

TITULACIÓN DE ANTICUERPOS EN ESTURIONES VACUNADOS CONTRA *Streptococcus iniae*

Cattáneo M¹, Bermúdez J¹, Assis R²

¹Departamento de Microbiología. Facultad de Veterinaria. Montevideo. Uruguay

²Laboratório Nacional Agropecuário. Brasil.

Resumen: En la cría de peces en cautiverio una de las enfermedades de mayor importancia es la causada por *Streptococcus iniae*. El objetivo de este trabajo fue el estudio de los títulos anticuerpos en esturiones vacunados contra *S. iniae*. El trabajo se realizó en un criadero ubicado en Uruguay, donde se aisló como causante de las muertes a *S. iniae*. Se utilizaron dos vacunas, una producida en Uruguay y otra importada. Los títulos de anticuerpos fueron significativamente superiores en los animales vacunados con respecto a los testigos hasta los 120 días postvacunación.

Palabras claves: *Streptococcus iniae*, esturiones, vacuna, anticuerpos.

ANTIBODY TITER IN VACCINATED STURGERON AGAINST *Streptococcus iniae*

Abstract: In captive fish breeding, one of the most important diseases is that caused by *Streptococcus iniae* (*S. iniae*). The aim of this work was the study of antibodies titles sturgeons vaccinated against *S. iniae*. The work was conducted in a sturgeon hatchery located in Uruguay, where the microorganism isolated and characterized as causing the deaths was *S. iniae*. Two vaccines were used, one produced in Uruguay and the other from Israel. The results showed that antibody titers were significantly higher in animals vaccinated respect to witnesses within 120 days.

Key words: *Streptococcus iniae*, Sturgeron, vaccine, antibodies.

Fecha de recepción: 26/06/10

Fecha de aprobación: 20/11/10

Dirección para correspondencia: M. Cattáneo, Departamento de Microbiología. Facultad de Veterinaria. UdelaR. Alberto Lasplaces 1550. CP. 11600. Montevideo. Uruguay. Telfax: 059826227311.

E-mail: catta1973uy@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

En la cría de peces en cautiverio una de las enfermedades de mayor importancia es la producida por *Streptococcus iniae*.

S. iniae fue inicialmente aislado en 1976 en delfines amazónicos de agua dulce (*Iniae geoffrensis*) que habitaban en el acuario de San Francisco y Nueva York, los cuales presentaban lesiones cutáneas superficiales. Posteriormente en la década del 80 se aisló en Israel, Taiwán y Estados Unidos el agente etiológico de una meningoencefalitis aguda que afectó a tilapias producidas en cultivos intensivos al que denominaron *Streptococcus shiloi* y que luego por pruebas fenotípicas y genotípicas demostraron que se trataba de *S. iniae* (1, 7).

La enfermedad producida por este agente es considerada una zoonosis que en el hombre provoca una infección de los miembros superiores, principalmente en las manos, seguida de una bacteriemia y muerte fulminante. Esto ocurre 24 a 72 horas luego de haber estado en contacto con peces infectados ya sean vivos o muertos (enteros o filetes), frescos o congelados (6). *S. iniae* puede afectar varias especies de peces incluso los peces de mar, pero la tilapia es la especie más afectada. En cultivos de esta especie la enfermedad produce una mortalidad entre 30 y 50 % de la población. Esta enfermedad está presente en Israel, Australia, Japón y Estados Unidos. Las pérdidas económicas ocasionadas por *S. iniae* se estiman superiores a los 10 millones de dólares anuales en Estados Unidos y 100 millones de dólares a nivel mundial.

La infección se presenta como pequeñas lesiones de color rojo en piel, seguido de exoftalmia y septicemia, aislándose la bacteria en sangre, cerebro, riñón e hígado. Los animales se observan letárgicos y con pérdida de peso, en abdomen presentan líquido hemorrágico. Hay esplenomegalia, hígado friable y en el cerebro se observa congestión difusa con líquido cefalorraquídeo hemorrágico (4, 7, 6, 2).

