



**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**

Facultad de Ciencias  
Programa de Maestría en Microbiología

**Análisis filogenético de *Weissella tructae* aislados en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivadas en Colombia.**

**Monica Sabine Damme Pedraza**

Bogotá D.C., Colombia

Mayo 2025

**Análisis filogenético de *Weissella tructae* aislados en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivadas en Colombia.**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para obtener el título de

**Magíster en Microbiología**  
(Modalidad de Profundización)

**Monica Sabine Damme Pedraza**  
Bacterióloga

Director:  
**Paola Andrea Barato Gomez**  
Medica Veterinaria., M.Sc., Ph.D.

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca  
Facultad de Ciencias  
Programa de Maestría en Microbiología  
Bogotá D.C., Colombia  
Mayo 2025

**Dedicatoria**

*Está dedicado al conocimiento y avance científico de Colombia y a todos los piscicultores que hicieron parte de esta investigación.*

## **Agradecimientos**

A Dios, por otorgarme la sabiduría, la fortaleza y la constancia necesarias para culminar con éxito este trabajo de grado. A la Universidad, por brindarme la oportunidad de desarrollar esta investigación y de avanzar en la consecución de mi título profesional.

A la doctora Paola Barato, por su orientación, paciencia, dedicación y compromiso durante el desarrollo de este proyecto, así como por la oportunidad de fortalecer mis conocimientos y ponerlos al servicio de la comunidad académica.

Finalmente, expreso mi sincero agradecimiento a todas las personas que, de manera directa o indirecta, contribuyeron con su apoyo y acompañamiento a la realización de este trabajo.

## Resumen

La Weiselosis es una enfermedad infecciosa causada por la bacteria Gram positiva *Weissella tructae* (anteriormente *Weissella ceti*), reconocida como un patógeno emergente en la acuicultura. Este microorganismo ha sido asociado con cuadros hemorrágicos en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivada en China, Brasil, México, Estados Unidos y Perú. Su alta capacidad de transmisión y la elevada mortalidad que produce la convierten en un importante desafío sanitario para la producción piscícola, aunque aún se conoce poco sobre sus características genómicas y mecanismos de virulencia.

En el presente estudio se analizaron 651 muestras de tejidos de trucha arcoíris recolectadas en seis departamentos de Colombia: Risaralda, Antioquia, Huila, Cundinamarca, Boyacá y Santander. De estas, se obtuvieron 310 aislamientos compatibles con *Weissella* sp. Las colonias sospechosas fueron confirmadas mediante PCR específica y posteriormente identificadas a nivel molecular a través de la amplificación del gen 16S rDNA.

Los aislamientos representativos de cada región fueron secuenciados mediante Whole Genome Sequencing (WGS), y el análisis filogenético reveló una identidad genética superior al 99 % con *Weissella tructae*. Las cepas colombianas difirieron únicamente en cinco sitios y resultaron idénticas entre sí, compartiendo además más del 99 % de homología con genomas previamente reportados en aislamientos de Brasil, México y Estados Unidos.

**Palabras clave:** *Weissella*, Trucha arcoíris, Genomas comparativos.

## Abstract

Weissellosis is an infectious disease caused by the Gram-positive bacterium *Weissella tructae* (formerly *Weissella ceti*), recognized as an emerging pathogen in aquaculture. This microorganism has been associated with hemorrhagic outbreaks in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farmed in China, Brazil, Mexico, the United States, and Peru. Its high transmission capacity and elevated mortality rates make it a major veterinary challenge, although little is still known about its genomic characteristics and virulence mechanisms.

In this study, a total of 651 tissue samples from rainbow trout were analyzed from six departments in Colombia: Risaralda, Antioquia, Huila, Cundinamarca, Boyacá, and Santander. From these samples, 310 isolates compatible with *Weissella* sp. were obtained. The suspected colonies were confirmed using species-specific PCR and subsequently identified at the molecular level by amplification of the 16S rDNA gene.

Representative isolates from each region were subjected to Whole Genome Sequencing (WGS), and phylogenetic analysis revealed a genetic identity greater than 99% with *Weissella tructae*. The Colombian strains differed in only five nucleotide sites and were identical to each other, sharing over 99% homology with genomes previously reported from isolates obtained in Brazil, Mexico, and the United States.

These findings confirm, for the first time, the presence of *W. tructae* in farmed rainbow trout in Colombia, providing molecular evidence of its occurrence and highlighting the need to strengthen sanitary surveillance and genomic studies within the national aquaculture sector.

**Keywords:** *Weissella*, rainbow trout, comparative genomics.

## Contenido

Resumen.....	5
Abstract.....	<del>67</del>
Lista de figuras.....	<del>840</del>
Lista de tablas.....	<del>944</del>
Lista de símbolos y abreviaturas.....	<del>1043</del>
Abreviaturas.....	<del>1043</del>
1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	3
2.1.    Objetivo general.....	3
2.2.    Objetivos específicos.....	3
3. Marco de referencia.....	4
3.3.    Etiología y antecedentes.....	6
•    Patogénesis.....	9
•    Análisis moleculares para la identificación de Weissella sp.....	11
4. Diseño metodológico.....	<del>1847</del>
5. Resultados.....	21
6. Discusiones.....	<del>3029</del>
7. Conclusiones.....	<del>3433</del>
Referencias.....	<del>3635</del>

## Lista de figuras

**Figura 1.** Signos clínicos de Trucha arcoíris

**Figura 2.** Genoma de *Weissella ceti* aislados de Trucha arcoíris en Brasil.

**Figura 3.** Representación gráfica de Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

**Figura 4.** Características macroscópicas de *Weissella* sp. en Agar sangre

**Figura 5.** Cálculo del número de muestras para WGS

**Figura 6.** Electroforesis de gDNA de *Weissella* spp. aislados en Colombia

**Figura 7.** Análisis dendrograma de los perfiles espectrales principales

**Figura 8.** a. Árbol filogenético de máxima verosimilitud se construyó con el método neighbor-joining; b. El alineamiento de las secuencias

## Lista de tablas

**Tabla 1.** Tabla comparativa con información fenotípica y química de *Weissella ceti* y *Weissella tructae*

**Tabla 2.** Kit de extracción para PCR de *Weissella* sp.

**Tabla 3.** Número de casos recibidos para aislamiento bacteriológico de tejidos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y aislamientos obtenidos de *Weissella* sp. en Corpavet® y MolecularVet® durante el periodo 2020 a 2024.

**Tabla 4.** Identificación de aislamientos de *Weissella* sp. para WGS

**Tabla 5.** Identificación de aislamientos de *Weissella tructae* de los departamentos de Risaralda, Antioquia, Huila, Cundinamarca, Boyacá y Santander

## Lista de símbolos y abreviaturas

### Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>WGS</i>	Whole Genome Sequencing
<i>AAI</i>	Identidad promedio máxima de aminoácidos
<i>ANI</i>	Average Nucleotide Identity
<i>bp</i>	Pares de bases
<i>PCR</i>	Reacción en Cadena de la Polimerza
<i>AUNAP</i>	Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca
<i>IGAC</i>	Instituto Geográfico Agustín Codazzi

---

## 1. Introducción

El género *Weissella* pertenece al grupo de bacterias ácido-lácticas y fue propuesto como un nuevo género en 1993 tras estudios taxonómicos del grupo *Leuconostoc paramesenteroides* (1). Hasta la fecha, se han descrito al menos 18 especies pertenecientes a este género, muchas de las cuales han sido aisladas de una amplia gama de hábitats, como vegetales fermentados, productos cárnicos, tractos gastrointestinales de animales, insectos y humanos (2,3). Si bien la mayoría de las cepas de *Weissella* son consideradas comensales o con potencial probiótico, se han reportado casos raros de bacteriemia en humanos y animales asociados a especies como *W. confusa* y *W. cibaria* (4).

Algunas especies de *Weissella* han sido recientemente implicadas en enfermedades emergentes. En 2009, se reportó en China un brote de enfermedad hemorrágica en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) asociado a *Weissella*, con altas tasas de mortalidad. En 2011 Veia et al. realizaron un estudio del microbiota en cuatro órganos diferentes en ballenas picudas y encontraron aislamientos de bacterias gram positivas, en forma de cocobacilo, los análisis filogenéticos del gen 16s rRNA, mostraron una similitud con *Weissella viridescens* y *Weissella minor* proponiendo unas nueve especies del género *Weissella*, *Weissella ceti* sp. nov. (5). Posteriormente, se presentaron brotes compatibles con Weiselosis similares en Brasil, Estados Unidos y México. Las cepas aisladas de peces en distintos países presentaron una alta similitud genética, lo que llevó a describir la enfermedad emergente como "Weiselosis" (6).

*Weissella* sp. se caracteriza por ser un bacilo grampositivo, catalasa negativa, no esporulado, con morfología coco-bacilar y hemólisis alfa. En peces infectados, especialmente trucha arcoíris, se han observado signos clínicos como hemorragias agudas, septicemia, exoftalmia, distensión abdominal y opacidad corneal. A nivel interno, se detectan branquias pálidas, lesiones hepáticas multifocales y hemorragias en órganos como la vejiga natatoria y el corazón (5).

Figueiredo et al. (2022) realizaron análisis genómicos comparativos entre cepas de *Weissella* aisladas en truchas en Brasil y México, comparándolas con *W. ceti* aislada de ballena picuda. Los resultados mostraron una similitud del 98.7% entre las cepas de peces sudamericanos, pero solo un 24.4% con *W. ceti*. Esta marcada diferencia genética y fenotípica llevó a proponer una nueva especie denominada *Weissella tructae* sp. nov., asociada exclusivamente a truchas arcoíris (7).

