



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“ESTREPTOCOCCOSIS EN TILAPIAS
(*Oreochromis spp*)”

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA
HECTOR SANDOVAL MIRAFUENTES

ASESORES:

Dr. CÉSAR ORTEGA SANTANA
Dr. BENJAMÍN VALLADARES CARRANZA
Dr. VALENTE VELÁZQUEZ ORDÓÑEZ

REVISORES:

M en C. JOSE LUIS ZAMORA ESPINOSA
Dr. JORGE ACOSTA DIBARRAT

Toluca de Lerdo, México, marzo de 2018



“ESTREPTOCOCCOSIS EN TILAPIAS (*Oreochromis* spp)”

RESUMEN

ESTREPTOCOCCOSIS EN TILAPIAS (*Oreochromis spp*)

Héctor Sandoval Mirafuentes (bajo la dirección de Dr. César Ortega Santana, Dr. Benjamín Valladares Carranza y Dr. Valente Velázquez Ordóñez).

En la piscicultura mundial, la estreptococcosis es uno de los problemas infecciosos más importantes para la industria del cultivo de tilapias (*Oreochromis spp*), en la que se considera una enfermedad re-emergente. Esta enfermedad puede ser causada por distintas bacterias del género *Streptococcus*; sin embargo, *S. agalactiae* y *S. iniae* son las que con más frecuencia se han reportado causando septicemia y meningoencefalitis en tilapias. Debido a la dificultad para la identificación precisa de los *Streptococcus spp* por los métodos de diagnóstico tradicional y debido a que el cuadro clínico-patológico que presentan los peces afectados por este tipo de bacterias es muy similar, comúnmente se utiliza el término estreptococcosis para agrupar a todos los procesos ocasionados por alguna de estas bacterias. La enfermedad se caracteriza por afectar principalmente a peces mayores que típicamente manifiestan exoftalmia y opacidad corneal uni o bilateral, oscurecimiento corporal, apatía e incoordinación; su diagnóstico se basa principalmente en los signos clínicos, las lesiones histopatológicas y el aislamiento microbiológico; sin embargo, se requiere de técnicas moleculares que confirmen o descarten la presencia de la bacteria en animales presumiblemente afectados. Esta septicemia tiene potencial zoonótico, y se ha informado en prácticamente todos los países que se consideran como los principales productores y consumidores de tilapia. Recientemente ha sido reportada en tilapias de México, por lo que se considera una de las enfermedades de peces más importantes para la piscicultura del país, y por ello se requiere divulgar la información relacionada con esta entidad patológica a los sectores involucrados con la piscicultura del país. Algunos de las especies de *Streptococcus* involucrados en la estreptococcosis se consideran más prevalentes en lugares específicos; mientras que en otros casos se han detectado a más de

una especie; en el caso de México, se ha reportado la presencia de *Streptococcus* sp; y se ha comprobado la presencia de *S. iniae* en casos septicémicos; sin embargo, no se conoce el impacto de la enfermedad sobre la actividad. De cualquier modo, las pérdidas económicas han sido importantes; por lo que es importante poner atención para evitar mayores pérdidas a la industria de la tilapia en el país, tal como se ha informado en otros países. En este trabajo se presenta una revisión sistemática y actualizada de la estreptococcosis en tilapia, abarcando todos los aspectos relacionados con la enfermedad, los agentes involucrados en la infección, el diagnóstico y las medidas de prevención y control, con el objetivo de que los involucrados en el sector cuenten con la información que permita poder actuar de manera oportuna y correcta ante una probable ocurrencia de la enfermedad en peces.

Palabras clave: Estreptococcosis, Tilapias, Enfermedad re-emergente.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	4
OBJETIVOS.....	6
MATERIAL.....	7
MÉTODO.....	8
REVISIÓN DE LITERATURA	10
Enfermedades bacterianas en las tilapias	15
Streptococcus iniae	18
CAPÍTULO I. IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE TILAPIA	20
CAPÍTULO II. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE TILAPIA (<i>Oreochromis</i> spp)....	23
CAPÍTULO III: DIAGNÓSTICO DE ESTREPTOCOCCOSIS EN TILAPIA	26
LÍMITE DE TIEMPO.....	45
LÍMITE DE ESPACIO	46
LITERATURA REVISADA	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Titulo	Página
1	Tilapia con oscurecimiento corporal, exoftalmia bilateral.....	34
2	Tilapia con severa opacidad corneal y hemorragia ocular.....	34
3	Tilapia con absceso en mandíbula.....	34
4	Tilapia con hemorragia en base de la cola.....	34
5	Cavidad celómica de tilapia. Hepatopáncreas con formación de adherencias múltiples y ascitis sero-sanguinolenta.....	35
6	Cavidad celómica de tilapia; adherencias abdominales, hepatopáncreas de aspecto y color irregulares, branquias pálidas.....	35
7	Tilapia con edema y hemorragia cerebral. Opacidad corneal, oscurecimiento corporal.....	35
8	Tilapia con exoftalmia y opacidad corneal; corazón con membranas de aspecto de material purulento.....	35
9	Corazón de tilapia afectada por <i>estreptococcosis</i> . Se observa pericarditis y epicarditis mononuclear severa, por presencia de macrófagos.....	44
10	Cerebro de tilapia afectada por <i>estreptococcosis</i> . Se observa meningoencefalitis mononuclear severa, por presencia de macrófagos.....	44

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha registrado un notable incremento de la producción piscícola mundial, lo cual ha venido asociada a un aumento del número de especies que se cultivan tanto en sistemas de agua dulce como en ambientes marinos, así como al establecimiento de sistemas de cultivo en lugares que son inadecuados para otro tipo de producciones agropecuarias (FAO, 2004; Ortega y Valladares, 2015).

En la piscicultura de México, la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y la tilapia (*Oreochromis* spp), son las especies que tienen mayor aceptación (Ortega y Valladares, 2015; Fitzsimmons, 2000). Por volúmen, la producción de trucha se ubica en el lugar 18 pero por su valor económico ocupa la séptima posición; mientras que tilapia ocupa el quinto lugar por volumen de producción pesquera, y por su valor comercial, se ubica en el tercer lugar (Anuario estadístico 2013).

Históricamente las enfermedades han representado uno de los principales obstáculos para el desarrollo de la piscicultura, y aunque pueden ocurrir indistintamente del nivel de desarrollo, producción o tecnificación de la actividad, las enfermedades serán de mayor impacto cuando se carece de una estructura sanitaria sólida, que considere sistemas de diagnóstico y manejo sanitario eficientes (OIE, 2012).

Actualmente se conocen una gran variedad de enfermedades importantes en peces, algunas son muy conocidas y otras son de detección relativamente reciente, las cuales cada vez han cobrado mayor fuerza. El resurgimiento de las enfermedades se relaciona con la intensificación de los métodos de cultivo de los peces, que favorecen la diseminación y manifestación de potenciales agentes patógenos que pueden ser virus, bacterias, hongos o parásitos (Conroy, 2004).

Hasta muy recientemente, la familia de peces *ciclidae* entre las que se incluyen a las tilapias, se consideraron peces resistentes a las enfermedades; sin embargo, en los últimos 10 años, en este tipo de peces se han estado

manifestando patologías emergentes que causan alto impacto económico y sanitario sobre la producción piscícola mundial.

En el caso de la piscicultura de México, hasta el año 2012 a excepción de la necrosis pancreática infecciosa (IPN) en el país no se habían reportado enfermedades de alto impacto (Ortega y Valladares, 2015); sin embargo, en los últimos 5 años se han reportado enfermedades bacterianas importantes para la piscicultura, las cuales aunque no están inscritas en la lista OIE de enfermedades de peces, representan graves problemas sanitarios para la actividad (Cheng *et al.*, 2010), tal es el caso de enfermedades asociadas a las bacterias del género *Streptococcus*.

Las bacterias del género *Streptococcus* que pueden afectar a tilapias son un grupo muy heterogéneo de microorganismos que están ampliamente distribuidas en la naturaleza. Debido a la dificultad para su precisa identificación a través de los métodos de diagnóstico tradicional y debido a que el cuadro clínico-patológico que presentan los peces afectados es muy similar, comúnmente se utiliza el término estreptococcosis para agrupar a todas las infecciones ocasionadas por alguna de estas bacterias

En este sentido, en tilapias las bacterias del género *Streptococcus* suelen producir una enfermedad sistémica crónica, caracterizada por generar lesiones granulomatosas que afectan el bazo, el cerebro, el hígado y riñón, así como la presencia de exudado purulento en tejido muscular con encapsulamiento melanizado cerca de la línea lateral. Los peces afectados pueden mostrar movimiento natatorio desorientado y errático, debido a una meningoencefalitis, exoftalmia uni o bilateral con o sin opacidad de la córnea y hemorragia periorcular. Desafortunadamente, el uso de antibióticos para combatir la estreptococcosis se ha visto poco eficaz debido a la resistencia que han desarrollado estos microorganismos; los antibióticos no logran destruir a las células bacterianas que permanecen dentro de los macrófagos, lo que da lugar a la reaparición de la enfermedad cuando se ha terminado la antibiótico-terapia (Conroy, 2004).

El objetivo del presente trabajo es reunir y presentar información referente a todos los aspectos de la estreptococcosis en peces del género tilapia (*Oreochromis* spp) y los agentes causales, destacando la importancia e impactos de esta enfermedad re-emergente que amenaza a la producción piscícola mundial, con objeto de que productores y autoridades estén informados para poder actuar ante su probable ocurrencia en el país, mediante oportunas acciones de diagnóstico, prevención y de control.

JUSTIFICACIÓN

El cultivo de la tilapia (*Oreochromis* spp) en México se realiza de manera extensiva, semi-intensiva e intensiva, con la finalidad de repoblar embalses naturales o artificiales con el objetivo de obtener el producto (proteína animal) para consumo humano de habitantes de zonas de pocos recursos del país o bien, también se realizan cultivos intensivos. Sin embargo, independientemente del tipo de producción y de los hábitats en que actualmente se desarrollan estos animales, existen diversos factores que pueden propiciar su baja productividad, dentro de los que se pueden encontrar una variedad de agentes infecciosos de origen viral, parasitario y bacteriano como causa de enfermedades que limitan la producción y eventualmente pueden representar riesgo a la salud pública.

En México existe amplio potencial para detonar la piscicultura de la tilapia como una actividad económica y productiva importante; sin embargo, al igual que para otras actividades pecuarias se requiere un adecuado conocimiento de las amenazas sanitarias para esta y otras especies asociadas. En este sentido se requiere la atención y acciones oportunas frente a patologías que se presentan de forma abrupta y que pueden afectar a un gran número de individuos, sobre todo por la rápida diseminación en el medio en el que se desarrollan, de tal forma que la información revisada y analizada por un especialista en piscicultura se encaminará a desarrollar estrategias rápidas y efectivas para el control de enfermedades que afecten a los peces.

En años recientes, el Laboratorio de Sanidad Acuícola perteneciente al Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), identificó muestras presuntivas de estreptococcosis en tilapias cultivadas en granjas de los estados de San Luis Potosí y Querétaro, en donde se registraron mortalidades superiores al 40%. Los peces enfermos mostraban signos característicos de septicemia asociada a bacterias del género *Streptococcus* reportado en la literatura. El conocimiento de procesos infecciosos como la

estreptococcosis ocurrida en tilapias puede tener una variada respuesta de los individuos que padezcan el proceso, sin embargo con fines académicos es importante reconocer y conocer las medidas necesarias para su prevención y control.

