

Caracterización histopatológica de la respuesta de la tilapia (*Oreochromis* sp) a una infección mixta por myxosporidios. Estudio en un caso natural

Ana Auró de Ocampo*
Luis Ocampo Camberos**

Abstract

An histopathological diagnosis of a mixed myxosporean infection on forty naturally infected tilapias (*Oreochromis* sp) was made. These animals presented small white nodules in the gills, darkening of the skin, exophthalmos and loss of appetite. The necropsy showed increased abdominal volume, congestion and thickening of the medial and posterior intestine. Eight of them had ascites. Multicellular trophozoite cysts were found in the intestinal mucosa and submucosa, pancreas, kidney, brain and gills. Those cysts on gills were smaller than the rest of the trophozoites. The only response to the infection was fibrosis around the multicellular trophozoites cysts. Giemsa stain showed the bipolar structure of the capsules. Due to size and shape of trophozoites it is suggested that the systemic infection could have been caused by *Myxobolus* sp and the gill one to *Myxosoma* sp or *Henneguya* sp. An antigenic study is necessary for the aetiological diagnosis, because there have been very few reports on these type of infections in tilapia.

Key words: MYXOSPOREAN INFECTION, TILAPIA, NATURAL OUTBREAK.

Resumen

Se diagnosticó una infección mixta por protozoarios myxosporidios en un caso natural en cuarenta tilapias (*Oreochromis* sp). A la observación macroscópica, los peces presentaban pequeños nódulos blanquecinos en las branquias, oscurecimiento de la piel, exoftalmia y pérdida del apetito. La necropsia mostró aumento del volumen abdominal, congestión y engrosamiento del intestino medio y posterior, ocho de los peces presentaron ascitis. Se encontraron panesporoblastos en la mucosa y submucosa intestinal, páncreas, riñón, encéfalo y branquias, aunque los encontrados en estas últimas presentaban forma y tamaño diferentes al de los demás panesporoblastos. La única respuesta del organismo a la infección fue la formación de una cápsula fibrosa alrededor del panesporoblasto. La tinción de Giemsa mostró la estructura bipolar de las cápsulas. Por el tamaño y forma, se sugiere que la causa de la infección sistémica podría ser *Myxosoma* sp, y en el caso de la infección branquial, *Myxobolus* sp o *Henneguya* sp. Sin embargo, se requiere un estudio antigénico para llegar a un diagnóstico etiológico fidedigno. La importancia del presente trabajo radica en que las pérdidas económicas por esta etiología pueden ser significativas y se han hecho muy pocos informes de estas parasitosis en tilapia.

Palabras clave: TILAPIA, MYXOSPORIDIOS, INFECCIÓN NATURAL.

Recibido el 2 de mayo de 1997 y aceptado el 10 de noviembre de 1997.

* Departamento de Producción de Especies no Tradicionales, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

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

Los myxosporidios son protozoarios parásitos pertenecientes al filum Myxozoa, que se caracterizan por esporas de origen multicelular, con dos o cuatro cápsulas polares y esporoplasma. Cada cápsula polar presenta un filamento polar en espiral que funciona probablemente como ancla para unirse al hospedero. Se han enlistado veintitrés géneros de estos parásitos en peces de agua dulce de Norteamérica; de ellos, por lo menos cinco géneros son responsables de pérdidas significativas en peces cultivados: *Myxosoma* sp, *Ceratomyxa* sp, *Henneguya* sp, *Myxobolus* sp y *Myxotoulus* sp. Por lo general, los myxosporidios parasitan a los peces sin daño a los tejidos, produciéndose la muerte por bloqueo a vasos sanguíneos o estructuras nerviosas, existen algunos casos en que la mortalidad se debe a extremas reacciones tisulares.^{1,2}

En varias partes del mundo se han presentado mortalidades atribuidas a myxosporidios,^{3,4,5,6} de ahí su importancia económica. Sin embargo, en México existen muy pocos informes.^{7,8}

Cuarenta tilapias (*Oreochromis* sp), aparentemente sanas, de 100-150 g de peso, procedentes del estado de Morelos, fueron colocadas en 4 acuarios de 40 l de capacidad cada uno, provistos de agua de clorada y con aereadores que inyectaban 1 l de aire por minuto, para mantener una oxigenación constante de 5 ppm, y con una temperatura de 25°C. Al final de la primera semana de confinamiento, los peces mostraron oscurecimiento de la piel, exoftalmia, pérdida del apetito y segregación hacia la fuente de aire. Posteriormente se presentó aumento de volumen de la cavidad principal del cuerpo.

