Fish farms , Amhara Regional State. *Ethiop. J. Agric. Sci.*, 30(3), 119–128.
- Aguirre-Calvo, T., & Santagapita, P. (2016). Physicochemical Characterization of Alginate Beads Containing Sugars and Biopolymers. *Journal of Quality and Reliability Engineering*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9184039>
- Ahmadniaye Motlagh, H., Safari, O., & Pourmozaffar, S. (2021). Effect of garlic extract supplementation on growth performance, nonspecific immunity, and antibacterial activity of skin mucus in goldfish, *Carassius auratus*. *International Journal of Aquatic Biology*, 9(6), 350–359. <https://doi.org/10.22034/ijab.v9i6.1306>
- Akoll, P., Konecny, R., Mwanja, W. W., & Schiemer, F. (2012). Risk assessment of parasitic helminths on cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* , L .). *Aquaculture*, 356–357, 123–127. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.05.027>
- Alaye-Rahy, N., & Morales-Palacios, J. J. (2013). Haematological parameters and blood cells of juvenile pescado blanco (*Chirostoma estor estor*) grown in Pátzcuaro, Michoacán, México. *Hidrobiológica*, 23(3), 1340–1347. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-88972013000300007%0Ahttp://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-88972004000100003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972013000300007%0Ahttp://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-88972004000100003&script=sci_arttext)
- Alvarez-Pellitero, P., & Sitjà-Bobadilla, A. (2002). *Cryptosporidium molnari* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting two marine fish species, *Sparus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L. *International Journal for Parasitology*, 32(8), 1007–1021. <https://doi.org/10.1016/S0020->

7519(02)00058-9

- Amaechi, C. E. (2015). Prevalence, intensity and abundance of endoparasites in *Oreochromis niloticus* and *Tilapia zilli* (Pisces: Cichlidae) from Asa Dam, Ilorin, Nigeria. *UNED Research Journal*, 7(1), 67–70. <https://doi.org/10.22458/urj.v7i1.863>
- Amiri, M., Salavati-Niasari, M., Pardakhty, A., Ahmadi, M., & Akbari, A. (2017). Caffeine: A novel green precursor for synthesis of magnetic CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and pH-sensitive magnetic alginate beads for drug delivery. *Materials Science and Engineering C*, 76, 1085–1093. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.208>
- Ananda-Raja, R., & Jithendran, K. (2015). Aquaculture Disease Diagnosis and Health Management. *Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture*, 1–262. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2271-2>
- AOAC. (2015). Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. *Manual*, 1661, 1–38. <https://doi.org/10.1063/1.4915424>
- Arafa, W. M., Hassan, A. H. A., Mahrous, L. N., Abdel-Ghany, A. E., & Aboelhadid, S. M. (2019). Occurrence and molecular characterization of zoonotic *Anisakis simplex* sensu stricto and *Anisakis pegreffii* larvae in retail-marketed fish. *Journal of Food Safety*, 39(5), 1–7. <https://doi.org/10.1111/jfs.12682>
- Arellano-Buendía, A. S., Ju, J. G., Garc, F. E., & Osorio-alonso, H. (2021). *Mecanismos moleculares de los efectos benéficos de la alicina sobre la enfermedad cardiovascular*. 92(3), 362–370. <https://doi.org/10.24875/ACM.21000196>
- Arguedas, D., Ortega, C., Martínez, S., & Astroza, A. (2017). Parasites of Nile Tilapia larvae *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae) in concrete ponds in Guanacaste, Northern Costa Rica. *UNED Research Journal*, 9(2). <https://doi.org/10.22458/urj.v9i2.1904>
- Ariño, A., Beltrán, J. A., Herrera, A., & Roncalés, P. (2012). Fish and seafood: Nutritional Value. *Encyclopedia of Human Nutrition*, 2–4, 254–261. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00110-0>
- Aroguz, A. Z., Baysal, K., Adiguzel, Z., & Baysal, B. M. (2014). Alginate/polyoxyethylene and alginate/gelatin hydrogels: Preparation, characterization, and application in tissue engineering. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173(2), 433–448. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0851-0>
- Ashmawy, K., Hiekal, F., AboAkadda, S., & Laban, N. (2018). The inter-relationship of water quality parameters and fish parasite occurrence. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 59(1), 97.

<https://doi.org/10.5455/ajvs.299584>

- Athanasopoulou, F., Pappas, I., & Bitchava, K. (2009). An overview of the treatments for parasitic disease in Mediterranean aquaculture. *Zaragoza: CIHEAM*, 18(49), 65–83.
- Atkinson, C. T., Thomas, N. J., & Hunter, D. B. (2009). Parasitic Diseases of Wild Birds. In *Parasitic Diseases of Wild Birds*. <https://doi.org/10.1002/9780813804620>
- Avendaño-Romero, G. C., López-Malo, A., & Palou, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(6), 87–96. [https://doi.org/10.1016/s0887-6185\(00\)00049-9](https://doi.org/10.1016/s0887-6185(00)00049-9)
- Awaad, A. S., Moawad, U. K., & Tawfik, M. G. (2014). Comparative Histomorphological and Histochemical Studies on the Oesophagus of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* and African Catfish *Clarias gariepinus*. *Journal of Histology*, 2014, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2014/987041>
- Bader, C., Starling, D. E., Jones, D. E., & Brewer, M. T. (2019). Use of praziquantel to control platyhelminth parasites of fish. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 42(2), 139–153. <https://doi.org/10.1111/jvp.12735>
- Baird, D. J. (1994). Pest control in tropical aquaculture: An ecological hazard assessment of natural and synthetic control agents. *SIL Communications, 1953-1996*, 24(1), 285–292. <https://doi.org/10.1080/05384680.1994.11904050>
- Baldissera, M. D., Souza, C. F., Zeppenfeld, C. C., Velho, M. C., Klein, B., Abbad, L. B., Ourique, A. F., Wagner, R., Da Silva, A. S., & Baldisserotto, B. (2020). Dietary supplementation with nerolidol nanospheres improves growth, antioxidant status and fillet fatty acid profiles in Nile tilapia: Benefits of nanotechnology for fish health and meat quality. *Aquaculture*, 516(September 2019), 734635. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734635>
- Bao, M., Pierce, G. J., Strachan, N. J. C., Pascual, S., González-Muñoz, M., & Levsen, A. (2019). Human health, legislative and socioeconomic issues caused by the fish-borne zoonotic parasite *Anisakis*: Challenges in risk assessment. *Trends in Food Science and Technology*, 86(November 2018), 298–310. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.013>
- Barbosa-Cánovas, G., Fontana, A., Schmidt, S., & Labuza, T. (2007). *Water Activity in Foods; Fundamentals and Applications* (G. Barbosa-Cánovas, A. Fontana, S. Schmidt, & T. Labuza (eds.); First). Blackwell.
- Barbetta, D. J., Sílvia Umeda, G., Moraes Ramos, G. V., Gabriela, P., Fernandes Alves, T. S., Custódio, J. C., Suzana, K., & Fabiana, P. (2018). Trypanosomiasis causing mortality outbreak in Nile tilapia intensive farming: Identification and pathological evaluation. *Aquaculture*, 491(January), 169–176.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.02.002>

- Bautista-Hernández, C. E., Pulido-Flores, G., Violante-González, J., & Monks, S. (2019). Helminth parasites of *Xiphophorus birchmanni* (Teleostei:Poeciliidae) from two localities of the Pánuco River drainage, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.1577>
- Berman, J. J. (2018). Indispensable Tips for Fast and Simple Big Data Analysis. *Principles and Practice of Big Data*, 231–257. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815609-4.00011-x>
- Betanzo-Torres, E. A., Marín-Muñiz, J. L., Piñar-Álvarez, M. D. L. Á., Celdrán-Sabater, D., & Mata, A. H. (2019). Analysis of the application of biofloc technology in the production of tilapia (*Oreochromis niloticus*) in rural region of Mexico. *RINDERESUS*, 4, 42–58.
- Betsou, M., Alonte, A. J. I., Ancog, R. C., Aquino, A. M. O., Belizario, V. Y., Bordado, A. M. D., Clark, J., Corales, M. C. G., Dacuma, M. G., Divina, B. P., Dixon, M. A., Gourley, S. A., Jimenez, J. R. D., Jones, B. P., Manalo, S. M. P., Prada, J. M., van Vliet, A. H. M., Whatley, K. C. L., & Paller, V. G. V. (2020). Zoonotic transmission of intestinal helminths in southeast Asia: Implications for control and elimination. In *Advances in Parasitology* (1st ed., Vol. 108). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.036>
- Blahoua Kassi, G., Adou Yedehi, E., Etilé Raphaël, N., & N'Douba, V. (2019). Structure of the gill monogenean parasites of *Tylochromis jentinki* (Teleostei: Haemulidae) from two sectors of Ebrié lagoon, Côte d'Ivoire. *Ional Journal of Scientific and Research Publications*, 9(06), 353–361. <https://doi.org/10.29322/IJSRP.9.06.2019.p9055>
- Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C. H., Nwachukwu, I. D., & Slusarenko, A. J. (2014). Allicin: Chemistry and biological properties. *Molecules*, 19(8), 12591–12618. <https://doi.org/10.3390/molecules190812591>
- Brooke, M. M., & Melvin, D. M. (1964). Common Intestinal Protozoa of Humans. Atlanta, Georgia, Public Health Service Publication. *CDC*, 1140 (04), 20.
- Burgess, S. L., Gilchrist, C. A., Lynn, T. C., & Petri, W. A. (2017). Parasitic protozoa and interactions with the host intestinal microbiota. *Infection and Immunity*, 85(8). <https://doi.org/10.1128/IAI.00101-17>
- Burton, B., Clint, C., & Thomas, O. (2019). General Characteristics of the Trematoda. In *Chemical Zoology* (Fifth edit, pp. 3–45). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-395536-4.50008-6>
- Capela, R., & Moreira, R. (2019). An Overview of Drug Resistance in Protozoal Diseases. *International Journal of Molecular Science*, 20, 1–30.
- Carod-Artal, F. J., Garcia, H. H., Winkler, A. S., & Ajzenberg, D. (2017). Neurological syndromes or

- diseases caused by parasites in tropical areas. In P. PIERRE-MARIE & D. Michel (Eds.), *Neuroepidemiology in Tropical Health* (1st ed., pp. 233–246). Elsevier Inc.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804607-4.00018-6>
- Carrique-Mas, J. J., & Bryant, J. E. (2013). A review of foodborne bacterial and parasitic zoonoses in Vietnam. *EcoHealth*, *10*(4), 465–489. <https://doi.org/10.1007/s10393-013-0884-9>
- Castellanos-Garzón, J. A., Daschner, Á., Pustovrh, M. C., & Cuellar, C. (2019). Characteristics related to fish consumption and the risk of ichthyozoonosis in a Colombian population. *Revista de Salud Pública*, *21*(6), 9–16. <https://doi.org/10.15446/rsap.v21n6.69898>
- Cavalcante, D. de H., Caldini, N. N., da Silva, J. L. S., Lima, F. R. dos S., & do Carmo e Sá, M. V. (2014). Desequilíbrios da relação dureza/alcalinidade da água e desempenho produtivo da tilápia do Nilo. *Acta Scientiarum-Technology*, *36*(1), 49–54. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v36i1.18995>
- CDC. (2019). *Centers for Disease Control and Prevention - Diphyllbothrium - Biology*. Parasites - Diphyllbothrium Infection. [cdc.gov/parasites/diphyllbothrium/biology.html](http://cdc.gov/parasites/diphyllbothrium/biology.html)
- CDC. (2021a). *Centers for Disease Control and Prevention - DPDx - Heterophyiasis*. DPDx - Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern.  
<https://www.cdc.gov/dpdx/heterophyiasis/index.html>
- CDC. (2021b). *Centers for Disease Control and Prevention - Gnathostomiasis - Page 1*. Gnathostomosis [Gnathostoma Spinigerum, Gnathostoma Hispidum].  
[https://www.mcdinternational.org/trainings/malaria/english/DPDx5/HTML/Frames/G-L/Gnathostomiasis/body\\_Gnathostomiasis\\_page1](https://www.mcdinternational.org/trainings/malaria/english/DPDx5/HTML/Frames/G-L/Gnathostomiasis/body_Gnathostomiasis_page1)
- Celli, G. B., Ghanem, A., & Brooks, M. S. L. (2015). Bioactive Encapsulated Powders for Functional Foods—a Review of Methods and Current Limitations. *Food and Bioprocess Technology*, *8*(9), 1825–1837. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1559-z>
- Chai, J. Y., & Jung, B.-K. (2019). Specific excreted pathogens: environmental and epidemiology aspects *Paragonimus* spp. In J. Rose & B. Jiménez-Cisneros (Eds.), *Global Water Pathogens Project* (Vol. 3, Issue 1, pp. 1–50). UNESCO.
- Chai, J. Y. (2014). Helminth-Trematode: *Heterophyes heterophyes*. *Encyclopedia of Food Safety*, *2*, 158–163. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00156-6>
- Chai, J. Y., & Jung, B. K. (2017). Fishborne zoonotic heterophyid infections: An update. *Food and Waterborne Parasitology*, *8–9*(September), 33–63. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2017.09.001>
- Chai, J. Y., & Jung, B. K. (2020). Foodborne intestinal flukes: A brief review of epidemiology and geographical distribution. *Acta Tropica*, *201*(September 2019), 105210.