OBJETIVOS

Realizar una revisión sistemática, análisis y recopilación bibliográfica de la estreptococcosis en tilapias (*Oreochromis* spp) y sus agentes causales.

Aportar información relevante sobre la estreptococcosis en tilapias

MATERIAL

Para la elaboración de la tesina se utilizó información de tipo bibliográfico obtenido de:

- Artículos científicos de revistas
- Artículos científicos e información de Internet y base de datos, como: PubMed, Blackwell Synergy, ISI-Web of Knowledge, CAB Abstracts y del Medline.
- Libros
- Memorias de congresos y reuniones de investigación.

Además del equipo de cómputo: computadora e impresora; USB, cd's, hojas, lápices y bolígrafos.

MÉTODO

El trabajo consistió en seleccionar la información, y ubicar a través de internet (buscadores: PubMed, Blackwell Synergy e ISI- Web of Knowledge), y en las bases de datos (CAB Abstracts y Medline) a los principales descriptores de interés: estreptococcosis, *Streptococcus*, tilapias, enfermedad emergente; los conectores booleanos utilizados serán: and, or y review.

Se identificó, seleccionó, recopiló y analizó la información para ordenarla mediante la elaboración de fichas de trabajo.

Una vez recopilada la información, se organizó para presentarla de acuerdo a los capítulos (Revisión de Literatura) que integran el trabajo, los cuales son:

- CAPÍTULO I: IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE TILAPIA
- Características y generalidades de la tilapia
- CAPÍTULO II: SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE TILAPIA (*Oreochromis spp.*)
- Sistema de cultivo extensivo
- Sistema de cultivo semi-intensivo
- Sistema de cultivo intensivo
- Riesgos por el incremento en la producción y manejo de peces
- CAPÍTULO III: DIAGNÓSTICO DE ESTREPTOCOCCOSIS EN TILAPIA
- Consideraciones generales
- Signos de enfermedad
- Métodos de diagnóstico
- Preparaciones húmedas
- Frotis-improntas
- Aislamiento e identificación del agente
- Características microscópicas de las bacterias
- Características macroscópicas de las colonias de bacterias
- Caracterización fenotípica y bioquímica
- Pruebas bioquímicas
- Pruebas utilizadas para identificación bacteriana preliminar:
- Catalasa

Oxidasa
Pruebas rápidas, con lectura en menos de 6 h.
Hidrolisis de hipurato
 β -galactosidasa
Aminopeptidasa
LAP
Ureasa
Indol
Pruebas lentas, con lectura de 18 a 48 h.
Oxido-Fermentación
Reducción de nitratos
Rojo de metilo
Voges-Proskauer
Fermentación de azúcares
Hidrolisis de la esculina
Hidrolisis de la gelatina
Pruebas de CAMP
Pruebas basadas en resistencia
Optoquina
Bacitracina
Solubilidad de bilis
Crecimiento de caldo hipersalino
Sensibilidad antimicrobiana
Análisis histopatológico
Diagnóstico por técnicas moleculares
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
Extracción del ADN
Amplificación
Secuenciación del amplicón
Análisis de secuencias
Epidemiología
Prevención y control
Tratamiento

REVISIÓN DE LITERATURA

Introducción a la acuicultura

La acuicultura, es la ciencia y el arte del cultivo de organismos acuáticos; no se trata de un campo nuevo del esfuerzo humano, ya que las civilizaciones del lejano oriente la han practicado desde al menos 500 años A.C. El cultivo de ostión y otros organismos acuáticos han sido registrados por autores griegos y romanos (Fitzsimmons, 2000).

Acuicultura es un conjunto de actividades dirigidas a la reproducción controlada, pre-engorda y engorda de la fauna y flora acuáticas susceptibles de explotación comercial, ornamental o recreativa, realizada en condiciones de agua dulce, marina o salobre mediante el empleo de técnicas de cría o cultivo (LGPAS, 2007).

Además de su contribución a la actividad económica, al empleo y a la generación de divisas, la producción acuícola desempeña una función importante porque contribuye a la seguridad alimentaria de poblaciones humanas de escasos recursos, incrementando los niveles proteínicos de la dieta humana. Actualmente, la producción acuícola desempeña una función cada vez más importante para satisfacer la demanda de pescado y de productos pesqueros para consumo humano, siendo socialmente muy importante para aquellos países en vías de desarrollo.

Los primeros registros de la acuicultura, refieren que ésta se inició en China durante la dinastía Shang y Chou (1027 A.C- 256 D.C), propagando alevines en áreas inundadas para reforzar la alimentación de las poblaciones humanas. La integración de la acuicultura con la ganadería y con los cultivos agrícolas evitaba desperdiciar alimentos; así, los patos, gansos, pequeños rumiantes y bovinos consumían plantas, y sus excretas proporcionaban nutrientes para las algas planctónicas y el zooplancton, que finalmente alimentan a peces (Wheaton, 1982).

La contribución de la acuicultura al suministro mundial de peces, crustáceos, moluscos y otros organismos acuáticos ha mostrado una tendencia creciente en

las últimas décadas, pasando de un 3.9% de la producción total en peso en 1970 a un 36.0% en 2006. En el mismo período, el suministro acuícola *per cápita* pasó de los 0.7 kg en 1970 a los 7.8 kg en 2006, lo cual indica un crecimiento medio anual del 7.0%. La acuicultura proporcionó el 47% del suministro mundial de pescado para alimentación en 2006 (FAO, 2009).

En los últimos 50 años, la producción acuícola ha pasado de menos de un millón de toneladas a comienzos de la década de los cincuenta a 51.7 en 2006, con un valor de 78,800 millones de dólares (MDD). Por otro lado, la agricultura en el mundo ha experimentado una década de crecimiento modesto; los casos más sobresalientes como el trigo, arroz, cereales, semilla de girasol, aceite de palma y azúcar mostraron un incremento del seis por ciento en 2007, con respecto a la media de 2003-2005.

En cuanto a la producción por países, el aporte por región y la tasa de crecimiento no ha sido uniforme. En el caso de China que es el principal productor mundial, la tasa de crecimiento media anual ha disminuido en los últimos años hasta llegar a 5.8% en el 2006. De igual manera, el crecimiento de la producción en Europa y América del Norte se ha frenado de forma sustancial a un 1% anual desde el 2000. En Francia y Japón, países que solían liderar el desarrollo de la acuicultura, la producción se ha reducido en el último decenio (FAO, 2009). En este sentido, se ha establecido que el futuro de la acuicultura está en aquellos países en vías de desarrollo, en los cuales aún no se ha detonado todo el potencial que tienen para esta industria.

Las especies de peces de mayor producción en 2006 fueron especies cultivadas principalmente en condiciones de agua dulce, seguidos por moluscos y crustáceos, aunque éstos últimos en general poseen un mayor valor económico y comercial que los peces y moluscos. El 76% de la producción mundial de peces de agua dulce, el 65% de moluscos y peces diádromos y el 70% de los camarones gambas (peneidos) producidos en todo el mundo provienen de la acuicultura. En el

último decenio, el cultivo de crustáceos se ha incrementado considerablemente alcanzado el 42% de la producción pesquera mundial (FAO, 2009).

En México, la acuicultura nace como una actividad complementaria, de apoyo social a las comunidades rurales, con lo cual se pretendía incrementar el consumo de proteína de origen animal y mejorar así los niveles nutricionales de las poblaciones humanas de escasos recursos económicos (Palacios, 1987). Esta primera intensión ha cambiado notablemente en nuestros días y actualmente la acuicultura del país puede dividirse en distintas ramas o tipos. Las principales especies que se cultivan son camarón, tilapia y ostión. Para el 2008, el 45.91% de la producción correspondía al camarón, el 25.04% a la tilapia o mojarray el 14.86% para el ostión.

El crecimiento de la acuicultura del país ha sido significativo en los últimos años, datos oficiales indicaron que la tasa de crecimiento media anual de 2004 a 2006 fue de 23.3%, ubicándose como el décimo productor en el mundo (FAO, 2009).

Enfermedades que afectan el cultivo de la tilapia

La presencia de una enfermedad en los peces ocasiona debilitamiento gradual e incapacidad de poder mantener sus condiciones fisiológicas normales, perdiendo su capacidad para mantenerse en el ambiente. Por lo general, la ocurrencia de una enfermedad se reconoce por la aparición de anomalías en su comportamiento y/o en su integridad corporal (lesiones), que trae como consecuencia un descenso en su rendimiento y frecuentemente termina en la muerte de los organismos afectados (Perera, 1995).

La manifestación de una enfermedad en los peces puede ser debida a los factores etiológicos naturales y/o inducidos por el hombre, estos pueden ser de orden físico, químico o biológico (agentes infecciosos), y pueden actuar solos o asociados, perturbando las funciones fisiológicas del organismo. La forma en que se manifiestan los agentes patógenos depende fundamentalmente de la especie o variedad del pez debido a la susceptibilidad típica, a la patogenicidad del agente

infeccioso, a la influencia del ambiente (calidad del agua), la calidad del alimento y el manejo biotecnológico de los peces (Brawn, 2000).

Los agentes infecciosos de importancia para peces se encuentran estrechamente influenciados por el ambiente y a los procesos de eutroficación, en especial cuando se trata de cultivos intensivos; asimismo, en los estanques también pueden cohabitar otros organismos vivos, los cuales pueden hospedar fases larvianas de tremátodos digéneos, cestodos, nematodos y acantocéfalos. A todos estos factores (bióticos y abióticos) involucrados en la sanidad piscícola se les conoce como etiología (Brawn, 2000).

Los problemas sanitarios se pueden agravar aún más debido a un mal manejo de las especies, al transporte de crías y reproductores de una entidad federativa a otra sin previa certificación sanitaria y cuarentena, ocasionando la transfaunación de organismos patógenos, a la introducción de peces vivos sin certificación sanitaria o muertos (congelados o enhielados) provenientes de otros países sin un estudio sanitario previo, y al adoptar peces silvestres como reproductores sin conocer el estado sanitario que poseen para transmitir enfermedades (falta de instalaciones de cuarentena) y control de la calidad de los insumos utilizados en acuicultura (por ejemplo alimento) (NICOVITA, 2010).

Por décadas las tilapias se han considerado peces resistentes a enfermedades; sin embargo, la reciente intensificación del cultivo ha favorecido la expresión de patologías infecciosas que a nivel mundial han causado pérdidas severas a la industria (Cheng *et al.*, 2010; NICOVITA, 2010). Tomando en cuenta lo anterior, actualmente existe la tendencia a brindarle el bienestar, bajo programas de producción y manejos semejantes a los que se utilizan en el cultivo de peces que se consideran más delicados o menos resistentes a enfermedades, como es el caso de peces salmonídeos.

Además de problemas infecciosos, los peces pueden verse afectados por factores físicos, químicos, biológicos o de manejo. Con el fin de evitar la mortalidad o el desarrollo de enfermedades que puedan alcanzar una proporción

de epidemia, es necesario brindar un medio adecuado, con el objeto de prevenirlas antes de tener que aplicar tratamientos correctivos (Brawn, 2000; Conroy, 2004).

