

Síndrome de edema en larvas de anfibios ibéricos: detección en *Lissotriton helveticus* y *Alytes algosivari*

Albert Martínez-Silvestre¹, Alberto Gosá², Antoni Arrizabalaga³, Alexis Ribas^{4,5},
Alberto Maceda-Veiga^{5,6}, Barbora Thumsová⁷ & Jaime Bosch⁸

¹ CRARC (Centro de Recuperación de Anfibios y Reptiles de Cataluña). Avinguda Maresme, 45. 08783 Masquefa. Barcelona. España. C.e.: crarc@amasquefa.com

² Sociedad de Ciencias Aranzadi. Cl. Zorroagaina, 11. 20014 Donostia-San Sebastián. España.

³ Museu de Ciències Naturals de Granollers. Cl. Paludàries, 102. 08402 Granollers. España.

⁴ Parasitology Section. Department of Biology, Healthcare and Environment, Faculty of Pharmacy and Food Science. University of Barcelona. 08028 Barcelona. España.

⁵ Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio). Universitat de Barcelona (UB). 08028 Barcelona. España.

⁶ Integrative Zoology Lab. Departament de Biologia Evolutiva, Ecologia i Ciències Ambientals. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona (UB). 08028 Barcelona. Spain.

⁷ AHE. Asociación Herpetológica Española. Cl. José Gutiérrez Abascal, 6. 28006 Madrid. España.

⁸ Biodiversity Research Institute. University of Oviedo-CSIC. Principality of Asturias. 33600 Mieres. España.

Fecha de aceptación: 28 de noviembre de 2022.

Key words: Anura, catalonian midwife toad, edema syndrome, palmate newt, Urodela.

El síndrome de edema es una enfermedad que afecta a innumerables especies de anfibios y tiene una alta prevalencia especialmente entre ejemplares mantenidos en cautividad, ya sean anuros (Vaughan *et al.*, 2006) como urodelos (Hadfield & Whitaker, 2005) o cecilias (Sykes *et al.*, 2006). Las causas del síndrome de edema varían desde la intoxicación, septicemia bacteriana y la infección por hongos o virus hasta los trastornos metabólicos y las deficiencias en la dieta o la reproducción.

En la península ibérica esta dolencia se ha descrito en pocas ocasiones en libertad, limitándose a ejemplares adultos de *Pelobates cultripes* del norte de Portugal (Ferreira & Rosa, 2017), *Lissotriton helveticus* del Pirineo (Gosá *et al.*, 2020), *Triturus marmoratus* de Galicia (Martínez-Silvestre *et al.*, 2020) y *Calotriton asper* del Pirineo (Martínez-Silvestre *et al.*, en prensa). En larvas y ejemplares jóvenes o metamórficos aún hay menos descripciones, siendo la presente la primera vez que se describe para ambos grupos (anuros y urodelos) y con un análisis histológico en uno de los ejemplares.

El 9 de junio de 2022 se capturó una larva premetamórfica de tritón palmeado *Lissotriton helveticus* que presentaba una gran hincha-

zón corporal (Figura 1a), en el trascurso de un muestreo realizado en charcas del valle de Aranguren (Navarra), con el objetivo de censar sus poblaciones de anfibios (Gosá, 2020). La charca se encuentra ubicada en coordenadas (datum WGS84): 617848 / 4738279, a una altitud de 533 msnm, y fue creada en 2015 junto con otros microhumedales en un proyecto de mejora del hábitat reproductor de los anfibios en los valles de Aranguren y Egüés. La charca está colonizada por vegetación acuática compuesta por especies tales como *Juncus* spp., *Iris pseudacorus*, *Chara* sp. y algas filamentosas. La larva fue capturada por manguero con salabre, cuando se encontraba sumergida. La zona afectada por la hinchazón era la cavidad celómica en su conjunto, no extendiéndose a las extremidades, cola ni cabeza-cuello. El ejemplar fue devuelto a su medio tras ser fotografiado y medido (longitud hocico-cloaca: 20,61 mm). Ninguna de las 194 larvas censadas en aquel muestreo en dicha charca presentó anomalía alguna, como tampoco lo hicieron las 230 contabilizadas en ella en un muestreo previo, realizado el 30 de mayo. En ninguno de los 25 humedales que vienen censándose desde 2017