El objetivo de este trabajo fue la evaluación de los títulos de anticuerpos en esturiones

vacunados contra *S. iniae* en un establecimiento dedicado a la cría de estos peces, ubicado en Uruguay. En ese criadero se aisló y tipificó a *S. iniae* como causante de un 30 a 35 % de mortalidad anual de peces.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos especies de esturiones, una rusa (*Acipenser gueldenstaedtii*) y otra siberiana (*Acipenser baerii*). Los peces tenían un peso promedio de 3 kg y se mantuvieron bajo las mismas condiciones de temperatura, alimentación y manejo.

Se trabajó con 5 grupos de peces (tabla 1) y se utilizaron 2 vacunas de diferentes orígenes, una producida en Uruguay (vacuna A) y otra importada (vacuna B). La vacuna A consistió en un cultivo de 24 horas de crecimiento en un medio a base de peptona, glucosa, extracto de levadura y un buffer fosfato. El cultivo se mantuvo a 37 °C con agitación y aire por profundidad, cuando se obtuvo una concentración de 9×10^9 UFC/ml se inactivó con formalina al 0,3 % durante 7 días. Se controló la inocuidad y esterilidad y se utilizó un adyuvante oleoso. La vacuna B era una bacterina también con adyuvante oleoso. A los grupos 1 y 2 se aplicó una sola dosis de la vacuna A en el mes de mayo, al grupo 3 dos dosis, la primera en el mes de enero con la vacuna B y la segunda el mes de mayo con la vacuna A, y al grupo 4 una sola dosis de la vacuna B en el mes de mayo. El grupo 0 no se vacunó (tabla 1). La dosis administrada de ambas vacunas fue de 1 ml/kg vía intraperitoneal.

Se realizó la extracción de sangre por vía intravenosa de los grupos 1 y 3 el día cero, de todos los grupos a los 30, 60, 120 días post vacunación y a los 180 días a los grupos 1 y 4. La sangre se remitió refrigerada, identificada y en tubos de plásticos con tapa rosca, luego en el laboratorio se centrifugaron, se extrajo el suero y se guardaron por triplicado a - 70 °C.

La titulación de los sueros se realizó con la técnica de aglutinación en placa descrita por Van Der Walt (8). Debido a la ausencia de sue-

Tabla 1. Descripción de los grupos.

Grupos	Vacuna utilizada	Especie de esturión	Sexo	Nº de peces por grupo	Nº de peces muestreados
0	Control sin vacunar	Esturión siberiano (<i>Acipenser baerii</i>)	Hembra	545	30
1	Vacuna A	Esturión siberiano (<i>Acipenser baerii</i>)	Hembra	102	30
2	Vacuna A	Esturión ruso (<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>)	Macho	253	30
3	Vacuna B + A	Esturión siberiano (<i>Acipenser baerii</i>)	Hembra	148	30

ros controles positivos contra *S. iniae* se elaboró un suero hiperinmune en conejos con el fin de utilizarlo como control positivo en las pruebas serológicas.

El antígeno utilizado en la técnica de aglutinación se realizó según Wetherrell & Bleiwies (9). El método estadístico utilizado fue la prueba T de comparación de medias con un nivel de confianza del 95 % (3).

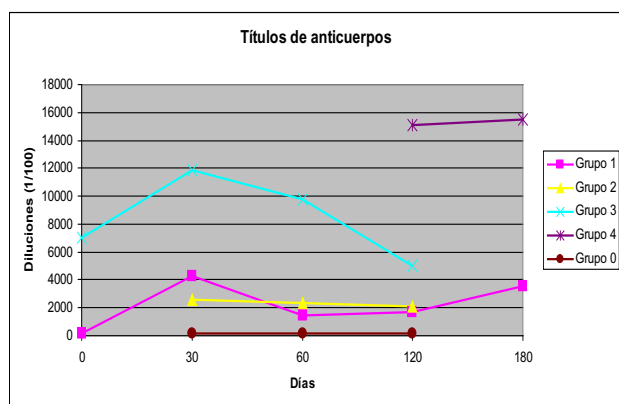
RESULTADOS

Los títulos de anticuerpos de los peces vacunados y no vacunados se presentan en la tabla 2 y figura 1.