En la industria de la tilapia, existen distintas enfermedades importantes, algunas se consideran más “recientes”, mientras que otras son “viejas conocidas”, pero que han venido cobrando cada vez mayor fuerza (Conroy, 2004). Este resurgimiento de las enfermedades se relaciona con la intensificación de los métodos de cultivo de los peces. Al igual que en cualquier tipo de animales, las categorías generales de los patógenos infecciosos que afectan a las tilapias cultivadas pueden ser: los virus, las bacterias, las micosis (hongos) y los parásitos (Gleen y Post, 2005; Cheng *et al.*, 2010).

La mayoría de las enfermedades de peces no presentan claros signos patognomónicos; estos animales pueden manifestar comportamientos que alertan sobre algún factor que está causando tensión sobre ellos o sobre el desarrollo de una infección; sin embargo, muchos de estos signos son generales e inespecíficos, tales como letargia y pérdida del apetito; pérdida del equilibrio, nado en espiral o vertical; agrupamiento en la superficie y respiración agitada; producción excesiva de *mucus*, lo que da al pez una apariencia opaca; coloración anormal; erosión en la piel o en las aletas; branquias inflamadas, erosionadas o pálidas; abdomen inflamado, algunas veces lleno de fluido o sangre, orificio anal hinchado y enrojecido; y exoftalmia (ojos brotados). Estos signos pueden presentarse como únicos o en combinación. La adecuada observación de algunos signos combinados pueden sugerir el diagnóstico presuntivo inicial de la enfermedad, pero al final se requiere de su confirmación (NICOVITA, 2010).

Clasificación de las enfermedades de los organismos acuáticos

1. Enfermedades de naturaleza infecciosa. Son las provocadas por organismos patógenos, los cuales se agrupan de acuerdo a su comportamiento, transmisión (de un organismo a otro, por ejemplo alimento

contaminado y canibalismo.) y respuesta a los medicamentos; estos se clasifican en: agentes infecciosos de riesgo moderado (enfermedades significativas) y agentes infecciosos de alto riesgo (enfermedades notificables / certificables).

2. Enfermedades de naturaleza no infecciosa. Son las provocadas en ausencia de organismos patógenos por las condiciones del ambiente, como son: por contaminación (pesticidas, metales pesados, y detergentes entre otros) y condiciones extremas del ambiente (temperatura, oxígeno, pH, salinidad, dureza, niveles altos de metabolitos tóxicos como amonio y dióxido de carbono).
3. Enfermedades de naturaleza nutricional. Provocadas por la presencia o ausencia de algún factor de la propia composición de los alimentos (vitaminas, proteínas, carbohidratos y lípidos), y por la presencia de sustancias tóxicas (aflatoxinas, venenos, pesticidas, metales pesados, ingestión o presencia de organismos tóxicos).
4. Enfermedades de naturaleza hereditaria. Las provocadas por un manejo genético inadecuado de los reproductores, así como por deficiencias en los procesos biotecnológicos.
5. Enfermedades idiopáticas. Este es un grupo de enfermedades cuyo agente etiológico es desconocido.

Enfermedades bacterianas en las tilapias

Las bacterias son organismos unicelulares, que no poseen envoltura nuclear y carecen de organelos membranosos y citoesqueleto, desde un punto de vista bioquímico presentan un metabolismo fisiológico complejo, que les ha permitido adaptarse a variadas condiciones de vida, desde permanecer como formas de vida libre hasta permanecer como patógenos oportunistas (en especial cuando se presentan infecciones virales previas) y como parásitos obligados (Inglis *et al.*, 1976).

Las enfermedades bacterianas de peces pueden tener diferentes formas de expresión, manifestando signos o lesiones en órganos internos, músculos y piel, incluyendo aletas. La mayoría de las enfermedades de peces más conocidas son provocadas por bacilos Gram negativos y en menor frecuencia por Gram positivos y por algunos agentes ácido-alcohol resistente. En el caso de la tilapia, algunas bacterias Gram positivas actualmente provocan enfermedades septicémicas que ocasionan severas pérdidas económicas a esta industria (Inglis *et al.*, 1976; Conroy, 2004).

Una de las principales enfermedades bacterianas que afectan a las tilapias es la estreptococcosis; esta enfermedad es considerada un enorme peligro también para peces de aguas tropicales; y en tilapias dependiendo de varios factores las mortalidades pueden alcanzar el 75% de la población (Evans, 2001).

La estreptococcosis

La estreptococcosis es causada por varias bacterias del género *Streptococcus* de aspecto cocoide, de tinción Gram positiva, catalasa y oxidasa negativas, microorganismos mayormente conocidos por afectar especies mamíferas, que actualmente a nivel mundial afectan diferentes especies de peces tanto en agua marina como en agua dulce (Evans *et al.*, 2001). La aparición de la enfermedad normalmente se relaciona con el estrés por manipulación, altas densidades, cambios de temperatura, nutrición inadecuada y con la mala calidad del agua. La intensificación del cultivo ha favorecido su nivel de expresión como una enfermedad sistémica (Sheehan, 2009).

En tilapias, la estreptococcosis se caracteriza por ser una enfermedad crónica con manifestación de natación desorientada y errática, letargia, exoftalmia uni o biliateral con o sin opacidad de la córnea, hemorragia periocular e incluso pérdida del globo ocular, hemorragias en la piel, especialmente en base de aletas. Internamente, los peces afectados presentan esplenomegalia, hepatomegalia, pericarditis, poliserositis, hígado moteado o de aspecto irregular. Histológicamente, se observa presencia de granulomas en bazo, cerebro, hígado,

corazón y riñón, con exudado purulento en tejido muscular con encapsulamiento melanizado cerca de la línea lateral, meningoencefalitis (Conroy, 2004; Cheng *et al.*, 2010).

El primer registro de estreptococcosis en peces data de 1957 en poblaciones de truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivadas en Japón (Hoshina *et al.*, 1958). A partir de esta fecha existen múltiples reportes de estreptococcosis en peces, considerándose como una enfermedad emergente que afecta tanto a especies en sistemas de cultivo como silvestres (Kitao, 1993; Bercovier *et al.*, 1997; Romalde y Toranzo, 1999 y 2002). Actualmente las bacterias de este género son uno de los agentes Gram positivos que más afectan a tilapias; la infección puede generar mortalidades de alrededor de 90%. En el año 2008 las infecciones por *Streptococcus* spp causaron pérdidas económicas del orden de 250 millones de USD, siendo *Streptococcus iniae* y *Streptococcus agalactiae* las principales especies involucradas, entre otras como *S. dysgalactiae*, *S. milleri*, *S. ictaluri*, *S. parauberis*. Algunos biotipos como *Streptococcus iniae* y *S. agalatyae* tienen potencial zoonótico (Perera *et al.*, 1995; Cheng *et al.*, 2010).

Agentes etiológicos *Streptococcus* spp

Bacterias del género *Streptococcus* han sido descritas como causales de infecciones en mamíferos marinos, peces y anfibios, y se calcula que las pérdidas ocasionadas por estreptococcosis en peces son de más de 200 millones de dólares anuales, afectando principalmente cultivos de salmónidos, carpas y tilapias (Romalde y Toranzo, 1999).

La diferenciación de las especies que integran a este género es compleja, y para tratar de identificar adecuadamente las características de cada especie se utilizan tres sistemas de clasificación diferente, que permiten conocer las propiedades serológicas, hemolíticas y bioquímicas de las cepas.

Así mismo, los *Streptococcus* se dividen en tres géneros distintos: *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Lactococcus* (Facklam, 2002), sin embargo, es difícil establecer una diferenciación mediante pruebas bioquímicas convencionales

como la producción de acetoina (Voges Proskauer) crecimiento a 10 °C y 45 °C, producción de SH₂, hidrólisis de hipurato, presencia de la enzima arginina dihidrolasa y pirrolidonil arilamidasa (Toranzo *et al.*, 1995). Gracias a la aplicación de procedimientos genético - moleculares como la hibridación y la secuenciación del gen 16S RNA, se puede identificar con mayor rapidez a los diferentes agentes etiológicos causantes de estreptococcosis en especies acuáticas (Romalde y Toranzo, 1999).

Streptococcus iniae

En 1976 en San Francisco, EUA se aisló una nueva especie de *Streptococcus* que causo lesiones en un delfín de agua dulce (*Inia geoffrensis*). Debido al nombre científico de la especie en la que fue identificado por primera vez, este agente bacteriano fue denominado como *Streptococcus iniae* (Pier y Madin, 1976). Posteriormente en 1978 en Nueva York, EUA fue identificada por segunda ocasión *S. iniae*, aislado ahora durante un cuadro septicémico en delfines (Pier *et al.*, 1978). Desde entonces, este ha sido un importante patógeno de peces como truchas, salmones y tilapias, donde ha sido el patógeno más importante cuando se presentan brotes importantes de estreptococcosis en cualquier especie acuática (Perera *et al.*, 1994; Shoemaker *et al.*, 2001; Colorni *et al.*, 2002).

La estreptococcosis por *S. iniae* afecta a peces de cualquier tamaño y edad (Romalde y Toranzo, 1999), y la infección se presenta cuando los peces cohabitan con peces moribundos (Robinson y Meyer, 1966), cuando existe ingesta de alimento contaminado (Minami *et al.*, 1979), y por el contagio por especies silvestres (Zlotkin *et al.*, 1998a).

La sintomatología producida por *S. iniae*, es similar a la ocasionada por otro tipo de *Streptococcus*, los peces muestran nado errático, letargia, melanosis, exoftalmia, opacidad corneal, hemorragias en la base de las aletas, úlceras y ascitis (Eldar *et al.*, 1994 y 1995a). Internamente los peces muestran líquido hemorrágico en cavidad abdominal, esplenomegalia, palidez hepática, así como la inflamación alrededor del corazón y el riñón (Yanong y Francis-Floyd, 2006).

Además de ser un importante patógeno de peces, anfibios, y mamíferos marinos, *S. iniae* está relacionado con casos de estreptococcosis en humanos, en donde la enfermedad se ha asociado al contacto directo con peces enfermos o infectados; las personas desarrollan celulitis aguda, osteomielitis o endocarditis (Weinstein *et al.*, 1997); sin embargo, no es considerado un problema de salud pública (Shoemaker, 2001). Es de destacar, que la mayoría de reportes de casos en humanos están asociados con casos en personas que trabajan en el procesamiento de pescados y a los consumidores de pescado crudo o semicrudo, lo cual es una costumbre de los países asiáticos.

El uso de antibióticos para combatir la estreptococcosis se ha vuelto poco eficaz debido a la resistencia que han desarrollado las cepas; los antibióticos no destruyen totalmente a las células bacterianas que logran permanecer dentro de los macrófagos, lo que da lugar a la reaparición de la enfermedad poco tiempo después de que se terminó la aplicación de la antibioticoterapia (Hirs *et al.*, 2004; Glenn y Post, 2005).

