

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

**Diagnóstico y determinación de lesiones branquiales por *Trichodina* en
Ambystoma mexicanum del CIBAC**

Presentadora de servicio social:

Nancy Santiago Nopala

Matrícula: 2172035542

Asesora interna: Dra. Claudia Irais Muñoz García

No económico: 36943

Asesor interno: Dr. Osvaldo López Díaz

No económico: 36655

Lugar de realización:

Centro de investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca, Laboratorio de Parasitología Veterinaria y Laboratorio de Histopatología Veterinaria, Edif E, planta baja, UAM-Xochimilco.

Índice

- 1. Introducción**
- 2. Planteamiento del problema**
- 3. Justificación**
- 4. Objetivo general**
 - 4.1. Objetivos específicos**
- 5. Antecedentes**
- 6. Materiales y métodos**
- 7. Poblaciones de estudio**
- 8. Metas alcanzadas**
- 9. Resultados y discusión**
 - 9.1. Población de ajolotes vivos de CIBAC**
 - 9.2. Población de ajolotes muertos conservados en formol**
 - 9.3. Discusión**
- 10. Referencias bibliográficas**

Resumen

En la actualidad el ajolote mexicano se encuentra en peligro de extinción debido a factores que afectan su hábitat, así como enfermedades causadas por múltiples microorganismos, entre ellos, quizá se encuentra el protozooario *Trichodina*. El objetivo general del presente fue estandarizar algunas técnicas de diagnóstico y cuantificación para *Trichodina* en ejemplares de ajolote mexicano (*Ambystoma mexicanum*) vivos y muertos, estos últimos previamente fijados en formol, e identificar si existe alguna lesión sobre las branquias. El presente trabajo se dividió en dos grupos de estudio, el primero, ajolotes vivos bajo cuidado humano profesional y el segundo perteneciente a un banco de ajolotes muertos conservados en formol 10%. Para los primeros, se realizó la búsqueda y conteo de *Trichodina* en fresco, mediante el análisis de agua con isoflurano en la que fueron anestesiados e improntas de branquias, y para los segundos se analizó el formol de los ajolotes muertos en los que encontraban fijados. Se obtuvieron 118 muestras, siendo 81 hembras, 27 machos y 10 cuyo sexo no pudo ser determinado. En el 64% se encontró por lo menos una *Trichodina*. De las improntas, se obtuvieron 114 muestras, siendo un 17% positivos. Además, se analizó la positividad por mes y estación del año, observándose junio e invierno una mayor prevalencia de *Trichodina*. Para el caso de los ajolotes muertos, se obtuvo una prevalencia de 19%. Finalmente se analizó la concordancia entre las dos técnicas diagnósticas realizadas en los animales vivos, donde se concluyó que no existe concordancia entre la observación en fresco y la citología.

Diagnóstico y determinación de lesiones branquiales por *Trichodina* en *Ambystoma mexicanum* del CIBAC

1. Introducción

Originario del Valle de México el ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*) aún se encuentra en la zona lacustre de dicha demarcación. Es un anfibio acuático perteneciente al orden de los urodelos, lo que le da la peculiaridad de conservar su cola en su etapa adulta, lo anterior porque es una especie neoténica, es decir, que conserva sus características larvarias, pudiendo reproducirse en ese estado. Otras peculiaridades son ausencia de párpados, un sistema de excreción amoniotélico y un sistema óseo constituido preponderantemente por cartílago (Molina, 2010; Semarnat, 2018a; Farkas y Monaghan, 2015). En la actualidad el ajolote mexicano se encuentra en peligro de extinción debido a factores como introducción de especies exóticas a su hábitat, asentamientos humanos, extracción ilegal del medio, así como degradación de su hábitat (Semarnat, 2018a; Semarnat, 2018b; Tobón *et al.* 2021).

Además de estos factores, existen diversas enfermedades causadas por múltiples microorganismos que pueden llegar a afectar su salud y ocasionar incluso su muerte, pudiendo llevarlo a la extinción (Romero, 2021). Por lo tanto, la identificación de estos microorganismos es de gran interés, ya que de esta manera podemos evaluar la respuesta de esta especie a las diferentes enfermedades, así como prevenirlas, contribuyendo así a su conservación.