Figura 1: Ejemplares salvajes premetamórficos de a) *Lissotriton helveticus* y b) *Alytes almogavarii* descritos en el texto.

en la zona se ha encontrado ningún ejemplar de cualquier especie de anfibio presente, ya sea en fase acuática o terrestre, afectado por un síndrome como el descrito. La otra especie de anfibio presente habitualmente en el humedal donde se realizó la observación es *Pelophylax perezi*, y en algunos años se reproduce en él *Bufo spinosus*.

El segundo caso corresponde a una larva metamórfica de sapo partero almogávar *Alytes almogavarii*, encontrado el 9 de mayo de 2022 en una charca de ambiente agrícola en Franqueses del Vallès (Barcelona) (UTM TM31N), coordenadas 441284 / 4609804, a una altitud de 190 msnm. Esta charca es una zona donde habitualmente se reproduce esta especie y no se encontró ningún otro ejemplar similar en la zona. La vegetación de la charca consiste en vegetación acuática compuesta por

especies tales como *Nymphaea* sp., *Potamogeton* sp., *Ceratophyllum* sp., *Vallisneria* sp. y *Myriophyllum* sp. En el momento de la localización, el ejemplar afectado era el único de un grupo de unas 30 larvas de *Alytes almogavarii* y 300 de *Epidalea calamita* que vivían en la misma balsa. La zona afectada por la hinchazón era la cavidad celómica en su conjunto, incluyendo la piel de extremidades y afectando menos al área cráneo-ventral (Figura 1b). El ejemplar se capturó para su remisión al CRARC, pero murió a las pocas horas de la captura. Se fijó en alcohol y se remitió igualmente para su estudio patológico.

Al animal se le realizó una necropsia, tomando muestras de hígado y piel para realización de qPCR y tejidos para histología, básicamente piel, músculo, hígado, riñón, pulmón

