

Primera experiencia de infección experimental de esturión siberiano (*Acipenser baerii*) con *Streptococcus dysgalactiae*.

Perretta, A.¹; Letamendía, M.¹; Carnevia, D.¹ y Conijesky, D.²

¹Acuicultura y Patología de Organismos Acuáticos - Instituto de Investigaciones Pesqueras - Facultad de Veterinaria. Tomás Basañez 1160 - Montevideo.

²Esturiones del Río Negro, Rambla 25 de Agosto 410, Montevideo, Uruguay.

aleperretta@gmail.com

Palabras clave: Ictiopatología, acipensericultura, estreptococosis.

Resumen

La estreptococosis es una patología emergente en el cultivo de peces en todo el mundo. El objetivo de este trabajo es describir la patología derivada de la infección experimental con *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* en esturiones siberianos (*Acipenser baerii*) mantenidos en condiciones de estrés, así como comenzar a desarrollar un modelo experimental para estudios de patogenicidad, control y tratamientos de la estreptococosis. La cepa provino de un aislamiento de campo desde un esturión de cultivo con un cuadro de estreptococosis, se identificó con el kit API 20 Strep (98% de confiabilidad). Se emplearon esturiones confirmados como no portadores de estreptococos mediante análisis bacteriológico de un número representativo de animales provenientes del mismo lote. Los animales fueron divididos en tres grupos de cinco ejemplares, alojándolos en peceras de 150 litros y mantenidos a 23 – 25°C. Dos grupos se inocularon con 0,5 mL de una suspensión de *S. dysgalactiae equisimilis* en suero fisiológico a una concentración superior a Mc. Farland 5 (1.5×10^9 ufc/mL), intraperitonealmente. El tercer grupo (control) se inoculó con suero fisiológico i/p. A los dos días aparecen signos clínicos: nado errático, zonas hemorrágicas en base de aletas, hemorragias periorales y perianales. Dos animales mueren presentando a la necropsia congestión y hemorragia en mucosa de tubo digestivo posterior, hígado friable, vejiga natatoria distendida y con contenido líquido. Estos signos y síntomas coinciden con los aparecidos en epizootias a campo. La morbilidad fue del 60 % y la mortalidad del 20 %. El *Streptococcus* fue reaislado desde cerebro de animales muertos y de animales con signos clínicos. Es posible contar con una metodología de infección experimental en esturión estableciéndose un periodo mínimo de incubación de dos días para aparición de cuadros clínicos en condiciones de stress térmico.

Introducción

La cría de esturiones es el principal rubro de producción acuícola existente en nuestro país. El cultivo se desarrolla con éxito desde hace más de diez años a pesar de que se han detectado varias patologías afectando la producción, fundamentalmente durante episodios de estrés prolongado como lo son las temperaturas estivales de nuestro país (Perretta *et al.*, 2007 a y b). Las patologías derivadas de la infección con estreptococos (estreptococosis) son un fenómeno emergente en ictiopatología, observándose un aumento en la aparición de estos patógenos a medida que se intensifica el cultivo de algunas especies relevantes en todo el mundo (Woo & Bruno, 1999).

El objetivo de este trabajo es describir la patología derivada de la infección con *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* en esturiones siberianos (*Acipenser baeri*) mantenidos en condiciones de estrés, así como comenzar a desarrollar un modelo experimental para estudios de patogenicidad, control y tratamientos de la estreptococosis.

Materiales y Métodos

Se emplearon 15 esturiones siberianos (*Acipenser baeri*) con una talla promedio de 23 cm. totales y una edad aproximada de 12 meses, todos provenientes de una misma generación de desoves. Estos ejemplares fueron extraídos al azar de un lote comercial evaluado previamente y confirmado como libre de portadores asintomáticos de *Streptococcus* sp. y otros patógenos bacterianos mediante análisis bacteriológico de un número representativo de animales.

