

## ULTRAESTRUCTURA DE PROTOZOARIOS DE LA CLASE MYXOSPOREA (ORDEN BIVALVULIDA) EN BRANQUIAS DE PECES DE ORNATO

**Carlos Cedillo P\***, **Fernando Constantino C.** Unidad de Microscopia Electrónica, Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. \*E-mail: z.carlos@mailcity.com

Los parásitos del Phylum Myxozoa se encuentran presentes en invertebrados y vertebrados poiquiloterms, infectando la gran mayoría a los peces. Los Myxozoa que infectan a los peces son miembros de la clase "Myxosporea" (MYX), comúnmente denominados mixosporidios. En su mayoría son parásitos específicos de órganos blanco y de taxonomía (1). Las infecciones por estos parásitos han sido documentadas en peces comerciales y en menor frecuencia en peces de ornato (1, 2), siendo escasas las referencias de este clase de protozoarios en nuestro país y nulas con respecto a sus características ultraestructurales.

El objetivo de este trabajo, es describir ultraestructuralmente un parásito protozoario en branquias de pez, cuyas características morfológicas corresponden a la clase mixosporidia, orden bivalvulida, sin haber sido descrito en el país.

Fue remitido para el estudio de necropsia un pez dorado (*Carassius auratus*), con historia clínica de enfermedad cutánea, hacia donde fue dirigido el diagnóstico. Durante la necropsia, se recolectaron muestras de rutina para histopatología, las cuales se fijaron en formalina amortiguada al 10%, para posteriormente procesarlas con la metodología de rutina. Durante la revisión microscópica, se evidenciaron estructuras parasitarias en arcos branquiales, sugerentes de mixosporidios, por lo que se llevo a cabo estudios de microscopia electrónica de transmisión, para efectuar su descripción e identificación.

Para el estudio ultraestructural, se recuperaron branquias fijadas en formalina amortiguada al 10%, cortándose fragmentos de 2 a 3 mm<sup>3</sup>, refijándose en glutaraldehído 2.5% (amortiguado con solución de cacodilato pH 7.4, 0.1 M), posteriormente las muestras se posfijaron con OsO<sub>4</sub> 1%, deshidratándose con etanoles, embebiéndose en resinas epoxicas (Epon 812). Una vez procesadas las muestras, se realizaron cortes semifinos de 0.15 a 0.20 µm teñidos con azul de toluidina y cortes finos de 60 nm, contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo. El material procesado se revisó en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM 900.

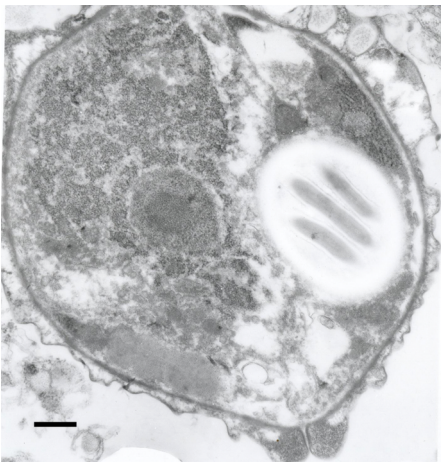
Ultraestructuralmente los protozoarios se encontraban en diferentes estadios de división, identificándose como estados de esporogonia, dichas estructuras se apreciaban enquistadas al epitelio de lámelas secundarias o de forma libre obliterando la luz intralámelar. Las lámelas presentaban hiperplasia de células epiteliales y calciformes, así como infiltrado de heterófilos, linfocitos y macrófagos. Los protozoarios se observaron en diferentes niveles de corte y orientación, encontrándose la mayoría bien conservados y otros en degeneración. Dichas estructuras presentaban forma redonda a ovoide, los cuales median de 6.63-7.65 x 10.73-12.79 µm externamente se aprecia pared gruesa granular electrodensa con ondulaciones en algunas esporas, así mismo se observaron de una a dos válvulas bien definidas, que en cortes transversos se encontraban en polos opuestos, en algunas esporas se aprecia comunicación interna con alguna de las válvulas. Internamente se pudieron identificar de una a dos cápsulas polares de moderada electrodensidad con tamaños variables (de 1.82 hasta 2.81 µm de diámetro) la cuales contenían filamentos polares con 3 a 5 segmentos en espiral, por debajo de las cápsulas polares se aprecia el esporoplasma ocupando 2/3 partes de la espora en general. También se aprecia retículo endoplasmico rugoso y mitocondrias, así como otras estructuras ovoides de diferente tamaño de moderada electrodensidad a un lado de la cápsula polar y adyacentes a las válvulas sin poderse identificar. Con base en las características ultraestructurales, así como la literatura consultada, las estructuras parasitarias sugieren corresponder al orden Bivalvulida, del genero *Sphareosphora* sp.