Uno de estos microorganismos es *Trichodina*, protozooario perteneciente a la familia Trichodinidae, el cual está bien documentado en piscicultura. Estos se encuentran generalmente como organismo simbiote, sin embargo, al menos en las producciones piscícolas, los altos niveles de este organismo pueden provocar problemas en piel, afectación de las aletas y branquias o incluso altas mortalidades, sobre todo si las condiciones donde se encuentran los peces contribuyen a una alta infestación (Oliveira *et al.*, 2018). El efecto de este protozooario en el *A. mexicanum* es desconocido, sin embargo, existe un registro sobre su presencia en la especie bajo cuidado humano profesional (Baker *et al.*, 2019), por lo que su estudio cobra relevancia.

2. Planteamiento del problema

En piscicultura, *Trichodina* puede llegar a convertirse en un parásito causante de un gran número de muertes, ocasionando así grandes pérdidas económicas. Debido a esto, es que existen numerosos estudios sobre este protozooario en peces; no obstante, en el caso del ajolote mexicano no hay información más allá de un único registro sobre su presencia en ejemplares mantenidos bajo cuidado humano profesional. Es así como la presencia de este protozooario podría ser una amenaza para la especie, sobre todo cuando se encuentra bajo cuidado humano, contribuyendo así a su extinción o dificultando los programas de reproducción.

3. Justificación

Derivado del único registro de *Trichodina* en ajolote mexicano ocurrió en condiciones bajo cuidado humano, este estudio cobra relevancia, porque generará información que permitirá conocer las técnicas para su diagnóstico y cuantificación, en ejemplares vivos y muertos (previamente fijados en formol), y conocer su efecto a nivel de branquias. En peces, *Trichodina* es un protozooario simbiote, sin embargo, sus concentraciones pueden aumentar llegando a convertirse en patógeno debido al estrés, la mala alimentación, el hacinamiento o la mala calidad del agua, causando lesiones en la piel o incluso la muerte del animal; lo que también podría suceder en el ajolote de Xochimilco cuando se encuentra en condiciones bajo cuidado humano.

4. Objetivo general

Estandarizar algunas técnicas de diagnóstico y cuantificación para *Trichodina* en ejemplares de ajolote mexicano (*Ambystoma mexicanum*) vivos y muertos, previamente fijados en formol, e identificar si existe alguna lesión sobre las branquias.

4.1 Objetivos específicos

Diagnosticar y cuantificar *Trichodina* a través de improntas de branquias en animales vivos.

Buscar y contar *Trichodina* en el agua utilizada para inducción anestésica con Isoflurano.

Determinar y cuantificar *Trichodina* en ejemplares de ajolote muertos por causas naturales que se encuentran fijados en formol al 10%.

Diagnosticar si existe o no lesiones histológicas ocasionadas por *Trichodina* en las branquias de ajolote.

5. Antecedentes

La familia Ambystomatidae, está conformada por un grupo de anfibios dentro de los cuales se encuentra el género *Ambystoma*, formado por 32 especies, las cuales se encuentran desde el sur de México hasta el sur de Alaska (Farkas y Monaghan, 2015; Cruz *et al.*, 2020;

Romero, 2021). En México, habitan 18 especies de este género, distribuidas en todo el altiplano, 17 de las cuales son endémicas. Al ajolote mexicano se le podía encontrar en las regiones lacustres de Texcoco, Xochimilco, Chalco y sus conexiones con Xaltocan y Zumpango, sin embargo, su hábitat ha decrecido, encontrándose únicamente en los canales y humedales de Xochimilco. Aunque originariamente ha sido su hábitat a lo largo de varios años, estos canales ya no son alimentados naturalmente, por lo que son abastecidos por la planta de tratamiento del Cerro de la Estrella, poniendo en riesgo la población que aún se encuentra en forma silvestre (Farkas y Monaghan, 2015; Semarnat, 2018b; Moreno y Aguilar, 2019; Ávila *et al.*, 2021).

