

Histología y patología de los peces.

Parte I: Biología y necropsia de los peces

Sierra, E. M.; Espinosa de Los Monteros, A.; Real, F.* ;Herráez, P. Castro, P.; Fernández, A.

Unidad de Histología y Anatomía Patológica (Departamento de Morfología) y (*) Unidad de Enfermedades Infecciosas (Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología, Ciencia y Tecnología de los Alimentos). Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña s/n, 35416-Arucas (Gran Canaria), España.

Los peces sólo poseen algunas características anatómicas y físicas que difieren de los mamíferos, sin embargo poseen los mismos órganos y sistemas que encontramos en otros animales. Todos los peces son poiquiloterms y deben ser capaces de adaptarse a los cambios de temperatura del agua. Los peces viven en un rango de temperatura tan variable que va desde los 0° C hasta los calurosos manantiales geotérmicos. Cada especie debe vivir en su particular rango de temperatura. Un cambio demasiado brusco en la temperatura del agua puede ser letal para el pez.

Las diferencias que existen entre los sistemas orgánicos de los peces y los mamíferos se deben, fundamentalmente, a que los peces viven en un medio acuático. Las siguientes son algunas de las diferencias más importantes.

Tegumento

Los peces no poseen una capa de queratina sobre la epidermis.

El sistema cutáneo es la primera barrera de protección frente al medio. Está constituido por: cutícula, epidermis, membrana basal, dermis e hipodermis.

a) Cutícula

Capa externa de aproximadamente 1µm de espesor está constituida esencialmente por mucopolisacáridos y secretada principalmente por gran cantidad de células superficiales epiteliales, en menor medida por células mucosas en copa y un complejo de células protoplasmáticas, células descamadas y algunas células mucosas en copa que han sido elaboradas

en superficie. La capa cuticular contiene inmunoglobulinas específicas, lisozimas y ácidos grasos libres, todos ellos dotados de una demostrable capacidad antipatógena.

b) Epidermis

El componente fundamental lo forman las células de Malpighi, localizadas en la capa externa de la epidermis.

La epidermis de los adultos está formada por un epitelio escamoso estratificado (de anchura variable) que cubre toda la superficie del cuerpo, incluida la cola y las aletas.

Al contrario que en los mamíferos, la epidermis de los peces está formada por células vivas capaces de dividirse por mitosis a todos los niveles, incluso en su capa escamosa más superficial. Su espesor varía según la especie, edad, sexo, emplazamiento e incluso el momento de su ciclo reproductor.

Suele ser más espesa en las especies poco cubiertas de escamas (como por ej. en la anguila) así como sobre las aletas, donde la epidermis es particularmente rica en terminaciones nerviosas y células mucosas.

Las células de Malpighi son redondeadas y de estructura muy parecida en todas las capas, excepto en la más superficial, donde son horizontales y aplanadas, con un citoplasma formado esencialmente por la acumulación de largas vacuolas, mitocondrias degeneradas y haces de fibrillas intracelulares.

Las células secretoras (células mucosas en copa) se encuentran en toda la epidermis, variando su número según la especie y la situación.

Se originan, generalmente, en las capas medias de la epidermis, pero cuando ésta es muy delgada, puede verse que la base de la célula mucosa se encuentra directamente sobre la membrana basal. A medida que se aproximan a la superficie, aumentan de tamaño y elaboran más secreciones, principalmente glicoproteínas.

Las células "club" son grandes, casi siempre redondeadas y se encuentran en las capas inferior y media de la epidermis de ciertos grupos de teleósteos.

Las clásicas células "club" son las de "Shreckstoffzellen" que en la epidermis de los Ciprínidos (carpa; barbo...) segregan una potente sustancia de alarma. Sin embargo, en otras especies, la epidermis posee también grandes células claras, no mucoides, que no parecen estar relacionadas con las reacciones de miedo.

La epidermis de numerosos teleósteos contiene una gran variedad de células granuladas, de las que no se conoce todavía su función, así como linfocitos, macrófagos y estructuras quísticas de dudoso origen celular, que abundan especialmente en los Gánidos (Bacalao, merluza...).

La epidermis cubre las escamas, que son osificaciones de la capa subyacente, el corion.

Una membrana basal separa esta capa de la dermis.

c) Dermis

Se compone de dos capas:

a. Superior, llamada *Stratum spongiosum*:

Formada por una red distendida de fibras de colágeno y fibras reticulares, contigua a la membrana

basal de la epidermis y que contiene células pigmentarias (cromatóforos), leucocitos polimorfonucleares basófilos, células cebadas y también escamas

b. Más profunda; *Stratum compactum*:

Forma una densa matriz colágena que es la responsable de la fuerte estructura de la piel.

Muchos teleósteos tienen una alta capacidad para cambiar de color, bien para adaptarse al del medio ambiente, bien por su actividad sexual o por problemas patológicos.

Esta facultad es inducida por un control de modulación del intercambio de las propiedades de absorción y reflexión de la luz, asegurada por varios tipos de cromatóforos. Los *melanóforos* son células estrelladas con pigmentación oscura, ya que contienen gránulos de pigmento melánico electrónicamente densos, gránulos que son capaces de desplazarse en el citoplasma con el fin de conseguir el efecto deseado.