Con objeto de llegar al diagnóstico etiológico, a las 2 semanas se sacrificaron por desmedulación 20 organismos tomados al azar. En la necropsia se encontró en 16 de ellos congestión intestinal y engrosamiento del intestino medio y posterior con ascitis en 12 de ellos, y presencia de nódulos blanquecinos en branquias (Figura 1). Para examen histopatológico, se tomaron encéfalo, branquias, estómago, intestino, páncreas, hígado y riñón que fueron fijados en formalina amortiguada al 10%, procesados por inclusión en parafina y teñidos mediante hematoxilina, eosina y giemsa. El diagnóstico definitivo



Figura 1. Nódulos blanquecinos en lamelas branquiales.

se hizo mediante la observación de las esporas en los cortes histológicos y en contenido intestinal.

En el intestino medio y posterior se encontraron numerosos quistes del myxosporidio en el tejido conjuntivo submucoso, rodeados de una muy delgada capa de tejido conjuntivo fibroso y ligera infiltración por polimorfonucleares heterófilos, aunque la mayoría de los investigadores consideran como normal la presencia de estas células. El monoestrato epitelial estaba adelgazado en el área de protrusión del quiste y algunos núcleos presentaron picnosis y la lámina propia disgregada (Figura 2).

En el páncreas de 6 de los organismos se encontraron estructuras quísticas, aparentemente panesporoblastos lisados, rodeados también de una muy delgada capa de tejido conjuntivo fibroso y sin respuesta inflamatoria (Figura 3).

En el riñón de 3 de los peces se observaron quistes atípicos, ya que no presentaban tejido conjuntivo fibroso que los encapsulara, algunos localizados dentro del glomérulo y otros en el intersticio y un proceso de degeneración hialina en gota, así como amplias áreas de necrosis tubular (Figura 4). En el hígado se observó degeneración hialina en gota con necrosis difusa.

En el encéfalo de una de las tilapias se encontró un panesporoblasto, perfectamente encapsulado, incluido sin presentar reacción inflamatoria (Figura 5).

En el tejido subepitelial de las lamelas branquiales, en todos los niveles se observaron abundantes panesporoblastos con esporas mucho más pequeñas que las observadas en otras localizaciones, con encapsulamiento fibroso incipiente y sin reacción inflamatoria (Figura 6).

Existen tres hipótesis que explicarían la ausencia de quistes en la primera porción del intestino. La primera sería la inmadurez del trofozoito y, por lo tanto, su incapacidad para penetrar la pared del primer segmento intestinal, por lo que hasta su paso más atrás, estaría en condiciones de penetrar y asentarse.¹

La segunda hipótesis es la presencia de cepas ícticas resistentes al parásito. Esta última se basa en la comparación de la respuesta de truchas resistentes a *Ceratomyxa shasta* (*Oncorhynchus mykiss*-North Santiam) contra

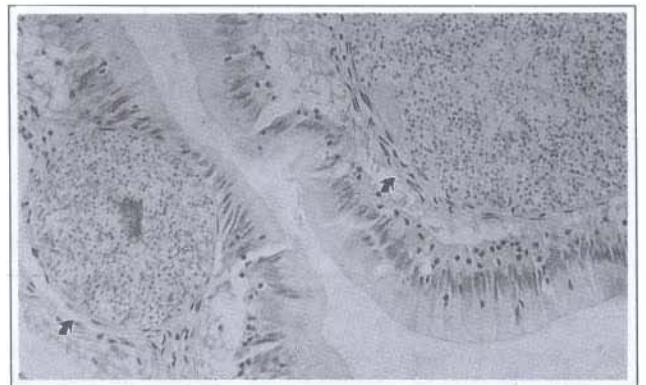


Figura 2. Panesporoblasto localizado en la submucosa del intestino medio, 40 x H.y E.

