

Concentración de mercurio y hallazgos histológicos en cuatro órganos de tilapia *Oreochromis sp* en tratamiento a largo plazo con timerosal (Mertiolate)

Rosa María Vázquez Hernández*
Raúl Ocádiz Tapia*
Ana Auró de Ocampo**
Rafael Hernández González***
René Rosiles Martínez****
Norma Rivas Sepúlveda**

En México, al igual que en otras partes del mundo, el aumento de la población también incrementa la demanda de alimentos. Ante esta situación la acuicultura representa una alternativa para satisfacer esta creciente demanda. La piscicultura adquiere gran relevancia en ciertas zonas donde se pueden obtener mayores beneficios que con otras actividades.²² Entre las especies que más se utilizan se encuentra la tilapia. Esta pertenece a la familia *Cichlidae*, que son peces robustos de talla mediana y cuerpo comprimido.^{1,28} Los géneros comúnmente explotados son *Petenia*, *Sarotherodon* y, en especial, *Oreochromis*, conocidos como tilapias, mojarra, y mojarra africana. La tilapia tiene una gran capacidad de adaptación a diferentes medios, por lo que estas especies pueden criarse perfectamente en estanques o acuarios artificiales;³¹ estos estanques no cuentan con corrientes de agua como los que existen en la naturaleza, por lo que se debe cambiar el agua en forma periódica, así como lavarlos y desinfectarlos. También se requiere de la antisepsia de la piel de los peces y desinfección del equipo requerido para el manejo de granjas acuícolas.

Existen ciertos antisépticos a base de mercurio orgánico, uno de los cuales es el timerosal (Merthiolate), utilizado contra ciertas enfermedades bacterianas y micóticas

(como las causadas por hongos del género *Saprolegnia*), así como heridas de la piel, úlceras y aletas rotas.^{2,5,8,15}

El timerosal, o etil-mercurio-tiosalicilato sódico es un polvo cristalino de color crema,^{29,33,36} soluble en agua y alcohol.^{30,33} La tintura de timerosal contiene un gramo de principio activo en 100 ml de vehículo de alcohol-acetona-agua.^{11,13,20,33} Es utilizado en forma de tintura a concentraciones de 1:10000 para aplicar a la piel.^{8,11,18,29,33,36} Es un antiséptico mercurial orgánico considerado como uno de los menos irritantes y menos tóxicos. El átomo de mercurio (Hg) está fuertemente unido al complejo orgánico, por lo que es rara la intoxicación aguda por timerosal.^{2,4,16} Sin embargo, en tratamientos prolongados puede producir ciertas intoxicaciones crónicas en los peces, que, si no son letales, pueden concentrar el mercurio en la carne de los peces y ocasionar daños a la salud del hombre, esto es debido a la acción de bacterias del plancton que pueden transformar fácilmente la molécula de timerosal en metilmercurio, una de las formas más tóxicas del mercurio orgánico. La acumulación de mercurio es directamente proporcional a la edad, tamaño y sexo del individuo.²¹

El hígado y riñón son los órganos que acumulan una mayor concentración de mercurio, aunque también se localiza en músculo.^{3,34,35} El mercurio es un elemento no esencial altamente tóxico para los organismos, aun en bajas concentraciones. La presentación de síntomas significativos se registran con 0.2 ppm en sangre, 0.4 ppm en glóbulos sanguíneos y 50 ppm en pelo.²⁶ El mercurio y sus compuestos representan peligros potenciales debido a su acumulación en la cadena alimenticia,^{6,7,10,12,23} por lo que afecta directamente al hombre; por esta razón se evaluaron los daños histológicos, y se midieron las concentraciones de mercurio en distintos órganos para determinar la toxicidad del tratamiento con timerosal a largo plazo.

Recibido para su publicación el 4 de mayo de 1993.

* Parte de este trabajo corresponde a las tesis de licenciatura de los dos primeros autores.

** Departamento de Producción Acuícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

*** Departamento de Histología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

**** Departamento de Patología Clínica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

Se seleccionaron 45 tilapias (*Oreochromis* sp), las cuales se agruparon en tres lotes de 15 peces cada uno.