El objetivo de este trabajo es realizar un análisis filogenético de cepas de *Weissella tructae* aisladas en truchas arcoíris cultivadas en Colombia entre 2020 y 2024, y compararlas con cepas de referencia internacionales como *Weissella tructae* W-1 (CP075544.1) y *Weissella ceti* CECT 7719 (CP074441.1), con el fin de establecer relaciones genéticas entre cepas de distintas ubicaciones geográficas y determinar patrones que contribuyan al conocimiento epidemiológico de esta bacteria, lo que permitirá fortalecer los diagnósticos, mejorar los sistemas de vigilancia sanitaria y diseñar estrategias preventivas más efectivas, promoviendo una producción más sostenible y segura.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo general

Analizar filogenéticamente los genomas de *Weissella tructae* aislados en trucha a durante el periodo comprendido entre el 2020 al 2024.

### 2.2. Objetivos específicos

- Analizar y confirmar la identificación de aislados de *Weissella* spp. en trucha arcoíris de diferentes regiones de Colombia en periodo del 2020 al 2024.
- Caracterizar microbiológicamente los aislamientos de *Weissella* spp. obtenidos en trucha arcoíris de diferentes regiones de Colombia en periodo del 2020 al 2024.
- Analizar filogenéticamente de acuerdo con la ubicación geográfica y origen los genomas de *Weissella tructae* aisladas de trucha en los periodos de 2020 al 2024.

### 3. Marco de referencia

#### 3.1. *Weissella* sp.

La Weiselosis es una enfermedad emergente causada por *Weissella tructae* y a sido reportada en China, Brasil y Estados Unidos. El origen de la bacteria asociada a los brotes es desconocido, sin embargo, la aparición de *Weissella* en los diferentes continentes sugiere que es un patógeno emergente y por ello es necesario centrarse en la prevención de la propagación en las industrias de las truchas arcoiris. Esta enfermedad puede presentarse rápidamente en cultivo intensivo de truchas resultando en una alta mortalidad en peces de engorde causando pérdidas económicas significativas (2,8). Miembros del género *Weissella* han sido aislado de diferentes fuentes como lo son vegetales frescos, carnes, productos cárnicos, alimentos fermentados. Además, algunas especies como *W. confusa* fue aislada de rostros humanos, fluidos peritoneales, pared abdominal de pacientes y en sangre de pacientes con endocarditis infectiva (9) y en un primate que presentaba una infección sistémica y *W. cibaria* fueron aisladas en muestras clínicas de humanos y animales (5,10).

#### 3.2. Biología y características de *Weissella* sp.

En 1993 Collins y sus colegas fueron los primeros en designar el género *Weissella*, después de realizar estudios taxonómicos sobre microorganismos atípicos similares a *Leuconostoc*, los cuales provenían de salchichas fermentadas producidas en Grecia (1).

Pertenece al phylum *Firmicutes*, clase *Bacilo*, orden *Lactobacillales* y familia *Leuconostocaceae*. Se caracterizan por ser Gram positivas, catalasa negativa, no formadoras de endosporas y presentan una morfología en forma de cocobacilo. Son bacterias ácido-lácticas. La mayoría de las especies son consideradas no patógenas a diferencia de *W. confusa* que es patógeno oportunista en humanos y *W. ceti* como patógeno emergente en truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) (11). Su crecimiento en

agar sangre se observan colonias redondas, opacas, hemólisis  $\alpha$ , ligeramente convexa (5,6,12).

Son quimiorganotrofos facultativamente anaerobias con un metabolismo estrictamente fermentativo. Estas bacterias no poseen citocromos y llevan a cabo la fermentación de la glucosa de forma heterofermentativa, utilizando las rutas del monofosfato de hexosa y de la fosfocetolasa. Los productos finales de esta fermentación incluyen ácido láctico (algunas especies producen exclusivamente el isómero D(-), mientras que otras generan tanto D(-) como L(+)), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), etanol y/o acetato Tabla 1(3,13).

**Tabla 1.** Tabla comparativa con información fenotípica y química de *Weissella ceti* y *Weissella tructae*, dos especies asociadas comúnmente con infecciones en peces, especialmente truchas:

Característica	<i>Weissella ceti</i>	<i>Weissella tructae</i>
<b>Ambiente de aislamiento</b>	Peces de agua dulce (principalmente trucha arcoíris, <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )
<b>Metabolismo</b>	Fermentativo, heterofermentativo	Fermentativo, heterofermentativo
<b>Producción de ácido láctico</b>	Isómero D(-) predominante	Isómero D(-) predominante
<b>Crecimiento a 15 °C</b>	Sí	Sí
<b>Crecimiento a 42–45 °C</b>	No	No
<b>Hidrólisis de esculina</b>	Positiva	Negativa
<b>Producción de NH<sub>3</sub> a partir de arginina</b>	Negativa	Negativa
<b>Producción de dextrano</b>	No reportada	No reportada
<b>Movilidad</b>	No	No
<b>Catalasa</b>	Negativa	Negativa
<b>Gram</b>	Positiva	Positiva
<b>Asociación patológica</b>	Agente emergente de enfermedad sistémica en truchas	Aislada de truchas enfermas (rol patógeno menos claro)
<b>Genoma secuenciado</b>	Sí (disponible en GenBank)	Sí (también disponible)

Fuente: (3,6,13,14)

Estas bacterias presentan exigencias nutricionales complejas, requiriendo péptidos, aminoácidos, carbohidratos fermentables, ácidos nucleicos, ácidos grasos y vitaminas para su desarrollo. Todas las especies del género *Weissella* son capaces de crecer a 15 °C, y algunas pueden tolerar temperaturas de hasta 42–45 °C. La producción de dextrano, la hidrólisis de esculina y la generación de amoníaco a partir de arginina son características fenotípicas variables entre especies, útiles para su identificación (11).

### 3.3. Etiología y antecedentes

El género *Weissella* fue aislado por primera vez en una granja de truchas en china, sin embargo, la identificación no llegó hasta especie (13). En el 2011, Vela et al, realizaron

un estudio del microbiota de ballena picuda (*Mesoplodon bidens*), y obtuvieron 9 aislamientos de diferentes órganos en cuatro animales; la característica morfológica fue colonias Gram positivas, catalasa negativa y forma de bastón corto o cocoide. En los análisis moleculares y filogenéticos mostraron una similitud del 96.3% y 96% a *Weissella viridescens* y *Weissella minor*. De acuerdo con la evidencia basada en la filogenia, en sus características fisiológicas y fenotípicas propusieron una nueva especie denominada *Weissella ceti* sp. Nov. (5).

### 3.3.1. Estudios de brotes de Weiselosis en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

En 2009 se reportó un brote causado por una nueva cepa de *Weissella* sp., que afectó una granja de producción de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en China durante 2007. Los peces presentaban hemorragias en los ojos, la región anal, el intestino y la pared abdominal, así como petequias hepáticas. Los aislamientos bacterianos obtenidos mostraron características compatibles con *Weissella* sp.: bacterias Grampositivas, catalasa-negativas, inmóviles y con morfología de bacilos cortos e irregulares. El análisis filogenético del gen del ARN ribosomal 16S reveló que los aislados estaban filogenéticamente relacionados con *W. halotolerans*, *W. viridescens* y *W. minor* (13).

En Brasil, Figueiredo et al. (2012) documentaron brotes en tres granjas de trucha arcoíris situadas en diferentes estados, durante los años 2008 y 2009. Los peces afectados presentaban anorexia, letargia, exoftalmia, ascitis y hemorragias orales y linguales. Los aislamientos correspondieron a cocos Gram positivos, catalasa y oxidasa negativos, con actividad hemolítica alfa variable. Los análisis moleculares mostraron un 98 % de similitud con una cepa previamente aislada en China, destacando su relevancia en sistemas de producción intensiva y evidenciando la expansión del patógeno al continente sudamericano.

En 2011 se presentó un brote en una granja de truchas en Estados Unidos. Los signos clínicos incluyeron oscurecimiento del tegumento, nado errático y letárgico, exoftalmia bilateral, opacidad corneal, hemorragia ocular, ruptura corneal y en algunos casos, hemorragia cerebral. El análisis del gen 16S rRNA reveló un 99 % de similitud con las cepas aisladas en brotes previos de China y Brasil (6).

Ese mismo año, Japón reportó brotes de Weiselosis en una granja ubicada en el sur del país. Las condiciones comunes a estos eventos incluyeron el uso de estanques de concreto y temperaturas del agua entre 16 y 20 °C. Los peces afectados presentaron signos clínicos similares a los reportados en brotes anteriores de *W. ceti* en otros países. Es relevante destacar que el primer brote en Japón coincidió temporalmente con el brote en Estados Unidos, lo cual sugiere una posible diseminación internacional del patógeno (16).

Paralelamente, Vela et al. (2011) describieron formalmente la especie *Weissella ceti*, aislada de una ballena picuda varada en Europa. Aunque no se reportó su patogenicidad en peces, este estudio proporcionó una base taxonómica importante para futuras investigaciones en ambientes acuáticos (5).

En 2015, en la Ciudad de México, Castrejón-Nájera reportó por primera vez un brote de Weiselosis en el que se registró una mortalidad del 60 % en una población de 20,000 truchas arcoíris. Los signos clínicos incluyeron oscurecimiento del tegumento, distensión abdominal, exoftalmia, opacidad corneal, manchas hepáticas blancas diseminadas y hemorragias en la vejiga natatoria y ovarios. Los análisis bacteriológicos evidenciaron colonias pequeñas, blancas, circulares y lisas, con morfología de cocobacilos Gram positivos irregulares. El análisis filogenético mostró un 99.4 % de similitud con *Weissella* sp. (17).