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105210>

- Chamizo-Checa, S., Otazo-Sánchez, E., Gordillo-Martínez, A., Suárez-Sánchez, J., González-Ramírez, C., & Muñoz-Nava, H. (2020). Megacitywastewater poured into a nearby basin: Looking for sustainable scenarios in a case study. *Water (Switzerland)*, *12*(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/w12030824>
- Cheng, Y., Zhao, J., Ayisi, C. L., & Cao, X. (2020). Effects of salinity and alkalinity on fatty acids, free amino acids and related substance anabolic metabolism of Nile tilapia. *Aquaculture and Fisheries*, *June*, 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2020.06.005>
- Chi, T. T., Dalsgaard, A., Turnbull, J., Tuan, P., & Murrell, D. (2008). Prevalence of zoonotic trematodes in fish from a vietnamese fish-farming community. *J. Parasitol.*, *94*(2), 423–428. <https://doi.org/10.1645/GE-1389.1>
- Chi, T. T., Murrell, K. D., Mausen, H., Khue, N. V., & Dalsgaard, A. (2009). Fishborne zoonotic trematodes in raw fish dishes served in restaurants in nam dinh province and hanoi, vietnam. *Journal of Food Protection*, *72*(11), 2394–2399. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.11.2394>
- Chibwana, F. D., Mshana, J. G., Katandukila, J. V., Box, P. O., & Box, P. O. (2020). A Survey of Fish Parasites from Pangani Catchment and Lake Kitangiri in Singida, Tanzania. *Tanzania Journal of Science*, *46*(1), 42–52.
- Ching, S. H., Bansal, N., & Bhandari, B. (2017). Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(6), 1133–1152. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.965773>
- Clément-Rigolet, M. C., Danis, M., & Caumes, E. (2004). La gnathostomose, une maladie exotique de plus en plus souvent importée dans les pays occidentaux. *La Presse Médicale*, *33*(21), 1527–1532. [https://doi.org/10.1016/s0755-4982\(04\)98978-6](https://doi.org/10.1016/s0755-4982(04)98978-6)
- Coates, J. (1971). Interpretation of infrared spectra of soil minerals. *Soil Science*, *112*(1), 22–31. <https://doi.org/10.1097/00010694-197107000-00005>
- Coleman, N. P., Crofcheck, C. L., Nokes, S. E., & Knutson, B. (2009). Effects of growth media ph and reaction wateractivity on the conversion of acetophenone to(s)-1-phenylethanol by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on celite 635 and in calcium alginate. *Transactions of the ASABE*, *52*(2), 665–671.
- Collie, N. L., & Ferraris, R. P. (1995). Nutrient fluxes and regulation in fish intestine. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, *4*(C), 221–239. [https://doi.org/10.1016/S1873-0140\(06\)80012-3](https://doi.org/10.1016/S1873-0140(06)80012-3)
- Comisión Nacional Forestal. (2014). *Inventario Estatal Forestal y de Suelos Hidalgo*. 1st Edición, Tlalpan, DF. ISBN 978-607-8383-00-9.

- CONABIO. (2014). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad-Ponderación de Invasividad de Especies Exóticas en México (SIEI). *Ponderación de Invasividad de Especies Exóticas En México (SIEI)*, 1–14.
- Cortés, D. A., Dolz, G., Zúñiga, J. J. R., Rocha, A. E. J., & Alán, D. L. (2010). *Centrocestus formosanus* (Opisthorchiida : Heterophyidae) como causa de muerte de alevines de tilapia gris *Oreochromis niloticus* (Perciforme : Cichlidae) en el Pacífico seco de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop. (Int.)*, *58*, 1453–1465. <https://doi.org/DOI.10.15517/RBT.V58I4.5423>
- Cuervas-Mons, J., Rodríguez-Rey, Á., Ordóñez-Casado, B., & Berrezueta, E. (2019). Análisis cuantitativo de parámetros de forma de partículas minerales 2D mediante técnicas digitales. *Computers and Geosciences*, *77*(1), 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.cageo.2015.01.005>
- Daemi, H., & Barikani, M. (2012). Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles. *Scientia Iranica*, *19*(6), 2023–2028. <https://doi.org/10.1016/j.scient.2012.10.005>
- Daneshvar, E., Ardestani, M. Y., Dorafshan, S., & Martins, M. L. (2012). Hematological parameters of Iranian cichlid *Iranocichla hormuzensis* - Coad, 1982 (Perciformes) in Mehran river. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, *84*(4), 943–949. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652012005000054>
- Dao, H. T. T., Dermauw, V., Gabriël, S., Suwannatrai, A., Tesana, S., Nguyen, G. T. T., & Dorny, P. (2017). *Opisthorchis viverrini* infection in the snail and fish intermediate hosts in Central Vietnam. *Acta Tropica*, *170*, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.02.028>
- Dauda, A. B., Ajadi, A., Tola-Fabunmi, A. S., & Akinwole, A. O. (2019). Waste production in aquaculture: Sources, components and managements in different culture systems. *Aquaculture and Fisheries*, *4*(3), 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.10.002>
- Daudpota, A. M., Abbas, G., Kalhor, I. B., Shah, S. S. A., Kalhor, H., Hafeez-Ur-Rehman, M., & Ghaffar, A. (2016). Performance, feed utilization and body composition of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Reared in Low Salinity Water. *Pakistan Journal of Zoology*, *48*(1), 171–177.
- Dávila-Camacho, C. A., Galaviz-Villa, I., Lango-Reynoso, F., Castañeda-Chávez, M. del R., Quiroga-Brahms, C., & Montoya-Mendoza, J. (2019). Cultivation of native fish in Mexico: cases of success. *Reviews in Aquaculture*, *11*(3), 816–829. <https://doi.org/10.1111/raq.12259>
- Díaz-Camacho, S. P., Willms, K., Ramos, M., Del Carmen de la Cruz Otero, M., Nawa, Y., & Akahane, H. (2002). Morphology of *Gnathostoma* spp. isolated from natural hosts in Sinaloa, Mexico. *Parasitology Research*, *88*(7), 639–645. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0636-1>

- Díaz, M. T., Hernandez, L. E., & Bashirullah, A. K. (2008). Studies on the life cycle of *Haplorchis pumilio* (Looss, 1896) (Trematoda: Heterophyidae) in Venezuela. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 18(1), 35–42.
- DOF. (1995). Diario Oficial de la Federación - Norma Oficial Mexicana NOM-046-ZOO-1995. *DOF*, 1–10. <http://www.senasica.gob.mx/?doc=530>
- DOF. (2007). Diario Oficial de la Federación - Ley General De Pesca Y Acuicultura SustentableS. In *Diario Oficial de la Federación* (pp. 1–59).
- DOF. (2009a). Diario Oficial de la Federación - NORMA Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. *Norma Oficial Mexicana*.
- DOF. (2009b). Diario Oficial de la Federación - NORMA Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. *DOF*, 33. <http://www.cofepris.gob.mx/Paginas/Inicio.aspx>
- DOF. (2018). Diario Oficial de la Federación - *ACUERDO mediante el cual se dan a conocer en los Estados Unidos Mexicanos las enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatoria de los animales terrestres y acuáticos*. Secretaria de Gobernación. [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5590745&fecha=30/03/2020](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5590745&fecha=30/03/2020)
- Domínguez-May, R., Poot-López, G. R., Hernández, J., & Gasca-Leyva, E. (2020). Dynamic optimal ration size in tilapia culture: Economic and environmental considerations. *Ecological Modelling*, 420(July 2019), 108930. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.108930>
- Dong, Z., Wang, Q., & Du, Y. (2006). Alginate/gelatin blend films and their properties for drug controlled release. *Journal of Membrane Science*, 280(1–2), 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.01.002>
- Duarte, F. O. S., de Paula, F. G., Prado, C. S., dos Santos, R. R., Minafra-Rezende, C. S., Gebara, C., & Lage, M. E. (2021). Better fatty acids profile in fillets of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) supplemented with fish oil. *Aquaculture*, 534, 736241. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736241>
- Dunn, E. J., Polk, A., Scarrett, D. J., Olivier, G., Lall, S., & Goosen, M. F. A. (1990). Vaccines in aquaculture: The search for an efficient delivery system. *Aquacultural Engineering*, 9(1), 23–32. [https://doi.org/10.1016/0144-8609\(90\)90009-O](https://doi.org/10.1016/0144-8609(90)90009-O)
- Dzikowski, R., Diamant, A., & Paperna, I. (2003). Trematode metacercariae of fishes as sentinels for a changing limnological environment. *Diseases of Aquatic Organisms*, 55(2), 145–150. <https://doi.org/10.3354/dao055145>

- Echi, P. C., Eyo, J. E., & Okafor, F. C. (2009a). Co-Parasitism And Morphometrics Of Three Clinostomatids (Digenea: Clinostomatidae) In *Sarotherodon melanotheron* From A Tropical Freshwater Lake. *Animal Research International*, 6(2), 982–986. <https://doi.org/10.4314/ari.v6i2.48129>
- Echi, P., Okafor, F., & Eyo, J. (2009b). Co-infection and morphometrics of three clinostomatids (Digenea: Clinostomatidae) in *Tilapia guineensis* Bleeker, 1862 from Opi lake, Nigeria. *Bio-Research*, 7(1), 432–436. <https://doi.org/10.4314/br.v7i1.45467>
- El-Banna, S. A., Zaghlol, N. F., & Saad, T. T. (2008). The Effect of Praziquantel on Selected Haematological and Biochemical Indices in Nile Tilapia. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*, 3(2).
- El-Sayed, A.-F. M. (2020). Taxonomy and basic biology. *Tilapia Culture*, 21–31. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816509-6.00002-1>
- El-Sayed, A. F. M., El-Ghobashy, A. E., & El-Mezayen, M. M. (2013). Effect of feed colour on growth and feed utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae and fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 19(6), 870–876. <https://doi.org/10.1111/anu.12031>
- Ellison, A. R., Uren Webster, T. M., Rey, O., Garcia De Leaniz, C., Consuegra, S., Orozco-Terwengel, P., & Cable, J. (2018). Transcriptomic response to parasite infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) depends on rearing density. *BMC Genomics*, 19(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5098-7>
- Elsheikha, H. M., & Elshazly, A. M. (2008a). Host-dependent variations in the seasonal prevalence and intensity of heterophyid encysted metacercariae (Digenea: Heterophyidea) in brackish water fish in Egypt. *Veterinary Parasitology*, 153(1–2), 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.026>
- Elsheikha, H. M., & Elshazly, A. M. (2008b). Preliminary observations on infection of brackish and fresh water fish by heterophyid encysted metacercariae in Egypt. *Parasitol Res*, 103, 971–977. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1043-z>
- Espinosa-Lemus, V., Arredondo-Figueroa, J. L., & Barriga-Sosa, I. D. L. A. (2009). Morphometric and genetic characterization of tilapia (Cichlidae: Tilapiini) stocks for effective fisheries management in two mexican reservoirs. *Hidrobiologica*, 19(2), 95–107.
- Fadlan, A., Fedika, F., Harmami, H., Ulfen, I., & Lailun, Y. (2020). Preparation and performance evaluation of water-soluble chitosan-alginate capsules. *3rd International Seminar on Chemical Education*, 030020(April), 1–7. <https://doi.org/https://doi.org/10.1063/5.0002687>
- Fajer-Ávila, E. J., Medina-Guerrero, R. M., & Morales-Serna, F. N. (2017). Strategies for prevention and control of parasite diseases in cultured tilapia. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 3(2), 25–31.
- Falaye, A. E., & Jauncey, K. (1999). Acceptability and digestibility by tilapia *Oreochromis niloticus* of feeds