Los *lipóforos* son cromatóforos que contienen pigmentos solubles en disolventes orgánicos y se subdividen en dos tipos: los eritróforos, que contienen pigmentos rojos y los xantóforos, que contienen pigmentos amarillos. Todos esos pigmentos son esencialmente carotenoides, no pueden ser sintetizados “de novo” por el pez y deben ser necesariamente aportados en la dieta con el alimento. Por otra parte, los *iridóforos* y los *leucóforos* forman la base de los colores blanco y plateado del pez y contienen purinas, generalmente guaninas, sustancias dispuestas en placas de material reflectante de hasta 10 µm de espesor y alineadas en paralelo dentro de la célula.

Las escamas son placas flexibles, calcificadas, que nacen en la dermis y se entierran parcialmente en unos “bolsillos de las escamas” que deben considerarse como pequeños huesos dérmicos supervivientes de los exoesqueletos de los distintos peces acorazados. Están orientadas hacia la parte posterior del cuerpo y consti-

tuyen una fuente de calcio para el pez. (foto 1).

Ultraestructuralmente consisten en fibras de colágeno entremezcladas con una matriz de materiales aluminoides en la cual se depositan cristales de hidroxapatita.

Existen tres tipos; *Placoideas*, son las más primitivas. Se puede decir que este tipo de escamas son como dientes cutáneos, compuestos de pulpa dentaria, marfil y esmalte. Son típicas de los tiburones, de ahí que su piel se sienta como lija; *Cicloideas*, son de gran espesor, con forma de rombo o elípticas y se recubren de un esmalte brillante. El conjunto de estas escamas constituye una verdadera coraza protectora, tal como ocurre en el caso de las percas (*Perca fluviatilis*); y *Ctenoideas* que se asemejan a las Cicloideas pero uno de sus bordes basales posee dientes a modo de una peineta. Este tipo de escamas es el más abundante entre los peces.

Las Cicloideas y las Ctenoideas tienen un crecimiento en anillos en su superficie, lo que permite en muchas especies valorar la edad de cada individuo.

d) Hipodermis

Tejido conectivo laxo y adiposo, más vascularizado que la dermis y es frecuente lugar de elección para el

desarrollo de los procesos infecciosos.

Sistema respiratorio

Las branquias sanas son de un color rojo brillante y no están adheridas entre sí.

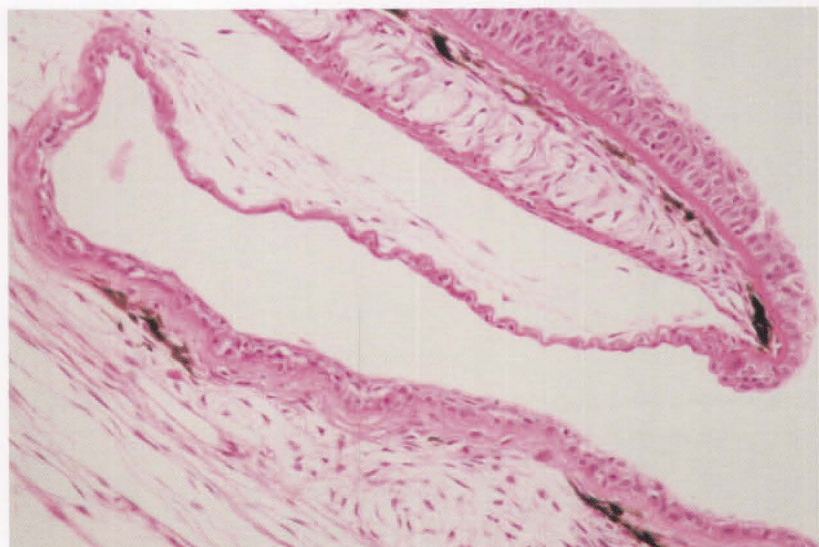
Las branquias de un teleósteo típico comprenden dos series de cuatro holobranquias que forman las paredes de la faringe.

Cada holobranquia se compone de dos hemibranquias que se proyectan desde el borde posterior del arco branquial, de tal forma que los bordes libres divergen y tocan los de las branquias adyacentes.

Las hemibranquias están formadas por una fila de largos filamentos, laminillas primarias, que se proyectan desde el arco branquial a modo de púas de un peine.

El área de superficie de las laminillas primarias aumenta, aún más, por la formación de unos repliegues semilunares regulares, las laminillas secundarias.

Los intercambios gaseosos tienen lugar en la superficie de las laminillas secundarias. Estas laminillas están formadas, esencialmente, por una envoltura de células epiteliales dispuestas en una capa espesa, sostenidas y separadas por células de sostén. Estas células de sostén tienen en su composición una proteína con-



▲ Foto 1. Piel. “Bolsillo de las escamas”.

tráctil. Como la sangre que entra en los espacios laminares proviene directamente de la aorta ventral a gran presión, la presencia de estos elementos contráctiles en los soportes de estos mismos espacios servirá para hacer resistencia a la distensión que puedan imponer ciertas circunstancias anormales (por ej. telangiectasia laminar). Además de ser el lugar donde se produce el intercambio gaseoso, en las laminillas secundarias tiene lugar la eliminación de los productos de desecho nitrogenado y el intercambio de algunos electrolitos. (foto 2).