En 2018, Medina et al. reportaron por primera vez la presencia de Weiselosis en seis granjas de trucha ubicadas en el Lago Titicaca, Perú, con una mortalidad del 60 %. Los peces afectados presentaron exoftalmia unilateral o bilateral, hemorragias oculares y melanosis. La necropsia reveló hemorragias severas en vejiga natatoria, cerebro, hígado y músculo, además de esplenomegalia y congestión intestinal. El cultivo microbiológico en agar sangre mostró colonias circulares planas con bordes lisos y zona de  $\alpha$ -hemólisis. El análisis molecular y bioquímico confirmó la presencia de *Weissella ceti*, sin variaciones genéticas entre los aislamientos peruanos (14).

En 2020, Vásquez-Machado et al. reportaron la presencia de *W. ceti* en Colombia. El brote afectó varias granjas que compartían una fuente hídrica común, con temperaturas

superiores a 17 °C. Se observaron signos clínicos como letargia, anorexia y nado errático cerca de la superficie o contra las paredes. Los análisis bacteriológicos revelaron colonias blancas con actividad  $\alpha$ -hemolítica; la tinción de Gram mostró cocobacilos Gram positivos, y las pruebas bioquímicas indicaron catalasa negativa. El análisis molecular confirmó que los aislamientos correspondían a *Weissella ceti* (12).

La aparición de *W. ceti* en distintos continentes en un periodo relativamente corto pone en evidencia su carácter emergente y su creciente distribución geográfica. Se han identificado diferencias significativas en la virulencia, características fenotípicas y genómicas entre las especies del género *Weissella*, lo que subraya la necesidad de estudios comparativos para desarrollar estrategias eficaces de diagnóstico, prevención y control (16).

- Patogénesis

*Weissella ceti*, cepa aislada inicialmente de una ballena picuda, crece a temperaturas moderadas (~22 °C) pero no a 15 °C. En contraste, su principal hospedador, la trucha arcoíris, tolera rangos térmicos de 9 a 15 °C, experimentando estrés progresivo a temperaturas superiores (5,18).

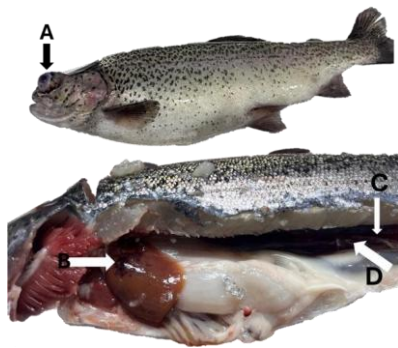
La capacidad de *W. ceti* para colonizar múltiples órganos como cerebro, bazo, hígado, riñón e intestino, su alta tasa de transmisión acuática y distribución geográfica global sugieren una adaptación patogénica, diferenciándose de otras especies del género *Weissella*. La enfermedad se ha asociado con temperaturas cercanas a 15 °C, que inhiben el crecimiento de la cepa aislada de ballena, apoyando la hipótesis de especialización en hospedadores acuáticos (6,19).

La Weiselosis afecta principalmente a peces adultos (0.5–1.0 kg), con mortalidad creciente en función del peso corporal (6,8,15).

En brotes en China, Brasil y EE.UU., temperaturas elevadas favorecieron la enfermedad, y las cepas demostraron capacidad de crecimiento hasta 45 °C, posiblemente vinculada a mayor virulencia y adaptación ambiental, especialmente bajo estrés térmico en cultivos intensivos (20).

Los signos clínicos incluyen exoftalmia unilateral/bilateral, hemorragias oculares y melanosis. Necropsias evidenciaron hemorragias severas en vejiga natatoria, cerebro, hígado y músculo, esplenomegalia y congestión intestinal. La histología mostró hemorragia retrobulbar con infiltración macrófaga, necrosis multifocal, meningitis, esplenitis y epicarditis. Ensayos experimentales confirmaron la patogenicidad de *W. cети* en trucha arcoíris (Figura 1) (3,6,12).

La consistencia en signos clínicos y alta mortalidad sugiere que, sin medidas de control, la *Weiselososis* puede causar pérdidas económicas significativas (12).



**Figura 1.** Lesiones macroscópicas de órganos en Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). A. Exoftalmia  
B. Petequias en hígado C y D Hemorragia en Vejiga natatoria y riñón. Imagen de autor

Figueiredo et al. (2015) compararon genomas de tres cepas brasileñas de (WS08, WS74 y WS105), identificando genes de virulencia como hemolisinas, adhesinas y sistemas de secreción, junto a islas de patogenicidad y genes de resistencia antibiótica, incluyendo bombas de eflujo multidroga. Este repertorio genético facilita la adaptación ambiental y la evasión inmunitaria. Asimismo, se detectaron genes relacionados con adaptación al frío, que podrían explicar la infección en ambientes fríos (20).

- Análisis moleculares para la identificación de *Weissella* sp.

La identificación de *Weissella* spp. se han confirmado mediante caracterización fenotípica y secuenciación del gen del ARNr 16S (21). El genoma de *Weissella ceti*, está conformado por un cromosoma circular de 1,355,853 pares de bases (bp) y tiene un contenido de G+C de 40.78%. Se han identificado 1365 genes, de los cuales están divididas en: 1,269 secuencias codificantes putativas. 1 Pseudogén con una mutación de cambio de marco en comparación con el genoma de *W. ceti* NC36, 19 ARN ribosomales (rRNAs), que representan 6 operones completos de rRNA más un gen adicional de 5S, 75 ARN de transferencia (tRNAs), de los cuales 2 no pudieron ser determinados, 1 ARN mensajero de transferencia (tmRNA) Figura 1 (8,15).

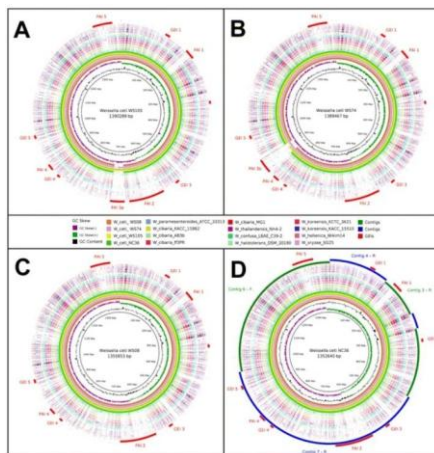


Figura 2. Genoma de *Weissella ceti* aislados de Trucha arcoíris en Brasil. Tomado de Figueiredo *et al.* 2015

Snyder *et al.* (2024) propusieron dos herramientas clave para el diagnóstico de *Weissella ceti*, identificada en Estados Unidos. La primera es una PCR dúplex, que amplifica secuencias específicas tanto del género *Weissella* como de la cepa *W. ceti*. Esta técnica permite la detección rápida de la bacteria en cultivos bacteriológicos y tejidos infectados, sin necesidad de realizar la secuenciación del gen 16S rRNA (22).

Entre las ventajas del uso de esta PCR convencional se destaca su capacidad para proporcionar una identificación rápida y económica, reduciendo los costos y el tiempo

asociado con métodos moleculares más complejos. Además, contribuye a prevenir errores en la identificación, al evitar la confusión con otras bacterias Grampositivas fenotípicamente similares, como especies del género *Streptococcus*. Esta técnica también permite diferenciar *W. cetii* de otras cepas o especies dentro del mismo género, facilitando la detección de variantes emergentes o potencialmente patógenas. Su alta especificidad garantiza que no se amplifiquen otras bacterias, lo que se traduce en resultados confiables. Asimismo, su aplicación en muestras de campo la convierte en una herramienta útil para confirmar infecciones directamente en tejidos recolectados durante brotes (22).

La segunda herramienta es la qPCR (PCR cuantitativa), diseñada para cuantificar la carga bacteriana directamente en tejidos infectados mediante un locus específico de *W. cetii*. Esta metodología no solo permite medir la carga del patógeno, sino que también resulta fundamental en estudios epidemiológicos para comprender la dinámica de la infección. Entre los beneficios de la qPCR se encuentra su capacidad para proporcionar una cuantificación precisa de la carga patógena sin necesidad de un cultivo previo, lo que simplifica y acelera el proceso diagnóstico. Además, posee una alta sensibilidad, capaz de detectar niveles bacterianos bajos que podrían pasar desapercibidos con métodos tradicionales. Los resultados obtenidos mediante qPCR muestran una fuerte correlación con los conteos de unidades formadoras de colonias (CFU), lo que valida su precisión. Esta técnica también es altamente flexible, ya que permite el análisis de tejidos frescos, congelados o conservados en RNAlater, lo cual facilita el manejo de muestras desde el campo. Asimismo, su uso en estudios epidemiológicos contribuye a identificar rutas de transmisión y a comprender la dispersión espacial y temporal del patógeno. En conjunto, estas dos herramientas —la PCR convencional y la qPCR— representan avances significativos en el diagnóstico, monitoreo y control de la Weiselosis en sistemas acuícolas, al permitir una detección temprana y precisa de *Weissella cetii* (22).

En este contexto, el uso de herramientas genómicas ha sido esencial para diferenciar entre *W. cetii* y *W. tructae*, especialmente en regiones donde los métodos tradicionales de fenotipificación resultan insuficientes para una identificación precisa (16,20,21).