CAPÍTULO I. IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE TILAPIA

Características y generalidades de la tilapia

Tilapia (*Oreochromis* spp) es el nombre común de aquellas especies de peces pertenecientes a la familia *Cichlidae*; esta expresión se deriva de la palabra nativa de Bechuana (África) "thlape" que significa Pez. Los Cíclidos se clasifican en el Orden Perciformes y habitan las aguas dulces y salobres de África, el Medio Oriente, las zonas costeras de la India, América Central, del Sur y el Caribe, incluyendo a Cuba, representada por dos especies de tilapia. Sin embargo, las verdaderas tilapias son nativas de África y el Medio Oriente. Debido a su introducción y dispersión por la intervención humana, durante la segunda mitad del siglo XX está representada en la zona tropical y subtropical de todo el mundo, incluyendo Asia y Oceanía (Toledo-Pérez y García-Capote, 2000).

Los peces genéricamente conocidos como tilapia, poseen una gran capacidad de adaptación a diferentes temperaturas, son de rápido crecimiento, presentan alta eficiencia en la conversión del alimento, y tienen mayor tolerancia que otras especies a la baja calidad del agua; así mismo, se considera, peces que son "resistentes" a parásitos y enfermedades. Tales características han permitido que en los últimos años sean las especies piscícolas de mayor desarrollo productivo del mundo (FAO, 2012). Sus características de adaptabilidad y resistencia han permitido que actualmente se trabajen bajo sistemas de crianza en altas densidades, tolerando mucho mejor esta condición que otras especies de peces, soportan aguas de baja calidad físico-química y otros factores adversos que le pueden ser estresantes (El-Sayed, 2006).

En cuanto a su hábitat, la tilapia generalmente se encuentra restringida a aguas relativamente someras y los adultos tienen una migración vertical hacia aguas profundas (Bruton y Bolt, 1975); habita en agua dulce, estuarinas y tolera amplios intervalos de salinidad (Trewavas, 1983). Es omnívora, ingiere una amplia variedad de organismos incluyendo plancton, invertebrados, larvas de peces,

detritos y materia orgánica en descomposición (Bruton y Bolt, 1975; Trewevas, 1983).

El cultivo de tilapia es una actividad relativamente nueva en los Estados Unidos de Norteamérica, Canadá, México y el Caribe. Se inició en la década de los sesenta a pequeña escala, principalmente con propósitos de subsistencia. Se introdujo a México en 1964 a la estación piscícola de Temascal, Oaxaca, procedente de Estados Unidos a pesar de la reticencia de los ecologistas por su agresividad, llegando primero la especie *Oreochromis mossambicus* y *Oreochromis urolepis hornorum* (Fragoso y Auro, 2007). Posteriormente los organismos se distribuyeron ampliamente en diferentes embalses naturales y artificiales de prácticamente todo el país (Toledo-Pérez y García-Capote, 2000).

El primer registro de la producción de tilapia en México data de 1970 (200 toneladas). Durante 1984-2002, la producción se incrementó progresivamente a una tasa anual de 12.75%. En el 2003, el cultivo de tilapia ocupó el segundo lugar en términos de producción (61,516 toneladas) y el tercer lugar en términos de valor 608, 080,000 pesos (Alceste-Oliviero, 2008). En el año 2013, la tilapia ocupó el quinto lugar por volumen de producción pesquera, y por su valor comercial, se ubicó en el tercer lugar (Anuario Estadístico, 2013).

En el contexto internacional, en 2005, México se ubicó como el séptimo productor de tilapia y el primer productor en el continente americano (Arosamena-Villarreal, 2009). Actualmente, la producción no alcanza para abastecer el mercado nacional que consume tilapia entera o fileteada (Fitzsimmons y Pantoja, 2005). Esto ocasionó que México se situara como el segundo importador mundial de tilapia China (híbrido de tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus* y tilapia azul, *Oreochromis aureus*) en el año 2007, con 39,000 toneladas (Alceste-Oliviero, 2008).

La pesca y la acuicultura son importantes fuentes de alimentos, nutrición, ingresos y medios de vida para cientos de millones de personas en todo el mundo. En los últimos años se ha registrado un incremento importante en la cantidad de

peces procedentes de acuicultura para consumo humano; en el 2014, la oferta mundial *per capita* de pescado alcanzo el máximo histórico de 20 kg, gracias al crecimiento de la acuicultura que actualmente aporta el 50% de todo el pescado destinado al consumo humano (FAO, 2016). China es el principal responsable de este aumento (Fitzsimmons *et al.*, 2016).

En cuanto al consumo per cápita nacional, de acuerdo a los Anuarios Estadísticos de Pesca y Acuicultura, a partir de 1995 se inicia una tendencia a la baja, en donde el consumo pasó de 12 kilogramos por persona, a 8 kilogramos en 2001. Eventualmente, en el 2004 se presenta un nuevo repunte del consumo, registrando 10.15 kilogramos anuales; en el periodo 2005-2008 la tendencia a la alza permaneció, el consumo en 2008 fue de 14.03 kg/habitante.

La tilapia y otros peces cultivados en México tienen gran aceptación y demanda; el producto generalmente se vende de un peso promedio de 250-300 g, y se comercializan a pie de granja, mercados y restaurantes locales. En las grandes ciudades el producto sólo alcanza para abastecer requerimientos del mercado local; básicamente el total de la producción acuícola se destina al consumo humano y el uso industrial es prácticamente nulo. En el caso específico de la tilapia, el 100% de la producción acuícola se destina al consumo humano (CONAPESCA, 2005-2008). Sin embargo, la producción nacional ha venido disminuyendo, no así su demanda, por lo que ésta ha tenido que ser cubierta con importaciones de peces provenientes principalmente de China, en forma de tilapia entera congelada (58%) y de filete congelado (42%); las importaciones también han desplazado el consumo del producto nacional por lo que se deben plantear nuevas estrategias para aumentar el consumo y valor agregado (FAO, 2009).

CAPÍTULO II. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE TILAPIA (*Oreochromis* spp)

Basado en la intensidad de producción y el nivel de intervención humana, los principales modos de producción de tilapia que tradicionalmente se han venido practicando en el país se clasifican como: sistema extensivo, semi-intensivo, intensivo e hiper-intensivo; asimismo, la actividad también puede dividirse en acuicultura comercial o didáctica y de fomento; algunos de estos sistemas se pueden presentar en combinación (FAO, 2010).

Sistema de cultivo extensivo. También conocido como "acuicultura de repoblación", fue el primer modelo tecnológico aplicado en México para el cultivo de la tilapia y consistió en una política enfocada a la distribución de alevines de diferentes especies de tilapia en 20 cuerpos de agua mayores de 10,000 Ha y en otros 95 de menor superficie, en toda la República Mexicana.

Entre los años 1982 y 1986, *Oreochromis aureus* constituyó más del 70% de la captura en los grandes embalses por lo que no se le dedicó la suficiente atención en aspectos de sanitarios y mejora reproductiva, lo que ha motivado la aparición de problemas tales como: pérdida de vigor genético de las especies, reducción de las tallas, sobrepesca y enfermedades (Arredondo y Lozano, 1996). La densidad de siembra utilizada en este tipo de sistemas de cultivo oscila entre 0.5 y 3 peces por metro cuadrado y las producciones alcanzadas varían entre los 3,000 y 50,000 crías de tilapia por hectárea (CEC-ITAM, 2006).

Sistema semi-intensivo. A partir de la década de los 80's se comenzó la práctica de este modo de producción, realizado en cuerpos de agua pequeños y en estanques, mediante a) monocultivo, b) bicultivo y c) policultivo de *O. niloticus*, *O. aureus* y *O. mossambicus*, además de algunos híbridos rojos y otras líneas de reciente introducción (*mossambica roja*, *nilotica roja*, *nilotica blanca* y *aurea azul*).

Los estanques que se emplean para este sistema de producción pueden ser de concreto de 90 a 1600 m² o estanques rústicos de 1500 a 5000 m². Este tipo de cultivos requiere bajo nivel de insumos, con una densidad de siembra ≤ 50 organismos por metro cubico (Vivanco-Aranda, 2009).

a) El monocultivo se realiza con sólo una especie de las antes mencionadas y se manejan densidades que van de 4 a 6 individuos por m²; algunas veces, después de los 7 u 8 cm se sexan y se practica el cultivo monosexo-macho, llevándose a una talla comercial de 250 a 320 g. Se pueden emplear otras vías para controlar la reproducción precoz de la tilapia como es el uso de hormonas para masculinizar la población de peces o el uso de híbridos estériles o triploides. Los rendimientos acuícolas son de 5 a 8 ton/Ha en 8 a 10 meses de cultivo, utilizando fertilización y alimentación complementaria (Arredondo y Lozano, 1996; Reta-Mendiola *et al.*, 2005).

b) El bicultivo de tilapia se realiza con langostino de agua dulce (*Machrobranchium rosebergii*) y *O. niloticus*, empleando densidades de siembra de 39,990 individuos por Ha para cada especie, con un período de cultivo de 150 días y un peso promedio de 12 y 420 g, respectivamente. La supervivencia es de 46.9 y 56.2% para langostino y 58.6 a 77.1% para la tilapia, mientras que los rendimientos van de 375.1 a 449.5 y de 843.6 a 2,112.9 kg/Ha en ese mismo orden (Granados, 1996).

c) *Policultivo* se realiza en combinación con algunas especies de carpas, como la carpa herbívora (*C. ideal*), carpa plateada (*H. molitrix*), carpa cabezona (*A. nobilis*) y carpa común (*C. carpio*).

Cultivo intensivo. Este se practica en estanques, tanques circulares, jaulas, canales de corriente rápidas y en canales de riego secundarios y terciarios empleando densidades que fluctúan entre 80 y 100 ejemplares/m³, lo que permite obtener 20 kg por m³ de rendimiento. El suministro de alimento artificial de calidad es la limitante principal de este cultivo. En el cultivo en jaulas se utilizan módulos de 56 m³ (7 x 4 x 2 m), con una densidad de 100 ejemplares/m³, en las cuales se obtienen producciones cercanas a una tonelada en sólo 8 meses, alcanzando los ejemplares una talla de 250 a 300 g (Arredondo y Lozano, 1996; Reta-Mendiola *et al.*, 2005).

Riesgo por el incremento de la producción y manejo de peces

En los últimos años se ha registrado un incremento notable de la producción piscícola mundial (FAO, 2004; Ortega y Valladares, 2015); sin embargo, el incremento de la actividad, que invariablemente se acompaña de una alta concentración de individuos y de microorganismos en espacios más reducidos, junto con la globalización favorecen la diseminación de microorganismos acuáticos y la aparición de enfermedades, lo que representa una de las amenazas más importantes para la acuicultura (FAO, 2004). Debido a lo anterior, actualmente se reportan “nuevos agentes” o agentes que afectan a “nuevas especies”.

CAPÍTULO III: DIAGNÓSTICO DE ESTREPTOCOCCOSIS EN TILAPIA

Consideraciones generales. En la actualidad existen varias técnicas de diagnóstico sanitario que permiten la rápida identificación de agentes patógenos; siempre es determinante que el especialista sanitario de campo tenga el conocimiento técnico necesario sobre el tipo de enfermedades que pueden afectar a las poblaciones de los animales bajo su cuidado, para que en momento dado proponga el tipo de estudio o estudios de laboratorio requeridos para confirmar su diagnóstico presuntivo. En tanto, el técnico puede tomar algunas acciones para el control del problema (Inglis, 1976; Brawn, 2000).