La pseudobranquia es una branquia rudimentaria localizada bajo el opérculo y dorsal a los principales arcos branquiales. El órgano consta de un arco branquial y de una única fila de laminillas. Está perfundida por sangre oxigenada y registra, probablemente, la PO_2 arterial, la P. Hidrostática, los iones Na^+ , la P. Osmótica y la PCO_2 .

Está inervada por una rama del nervio glossofaríngeo (IX par craneal) y tiene otra función no sensorial como es la hiperoxigenación de la coroides y la retina del ojo.

Sistema Endocrino

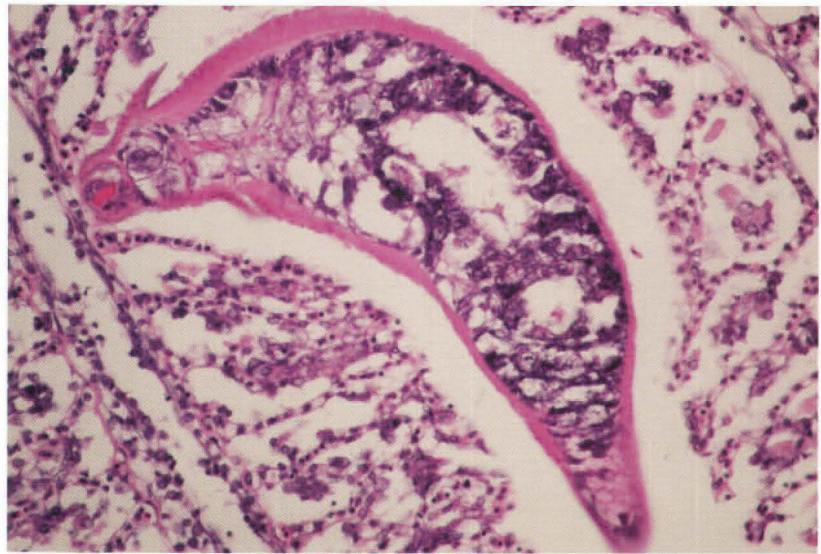
A) Glándula adrenal

En la mayoría de los peces no existe una verdadera glándula adrenal. El tejido cortical adrenal está representado por las células interrenales. Estas células son eosinofílicas, pálidas y cuboides y están asociadas a los grandes vasos sanguíneos del riñón anterior. Secretan glucocorticoides y mineralocorticoides.

La médula adrenal está representada por las células cromafines, que pueden variar en cuanto a su localización. Suelen encontrarse formando grupos en los ganglios simpáticos entre el riñón anterior y la columna vertebral o en el tejido interrenal.

B) Glándula tiroideas

Los folículos tiroideos son muy similares al tejido tiroideo de los



▲ Foto 2. Parásito en branquias.

mamíferos. Se distribuyen por el tejido conectivo de la superficie faríngea y podemos observarlos en torno a los ojos, la aorta ventral, las venas hepáticas y el riñón anterior. Es importante conocer que el tejido tiroideo puede estar ampliamente distribuido, ya que algunos patólogos han considerado, erróneamente, esta distribución normal con un tumor de células foliculares tiroideas.

C) Páncreas endocrino

El páncreas endocrino está representado, en la mayoría de los peces, como islotes de Langerhans y asociado al páncreas exocrino. En algunas especies los islotes son muy grandes y claramente visibles (cuerpos de Brockman). Durante el desove, el número y el tamaño de los islotes puede aumentar en algunas especies, lo que no debe confundirse con un adenoma.

D) Glándulas paratiroides

Están ausentes en los peces. Su función la desempeña otro órgano endocrino (Corpúsculo de Stannius).

E) Glándula últimobranquial

Esta glándula va unida ventralmente al esófago en el septo transversal que separa el corazón de la cavidad abdominal. Este órgano secreta calcitonina, la cual actúa junto

con el hipocalcín (secretado por el corpúsculo de Stannius) para regular el metabolismo del calcio.

F) Corpúsculo de Stannius

Los corpúsculos son islas de células granulares eosinofílicas localizados en órganos pares en la superficie ventral del riñón. Este órgano secreta una proteína llamada hipocalcín (teleocalcín).

G) Urófisis

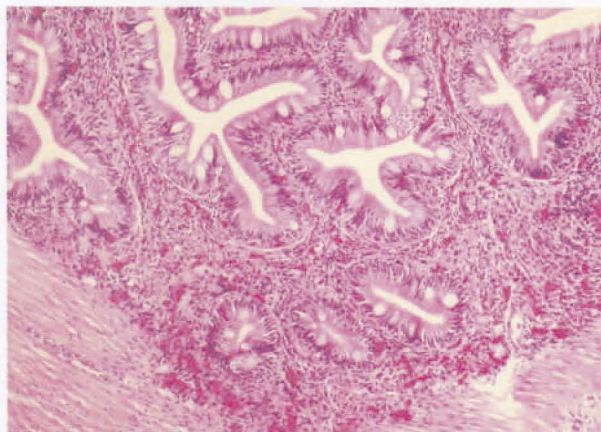
Órgano neurosecretor que se localiza en la parte ventral del extremo distal de la médula espinal. Consta de axones desmielinizados que terminan en una pared vascular y está revestido por las meninges. Su función es desconocida.