El ajolote mexicano, es una especie neoténica, es decir, no sufre metamorfosis, por lo tanto, se puede reproducir en forma de larva adulta (Farkas y Monaghan, 2015), esto es debido a que la hipófisis no secreta la hormona tirotrópica, esencial para que los caracteres larvarios desaparezcan (Ávila *et al.*, 2021). Alcanza la madurez, en promedio, al año de edad (Mena y Servin, 2014). Como adulto, puede llegar a medir hasta 30cm de longitud, siendo el macho más largo que la hembra, las hembras son más robustas que los machos, sobre todo en la madurez, esto debido a la producción de huevos, el incremento de tamaño de los ovarios y los oviductos. La hembra puede poner de cien hasta seiscientos huevos en una puesta (aunque varía con la edad), el tiempo de incubación es aproximadamente de 12-18 días, pero puede variar dependiendo de la temperatura ambiental (Gresens, 2004; Molina, 2010; Mena y Servin, 2014; Farkas y Monaghan, 2015). La reproducción se da cuando el macho realiza el cortejo a la hembra, el macho secreta a través de la cloaca los espermatozoides, que posteriormente son absorbidos por la cloaca de la hembra, pudiendo finalmente llevar a cabo la fertilización (Semarnat, 2018b).

Este ajolote, es uno de los pocos que pasan toda su vida en el agua, característica que le permite conservar uno de sus rasgos más llamativos, sus branquias externas. Poseen 3 pares, las cuales se extienden desde el cuello y se originan en la cabeza, cada una de ellas posee filamentos que le permiten realizar el intercambio de gases, la segunda manera de respirar es a través de la piel, atravesando por aquí oxígeno mediante ósmosis; finalmente, al igual que los animales terrestres, pueden llevar a cabo la respiración pulmonar, saliendo a flote algunas veces, para tomar aire de forma más rápida (Gresens, 2004; Romero, 2021).

Otra característica importante es la regeneración, ya que se ha visto, que pueden regenerar sus branquias, patas, cola, incluso corazón y cerebro (Romero, 2021), esto lo pueden hacer en semanas, sin embargo, depende directamente de la edad (Jiménez *et al.*, 2020).

Desafortunadamente, los ajolotes no están exentos de enfermarse, por ejemplo, Takami y Une (2017) documentaron las enfermedades que atacaron a ajolotes mexicanos mantenidos como mascotas, en un periodo de seis años, encontrándose enfermedades de la piel, neurológicas, oftálmicas, gastrointestinales, urogenitales y musculoesqueléticas. Además de este estudio, Baker y colaboradores (2019), estudiaron a una colonia de ajolotes que presentaban problemas cutáneos, en donde reportaron la presencia de diferentes protozoarios ectoparásitos, entre ellos *Trichodina*.

Trichodina es un protozoario perteneciente a la familia Trichodinidae, los cuales se comportan generalmente como organismos simbioses, aunque en ciertos vertebrados, pueden comportarse como parásitos o comensales (Oliveira *et al.*, 2018). Afecta animales acuáticos como anfibios, moluscos, peces silvestres, ornamentales y de gran importancia económica, como la tilapia (*Oreochromis niloticus*) y el tambaquí (*Colossoma macropomum*). Pueden causar epizootias y por consiguiente grandes pérdidas económicas. En peces las podemos encontrar principalmente sobre piel, aletas y branquias, aunque también se han encontrado en ojos, boca, tracto gastrointestinal, tracto urinario y gónadas (Oliveira *et al.*, 2018; Assane *et al.*, 2022). La infestación por *Trichodina* está relacionada con la mala calidad de agua, así como patologías concomitantes e inmunosupresión del hospedero (Assane *et al.*, 2022).