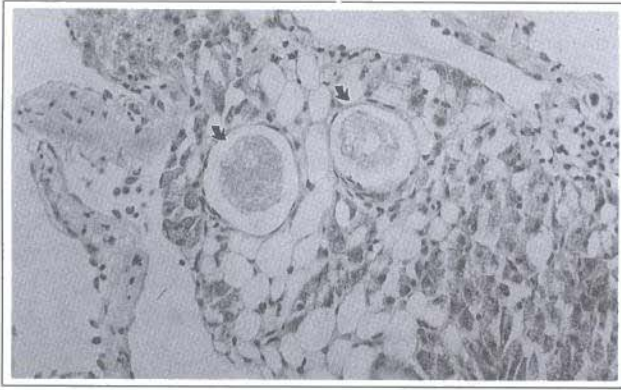


Figura 3. Quistes lisados en el parénquima pancreático, 40x H. y E.

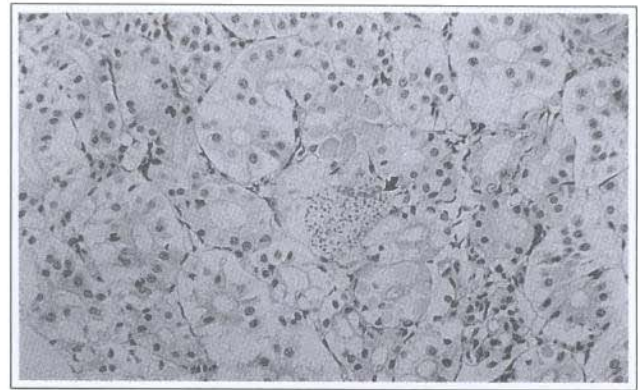


Figura 4. Trofozoitos en el parénquima renal (obsérvese la ausencia de cápsula fibrosa), 40x H. y E.

truchas susceptibles (*Oncorhynchus mykiss*-Siletz River) al parásito, infectadas experimentalmente, encontrándose en sólo dos de 10 de los animales resistentes y, en ellos, los panesporoblastos se hallaban en el intestino posterior, mientras que en la cepa susceptible se observaron lesiones en todos los niveles intestinales.¹

La tercera hipótesis alternativa es que el estadio infectivo del parásito no penetra por la boca al pez sino por el ano, y de esta manera primero afecta las porciones caudales del intestino.¹

La ausencia de panesporoblastos en el hígado no tiene una explicación convincente, ya que en otras myxosporidias éste también es un órgano blanco, es posible que existieran pero que especialmente en la porción de muestra tomada para el estudio histopatológico no hubieran.¹

Las lesiones en hígado y en riñón son atribuibles a la hipoxia consecutiva a la disfunción del epitelio respiratorio por la presencia de los quistes en lamelas branquiales, además del efecto de la hipovolemia por la extravasación de líquidos.

Algunos investigadores consideran que los trofozoitos también se eliminan con la orina, es posible que aquellos encontrados en los cortes de riñón fueran en realidad conglomerados de trofozoitos en vía de salida y no realmente quistes, dada la ausencia total de cápsula.¹

Con respecto al encéfalo, un informe describe una respuesta inflamatoria a una infección por myxosporidios, aunque en otra especie íctica.³

A pesar de que las branquias se encuentran en contacto directo con el agua infestada, los investigadores coinciden en que su penetración no se lleva a cabo atravesando el epitelio lamelar, sino que también vía sanguínea, ya que no ha podido demostrarse la presencia de la exotoxina proteolítica en la forma libre del parásito.¹ Por el tamaño de las esporas, éstas parecen corresponder a otro myxosporidio como *Myxosoma* sp o *Henneguya* sp.^{9,10} Cabe mencionar que en el caso de PKD (por las siglas en inglés de enfermedad proliferativa renal) también se han encontrado infecciones mixtas de dos o más myxosporidios.¹¹

Las esporas se encuentran en el ambiente acuático contaminado por las heces de peces enfermos o portadores y son ingeridas por los hospederos susceptibles, aquéllas se abren en el intestino de estos últimos debido al efecto de los jugos digestivos, liberando esporozoitos que, mediante movimientos ameboides, logran traspasar el epitelio e instalarse en el tejido conjuntivo submucoso (Figura 7). En este lugar la presencia de una exotoxina proteolítica permite que se cree el espacio apropiado para su crecimiento; por otro