Los peces se colocaron en acuarios de 120 litros de capacidad, provistos de agua de clorada y aereación (2 litros/min). Los acuarios tuvieron poblaciones homogéneas tanto en talla como en peso.

Las prácticas sanitarias se llevaron a cabo una vez al mes, con cambios de agua y con el método de cloración por aereación.

El experimento duró 12 semanas. La vía de administración del Merthiolate fue tópica, con ayuda de un pincel de cerda fina, sobre los costados del pez, desde la base de la cola, hasta un poco antes de llegar a los opérculos branquiales. Inmediatamente los peces fueron trasladados a una cubeta donde se les enjuagó antes de ser reintroducidos a su respectivo acuario.

El primer lote fue tratado por periodos de cuatro días, con intervalos de diez días; el lote dos, por ocho días, con seis días de intervalo, y al lote tres (testigo) se le aplicó el vehículo (eosina-alcohol-acetona) durante ocho días con seis días de intervalo. Dos días después de terminado el tratamiento en cada uno de los lotes, se sacrificaron dos peces y se tomaron muestras de hígado, branquias, riñón, músculo y agua.

Para las pruebas histológicas estas muestras se fijaron en formalina amortiguada con fosfatos al 10% para su posterior inclusión en parafina. Se realizaron cortes de 6 micrómetros, que fueron teñidos mediante la técnica histológica de hematoxilina y eosina (H.E.).²⁷

La determinación de mercurio se realizó por espectrofotometría de absorción atómica mediante la técnica de generación de hidruros.^{9, 21, 25}

Los análisis que se emplearon fueron el de probabilidad exacta de Fisher y de Kruskal-Wallis, con los

cuales se analizó la intensidad de lesiones observadas en los cortes histológicos (calificadas como leves, moderadas y severas), determinándose un límite de confiabilidad de: $\alpha = 0.05$.

Para la concentración de mercurio, se utilizaron los análisis estadísticos de Varianza, T. de Tuckey, Kruskal-Wallis y U de Mann Whitney.³²

Los hallazgos tanto histológicos como de contenido de mercurio en los órganos de los peces se presentan en el Cuadro 1 y la Figura 1 respectivamente.

El Cuadro 1 se clasifica de la siguiente manera:

1. Hiperplasia del epitelio branquial a nivel de lamelas con infiltración heterofílica.
2. Quistes parasitarios ocasionados por esporozoarios en hígado.
3. Necrosis coagulativa multifactorial en hígado.
4. Posible degeneración glucogénica en hígado.
5. Posible degeneración de grasa en hígado.
6. Calcificaciones metastásicas en riñón.
7. Calcificaciones distróficas en riñón.
8. Presencia de endosomas en hepatocitos y en epitelio renal.
9. Cilindros cálcicos en luz de túbulos renales.
10. Infiltración mononuclear perivascular en hígado.

La presencia de quistes de esporozoarios fue constante en los tres lotes. El músculo no presentó cambios patológicos aparentes.

El órgano con el contenido más alto de mercurio fue el músculo del lote que se trató durante ocho días consecutivos (4.365 ppm); le siguieron las branquias con 3.142 ppm del lote 1; del lote 2, el hígado, con 2.129 ppm y por último el riñón con 0.224 ppm en el

Cuadro 1
LESIONES HISTOLOGICAS HALLADAS EN LOS TRES LOTES EXPERIMENTALES

Organo	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Branquias	Hiperplasia del epitelio lamelar Infiltración por heterófilos Hiperplasia de células calciformes Presencia de quistes de esporozoarios	Hiperplasia del epitelio lamelar Infiltración por heterófilos Hiperplasia de células calciformes Presencia de quistes de esporozoarios	Presencia de quistes de esporozoarios
Hígado	Presencia de quistes de esporozoarios Necrosis coagulativa multifactorial Aparente degeneración glucogénica Aparente degeneración grasa Presencia de endosomas en hepatocitos	Presencia de quistes de esporozoarios Necrosis coagulativa multifactorial Aparente degeneración glucogénica Aparente degeneración grasa Presencia de endosomas en hepatocitos	Presencia de quistes de esporozoarios
Riñón	Presencia de quistes de esporozoarios Necrosis coagulativa multifactorial Presencia de endosomas en epitelio	Presencia de quistes de esporozoarios Necrosis coagulativa multifactorial Presencia de endosomas en epitelio Precipitados proteínicos en luz de túbulos contorneados	Presencia de quistes de esporozoarios