H) Glándula Pineal

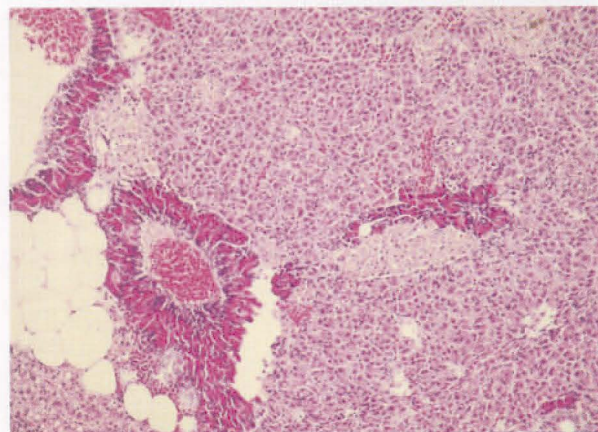
Se trata de una estructura neuroendocrina sensible a la luz, localizada en el cerebro anterior y que está bien vascularizada. Esta glándula secreta melatonina que juega un importante papel en el control de la reproducción, el crecimiento y la migración.

Aparato Digestivo

Es similar al de otros animales. Los peces carnívoros tienen un digestivo más corto que aquellos que son herbívoros. El estómago y el intestino contienen células granulares



▲ Foto 3. Intestino. Células granulares eosinofílicas en la submucosa.



▲ Foto 4. Hígado de Bocinegro (*Sparus pagrus pagrus*). Tejido pancreático asociado y centros melanomacrófagos.

eosinofílicas en la submucosa. La función de estas células se desconoce. (foto 3).

Algunas especies, como los salmónidos, tienen un ciego pilórico que ha llegado a ser confundido con un parásito. Este ciego secreta enzimas digestivas necesarias para la digestión de algunos alimentos. Los peces que no tienen ciego pilórico secretan estas enzimas en el páncreas y en el hígado. Es imposible diferenciar entre intestino delgado y grueso.

Un hígado sano es, normalmente, de color rojo oscuro, aunque en los peces herbívoros puede aparecer de color marrón.

El hígado no posee la típica arquitectura lobular característica de los mamíferos. En algunas especies encontramos tejido pancreático exocrino (hepatopáncreas) asociado a los vasos de pequeño calibre de la vena hepática portal. (foto 4).

Un hígado blanquecino o amarillento indica degeneración grasa.

El páncreas se localiza en el mesenterio, cerca del píloro.

Sistema Reticuloendotelial

Es un sistema de células fagocíticas cuya función es retirar de la circulación células envejecidas y materia particulada.

Los criterios que permiten considerar a una célula componente del sistema retículo endotelial (SRE) son una alta actividad fagocítica y la ca-

pacidad de concentrar y aislar el material fagocitado.

Existen dos poblaciones de macrófagos, una fija y otra circulante.

En los peces teleosteos, las células que se consideran componentes del SRE son los promonocitos de los órganos hematopoyéticos, los monocitos circulantes de la sangre y la linfa, los macrófagos libres y fijos del riñón y del bazo y los macrófagos fijos del revestimiento auricular cardíaco. Los órganos más importantes son: riñón por su avidez, y aurícula, por su localización especialmente vulnerable.

Las células gigantes y las células epitelioides que se observan en las lesiones inflamatorias crónicas (en los teleosteos) se consideran también parte del "Sistema de macrófagos mononucleares", ya que se forman por fusión de macrófagos individuales en presencia de determinados irritantes no degradables.

Una característica interesante de los macrófagos del SRE de los teleosteos es su capacidad de formar agregados una vez repletos de materia particulada.

Habitualmente estos agregados se encuentran en la zona de los melanomacrófagos de los tejidos hematopoyéticos, e incluso también bajo forma pigmentada, dentro o alrededor de lesiones inflamatorias crónicas.

No hay células de Kupffer (fagocíticas) en el hígado. Los centros melanomacrófagos están presentes en hígado, riñón y bazo. El número de estos centros aumenta con las enfermedades y con el estrés.

El timo, en los peces, es el órgano linfoide central. Es un órgano par; especie de placa ovoide de tejido linfoide localizada subcutáneamente en la comisura dorsal del opérculo. Surge de primordios asociados al epitelio de los sacos faríngeos. Histológicamente el timo es un agregado de linfocitos pequeños con una cápsula fibrosa y finas celdas de sostén argirófilas.

Ocasionalmente se observan cordones epiteliales y raras veces nidos focales epiteliales (Corpúsculos de Hassl).

La mayoría de los peces poseen un bazo más bien pequeño y con un rango de color que va desde el rojo oscuro al negro rojizo. La superficie del bazo está cubierta por una membrana serosa compuesta principalmente de tejido conectivo. Una parte de esta cápsula se extiende hacia el interior formando las trabéculas. El bazo está compuesto por tejido conectivo y capilar y por eritrocitos, monocitos, linfocitos y macrófagos. En el bazo de los osteictios no existe una clara distinción entre la pulpa esplénica roja y la blanca. Actúa como órgano hematopoyético y presenta melanomacrófagos y gránulos de hemosiderina, que se

producen a causa de la degradación de los eritrocitos. (foto 5).