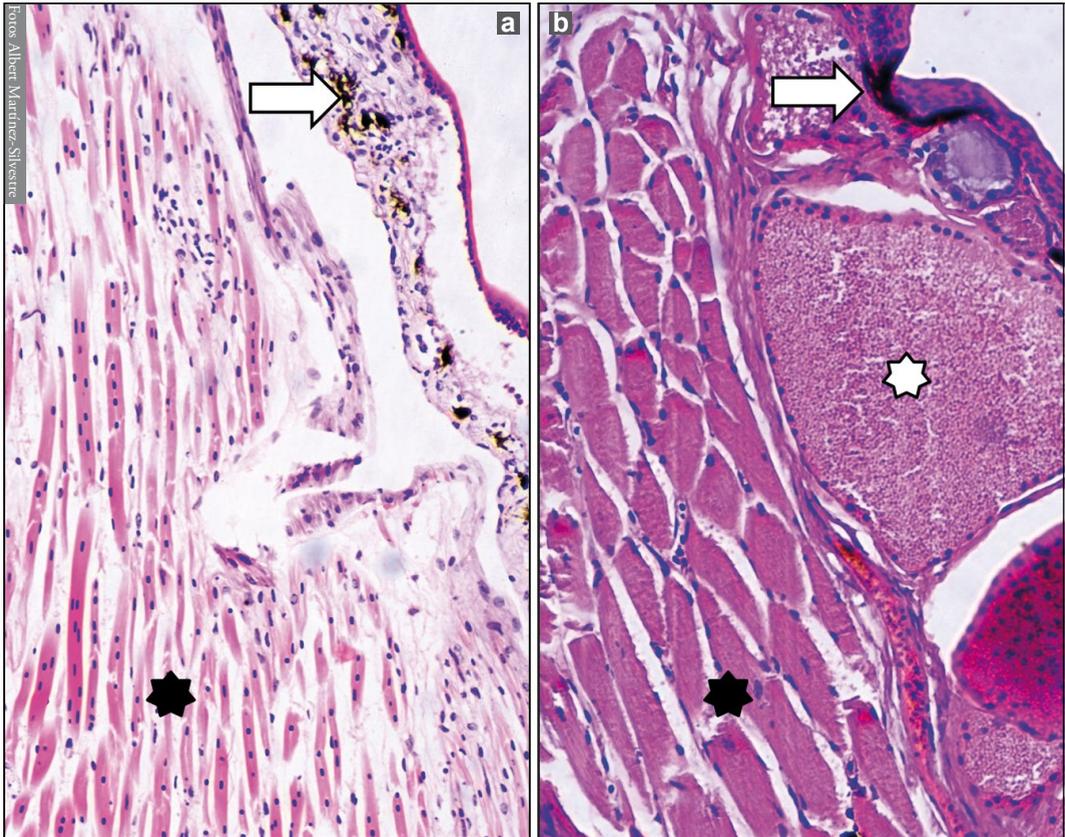


Figura 2: Imagen histológica comparativa entre a) el *Ahytes* premetamórfico afectado de edema y b) un *Ahytes* post-metamórfico normal. Se aprecian la mayor separación del tejido dérmico y menor desarrollo muscular (asterisco negro), la menor densidad de melanocitos (flecha blanca), así como ausencia de glándulas (asterisco blanco) en el sapo con edemas. Tinción hematoxilina/eosina (X 100).

e intestino. La qPCR se realizó para descartar la presencia de los hongos *Batrachochytrium dendrobatidis*, *Batrachochytrium salamandrivorans* y el virus *Ranavirus*. Los resultados de las qPCR fueron negativos.

Histológicamente, se identificó el edema en el músculo esquelético como una expansión del tejido intersticial por material amorfo a fibrilar, claro a pálido eosinofílico, que separaba y rodeaba las miofibrillas individuales. El tejido subcutáneo se expandía por el líquido subcutáneo presente separando los tejidos dérmicos por espacio libre. La dermis no tenía aún la capa propia de melanocitos y glándulas común en los ejemplares

adultos o postmetamórficos (Figura 2). Tanto en la piel como en el tejido subcutáneo, muscular o vísceras no se observaron infiltrados inflamatorios, cambios celulares asociados a neoplasia ni lesiones hepáticas o renales destacables.

En ambos casos destacamos el control de la flotación, por lo que su hinchazón estaría producida por fluidos líquidos, de modo que no se trataría de un enfisema (dato que descarta el enfisema subcutáneo, que provocaría anomalías o dificultad natatoria). También destacamos la transparencia de los tejidos afectados (vinculada al desarrollo incipiente y la poca pigmentación del tejido cutáneo en larvas metamórficas de

anuros y urodelos). En los casos de edema descritos en adultos no se indica esta transparencia en los animales afectados, hecho que está relacionado con la menor presencia de melanocitos en la dermis en los recién metamorfoseados.

Siempre que se presente como un hallazgo principal, el edema debe diagnosticarse y clasificarse, para lo cual el estudio patológico es imprescindible. Histológicamente, la gravedad depende del grado de separación de los tejidos por el líquido del edema y la cantidad total de tejido afectado. El edema de larvas asociado a *Ranavirus* se ha descrito como principal lesión macroscópica observable en las larvas de anuros afectadas (Hoverman *et al.*, 2010). En este caso, la participación viral puede descartarse mediante la realización de qPCR de tejidos internos del ejemplar, ya que estos ejemplares, normalmente, no sobreviven.