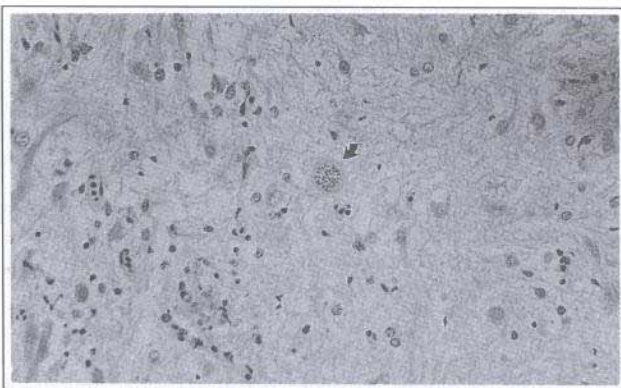


Figura 5. Quiste parasitario en el encéfalo, 40x H. y E.

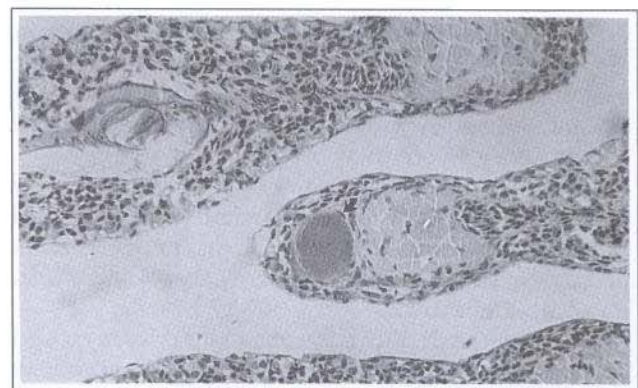


Figura 6. Panesporoblasto rodeado por una fina cápsula fibrosa en la submucosa branquial, 40x H. y E.



Figura 7. Esporozoitos atravesando la mucosa intestinal, 40x H. y E.

lado, la necrosis que producen provoca que haya reacción del huésped, encapsulando al panesporoblasto.¹

Mediante la vía sanguíneo-venosa los esporozoitos se distribuyen a los diferentes órganos donde se forman los esporontes que, por multiplicación repetida, dan lugar al panesporoblasto (quiste), cuya ruptura conduce a la salida de las esporas al medio ambiente.¹

La presentación del cuadro agudo se atribuye a los factores predisponentes de estrés como el transporte y el cambio de temperatura, ya que en los estanques se encontraban a 20°C y en los acuarios a 25°C. Udey *et al.*¹² demostraron la temperatura-dependencia de la esporulación. La falta de respuesta inflamatoria en los órganos afectados es probablemente debida a que los antígenos parasitarios se mimetizan con los del hospedero ya que muchos investigadores han sido incapaces de detectar anticuerpos a la espora (en *Myxobolus cerebralis*) por IFAT (de las siglas en inglés de Prueba de Anticuerpos Inmunofluorescentes).¹³

La congestión y la ascitis pueden deberse a la compresión mecánica ejercida por los quistes sobre vasos venosos.

La tasa de mortalidad en los peces que quedaron fue de 10.5%,³⁻²⁰ en este sentido, los peces vivos mostraron las mismas lesiones que los peces sacrificados.

Se sugiere que la causa de la muerte podría explicarse por presencia de hipovolemia, hipoxia y una acidosis consecutiva, que afectan principalmente el riñón, donde de manera normal se reabsorbe cloruro de sodio en los segmentos distales para tratar de equilibrar las presiones osmóticas en un medio externo hipotónico; para el caso de que esta reabsorción se encuentre afectada, el pez pierde agua y muere.

La bipolaridad mostrada por las esporas teñidas con giemsa, en el caso de intestino, riñón y encéfalo, hace suponer que se trata de *Myxobolus* sp, aunque es indispensable el estudio antigénico para hacer el diagnóstico etiológico definitivo.

