

HELMINTOS DE PECES EN PÁTZCUARO, MICHOACÁN II: ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LA LESIÓN CAUSADA POR METACERCARIAS DE *POSTHODIPILOSTOMUM* *MINIMUM* (TREMATODA: DIPLOSTOMATIDAE) EN HÍGADO DE *CHIROSTOMA ESTOR**

DAVID OSORIO-SARABIA**
GERARDO PÉREZ-PONCE DE LEÓN**
LUIS J. GARCÍA-MÁRQUEZ***

RESUMEN

En este trabajo se describen las alteraciones histopatológicas causadas por las metacercarias de *Posthodiplostomum minimum* (MacCallum, 1921) Dubois, 1936, en el hígado de *Chirostoma estor* en el Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. La atrofia pericistial, la necrosis, la presencia de granulomas, zonas de infiltración celular y proliferación fibrosa, son algunos de los daños producidos por esta metacercaria. Se discute el efecto de la infección sobre el hospedero y se comenta el riesgo de transferir este recurso a diferentes cuerpos de agua.

Palabras clave: Histopatología, *Chirostoma estor*, Metacercaria, *Posthodiplostomum minimum*, Pátzcuaro, México.

ABSTRACT

The histopathological damages caused by the metacercariae of *Posthodiplostomum minimum* (MacCallum, 1921) Dubois, 1936, such as pericistial hepatic atrophy, necrosis, presence of granulomas and regions of cellular infiltration and fibrous proliferation in the liver of *Chirostoma estor* in Lake Patzcuaro, State of Michoacan, Mexico, are described. The effect of these infections in the host are discussed, as well as its implications in fish culture and risks of fish resource transplant to other freshwater ponds.

Key words: Histopathology, *Chirostoma estor*, Metacercariae, *Posthodiplostomum minimum*, Patzcuaro, Mexico.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el número de trabajos sobre metacercarias de estrigeidos, puesto que la enfermedad que producen, referida particularmente co-

* Proyecto financiado por el convenio UNAM-CONACyT PCECBMA-021213.

** Laboratorio Helmintología, Depto. Zoología. Instituto de Biología, UNAM. Ap. Postal 70-153, México, D. F. C.P. 04510.

*** Departamento de Patología, Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM.

mo diplostomiasis, ha llegado a representar serios problemas en las poblaciones de peces silvestres y cultivados en diversas regiones del mundo (Hoffman y Hundley, 1957; Heckman y Palmieri, 1978; Shariff, Richard y Sommerville, 1980 y Mitchel, Smith y Hoffman, 1982.

Hoffman en: Ribelin y Migaki, 1975 (Ed.), señala que los helmintos histozóicos, particularmente las formas migratorias, causan daños importantes, reconociendo que las respuestas celulares son menos evidentes en peces que en animales homeotermos. Los principales signos sintomatológicos de estas enfermedades en casos severos son: infiltración celular, hiperplasia, fibrosis, calcificación y necrosis.

Destacar por frecuencia de aparición y daño producido, las metacercarias de *Diplostomum spathaceum* (Rudolphi, 1819) Braun, 1893, que infectan el cristalino de un gran número de especies de peces, ocupándolo casi totalmente y produciendo tumora-ciones (Larson, 1965. Frecuentemente, los cristalinos muy infectados, se vuelven opacos y el pez queda ciego. Otros estrigeidos infectan el sistema nervioso central de los peces, principalmente cerebro, como es el caso de *Diplostomum baeri eucaliae* Hoffman y Hundley, 1957, *D. phoxini* (Faust, 1918) Arvy y Butner, 1954 y *D. (Austrodiplostomum) mordax* Szidat y Nani, 1951.

Las metacercarias pertenecientes a la especie *Posthodiplostomum minimum* (MacCallum, 1921, Dubois, 1936, han sido registradas como agentes etiológicos de graves epizootias por Mitchell, Smith y Hoffman en 1982, quienes encontraron hasta 2 000 metacercarias en un pez cultivado (*Pimephales promelas*); así como también Bailey (1984), encontró hasta 5 972 metacercarias de esta especie en el hígado de *Lepomis macrochirus*.

Hoffman y Hutcheson, en 170, registraron una fuerte mortalidad en poblaciones naturales de *Morone saxatilis*, causado por la presencia de gran cantidad de metacercarias de *P. minimum* en la musculatura y en la región cefálica, produciendo exoftalmia y una inflamación generalizada.

En el estudio que realizamos en Pátzcuaro, Michoacán, entre agosto de 1984 y agosto de 1985 encontramos una alta prevalencia de infección en el hígado de *Chirostoma estor* (95.8%), originada por metacercarias de *Posthodiplostomum minimum* según comprobamos al completar el ciclo de vida experimentalmente, con un intervalo de intensidad de 1 a 683 metacercarias por hígado parasitado. Esta infección fue constante durante los 13 meses muestreados y la prevalencia en cada uno de ellos fue muy alta, oscilando entre 86.6 y 100%. Considerando estos datos y la importancia que representa el "pescado blanco" en la localidad, desarrollamos el estudio histopatológico con el propósito de determinar los daños producidos por esta infección sobre el tejido hepático, su posible efecto sobre el pez y el papel que juega sobre la pesquería del recurso, así como también las implicaciones que pudiera tener en el cultivo de *Ch. estor* bajo condiciones controladas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvieron 20 hígados frescos de *Ch. estor*, aislándolos del resto de las vísceras; por observación con el microscopio estereoscópico determinamos el grado de la infección cuantificando el número de metacercarias aparentes por hígado, el cual osciló entre 26 y 80, para fijarlos posteriormente en formol al 10%.