En peces son raros los signos clínicos considerados como patognomónicos de enfermedad, por lo que es necesaria la examinación y uso de pruebas adecuadas para poder identificar tanto enfermedades infecciosas como las no infecciosas. Existen varias recomendaciones orientadas a la obtención de una muestra representativa y adecuada. Esto es importante, porque una “mala” muestra que sea “bien procesada” puede llevar a resultados de diagnóstico equivocados. Lo ideal es remitir peces afectados vivos siempre que sea posible; cuando no es posible, entonces los peces deben eutanasiarse y enhielarse si se requieren usar para cultivo o aislamiento bacteriano, o bien fijarse para análisis histológico, inmunohistoquímico o para estudios moleculares (Inglis, 1976; Brawn, 2000).

El tipo y la cantidad de muestras que deben recogerse dependen de la enfermedad o agente patógeno, del tamaño de los animales y del objetivo de la prueba; es decir: 1). Diagnóstico de enfermedad manifiesta, 2). Detección de peces portadores subclínicos de agentes patógenos o 3). Vigilancia específica para demostrar la ausencia de una enfermedad determinada.

Para identificar al agente etiológico responsable de un proceso infeccioso es necesario asignar especie a un aislamiento bacteriano, esto se logra a través del uso de técnicas fenotípicas (bioquímicas), sin embargo, estos métodos muestran algunas limitaciones, por lo que es necesaria la utilización de métodos

moleculares, lo que además, permite una identificación más rápida, conjuntamente con la identificación fenotípica, pruebas que aportan datos de gran valor diagnóstico (Pourgholam *et al.*, 2013).

La identificación bacteriana basada en las características fenotípicas, es la más practicable, ya que se apoya en características observables de las bacterias, como: su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y metabólicas, datos que se utilizaran para realizar una comparación de las características fenotípicas de bacterias desconocidas con aquellas de cultivos tipo, es por esto que el cultivo, continúa siendo el método diagnóstico mayormente utilizado, ya que permite el aislamiento de la bacteria implicado, su identificación y estudio de sensibilidad a los antimicrobianos

Signos de enfermedad

Por lo general, los peces afectados por estreptococcosis presentan signos de inactividad, oscurecimiento del cuerpo, anorexia y caquexia, palidez branquial, exoftalmia uni o bilateral, opacidad corneal uni o bilateral (Figuras 1 y 2), pérdida de escamas, nado errático, lesiones en forma de abscesos en región mandibular y en la base de la cola (Figuras 3 y 4).



Figura 1. Tilapia con oscurecimiento corporal, exoftalmia bilateral.



Figura 2. Tilapia con severa opacidad corneal y hemorragia ocular.

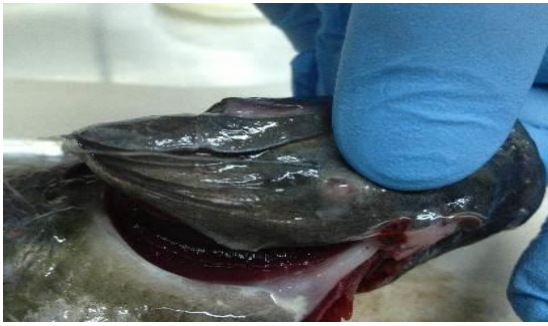


Figura 3. Tilapia con absceso en mandíbula.



Figura 4. Tilapia con hemorragia en base de la cola.

Internamente presentan ascitis con líquido de aspecto sero-sanguinolento, múltiples adherencias (Figura 5); hepatopáncreas y riñón con aspecto y coloración irregular (Figura 6). Aumento de tamaño de bazo, riñón y hepatopáncreas; edema y hemorragia cerebral (Figura 7), hemorragias musculares y corazón rodeado de membranas blanco-grisáceas de aspecto de masa purulenta (Figura 8).



Figura 5. Cavidad celómica de tilapia. Hepatopáncreas con formación de adherencias múltiples y ascitis sero-sanguinolenta.



Figura 6. Cavidad celómica de tilapia; adherencias abdominales, hepatopáncreas de aspecto y color irregulares, branquias pálidas.



Figura 7. Tilapia con edema y hemorragia cerebral. Opacidad corneal, oscurecimiento corporal.

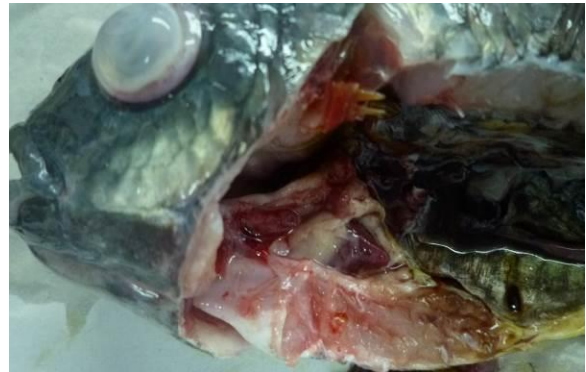


Figura 8. Tilapia con exoftalmia y opacidad corneal; corazón con membranas de aspecto de material purulento

Métodos de diagnóstico

Aun cuando las bacterias del género *Streptococcus* pueden aislarse con relativa facilidad, la diferenciación entre distintos *Streptococcus* basado en signos clínicos, lesiones patológicas y análisis bioquímico es insuficiente (Pourgholam *et al.*, 2013).

El diagnóstico de estreptococcosis en peces clínicamente afectados puede lograrse por el aislamiento del agente o, más rápidamente mediante pruebas de IFAT o hibridación en los tejidos infectados, las cuales sin embargo deben confirmarse mediante el aislamiento e identificación de la bacteria a través de pruebas bioquímicas, serológicas y por análisis molecular (Inglis, 1976; Lau *et al.*, 2006; Pourgholam *et al.*, 2013).

Normalmente, el diagnóstico comienza analizando los signos clínicos, la identificación y aislamiento de cocos Gram positivos de órganos internos; una vez obtenidas las colonias puras en diferentes medios de cultivo, se realiza la identificación fenotípica mediante el uso de análisis bioquímicos extensos, además de que es necesaria una confirmación más precisa mediante pruebas genéticas (Kitao, 1993; Shoemaker y Klesius, 1997).

Preparaciones húmedas. Las preparaciones húmedas son importantes en casos de parásitos y de hongos pero para bacterias es irrelevante ya que en estas

preparaciones se aprecia una gran cantidad de bacterias de distintos tipos (Brawn, 2000).

Frotis-improntas. Se pueden hacer frotis o improntas de los tejidos o áreas afectadas, las cuales se tiñen para la observación de bacterias usando la técnica de tinción de Gram. En este caso, la tinción solo ayuda a determinar si la bacteria involucrada es de tipo Gram positiva de forma cocoide, lo cual inclina a suponer la presencia de una bacteria tipo *Streptococcus*, pero no confirma la especie; incluso tampoco confirma el género, ya que además de bacterias de este género, en acuicultura otras bacterias Gram positivas también pueden afectar peces. Por lo anterior, se deberá hacer uso de otras técnicas para confirmar el aislamiento (Lau *et al.*, 2006; Pourgholam *et al.*, 2013).

Las muestras de frotis o impronta también son útiles si se utiliza un procedimiento inmunohistoquímico como la inmunofluorescencia indirecta (IFAT) o de inmunoperoxidasa. Asimismo, el agente también puede ser detectado en cortes que han sido fijados en parafina; en este caso se puede ver la lesión histológica derivada de la enfermedad evidenciando también la presencia de la bacteria Gram positiva de forma cocoide en los tejidos afectados, lo que confirmaría al agente etiológico. A estas muestras se les puede realizar también una prueba inmunohistoquímica usando anticuerpos específicos que confirmarían al agente (Brawn, 2000).

Aislamiento e identificación del agente

Las muestras para el cultivo bacteriano deben inocularse directamente en medios recomendados (en ocasiones los medios de transporte no son compatibles con patógenos de peces). De no ser posible la inoculación de muestras de animales recién muertos o moribundos, los órganos o tejidos que se utilizaran para intentar el aislamiento deben separarse de los tejidos no estériles como el intestino y piel (Inglis *et al.*, 1976; Yanong y Francis-Floyd, 2002).

Durante la necropsia se registran las lesiones que presentan los peces afectados y se toman muestras para aislamiento bacteriológico a partir de bazo,

hepatopáncreas, riñón, corazón, ojo, cerebro y de úlceras de piel, que se siembran por estría en medios BHI y agar sangre enriquecido con 5% de sangre de ovino, que se incuban a 28°C por 24 h. Las colonias dominantes identificadas como cocos Gram positivos sugestivas de *Streptococcus* spp, se purifican mediante subcultivo en agar sangre para identificación posterior, evaluando sus propiedades bioquímicas y metabólicas, complementado con métodos moleculares, comparado con bacterias tipo. Las bacterias purificadas se congelan a -20°C en medio BHI con 15% de glicerol (Yanong y Francis-Floyd, 2002).

Características microscópicas de las bacterias

El estudio microscópico en fresco y la tinción de los preparados revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño. Las tinciones son el primer paso y ocasionalmente el único para la identificación bacteriana. Las tinciones más utilizadas e imprescindibles son la del azul de metileno y la tinción de Gram, que a menudo es la primera y la única herramienta para hacer un diagnóstico provisional en el proceso de identificación bacteriana (Inglis *et al.*, 1976; Yanong y Francis-Floyd, 2002).

Características macroscópicas de las colonias de bacterias

Morfología. Para la observación morfológica de las colonias es mejor evaluar colonias de cultivos frescos crecidas en medios no selectivos (preferentemente de un cultivo puro). Cuando crecen en medios específicos y bajo condiciones idóneas, las colonias de una especie única se describen por sus características, de las cuales se consideran:

- Tamaño de las colonias bacterianas. El tamaño debe ser igual y uniforme cuando se tienen bacterias de una misma especie.
- Forma, la cual estará determinada por los bordes y el grosor de la colonia.
- El borde, puede ser liso o rugoso e irregular; la colonia, abultada o plana.

- Textura de la colonia, que puede variar desde seca a viscosa, con superficie lisa o granular.
- Algunos microorganismos producen una colonia pigmentada, lo que puede ser de ayuda en el proceso de identificación
- Hemolisis. Algunas bacterias producen hemolisinas que causan la lisis de los eritrocitos en medios que contienen sangre. Esta hemolisis puede ser beta (zona clara alrededor de la colonia) o alfa (halo de color verdoso alrededor de la colonia) (Inglis *et al.*, 1976).

Caracterización fenotípica y bioquímica.

El análisis fenotípico de las bacterias de *Streptococcus* spp, se realiza considerando su tinción a la técnica de Gram, morfología, tipo de reacción hemolítica en agar sangre de ovino, el perfil de pruebas bioquímicas convencionales y utilizando el sistema API 20 Strep (bioMérieux, France), y agrupamiento de Lancefield mediante el *Streptococcal* Grouping Kit (Oxoid, UK). Otras pruebas consisten en evaluar su motilidad, formación de ácidos a partir de carbohidratos y su crecimiento en medios enriquecidos a diferentes temperaturas y diferente concentración de NaCl (de 0.5% a 6.5%)(Kia y Mehrabi, 2013).

Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias objeto de identificación. Algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas. Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48 h.