Es pertinente destacar que se han descrito myxosporidiasis de esta naturaleza en trucha Arcoiris, producida por *Ceratomyxa shasta*, que causa la enfermedad conocida como PKD.¹ También se ha notificado en carpa, donde el agente causal fue identificado como *Sphaeros-*

pora renicola, diagnosticado en Rusia,^{5,14} así como el informe de *Telohanellus nikolski* en carpa común, que produce también un cuadro sistémico agudo.¹⁵ En tilapia se ha descrito en Nigeria, donde el agente causal fue *Myxobolus ovariae*,⁶ y en Egipto, donde el agente fue identificado como *Myxosoma tilapiae* que produjo lesiones en piel, bazo, hígado, riñón y ojos. El cuadro fue subagudo y la tasa de morbilidad fue de 100% en 475 tilapias (*Oreochromis niloticus*) capturadas en el ramal Rosetta del Río Nilo y sus tributarios en Edfina.⁴

Referencias

1. Bartholomew JL, Smith CE, Rohovec JS, Fryer JL. Characterization of a host response to the myxosporidian parasite, *Ceratomyxa shasta* (Noble), by histology, scanning electron microscopy and immunological techniques. *Fish Dis* 1989;12:509-522.
2. Post G. Textbook of fish health. Neptune City (NJ): THF Publications, 1987.
3. Lom J, Feist SW, Dykova I, Kepr T. Brain myxoboliasis of bullhead, *Cottus gobio* L. due to *Myxobolus jiroveci* sp. nov.: light and electron microscope observations. *Fish Dis* 1989;12:15-27.
4. Mitchell LG. Myxosporidia. In: Kreier JP, editor. Parasitic protozoa: *Babesia*, *Theileria*, *Myxosporidia*, *Microsporidia*, *Bartonellaceae*, *Anaplasmataceae*, *Ehrlichia* and *Pneumocystis*. New York (NY): Academic Press, 1997:115-154.
5. Molnar K. Renal sphaerosporosis in the common carp *Cyprinus carpio* L. *J Fish Dis* 1980;3:11-19.
6. Okaeme AN, Obiekezie A, Okojie PU, Abgontale JJ. Host-range of myxospora of fish with particular reference to *Myxobolus ovariae* of the tilapia. *Fish Res Nigeria* 1990;2:29-31.
7. Segovia SF, Jimenez GF, Galaviz LS, Ramirez BE. *Myxobolus nuevoleonensis* n. sp. (Myxospora: Myxobolidae) parasite of fishes *Poecilia mexicana* and *P. reticulata* from Rio de la Silla near Monterrey, N.L. Mexico. *Lat Am Microb* 1991;33:265-269.
8. Segovia SF, Jimenez GF, Ramirez BE. Redescription and ultrastructure of *Myxobolus nuevoleonensis* (Myxospora: Bivalvulea), a parasite of the shortfin molly and guppy. *Aquat Anim Health* 1995;7:70-74.
9. Dyková Y, Lom J. Histopathological changes in fish gills infected with myxosporidian parasites of the genus *Heneguya*. *J Fish Biol* 1978;12:197-202.
10. Dyková Y, Lom J. Tissue reactions to *Microsporidium* infections in fish. *J Fish Dis* 1980;3:265-283.
11. Clifton-Hadley RS, Bucke D, Richards RH. Proliferative kidney disease of salmonid fish: a review. *J Fish Dis* 1984;7:363-377.
12. Udey LR, Fryer JL, Pilcher KS. Relation of water temperature to ceratomyxosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and Coho salmon (*Oncorhynchus kitsuch*). *J Fish Res Board Can* 1975;32:1545-1551.
13. Pauley G. Fish sporozoa: extractions of antigens from *Myxosoma cerebralis* which mimic tissue antigens of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *J Fish Res Board Can* 1974;31:1481-1484.
14. Bykhovskaya-Pavlovskaya EI. Key to the parasites of freshwater fish of the U.S.S.R. Washington (DC): Natural Sciences Foundation, 1964.
15. Desser SS, Molnar K, Weller I. Ultrastructure and sporogenesis of *Telohanellus nikolski* Akhmerov 1944 (Myxospora: Myxospora) from the common carp *Cyprinus carpio*. *J Parasitol* 1983;69:504-518.