Los peces tienen la habilidad de producir inmunoglobulinas específicas (sólo Ig M) y tienen reacciones de hipersensibilidad retardada e inmediata.

Producen neutralizantes víricos, aglutinaciones y precipitación de anticuerpos. Están presentes los linfocitos B y T.

Sistema Cardiovascular

El corazón se compone de dos cámaras: un ventrículo y un atrio. Algunos autores han descrito el seno venoso como la tercera cámara y el bulbo arterioso como la cuarta. (foto 6)

La sangre sale del corazón por la aorta ventral y las arterias branquiales aferentes, que conducen la sangre a las branquias para su oxigenación.

Las arterias branquiales eferentes confluyen en posición dorsal a la faringe, formando la aorta dorsal, la cual aporta sangre oxigenada al resto del cuerpo.

La primera arteria branquial eferente irriga parcialmente la pseudo-branquia, y desde allí envía sangre a los ojos y al cráneo. También en esta zona, ramas arteriales ventrales a la faringe irrigan el hioides y las coronarias.

Sistema Urinario

El riñón y su excreción:

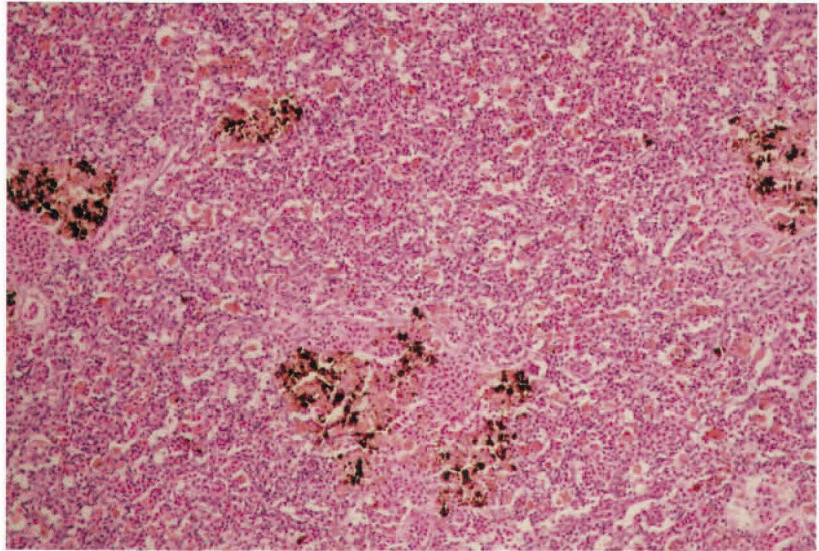
El riñón de los peces se forma a partir del pronefros y del mesonefros.

En los teleosteos es un órgano mixto, que tiene en su composición elementos hematopoyéticos, retículo-endoteliales, endocrinos y excretorios.

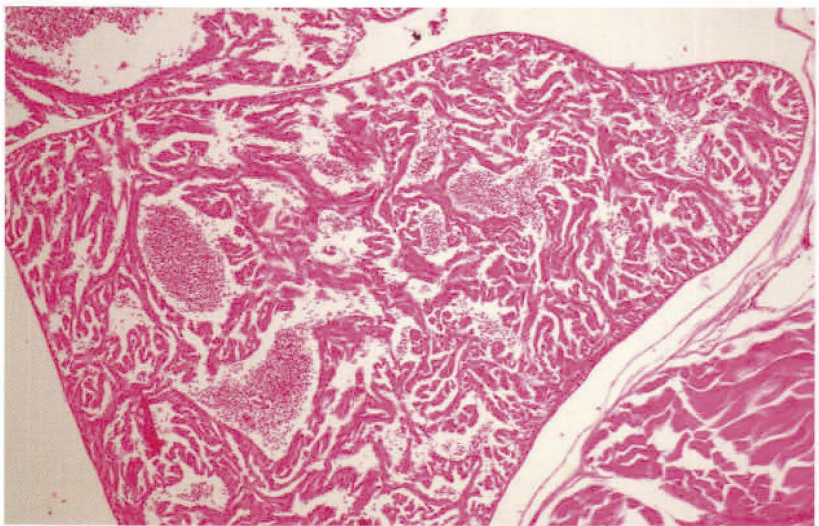
Situado en posición retroperitoneal, hacia arriba y adosado a la región ventral de la columna vertebral, suele ser de color claro, marrón oscuro o negro y se extiende a lo largo de la cavidad del cuerpo.

Se divide en riñón anterior o principal, compuesto fundamentalmente por elementos hematopoyéticos, y en riñón posterior o excretor.