### 3.4. Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

- Características morfológicas de Trucha arcoíris



**Figura 3.** Representación grafica de Trucha Arcoíris

#### **Taxonomía:**

**Reino:** Animalia

**Phylum:** Craniata

**Clase:** Actinopterygii

**Orden:** Salmoniformes

**Familia:** Salmonidae

**Género:** *Oncorhynchus*

**Especie:** *Oncorhynchus mykiss*

**Nombre común:** Trucha arcoíris

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Richardson, 1836) es un pez de la familia de los salmónidos, caracterizado por su cuerpo alargado y fusiforme, así como por una cabeza relativamente pequeña que termina en una boca grande, puntiaguda y hendida a la altura de los ojos. Esta boca posee una fila de dientes fuertes en cada mandíbula, lo que le permite sujetar con firmeza a sus presas.

En la parte media del cuerpo se encuentra la primera aleta dorsal, compuesta únicamente por radios blandos. Detrás de esta aparece una pequeña aleta adiposa, cuya función aún no se conoce con certeza. En la parte ventral, justo enfrente de la aleta adiposa, se sitúa la aleta anal. Ambas aletas contribuyen a la dirección del nado, actuando como timón.

Las aletas pares incluyen las pectorales, ubicadas en la parte anterior del cuerpo y responsables de la estabilidad, y las pélvicas o ventrales, localizadas hacia la zona medio posterior, que funcionan como remos. El cuerpo termina en una aleta caudal homocerca, que cumple una función propulsora.

El nombre científico del género *Oncorhynchus* significa "nariz ganchuda", una característica especialmente pronunciada en los machos durante la época reproductiva, cuando desarrollan un abultamiento o gancho en la mandíbula inferior (prognatismo).

El nombre común "arcoíris" proviene de la presencia de numerosos puntos negros distribuidos por el cuerpo y una banda iridiscente que recorre los flancos del pez. Esta coloración puede variar durante la madurez sexual, observándose un notable oscurecimiento en los machos (23).

- Producción de trucha

La trucha arcoíris es originaria de las cuencas hidrográficas que desembocan en el océano Pacífico en América del Norte, desde Alaska hasta México. A partir de 1874, esta especie fue introducida en cuerpos de agua de todos los continentes, con excepción de la Antártida, principalmente con fines recreativos para la pesca deportiva y para el desarrollo de la acuicultura. Su producción experimentó una gran expansión en la década de 1950, gracias a la introducción de alimentos paletizados. Actualmente, las pesquerías de trucha se mantienen activas, o bien se practica su cultivo, en regiones altiplánicas de diversos países tropicales y subtropicales de Asia, el este de África y Sudamérica (24,25).

Durante las dos últimas décadas (2000–2020), la producción acuícola a nivel mundial ha experimentado un crecimiento significativo, pasando de aproximadamente 40 millones de toneladas en el año 2000 a 87.5 millones de toneladas de animales acuáticos en 2020, destinados principalmente al consumo humano. Este aumento representa un notable incremento del 120%. Según datos de 2022, tanto la pesca extractiva como la acuicultura han contribuido a este crecimiento, especialmente en Asia, donde la acuicultura ha registrado una notable expansión (26).

El consumo anual de pescado por persona es de solo 4,5 kg, debido a que la población rural no lo consume habitualmente. Además, existe poca información sobre las especies ícticas autóctonas de aguas frías (26).

- Trucha arcoíris y su producción en Colombia

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es una especie foránea cuya población se mantiene mediante la importación continua y masiva de ovas, principalmente desde centros de producción en Estados Unidos hacia zonas de cultivo en regiones de alta montaña en Colombia. Esta dinámica ha consolidado a la trucha arcoíris como una de

las especies más relevantes en la acuicultura de aguas continentales del país. Su introducción data de 1939, cuando fue liberada en el Lago de Tota (Boyacá), con el propósito de repoblar cuerpos de agua de uso público en la región Andina para la práctica de la pesca deportiva. En la actualidad, el departamento de Antioquia lidera la producción nacional, seguido por Cundinamarca y Boyacá (27,28).

El lago Tota, ubicado a 3.020 metros sobre el nivel del mar, alberga especies autóctonas como *Pygidium bogotense* y *Grandulus bogotensis*, además de la trucha arco iris, introducida en 1939, inicialmente en este lago y posteriormente en el embalse Neusa y otras masas de agua continentales. Entre 1982 y 1987 se introdujeron aproximadamente cuatro millones de alevines de trucha arco iris. La trucha arco iris es la única especie de agua fría cultivada en regiones frías de los departamentos de Quindío, Risaralda, Caldas, Antioquia, Santander, Boyacá y Cundinamarca. Actualmente, la producción se ha extendido a departamentos como Cauca, Huila, Nariño, Santander, Norte de Santander entre otros. El área cultivada abarca aproximadamente 15 hectáreas, con sistemas de producción en estanques de tierra, recubiertos con geomembrana o revestidos en concreto. El suministro de agua generalmente se realiza por gravedad, en grandes volúmenes y con altos recambios. Se emplean alimentos concentrados con un 48 % de proteína para la fase de iniciación y un 45 % para el crecimiento, con o sin pigmentos, sin el uso de fertilizantes. La densidad de cultivo es de aproximadamente 60 peces por metro cúbico, lo que equivale a una carga de 0.18 a 0.24 kg/m<sup>3</sup>. El rendimiento productivo estimado es de alrededor de 300 kg/m<sup>3</sup> por año. Además, también se desarrollan cultivos en jaulas flotantes ubicadas en lagos naturales y represas de aguas frías (27).

Con el fin de impulsar el desarrollo del sector acuícola en Colombia, se han implementado diversas políticas públicas, entre las cuales destaca la creación de la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP). Esta entidad tiene como propósito fortalecer y promover la actividad acuícola en el territorio nacional.

Colombia cuenta con una superficie total de 2.070.408 km<sup>2</sup>, compuesta por 1.141.748 km<sup>2</sup> de superficie terrestre y 928.660 km<sup>2</sup> de superficie marítima, incluyendo 1.600 km de

litoral en el mar Caribe y 1.300 km en el océano Pacífico centro-oriental, según datos del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC). Estas características geográficas brindan condiciones propicias para el desarrollo de la acuicultura (27).

Además, el país presenta ventajas naturales significativas, entre ellas:

- i) La presencia de múltiples cuencas hidrográficas que garantizan la disponibilidad de recursos hídricos.
- ii) La existencia de embalses y cuerpos de agua naturales aptos para el cultivo de especies acuáticas.
- iii) Condiciones climáticas con niveles de precipitación y temperatura óptimos para el desarrollo y cultivo de especies de peces tropicales.
- iv) Cuerpos de agua con un pH superior a 7,5 y altos niveles de oxígeno disuelto, condiciones ideales para el desarrollo acuícola (29).

En enero de 2025, Colombia ha logrado un aumento en las intenciones de exportaciones de productos pesqueros, con un crecimiento del 16,82% en comparación con el mismo mes del año anterior.

Según cifras de la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP), el país exportó 4.105 toneladas de peces de consumo, frente a las 3.514 toneladas exportadas en enero de 2024. Este crecimiento implica un aumento de US\$4.1 millones en las ventas, pasando de US\$25.1 millones a US\$29.3 millones en 2025.

Los cinco productos pesqueros con mayor valor en cuanto las intenciones de exportación fueron tilapia, con US\$18,1 millones y 2.415 toneladas; atún en conserva, con US\$4,5 millones y 982.015 kilos; camarón de cultivo, con US\$1,36 millones y 195.606 kilos; trucha, con US\$1,31 millones y 126.376 kilos; y langosta, con US\$1,1 millones y 38.450 kilos. Además, se destacan las intenciones de exportación de langosta provenientes de San Andrés y Providencia (SAI) y el Caribe, con un total de 35.547 kg (US\$1.065.985) y 3.356 kg (US\$85.440), respectivamente, cumpliendo con la cuota establecida para la especie (AUNAP).

## 4. Diseño metodológico

4.1. Prevalencia específica de *Weissella* sp. en la casuística de aislamientos obtenidos en Corpavet y MolecularVet en el periodo 2020 a 2024.

### 4.1.1. Brotes

En el periodo comprendido entre 2020 y 2024, se evaluaron 6 diferentes departamentos de Colombia (Risaralda, Antioquia, Huila, Boyacá, Santander y Cundinamarca) que presentaron brotes compatibles con Weiselosis. Los signos clínicos predominantes incluyeron letargo, exoftalmia, ascitis y hemorragias localizadas en la región ocular, hígado con petequias, vejiga natatoria. Durante los brotes, se recolectaron pool de tejidos (Vejiga natatoria, hígado, cerebro, ojo, riñón caudal) de muestras de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) afectadas, las cuales se conservaron a 4 °C en neveras portátiles y fueron transportadas al laboratorio de Corpavet® y MolecularVet® para su análisis bacteriológico.

### 4.1.2. Aislamiento y caracterización bioquímica

Para el aislamiento bacteriano, se tomaron muestras asépticas de cerebro, riñón, hígado y vejiga natatoria de peces enfermos y se realiza un pool de tejidos que son contenidas en bolsas estériles. Posteriormente se sembraron en agar sangre y agar MacConkey, incubándose a 30°C durante 24 horas. Para la caracterización morfológica se realizó tinción de Gram y descripción macroscópica de las colonias y se realizaron pruebas bioquímicas como catalasa con peróxido de hidrogeno al 3% y lectura de la observación de la hemólisis en agar sangre utilizando una fuente de iluminación para facilitar la diferenciación de los tipos de hemólisis.

Las cepas aisladas se conservaron a -80 °C en leche descremada (Skim Milk) hasta su posterior utilización.