Los hígados fijados se lavaron en agua corriente durante 12 horas deshidratándose en alcoholes graduales de 30 % hasta 96 % (30 minutos en cada alcohol) para depositarlos después en alcohol absoluto durante 60 minutos; se pasaron a xilol puro durante un lapso de 60 minutos y se dejaron en aceite de cedro durante 24 horas, transfiriéndose nuevamente a xilol por un lapso de 12 horas.

Para la inclusión en parafina se realizaron dos cambios, utilizando Paramex P.F. 56-58°, distribuyéndose individualmente en cajas histológicas de papel.

Los cortes fueron realizados con un microtomo Olympus 815 de American Optical, obteniéndose cortes de seis micras grosor, lográndose un total de 420 laminillas de los 20 hígados procesados. Una vez realizados los cortes se colocaron con baño maría, recogiendo con portaobjetos previamente impregnados con albúmina, dejándolos secar por un periodo de 12 horas para deseparafinarse con xilol por espacio de 15 minutos.

La técnica de tinción empleada fue la hematoxilina-eosina y el medio de montaje bálsamo de Canadá.

Se eligieron 20 cortes (uno de cada hígado) para realizar la interpretación histopatológica que a continuación se presenta.

RESULTADOS

La revisión externa de los hígados en fresco nos permite observar un color amarillento generalizado, además de un aumento ligero de su tamaño, advertido por los bordes redondeados de los lóbulos; cuando estos hígados fueron colocados en formol al 10% para su fijación, no se sumergieron completamente lo que sugiere un gran contenido de grasas que no se presenta en hígados de peces sin problemas dietéticos.

El examen histológico de los que no contienen evidencia de metacercarias, nos muestra una degeneración grasa constante y difusa con todo el tejido hepático (Fig. 1), caracterizada por la acumulación de material graso en el citoplasma de los hepatocitos y el deslizamiento nuclear hacia la periferia, por lo que consideramos que en dicha degeneración hepática lipóide no parece estar asociada con la presencia del parásito.

En hígados con infecciones moderadas, que fueron los que constituyeron el mayor porcentaje de nuestra muestra, se observaron cambios histológicos asociados con la presencia de metacercarias enquistadas, inmersas en el parénquima hepático; los quistes que se observaron están constituidos de una doble pared, una interna de origen parasitario y la otra externa formada por el hospedero (Fig. 2); rodeando al quiste se observa una capa más o menos espesa de tejido conectivo fibroso, constituido fundamentalmente por fibroblastos y fibrocitos, representando esta fibrosis la fase final de la infiltración leucocitaria y granulación del tejido; hacia la zona periférica se advierte la atrofia del parénquima hepático con los hepatocitos colapsados, debido a la presión ejercida por el quiste, manifestando una organización sinusoidal discordante, en contraste con los sinusoides hepáticos más periféricos (Fig. 3a y 3b), las células inflamatorias, sobre todo monocitos y linfocitos, con sus núcleos basófilos, están presentes.

La eosinofilia, aunque moderada, está presente en las zonas periquistales, además de algunos otros que consideramos rutas de migración de la cercaria. La eosinofilia representa un signo sintomatológico asociado a diferentes parasitosis, si bien, en este caso, no es severa; su observación es clara sobre todo en las regiones cercanas al parásito (Fig. 4a y 4b).

La ruta de migración de las cercarias hacia las zonas donde se les localizó en el hígado ya metamorfoseadas no ha sido definida aún, sin embargo, observamos en la figura 5 una disposición peculiar de células inflamatorias y una aparición incipiente de tejido conectivo fibroso que dan un aspecto de vía de penetración del parásito.

En algunas laminillas en las cuales se observaron por lo menos dos quistes metacercariales, advertimos la presencia de un granuloma bien definido y caracterizado por la aparición de macrófagos (células epitelioides y células gigantes), rodeando una área central con necrosis; en los bordes de la zona de macrófagos se evidencia una proliferación incipiente de fibroblastos entre los cuales se advierten linfocitos y células plasmáticas (Fig. 6).

Los cortes histológicos, en preparaciones, fueron depositados en la Colección Helminológica del Instituto de Biología, con el número de catálogo: 239-18.

DISCUSIÓN

De acuerdo con los datos de prevalencia (86 a 100%) y la amplitud de intensidad (1 a 683 metacercarias por hígado parasitado), el hígado de *Ch. estor* constituye el hábitat preferencial de las metacercarias de *P. minimum* además, siendo el hígado un órgano fisiológicamente tan importante, tiene un especial interés determinar el efecto histopatológico causado por las metacercarias.

El intervalo de infección de la muestra de hígados, que se utilizaron en el presente estudio, que osciló entre 26 y 80 metacercarias, no corresponde a infecciones drásticas como las registradas por Mitchell, Smith y Hoffman (1982), sino más bien moderadas; al respecto, es conveniente señalar que nuestra muestra la constituyeron peces en condiciones naturales, mientras que en el caso registrado por dichos autores, eran peces mantenidos en cultivo. Sin embargo, los hallazgos histopatológicos diagnosticados, tales como la atrofia del parénquima hepático perisquistial, la presencia de granulomas y la necrosis del tejido hepático determinada, a su vez, por dos procesos: Presencia y disposición de células inflamatorias así como la aparición incipiente del tejido fibroso en las rutas de migración, nos indican un efecto decisivo que trae como consecuencia una disfunción hepática.