En el mercado existen sistemas o equipos multipuebas que permiten conseguir la identificación de algunas bacterias con mayor rapidez. Estos sistemas exigen condiciones precisas en cuanto al inóculo, modo de inoculación, incubación y lectura que de no seguirse pueden dar lugar a errores. Uno de estos sistemas es

el API Strep 20, que permite hacer una aproximación bioquímica en bacterias del género *Streptococcus* de manera rápida utilizando una tira (Kia y Mehrabi, 2013).

Pruebas utilizadas para identificación bacteriana preliminar:

Catalasa. La catalasa es un enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbujas. El principal objetivo de esta prueba es separar bacterias tipo Micrococaceae que son catalasa positivas, de bacterias tipo *Streptococcus* spp. y *Enterococcus* spp que son catalasa negativas.

Oxidasa. Es una prueba que sirve para determinar la presencia de enzimas oxidasas; la reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo el cual es reducido por el oxígeno molecular produciéndose agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana. Por lo general, el sistema citocromo oxidasa solo se encuentra en las bacterias aerobias, algunas anaerobias facultativas y, excepcionalmente, en alguna microaerofila (*Vibrio fetus*), pero las bacterias anaerobias estrictas carecen de actividad oxidasa. Asimismo, la presencia de oxidasa va ligada a la producción de catalasa, ya que ésta degrada el peróxido de hidrógeno que se produce como consecuencia de la reducción del oxígeno y cuya acumulación es tóxica. Las bacterias de *Streptococci* son oxidasa negativas.

Pruebas rápidas, con lectura en menos de 6 h.

Hidrolisis del hipurato. Demuestra la capacidad de algunas bacterias para hidrolizar el hipurato de sodio a ácido benzoico y glicina por la acción de la enzima hipúricasa. Como indicador de la reacción se utiliza ninhidrina. Esta prueba se utiliza en la identificación de *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Gardnerella vaginalis* y *Streptococcus agalactiae*.

β -galactosidasa. Esta enzima hidroliza la lactosa originando glucosa y galactosa. Esta prueba demuestra la presencia de la enzima β -galactosidasa. Hay

bacterias que a pesar de poseer enzimas que hidrolizan la lactosa (β -galactosidasas), no pueden actuar sobre ella porque les faltan las enzimas extracelulares apropiadas (permeasas). Para conocer si un microorganismo es productor de β -galactosidasa, basta añadir el compuesto orgánico O-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (ONPG) que es incoloro. Si la bacteria posee las enzimas hidrolizantes (β -galactosidasa), el compuesto se transforma en ortonitrofenol, un derivado cromogénico de color amarillo. Todas las bacterias fermentadoras lentas de la lactosa son β -galactosidasa positivas. *Streptococcus* es β GAL negativo.

Aminopeptidasa (PYR). La L-pirrolidonil- β -naftilamida sirve como sustrato para la detección de pirrolidonil peptidasa. Se utiliza principalmente en la identificación de *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus* spp.

LAP. Se utiliza para la detección de la enzima leucina amino peptidasa (LAP); prueba para la identificación de cocos Gram positivos catalasa negativa; diferencia específica de los géneros *Aerococcus* y *Leuconostoc* de *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Pediococcus*. *Streptococcus* la cual resulta positiva.

Ureasa. Determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea formando dos moléculas de amoníaco por acción del enzima ureasa; esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus* y se usa sobre todo para diferenciar este género de otras enterobacterias que dan negativo o positivo retardado. *Streptococcus agalactiae* es ureasa negativa.

Indol. Mediante esta prueba se detecta la liberación de indol en un cultivo bacteriano. Dicha liberación se debe a la degradación del aminoácido triptófano mediante el enzima triptofanasa (Inglis *et al.*, 1976).

Pruebas lentas, con lectura de 18 a 48 h.

Oxido-Fermentación. Mediante esta prueba se va a determinar si la utilización de los hidratos de carbono por parte de un microorganismo se realiza por vía oxidativa (proceso aeróbico) o por vía fermentativa (proceso anaeróbico).

Reducción de nitratos. Sirve para determinar la capacidad de un organismo de reducir el nitrato en nitritos.

Rojo de metilo. El rojo de metilo es un indicador de pH. Actúa entre pH 4,2 y 6,3 variando desde rojo (pH 4,2) a amarillo (pH 6,3). Mediante esta prueba se comprueba la capacidad de un microorganismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa por la vía de la fermentación ácido mixta.

Voges-Proskauer. Permite observar si el microorganismo fermenta la glucosa por la vía butanodiolica. Si es así, se forma un producto intermedio (acetoina) que forma un complejo de color rojizo con el α -naftol.

Fermentación de azúcares. Las bacterias anaerobias o anaerobias facultativas a menudo fermentan carbohidratos ácidos orgánicos y gas (H_2 o CO_2). Estos pueden detectarse incluyendo en el medio un indicador de pH.

Hidrolisis de la esculina. Hay microorganismos con capacidad de hidrolizar la esculina en esculetina y glucosa. La esculetina reacciona con una sal de hierro para formar un compuesto castaño oscuro o negro. El citrato férrico actúa como indicador de la hidrolisis de la esculina. Si se añade bilis al medio se inhibe el crecimiento de la mayoría de microorganismos del género *Streptococcus*.

Hidrolisis de la gelatina. Esta prueba muestra la capacidad de ciertos microorganismos para hidrolizar la gelatina a péptidos y aminoácidos, mediante la acción de enzimas específicas denominadas gelatinasas.

Prueba de CAMP. Sirve para determinar la capacidad de un microorganismo para producir una proteína conocida como factor CAMP. La proteína produce un efecto sinérgico con la β -hemolisina de *S. aureus* sobre eritrocitos ovinos y bovinos que se observa como un fenómeno lítico en la intersección de los dos microorganismos cuando se siembran en proximidad.

Pruebas basadas en resistencia

Optoquina. El clorhidrato de etilhidroxicupreina (optoquina) inhibe a muy baja concentración (5 µg/ml o menos) el crecimiento de *S. pneumoniae*, mientras que no afecta al crecimiento de otros *Streptococcus* alfa-hemolíticos.

Bacitracina. Esta prueba puede utilizarse como diagnóstico presuntivo en la identificación de *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A de Lancefield, ya que, a diferencia de la mayoría de los estreptococos, suelen ser sensibles a bajas concentraciones de bacitracina.

Solubilidad en bilis. Se basa en la capacidad de determinadas especies bacterianas de lisarse en presencia de sales biliares, las más utilizadas de las cuales son el taurocolato y el desoxicolato de sodio. Ambas provocan un descenso de la tensión superficial, que, unido a la actuación de enzimas autolíticos, destruyen la célula.

Crecimiento en caldo hipersalino. Determina la capacidad de algunos microorganismos de desarrollarse en medios de cultivo con una concentración de cloruro de sodio del 6,5%.

Sensibilidad antimicrobiana

Como un modo de caracterización de *Streptococcus*, la susceptibilidad a diferentes antibióticos se determina de acuerdo al método de difusión de disco Kirby-Bauer en agar Mueller-Hinton, ajustando la turbidez a 0,5 de McFarland utilizando discos Oxoid. En este sentido, los *Streptococcus* han sido susceptibles a un amplio número de antibióticos; sin embargo, los resultados son variados en cada uno de los casos ya que dependen en gran medida de la cepa involucrada en cada infección, del estado fisiológico de los peces afectados, de factores ambientales y de manejos tanto a los animales como a las prácticas que se realizan en la unidad de producción.

Análisis histopatológico

Complementario a la caracterización bioquímica, la histopatología se utiliza como una herramienta sumamente importante en el diagnóstico de las enfermedades infectocontagiosas de peces, ya que en ocasiones las observaciones son suficientes para hacer un diagnóstico correcto (Sindermann y *et al.*, 1980; Johnson y Bergman, 1984; Meyers y Hendricks, 1985; Noga, 1996).

Las lesiones macroscópicas e histológicas observadas en casos de infección por diferentes bacterias de tipo *Streptococcus*, que genéricamente se conocen como estreptococcosis suelen ser muy similares (Li *et al.*, 2013; Hossain *et al.*, 2014), haciendo difícil determinar al agente involucrado. Pueden observarse alteraciones histopatológicas en todos los órganos principales. Li *et al.* (2013), describen que *S. agalactiae* ocasiona una enfermedad más dramática en la que se pueden observar lesiones nodulares en músculo, los cuales no se observaron en un estudio realizado en CIESA, donde *S. iniae* fue prácticamente aislado de todos los órganos que no presentaron nódulos, pero se observaron abscesos mandibulares referidos por Hossain *et al.* (2014) en casos de *S. iniae* (Figura 3).

Algunos estudios han caracterizado las lesiones histopatológicas ante infección por *S. agalactiae* (Ortega *et al.*, 2016)(Figuras 9 y 10); *S. iniae* y otros *Streptococcus*; sin embargo, es difícil lograr una diferenciación real con otros *Streptococcus* (Fawzy *et al.*, 2014). Con base en el análisis molecular, se puede asegurar cuál de estas bacterias está involucrada en el proceso de infección.

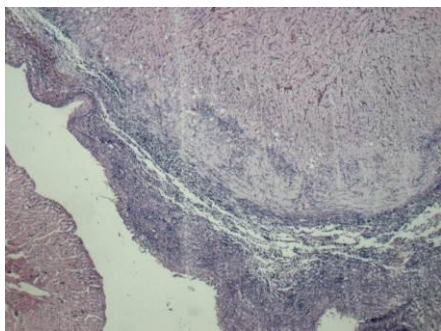


Figura 9. Corazón de tilapia afectada por *estreptococcosis*. Se observa pericarditis y epicarditis mononuclear severa, por presencia de macrófagos.

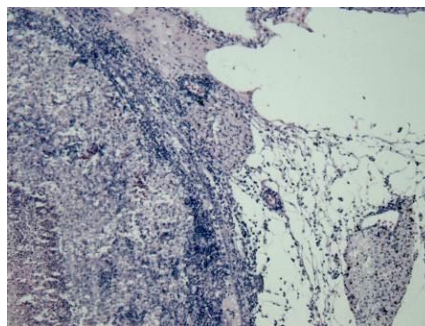


Figura 10. Cerebro de tilapia afectada por *estreptococcosis*. Se observa meningoencefalitis mononuclear severa, por presencia de macrófagos.

En hígado, los vasos sanguíneos presentan perivasculitis edematosa que avanza a necrosis; el parénquima hepático muestra hiperemia con múltiples focos de degeneración y necrosis. El corazón muestra pericarditis e infiltración del miocardio que avanza a degeneración focal y necrosis. El bazo muestra hiperemia con hiperplasia del reticuloendotelio y aumento de tamaño de centros melanomacrófagos, y el páncreas está inflamado con necrosis multifocal. En riñón, se observan lesiones en el tejido excretor y hematopoyético. Los túbulos renales están obstruidos por cilindros y las células sufren degeneración hialina y vacuolación. En intestino se muestra inflamación perivascular, descamación del epitelio y atrofia de las vellosidades. El peritoneo está inflamado y los vasos linfáticos están llenos de detritos y de macrófagos. En la vejiga natatoria, la lámina epitelial pasa de ser una monocapa a una multi-capa continua y los vasos de la submucosa están dilatados y se observa una infiltración de linfocitos cercana.