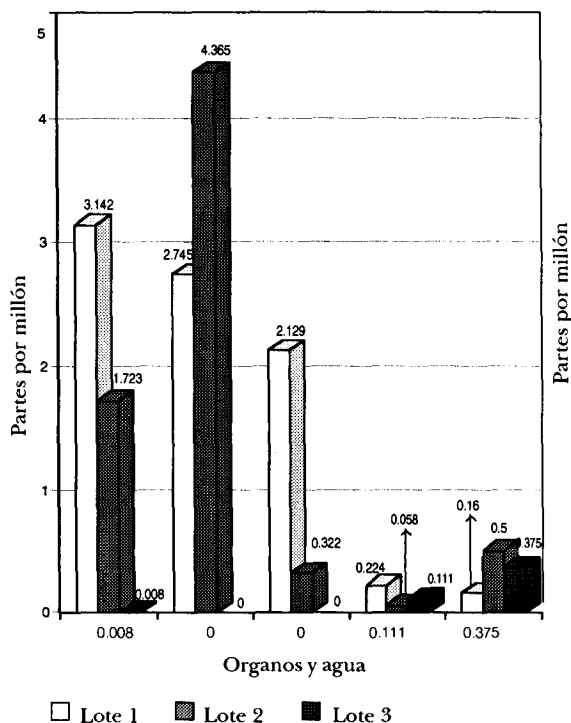


Figura 1. Concentración promedio de Hg

mismo lote. Es interesante resaltar que el músculo fue el órgano que presentó más acumulación de mercurio, pero no se hallaron lesiones, ya que el músculo no desempeña funciones metabólicas, ni de filtración, sino que en esa zona fue donde se aplicó el producto. En otros estudios se menciona también que el mercurio alcanza niveles mayores en músculo que en otros órganos.^{3, 5, 14, 19, 26}

Esta acumulación es importante, porque el mercurio es uno de los metales cuyos residuos en la carne de peces provocan decomiso debido al riesgo para la salud.^{2, 26} Los expertos encargados de dictar las normas alimentarias, así como las autoridades sanitarias, han visto tal peligro en la posibilidad de intoxicación de mercurio, que han emitido prescripciones generales respecto al consumo humano del pescado con tasas de mercurio superiores a 0.5 ppm en E.U.A. y Canadá, a 1.0 ppm en Japón, Suecia y Finlandia² y a 0.2 ppm en México.¹⁷

En el hígado y el riñón hay cierta acumulación de mercurio, pero tal acumulación es transitoria, aunque ocasione daños muy severos.

En lo que respecta a las lesiones ocasionadas por el mercurio, se determinó que los órganos más afectados por el tratamiento tópico con timerosal fueron el riñón y el hígado y, en segundo lugar, las branquias.

Esto se debe principalmente a que el riñón y el hígado son los órganos encargados del metabolismo y la eliminación de cualquier sustancia tóxica. En este caso, el mercurio ocasionó necrosis en el hígado y riñón, por ser la zona metabólicamente más activa, a

diferencia de las branquias, que resultaron con hiperplasia epitelial, por un efecto irritante, pero menos severo, debido probablemente a que en este órgano, el constante paso del agua favorece la dilución del mercurio; además, la lesión se mantuvo más o menos constante y no se incrementó, como en el caso del hígado y riñón.

Con respecto al lote testigo, se observó cierta cantidad de mercurio en el agua (0.375 ppm). Esto se debió a una contaminación accidental; en riñón y branquias se observó 0.111 ppm y 0.008 ppm respectivamente.

Sin embargo, en el caso del tratamiento del lote 1 y 2 la cantidad de mercurio en branquias es baja, se presentan lesiones como hiperplasia epitelial, necrosis hepática con endosomas en hígado y necrosis de túbulos con endosomas.