De esta forma, se considera que las funciones desempeñadas por el hígado, sobre todo las relacionadas con la digestión, se ven disminuidas y, consecuentemente, los procesos tales como la asimilación de nutrientes sufren alteraciones que se manifiestan particularmente en anemia, palidez branquial, reducción de la talla y peso de los peces. Por otro lado, la presencia de una degeneración grasa severa y difusa en el parénquima hepático, al parecer no está relacionada con la presencia del parásito; los agentes causales son probablemente deficiencias dietéticas, sobre todo, por carencia de alfa tocoferoles y por la presencia de contaminantes tóxicos como las aflatoxinas y algunos derivados arsenicales.

En este contexto, los peces parasitados presentan un síndrome de desnutrición que permite una acción más contundente de sus depredadores siendo, en este caso, aves ictiófagas habitantes de la zona. Así, el parásito completa su ciclo de vida ya que alcanza su madurez sexual en el intestino de su ave hospedera. En este sentido, podría pensarse en una alteración de las pautas conductuales del pez, debido a la presencia de

metacercarias de *P. minimum* como se ha señalado para otras parasitosis (Holmes y Bethel en: Moore, 1984).

De esta manera, reiteramos la necesidad de establecer una serie de medidas tendientes a prevenir una potencial epizootia producida por *P. minimum*, sobre todo en la perspectiva del interés que existe actualmente por cultivar el "pescado blanco" en condiciones controladas, ya que uno de los factores que facilitan la dispersión de la infección es el hacinamiento de los peces en estanques o en reservorios pequeños, donde se cultivan. Existen citados en la literatura numerosos casos graves de epizootias producidas por diferentes helmintos cuando aquellos son colocados en estanques para su cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro reconocimiento a: M. en C. Rafael Lamothe Argumedo por la dirección y revisión del presente trabajo; los M.V.Z. Fernando Constantino Casas y José Ramírez Lezama por su ayuda en la interpretación de los cortes y a Guillermo Salgado Maldonado por la revisión del manuscrito.

LITERATURA CITADA

- ANDERSON, C. D., R. J. ROBERTS, K. MACKENZIE and A. H. MACVICAR, 1976. The hepato-renal syndrome in cultured turbot *Scophthalmus maximus*. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 27: 1389-1393.
- BAILEY, W. C., 1984. Epizootiology of *Posthodiplostomum minimum* (MacCallum) and *Proteocephalus ambloplites* (Leidy) in Bluegill (*Lepomis macrochirus* Rafinesque). *Can. J. Zool.* 62: 1363-1366.
- BOGISTCH, B. J., 1962. The chemical nature of metacercarial cyst. Histological and histochemical observations on the cyst of *Posthodiplostomum minimum*. *J. Parasitol.* 48: 55-60.
- BOGITSCH, B. J. and F. P. ALVIDGE, 1967. Histochemical observations on *Posthodiplostomum minimum* IV. Electron microscopy of tegument and associated structures. *Ex. Parasitol.* 21(1): 1-8.
- CAPPELL, R., 1974. New experimental host for *Posthodiplostomum minimum* (Trematoda: Diplostomatidae). *J. Parasitol.* 59(6): 1051.
- DUBOIS, G., 1970. Synopsis des Strigeides et des Diplostomatidae (Trematoda) *Mem. Soc. Neuchatel. Sci. Nat.* 2: 259-727.
- ERASMUS, A. D., 1972. *The Biology of Trematodes*. The University Press. Belfast., 312 pp.
- FRIED, B., 1970. Excystation of metacercariae of *Posthodiplostomum minimum* Hoffmann, 1858, and their development in the chick and on the chorioallantoides. *J. Parasitol.* 56(5): 944-946.
- HARVEY, J. R. and T. G. MEADE, 1969. Observations on the effects of fish serum on cercarial and metacercarial stages of *Posthodiplostomum minimum*. *Proc. Helminth Soc. Wash.* 36(2): 211-214.
- HECKMAN, R. A. and J. R. PALMIERI, 1978. The eye fluke diseases (diplostomosis) in fishes from Utah. *Great Basin nat.* 38: 473-477.
- HOFFMAN, G. L., 1958. Experimental studies on the cercaria and metacercaria of a streigeid trematode *Posthodiplostomum minimum* Exp. Parasitol. 7: 23.
- HOFFMAN, G. L. and O. N. BAUER, 1971. Fish parasitology in water reservoirs: A review. *Reservoir Fisheries and Limnology Spec. Publ.* 8 America Fisheries Society: 495-511.
- HOFFMAN, G. L. and J. B. HUNDLEY, 1957. The life cycle of *Diplostomum baeri eucalie* n. subs. (Trematodeo: Strigeidae) *J. Parasitol.* 43(6): 613-627.
- HOFFMAN, G. L. and J. A. HUTCHESON, 1970. Unusual Pathogenicity of a common metacercaria of fish. *J. Wildlife As.* 6: 109.
- LARSON, O. R., 1965. Cercarial migration, localization and lenticular hernea in the black bullhead *Ictalurus*. *J. Parasitol.* 51: 23-24.
- MITCHEL, A. J., C. E. SMITH and G. L. HOFFMAN, 1982. Pathogenicity and histopathology of an un-