Diagnóstico por técnicas moleculares.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Dados los problemas inherentes que presentan los sistemas de identificación fenotípicos, los métodos moleculares se han erigido como procedimientos complementarios alternativos o incluso de referencia. En la década de los años 80's comenzó la búsqueda de genes estables que permitieran establecer relaciones filogenéticas entre las bacterias, como los genes que codifican para las subunidades ribosómicas 5S, 16S, 23S y sus espacios intergénicos (Li *et al.*, 2013).

En la taxonomía bacteriana, el análisis de la secuencia génica del ARNr 16S es la herramienta más ampliamente utilizada. Este marcador housekeeping está presente en todas las bacterias y actúa como un marcador eficiente de evolución. Las técnicas de identificación molecular en bacterias mediante el análisis del ARNr 16S u otros genes se basan en la amplificación genómica y en la secuenciación de esos genes o sus fragmentos. Las etapas para la identificación molecular son:

Extracción del ADN. El ADN genómico se puede extraer directamente de muestras clínicas o de células bacterianas cultivadas. Existen diferentes métodos

de extracción universales o bien sistemas comerciales. Dependiendo del tipo de bacteria se pueden aplicar modificaciones que simplifiquen u optimicen la extracción cromosómica del ADN.

Amplificación. El ADN se utiliza como molde para amplificar mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) una secuencia del ARNr 16S con un rango de tamaño entre 500-1.500 pb (puede ser otro gene y otro tamaño de segmento). Cuando se utilizan cebadores universales o de amplio espectro que son complementarios a regiones conservadas, se amplificaría teóricamente el gen del ARNr 16S en todas las bacterias. Sin embargo, ninguno de los cebadores utilizados en la actualidad se considera totalmente universal, por lo que no se puede realizar una recomendación específica de cebadores que garantice la amplificación de todos los procariontes.

Para confirmar una amplificación óptima, es imprescindible la electroforesis del producto de PCR en gel de agarosa, en la cual debe observarse únicamente una sola banda de un tamaño específico, que pertenece a un amplicón único, cuyo tamaño es derivado de la ubicación de los primers (Kia y Mehrabi, 2013).

Secuenciación del amplicón. La secuenciación es un proceso análogo a la PCR que utiliza el ADN como molde pero que los cebadores directo y reverso actúan en reacciones independientes. Estos cebadores pueden ser los mismos cebadores de amplificación u otros diseñados para esta etapa del ensayo. A diferencia de la PCR, no se genera un nuevo molde, sino que se reutiliza en los ciclos programados. Se añaden bases marcadas con fluorocromos o terminadores y bases no marcadas, que se irán incorporando aleatoriamente a la síntesis. Los terminadores finalizan la síntesis de la secuencia, por lo que al final se obtiene una mezcla de productos de ADN de diferentes tamaños. Cada base (adenina, timina, guanina y citosina) se marca con un fluorocromo diferente que absorbe a diferente longitud de onda, detectándose posteriormente.

Análisis de secuencias. La observación del electroferograma (secuencias de bases ofrecidas por los secuenciadores) constituye el primer paso del análisis

de las secuencias. Algunas veces se producen errores entre el electroferograma y la secuencia; por ejemplo, asignación de dos T existiendo 3, o posiciones ambiguas. Para resolver estas situaciones se reedita visualmente el electroferograma y se corrige, o se alinean y ensamblan las secuencias directa y reversa en una secuencia consenso. A continuación, la secuencia consenso se introduce en bases de datos online de acceso público o privado, con el objetivo de identificar la cepa problema mediante la comparación con otras secuencias depositadas en estas bases (Li *et al.*, 2013).

Actualmente, la base de datos que presenta mayor número de consultas por su mayor versatilidad en organismos, orígenes, genes, tipo y número de secuencias depositadas es la base pública GenBank NCBI (National Center for Biotechnology Information), con programas como BLAST para el alineamiento de secuencias. El GenBank contiene una sección de taxonomía que incluye información y secuencias de miles de organismos. Frecuentemente, las comparaciones entre las diferentes secuencias se muestran mediante los alineamientos lineales y dendrogramas.

Epidemiología.

Los brotes generalmente ocurren cuando los peces han estado expuestos a condiciones de estrés, tales como un aumento en la temperatura del agua, niveles de oxígeno del agua por debajo del óptimo para la especie, hacinamiento durante períodos prolongados.

La enfermedad se transmite de forma horizontal de pez a pez (a través de canibalismo y lesiones en la piel entre otros) y también desde el medio ambiente a los peces. La enfermedad prácticamente puede afectar a todos los tamaños de peces. Sin embargo, los peces más grandes (desde 100 g al tamaño de mercado) suelen ser los más susceptibles a la enfermedad. La enfermedad puede ser aguda, con picos de mortalidad que duran de 2 a 3 semanas, que generalmente se presentan durante la temporada de alta temperatura del agua. Sin embargo, la

presentación también puede ser crónica, cuando la temperatura del agua es más baja, lo que causa un bajo nivel de mortalidad, pero persistente.

Prevención y control

Una vez que se ha detectado de manera oportuna la presentación clínica de la estreptococcosis se deben de establecer varias medidas de control para tratar de que los efectos de la enfermedad sean menores. Algunas de las medidas que se recomiendan son las siguientes:

- Disminuir la tasa de alimentación. Se ha observado que durante brotes agudos de estreptococcosis, la reducción parcial o total de la alimentación puede ayudar a controlar o disminuir la tasa de mortalidad (Sheehan, 2009). En este sentido se han propuesto varias explicaciones a este fenómeno; una de las hipótesis es que las bacterias están presentes en el agua y su absorción se ve facilitada por la alimentación. Otra explicación es el hecho de que al disminuir la tasa de alimentación también disminuye la eliminación de desechos que afectan la calidad del agua; si el alimento no es consumido, se descompone afecta la calidad de agua y sirve como alimento para microorganismos. Asimismo, la práctica de alimentación puede ocasionar situaciones de estrés a los peces.
- Disminuir la densidad de población. Con esta acción se logra equilibrar la tasa de supervivencia; esto ayuda a reducir tanto el nivel de estrés como la carga de patógenos dentro de la población.
- Mantener niveles óptimos de oxígeno: se recomienda el uso de ruedas de paletas para airear el agua a fin de evitar niveles de oxígeno por debajo de lo óptimo que agravarán la situación de la enfermedad.
- Bajar la temperatura del agua: Cuando el agua se mantiene a una temperatura alta para el rango permitido para la especie, se presenta una condición de estrés para los peces. Asimismo es una condición preferencial para que las bacterias se desarrollen. Por lo tanto, en la medida de las posibilidades se debe procurar reducir la temperatura del agua; esto quizá

es más factible en sistemas de recirculación donde la temperatura es controlable (Yanong y Francis-Floyd, 2002; Sheehan, 2009).

En cultivos con estanques de pequeño tamaño se pueden utilizar filtros solares y aspersores de agua, pero con éxito limitado. La activación de turbinas de paletas por la noche cuando la temperatura del aire es menor es un método adicional que puede ayudar a reducir la temperatura del agua.

- Tratamiento con antibióticos. Para el tratamiento de la estreptococcosis, los antibióticos solo son efectivos si se aplican de manera oportuna, al inicio de la enfermedad. En la mayoría de los casos, los antibióticos orales son ineficaces ya que los peces afectados tienen un apetito reducido.

Muy comúnmente se ha observado que los antibióticos solo controlan parcialmente las tasas de mortalidad durante el período de aplicación; sin embargo, una vez que termina el tratamiento con antibióticos, la mortalidad generalmente aumenta nuevamente. Esto conduce a un comportamiento no sostenible, ya que como la mortalidad aumenta de nuevo, los productores se sienten tentados a aumentar la duración de la aplicación a períodos más largos o aplicar dosis más altas que las recomendadas. Esta práctica a su vez aumenta la presión de selección hacia bacterias resistentes. En este sentido, para aquellos productores orientados a la exportación, las consecuencias negativas del uso de antibióticos así como la resistencia a los antibióticos y las preocupaciones por los residuos de carne, deben evaluarse cuidadosamente (Sheehan, 2009).

Alternativamente, desde la última década del siglo pasado se han realizado estudios para evaluar el efecto profiláctico de varios productos naturales, aunque esta práctica se ha utilizado desde antes de la era cristiana. En un estudio, donde se utilizaron ajo y un producto de patente a base de cítricos (toronja, mandarina, lima y naranja dulce) contra microorganismos Gram negativos: *Aeromonas hidropyla* y *Pseudomonas fluorescens* en juveniles

de tilapia (*Oreochromis hornorum*); los resultados mostraron que el ajo a dosis de 50 mg/L de agua por día durante tres días tuvo mayor eficacia bactericida, ya que tanto la morbilidad como la mortalidad de peces fueron menores que el producto comercial con cítricos. En el caso de la mezcla de los cítricos se probó que dosis altas (5 ml) irritan la piel e incluso puede producir mortalidad al dejar al pez sin la glucoproteína que lo protege, lo que podría ser una limitante para su uso en piscicultura si se sobrepasan las dosis terapéuticas establecidas (Prieto *et al.*, 2005).

Recientemente, Hussein *et al.*, (2013), observaron que el aceite de ajo puede ser eficaz contra bacterias patógenas de peces, entre ellas *Streptococcus inae*; sin embargo, se requiere mayor investigación.

- Vacunación: Actualmente se han desarrollado vacunas para prevenir brotes de *Streptococcus* spp. en tilapia para el control de estreptococcosis, pero su comercialización es muy limitada. Sin embargo, las nuevas herramientas biotecnológicas y la investigación auguran que la vacunación será la técnica preventiva clave para combatir esta y otras enfermedades que impactan económicamente la cría de tilapia, y otras especies (Yanong y Francis-Floyd, 2002).

Tratamiento

Después de que se ha identificado plenamente a una bacteria de género *Streptococcus* como la causa de enfermedad de peces, se debe realizar una prueba de sensibilidad para determinar cuál es el antibiótico más efectivo contra la bacteria obtenida en el laboratorio de diagnóstico; con base a esto se puede garantizar un uso adecuado de antibióticos permitidos (Hussein *et al.*, 2013).

Las bacterias del género *Streptococcus* suelen ser susceptibles a la eritromicina a una dosis oral de 1,5 gramos por libra de alimento suministrado durante 10 a 14 días. La amoxicilina también ha demostrado ser efectiva en dosis vía oral de 80 mg/kg de peso corporal (3.6 gramos por libra de alimento) durante 8 a 12 días. Sin embargo estos productos no están aceptados para peces de

consumo por la FDA. En cambio, se ha demostrado que Aquaflor (florfenicol) es eficaz contra *Streptococcus iniae* usado a dosis de 15 mg/kg de peces por día durante 10 días consecutivos. El Aquaflor es el antibiótico de elección para casos de estreptococcosis, y tiene la ventaja de que es un producto que está aprobado por la FDA para el control de la mortalidad asociada con esta bacteria específica en peces criados en agua dulce (Yanong y Francis-Floyd, 2002; Hussein *et al.*, 2013).