Morfológicamente las trichodinas parecen platillos, los cuales poseen un disco adhesivo basal muy desarrollado, una zona dorsal de cilios dispuestos en espiral y un anillo esquelético dorsoventral con dentículos quitinosos dispuestos radialmente. Los cilios les proporcionan motilidad en ambientes de vida libre y sobre los individuos, además de ayudarlos a su alimentación. Estos pueden medir desde 20-100 μm , clasificándose así en pequeños, medianos y grandes (Bunkley y Williams, 1995; Sierra *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2018). Se reproducen de manera asexual y sexual, característica que les ayuda a infestar de forma rápida al hospedador, sobre todo en casos de hacinamiento y malas condiciones ambientales (Bunkley y Williams, 1995).

Su transmisión es horizontal, aunque también se le puede encontrar en el agua o bien, a través de fómites, como redes (Assane *et al.*, 2022). Los signos más comunes son un nado con movimientos repentinos (agitación), se vuelven letárgicos, mayor producción de moco, lo que provoca que la piel se vea blanco-azulada, además pueden aparecer úlceras en piel y aletas. En caso de afectar branquias, pueden presentar dificultad respiratoria, provocando que naden hacia y/o cerca de la superficie, y anorexia, sin embargo, los signos clínicos antes mencionados no son específicos de la infestación por este parásito (Jiménez *et al.*, 1988; Bunkley y Williams, 1995; Sierra *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2017). Es importante mencionar

que cuanto más joven sea el hospedador o se encuentre previamente debilitado, la mortalidad es mayor (Assane *et al.*, 2022).

Las principales alteraciones a nivel histopatológico reportadas en peces son hiperplasia de las células productoras de moco, hiperplasia epitelial con fusión lamelar e infiltrado inflamatorio mononuclear leve, así como eosinófilos, necrosis de células epiteliales, hemorragia intersticial y congestión (Sierra *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2017; Assane *et al.*, 2022). Su diagnóstico en peces se basa en el examen microscópico de raspados cutáneos o de la extirpación letal de muestras frescas de branquias. En el caso del ajolote mexicano, el método diagnóstico letal es indeseable, ya que esta especie se encuentra dentro de la NOM-059-2010 bajo la categoría de Peligro de Extinción (P) y de acuerdo con la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza está categorizado como en Peligro Crítico (Cr) (Semarnat, 2018b).

6. Materiales y métodos

El presente trabajo se dividió en dos grupos de estudio, en el primero se evaluó a los animales vivos mantenidos bajo cuidado humano profesional en el Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuemanco (CIBAC), el segundo grupo estuvo formado por los animales del mismo centro, pero que murieron por diversas causas naturales, los cuales están conservados en formol al 10% bufferado. Es así como, para el primer grupo de animales el estudio fue prospectivo, longitudinal y descriptivo; mientras que para el segundo grupo este fue retrospectivo, transversal y descriptivo.

La ubicación del sitio de trabajo donde se encontraban los ajolotes vivos y donde se tomaron las muestras, fue el CIBAC de la Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco, el cual se encuentra ubicado en el Antiguo Canal Cuemanco 3, Pista Olímpica Virgilio Uribe, Xochimilco, 16034 Ciudad de México, CDMX.

Las muestras obtenidas se procesaron en el laboratorio de Parasitología Veterinaria y el Laboratorio de Histopatología Veterinaria, ubicados en el edificio E de la Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco. En cuanto a las muestras de los ajolotes muertos, estas pertenecían a un banco perteneciente al Laboratorio de Histopatología Veterinaria, ubicados en el edificio E de la Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco y ahí mismo fueron procesadas.

7. Poblaciones de estudio

La población de ejemplares vivos estuvo conformada por 58 individuos adultos de ajolotes mexicanos (*Ambystoma mexicanum*), pertenecientes al CIBAC. Estos ejemplares estuvieron alojados individualmente en cajas plásticas con agua proveniente de la zona lacustre de Xochimilco. Cada uno de los ajolotes fue alimentado de una a tres veces por semana con *Tubifex tubifex*, el cual fue lavado previo a la alimentación.