- usually intense infection of white grubs (*Posthodiplostomum minimum*) in the feathery minnow (*Pimephales promelas*). *J. Wildl. Diseases* 18(1): 51-58.
- MOORE, J., 1984. Parasites that Change the behavior on Their Host. *Sci. Am.* 250(5): 82-89.
- OSORIO-SARABIA, D., G. PÉREZ-PONCE DE LEÓN Y G. SALGADO-MALDONADO, 1986. helmintos de peces en Pátzcuaro, Michoacán I: Helmintos de *Chirostoma* es el "pescado blanco". Taxonomía. En prensa.
- RIBELIN, W. E. and G. MIGAKI (Ed.), 1975. *The Pathology of Fishes*, University Wisconsin Press, E.U. 1004 pp.
- ROBERTS, R., 1981. *Patología de los Peces*, Mundi Prensa. Madrid. 366 pp.
- SHARIFF, M., R. H. RICHARDS and C. SOMMERVILLE, 1980. The histopathology of acute and chronic infection of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson with eye flukes, *Diplostomum* spp. *Journal of Fish Diseases*: 3: 455-465.
- SMITHERMAN, R. O., 1986. Effect of the streigeid trematode *Posthodiplostomum minimum*, upon growth and mortality of bluegill *Lepomis macrochirus*, *FAO Word Symp on Warm-Waterpond Fish Culture*. FR: IX: E-8: 1-8.
- SPALL, R. D. and R. C. SUMERFELT, 1970. Life cycle of the white grub *Posthodiplostomum minimum* (MacCallum, 1921. Trematodo: Diplostomatidae) and observations on host-parasite relationships of the metacercaria in fish. In: Sniezko, S. F. (Ed.) *A Symposium on diseases of fishes and shell-fishes*, *Spec. Publ. Am. Fish. Soc.* 5: 218-230.

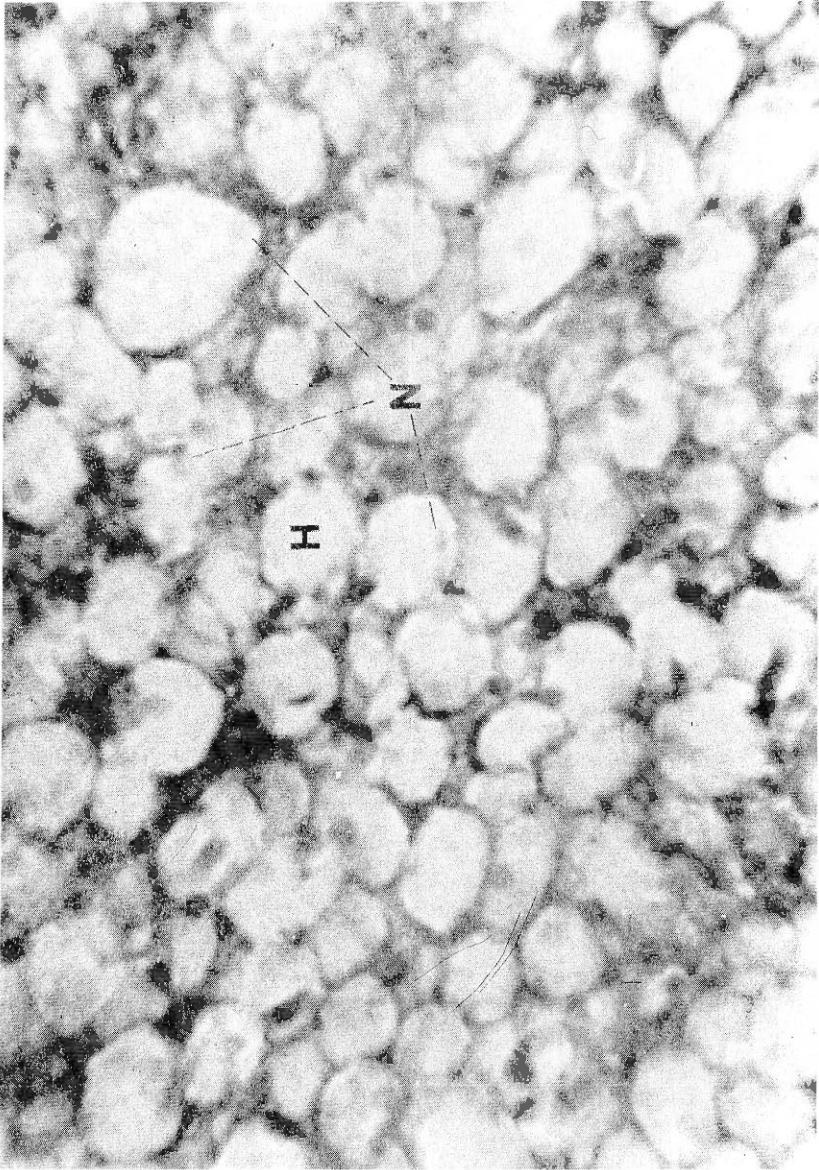


Fig. 1. Degeneración hepática lipóide (40x). En la microfotografía que observa una marcada infiltración grasa en los hepatocitos (H), con el desplazamiento de los núcleos hacia la periferia (N).