Estadísticamente no hubo diferencias significativas entre los lotes 1 y 2, los lotes en tratamiento, pero sí con el lote 3 (testigo). Esto indica que un tratamiento tópico con timerosal puede ocasionar lesiones en el hígado, riñón y branquias, pues el mercurio contenido en la molécula de timerosal es transformada por las bacterias acuáticas en metil-mercurio, esta molécula, al circular en el ambiente, lesiona a tales órganos.²⁴

La duración del tratamiento utilizado fue directamente proporcional a la cantidad de mercurio en tejidos, como confirman los análisis de Kruskal-Wallis y de U. de Mann Whitney.

Las lesiones químicas que se encuentran en diversos órganos, debidas a esporozoarios, fueron constantes en los tres lotes y en diversos órganos, y su presencia no está relacionada con el tratamiento.

El tratamiento tópico con mercurio puede conducir a la acumulación del metal en el organismo consumidor; este es un efecto colateral adverso en tales tratamientos.

Además, este ensayo piloto sirve para conocer el metabolismo del mercurio orgánico y para aplicar esta información con aplicación a circunstancias naturales, si se considera que el pez vive en un ambiente hipotónico con respecto al medio interno, es explicable que el agua que penetró por ósmosis a través de la piel semipermeable es la que acarrea el mercurio al músculo y es absorbido a la circulación general, vía por la cual llega al hígado y riñón. Dado que estos peces no consumen agua, ésta es la única vía de entrada al organismo; por branquias no se absorbe, sólo se fija al epitelio.

Abstract

Lesions caused by the topical administration of thimerosal on tilapia (*Oreochromis* sp) skin were evaluated. Forty five tilapia were divided in 3 groups: Two experimental ones and a control one. The first group was topically treated with thimerosal during 4 days followed by 10 days of rest; the second group was treated eight days, and 6 days of rest and the control group was treated only with the vehicle for 8 days and

6 of rest. Two days after finishing, two fish of each group were killed in order to take samples from gills, kidney, liver, muscle and the water from aquariums to determine Hg concentrations and histological lesions. Results show that the mean concentration of Hg was: In group 1: Water, 0.16 ppm; gills, 3.142 ppm; muscle, 2.745 ppm; liver, 2.129 ppm and kidney, 0.224 ppm. In group 2: Water, 0.5 ppm; muscle, 6.365 ppm; gills, 1.725 ppm; liver, 0.322 ppm and kidney 0.058 ppm. Histological lesions were: Hyperplasia of gills lamellae with infiltrated heterophyls, coagulative necrosis in liver and kidney and endosomes in hepatocytes and proximal and distal contorted tubules. Statistic analysis showed significant differences ($P \leq 0.05$) between treated groups and the control one. Damage in gills, liver and kidney, and high concentrations of Hg in muscle may be an adverse collateral effect of topical treatment with thimerosal in fish.