La infección de este tipo de protozoarios puede ser ligera y pasar desapercibida clínicamente, siendo en esta presentación cuando es mayor su difusión y se vuelve persistente, favoreciendo la presentación de otras enfermedades. En los casos severos, causa daños mecánicos

por la formación de quistes y necrosis final de los tejidos, exacerbándose el daño cuando se desencadena una respuesta inflamatoria por la ruptura de los quistes (1). Los protozoarios del orden Bivalvulida han sido descritos aisladamente en la literatura, informando de la presentación de casos clínicos, afectando explotaciones acuícolas o peces de vida libre (1,4). Empleándose diferentes técnicas diagnosticas para su identificación y clasificación como son la histopatología, cultivos celulares o pruebas moleculares, siendo la microscopia electrónica una técnica que permite su descripción acertada así como la identificación de la etapa de división por las cual cursan estos protozoarios (1,2,3,4). Los hallazgos ultraestructurales antes descritos son similares a lo publicado en otras referencias (1,2,3,4), sin embargo, difieren en el tipo de pez y tejido afectado, lo cual permitiría elucubrar que debido a la especificidad tisular de estos protozoarios, podría tratarse de una especie diferente de *Sphareospora*, del orden Bivalvulida, no descrita en nuestro país.

#### Referencias

- (1) E.J. Noga. Fish disease. Mosby. 1996: 173-178.
- (2) S.C. Chen *et al.* J Fish Dis. 2001, 24: 189-195.
- (3) R.O. Bennett *et al.* J Wild Dis. 1986, 22 (2): 268-271.
- (4) A. Sitja *et al.* J Eukariot Microbiol. 2001, 48 (6): 627-639.



**Figura 1. Protozoo de la clase MYX.**

Presenta forma redondeada, de pared gruesa electrodensa con ondulaciones externas, observándose una válvula en la parte inferior. Internamente se aprecia del lado derecho, una capsula polar redonda electrolucida con tres segmentos de los. Del lado izquierdo se aprecia parte del esporoplasma y otros organelos no identificados del protozoo.

**Uranilo-Plomo, 12000x, Barra: 0.6µm**

**CUADRO 1. Diferentes especies de Mixosporidios que afectan a los peces.**

ESPECIE	HOSPEDADOR	ORGANO	DISTRIBUCION GEOGRAFICA	REFERENCIA
<i>Myxobolus koi</i>	Pez dorado, Carpa koi	Branquias	Japón, Europa	Hoshina, 1952 Cranshaw & Sweeting, 1986
<i>Myxidium</i> sp	Ciprinidos	Branquias	-----	Kinkelin <i>et al.</i> , 1985
<i>Myxobolus exiguus</i>	Ciprinidos	Branquias, piel, estomago	Asia, Europa, Africa	Pulsford & Matthews, 1982
<i>Sphareospora renicola</i>	Carpa común, pez dorado	Vejiga natatoria, riñón, sangre	Eurasia	Lom & Dykova, 1992
<i>Sphareospora molnari</i>	Carpa común, pez dorado	Branquias, piel	Europa, Israel, E.U.A.	Svoboda & Groch, 1986; Paperna, 1991