Se formaron tres grupos de cinco peces cada uno, los cuales fueron alojados en acuarios de vidrio de 150 litros, con filtración biológico – mecánica, sin recambio de agua y a una temperatura de entre 23 y 25°C (los animales no se alimentaron durante la experiencia).

La cepa bacteriana empleada para la infección provino de un aislamiento de campo realizado a partir de un esturión de cultivo con un cuadro de estreptococosis, la identificación se hizo empleando el kit API 20 Strep de Biomerieux, obteniéndose un 98% de confiabilidad en los resultados. A partir de un cultivo puro de *Streptococcus dysgalactiae equisimilis*, con 24 horas de crecimiento en agar sangre, se realizó una suspensión bacteriana en suero fisiológico con una concentración superior a Mc. Farland 5 ($1,5 \times 10^9$ ufc/mL).

Dos de los grupos de esturiones se inocularon vía intraperitoneal con 0,5 mL de la suspensión bacteriana, al otro grupo se le inyectó 0,5 mL de suero fisiológico vía intraperitoneal.

Se tomaron registros diarios de los signos clínicos observados en los peces a partir del día de la inoculación, en los animales hallados muertos se realizó la necropsia y se tomaron muestras desde encéfalo para aislamiento bacteriano, según método descrito por Noga (Noga, E; 1996); del mismo modo se procedió con los animales encontrados agonizando, previo sacrificio por sobredosis de anestésico (Camevia et al., 2006).

Resultados

En la siguiente tabla se presentan los principales signos clínicos, hallazgos de necropsia y bacteriológicos resultantes de la infección experimental. Se tomó como día cero de la experiencia al momento de inoculación de los animales. A su vez se distingue en la tabla entre los animales hallados muertos (HM) o sacrificados (S) para la realización de necropsia. Se obtuvo un 98% de confiabilidad en los resultados obtenidos en la identificación bacteriológica.

Tabla1. Principales signos clínicos, hallazgos de necropsia y bacteriológicos resultantes de la infección experimental de esturiones siberianos con <i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i> . Se tomó el día cero como el día de inoculación (HM: animal hallado muerto, S: animal sacrificado).						
n	Día	HM	S	Signos clínicos	Hallazgos de necropsia	Bacteriología
1	2	x		Zona de equimosis en torno al sitio de inoculación	Importante acúmulo de gas en vejiga natatoria. Intestino delgado y recto hemorrágicos	<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>
2	2	x		Zona de equimosis en torno al sitio de inoculación	Importante acúmulo de gas en vejiga natatoria. Intestino delgado y recto hemorrágicos	Negativo
3	2		x	Zona de equimosis en torno al sitio de inoculación	Importante acúmulo de gas en vejiga natatoria. Intestino delgado y recto hemorrágicos	Negativo
4	4		x	Zonas de equimosis en base de aletas pectorales, en torno al ano y proceso oral.	Intestino grueso hemorrágico. Hígado friable y congestivo.	<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>
5	4		x	Zonas de equimosis en base de aletas pectorales, en torno al ano y proceso oral.	Intestino grueso hemorrágico. Hígado friable y congestivo.	Negativo

El resto de los animales inoculados no listados en esta tabla (cinco ejemplares) sobrevivieron a la inoculación sin signos clínicos tras un periodo de quince días. Posteriormente fueron sacrificados y sometidos a necropsia y bacteriología. En ningún caso se observaron hallazgos patológicos de relevancia y *S. dysgalactiae equisimilis* fue reaislado de uno de los ejemplares.

No se observaron alteraciones en el grupo control.

Discusión

No se ha hallado información publicada acerca de infecciones experimentales en esturiones, ni tampoco de patologías derivadas de la infección por bacterias del género *Streptococcus* en *Acipenser baerii*. Recientemente Yang y Li (2009) reportaron el aislamiento de *Streptococcus dysgalactiae* a partir esturiones amur (*Acipenser schrenkii*) durante episodios de mortalidad en cultivos de China. Salati et al. (1996) reportan un episodio de infección en esturiones adriáticos (*Acipenser naccarii*) cultivados en Italia donde se aislaron bacterias tipo *Enterococcus* (miembros de la familia Streptococcaceae).