- containing cocoa husk. *Aquaculture Nutrition*, 5(3), 157–161. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.1999.00088.x>
- Fang, L., Xiao-Hong, L., Hai-Long, G., Chong-You, X., Rui-Yu, C., Zuo-Can, H., Yao-Guang, Z., & Zhi-Jian, W. (2018). The discovery of *Clinostomum complanatum* metacercariae in farmed Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Aquaculture*, 495(2017), 273–280. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.052>
- FAO. (2019). World Food and Agriculture - Statistical Pocketbook 2019. In *World Food and Agriculture - Statistical Pocketbook 2018*. <https://doi.org/10.4060/ca1796en>
- Farías-Campomanes, A. M., Horita, C. N., Pollonio, M. A. R., & Meireles, M. A. A. (2014). Allicin-Rich Extract Obtained from Garlic by Pressurized Liquid Extraction: Quantitative Determination of Allicin in Garlic Samples. *Food and Public Health*, 4(6), 272–278. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20140406.03>
- Fasoyiro, S. B. (2014). Physical, Chemical and Sensory Qualities of Roselle Water Extract-coagulated Tofu Compared with Tofu from Two Natural Coagulants. *Nigerian Food Journal*, 32(2), 97–102. [https://doi.org/10.1016/s0189-7241\(15\)30123-5](https://doi.org/10.1016/s0189-7241(15)30123-5)
- Fatel, C. E., Rosa, T. F., Alfieri, F. D., Flauzino, T., Scavuzzi, M. B., Lozovoy, A. M., Iriyoda, M. T., Simao, N. A., & Dichi, I. (2021). Beneficial effects of fish oil and cranberry juice on disease activity and inflammatory biomarkers in patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition*, 111183(January). <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111183>
- Fayer, R. (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology*, 124(1), 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.005>
- Fazio, F., Marafioti, S., Arfuso, F., Piccione, G., & Faggio, C. (2013). Comparative study of the biochemical and haematological parameters of four wild Tyrrhenian fish species. *Veterinarni Medicina*, 58(11), 576–581. <https://doi.org/10.17221/7139-VETMED>
- Fazio, Francesco. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture*, 500, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>
- Figuroa-López, K. J., Vargas, O. L. T., Prías-Barragán, J. J., & Ariza-Calderón, H. (2014). Caracterización óptica y estructural de nanopartículas de *Allium sativum* L. impregnadas en lomo de bovino. *Acta Agronomica*, 64(1). <https://doi.org/10.15446/acag.v64n1.43651>
- Fitzsimmons, K. (2000). Tilapia aquaculture in Mexico. *Tilapia Aquaculture in the Americas*, 2(1), 171–183. <http://cals.arizona.edu/azaqua/ista/reports/FitzsimMexico.pdf>
- Fleming, P. B., Huffman, D. G., Bonner, T. H., & Brandt, T. M. (2011). Metacercarial distribution of

- Centrocestus formosanus* among fish hosts in the Guadalupe river drainage of Texas. *Journal of Aquatic Animal Health*, 23(3), 117–124. <https://doi.org/10.1080/08997659.2011.616840>
- Franssen, F., Gerard, C., Cozma-Petruț, A., Vieira-Pinto, M., Režek, A., Rowan, N., Paulsen, P., Rozycki, M., Tysnes, K., Rodríguez-Lazaro, D., & Robertson, L. (2019). Trends in Food Science & Technology Inactivation of parasite transmission stages : Efficacy of treatments on food of animal origin. *Trends in Food Science & Technology*, 83(March 2018), 114–128. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.009>
- Fujii, R., Yamada, H., Munetsuna, E., Yamazaki, M., Mizuno, G., Ando, Y., Maeda, K., Tsuboi, Y., Ohashi, K., Ishikawa, H., Hagiwara, C., Wakai, K., Hashimoto, S., Hamajima, N., & Suzuki, K. (2021). Dietary fish and  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids are associated with leukocyte ABCA1 DNA methylation levels. *Nutrition*, 81, 110951. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110951>
- Fulton, A. S., Baldock, K. L., Coates, A. M., Williams, M. T., Howe, P. R. C., Haren, M. T., Garg, M. L., & Hill, A. M. (2019). Polyunsaturated fatty acid intake and lung function in a regional Australian population: A cross-sectional study with a nested case-control analysis. *Journal of Nutrition and Intermediary Metabolism*, 18, 100102. <https://doi.org/10.1016/j.jnim.2019.100102>
- Galeana-López, J. A., Hernández, C., Leyva-López, N., Lizárraga-Velázquez, C. E., Sánchez-Gutiérrez, E. Y., & Basilio Heredia, J. (2020). Corn husk extracts as an antioxidant additive in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings: Effect on growth performance, feed intake and toxicity//Extractos de hoja de mazorca de maíz como aditivo antioxidante en dietas para juveniles de. *Biotecnia*, 22(2), 147–154. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i2.1256>
- García-Magaña, L., Rodríguez-Santiago, M. A., Grano-Maldonado, M. I., Jiménez-Vasconcelos, L., & Guerra-Santos, J. (2019). The effectiveness of sodium chloride and formalin in trichodiniasis of farmed freshwater tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in southeastern Mexico. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47(1), 164–174. <https://doi.org/10.3856/vol47-issue1-fulltext-18>
- Garrido-Olvera, L., García-Prieto, L., & De León, G. P. P. (2006). Checklist of the adult nematode parasites of fishes in freshwater localities from Mexico. *Zootaxa*, 1201, 1–45. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1201.1.1>
- Gbadamosi, O. K., & Lupatsch, I. (2018). Effects of dietary *Nannochloropsis salina* on the nutritional performance and fatty acid profile of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Algal Research*, 33(April), 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.04.030>
- Germain, E., Auger, J., Ginies, C., & Siess, M. (2002). In vivo metabolism of diallyl disulphide in the rat:

- identification of two new metabolites. *Xenobiotica*, 32(12), 1127–1138.  
<https://doi.org/10.1080/0049825021000017902>
- Ghamkhar, R., Boxman, S. E., Main, K. L., Zhang, Q., Trotz, M. A., & Hicks, A. (2021). Life cycle assessment of aquaculture systems: Does burden shifting occur with an increase in production intensity? *Aquacultural Engineering*, 92, 102130. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102130>
- Ghoneim, N. H., Abdel-Moein, K. A., & Saeed, H. (2012). Fish as a possible reservoir for zoonotic *Giardia duodenalis* assemblages. *Parasitology Research*, 110(6), 2193–2196.  
<https://doi.org/10.1007/s00436-011-2748-y>
- Giarratana, F., Muscolino, D., Panebianco, F., Patania, A., Benianti, C., Ziino, G., & Giuffrida, A. (2015). Activity of R(+) limonene against *Anisakis* larvae. *Italian Journal of Food Safety*, 4(4), 209–211.  
<https://doi.org/10.4081/ijfs.2015.5499>
- Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I., & Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50(3), 213–224.  
<https://doi.org/10.1080/096374899101256>
- Gjedrem, T., Robinson, N., & Rye, M. (2012). The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: A review. *Aquaculture*, 350–353, 117–129.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.008>
- González-Razo, F. D. J., Sangerman-Jarquín, D. M., Omaña Silvestre, J. M., Rebollar Rebollar, S., Hernández Martínez, J., & Ayllón Benítez, J. C. (2017). La comercialización de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en el sur del Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(8), 1985.  
<https://doi.org/10.29312/remexca.v7i8.131>
- Gruhlke, M. C. H., Antelmann, H., Bernhardt, J., Kloubert, V., Rink, L., & Slusarenko, A. J. (2019). The human allicin-proteome: S-thioallylation of proteins by the garlic defence substance allicin and its biological effects. *Free Radical Biology and Medicine*, 131, 144–153.  
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.11.022>
- Gu, D. E., Yu, F. D., Yang, Y. X., Xu, M., Wei, H., Luo, D., Mu, X. D., & Hu, Y. C. (2019). Tilapia fisheries in Guangdong Province, China: Socio-economic benefits, and threats on native ecosystems and economics. *Fisheries Management and Ecology*, 26(2), 97–107. <https://doi.org/10.1111/fme.12330>
- Gulelat, Y., Yimer, E., Asmare, K., & Bekele, J. (2013). Study on parasitic helminths infecting three fish species from Koka reservoir, Ethiopia. *SINET: Ethiopian Journal of Science*, 36(2), 73–80–80.
- Gutiérrez-Jiménez, J., Luna-Cazáres, L. M., & Vidal, J. E. (2019). Malnutrition and intestinal parasites: Mexico perspectives. In *Handbook of Famine, Starvation, and Nutrient Deprivation: From Biology to*

- Policy* (pp. 2277–2294). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-55387-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-55387-0_7)
- Han, J. H., An, S. L., & An, K. G. (2019). Application of different fish sampling gear in Korean reservoirs and the analysis of sampling efficiencies. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, *12*(4), 528–540. <https://doi.org/10.1016/j.japb.2019.10.002>
- Han, Z., Zhou, Y., Zhang, X., Yan, J., Xiao, J., Luo, Y., Zheng, H., & Zhong, H. (2020). Ghrelin modulates the immune response and increases resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in hybrid tilapia. *Fish and Shellfish Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.006>
- Hao, S., Li, L., Yang, X., Cen, J., Shi, H., Bo, Q., & He, J. (2009). The characteristics of gelatin extracted from sturgeon (*Acipenser baeri*) skin using various pretreatments. *Food Chemistry*, *115*(1), 124–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.080>
- Hartig, S. M. (2013). Basic image analysis and manipulation in imageJ. *Current Protocols in Molecular Biology*, *SUPPL.102*, 1–12. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1415s102>
- Hegazi, M. A., & Abo-elkheir, O. I. (2014). Encysted Metacercariae of Family Heterophyidae in Infected Fish in Dakahlia Governorate, an Endemic Focus in Egypt. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, *12*, 13. <https://doi.org/10.12816/0007859>
- Herman, J. S. (2009). Gnathostomiasis Acquired by British Tourists in Botswana. *Emerging Infectious Diseases*, *15*(4), 594–597. <https://doi.org/10.3201/eid1504.081646>
- Hop, N. T., De, N. Van, Murrell, D., & Dalsgaard, A. (2007). Occurrence and species distribution of fishborne zoonotic trematodes in wastewater-fed aquaculture in northern Vietnam. *Tropical Medicine and International Health*, *12*(SUPPL. 2), 66–72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2007.01943.x>
- Huang, S., & He, Y. (2019). Management of China's capture fisheries: Review and prospect. *Aquaculture and Fisheries*, *4*(5), 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.05.004>
- Huerta-Mata, J. J., & Valenzuela-Oyadener, L. (2019). Perspective of the Aquaculture in Chile and Mexico, productive articulation approach and business networks for international development (p. 25). SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3489166>. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3489166>
- Hung, N. M., Dung, D. T., Lan Anh, N. T., Van, P. T., Thanh, B. N., Van Ha, N., Van Hien, H., & Canh, L. X. (2015). Current status of fish-borne zoonotic trematode infections in Gia Vien district, Ninh Binh province, Vietnam. *Parasites and Vectors*, *8*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0643-6>
- Hung, N. M., Madsen, H., & Fried, B. (2013). Global status of fish-borne zoonotic trematodiasis in humans. *Acta Parasitologica*, *58*(3), 231–258. <https://doi.org/10.2478/s11686-013-0155-5>