En cuanto a la limpieza del agua de cada ajolote, esta se realizó de manera total todos los lunes y en caso de que se necesite algún otro día, se procede a hacer el cambio total del agua y lavado de caja. Para poder realizar este lavado, cada ajolote es trasladado a otra caja, con la ayuda de una red (única para cada individuo), las cajas son lavadas previamente con agua. Se procede a lavar cada caja con agua y ayuda de una fibra (única para cada ajolote) y finalmente se llena con agua proveniente de la zona lacustre de Xochimilco.

La población de ejemplares muertos estuvo conformada por 50 ajolotes mexicanos (*Ambystoma mexicanum*), los cuales estuvieron almacenados individualmente en frascos de vidrio y fijados con formol bufferado al 10%. Las fechas de muerte de estos individuos abarcan un periodo de 6 años (2015-2023).

7.1 Toma de muestras en ajolotes vivos y ajolotes conservados en formol.

Cada ejemplar de ajolote fue anestesiado sumergiéndolo en una solución de agua potable con isofluorano, a una concentración de 0.03 ml de isofluorano por cada gramo de peso del ajolote. Una vez anestesiado el ajolote se retiró del agua y esta última fue recolectada en frascos de vidrio que se refrigeraron (4°C) hasta su posterior procesamiento en el laboratorio. Los ajolotes se posicionaron de cubito lateral derecho e izquierdo, en cada lado se realizó una impronta de branquia frotando contra están firmemente con ayuda de un portaobjetos. Los portaobjetos se fijaron primero al aire y una vez secas se almacenaron en cajas hasta su procesamiento en el laboratorio.

Una vez en el laboratorio se procedió a sedimentar el agua recolectada durante 24 horas, para así, posteriormente, se recuperaron 10 ml; los cuales fueron centrifugados por 15 min a 2500rpm, de estas muestras se obtuvo el sedimento. Finalmente, en un portaobjetos se colocó una gota del mismo, se cubrió con un cubreobjetos, y se observó en el microscopio bajo los objetivos 10x y 40x. Este proceso se realizó con todas las muestras obtenidas. En los casos que se observó *Trichodina*, se cuantificaron contando el número de trichodinas en toda la preparación y el resultado se anotó en una bitácora.

Además, se realizó la tinción tipo Romanowsky de las improntas tomadas de todos los individuos. Cada una de ellas se montó con el medio Entellan Merck® y finalmente secas, se revisaron en el microscopio bajo los objetivos 10x y 40x.

Para el caso de los ajolotes muertos conservados en formol, se realizó la sedimentación de la solución de formol en que estuvieron conservados, durante 24 horas, y se siguieron los mismos pasos metodológicos mencionados en el agua de inducción anestésica con isoflurano.

8. Metas alcanzadas

Adquirí habilidades para el manejo anestésico de ejemplares de ajolote de Xochimilco.

Desarrolle destrezas para la búsqueda del protozooario *Trichodina* a través del microscopio.

Aprendí a realizar tinciones de citología mediante la impronta de branquias.

Obtuve destrezas para realizar la cuantificación de trichodinas.

Aprendí la habilidad sobre el mantenimiento y manejo de ajolotes.

Desarrolle la destreza sobre el uso del microscopio.

Aprendí la ubicación de las venas braquiales comúnmente utilizadas para toma de muestra de sangre en ajolotes.

9. Resultados y Discusión

9.1 Población de ajolotes vivos de CIBAC

De esta población se analizaron 118 muestras de agua con isoflurano, de las cuales 81 pertenecieron a hembras, 27 machos y 10 a individuos cuyo sexo no pudo ser determinado. El 64% de los ajolotes resultó positivo al menos a un ejemplar de *Trichodina* (figura 1), en el cuadro 1 se muestran los resultados detallados. Mientras que, para el caso de las improntas realizadas, de esta población se obtuvieron 114 muestras, de las cuales el 17% se encontró positiva al menos a un ejemplar de *Trichodina*, en el cuadro 2 se muestran los resultados detallados.