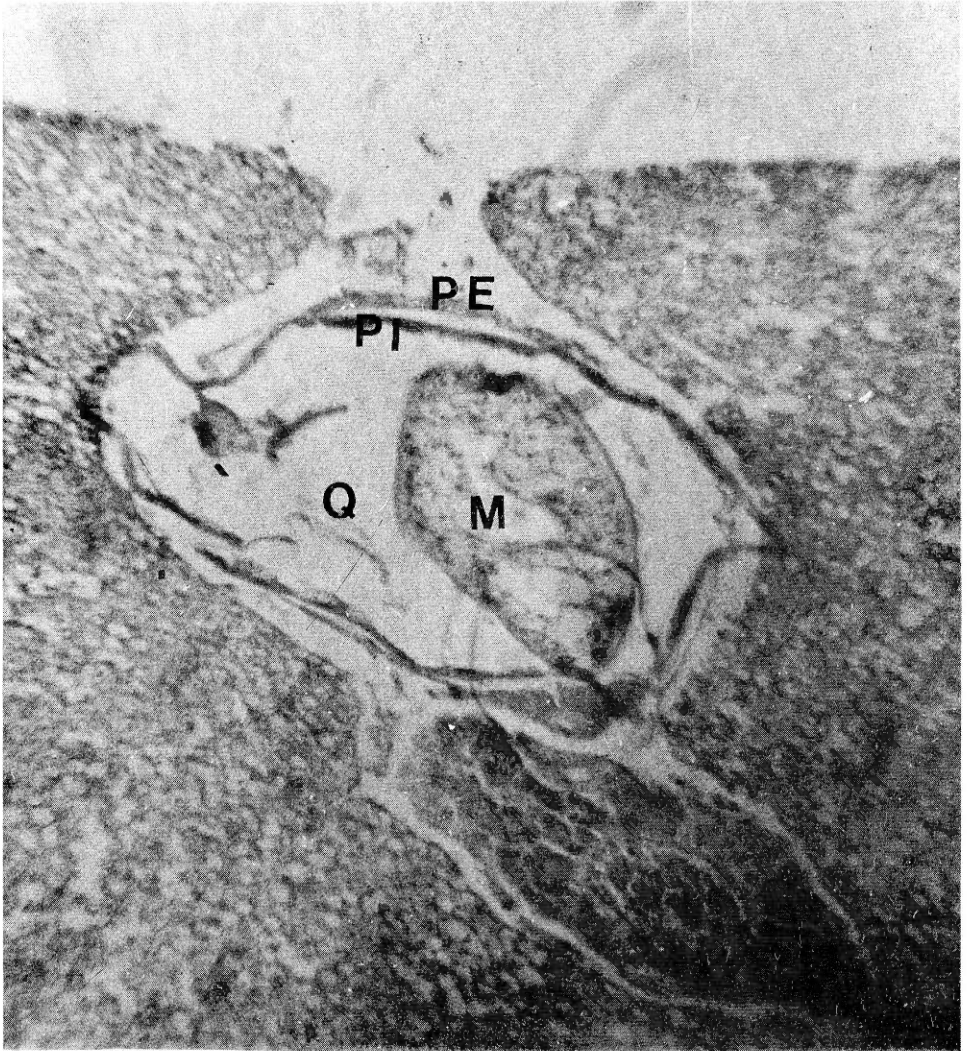


Fig. 2. Corte longitudinal del hígado de *Ch. estor* (10x). Se aprecia un quiste metacercarial (Q), con doble pared (PE y PI), conteniendo la metacercaria (M).

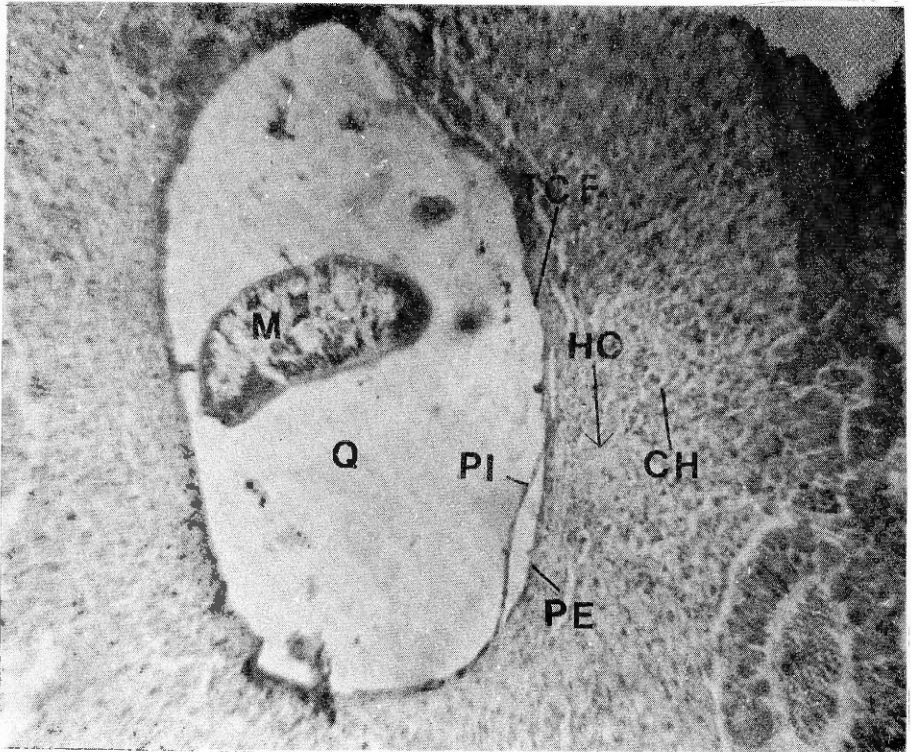


Fig. 3a. Microfotografía que muestra un quiste con doble pared (10x). El quiste (Q), con doble pared (PI y PE), conteniendo la metacercaria (M), está rodeado por tejido conectivo fibroso (TCF), así como hepatocitos colapsados (HC), que contrastan con los cordones de hepatocitos (CH).