#### 4.1.3. Análisis moleculares

Los aislamientos previamente obtenidos se reactivaron en caldo BHI incubándose a 30°C durante 24 horas, posterior a ello se realiza siembra en agar sangre para verificar la pureza de la colonia. Se documentó la morfología de las colonias y se realizó tinción de gram; una vez se confirma su pureza se envían para análisis molecular en solución salina tamponada con fosfato (PBS) y así mismo realizar la extracción del ADN usando el kit comercial Canvax siguiendo las instrucciones del proveedor.

Para la identificación de *Weissella* sp. se amplificó el gen 16S rRNA, siguiendo la metodología de Jang et al., 2002. La Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR (por sus siglas en inglés) se llevó a cabo con reacciones de un volumen total de 25ul con 2ul de DNA total, 21ul DreamTaq PCR Máster Mix (2x) (canvax), 1ul de cada primer (20uM). Los primers específicos del género *Weissella* utilizados fueron WeiF (S-G-Wei-0121-a-S-20) 5'-CGTGGGAAACCTACCTCTTA-3' y WeiR (S-G-Wei-0823-a-A-18): 5'-CCCTCAAACATCTAGCAC-3', produciendo fragmentos de PCR de 725 pb solo de la especie *Weissella* (Figura 4) (30). Las amplificaciones se llevaron a cabo en el termociclador BioRad, EE. UU. con las siguientes condiciones: un ciclo de desnaturalización de 5 min a 95 °C. Se realizaron treinta ciclos a 95 °C durante 30 s, 55 °C durante 45 s y 72 °C durante 1 min. La extensión final se realizó a 72 °C durante 7 min. Se incluyeron en la PCR un control negativo (sin ADN molde) y un control positivo de *Weissella* sp.

Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 1 % (p/v) en una solución tampón de Tris-borato-EDTA 0,5 U a 80 V; 300 Ma durante 30 min. Los geles se tiñeron con una solución de bromuro de etidio y fueron revelados en un Transiluminador de luz UV.

Especie	Nombre / Sentido	Secuencia 5' – 3'	Blanco	Amplicón
<i>Weissella</i> sp.	WeiF (S-G-Wei-0121-a-S-20)	CGTGGGAAACCTACCTCTTA	16S rDNA	725 bp
	WeiR (S-G-Wei-0823-a-A-18).	CCCTCAAACATCTAGCAC		

**Tabla 2.** Primers del Kit Biolabs utilizados para la identificación de género *Weissella* sp. para los aislamientos obtenidos.

Para evaluar la calidad de DNA, se realizó la cuantificación en un espectrofotómetro (NanoDrop™ 2000), teniendo en cuenta los índices de pureza y calidad.

#### 4.2 Análisis Genómico Comparativo de Aislamientos de *Weissella* sp. mediante Secuenciación del Genoma Completo (WGS)

La secuenciación del genoma completo bacteriano fue realizada por Plasmidsaurus (Eugene, OR) utilizando la tecnología Oxford Nanopore Technology (ONT) y su servicio estándar de secuenciación de genomas bacterianos (<7 Mb). El ensamblaje y la anotación del genoma se llevaron a cabo mediante la canalización estándar de Plasmidsaurus ([https://plasmidsaurus.com/bacteria\\_sequencing](https://plasmidsaurus.com/bacteria_sequencing)).

Las bibliotecas de secuenciación se construyeron empleando la química de preparación de bibliotecas v14 y se secuenciaron en celdas de flujo R10.4.1. El ensamblaje se generó eliminando primero las lecturas de baja calidad (5%) y submuestreando las lecturas restantes hasta 25 Mb mediante Filtlong v0.2. Un bosquejo preliminar del ensamblaje se creó con Miniasm v0.3, y las lecturas se redujeron posteriormente a una cobertura aproximada de 100x. Luego, las lecturas se ensamblaron con Flye v2.9.1, seleccionando parámetros para lecturas de alta calidad, y el ensamblaje resultante fue anotado utilizando Bakta v1.6.1.

Los datos de secuenciación fueron depositados en NCBI bajo el BioProject PRJNA1331700, Biosamples SAMN51619769–SAMN51619777. Los genomas se reanotaron utilizando la canalización automatizada de anotación de genomas procariontes (PGAP). El análisis de tipificación de secuencias multilocus (MLST) se realizó mediante la canalización AutoMLST, configurada en modo de novo y con los parámetros predeterminados (Alanjary et al., 2019).

#### 4.3. Construcción de árbol filogenético

La alineación múltiple de genomas completos se efectuó en CLC Genomics Workbench v25.0.2 utilizando la herramienta Whole Genome Alignment. Se seleccionó y concatenó un conjunto de 84 genes de copia única para la construcción del árbol filogenético (comparación de 84,032 pb). Se utilizó Model Finder para determinar el modelo evolutivo óptimo y se realizó un análisis por Máxima Verosimilitud con un bootstrap con 1000 réplicas mediante IQ Tree. El árbol filogenético fue visualizado con la herramienta Interactive Tree of Life v7 (iTOL) (<https://itol.embl.de/>) (Letunic et al., 2021).

El análisis por dendrograma de los perfiles espectrales principales incluyó la información de los genomas de referencia de *Weissella confusa* VTT E-133279 ([CP027563.1](#)), *Weissella tructae* W-1, [CP075544.1](#) y *Weissella ceti* CECT 7719 [CP074441.1](#) en comparación con los seis genomas de *Weissella tructae* Colombianos de los departamentos de Cundinamarca, Huila, Risaralda, Antioquia, Santander y Boyacá.

Comentado [A1]: Agregar la referencia de este programa

## 5. Resultados

5.1. Prevalencia específica de *Weissella* sp. en la casuística de aislamientos obtenidos en Corpavet y MolecularVet en el periodo 2020 a 2024.

5.1.1 Brotes de Weiselosis en Colombia

En el periodo de enero 2020 a Julio 2024 se observó prevalencia específica de identificación de *Weissella* spp. proveniente de tejidos de truchas con Weiselosis en un rango entre 15 al 50%. El año 2023 tuvo una sobre representación de aislamientos de *Weissella* sp. por un trabajo de investigación relacionado con la preparación de un coctel de fagos contra *Weissella tructae*. El año con mayor número de casos de campo identificados por vigilancia pasiva fue el 2022 con una prevalencia específica del 41% (Tabla 2).

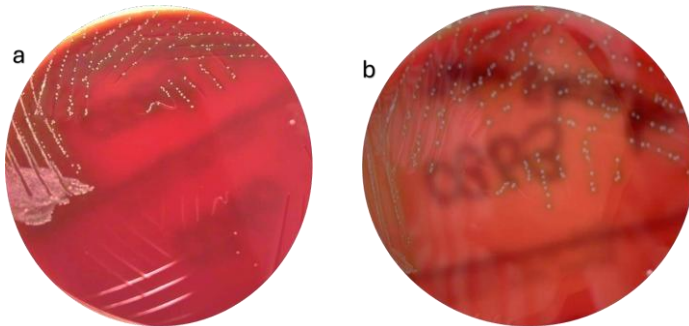
**Tabla 3.** Número de casos recibidos para aislamiento bacteriológico de tejidos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y aislamientos obtenidos de *Weissella* sp. en Corpavet® y MolecularVet® durante el periodo 2020 a 2024.

Año	N.º casos aislamiento bacteriológico trucha	Aislamientos de <i>Weissella</i> spp.	Prevalencia específica	Departamentos de aislamiento
2020	16	4	25%	Cundinamarca y Huila
2021	14	4	29%	Cundinamarca
2022*	27	11	41%	Risaralda y Antioquia
2023	581	289	50%	Antioquia, Risaralda y Cundinamarca
2024	13	2	15%	Santander y Boyacá
Total	651	310		

N.º: Número, \* El año con mayor número de casos de campo identificados por vigilancia pasiva fue el 2022 con una prevalencia específica del 41%

#### 5.1.2 Aislamiento y caracterización bioquímica

Se obtuvieron un total de 310 aislamientos sospechosos para *Weissella* spp. Las características macroscópicas de las colonias son circulares, blancas y opacas, con bordes regulares y elevación ligeramente convexas tras 24 a 48 horas de incubación a 25 °C (Figura 5a) en agar sangre. Se observa una clara actividad  $\alpha$ -hemolítica mediante un halo verdoso alrededor de las colonias (Figura 4a). Microscópicamente, se observan bacilos cortos o cocos grampositivos. Las pruebas bioquímicas revelaron actividad de catalasa negativa en acuerdo con las características del género *Weissella* (Figura 4b).



**Figura 4.** Descripción macroscópica de *Weissella* sp en agar sangre incubadas a 30°C por 24 horas: a. Morfología macroscópica de colonias compatibles con *Weissella* sp., b. Evaluación de la hemólisis:  $\alpha$ -hemolíticas.