Si bien el edema puede ocurrir como una lesión primaria, ocurre con mayor frecuencia como consecuencia de la necrosis y la inflamación. Además, cuando por otras causas hay regiones de hemorragia, éstas suelen ir acompañadas de edema. Sin embargo, estas causas también podrían

ser descartadas en los casos aquí presentados. En mamíferos, el edema intramuscular se puede observar en asociación con enfermedades autoinmunes, como polimiositis y dermatomiositis, lesiones leves, miositis infecciosa, denervación subaguda, síndrome compartimental y rabdomiolisis; también puede verse como una respuesta fisiológica transitoria durante y brevemente después del ejercicio muscular (Reabes *et al.*, 2013).

En el caso de *A. almogavarii* descrito en este artículo el edema no estaba asociado a tejido inflamatorio, parasitario o neoplásico, por lo que muchas posibles causas aquí propuestas quedan descartadas, reduciéndose a una causa hormonal, de sensibilidad individual o de alteración individual de la homeostasis durante el proceso de metamorfosis. No siempre está relacionada con mortalidad, si bien el grado de afectación tisular en el *Alytes* de esta nota fue incompatible con la supervivencia del individuo. Estas últimas causas son compatibles con hallazgos en ejemplares libres y afectando a un número muy pequeño y aislado de individuos, sin comprometer la conservación de las poblaciones implicadas.

REFERENCIAS

- Ferreira, A. & Rosa, G.M. 2017. A case of extreme bloating in western spadefoot toads from northern Portugal. *Bulletin de la Societat Catalana d'Herpetologia*, 24: 63–65.
- Gosá, A. 2020. Seguimiento de anfibios en charcas creadas en los valles de Egüés y Aranguren. Campaña 2020. Ayuntamiento del Valle de Egüés y Ayuntamiento de Aranguren. Informe inédito.
- Gosá, A., Martínez-Silvestre, A., Cruset, E., Pou-Rovira, Q. & Ventura, M. 2020. Síndrome de edema en *Lissotriton helveticus* salvajes del Pirineo y su entorno. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 31: 165–171.
- Hadfield, C.A. & Whitaker, B.R. 2005. Amphibian emergency medicine and care. *Seminars in avian and exotic pet medicine*, 14: 79–89.
- Hoverman, J.T., Gray, M.J. & Miller, D.L. 2010. Anuran susceptibilities to ranaviruses: role of species identity, exposure route, and a novel virus isolate. *Diseases of Aquatic Organisms*, 89: 97–107.
- Martínez-Silvestre, A., Domínguez-Costas, M. & Ayres, C. 2020. Nuevo caso de síndrome de edema en *Triturus marmoratus* de Galicia (NO península ibérica). *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 31: 78–79.
- Martínez-Silvestre, A., Deluen, M., Trochet, A., Le Chevalier, H., Ribas, A., Bosch, J., Thumsová, B., Calvez, O. & Guillaume, O. En prensa. Un cas de syndrome d'oedème chez *Calotriton asper* (Dugès, 1852) (Urodela: Salamandridae) dans les Hautes-Pyrénées. *Bulletin de la Société Herpétologique de France*.
- Greaves, P., Chouinard, L., Ernst, H., Mecklenburg, L., Pruijboom-Brees, I.M., Rinke, M., Rittinghausen, S., Thibault, S., von Erichsen, J. & Yoshida, T. 2013. Proliferative and non-proliferative lesions of the rat and mouse soft tissue, skeletal muscle, and mesothelium. *Journal of Toxicologic Pathology*, 26(3 suppl): 1S–26S.
- Sykes, J.M., Reel, D., Henry, G.A., Fry, M.M. & Smith, S.H. 2006. Whole body edema and mineralized fat necrosis in an Aquatic Caecilian, *Typhlonectes* sp. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 16: 53–57.
- Vaughan, R., Vitali, S.D., Payne, K.L. & Eden, P.A. 2006. A splendid tree frog with edema syndrome and intestinal adenocarcinoma. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 9: 587.