- Hussain, F., Shahid, M., Zulfiqar, S., & Hafeez, J. (2021). Probing the comparative bioefficacy of *Allium sativum* L. Bulb through different solvents. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 65(4), 469–479. <https://doi.org/10.29356/JMCS.V65I4.1532>
- Ibrahim, M. M., & Soliman, M. F. M. (2010). Prevalence and site preferences of heterophyid metacercariae in *Tilapia zilli* from Ismalia fresh water canal, Egypt. *Parasite*, 17, 233–239. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2010173233> Prevalence
- INEGI. (2017). El Instituto Nacional de Estadística y Geografía - Anuario estadístico y geográfico de Hidalgo 2017. In *Anuario estadístico y geográfico de Hidalgo 2017*. <http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/hgo/>
- Inglis, V. (2000). Antibacterial chemotherapy in aquaculture: review of practice, associated risks and need for action. (pp. 7–22). <http://repository.seafdec.org.ph/handle/10862/611>
- Jambhekar, S. S., & Breen, P. J. (2013). Drug dissolution: Significance of physicochemical properties and physiological conditions. *Drug Discovery Today*, 18(23–24), 1173–1184. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.08.013>
- Job, S. V. (1969). The respiratory metabolism of *Tilapia mossambica* (Teleostei) - II. The effect of size, temperature, salinity and partial pressure of oxygen. *Marine Biology*, 3(3), 222–226. <https://doi.org/10.1007/BF00360954>
- Jones, S. R. M. (2015). Transmission dynamics of foodborne parasites in fish and shellfish. In *Foodborne Parasites in the Food Supply Web: Occurrence and Control*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-332-4.00012-6>
- Julinta, R. B., Roy, A., Singha, J., Abraham, T. J., & Patil, P. K. (2017). Evaluation of Efficacy of Oxytetracycline Oral and Bath Therapies in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* against *Aeromonas hydrophila* Infection. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(7), 62–76. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.008>
- Justine, J. Lou, Briand, M. J., & Bray, R. A. (2012). A quick and simple method, usable in the field, for collecting parasites in suitable condition for both morphological and molecular studies. *Parasitology Research*, 111(1), 341–351. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2845-6>
- Kairam, N., Kandi, S., Choudhary, A., & Sharma, M. (2020). Development of flaxseed and garlic oil hydrogel beads by novel ionotropic gelation method. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14821>
- Kaleem, O., & Bio Singou Sabi, A. F. (2020). Overview of aquaculture systems in Egypt and Nigeria, prospects, potentials, and constraints. *Aquaculture and Fisheries*, 4(April), 1–13.

<https://doi.org/10.1016/j.aaf.2020.07.017>

- Kang, L., Hedegaard Clausen, J., Murrell, D., Liu, L., & Dalsgaard, A. (2013). Risks for fishborne zoonotic trematodes in Tilapia production systems in Guangdong province, China. *Veterinary Parasitology*, *198*(1–2), 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.011>
- Kapel, C., Allan, R., & Thamsborg, S. (2009). Patent Application Publication ( 10 ) Pub . No .: US 2009 / 0098423 A1 (Patent No. US 2009/0074818 A1). In *Patent Application Publication (US 2009/0074818 A1)*.
- Kapoor, B. G., Smit, H., & Verighina, I. A. (1976). The Alimentary Canal and Digestion in Teleosts. *Advances in Marine Biology*, *13*(C), 109–239. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(08\)60281-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(08)60281-3)
- Kasuya, S., Goto, C., & Ohtomo, H. (1988). Studies on Prophylaxis Against Anisakiasis-A Screening of Killing Effects of Extracts from Foods on the Larvae. *The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases*, *62*(12), 1152–1156. <https://doi.org/https://doi.org/10.11150/kansenshogakuzasshi1970.62.1152>
- Kemper, C. E.-S. R. E. H. (1991). Metabolism of Garlic Constituents in the Isolated Perfused Rat Liver. *Planta Med*, *4*, 301–305.
- Kenawy, E. R., Azaam, M. M., & El-nshar, E. M. (2019). Sodium alginate-g-poly(acrylic acid-co-2-hydroxyethyl methacrylate)/montmorillonite superabsorbent composite: Preparation, swelling investigation and its application as a slow-release fertilizer. *Arabian Journal of Chemistry*, *12*(6), 847–856. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.10.013>
- Khalid, N., Ahmed, I., Latif, M. S. Z., Rafique, T., & Fawad, S. A. (2014). Comparison of antimicrobial activity, phytochemical profile and minerals composition of garlic *Allium sativum* and *Allium tuberosum*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, *57*(3), 311–317. <https://doi.org/10.1007/s13765-014-4021-4>
- Khan, M. S., Qureshi, N. A., Jabeen, F., & Shakeel, M. (2016). Analysis of minerals profile, phenolic compounds and potential of Garlic (*Allium sativum*) as antioxidant scavenging the free radicals. *International Journal of Biosciences (IJB)*, *8*(4), 72–82. <https://doi.org/10.12692/ijb/8.4.72-82>
- Kilpatrick, A. M., & Randolph, S. E. (2012). Drivers, dynamics, and control of emerging vector-borne zoonotic diseases. *The Lancet*, *380*(9857), 1946–1955. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61151-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61151-9)
- Kim, G.-H., Duan, Y., Lee, S.-C., & Kim, H.-S. (2016). Assessment of Antioxidant Activity of Garlic (*Allium sativum* L.) Peels by Various Extraction Solvents. *Journal of the Korean Oil Chemists' Society*, *33*(1), 204–212. <https://doi.org/10.12925/jkocs.2016.33.1.204>

- Kim, H. (2021). Schematic crosslinking of the alginates and calcium cations in egg-box. *Research Gate*, 3(2), 1-65. DOI:10.18204/JISSIS.2016.3.2.080
- Kinalski, T., & Noreña, C. P. Z. (2019). Effect of spray drying encapsulation of garlic extract on inulin and thiosulfates contents. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 2438–2447. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00164-x>
- Koinari, M., Karl, S., Ng-Hublin, J., Lymbery, A. J., & Ryan, U. M. (2013). Identification of novel and zoonotic *Cryptosporidium* species in fish from Papua New Guinea. *Veterinary Parasitology*, 198(1–2), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.031>
- Kolia, W. S. K., Sunarto, & Widiyani, T. (2021). The infection of ectoparasitic protozoa on farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at three reservoirs in Central Java, Indonesia. *Biodiversitas*, 22(4), 1975–1980. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220445>
- Krstin, S., Sobeh, M., Braun, M., & Wink, M. (2018). Anti-Parasitic Activities of *Allium sativum* and *Allium cepa* against *Trypanosoma b. brucei* and *Leishmania tarentolae*. *Medicines*, 5(2), 37. <https://doi.org/10.3390/medicines5020037>
- Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Prediction interval analysis is underutilized and can be more helpful than just confidence interval analysis. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, 23(3), 181–183. <https://doi.org/10.1007/s10877-009-9165-0>
- Lango-Reynoso, V. (2011). Caracterización del sistema de abasto al menudeo de tilapia viva (*Oreochromis* spp.) en la región de Sotaventodel Estado de Veracruz, México. *Research Gate*, 2011(12), 1-129. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.28520.67844>
- Leite, T. C., Picoli, F., Lopes, D. de A., Baldissera, M. D., Souza, C. F., Baldisserotto, B., Costa, A. P. O., Nora, L., Marcelino, A. H., & Da Silva, A. S. (2021). The effects of açai oil addition in tilapia diets on performance, hepatic energy metabolism enzymes and antioxidant responses. *Aquaculture Research*, 52(1), 395–402. <https://doi.org/10.1111/are.14902>
- León-Règagnon, V., Osorio-Sarabia, D., García-Prieto, L., Lamothe-Argumedo, R., Bertoni-Ruiz, F., & Ocegüera-Figueroa, A. (2005). New host records of the nematode *Gnathostoma* sp. in Mexico. *Parasitology International*, 54(1), 51–53. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2004.10.001>
- Leroy, J., Cornu, M., Deleplancque, A. S., Loidant, S., Dutoit, E., & Sendid, B. (2017). Sushi, ceviche and gnathostomiasis - A case report and review of imported infections. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 20, 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2017.10.010>
- Lieke, T., Meinelt, T., Hoseinifar, S. H., Pan, B., & Straus, D. L. (2019). Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. *Reviews in Aquaculture*, 1–23.

<https://doi.org/10.1111/raq.12365>

- Lieschke, G., & Trede, N. (2022). Fish immunology. *Aquaculture Pathophysiology: Finfish Diseases: Volume I*, 1(16), 95–119. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812211-2.00006-8>
- Lima dos Santos, C. A. M., & Howgate, P. (2011). Fishborne zoonotic parasites and aquaculture: A review. *Aquaculture*, 318(3–4), 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.046>
- Ljubojevic, D., Novakov, N., Djordjevic, V., & Radosavljevic, V. (2015). Potential parasitic hazards for humans in fish meat. *Italian Oral Surgery*, 5, 172–175. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.049>
- Lobna, S. M. A., Metawea, Y. F., & Elsheikha, H. M. (2010). Prevalence of heterophyiosis in Tilapia fish and humans in Northern Egypt. *Parasitology Research*, 107(4), 1029–1034. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1976-x>
- Ly, H. B., Ma, Y. ying, Hu, C. T., Lin, Q. Y., Yue, J. jia yu, Chen, L. Q., Zhang, M. L., Du, Z. Y., & Qiao, F. (2021). The individual and combined effects of hypoxia and high-fat diet feeding on nutrient composition and flesh quality in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chemistry*, 343(May), 128479. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128479>
- Machado-Pinto, J., & Laborne, L. (2016). Cestodes. In O. Lupi & H. Ulrich (Eds.), *Tropical Dermatology: Second Edition* (2nd ed., pp. 79–81). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-29634-2.00009-2>
- Macpherson, C. N. L. (2005). Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology*, 35(11–12), 1319–1331. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.06.004>
- Madsen, H., Dung, B. T., The, D. T., Viet, N. K., Dalsgaard, A., & Van, P. T. (2015). The role of rice fields, fish ponds and water canals for transmission of fish-borne zoonotic trematodes in aquaculture ponds in Nam Dinh Province, Vietnam. *Parasites and Vectors*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1237-z>
- Mahmoud, M. A., Abdelsalam, M., Mahdy, O. A., El Miniawy, H. M. F., Ahmed, Z. A. M., Osman, A. H., Mohamed, H. M. H., Khattab, A. M., & Zaki Ewiss, M. A. (2016). Infectious bacterial pathogens, parasites and pathological correlations of sewage pollution as an important threat to farmed fishes in Egypt. *Environmental Pollution*, 219, 939–948. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.044>
- Makori, A. J., Abuom, P. O., Kapiyo, R., Anyona, D. N., & Dida, G. O. (2017). Effects of water physico-chemical parameters on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth in earthen ponds in Teso North Sub-County, Busia County. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s41240-017-0075-7>