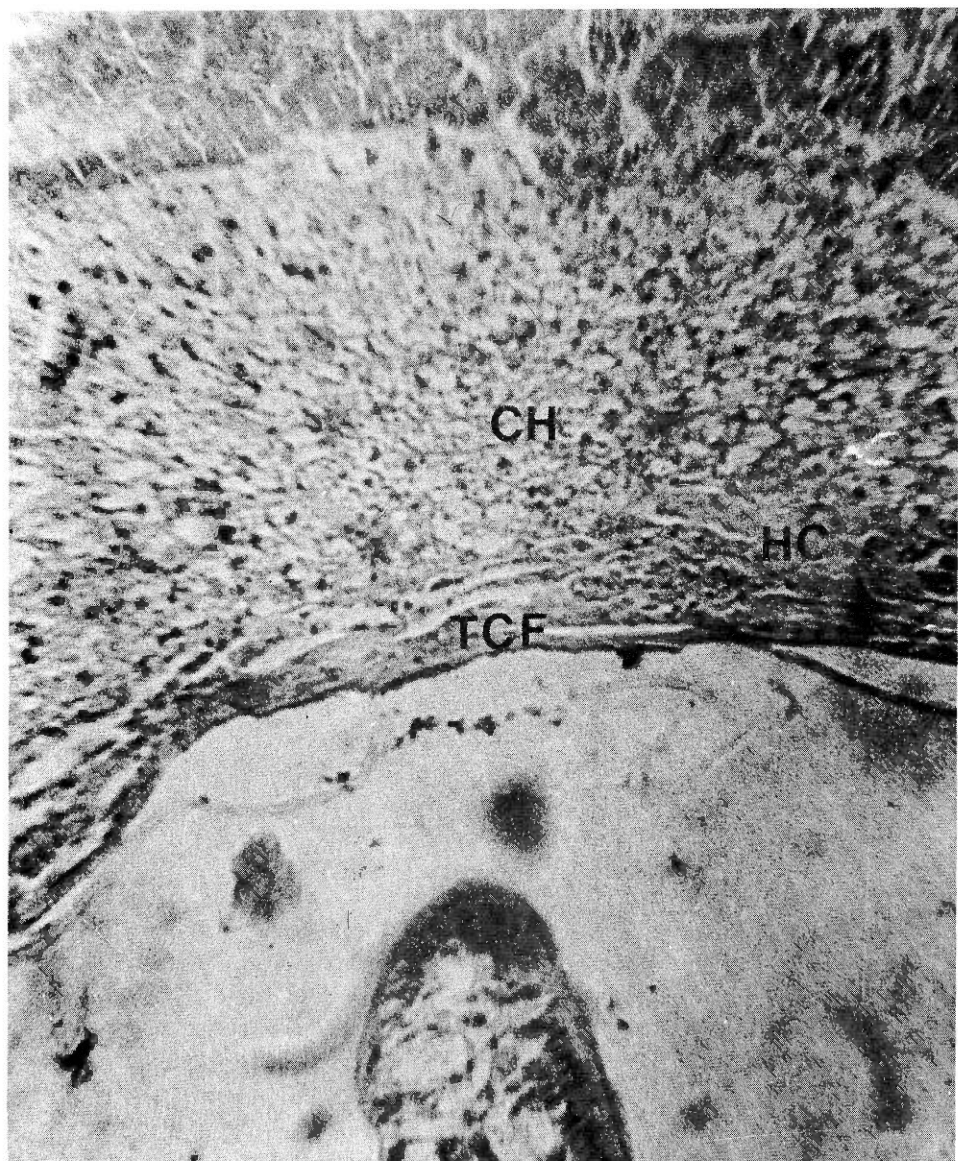


Fig. 3b. Detalle de las modificaciones tisulares en la zona periquistal (40x). El tejido conectivo fibroso (TCF), hepatocitos colapsados (HC) y los cordones de hepatocitos (CH).