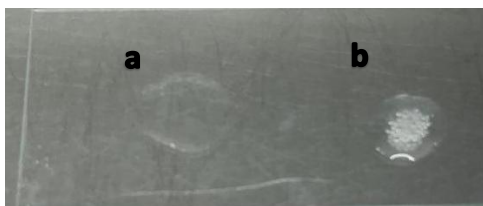
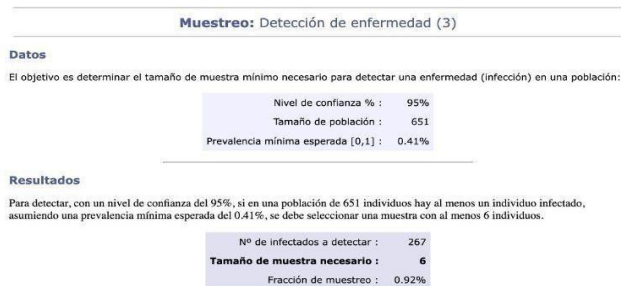


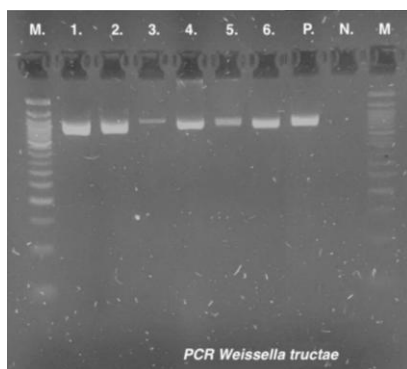
Figura 4b. a. Aislados de *Weissella* sp. catalasa negativa y b. *Aeromonas hydrophila* para comparación (catalasa positiva)

### 5.1.3 Análisis moleculares

Se obtuvieron un total de 310 aislamientos bacterianos positivos para *Weissella* sp., confirmados mediante la amplificación del gen 16S rRNA por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Figura 6). De acuerdo con el análisis estadístico realizado en la herramienta WinEpi, y considerando un nivel de confianza del 95% sobre los 651 casos procesados por vigilancia pasiva en los laboratorios Corpavet® y MolecularVet® durante el periodo 2020–2024, así como una prevalencia mínima esperada del 41% (Figura 5), se seleccionaron seis aislamientos representativos para el análisis de secuenciación del genoma completo (WGS). La selección se realizó de manera que cada aislamiento correspondiera a un Departamento diferente en los cuales se había detectado la presencia de *Weissella* sp.



**Figura 5.** Cálculo del número de muestras para WGS que permita identificar al menos un caso con una prevalencia mínima esperada del 41%. WinEpi.



**Figura 6.** Electroforesis de PCR de *Weissella* spp. aislados en Colombia; M: Escala de peso molecular (1000 a 50pb). Los números corresponden a los aislamientos enviados a secuenciar.

5.2. Datos de origen de las muestras analizadas, WGS y análisis filogenético

De acuerdo con los resultados obtenidos durante el periodo 2020 a 2024, se seleccionaron 6 muestras, preferiblemente de diferentes departamentos para la realización del WGS. En la tabla 4 se presenta la información de la identificación del archivo fasta, los departamentos de origen de los aislamientos, el grupo etario y la muestra recibida en el laboratorio para el aislamiento bacteriológico.

**Tabla 4.** Identificación de aislamientos de *Weissella* sp. para WGS

ID ARCHIVO	DPTO	GRUPO ETARIO	MUESTRA DE DONDE SE AISLÓ
CPV-319Wc_S30_L001.fasta	Risaralda	Engorde	Pools tejidos (hígado, bazo, vejiga natatoria, encéfalo)
CPV-343Wc_S33_L001.fasta	Antioquia	Engorde	Pools tejidos (hígado, bazo, vejiga natatoria, encéfalo)
CPV-406Wc_S34_L001.fasta	Huila	Engorde	Pools tejidos (hígado, bazo, vejiga natatoria, encéfalo)
CPV-340Wc_S31_L001.fasta	Cundinamarca	Engorde	Pools tejidos (hígado, bazo, vejiga natatoria, encéfalo)
CPV-BAC-370_S18_L001.fasta	Boyacá	Engorde	Pools tejidos (hígado, bazo, vejiga natatoria, encéfalo)
CPV-BAC-405_S19_L001.fasta	Santander	Engorde	Pools tejidos (hígado, bazo, vejiga natatoria, encéfalo)

Todos los aislamientos tuvieron una identificación del 99,99% como *Weissella tructae* en

comparación con el genoma de referencia W-1. Para *Weissella ceti* el porcentaje de identidad fue del 83,15% (Tabla 5).

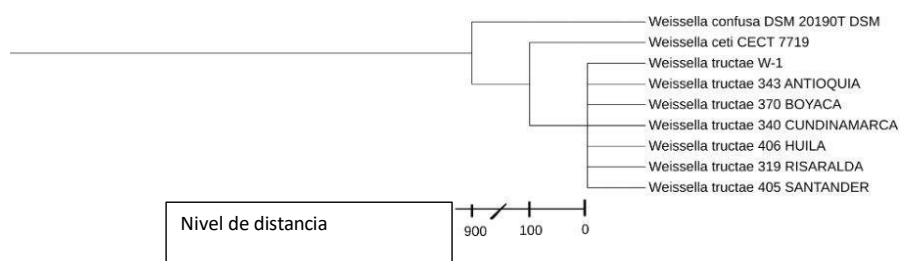
**Tabla 5.** Identificación de aislamientos de *Weissella tructae* de los departamentos de Risaralda, Antioquia, Huila, Cundinamarca, Boyacá y Santander

ID ARCHIVO	DPTO	Genom a (bp)	GC%	Identidad <i>W. tructae</i> W-1 (%)	Identidad <i>W. ceti</i> CECT 7719 (%)
CPV- 319Wc_S30_L001.fast a	Risaralda	1.324.2 36	40,6	99,99	83,15
CPV- 343Wc_S33_L001.fast a	Antioquia	1.326.0 31	40,6	99,99	83,15
CPV- 406Wc_S34_L001.fast a	Huila	1.322.9 81	40,6	99,99	83,15
CPV- 340Wc_S31_L001.fast a	Cundinama rca	1.324.2 58	40,6	99,99	83,15
CPV-BAC- 370_S18_L001.fasta	Boyacá	1.324.9 88	40,6	99,99	83,15
CPV-BAC- 405_S19_L001.fasta	Santander	1.326.2 19	40,61	99,99	83,15

### 5.3. Análisis filogenético y de distancias genómicas en *Weissella tructae*

#### 5.3.1 Análisis de distancia

Las cepas 343 Antioquia, 370 Boyacá, 340 Cundinamarca, 406 Huila, 319 Risaralda y 405 Santander estuvieron agrupadas en un subclado con la cepa de referencia *Weissella tructae* W-1, cuya distancia fue 0 mientras que la cepa *W. ceti* CECT 7719 se agrupó en otro subclado con un nivel de distancia aproximada de 100 de este subclado (Fig. 7). Esto confirma que los aislamientos de esta investigación de origen colombiano corresponden a la especie *W. tructae*

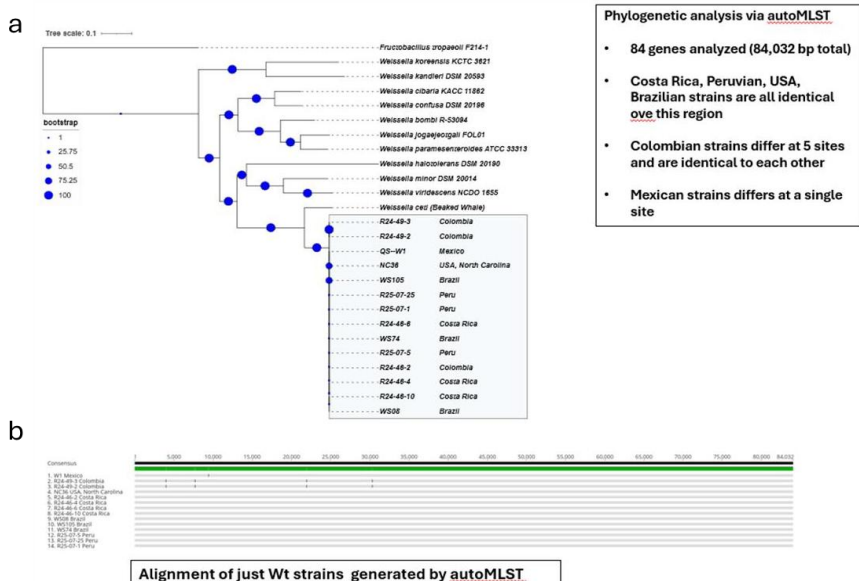


**Figura 7.** Análisis dendrograma de los perfiles espectrales principales personalizados de *Weissella ceti* CECT 7719 y *W. tructae* W-1, así como de los perfiles de *Weissella* spp. precargados 343 Antioquia, 370 Boyacá, 340 Cundinamarca, 406 Huila, 319 Risaralda y 405 Santander. El nivel de distancia es una unidad arbitraria, donde 1000 es la medida más lejana entre los perfiles espectrales principales comparados.

#### 5.3.2 construcción del árbol filogenético

El análisis filogenético basado en la concatenación de 84 genes ortólogos (84.032 pb) realizado mediante la plataforma AutoMLST permitió evaluar la relación genética entre las cepas de *Weissella tructae* aisladas en Colombia y aquellas reportadas en otros países (Tabla suplementaria 1). El árbol filogenético obtenido (Figura 5A) mostró que las cepas colombianas (R24-49-3 de Risaralda y R24-49-2 y de Antioquia) se agrupan en un mismo clado junto con cepas procedentes de Perú, Costa Rica, México, Brasil y Estados Unidos, evidenciando una alta similitud genética entre los aislamientos latinoamericanos.

La alineación de los 84 genes concatenados (Figura 5B) confirmó este resultado, revelando que 11 de las 14 cepas analizadas presentan una identidad del 100% en la región de 84.032 pb. Las cepas colombianas resultaron idénticas entre sí y difirieron del consenso en solo cuatro posiciones nucleotídicas, mientras que la cepa mexicana (QS-W1) mostró una única diferencia puntual, lo cual sugiere una estrecha relación filogenética entre los aislamientos de distintos orígenes geográficos.



**Figura 8:** a. Árbol filogenómico de máxima verosimilitud de cepas de *W. tructae* en relación con los parientes descritos más cercanos del género *Weissella*. b. Alineamiento múltiple de la región de 84 032 pb de las cepas de *W. tructae* analizadas. Los polimorfismos de un solo nucleótido se representan mediante líneas verticales.