- Manbe, M. Y., Kabir, A., Muaz, U., & Hussaini, K. (2020). Prevalence of protozoan parasites in some freshwater fishes of Dangana Lake Lapai , Niger State Nigeria. *International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry*, *5*(2), 13–16.
- Marinho, R. G. B., Tavares-Dias, M., Dias-Grigório, M. K. R., Neves, L. R., Yoshioka, E. T. O., Boijink, C. L., & Takemoto, R. M. (2013). Helminthes and protozoan of farmed pirarucu (*Arapaima gigas*) in eastern amazon and host-parasite relationship. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, *65*(4), 1192–1202. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000400035>
- Marques, B. J. F., & Cabral, H. N. (2007). Effects of sample size on fish parasite prevalence , mean abundance and mean intensity estimates. *J. Appl. Ichthyol.*, *23*, 158–162. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00823.x>
- Martínez-Cordero, F. J., Delgadillo-Tiburcio, S., Sánchez-Zazueta, E., & Cai, J. (2021). Tilapia Aquaculture in Mexico - Assessment with a focus on social and economic performance. In *FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS Rome, 2021* (Issue February). <https://doi.org/10.4060/cb3290en>
- Martínez-Cruz, J. M., Bravo Zamudio, R., Aranda Patraca, A., & Martínez Marañón, R. (1989). La gnatostomiasis en México. *Salud Pública de México*, *31*(4), 541–549.
- McCarthy, J., & Moore, T. A. (2000). Emerging helminth zoonoses. *International Journal for Parasitology*, *30*(12–13), 1351–1359. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00122-3](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00122-3)
- Milanez, G. D., Masangkay, F. R., Thomas, R. C., Ordon, M. O. G. O., Bernales, G. Q., Corpuz, V. C. M., Fortes, H. S. V., Garcia, C. M. S., Nicolas, L. C., & Nissapatorn, V. (2017). Molecular identification of *Vermamoeba vermiformis* from freshwater fish in lake Taal, Philippines. *Experimental Parasitology*, *183*, 201–206. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.09.009>
- Millet, C. O. M., Lloyd, D., Williams, C., Williams, D., Evans, G., Saunders, R. A., & Cable, J. (2011). Effect of garlic and allium-derived products on the growth and metabolism of *Spironucleus vortens*. *Experimental Parasitology*, *127*(2), 490–499. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.10.001>
- Mills, J. N., Gage, K. L., & Khan, A. S. (2010). Potential influence of climate change on vector-borne and zoonotic diseases: A review and proposed research plan. *Environmental Health Perspectives*, *118*(11), 1507–1514. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901389>
- Miron, T., Shin, I., Feigenblat, G., Weiner, L., Mirelman, D., Wilchek, M., & Rabinkov, A. (2002). A spectrophotometric assay for allicin, alliin, and alliinase (alliin lyase) with a chromogenic thiol: Reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfates. *Analytical Biochemistry*, *307*(1), 76–83. [https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(02\)00010-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(02)00010-6)

- Mitiku, M. A., Konecny, R., & Haile, A. L. (2018). Parasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from selected fish farms and Lake Koftuin central Ethiopia. *Ethiopian Veterinary Journal*, 22(2), 65. <https://doi.org/10.4314/evj.v22i2.6>
- Mjakakhamis, H., & Sagweorina, P. (2017). Prevalence and Diversity of Internal Cestode Parasites Infected Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African Catfish (*Clarias gariepinus*) in Farmers Fresh Water Ponds in Kenya. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, 123–137.
- Molnár, K., Buchmann, K., & Székely, C. (2006). Phylum Nematoda. In *Fish Diseases and Disorders* (Fourth Edi, Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199606023.003.0049>
- Monks, S., Zárate-Ramírez, V. R., & Pulido-Flores, G. (2005). Helminths of freshwater fishes from the Metztitlán canyon reserve of the biosphere, Hidalgo, Mexico. *Comparative Parasitology*, 72(2), 212–219. <https://doi.org/10.1654/4139>
- Morais, C. A. R. S., Santana, T. P., Santos, C. A., Passetti, R. A. C., Melo, J. F. B., de Assis Fonseca de Macedo, F., Vieira, J. S., Teixeira, A. J. C., & Del Vesco, A. P. (2020). Effect of slaughter weight on the quality of Nile tilapia filets. *Aquaculture*, 520(January), 734941. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734941>
- Morales-Martínez, Y., López-Cuellar, M. del R., Chavarría-Hernández, N., & Rodríguez-Hernández, A. I. (2018). Rheological behaviour of acetylated pectins from cactus pear fruits (*Opuntia albicarpa* and *O. matudae*). *Food Hydrocolloids*, 85, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.009>
- Morales-Serna, F. N., Medina-Guerrero, R. M., Pimentel-Acosta, C., Ramírez-Tirado, J. H., & Fajer-Ávila, E. J. (2018a). Parasite infections in farmed Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* in Sinaloa, Mexico. *Comparative Parasitology*, 85(2), 212–216. <https://doi.org/10.1654/1525-2647-85.2.212>
- Morales-Serna, F. N., Chapa-López, M., Martínez-Brown, J. M., Ibarra-Castro, L., Medina-Guerrero, R. M., & Fajer-Ávila, E. J. (2018b). Efficacy of praziquantel and a combination anthelmintic (Adecto®) in bath treatments against *Tagia ecuadori* and *Neobenedenia melleni* (Monogenea), parasites of bullseye puffer fish. *Aquaculture*, 492(November 2017), 361–368. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.043>
- Morck, H. (2015). The use of garlic in aquaculture. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 133(36), 21.
- Moreno, C. (2001). Métodos para medir la biodiversidad. In *MyT* (Vol. 1, Issue X).
- Morris, T. C., van der Ploeg, J., Bih Awa, S., van der Lingen, C. D., & Reed, C. C. (2019). Parasite community structure as a predictor of host population structure: An example using *Callorhinchus*

- capensis*. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 8(March), 248–255.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.03.007>
- Mosqueda-Cabrera, M. Á., Miranda, E. S., Calderón, L. C., & Ortiz Nájera, H. E. (2009). Finding advanced third-stage larvae of *Gnathostoma turgidum* Stossich, 1902 in Mexico from natural and experimental host and contributions to the life cycle description. *Parasitology Research*, 104(5), 1219–1225. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1318-4>
- Motamedi, M., Iranmanesh, A., Teimori, A., Sadjjadi, S. M., & Nasibi, S. (2019). Detection of *Contraecaecum multipapillatum* (Nematoda: Anisakidae) in the indigenous killifish *Aphanius hormuzensis* (Teleostei; Aphaniidae) and its histopathological effects: A review of Iranian *Aphanius* species parasites. *Journal of Applied Ichthyology*, 35(2), 558–569.  
<https://doi.org/10.1111/jai.13848>
- Munguti, J. M., Nairuti, R., Iteba, J. O., Obiero, K. O., Kyule, D., Opiyo, M. A., Abwao, J., Kirimi, J. G., Outa, N., Muthoka, M., Githukia, C. M., & Ogello, E. O. (2022). Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) culture in Kenya: Emerging production technologies and socio-economic impacts on local livelihoods. *Aquaculture, Fish and Fisheries*, 2(4), 265–276.  
<https://doi.org/10.1002/aff2.58>
- Mutengu, C., Mhlanga, W., & Mupangwa, J. F. (2018). Occurrence of *Clinostomum* metacercariae in *Oreochromis mossambicus* from Mashoko Dam, Masvingo Province, Zimbabwe. *Scientifica*, 2018.  
<https://doi.org/10.1155/2018/9565049>
- Muthiah, M. (2014). Seeds and Live Fishes To and From Watershed Ponds. In N. Sangeeta & K. Nirmal (Eds.), *Fisheries* (1st ed., Issue June, p. 12). Allied Printers.
- Nadler, S. A., D'Amelio, S., Dailey, M. D., Paggi, L., Siu, S., & Sakanari, J. A. (2005). Molecular phylogenetics and diagnosis of *Anisakis pseudoterranova* and *Contraecaecum* from northern pacific marine mammals. *Journal of Parasitology*, 91(6), 1413–1429. <https://doi.org/10.1645/GE-522R.1>
- Naegel, L. C. A. (1990). A review of public health problems associated with the integration of animal husbandry and aquaculture, with emphasis on Southeast Asia. *Biological Wastes*, 31(1), 69–83.  
[https://doi.org/10.1016/0269-7483\(90\)90044-S](https://doi.org/10.1016/0269-7483(90)90044-S)
- Ndao, M. (2009). Diagnosis of Parasitic Diseases: Old and New Approaches. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2009, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2009/278246>
- Nedovi, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1816–1820.  
<https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.266>

- Negrete, L., & Damborenea, C. (2017). CAPÍTULO 2 Phylum Platyhelminthes. In F. Drago (Ed.), *Macroparásitos Diversidad y biología* (1st ed., Issue September, p. 35).
- Nikoo, M., Xu, X., Benjakul, S., Xu, G., Ramirez-Suarez, J. C., Ehsani, a, Kasankala, L. M., Duan, X., & Abbas, S. (2011). Characterization of gelatin from the skin of farmed *Amur sturgeon; Acipenser schrenckii*. *International Aquatic Research*, 3(2), 135–145.
- Njiru, M. (1998). Feeding ecology and population characteristics of *Oreochromis niloticus* ( L .) and trophic interactions in the fish community of Nyanza Gulf , Lake Victoria , Kenya. *AquaDocs*, 1(1881), 68–72.
- OECD. (2019). Organisation for Economic Co-operation and Development Territorial - *Reviews\_ Hidalgo, Mexico - en - OECD*. 03 de Mayo de 2019. <https://www.oecd.org/mexico/oecd-territorial-reviews-hidalgo-mexico-9789264310391-en.htm>
- Ogata, K., Nawa, Y., Akahane, H., Paz, S., Camacho, D., Lamothe-argumedo, R., & Cruz-reyes, A. (1998). Short report : gnathostomiasis in Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 58(3), 316–318. <https://doi.org/DOI:10.4269/ajtmh.1998.58.316>
- Ogunji, J. O., & Wirth, M. (2001). Alternative protein sources as substitutes for fishmeal in the diet of young Tilapia *Oreochromis niloticus* (Linn.). *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 53(1), 34–43. <https://doi.org/10.46989/001c.20292>
- Ojwala, R. A., Otachi, E. O., & Kitaka, N. K. (2018). Effect of water quality on the parasite assemblages infecting Nile tilapia in selected fish farms in Nakuru County, Kenya. *Parasitology Research*, 117(11), 3459–3471. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6042-0>
- Okoroafor, R. C., Oladele, O. O., & Olufemi, B. E. (2017). Pharmacokinetics of ciprofloxacin in bath medicated hybrid tilapias using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 15(1), 11. <https://doi.org/10.4314/sokjvs.v15i1.2>
- Okoye, I. C., Abu, S. J., Obiezue, N. N. R., & Ofoezie, I. E. (2014). Prevalence and seasonality of parasites of fish in Agulu Lake, Southeast, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 13(3), 502–508. <https://doi.org/10.5897/ajb2013.13384>
- Oliveira, M. S. B., Aparecido Adriano, E., Tavares-Dias, M., & Lima Corrêa, L. (2019). Community of Monogenea in populations of *Cichla monoculus* from two tributaries of the Amazon River in the Northern Brazil. *Helminthologia (Poland)*, 56(1), 1–10. <https://doi.org/10.2478/helm-2018-0043>
- Olopade, O. A., Taiwo, I. O., Lamidi, A. A., & Awonaike, O. A. (2016). Proximate Composition of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758) and Tilapia Hybrid (Red Tilapia) from Oyan Lake, Nigeria. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food*