Al igual que en animales terrestres, en peces de consumo y ornamentales existen ciertas restricciones en el uso de antibióticos, por lo que se requiere la prescripción veterinaria antes de su uso. Desafortunadamente, en ocasiones las pruebas de sensibilidad sugieren usar antibióticos no permitidos para acuicultura, por lo que se debe consultar a un especialista en salud acuícola antes de intentar un tratamiento, ya que podría existir el riesgo de usar productos potencialmente no permitidos que podrían ocasionar residuos en los tejidos. El especialista también deberá recomendar algunas situaciones particulares del tratamiento, además del régimen de dosificación del producto antibiótico y su duración, según cada caso en particular (Yanong y Francis-Floyd, 2002).

En estudio reciente de Aboyadak *et al.* (2016), se demostró que una cepa de *Streptococcus iniae* fue sensible a Florfenicol, norfloxacin y oxitetraciclina con concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) de 8, 0.25 y 2 µg/ml, respectivamente. Asimismo, la dosis letal 50 (DL50) de *Streptococcus iniae* en *Oreochromis niloticus* de un peso promedio de 80 ± 5 g fue de 6×10⁸ UFC/ml inoculados por vía intraperitoneal (0,2 ml). Se observó que no hubo mortalidades en los grupos infectados que fueron tratados con florfenicol y norfloxacin, mientras que hubo una mortalidad de 20% en el grupo tratado con oxitetraciclina. Sin embargo, Florfenicol, norfloxacin y oxitetraciclina se pueden considerar como antibióticos de elección para un tratamiento efectivo para el control de *Streptococcus iniae* en tilapias, a una dosis de 50, 100 y 100 mg/kg de peso corporal, respectivamente, durante siete días sucesivos

LÍMITE DE TIEMPO

El trabajo se realizó en el período comprendido de noviembre de 2016 a abril de 2017; para la elaboración del documento se incluyó la información más relevante.

En donde destacaron las fases de recolección y búsqueda de información, análisis y elaboración de fichas bibliográficas y redacción del documento.

Cronograma de actividades

Actividad	Nov-Dic 16	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Búsqueda y recolección de información	X	X			
Análisis y elaboración de fichas bibliográficas	X	X			
Redacción de protocolo	X	X	X		
Redacción del documento final			X	X	X

LÍMITE DE ESPACIO

El trabajo se realizó en las salas de estudio y bancos de información (base de datos), de los siguientes centros:

- Biblioteca Central del Cerrillo Piedras Blancas, de la Unidad *Campus* el Cerrillo de la Universidad Autónoma del Estado de México.
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Instituto Nacional de Investigación y Fomento Agropecuario (INIFAP) de Palo Alto. México, D.F.
- Biblioteca del Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

LITERATURA REVISADA

- Aboyadak, A.M.; Ali, N.G.; Abdel-Aziz, M.M.; Gado, M.S.; El-Shazly, K.A. (2016). Role of Some Antibacterial Drugs in Control *Streptococcus iniae* Infection in *Oreochromis niloticus*. J of Pharmacol & Clin Res. 1(5): 555573. DOI: 10.19080/JPCR.2016.01.555573
- Alceste-Oliviero, C. (2008). "Evolución del Mercado de la Tilapia en México". 4to. Foro Internacional de Acuicultura. Guadalajara, México, D.F. 104 pp. En línea:
<http://www.tilapiademexico.org/w/wpcontent/uploads/downs/4%20Valor%20Agregado.pdf> (12 Enero 2017).
- Anuario Estadístico (2011 y 2012). Avance de la producción pesquera y acuícola por especie. <http://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pesquera?idiom=es> (08 Enero 2017).
- Arosamena-Villarreal, D. (2009). "Desarrollo de estrategias para la producción y comercialización de productos con valor agregado a partir de tilapia y aprovechamiento de los subproductos resultantes de su procesamiento". México, D.F. 104 pp. <http://www.tilapiademexico.org/w/wp-content/uploads/downs/4%20Valor%20Agregado.pdf> (08 Febrero 2017).
- Arredondo, F. J.; Lozano, S. G. (1996). "El cultivo de la tilapia en México, en Primer Curso Internacional de Producción de Tilapia". UNAM, SEMARNAP, UAMI y Fac. Med. Vet. y Zoot. México. pp. 7-18.
- Brawn L.E. (2000). Acuicultura para veterinarios, Producción y clínica de peces. Acribia, Pargamon Press. Zaragoza, España.
- Bruton, M.N.; Bolt, R.E. (1975). "Aspects of the Biology of tilapia mossambica Peters (Pisces: Cichidae) in a natural freshwater lake (lake Sibaya, South Africa)". J Fish. Biol. 7(4):423-445.
- CEC (Centro de Estudios de Competitividad) – ITAM (2006). Programa Maestro Nacional de Tilapia. México, D.F. pp. 354.
- CONAPESCA (2005) "Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2005". Mazatlán, Sin, México.
- CONAPESCA (2006) "Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2006". Mazatlán, Sin, México.

- CONAPESCA (2007) "Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2007". Mazatlán, Sin, México.
- CONAPESCA (2008) "Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2008". Mazatlán, Sin, México.
- Conroy, G. (2004). "Importantes enfermedades detectadas en tilapia cultivadas en América Latina". *Panorama Acuícola Magazine* 9(6): 20-25.
- Cheng, S.; Hu, Y.H.; Jiao, X.D.; Sun, L. (2010). Identification and immunoprotective analysis of a *Streptococcus iniae* subunit vaccine candidate. *Vaccine*, 19;28(14):2636-2641
- El-Sayed, A.F.M. (2006). "Tilapia Culture". CABI Publishing, Cambridge, MA, USA, pp. 246.
- Evans, A. E. (2001). Recovery of *Streptococcus iniae* from diseased fish previously vaccinated with a streptococcus vaccine. *Appl Environ Microbiol.* 67(8):3756-3758.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación) y SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2004). "Tendencias y desafíos de la agricultura, los montes y la pesca en América Latina y el Caribe". Santiago de Chile, FAO Editores. pp. 346.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2009) "El estado Mundial de la Pesca y La Acuicultura 2008". Roma, FAO Editores. pp. 176.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2012) "El estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación". Roma, FAO Editores. pp. 162.
- Fitzsimmons, K. (2000). "Tilapia aquaculture in Mexico". En: Costa P. B. A. y J. E. Rakocy, eds. "Tilapia Aquaculture in the Americas" Vol. 2. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. pp. 171–183.
- Fitzsimmons, K.; Pantoja, C. (2005). "El mercado Norteamericano de Tilapia". *Panorama Acuícola* 10(2): 18-21.
- Fitzsimmons, K.M. (2016). Global Tilapia Market update 2015. In: World Aquaculture Society (WAS), Las Vegas, USA.

- Granados, R. (1996). "Aspectos relevantes de la acuicultura en México, en Primer Curso Internacional de Producción de Tilapia". UNAM, SEMARNAP, UAMI y Fac. Med. Vet. y Zoot. México. pp. 237-239.
- Glenn, J.S.; Post, K.W. (2005). Veterinary Microbiology Bacterial and Fungal Agents of Animal Diseases. Elsevier Saunders. USA. pp. 209-213.
- Hirsh, D.C.; James, N.M.; Walker, R.L. (2004). Veterinary Microbiology. 2ª ed. Blackwell Publishing. USA. pp. 117-124.
- Hussein, M.; Hassan, W.; Mouss, I. (2013). Potential use of allicin (garlic, *Allium sativum* Linn, essential oil) against fish pathogenic bacteria and its safety for monosex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Food, Agriculture & Environment. 11 (1): 696-699.
- Inglis, V.; Roberts, R.; Bromage, N. (1976). Bacterial Diseases of Fish. Institute of Aquaculture, John Wiley & Sons editors. Hoboken NJ. USA.
- Kia, E.R.; Mehrabi, Y. (2013). Detection and Identification of Different Streptococcosis Strains in Farmed Rainbow Trout in Boyerahmad and Dena Regions (North South of Iran). World Journal of Fish and Marine Sciences, 5 (3):315-321. DOI: 10.5829/idosi.wjfds.2013.05.03.72123.
- LGPAS (Ley General de Pesca y Acuicultura Sustentable)(2007). <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LGPAS.pdf/> (10 Enero 2017).
- Morales, G.; Blanco, L.; Arias, M.L.; Chávez, C. (2004). "Evaluación de la calidad bacteriológica de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) proveniente de la Zona Norte de Costa Rica". Archivos latinoamericanos de nutrición. 54(4): 433-437.
- NICOVITA (2010). "Manual de crianza de tilapia". <http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Tilapia/Manual%20de%20crianza%20de%20tilapia.pdf>. (07 Enero 2017).
- OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal).(2012). Código sanitario para los animales acuáticos. 16ª ed. OIE, Paris. <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/código-acuático> (14 Diciembre 2016).
- Ortega, S.C.; Valladares, C.B. (2015). La piscicultura como alternativa alimentaria para México. Análisis de la situación actual y acciones para impulsar la actividad en el país. En: Loredano-Padilla S. (editor): La crisis alimentaria y la salud en México. Castellanos editores, S.A. de C.V. México, D.F.

- Perera, R.P.; Johnson, S.K.; Collins, M.D.; Lewis, D.H. (1995). *Streptococcus iniae* associated with mortality of *Tilapia nilotica* × *T. aurea* hybrids. *J Aquat Anim Health*. 6:335–340.
- Pourgholam, R.; Laluei, F.; Saeedi, A.A.; Taghavi, M.J.; Safari, R.; Zahedi, A. (2013). Identification of some streptococcus species isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran by using molecular method. *J Nov. Appl. Sci*, 2:1228-1233.
- Prieto, A.; Auró, A.; Fernández, A.; Pérez, B. (2005). El empleo de medicina natural en el control de enfermedades de organismos acuáticos y potencialidades de uso en Cuba y México. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 8(1):38-49.
- Reta-Mendiola, J.L.; Hernández-Dworak, R.; Luna, F.J.; Asiain-Hoyos, A.; Coello, A. (2005). “El cultivo de tilapia en Veracruz, México. Situación actual y perspectivas de desarrollo”. *Panorama Acuícola Magazine*. 10(4):10-16.
- Sheehan, B. (2009). “Estreptococcosis en tilapia: ¿Un problema más complejo de lo esperado?”, *Proceeding Managing Streptococcus in Warm Water Fish, Veracruz, México*.
- Toledo-Pérez, S.J.; García-Capote, M.C. (2000). “Nutrición y alimentación de tilapia cultivada en América Latina y el Caribe”. En: Civera-Cerecedo, R., Pérez- Estrada, C.J.(Eds.) “Avances en Nutrición Acuícola IV”. *Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. pp. 15-18.
- Trewevas, E. (1983). “Tilapia Fishes of the Genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Dunakilia*”. *British Museum of Natural History, Publ. Num. 878*. Comstock Publishing Associates. Ithaca, New York. pp. 583-587.
- Vivanco-Aranda, M. (2009). “Evaluación de competitividad de cuatro Sistema-Producto Estatales de tilapia con enfoque organizacional y prospectivo”. Tesis Doctoral. Centro de Investigación en Alimentación y desarrollo, A.C. Unidad en acuicultura y Manejo Ambiental. Mazatlán, Sin., México.
- Yanong, R.P.E.; Francis-Floyd, R.F. (2002). *Streptococcal infections of fish*. Florida Cooperative Extension Service. IFAS, University of Florida. pp 1-5. Circular. FA0 57.