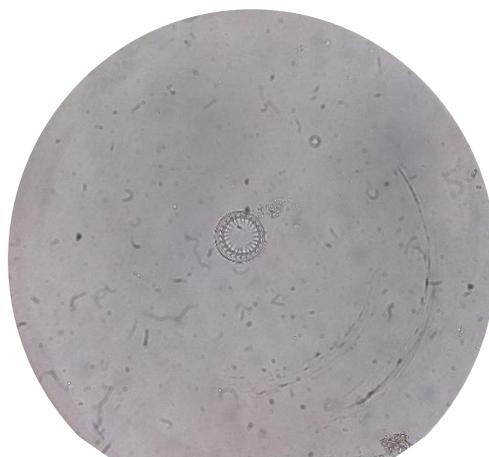


Figura 1. *Trichodina* observada en microscopio a un aumento de 40x

Cuadro 1. Ajolotes de Xochimilco positivos a *Trichodina* a través del análisis de agua con Isoflurano e improntas de branquias.

Sexo	n	Prevalencia en agua con isoflurano%	Intervalo de confianza en agua con isoflurano
Hembras	81	40	40.67
Machos	27	16	16.94
Indefinido	10	8	8.47
Total	118		

Cuadro 2. Ajolotes de Xochimilco positivos a *Trichodina* a través del análisis improntas de branquias.

Sexo	n	Prevalencia en improntas %	Intervalo de confianza de improntas
Hembras	78	13	13.5
Machos	26	4	4.38
Indefinido	10	0	0
Total	114		

El periodo de recolección de muestras se realizó de enero a septiembre de 2023, en la gráfica 1 y cuadro 3 se muestran los resultados de *Trichodina* en la población por mes y estación del año, respectivamente. Siendo junio, el mes con mayor número de ajolotes positivos, con un total de 21 individuos, y, por el contrario, agosto y septiembre fueron los meses con menor número de positivos (gráfica 1). En cuanto a las estaciones del año, se pudieron analizar muestras de las estaciones invierno, primavera y verano, de las cuales invierno fue la estación con mayor número de ajolotes positivos (cuadro 3).



Gráfica 1. Población de ajolotes de CIBAC positivos por mes

Cuadro 3. Resultados de detección de *Trichodina* por estación en ajolotes vivos de CIBAC.

Estación	n	Prevalencia %	Intervalo de confianza
Invierno	37	27	27.11
Primavera	34	20	20.33
Verano	47	18	18.64
Total	118		

9.2 Población de ajolotes muertos conservados en formol

Se procesó un total de 83 ajolotes conservados en formol, de los cuales 16 fueron positivos a *Trichodina* (Cuadro 4)

Cuadro 4. Ajolotes en formol 10%

Total ajolotes	Prevalencia %	Intervalo de confianza
83	19	19.27

Finalmente, se realizó un análisis de concordancia entre las dos técnicas diagnósticas utilizadas en el agua de inducción anestésica, donde se observó que no existe concordancia entre ambas técnicas (Cuadro 5)

Cuadro 5. Análisis de concordancia de dos técnicas diagnósticas para *Trichodina*.

	SI	NO
SI	15	61
NO	5	32
	0.0448	

9.3 Discusión

De la población conformada por 58 ajolotes, se obtuvieron 118 muestras del agua de inducción anestésica, con una prevalencia del 66%. Para este estudio es posible que *Trichodina* se comporte como comensal, ya que no se observaron signos clínicos de enfermedad descritos en la literatura; tales como los mencionados por Oliveira y colaboradores (2018) como: nado en la superficie del agua, lentitud, anorexia, oscurecimiento o alteración en la pigmentación por exceso de moco y descamación del epitelio. Sin embargo, Baker y colaboradores (2019) en sus estudios sobre el manejo de múltiples ectoparásitos en *Ambystoma mexicanum*, describen que antes de sus tratamientos solo 32% de la población, presentaron lesiones cutáneas y, además, hubo un ajolote sin parásitos que tenía branquias friables. Por otro lado, Assane y colaboradores (2022) mencionan que el parasitismo se relaciona con las condiciones inmunológicas del hospedador, sin embargo, aseguran que el comensalismo es algo común, el cual quizá sea el caso de esta población. Por lo tanto, es posible que las lesiones y consecuentes manifestaciones clínicas, están relacionadas con la carga parasitaria, patologías concomitantes, condiciones de manejo y estado de salud de los ajolotes. En el caso de la población estudiada, podemos decir que quizá *Trichodina* en esta población es un organismo comensal que ingiere los detritos orgánicos que se encuentran en el agua de los ajolotes.