Askarian et al. (2008) determinaron que *Streptococcus* sp. es un habitante normal de la flora intestinal de otros acipenseriformes (*Huso huso* y *Acipenser persicus*).

Es de destacar la amplia variabilidad en la respuesta de los peces a la infección, observándose cuadros agudos en algunos casos, donde se dieron mortalidades a los dos días posinoculación o desarrollando cuadros crónicos con sintomatología aparente pero sin mortalidad e incluso portadores asintomáticos del patógeno.

Conclusiones

Esta sería la primera infección experimental con *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* que se reporta en esturiones, mediante la misma fue posible demostrar el poder patógeno de una cepa aislada a partir de una epizootia de campo y repetir en el laboratorio el cuadro clínico observado en las unidades de cultivo. A su vez este es el primer reporte de este patógeno afectando a esturiones siberianos (*Acipenser baerii*).

La morbilidad derivada de la infección experimental fue del 60 % y la mortalidad del 20 %. *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* fue reaislado desde cerebro de animales muertos o sacrificados con y sin signos clínicos.

A partir de esta experiencia es posible determinar un período mínimo de incubación de dos días para aparición de cuadros clínicos típicos manteniendo a los animales en condiciones de estrés térmico.

En base a nuestros hallazgos se puede caracterizar el cuadro clínico de esta estreptococosis en esturión siberiano como una enfermedad de curso agudo con un corto periodo de incubación que puede tender a la cronicidad y al establecimiento de portadores asintomáticos del patógeno. La sobrevida de los animales afectados y la velocidad en el desarrollo del cuadro dependerá de las

infecciones sobreagregadas que se puedan presentar en los desafíos de campo. Se ha aislado *Aeromonas hydrophila* de esturiones siberianos de cultivo en coinfecciones con *S. dysgalactiae* durante episodios de mortalidad en unidades de cultivo (Perretta et al., 2007a).

Los principales signos clínicos observados, tanto en el laboratorio como en infecciones de campo son: hemorragias subcutáneas en base de aletas pectorales, abdomen, opérculos y proceso rostral y perianal, nado irregular y letargia en algunos casos.

Referencias bibliográficas

1. Askarian, F.; Matinfar, A.; Kousha, A.; Bahmani, M.; Khorshidi, K.; Shenavar, A.; Ringo, E. 2008. Diversity of lactic acid bacteria in the gastrointestinal tracts of reared beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*): a comparative study. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 3 (5), pp.: 302-311.
2. Carnevia, D.; Carreira, S.; Francescoli, G.; Loureiro, M. y Silva, A. 2006. Manejo del animal no tradicional de experimentación. En: CHEA, Manejo de animales de experimentación tradicionales y no tradicionales. Montevideo, Oficina del Libro FEFMUR. Pp: 65 – 101.
3. Noga, E. 1996. *Fish Disease: diagnosis and treatment*. St. Louis, Mosby – Year Book, Inc. Pp.: 367.
4. Perretta, A.; Carnevia, D. y Conijeski, D. 2007a. Identificación de bacterias del género *Aeromonas* aisladas de episodios de mortalidad en esturión siberiano (*Acipenser baeri*) cultivados en Uruguay. *Actas de las V Jornadas Técnicas Veterinaria*. P: 34.
5. Perretta, A.; Carnevia, D. y Conijeski, D. 2007b. Infestación por *Epistylis* (Protozoa: Epistylidae) afectando juveniles de esturión siberiano (*Acipenser baeri*) cultivados en Uruguay. *Actas de las V Jornadas Técnicas Veterinaria*. P: 106.
6. Yang, W. & Li, A. 2009. Isolation and characterization of *Streptococcus dysgalactiae* from diseased *Acipenser schrenckii*. *Aquaculture*, 294 (1-2), pp. 14-17.
7. Woo, P & Bruno, D. 1999. *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*. CABI Publishing, New York, USA. Pp: 874.