Los resultados revelaron una alta identidad genética entre las cepas aisladas en Costa Rica, Perú, Brasil y Estados Unidos (Carolina del Norte), las cuales fueron idénticas en la región genómica analizada. Este hallazgo sugiere un posible origen común o una diseminación reciente de estas cepas entre diferentes sistemas de cultivo o regiones geográficas (24).

En contraste, las cepas colombianas (R24-49-3 de Risaralda y R24-49-2 y de Antioquia) mostraron cinco sitios de variación respecto al grupo principal, aunque entre ellas fueron idénticas, lo que indica una divergencia local. Por otro lado, la cepa mexicana (QS-W1) presentó una única diferencia puntual, posicionándose filogenéticamente muy cercana al clado principal (17). El alineamiento de las secuencias genómicas confirmó estos hallazgos, mostrando una elevada conservación entre los aislamientos, con escasas mutaciones puntuales distribuidas a lo largo del genoma. La elevada similitud genética observada refuerza la hipótesis de que estas cepas podrían compartir un ancestro común reciente, y que la variabilidad observada en Colombia y México podría responder a procesos de adaptación local o presión selectiva diferencial (20).

## 6. Discusión

### 5.1.2 Aislamiento y caracterización bioquímica

De un total de 310 aislamientos obtenidos, todas las cepas presentaron características fenotípicas compatibles con bacterias del género *Weissella* spp. En todos los casos, se observó cocos Gram positivos, catalasa negativa y con actividad alfa- hemolítica variable. Estos hallazgos son consistentes con las descripciones fenotípicas previamente reportadas para este género (2,20).

Macroscópicamente, las colonias presentaron una morfología característica: pequeñas, puntiformes, elevadas y de color grisáceo, sin evidencia de crecimiento en agar MacConkey. Este comportamiento concuerda con lo esperado para bacterias Gram positivas de crecimiento exigente (5).

Estas observaciones, junto con lo reportado en estudios taxonómicos y fisiológicos del género *Weissella* spp., refuerzan su identificación preliminar (10). Por su parte, aunque *W. tructae* ha sido aislada de peces enfermos, su rol como agente etiológico aún no se ha establecido con claridad (2,20).

### 4.2. Análisis Genómico Comparativo de Aislamientos de *Weissella* sp. mediante Secuenciación del Genoma Completo (WGS)

Los resultados obtenidos en este estudio muestran una alta identidad genética (99.99%) entre los aislamientos locales de *Weissella* y la cepa de referencia *Weissella tructae* W-1, lo que confirma que las cepas aisladas en Colombia pertenecen claramente a esta especie. Esta alta similitud respalda la hipótesis de que *W. tructae* es la especie predominante asociada a trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en el contexto nacional. Estos hallazgos son consistentes con los reportados por Pereira et al. (2022), quienes realizaron análisis filogenéticos, genómicos comparativos y fenotípicos entre cepas aisladas en granjas de Brasil y México. En su estudio, las cepas de *Weissella* aisladas en peces mostraron un 98.7% de similitud entre sí, pero una identidad significativamente menor (24.4%) con *Weissella ceti*, originalmente aislada en ballenas picudas. Este contraste genético permitió proponer la clasificación de *W. tructae* como una nueva especie, lo cual también se refleja en nuestros datos (7)

El bajo porcentaje de identidad (83.15%) con *W. ceti*, obtenido en el presente estudio, refuerza la separación taxonómica entre ambas especies. Aunque comparten características fenotípicas similares, como su morfología coco-bacilar y su presencia en tejidos infectados de animales acuáticos, los análisis filogenéticos muestran claramente que se trata de especies distintas. Esto también fue evidenciado por Vela et al. (2011),

quienes describieron *W. ceti* como una especie específica de mamíferos marinos, aunque posteriormente se detectó en peces, sugiriendo una posible adaptación cruzada (5).

Asimismo, estudios como los de Fusco et al. (2015) destacan la importancia del uso de marcadores moleculares de alta resolución para evitar errores en la clasificación taxonómica dentro del género *Weissella*, dado que las diferencias entre especies pueden ser sutiles a nivel fenotípico pero importantes genéticamente (2).

La clara identificación de *W. tructae* en los aislamientos colombianos también tiene implicaciones prácticas relevantes. Primero, permite ajustar estrategias de manejo sanitario en la acuicultura, considerando esta especie como un patógeno emergente específico. Segundo, sienta las bases para estudios epidemiológicos y de vigilancia molecular que permitan monitorear su dispersión y evolución, así como desarrollar probióticos específicos o vacunas basadas en la cepa local (28).

En conjunto, nuestros resultados apoyan la creciente evidencia internacional sobre la emergencia de *Weissella tructae* como un patógeno de importancia en sistemas de cultivo de trucha arcoíris y subrayan la necesidad de estudios genómicos más amplios que evalúen su diversidad intraespecífica en diferentes regiones geográficas.

### 5.3. Construcción de árbol filogenético

El análisis filogenético es una herramienta esencial para explorar la diversidad, la evolución y las relaciones taxonómicas entre cepas bacterianas (8). Los resultados muestran que las cepas colombianas se agrupan de manera consistente con *W. tructae* W-1, lo que indica una alta similitud genética y una clara pertenencia a esta especie. La dispersión geográfica de los aislamientos podría estar influenciada por factores locales, como el tipo de hospedador, las condiciones ambientales y las prácticas de producción regionales. En conjunto, estos hallazgos sugieren relaciones filogenéticas estrechas entre las cepas, compatibles con un origen común reciente.

Por otro lado, el estudio realizado por Pereira et al en 2022, abarca un amplio rango de especies y cepas del género *Weissella*, recolectadas entre 1950 y 2019 en distintos

países como España, China, Japón y Colombia. Este enfoque, de carácter más taxonómico y evolutivo, permite visualizar la diversidad global del género. La ampliación de una subregión del árbol muestra las relaciones filogenéticas entre diversas cepas de *W. ceti*, incluyendo varias provenientes de Colombia. Las subdivisiones dentro del clado de *W. ceti* podrían indicar la existencia de linajes diferenciados por región o incluso de subespecies en procesos de divergencia. La cercanía filogenética entre cepas de Colombia, China y España sugiere una distribución geográfica amplia, probablemente asociada a nichos ecológicos similares o a mecanismos de dispersión comunes como el comercio o la movilidad de hospedadores (7).

Los resultados de los alineamientos genómicos obtenidos mediante comparación de las cepas aisladas en seis departamentos de Colombia frente a *Weissella tructae* W-1 y *Weissella ceti* CECT 7719 revelan un patrón consistente en todos los aislamientos analizados. Este patrón es indicativo de una mayor similitud genómica entre los aislamientos colombianos y la cepa de *W. tructae* W-1, lo cual respalda su clasificación preliminar dentro de esta especie. Los alineamientos diagonales únicos son característicos de una alta identidad nucleotídica y una fuerte conservación del orden genético (sintenia), lo que refuerza la hipótesis de que estas cepas pertenecen al mismo grupo filogenético. Por el contrario, la fragmentación en la alineación con *W. ceti* sugiere divergencia genómica significativa, lo que permite descartar una identificación como *W. ceti* en estos casos. Además, el análisis genómico resulta esencial para confirmar la identidad bacteriana, especialmente en géneros como *Weissella*, donde las características fenotípicas pueden ser variables o compartidas entre especies cercanas (20).

En conjunto, la evidencia genética y fenotípica respalda la identificación de las cepas colombianas analizadas como pertenecientes a la especie *Weissella tructae*, destacando su distribución geográfica en diferentes regiones productoras de trucha en Colombia.

## 7. Conclusiones

*Weissella ceti* se ha consolidado como un patógeno emergente de relevancia en la acuicultura, especialmente en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), ocasionando importantes pérdidas económicas. Su diagnóstico se ve dificultado por su similitud fenotípica con otras bacterias, lo que hace imprescindible el uso de métodos moleculares específicos para una identificación precisa.

Aunque actualmente no existen tratamientos ni vacunas aprobadas específicamente para esta infección, la adopción de buenas prácticas de manejo y protocolos de bioseguridad representa la principal estrategia para su control. En este contexto, se hace indispensable continuar con investigaciones orientadas a entender su patogénesis, mecanismos de transmisión y desarrollar herramientas diagnósticas y profilácticas eficaces que permitan reducir su impacto en la industria acuícola.

El análisis filogenético de máxima verosimilitud, basado en la comparación de genomas completos, mostró que los seis aislamientos colombianos 343 (Antioquia), 370 (Boyacá), 340 (Cundinamarca), 406 (Huila), 319 (Risaralda) y 405 (Santander) se agrupan en un mismo clado con valores de soporte Bootstrap superiores al 90%, lo que indica una alta confiabilidad en la agrupación filogenética. Todos los genomas presentaron una identidad del 99,99% con la cepa de referencia *Weissella tructae* W-1, y mostraron un nivel de distancia menor a 10 unidades, confirmando su asignación taxonómica a esta especie. Estos resultados sugieren una estrecha relación evolutiva entre los aislamientos colombianos y respaldan su clasificación dentro del mismo linaje filogenético de *W. tructae* establecer contextos evolutivos y taxonómicos más amplios. Integrar ambos enfoques permite una caracterización más completa de las especies bacterianas y fortalece su potencial aplicación en sectores como la salud animal, acuicultura, alimentación funcional y biotecnología.

Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con lo reportado por Figueiredo et al. (2014), quienes describieron por primera vez a *Weissella tructae* a partir de aislamientos en trucha arcoíris y destacaron la conservación genómica entre las cepas mediante alineamientos diagonales continuos (20). De manera similar, los alineamientos disgregados y fragmentados observados en la comparación con *W. cети* concuerdan con los patrones descritos por Vela et al. (2011) y Ruiz-Zarzuela et al. (2013), quienes identificaron una mayor divergencia genómica y un perfil fenotípico diferenciado en esta especie. Además, estudios recientes de genómica comparativa, como los de Abriouel et al. (2015) y Lee et al. (2020), han reafirmado que la identidad nucleotídica alta y la conservación de los genes son indicativos de pertenencia a una misma especie, reforzando así el uso del análisis genómico como método definitivo de identificación taxonómica. Finalmente, este enfoque es particularmente pertinente en el caso del género *Weissella*, donde las características fenotípicas pueden resultar poco discriminativas, tal como ya había sido advertido por Vandamme et al. (1996). En conjunto, esta evidencia comparativa respalda sólidamente la clasificación de las cepas colombianas dentro de la especie *W. tructae* y contribuye al conocimiento sobre su distribución geográfica y diversidad genética en contextos acuícolas.

Los reportes de Weiselosis en trucha evidencian su potencial de diseminación global y el riesgo que representa para la industria acuícola y destaca la necesidad de vigilancia epidemiológica y control de la enfermedad en granjas de trucha arcoíris, además de proponer la Weiselosis como un problema sanitario importante para la acuicultura.

## Referencias

1. Collins MD, Samelis J, Metaxopoulos J, Wallbanks S. Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J Appl Bacteriol.* diciembre de 1993;75(6):595-603.
2. Fusco V, Quero GM, Cho GS, Kabisch J, Meske D, Neve H, et al. The genus *Weissella*: taxonomy, ecology and biotechnological potential. *Front Microbiol* [Internet]. 17 de marzo de 2015 [citado 3 de junio de 2025];6. Disponible en: [http://www.frontiersin.org/Food\\_Microbiology/10.3389/fmicb.2015.00155/abstract](http://www.frontiersin.org/Food_Microbiology/10.3389/fmicb.2015.00155/abstract)
3. Figueiredo HCP, Costa FAA, Leal CAG, Carvalho-Castro GA, Leite RC. *Weissella* sp. outbreaks in commercial rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Brazil. *Vet Microbiol.* mayo de 2012;156(3-4):359-66.
4. Lee MR, Huang YT, Liao CH, Lai CC, Lee PI, Hsueh PR. Bacteraemia caused by *Weissella confusa* at a university hospital in Taiwan, 1997–2007. *Clin Microbiol Infect.* agosto de 2011;17(8):1226-31.
5. Vela AI, Fernández A, Bernaldo De Quirós Y, Herráez P, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF. *Weissella ceti* sp. nov., isolated from beaked whales (*Mesoplodon bidens*). *Int J Syst Evol Microbiol.* 1 de noviembre de 2011;61(11):2758-62.
6. Welch TJ, Good CM. Mortality associated with *Weissellosis* (*Weissella* sp.) in USA farmed rainbow trout: Potential for control by vaccination. *Aquaculture.* abril de 2013;388-391:122-7.
7. Pereira FL, Dorella FA, Castrejón-Nájera J, Reis FYT, Ortega C, Irgang R, et al. Comparative polyphasic characterization of *Weissella* strains isolated from beaked whale and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): confirmation of *Weissella ceti* sp. nov. and description of the novel *Weissella tructae* sp. nov. isolated from farmed rainbow trout. *Braz J Microbiol.* diciembre de 2022;53(4):2263-72.
8. Ladner JT, Welch TJ, Whitehouse CA, Palacios GF. Genome Sequence of *Weissella ceti* NC36, an Emerging Pathogen of Farmed Rainbow Trout in the United States. *Genome Announc.* 28 de febrero de 2013;1(1):e00187-12.
9. Woese CR. Department of Microbiology, University of Illinois, Urbana, Illinois 6180.
10. Abriouel H, Lerma LL, Casado Muñoz MDC, Montoro BP, Kabisch J, Pichner R, et al. The controversial nature of the *Weissella* genus: technological and functional aspects versus whole genome analysis-based pathogenic potential for their application

in food and health. Front Microbiol [Internet]. 27 de octubre de 2015 [citado 3 de junio de 2025];6. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2015.01197/abstract>

11. Björkroth KJ, Schillinger U, Geisen R, Weiss N, Hoste B, Holzapfel WH, et al. Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov., detected in food and clinical samples. Int J Syst Evol Microbiol. 1 de enero de 2002;52(1):141-8.

12. Vásquez-Machado G, Rubiano-Garzón M, Yepes-Blandón J, Gordillo-González D, Avila-Coy J. Weissellosis in rainbow trout in Colombia. Braz J Vet Pathol. 26 de noviembre de 2020;13(3):575-80.

13. Liu JY, Li AH, Ji C, Yang WM. First description of a novel *Weissella* species as an opportunistic pathogen for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in China. Vet Microbiol. mayo de 2009;136(3-4):314-20.

14. Medina M, Fernandez-Espinel C, Sotil G, Yunis-Aguinaga J, Flores-Dominick V. First description of *Weissella ceti* associated with mortalities in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Peru. Aquaculture. diciembre de 2020;529:735608.

15. Figueiredo HCP, Leal CAG, Dorella FA, Carvalho AF, Soares SC, Pereira FL, et al. Complete Genome Sequences of Fish Pathogenic *Weissella ceti* Strains WS74 and WS105. Genome Announc. 30 de octubre de 2014;2(5):e01014-14.

16. Mitomi K, Hoai TD, Nishiki I, Yoshida T. First isolation of *Weissella ceti* responsible for outbreaks of weissellosis in farmed rainbow trout in Japan. J Fish Dis. mayo de 2018;41(5):847-50.

17. Castrejón-Nájera J, Ortega C, Fajardo R, Irgang R, Tapia-Cammas D, Poblete-Morales M, et al. Isolation characterization, virulence potential of *Weissella ceti* responsible for weissellosis outbreak in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Mexico. Transbound Emerg Dis. diciembre de 2018;65(6):1401-7.

18. Marancik DP, Welch TJ, Leeds TD, Wiens GD. Acute Mortality, Bacterial Load, and Pathology of Select Lines of Adult Rainbow Trout Challenged with *Weissella* sp. NC36. J Aquat Anim Health. 1 de diciembre de 2013;25(4):230-6.

19. Kamboj K, Vasquez A, Balada-Llasat JM. Identification and significance of *Weissella* species infections. Front Microbiol [Internet]. 31 de octubre de 2015 [citado 3 de junio de 2025];6. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2015.01204/abstract>

20. Figueiredo HCP, Leal G, Pereira FL, Soares SC, Dorella FA, Carvalho AF, et al. Whole-Genome Sequence of *Weissella ceti* Strain WS08, Isolated from Diseased Rainbow Trout in Brazil. *Genome Announc.* 28 de agosto de 2014;2(4):e00851-14.
21. Janda JM, Abbott SL. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *J Clin Microbiol.* septiembre de 2007;45(9):2761-4.
22. Snyder AK, Hinshaw JM, Welch TJ. Diagnostic tools for rapid detection and quantification of *Weissella ceti* NC36 infections in rainbow trout. *Lett Appl Microbiol.* 1 de febrero de 2015;60(2):103-10.
23. Rosado R. Aspectos basicos para el cultivo de trucha arcoiris. En [citado 14 de mayo de 2025]. Disponible en: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/19714/65034\\_27478.pdf?sequence=1&isAllowed=y](chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/19714/65034_27478.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
24. D'Agaro E, Gibertoni P, Esposito S. Recent Trends and Economic Aspects in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Sector. *Appl Sci.* 31 de agosto de 2022;12(17):8773.
25. FAO - *Oncorhynchus mykiss* [Internet]. [citado 15 de mayo de 2025]. Disponible en: [https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/l1129m/file/es/es\\_rainbowtrout.htm](https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/l1129m/file/es/es_rainbowtrout.htm)
26. Duman M, Altun S, Saticioglu IB, Romalde JL. A review of bacterial disease outbreaks in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reported from 2010 to 2022. *J Fish Dis.* 15 de noviembre de 2023;jfd.13886.
27. Carrera-Quintana SC, Gentile P, Girón-Hernández J. An overview on the aquaculture development in Colombia: Current status, opportunities and challenges. *Aquaculture.* diciembre de 2022;561:738583.
28. Leal LA, Ángel-Ospina AC, Ramos JAL, Machuca-Martínez F. Aquaculture sector in Colombia: Uncovering sustainability, transformative potential, and trends through bibliometric and patent analysis. *Aquaculture.* marzo de 2025;598:742068.
29. Fedecua. Plan Nacional para el Desarrollo de la Acuicultura Sostenible en Colombia - PlaNDAS.
30. Jang J, Kim B, Lee J, Kim J, Jeong G, Han H. Identification of *Weissella* species by the genus-specific amplified ribosomal DNA restriction analysis. *FEMS Microbiol Lett.* junio de 2002;212(1):29-34.

31. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. Battistuzzi FU, editor. Mol Biol Evol. 25 de junio de 2021;38(7):3022-7.
32. Vandamme P, Pot B, Gillis M, Vos PD, Kersters K, Swings J. Polyphasic Taxonomy, a Consensus Approach to Bacterial Systematics.
33. Costa FAA, Leal CAG, Schuenker ND, Leite RC, Figueiredo HCP. Characterization of *Weissella ceti* infections in Brazilian rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), farms and development of an oil-adjuvanted vaccine. J Fish Dis. marzo de 2015;38(3):295-302.