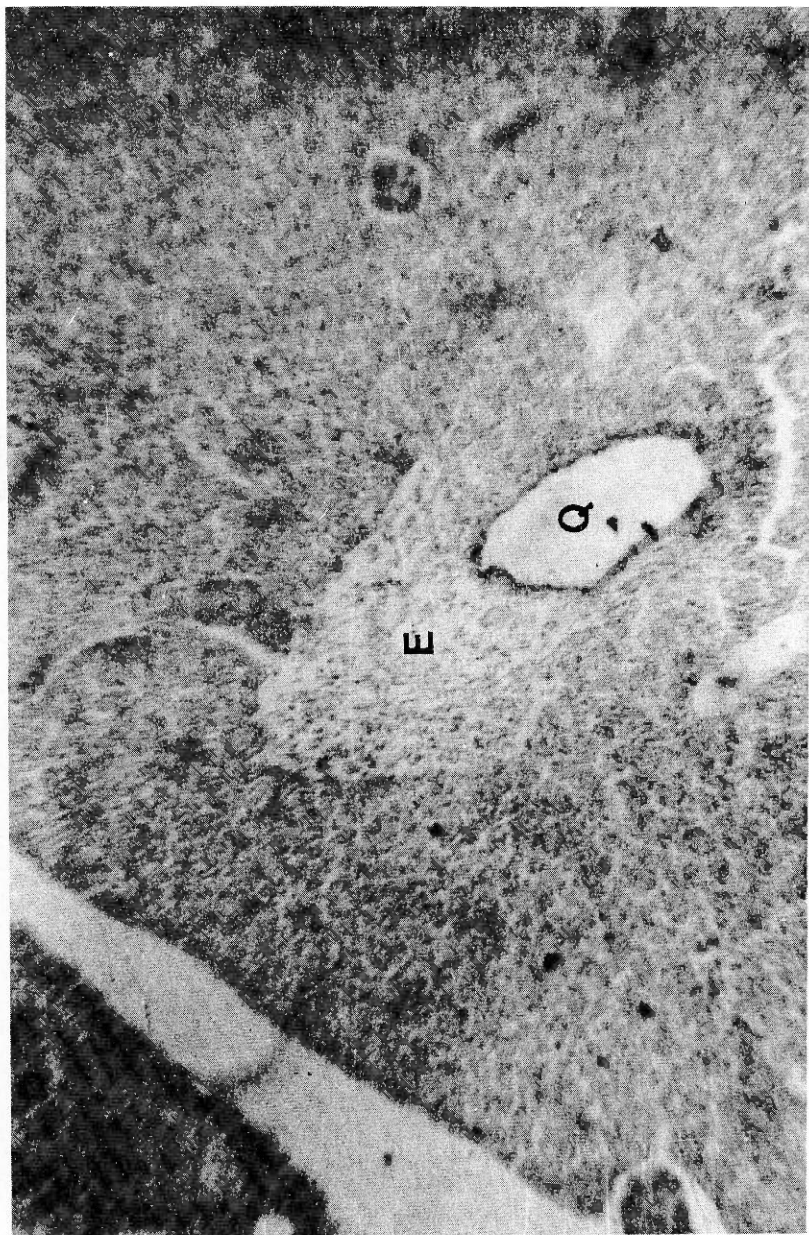


Fig. 4a. Zona de eosinófilos (10x). Zona adjunta a un quiste (Q) con presencia de eosinófilos (E).

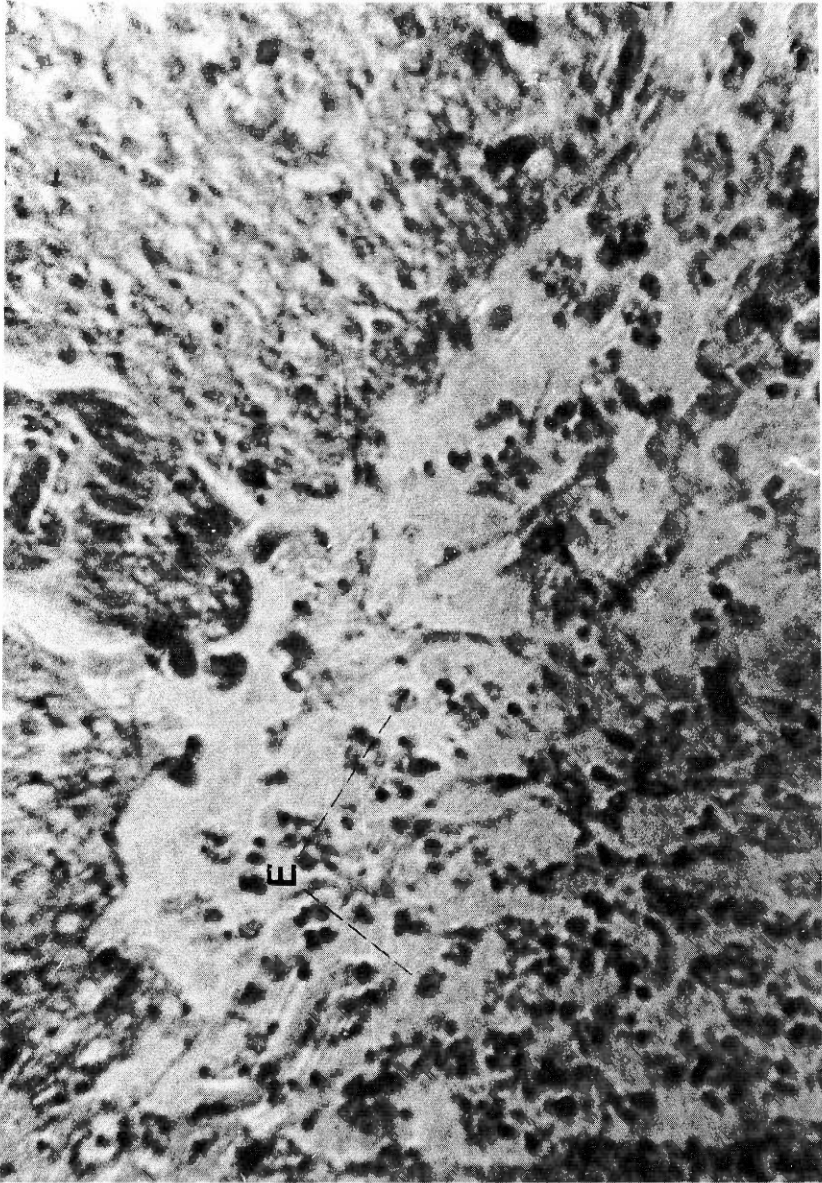


Fig. 4b. Microfotografía de un acercamiento en la zona de eosinófilos (E) (40x), caracterizada por su citoplasma granular.