- Science and Technology*, 73(1), 0–4. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:11973>
- Onyedineke, E. N., Obi, U., Ofoegbu, P. U., & Ukogo, I. (2010). Helminth Parasites of some Freshwater Fish from River Niger at Illushi, Edo State, Nigeria. *Journal of American Science*, 6(3), 16–21.
- Orire, A. M., & Salihu, Z. A. (2020). Effects of Nutrient Inclusion levels on Aquafeed Buoyancy. *Tanzania Journal of Agricultural Sciences*, 19(2), 161–166.
- Orire, A., & Sadiku, S. (2015). Development of Farm Made Floating Feed for Aquaculture Species. *Journal of International Scientific Publications: Agriculture and Food*, 2(4), 579–583.
- Ormeño, C. R. (2017). Uso De Compuestos Naturales Frente a La Anisakidosis. *Universidad de Sevilla. Facultad de farmacia*, 1, 1-41.
- Ornelas-Luna, R., Aguilar-Palomino, B., Hernández-Díaz, A., Hinojosa-Larios, J. Á., & Godínez-Siordia, D. E. (2017). Un enfoque sustentable al cultivo de tilapia. *Acta Universitaria*, 27(5), 19–25. <https://doi.org/10.15174/au.2017.1231>
- Ortega, C., & Valladares, B. (2015). Analysis on the development and current situation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farming in Mexico. *Reviews in Aquaculture*, 9(2), 194–202. <https://doi.org/10.1111/raq.12133>
- Osman, A. H. K., & Caceci, T. (1991). Histology of the stomach of *Tilapia nilotica* (Linnaeus, 1758) from the River Nile. *Journal of Fish Biology*, 38(2), 211–223. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1991.tb03107.x>
- Otachi, E., Körner, W., Avenant-Oldewage, A., Fellner-Frank, C., & Jirsa, F. (2014a). Trace elements in sediments, blue spotted tilapia *Oreochromis leucostictus* (Trewavas, 1933) and its parasite *Contracaecum multipapillatum* from Lake Naivasha, Kenya, including a comprehensive health risk analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(12), 7339–7349. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2602-8>
- Otachi, E., Magana, A., Jirsa, F., & Fellner-Frank, C. (2014). Parasites of commercially important fish from Lake Naivasha, Rift Valley, Kenya. *Parasitology Research*, 113(3), 1057–1067. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3741-4>
- Otachi, E., Szostakowska, B., Jirsa, F., & Fellner-Frank, C. (2015). Parasite communities of the elongate tigerfish *Hydrocynus forskahlii* (Cuvier 1819) and redbelly tilapia *Tilapia zillii* (Gervais 1848) from Lake Turkana, Kenya: Influence of host sex and size. *Acta Parasitologica*, 60(1), 9–20. <https://doi.org/10.1515/ap-2015-0002>
- Otálora, M. C., Carriazo, J., Osorio, C., & Nazareno, M. A. (2018). Encapsulation of cactus (*Opuntia megacantha*) betaxanthins by ionic gelation and spray drying: A comparative study. *Food Research*

- International*, 1(1–33), #pagerange#. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.058>
- Otzen, T., & Manterola, C. (2017). Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *International Journal of Morphology*, 35(1), 227–232. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000100037>
- Öztürk, E., & Temiz, U. (2018). Encapsulation Methods and Use in Animal Nutrition. *Selcuk Journal of Agricultural and Food Sciences*, 32(3), 624–631. <https://doi.org/10.15316/sjafs.2018.145>
- Paredes-Trujillo, A., Velázquez-Abunader, I., Torres-Irineo, E., Romero, D., & Vidal-Martínez, V. M. (2016). Geographical distribution of protozoan and metazoan parasites of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) (Perciformes: Cichlidae) in Yucatán, México. *Parasites and Vectors*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1332-9>
- Pérez-Ponce, D.L.G., Lagunas-Calvo, O., García-Prieto, L., Briosio-Aguilar, R., & Aguilar-Aguilar, R. (2018). Update on the distribution of the co-invasive *Schyzocotyle acheilognathi* (= *Bothriocephalus acheilognathi*), the Asian fish tapeworm, in freshwater fishes of Mexico. *Journal of Helminthology*, 92(3), 279–290. <https://doi.org/10.1017/S0022149X17000438>
- Pérez Díaz, J. P., Ortega Escobar, H. M., Ramírez Ayala, C., Flores Magdaleno, H., Sánchez Bernal, E. I., Can Chulim, Á., & Mancilla Villa, Ó. R. (2018). Nitrate, phosphate and boron content in wastewater for crop irrigation in Mezquital Valley, Hidalgo. *Nova Scientia*, 10(2), 97–119. <https://doi.org/DOI:doi.org/10.21640/ns.v10i21.1478>
- Petney, T., Andrews, R. H., Saijuntha, W., Wenz-Mücke, A., & Sithithaworn, P. (2013). The zoonotic, fish-borne liver flukes *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felinus* and *Opisthorchis viverrini*. *International Journal for Parasitology*, 43(12–13), 1031–1046. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.07.007>
- Petney, T., & Taraschewski, H. (2011). Waterborne Parasitic Diseases: Hydrology, Regional Development, and Control. *Treatise on Water Science*, 3, 303–366. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53199-5.00061-0>
- Philipps, R. (2010). *Analysis of a Purina Aquamax and a Purina Experimental Diet for Rainbow Trout based on Protein Content*. University of Wisconsin-Stevens Point, 1 (1<sup>st</sup> Edit.), 1-11.
- Pinheiro, R. H. D. S., Furtado, A. P., Dos Santos, J. N., & Giese, E. G. (2019). *Contracaecum* larvae: Morphological and morphometric retrospective analysis, biogeography and zoonotic risk in the amazon. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 28(1), 12–32. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612019002>
- Pinpimai, K., Rodkhum, C., Chansue, N., Katagiri, T., Maita, M., & Pirarat, N. (2015). The study on the candidate probiotic properties of encapsulated yeast, *Saccharomyces cerevisiae* JCM 7255, in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Research in Veterinary Science*, 102, 103–111.

<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.07.021>

- Pinto, H. A., Gonçalves, N. Q., López-Hernandez, D., Pulido-Murillo, E. A., & Melo, A. L. (2018). The life cycle of a zoonotic parasite reassessed: Experimental infection of *Melanoides tuberculata* (Mollusca: Thiaridae) with *Centrocestus formosanus* (Trematoda: Heterophyidae). *PLoS ONE*, *13*(4), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194161>
- Pinto, H. A., Mati, V. L. T., & Melo, A. L. (2014). Metacercarial infection of wild Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from Brazil. *Scientific World Journal*, *2014*. <https://doi.org/10.1155/2014/807492>
- Pirarat, N., Pinpimai, K., Rodkhum, C., Chansue, N., Ooi, E. L., Katagiri, T., & Maita, M. (2015). Viability and morphological evaluation of alginate-encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG under simulated tilapia gastrointestinal conditions and its effect on growth performance, intestinal morphology and protection against *Streptococcus agalactiae*. *Animal Feed Science and Technology*, *207*, 93–103. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.002>
- Planas, M., Fernández-Reiriz, M. J., Ferreiro, M. J., & Labarta, U. (1990). Effect of selected variables on the preparation of gelatin-acacia microcapsules for aquaculture. *Aquacultural Engineering*, *9*(5), 329–341. [https://doi.org/10.1016/0144-8609\(90\)90024-T](https://doi.org/10.1016/0144-8609(90)90024-T)
- Platas-Rosado, D.E., Hernández-Arzaba, J.C., & González-Reynoso, L. (2017). Economic and social importance of the aquatic sector in Méxicio. *Agroproductividad*, *10*(2), 60–64.
- Polk, A. E., Amsden, B., Scarratt, D. J., Gonzal, A., Okhamafe, A. O., & Goosen, M. F. A. (1994). Oral delivery in aquaculture: Controlled release of proteins from chitosan-alginate microcapsules. *Aquacultural Engineering*, *13*(4), 311–323. [https://doi.org/10.1016/0144-8609\(94\)90018-3](https://doi.org/10.1016/0144-8609(94)90018-3)
- Ponce-Nogues, J. (2020). Encapsulación de extractos vegetales con actividad antihelmíntica para su aplicación en animales de consumo humano. In *DOCTOR EN CIENCIAS EN ALIMENTOS* (Vol. 21, Issue 1). Universidad Politécnica Nacional.
- Poornima, K., & Sinthya, R. (2017). Application of Various Encapsulation Techniques in Food Industries. *International Journal of Latest Engineering Research and Applications (IJLERA)*, *10*, 37–41. [www.ijlera.com](http://www.ijlera.com)
- Portela, A. C. V., Silveira, J. G. F., Damaceno, M. A., da Silva, A. F. B., de Jesus, R. B., Pilarski, F., Gadaj, A., Mooney, M. H., & Paschoal, J. A. R. (2020). Food safety evaluation for the use of albendazole in fish: residual depletion profile and withdrawal period estimation. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, *37*(4), 596–606. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1719285>
- Pouomogne, V. & Omredane, D. (2001). Effects on feeding frequency on the growth of tilapia in earthen

ponds.pdf. In *Tropiculture* (Vol. 19, Issue 3, pp. 147–150).

- Prieto, A. (2004). La prevención y el control de enfermedades en el cultivo de peces. *RedVet*, 1 (1), 1-22.
- Pulido-Murillo, E. A., Furtado, L. F. V., Melo, A. L., Rabelo, É. M. L., & Pinto, H. A. (2018). Fishborne zoonotic trematodes transmitted by *Melanoides tuberculata* snails, Peru. *Emerging Infectious Diseases*, 24(3), 606–608. <https://doi.org/10.3201/eid2403.172056>
- Rairat, T., Thongpiam, W., Hsieh, C. Y., Liu, Y. K., Tunkijjanukij, S., & Chou, C. C. (2020). Salinity-dependent pharmacokinetics of florfenicol in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its implication in optimal dosing regimen. *Aquaculture*, 519, 734900. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734900>
- Ramos-Júdez, S., & Duncan, N. (2022). Feeding habits and the influence of pellet diameter on the feeding responses of the flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) in captivity. *Animal Feed Science and Technology*, 290. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115368>
- Rasul Suleria, H. A., Sadiq Butt, M., Muhammad Anjum, F., Saeed, F., Batool, R., & Nisar Ahmad, A. (2012). Aqueous garlic extract and its phytochemical profile; Special reference to antioxidant status. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(4), 431–439. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.634786>
- Reddy, R., & Reddy, S. (2010). Effect of different Co-polymers on Sodium Alginate Microcapsules Containing Isoniazid. *International Journal of PharmTech Research*, 2(4), 2198–2203. [http://www.sphinxnsai.com/Oct\\_dec\\_2010\\_vol2\\_no.4/PharmTech\\_vol2\\_no.4\\_1\\_pdf/PT=12%282198-2203%29.pdf](http://www.sphinxnsai.com/Oct_dec_2010_vol2_no.4/PharmTech_vol2_no.4_1_pdf/PT=12%282198-2203%29.pdf)
- Reyes-Ortega, F., Rodríguez, G., Rosa Aguilar, M., García-Sanmartín, J., Martínez, A., & San Román, J. (2012). Comportamiento reológico de geles biodegradables para aplicaciones en medicina regenerativa. *Biomecánica*, 20(1), 7–19. <https://doi.org/10.5821/sibb.v20i1.4664>
- Rivera Vasconcelos, F., Menezes, R. F., & Attayde, J. L. (2018). Effects of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) on the plankton community of a tropical reservoir during and after an algal bloom. *Hydrobiologia*, 817(1), 393–401. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3591-2>
- Rodríguez, Y. E., Laitano, M. V., Pereira, N. A., López-Zavala, A. A., Haran, N. S., & Fernández-Gimenez, A. V. (2018). Exogenous enzymes in aquaculture: Alginate and alginate-bentonite microcapsules for the intestinal delivery of shrimp proteases to Nile tilapia. *Aquaculture*, 490(February), 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.02.022>
- Ruiz, J. (2001). Factores fisiológicos que modifican la acción de los fármacos en medicina veterinaria.

- Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 14(1), 36–48.
- Ruma. (2010). *Responsible use of Anti-Parasitics in Aquaculture*. The Responsible Use of Medicines in Agriculture. www.ruma.org.uk, Revisado el 17 de agosto de 2023.
- Ryan, U., & Cacciò, S. M. (2013). Zoonotic potential of Giardia. *International Journal for Parasitology*, 43(12–13), 943–956. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.001>
- Saari, S., Näreaho, A., & Nikander, S. (2019). Cestoda (Tapeworms). In *Canine Parasites and Parasitic Diseases*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814112-0.00004-0>
- Salgado-Maldonado, G., Aguilar-Aguilar, R., Cabañas-Carranza, G., Soto-Galera, E., & Mendoza-Palmero, C. (2005). Helminth parasites in freshwater fish from the Papaloapan river basin, Mexico. *Parasitology Research*, 96(2), 69–89. <https://doi.org/10.1007/s00436-005-1315-9>
- Salgado-Maldonado, G., Caspeta-Mandujano, J. M., Moravec, F., Soto-Galera, E., Rodiles-Hernández, R., Cabañas-Carranza, G., & Montoya-Mendoza, J. (2011). Helminth parasites of freshwater fish in Chiapas, Mexico. *Parasitology Research*, 108(1), 31–59. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2035-3>
- Salinas-Moreno, Y., Zúñiga-Hernández, A. R. E., Torre, L. B. J. D. La, Serrano-Altamirano, V., & Sánchez-Feria, C. (2012). Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 18(3), 395–407. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.08.038>
- Saltos Solórzano, J. V., Márquez Bravo, Y. J., López Apolinar, A. I., Martínez Abreu, J. & Guerrero Proaño, D.G. (2018). La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos. Conteo microbiológico del *Staphylococcus aureus* en quesos frescos. *Revista Médica Electrónica*, 40(2), 371–382.
- Sathish, S., Chidambaram, P., & Uma, A. (2021). Prevalence of parasites in tilapia farms and their management practices in Tamil Nadu, India. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 9(2), 678–689.
- Savaya, A., Glassner, H., Livne-Luzon, S., Chishinski, R., Molcho, J., Aflalo, E. D., Zilberg, D., & Sagi, A. (2020). Prawn monosex populations as biocontrol agents for snail vectors of fish parasites. *Aquaculture*, 520, 1–36. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735016>
- Sawyer, S. (2005). Nonparametric Survival Analysis : Cox-Mantel tests and Permutation tests. *Survival*, 1–7.
- Scheffler, L., Sharapa, C., Amar, T., & Buettner, A. (2018). Identification and Quantification of Volatile Ramson-Derived Metabolites in Humans. *Frontiers in Chemistry*, 6(September), 1–15.

<https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00410>

- Scholz, T., & Kuchta, R. (2016). Fish-borne, zoonotic cestodes (*Diphyllobothrium* and relatives) in cold climates: A never-ending story of neglected and (re)-emergent parasites. *Food and Waterborne Parasitology*, 4, 23–38. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2016.07.002>
- Scholz, T., & Salgado-Maldonado, G. (2000). The introduction and dispersal of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) (Digenea: Heterophyidae) in Mexico: A review. *American Midland Naturalist*, 143(1), 185–200. [https://doi.org/10.1674/0003-0031\(2000\)143\[0185:TIADOC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1674/0003-0031(2000)143[0185:TIADOC]2.0.CO;2)
- Scholz, T., Šimková, A., Razanabolana, J. R., & Kuchta, R. (2018). The first record of the invasive Asian fish tapeworm (*Schyzocotyle acheilognathi*) from an endemic cichlid fish in Madagascar. *Helminthologia (Poland)*, 55(1), 84–87. <https://doi.org/10.1515/helm-2017-0052>
- Scott, W., & Govett, P. (2009). Parasitology and necropsy of fish. *CompendiumVet*, 2(September), E1–E7.
- Secretaría de Salud. (2020). Boletín Epidemiológico Nacional Semana 07 2020. *Boletín Epidemiológico Nacional*.
- Sèdogbo, M. H., Zannou, B. T., Siko, J. E., Tossavi, N. D., Togla, I., Fiogbé, E. D., & Ibikounlé, M. (2019). Faune des métazoaires parasites de *Clarias gariepinus* (Clariidae) et de *Oreochromis niloticus* (Cichlidae), deux poissons des whédos du delta supérieur du fleuve Ouémé au sud du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2), 983. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v13i2.33>
- SENASICA. (2021). *Certificado para movilizar especies acuáticas \_ Trámites \_ gob.* Gobierno de México.
- Sepulveda, M. S., & Kinsella, J. M. (2013). Helminth collection and identification from wildlife. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 82, 1–5. <https://doi.org/10.3791/51000>
- Setijaningsih, L., Setiadi, E., Taufik, I., & Mulyasari. (2021). The effect of garlic *Allium sativum* addition in feed to the growth performance and immune response of tilapia *Oreochromis niloticus*. *Earth and Environmental Science*, 744, 1–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/744/1/012072>
- Shaikh, B., Rummel, N., Giesecker, C., Serfling, S., & Reimschuessel, R. (2003). Metabolism and residue depletion of albendazole and its metabolites in rainbow trout, tilapia and Atlantic salmon after oral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 26(6), 421–427. <https://doi.org/10.1046/j.0140-7783.2003.00534.x>
- Shalaby, A. M., Khattab, Y. A., & Abdel Rahman, A. M. (2006). Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 12(2), 172–201. <https://doi.org/10.1590/S1678-91992006000200003>

- Shamsi, S. (2019). Seafood-borne parasitic diseases: A “one-health” approach is needed. *Fishes*, 4(1), 1-12. <https://doi.org/10.3390/fishes4010009>
- Shang, A., Cao, S. Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Tang, G. Y., Corke, H., Mavumengwana, V., & Li, H. Bin. (2019). Bioactive compounds and biological functions of garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*, 8(7), 1–31. <https://doi.org/10.3390/foods8070246>
- Shapiro, D. S. (2017). Infections Acquired from Animals Other Than Pets. In *Infectious Diseases* (Fourth Edi). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-6285-8.00074-5>
- Sharma, M., Shrivastav, A. B., Sahni, Y. P., & Pandey, G. (2012). Overviews of the treatment and control of common fish diseases. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(7), 123–127.
- Sharmin, F., Rahman, M., Shahjahan, M., & Chowdhury, P. (2020). Study of growth and productions of tilapia (*Oreochromis niloticus*) on different population densities in monoculture. *International Journal of Agricultural Research, Innovation and Technology*, 9(2), 76–83. <https://doi.org/10.3329/ijarit.v9i2.45414>
- Shivakumara, L. R., & Demappa, T. (2019). Synthesis and swelling behavior of sodium alginate/poly(Vinyl alcohol) hydrogels. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(3), 252–260. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2018.92408>
- SIAP. (2020). *Producción por estados 2020*. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pesquera>
- Sitjà-Bobadilla, A., & Oidtmann, B. (2017). Integrated Pathogen Management Strategies in Fish Farming. In *Fish Diseases: Prevention and Control Strategies*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804564-0.00005-3>
- Šlapeta, J. (2013). Cryptosporidiosis and *Cryptosporidium* species in animals and humans: A thirty colour rainbow? *International Journal for Parasitology*, 43(12–13), 957–970. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.07.005>
- Smith, B. J., Smith, S. A., Tengjaroenkul, B., & Lawrence, T. A. (2000). Gross morphology and topography of the adult intestinal tract of the tilapian fish, *Oreochromis niloticus* L. *Cells Tissues Organs*, 166(3), 294–303. <https://doi.org/10.1159/000016743>
- Solomando, J. C., Antequera, T., & Perez-Palacios, T. (2020). Lipid digestion and oxidative stability in  $\omega$ -3-enriched meat model systems: Effect of fish oil microcapsules and processing or culinary cooking. *Food Chemistry*, 328, 127125. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127125>
- Squire, S. A., & Ryan, U. (2017). *Cryptosporidium* and *Giardia* in Africa: current and future challenges. *Parasites and Vectors*, 10(1), 1–32. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2111-y>

- Stanforth, K. J., Wilcox, M. D., Chater, P. I., Brownlee, I. A., Zakhour, M. I., Banecki, K. M. R. M., & Pearson, J. P. (2022). Pepsin properties, structure, and its accurate measurement: a narrative review. *Annals of Esophagus*, 5, 0–3. <https://doi.org/10.21037/aoe-20-95>
- Stojanovic, R., Belscak-cvitanovic, A., Manojlovic, V., Komes, D., & Bugarski, B. (2012). Encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) aqueous extract in calcium alginate beads. *J Sci Food Agric*. 9 (2011), 685–696. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4632>
- Sundell, K. S., Rønnestad, I., & Segovia, M. (2017). Intestinal Absorption. *Reference Module in Life Sciences*, April 2016, 1–12. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.03159-9>
- Tangtrongchitr, A., & Monzon, R. (1991). Eating habits associated with *Echinostoma nakayanum* infections in the Philippines. *Food-Borne Parasitic Zoonoses*, 1, 112–216.
- Tasci, B., Kutuk, H., & Koca, I. (2016). Determination of alliin and allicin in the plant of *Allium scorodoprasum* L. subsp. rotundum by using the infrared spectroscopy technique. *Acta Horticulturae*, 1143, 133–138. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1143.19>
- Tesana, S., Thabsripair, P., Suwannatrai, A., Haruay, S., Piratae, S., Khampoosa, P., Thammasiri, C., Prasopdee, S., Kulsantiwong, J., Chalorkpunrut, P., & Jones, M. K. (2014). Parasite surveys and environmental management for prevention of parasitic infection in cultivated *Barbonymus gonionotus* (Cyprinidae) in fishponds, in an opisthorchiasis endemic area of northeast Thailand. *Aquaculture*, 428–429, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.02.031>
- Thi, P. V., Kjær Ersbøll, A., Quang Bui, T., Thi Nguyen, H., Murrell, D., & Dalsgaard, A. (2010). Fish-Borne Zoonotic Trematodes in Cultured and Wild-Caught Freshwater Fish from the Red River Delta, Vietnam. *Vector-Borne and Zoonotic Disease*, 10(9).
- Thien, P., Dalsgaard, A., Thanh Nhan, N., Olsen, A., & Murrell, K. D. (2009). Prevalence of zoonotic trematode parasites in fish fry and juveniles in fish farms of the Mekong Delta, Vietnam. *Aquaculture*, 295(1–2), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.033>
- Thing, C. Y., Ransangan, J., & Hatai, K. (2016). Antiparasitic effect of formalin, trichlorfon, hydrogen peroxide, and copper sulfate on the parasitic isopod *Caecognathia coralliophila*. *Fish Pathology*, 51(3), 125–127. <https://doi.org/10.3147/jsfp.51.125>
- Timilsena, Y. P., Haque, M. A., & Adhikari, B. (2020). Encapsulation in the Food Industry: A Brief Historical Overview to Recent Developments. *Food and Nutrition Sciences*, 11(06), 481–508. <https://doi.org/10.4236/fns.2020.116035>
- Torres, R. G. A., González P. S., & Peña S. E. (2010). Descripción anatómica, histológica y ultraestructural de la branquia e hígado de tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Morphology*,