Literatura citada

- Aguilera, H.P. y Noriega, C.P.: La Tilapia y su Cultivo. FONDEPESCA, México, D.F., 1986.
- American Medical Association Department of Drugs: A.M.A. Drug Evaluations. 2nd ed. *Publishing Sciences Group*, Ashton, Massachusetts, 1973.
- Baatrup, E. and Danscher, G.: Cytochemical demonstration of mercury deposits in trout liver and kidney following methyl mercury intoxication: Differentiation of two mercury pools of selenium. *Ecotoxic. Environ. Safety*, 14: 129-141 (1987).
- Batterham, E.S., Gorman, T.B.S. and Chvojka, R.: Nutritional value and mercury content of fish silage for growing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 9: 169 - 179 (1983).
- Connel, J.J.: Control de la Calidad del Pescado. *Acribia*, Zaragoza, España, 1988.
- Forstner, U. and Wiffmann, G.T.W.: Metal Pollution in the Aquatic Environment. *Berlin-Heidelberg*, New York, 1979.
- Geoffrey, M.: Pollution Threat of Heavy Metals in Aquatic Environments. *Elsevier*, New York, 1987.
- Gilman, G.A. y Goodman, L.S.: Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 7a ed. *Médica Panamericana*, México, D.F., 1989.
- Giordano, R., Arata, P., Claralli, L., Rinaldis, S., Giani, M., Cicero, A.M. and Constantini, S.: Heavy metals in mussels and fish from Italian coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.*, 1: 10 - 14 (1991).
- González, J.S. y Martínez, D.L.: Cuantificación de arsénico, cadmio, mercurio y plomo en pescados y mariscos por espectrofotometría de absorción atómica. Tesis de licenciatura. *Fac. de Quím.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1992.
- Goth, A.: Farmacología Médica. 4a ed. *Interamericana*, México, D.F., 1969.
- Hamilton, E.I.: Dissolved and particulate mercury levels in the Jonian and Aegean seas. *Mar. Pollut. Bull.*, 3: 154-155 (1990).
- Helman, J.: Farmacotecnia. Teoría y Práctica. Tomo VII. *CECSA*, México, D.F., 1981.
- Hernández, H.F., Medina, J., Ansuategui, J. and Conesa, M.: Heavy metal concentrations in some marine organisms from the Mediterranean Sea. *Sci. Mar.*, 54: 113-129 (1990).
- Herwig, N.: Handbook of Drugs and Chemicals Used in the Treatment of Fish. *Thomas*, Springfield, Illinois, 1979.
- Humphreys, D.J.: Toxicología Veterinaria. 3a ed. *McGraw-Hill*, Madrid, España, 1990.
- Instituto Nacional del Consumidor: Reporte especial. *Rev. Consumidor*, 151: 37 (1989).
- Lázaro, Ch. M.E.: Sustancias, Desinfectantes y Drogas de Utilidad en las Piscifactorías. *A.G.T.*, México, D.F., 1985.
- Leah, T.R., Evans, J.S., Johnson, S.M. and Collings, S.: Spatial patterns in accumulation of mercury by fish from the Irish Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, 4: 172-175 (1990).
- Merck: The Merck Index. 11th ed. *Merck & Co.*, Rahway, New Jersey, 1989.
- Monteiro, R.L. and Lopez, D.H.: Mercury Content of Swordfish, *Xiphias gladius*, in relation to length, weight, age and sex. *Mar. Pollut. Bull.*, 6: 293 - 296 (1990).
- Muñoz, C.G.: Engorda de *Oreochromis* sp. Memorias del Curso de Producción de Langostino Malásico y Mojarra Tilapia. México, D.F. 1990. 30-41. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1990).
- Nilsson, A. and Andersson, T.: Mercury in fish in Swedish lakes. *Environ. Pollut.*, 49: 145-162 (1988).
- Overstreet, R.M.: Aquatic pollution problems, southeastern U.S. coasts: Histopathological indicators. *Aquat. Toxicol.*, 11: 213-239 (1988).
- Perkin-Elmer: Operator's Manual MHS-10 Mercury-Hydride System. *Perkin-Elmer*, Norwalk, Connecticut, 1981.
- Reichenbach, K.H.H.: Enfermedades de los Peces. 2a ed. *Acribia*, Zaragoza, España, 1986.
- Roberts, J.R.: Patología de los Peces. *Mundi-Prensa*, Madrid, España, 1981.
- Salmerón, P.L.A. y Luna, R.A.: Los Animales Comestibles de Importancia Comercial en Aguas Mexicanas. *CECSA*, México, D.F., 1985.
- Salter, W.T.: Tratado de Farmacología Aplicada. Tomo VI. *Interamericana*, México, D.F., 1953.
- Semeca, H.: Biological Basis of Chemotherapy of Infections and Infestations. *F.A. Davis*, Philadelphia, 1971.
- Shepherd, C.J. and Bromage, N.R.: Intensive Fish Farming. *BSP Professional*, Oxford, U.K., 1988.
- Siegel, S.: Estadística no Paramétrica. 2a ed. *Trillas*, México, D.F., 1972.
- Sumano, L.H. y Ocampo, C.L.: Farmacología Veterinaria. *McGraw-Hill*, México, D.F., 1990.
- Trump, B.F., Jones, R.T. and Sahaphong, S.: Cellular effects of mercury in fish kidney tubules. In: The Pathology of Fishes. Edited by: Ribelin, W.E., Migaki, G., 585-610. *University of Wisconsin Press*, Madison, Wisconsin, 1975.
- Vázquez, H.R.M.: Concentración de mercurio en cuatro órganos de tilapia *Oreochromis* sp. debidas al tratamiento a largo plazo con thimerosal (Merthiolate). Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1992.
- Wright, H.N. y Montag M.: Farmacología y Terapéutica. 7a ed. *Interamericana*, México, D.F., 1960.