De los meses evaluados, junio fue el que tuvo mayor número de ajolotes infestados, con 21 individuos, para el caso de las estaciones, el invierno resultó ser el de mayor prevalencia con un 27%. Oliveira y colaboradores, 2018, en su recopilación, especifican que temperaturas de 29°C estimulan el crecimiento de *Trichodina*, mientras que una temperatura de 18°C inhibe su crecimiento. Además, manifiestan que en invierno la infestación aumenta, esto debido a mayor biomasa bacteriana, alimento para estos parásitos, apoyando su multiplicación, también describen factores como, menor oxígeno disuelto, adición de fertilizantes, niveles altos de eutrofización, influyen en los niveles de parasitismo. En contraste, Zhang y colaboradores (año), en su estudio de correlación de la abundancia de trichodinas y algunos parámetros del agua, encontraron que no hay correlación significativa entre altas temperaturas y el número de estos parásitos. Aunque nuestros resultados coinciden con Oliveira y colaboradores (2018), siendo invierno la estación con mayor prevalencia, los ajolotes no manifestaron lesiones en piel o aumento en la cantidad de moco producida.

También podemos decir que, de las técnicas diagnósticas evaluadas, las improntas no fue la técnica más sensible, quizá porque el área anatómica evaluada fue reducida sumado a que es probable que sea necesario raspar profundamente y no solo frotar suavemente el portaobjetos contra la branquia con la finalidad de obtener una mayor cantidad de material. De hecho, la técnica que se describe en la literatura con mayor eficacia consiste en el raspado

y corte de piel, branquias y aletas para la búsqueda de este protozoario (Bunkley & Williams, 1995; Jiménez et al, 1988; Rodríguez-Vara et al., 2023; Alves et al., 2018). Sin embargo, dichas técnicas implican gran invasividad y letalidad para esta especie por lo que no son pertinentes de realizar, por lo que el método a través del análisis de isofluorano resulta una mejor opción.

Para el caso de los ajolotes conservados en formol al 10%, aunque la técnica diagnóstica fue igual a la de agua con isofluorano, la prevalencia fue considerablemente menor. Esto se debe quizá el formol destruye la célula de *Trichodina*, ya que esta es una sustancia comúnmente utilizada para eliminar ectoparásitos en peces (Oliveira et al., 2018). Sin embargo, es probable que el tiempo de conservación de los ejemplares también propició su ruptura, ya que los baños de peces a la concentración del 10% realizados en periodos de tiempo muy cortos (minutos) no se reporta buena eficacia, porque de acuerdo con Baker y colaboradores (2019) en su análisis de dos tratamientos con formol en diferentes concentraciones (primer tratamiento es inmersión en agua a una concentración de 0.025ml/L de formol al 37% y el segundo 0.05ml/L al 37), solo en la concentración más alta lograron una reducción significativa de la infestación.

Finalmente, el resultado del análisis de concordancia realizado entre dos técnicas diagnósticas (observación en fresco e impronta) fue, de 0.044, el cual nos indica que las técnicas analizadas no son concordantes entre sí. Landis y Kotch en 1977 describen que en resultados cercanos a 0, indican que la concordancia observada es similar al tirar una moneda al aire.

10. Referencias bibliográficas

Alves J, Santos A, Monteiro J, Rodrigues F, Alvarenga K, Targino J y Ocampos P. (2018). Surto de Infecção por *Piscinoodinium pillulare* e *Trichodina* spp en tambaquis (*Colossomau macropomu*), pirapitingas (*Piaractus brachypomus*) e tilapias (*Oreochromis niloticus*) no Distrito Federal. Acta Scientiae Veterinariae. 46: 1-5

Ávila V, González T & Vázquez M. (2021). El género *Ambystoma* en México: ¿Qué son los ajolotes? CIENCIA ergo-sum. 28(2):1-13

Assane I, Moreira L & Umeda S. (2022). Parasitoses causadas por protozoários ciliados. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia 101:23-30

Baker B., Meyer D., Llaniguez J., Rafique S., Cotroneo T., Hish G & Baker T. (2019).