El riñón, aunque embriológicamente surge como una estructura par, su forma adulta varía según las

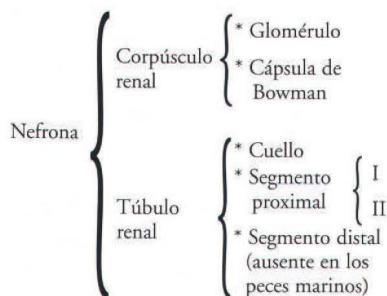


▲ Foto 5. Bazo con gránulos de hemosiderina y melanomacrófagos.



▲ Foto 6. Corazón (aurícula y ventrículo inferior).

especies, pudiendo pasar de constituir dos órganos separados, paralelos, hasta formar un riñón completamente fusionado, como en salmónidos, pasando por distintos grados de fusión según las especies.



Glomérulo:

Está constituido por una cápsula, un epitelio plano simple interno y otro externo. Los capilares glomerulares están cubiertos por podocitos, que son las células del epitelio interno.

En los teleosteos detectamos células yuxtglomerulares en la pared de las arteriolas aferentes, que secretan la hormona Renina.

Algunos peces marinos y de agua dulce son anómalos en cuanto que no poseen glomérulos en la nefrona.

Túbulos:

a) Cuello: epitelio simple plano. Microvellosidades largas.

b) Segmento proximal: I y II.

I. Células epiteliales cuboides con cilios y microvellosidades en la luz tubular. Borde en cepillo. Poseen mitocondrias y gránulos secretores en el citoplasma.

II. Abundantes mitocondrias en el citoplasma. El diámetro tubular y la luz son de proporciones similares a aquellos del I.

c) El segmento intermedio parece una especialización del segmento II.

d) Segmento distal: no se reconoce el borde en cepillo. Estas células no tienen microvellosidades y son más acidófilas.

Tejido hematopoyético renal:

Forma una matriz de sostén para las nefronas del riñón posterior, pero el riñón anterior o cefálico es casi exclusivamente hematopoyético. Encontramos blastocitos y eritrocitos maduros, también se observan imágenes de mitosis que indican el proceso de formación de la sangre. Las células blásticas están situadas dentro de un estroma de tejido retículoendotelial similar al de la médula ósea de los mamíferos. Las células endoteliales revisiten numerosos senos a través de los cuales pasa la sangre de la vena porta renal, para filtración de las células envejecidas y aporte de las nuevas.

Los corpúsculos de Stannius y el tejido interrenal (adrenal) están incluidos dentro del tejido hematopoyético. Otra estructura celular que puede observarse en este tejido son los centros melanomacrofágicos. El grado de mielinización varía con la edad, pero a todas las edades el pigmento presente es marrón oscuro o negro y tiene las propiedades químicas y bioquímicas de la melanina, aunque no esté necesariamente depositado en los característicos melanosomas de la melanina tegumentaria.

Los uréteres:

Conducen la orina desde los conductos colectores a la papila urinaria. Están formados por tres capas; la más interna, de células epiteliales columnares; la media, de te-

jido conectivo (lámina propia) y fibras circulares de músculo liso; y la externa, de tejido conectivo y túnica adventicia. Pueden fusionarse a cualquier nivel y dilatarse después de esta fusión para así formar la vejiga. Los conductos urinarios desembocan en la parte externa y posterior al ano.

Vejiga:

Posee tres capas:

a. Interna: una o dos capas de células epiteliales.

b. Media: tejido conectivo y fibras musculares lisas.

c. Externa: tejido conectivo.

La unidad branquio-renal y el equilibrio hidromineral:

El equilibrio permanente de la entrada o salida pasiva de agua y de sales entre el medio ambiente y el medio interno del pez está asegurado por la branquia y el riñón, cuyo funcionamiento es complementario y por tanto difícil de separar en la práctica.

Pueden darse dos situaciones:

a) En agua dulce

El medio interno del pez está hiperconcentrado con respecto al agua, la cual penetra en las branquias al mismo tiempo que las sales minerales tienden a difundirse al exterior. La dilución del medio interno que resulta de esto, se compensa por la emisión de bastante orina diluida, mientras que las sales perdidas son reemplazadas por el transporte activo de cloruros, que efectúan las células situadas en la base de las laminillas branquiales.

b) En agua salada

El pez se deshidrata por los efectos conjuntos de la pérdida de agua por las branquias y la difusión de sales en sentido inverso. El equilibrio se establece por la ingestión y la absorción intestinal de agua salada, así como por el transporte activo branquial de sales hacia el exterior. El pez ingiere una cantidad de agua diez veces superior a la cantidad de orina que excreta por hora.

Esta orina es isotónica con respecto al medio interno del pez y contiene iones de magnesio y sulfato. La mayor parte de estos últimos se eliminan directamente por el intestino. Los iones de sodio y cloro son eliminados por vía branquial.

La regulación del equilibrio hidromineral está bajo control endocrino. Las principales hormonas que intervienen son el cortisol, la prolactina y la adrenalina.

Del mismo modo están implicados en esta regulación la hormona tiroidea, la de los corpúsculos de Stannius (calcitonina), la de la Urófisis, así como la de los péptidos neurohipofisarios.

Órganos sensitivos especiales

Sistema lineal lateral

El componente principal es el par de *canales lineales laterales*. El canal es un surco en el tronco de los peces, a cada lado, con un soporte óseo y una cubierta tegumentaria, el cual está perforado por poros secuenciales a lo largo de su longitud. Los *mecanorreceptores* están localizados basalmente al canal, alternando en posición con los poros.