Tabla 2. Títulos promedios de anticuerpos en unidades internaciones por ml.

Grupos	Día 0	Día 30	Día 60	Día 120	Día 180
1	155	4240	1467	1667	3520
2	-	2613	2320	2107	-
3	7000	11893	9733	5013	-
4	-	-	-	15117	15467
0	-	137	137	131	-

Figura 1. Títulos de anticuerpos de todos los grupos.



DISCUSIÓN

De acuerdo con el estudio estadístico, se verificó que los títulos de anticuerpos fueron significativamente superiores ($p < 0,05$) en los animales vacunados con respecto a los testigos hasta los 120 días.

En los grupos que recibieron una dosis de vacuna no hubieron diferencias significativas de títulos entre las especies y sexos de los esturiones estudiados ($p > 0,05$). Se observó que con la revacunación los títulos fueron significativamente superiores a los encontrados con una sola dosis ($p < 0,05$), lo que indica que la revacunación sería necesaria para mantener niveles altos de anticuerpos.

Cuando se comparan los títulos obtenidos de las vacunas A y B (grupos 1, 2 y 4), se observa

que la vacuna B tuvo una mayor respuesta inmune. Esto podría haber ocurrido debido a que las bajas temperaturas son inmunosupresoras en los peces (5), y siendo que, la vacuna B fue aplicada en el mes de enero, con una temperatura ambiental entre 25-30 °C, y la vacuna A en mayo con una temperatura entre 12-15 °C.

A pesar de que los títulos de anticuerpos con la vacuna B fueron notoriamente superiores, se verificó que con ambas vacunas se obtuvo una buena respuesta inmune. De este modo, como la vacuna A es producida en Uruguay, no siendo necesaria su importación y consecuentemente tener un menor costo, se decidió aplicarla en los animales de producción con el objetivo de controlar la infección. Luego de transcurrido un año de su utilización, se verificó que la mortalidad de esturiones en el criadero disminuyó de un 30-35 % a un 5 %. Este es el primer estudio en donde se utiliza esta técnica para evaluar títulos de anticuerpos en esturiones vacunados contra *S. iniae*.

BIBLIOGRAFÍA

- Bacharch G, Zlotkin A, Hurvitz A, Evans DL, Eldar A. Recovery of *Streptococcus iniae* from diseased fish previously vaccinated with a *Streptococcus* vaccine. Applied and Environmental Microbiology. 2001; 67 (8): 3756-3758.
- Baiano JCF, Tumbol RA, Umapaty A, Barnes AC. Identification and molecular characterisation of a fibrinogen binding protein from *Streptococcus iniae*. BMC Microbiology. 2008; 8: 67.
- Box GEP, Hunter WG, Hunter JS. Estadística para investigadores. Editorial Reverté, S.A. 2005, p.19-155.
- Fuller JD, Bast DJ, Nizet V, Low DE, Azavedo JCS, Kolman H. Primary humoral response in siberian sturgeon after exposure to anti-furunculosis bacterin. Czech. J. Anim. Sci. 2002; 47 (5):183-188.
- Kolman H. Primary humoral response in siberian sturgeon after exposure to anti-furunculosis bacterin. Czech. J. Anim. Sci. 2002; 47(5):183-188.
- Locke JB, Colvin KM, Datta AK, Patel SK. *Streptococcus iniae* capsule impairs phagocytic clearance and contributes to virulence in fish. Journal of Bacteriology. 2007; 189 (4):1279-1287.
- Romano LA, Mejía J. Infección por *Streptococcus iniae*: una enfermedad emergente que afecta a peces de cultivo y a humanos. Revista AquaTIC. 2003; 18:25-32.
- Van Der Walt ML. The demonstration of the k-antigen of *Campylobacter fetus venerealis* using a microtitre agglutination test. Onderstepoort J. Vet. Res. 1987; 54: 613-615.
- Wetherrell J, Beiwies AS. Antigens of *Streptococcus mutans*; characterization of a polysaccharide antigen from walls of strain GS-5. Infection and immunity. 1975; 12(6): 1341-1348.