28(3), 703–712. <https://doi.org/10.4067/s0717-95022010000300008>

- Toyes-Vargas, E. A., Parrish, C. C., Viana, M. T., Carreón-Palau, L., Magallón-Servín, P., & Magallón-Barajas, F. J. (2020). Replacement of fish oil with camelina (*Camelina sativa*) oil in diets for juvenile tilapia (var. GIFT *Oreochromis niloticus*) and its effect on growth, feed utilization and muscle lipid composition. *Aquaculture*, 523(May 2019), 735177. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735177>
- Trần Ngọc, T. K. (2017). Feeds , water quality , gut morphology and digestion in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Wageningen University. In PhD thesis, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands (2017). 1-128.
- Trentin-Corral, A. C., de Queiroz, M. N., de Andrade-Porto, S. M., Morey, G. A. M., Chaves, F. C. M., Fernandes, V. L. A., Ono, E. A., & Affonso, E. G. (2018). Control of *Hysterothylacium* sp. (Nematoda: Anisakidae) in juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*) by the oral application of essential oil of *Piper aduncum*. *Aquaculture*, 494, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.062>
- Trullàs, C., Sewaka, M., Rodkhum, C., Chansue, N., Boonanuntanasarn, S., Kamble, M. T., & Pirarat, N. (2022). Effects of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*) as a Prebiotic Supplement in the Diet of Red Tilapia (*Oreochromis* spp.). *Animals*, 12(20). <https://doi.org/10.3390/ani12202882>
- Tsiodras, S., Kelesidis, T., Kelesidis, I., Bauchinger, U., & Falagas, M. E. (2008). Human infections associated with wild birds. *Journal of Infection*, 56(2), 83–98. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2007.11.001>
- Umadevi, K., & Madhavi, R. (2006). The life cycle of *Haplorchis pumilio* ( Trematoda : Heterophyidae ) from the Indian region. *Journal of Helminthology*, 80, 327–332. <https://doi.org/10.1017/JHL2006359>
- Urruela-Barrios, R., Ramírez-Cedillo, E., León, A. D., Alvarez, A. J., & Ortega-Lara, W. (2019). Alginate/gelatin hydrogels reinforced with TiO<sub>2</sub> and β-TCP fabricated by microextrusion-based printing for tissue regeneration. *Polymers*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/polym11030457>
- Pouomogne, V. & Omredane, D. (2001). Effects on feeding frequency on the growth of tilapia in earthen ponds.pdf. In *Tropiculture* (Vol. 19, Issue 3, pp. 147–150).
- Valenzuela-Gutiérrez, R., Lago-Lestón, A., Vargas-Albores, F., Cicala, F., & Martínez-Porchas, M. (2021). Exploring the garlic (*Allium sativum*) properties for fish aquaculture. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47(4), 1179–1198. <https://doi.org/10.1007/s10695-021-00952-7>
- Van De, N., Le, T. H., & Murrell, K. D. (2012). Prevalence and intensity of fish-borne zoonotic trematodes in cultured freshwater fish from rural and Urban Areas of Northern Vietnam. *Journal of*

- Parasitology*, 98(5), 1023–1025. <https://doi.org/10.1645/GE-3112.1>
- Van Phan, T., Ersboll, A. K., Nguyen, K. V., Madsen, H., & Dalsgaard, A. (2010). Farm-level risk factors for Fish-borne zoonotic trematode infection in integrated Small-scale fish farms in Northern Vietnam. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000742>
- Vardanyan, R., & Hruby, V. (2016). Anthelmintics. In R. Vardanyan & V. Hruby (Eds.), *Synthesis of Best-Seller Drugs* (1st ed., pp. 749–764). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411492-0.00036-5>
- Vega, F., Cortés, M., Zuñiga, L., Jaime, B., Galindo, J., Basto, M., & Nolasco, H. (2010). Small-scale culture of tilapia (*Oreochromis niloticus*), alimentary alternative for rural and peri-urban families in Mexico? *Redvet*, 11(4), 177–185.
- Velasco-Amaro, P., Calvario-Martínez, O Pulido-Flores, G., Acevedo-Sandoval, O., Rosas, J. C., & Delia, A. (2012). Problemática Ambiental de la Actividad Piscícola en el Estado de Hidalgo , México. *Ingeniería*, 9 (2012), 1-11.
- Velasco-Amaro, P., Pulido-Flores, G., Acevedo-Sandoval, O., Rosas, J. C., & Delia, A. (2015). Diagnóstico y valoración del desempeño ambiental de la piscicultura en el estado de Hidalgo , México. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 11 (2015), 47-53.
- Velkers, F. C., Dieho, K., Pecher, F. W. M., Vernooij, J. C. M., Van Eck, J. H. H., & Landman, W. J. M. (2011). Efficacy of allicin from garlic against *Ascaridia galli* infection in chickens. *Poultry Science*, 90(2), 364–368. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01090>
- Vemmer, M., & Patel, A. V. (2013). Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. *Biological Control*, 67(3), 380–389. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.09.003>
- Vicente-Pardo, J. M. (2016). Anisakis and Disease as an Occupational Disease. *Medicina y Seguridad Del Trabajo*, 62(244), 223–240. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0465-546X2016000300006&lang=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0465-546X2016000300006&lang=es)
- Villalba-Vasquez, P. J., Violante-González, J., Monks, S., Marino-Romero, J. U., Ibáñez, S. G., Rojas-Herrera, A. A., Flores-Garza, R., & Rosas-Guerrero, V. (2018). Temporal and spatial variations in the metazoan parasite communities of the Panama spadefish, *Parapsettus panamensis* (Pisces: Ehippidae), from the Pacific coast of Mexico. *Invertebrate Biology*, 137(4), 339–354. <https://doi.org/10.1111/ivb.12232>
- Virginia, D., Semedo, G., Vinicius, F., & Castro, S. (2018). *Salmonella* spp . in the fish production chain: a review. *Ciência Rural*, 48 (08), 1-48. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180141>

- Walakira, J., Akoll, P., Engole, M., Sserwadda, M., Nkambo, M., Namulawa, V., & Kityo, G. (2014). Common fish diseases and parasites affecting wild and farmed tilapia and catfish in central and western Uganda. *Uganda Journal of Agricultural Sciences*, *15*(2), 113–125.
- Wanderson, M. F., Ligia Neves, R., Márcia Dias, R. D., Renata Marinho, G. B., Montagner, D., & Tavares-Dias, M. (2012). Protozoan and metazoan parasites of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in Brazil. *Revista MVZ Cordoba*, *17*(1), 2812–2819. <https://doi.org/10.21897/rmvz.248>
- Wang, D., Young, N., Korhonen, P., & Gasser, R. (2018a). *Clonorchis sinensis* and Clonorchiasis: The Relevance of Exploring Genetic Variation. In *Advances in Parasitology* (1st ed., Vol. 100). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2018.03.006>
- Wang, E., Wang, X., Wang, K., He, J., Zhu, L., He, Y., Chen, D., Ouyang, P., Geng, Y., Huang, X., & Lai, W. (2018b). Preparation, characterization and evaluation of the immune effect of alginate/chitosan composite microspheres encapsulating recombinant protein of *Streptococcus iniae* designed for fish oral vaccination. *Fish and Shellfish Immunology*, *73*(2018), 262–271. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.034>
- Wang, M., Luo, L., Chen, X., & Fang, Y. (2017). Investigation on sanitation of freshwater aquaculture environments and *Clonorchis sinensis* intermediate host infection in a city of Pearl River Delta region, China. *Chin J Schisto Control*, *29*(6), 716–719.
- Wanja, D. W., Mbutia, P. G., Waruiru, R. M., Mwadime, J. M., Bebora, L. C., Nyaga, P. N., & Ngowi, H. A. (2020). Fish Husbandry Practices and Water Quality in Central Kenya: Potential Risk Factors for Fish Mortality and Infectious Diseases. *Veterinary Medicine International*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6839354>
- WHO. (2015). World Health Organization - *A contribution to the control of soil-transmitted helminth infections in Latin America and the Caribbean* (1st ed.). Pan American Health Organization.
- Williams, M., Hernandez-Jover, M., & Shamsi, S. (2020). Fish substitutions which may increase human health risks from zoonotic seafood borne parasites: A review. *Food Control*, *118*, 107429. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107429>
- Wiriya, B., Clausen, J. H., Inpankaew, T., Thaenkham, U., Jittapalapong, S., Satapornvanit, K., & Dalsgaard, A. (2013). Fish-borne trematodes in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and wild-caught fish from Thailand. *Veterinary Parasitology*, *198*(1–2), 230–234. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.008>
- Wong, S. K., Lawrencina, D., Supramaniam, J., Goh, B. H., Manickam, S., Wong, T. W., Pang, C. H., & Tang, S. Y. (2021). In vitro Digestion and Swelling Kinetics of Thymoquinone-Loaded Pickering Emulsions

- Incorporated in Alginate-Chitosan Hydrogel Beads. *Frontiers in Nutrition*, 8(October), 1–14.  
<https://doi.org/10.3389/fnut.2021.752207>
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60–69. <https://doi.org/10.1002/fft2.10>
- Yavuzcan, Y. H., Phan Van, Q., Parisi, G., & Dam Sao, M. (2019). Anti-parasitic activity of garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) juice against crustacean parasite, *Lernantropus kroyeri*, found on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 833–837.  
<https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1593058>
- Yazıcı, M., Mazlum, Y., Naz, M., Ürkü, Ç., Türkmen, M., & Akaylı, T. (2022). Effects of Adding Laurel (*Laurus nobilis*) Essential Oil to the Diet of Tilapia Fish on Growth and Intestinal Histology. *Aquatic Sciences and Engineering*, 37(4), 195–204. <https://doi.org/10.26650/ASE20221101489>
- Yimer, E. (2000). Preliminary survey of parasites and bacterial pathogens of fish at Lake Ziway. In *SINET: Ethiopian Journal of Science* (Vol. 23, Issue 1). <https://doi.org/10.4314/sinet.v23i1.18154>
- Yu, F., Cui, T., Yang, C., Dai, X., & Ma, J. (2019). K-Carrageenan/Sodium alginate double-network hydrogel with enhanced mechanical properties, anti-swelling, and adsorption capacity. *Chemosphere*, 237, 124417. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124417>
- Yusni, E., & Rambe, N. (2019). Identification of ectoparasites in Fry Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) in Aquaculture Pond. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 260(1).  
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/260/1/012110>
- Zafra, A., Díaz, M., Dávila, F., Fernández, R., Vela, K., & Guzmán Héctor. (2019). Conversión y eficiencia alimenticia de *Oreochromis aureus* var. *suprema* (Cichlidae) con diferente alimento balanceado en sistema cerrado, Trujillo, La Libertad, Perú. *Arnaldoa*, 26(2), 815–826.  
<http://doi.org/10.22497/arnaldoa.262.26219>
- Zago, A. C., Franceschini, L., Garcia, F., Schalch, S. H. C., Gozi, K. S., & Silva, R. J. da. (2014). Ectoparasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage farming in a hydroelectric reservoir in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(2), 171–178. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612014041>
- Zhang, Y., Zhuang, P., Mao, L., Chen, X., Wang, J., Cheng, L., Ding, G., & Jiao, J. (2019). Current level of fish and omega-3 fatty acid intakes and risk of Type 2 diabetes in China. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 74, 108249. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.108249>
- Zhao-Rong, L., Robin, G., De-hua, L., An-xing, L., Xing-quan, Z., Xing-bing, Y., & Yue-yi, F. (2005). Clonorchiasis: a key foodborne zoonosis in China Zhao-Rong. *Lancet Infect Dis*, table 1, 31–41.

- Zheoat, A. M., Gray, A. I., Igoli, J. O., Ferro, V. A., & Drummond, R. M. (2019). Hibiscus acid from *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae) has a vasorelaxant effect on the rat aorta. *Fitoterapia*, *134*(November 2018), 5–13. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.01.012>
- Zhi, T., Huang, C., Sun, R., Zheng, Y., Chen, J., Xu, X., Brown, C. L., & Yang, T. (2020). Mucosal immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* during *Gyrodactylus cichlidarum* infection. *Fish and Shellfish Immunology*, *106*(April), 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.07.025>