Estos mecanorreceptores son estimulados por la transferencia de movimiento desde el medio externo al interno del agua en el interior del canal, el cual desplaza mecánicamente a los receptores de sus posiciones.

Los mecanorreceptores están constituidos por células receptoras piriformes, las cuales poseen un paquete de estructuras similares a pelos que se extienden por encima a modo de cúpula gelatinosa.

Están inervados por una rama principal del nervio vago (X par craneal).

Durante la natación el pez percibe e identifica la dirección de las ondas de presión producidas por los movimientos en el seno del agua. Como la línea lateral también capta el eco de sus propios movimientos, ayuda al pez a determinar la posición de objetos estacionarios.

Pequeños cambios en las ondas de presión inciden en los poros mucosos abiertos de la línea lateral, que transmite la señal a las células sensoriales y después al sistema nervioso central.

Necropsia y toma de muestras

Los peces, al igual que otros vertebrados, poseen un sistema nervioso muy complejo y cuando se les manipula pueden sufrir estrés. Ante determinados métodos de diagnóstico los peces deben ser anestesiados antes de su manipulación.

Los peces que van a ser estudiados en Anatomía Patológica se incluyen en formol salino al 10% durante, al menos, 20-24 h, después de haber sido eutanasiados.

Entre los anestésicos que pueden ser usados como eutanasiantes se incluyen los barbitúricos, la benzocafina y el sulfato tricano metano. Un método condicionalmente aceptado es la decapitación. Otros métodos comunes son el dióxido de carbono (cuatro tabletas de Alka-Seltzer por 500 ml de agua), electrocución e hipotermia.

El mejor método de eutanasia podría ser anestesiarse al animal hasta un plano profundo de anestesia, grado III o grado IV, y entonces separar la médula espinal justo por detrás del cerebro. El método más común y práctico para anestesiarse a los peces es colocar el agente anestésico en el agua. El pez puede alcanzar cuatro estados de anestesia antes de morir.

Estado I. Inducción y sedación ligera:

El pez atraviesa una fase de excitación con natación errática seguida de una reducción de la actividad. La frecuencia respiratoria se incrementa y hay una disminución de la respuesta a la estimulación táctil.

Estado II. Sedación:

Los peces nadan con lentitud, su frecuencia respiratoria ha disminuido y pierden el equilibrio.

Estado III. Anestesia:

Los peces experimentan una pérdida completa del equilibrio y son incapaces de nadar. El movimiento branquial (respiración) se vuelve muy lento. El animal no responde a los estímulos externos.

Estado IV. Anestesia profunda:

El pez ha sufrido una pérdida total del movimiento branquial y el opérculo aparece distendido. Entra en parada cardiorrespiratoria.

Recogida de muestras para cultivos bacterianos y fúngicos

Estas muestras deben tomarse de peces que llegaron vivos al examen o que murieron recientemente, en las últimas 6 horas.

Lo ideal es que el pez esté vivo cuando se le toman las muestras de las lesiones cutáneas. El área de cultivo no debe ser manipulada previamente. Deben evitarse las grandes superficies ulceradas y cultivarse precisamente aquellas que son de menor tamaño. El bastoncillo estéril debe frotarse en la lesión.

Al igual que las lesiones cutáneas, las branquias de peces vivos constituyen el mejor material para cultivar. Las branquias se cultivan frotando abundantemente el hisopo estéril a través de los arcos branquiales. El hisopo puede contener abundante moco en su extremo. Si las branquias y las lesiones cutáneas han estado expuestas al medio marino, puede esperarse un cultivo positivo a una población mixta de bacterias.

Si se obtiene un cultivo positivo a una población bacteriana potencialmente patológica puede considerarse que esa es la causa de la enfermedad.

El riñón es uno de los órganos internos que mejores resultados da en los cultivos. Hay dos métodos distintos de cultivo para el riñón. El primer método consiste en cortar la espina dorsal, esterilizar la zona abierta mediante calor, cortar las vértebras utilizando unas tijeras estériles o un escalpelo (igualmente estéril) y encajar a presión los peces acercando la cola y la cabeza.

Esto expone el riñón para el cultivo.

El segundo método puede favorecer una posible contaminación de los órganos internos. Entonces sumergimos el pez en alcohol de 70°, abrimos la cavidad abdominal, asépticamente, y exponemos todos los órganos internos. Esterilizamos la zona con calor, cortamos el órgano utilizando un escalpelo estéril y realizamos el cultivo.

En los casos en los que se sospeche septicemia se utiliza un nuevo método de cultivo. Se trata de examinar la sangre del corazón recogiendo una muestra de sangre del atrium, la cual es más productiva ya que contiene células fagocíticas que limpian la sangre de bacterias.

Procedimientos de biopsias

Tanto para las biopsias como para los cultivos bacterianos no se necesita sacrificar al animal. Debemos anestesiarse al pez antes de ejecutar el examen clínico y las biopsias. Las biopsias normalmente se recogen de lesiones cutáneas, aletas y branquias.