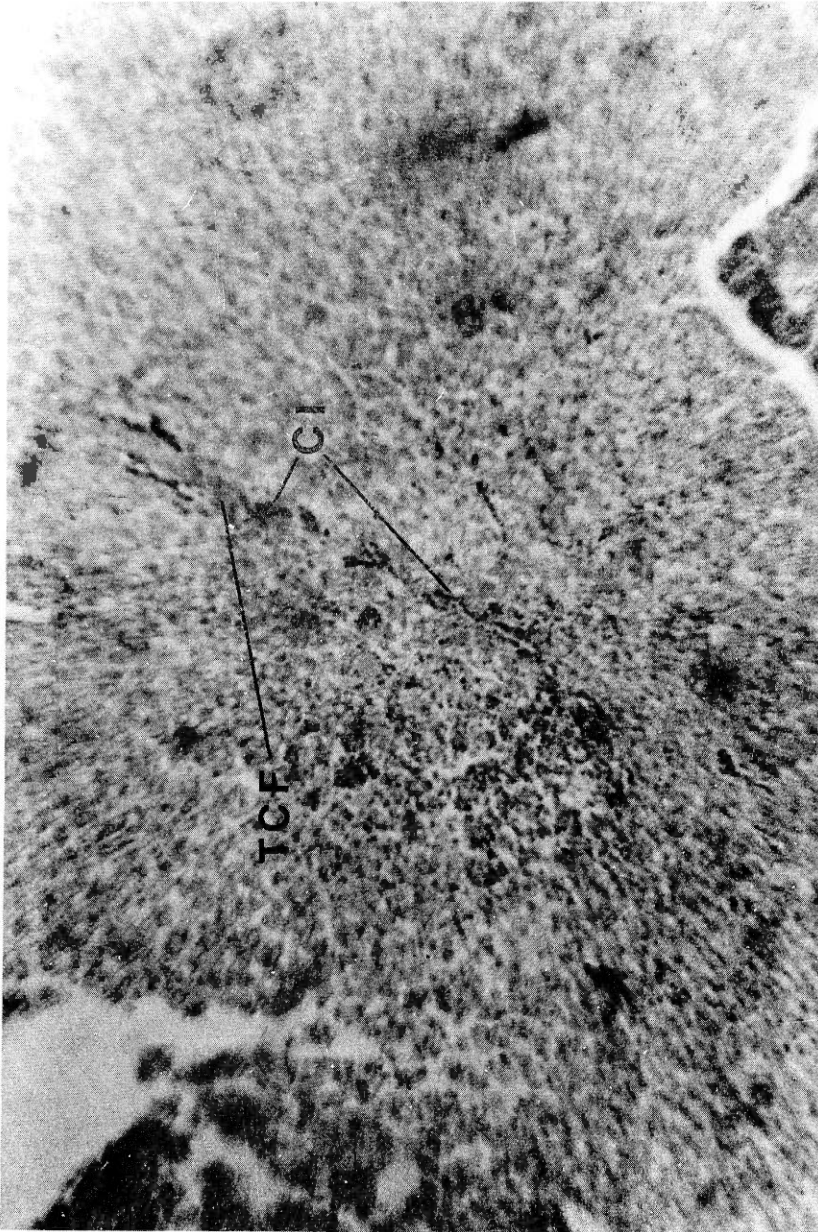


Fig. 5. Rutas de migración de la cercaria (40x). Disposición peculiar de células inflamatorias (CI) y tejido conectivo fibroso (TCF).

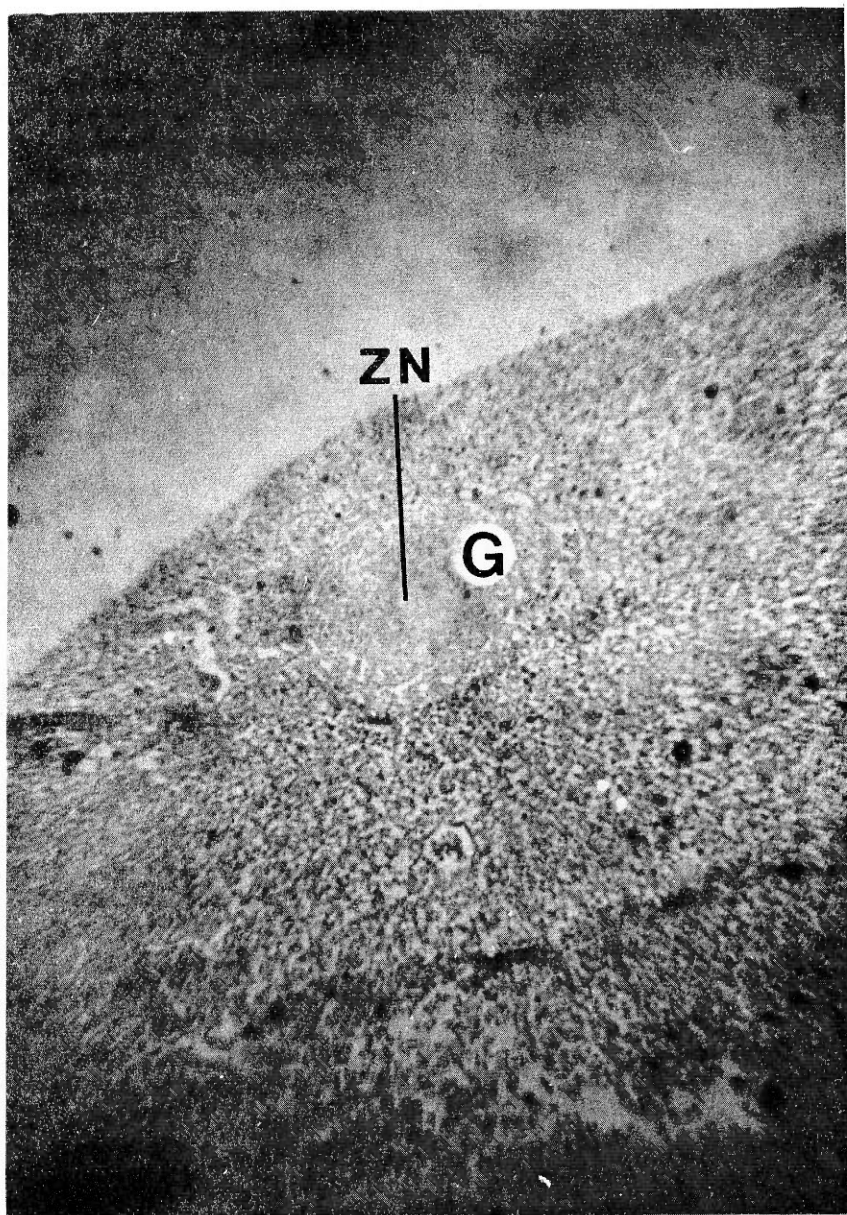


Fig. 6. Granuloma (40x). Microfotografía que muestra un lóbulo del hígado con un granuloma (G) bien definido, caracterizado por una zona central necrótica (ZN).