Management of Multiple Protozoan Ectoparasites in a Research Colony of Axolotls (*Ambystoma mexicanum*). Journal of the American Association for Laboratory Animal Science 58(4):479-484

Bunkley L & Williams E. (1995). Parásitos de peces de valor recreativo en agua dulce de Puerto Rico. Departamento de Recursos Naturales y Ambientales de Puerto Rico y el Departamento de Ciencias Marinas, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez 190p.

Cruz I, Otero J & Sámano C. (2020). *Ambystoma mexicanum*, un extraordinario modelo animal para estudiar la capacidad regenerativa. Revista Fesahanccal. 6(2):13-19

Farkas J & Monaghan J. (2015). Housing and Maintenance of *Ambystoma mexicanum*, the Mexican Axolotl. Salamanders in Regeneration Research: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology. 1290:27-46.

Gresens J. (2004). An Introduction to the Mexican Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Lab Animal 33(9):41-47

Jiménez F, Garza H, Segovia F, Iruegas F, Adame J, Salinas N & Galaviz L. (1988). Parásitos y Enfermedades de la Tilapia. 2a edición. FONDEPESCA. San Nicolás de los Garza, N. L., México.

Landis JR, Koch GG. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 33: 159-174.

Mena H & Servin E. (2014). Manual básico para el cuidado en cautiverio del axolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*). Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México

Molina A. (2010). El ajolote de Xochimilco. Revista Ciencias 98: 54-59. Recuperado de <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=64415002006>

Moreno R & Aguilar R. (2019). El mítico monstruo del lago: la conservación del ajolote de Xochimilco. Revista Digital Universitaria. 20(1):1-15. <http://doi.org/10.22201/codeic.16076079e.2019>.

Oliveira P, Garcia F, Campos E, Yudi R & Tavares M. (2018). Trichodinidae in commercial fish in South America. Reviews in Fish Biology and Fisheries 28:33-56.

Rodríguez-Vara E, Prats F, Martínez M, Silveira R y Solórzano E. (2023). Caracterización de triconídeos como peligros biológicos durante el estadio de alevinaje de *Clarias gariepinus* cultivadas en Cuba. Aqua Technica 5(1):12-19. <https://zenodo.org/doi/10.5281/zenodo.7789995>

Romero L. (2021). Ajolotes, Especies Endémicas Mexicanas en Peligro de Extinción. Biología y Sociedad 7:10-19.

Sierra E, Espinosa de los Monteros A, Real F, Herráez P Castro P & Fernández A. (2006). Enfermedades parasitarias: protozoarios externos e internos y misceláneos. Revista Canaria de las Ciencias Veterinarias 3:21-29

Semarnat, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018a). Ajolote mexicano, criatura super dotada. Recuperado el 06 de febrero de 2023 de <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/ajolote-mexicano-criatura-super-dotada>

Semarnat, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018b). Programa de Acción para la Conservación de Especies *Ambystoma* spp, SEMARNAT/CONANP, México.

Takami Y & Une Y. (2017). A retrospective study of diseases in *Ambystoma mexicanum*: a report of 97 cases. Journal of Veterinary Medical Science 70(6):1068-1071.

Tobón N, Castolo G & Vásquez O. (2021). *Ambystoma mexicanum*, la importancia de esta especie en la medicina regenerativa y estrategias para su conservación. RD-ICUAP 7(21):1-16.

Zhang L, Li Y, Wei C, Deng P, Ding G, Li Q & Ai T. (2017). Correlation Analysis between Abundance of *Trichodina* spp. And Water Quality Parameters. Animal Science and Feeds. 18(7)1318-13221.