Las biopsias de piel se suelen realizar para detectar ectoparásitos. Deben evitarse las grandes úlceras ya que las lesiones pequeñas suelen dar mejores resultados. Antes de tomar muestras para biopsias deben realizarse cultivos para descartar la presencia de bacterias.

El método consiste en pasar un cristal (porta) sobre el área lesionada que nos interese. Una presión suave sobre el cristal es suficiente para remover la epidermis y algo de mucus. En una de las preparaciones se coloca un poco de agua sobre la muestra obtenida y se cubre el cristal, con un cubre-objetos, para su posterior examen. La otra se puede secar al aire o también podemos fijarla en alcohol. Se tiñen con *azul de metileno* o con *Diff-Quick*.

La biopsia de las aletas se logra separando la aleta y cortando un pedazo en forma de cuña triangular entre los radios de la aleta.

Las biopsias de las branquias se realizan cortando algunas de las

extremidades de las laminillas primarias con las hojas de las tijeras. Después se colocan las extremidades laminares en el cristal con una gota de agua, se pasa el cubre-objetos resbalándolo por encima y ya están listas para ser examinadas.

Las biopsias de las aletas y branquias no deben causar un daño indebido a los peces.

Procedimiento de las necropsias

Lo ideal es que el pez se remita mientras aún vive para realizar un posterior estudio postmortem. Esto permite a los patólogos examinar al pez antes de la eutanasia y notar algunos signos clínicos de importancia. Desafortunadamente algunas situaciones no permiten a los patólogos examinar al pez mientras vive.

Es importante que los peces no lleven muertos más de seis horas. Los peces encontrados muertos, flotando en los tanques, tienen muy pocas posibilidades de ser unos buenos candidatos para la necropsia debido a los fenómenos de autólisis.

Los peces muertos deben ser envueltos en papel o gasa y ser refrigerados. *No deben ser congelados.*

Antes de realizar la necropsia asegúrese que todas las herramientas, hisopos estériles, portaobjetos de cristal para la impresión de las muestras, alcohol de 70% y formol al 10% están disponibles.

Al realizar la necropsia debemos utilizar siempre un acercamiento sistemático.

Debemos evaluar la superficie externa y observar las condiciones generales del cuerpo, identificar y observar las lesiones de la piel, las aletas, los ojos, la cavidad oral y el

ano y tomar muestras de las lesiones deseadas.

Una vez realizado el examen externo se coloca al animal en posición lateral en una superficie adecuada.

Se retiran los ojos y el opérculo con la pseudobranquia y se depositan en formol. Retiramos el segundo y el tercer arco branquial con cuidado para no romper las laminillas primarias. Tomamos algunas laminillas primarias de los arcos branquiales y las depositamos en unos portales de cristal para su examen parasitario. Las laminillas restantes se fijarán en formol.

De forma aséptica procedemos a abrir la cavidad abdominal. Cortamos a través del arco (cinturón) pectoral hasta la espina y después seguimos toda la cavidad abdominal hasta el ano, extendiendo el corte a lo largo de la línea media ventral, desde las branquias hasta el ano. Retiramos la pared muscular.

Retiramos los órganos (corazón, hígado, intestinos, bazo, gónadas y vejiga natatoria) para su posterior examen. Cuando la vejiga natatoria se somete a un estudio histopatológico, hay que asegurarse que el gas rojizo que se forma en dicho órgano está presente. En los peces en los que existe riñón anterior y posterior se tomarán muestras de ambos riñones y en los peces que poseen el riñón fusionado debemos asegurarnos de que tomamos muestras de ambas partes del riñón (anterior y posterior).

Cogemos muestras del sistema nervioso central cortando el cráneo por encima de los ojos y levantando el hueso hacia atrás. Tomamos muestras

de todas las lesiones cutáneas para histopatología asegurándonos que con los márgenes de las lesiones se remiten muestras de tejido normal. Hacemos varios cortes en el músculo esquelético buscando quistes parasitarios. Finalmente abrimos el estómago y el intestino y examinamos el contenido alimenticio.

Si se desea un examen toxicológico debemos remitir muestras de branquias, riñón, hígado, músculo esquelético y grasa. Las muestras deben ser inmediatamente congeladas y preservadas a menos setenta grados centígrados. El análisis de los tejidos debe realizarse tan pronto como sea posible.

Bibliografía

- 1.- Paul R. Bowser, PhD (1999). *Diseases of fish*, Aquatic Animal Health Program, Department of Microbiology and Immunology, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca.
- 2.- Ferguson HW (1989). *Systemic Pathology of Fish*, Iowa State University Press, Iowa.
- 3.- David B. Groman (1982). *Histology of the Stripped bass*, American Fisheries Society.
- 4.- P. de Kinkelin, Ch. Michel, P. Ghittino (1985). *Tratado de las enfermedades de los peces*, Editorial Acribia S.A.
- 5.- Robert B. Moeller Jr., DVM (2001). *Diseases of fish*, California Animal Health and Food Safety Laboratory System, University of California.
- 6.- Ronald J. Roberts (1989). *Fish Pathology*, Baillière Tindall.
- 7.- Dieter Untergasser (1989). *Handbook of Diseases*, English-language market by Dr. Herber R. Axelrod.