



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL TRACTO
GASTROINTESTINAL DE TORTUGAS CHARAPAS (*Podocnemis
unifilis*) DE LAS COMUNIDADES NUEVA PROVIDENCIA, SANI ISLA
E INDILLAMA DEL PARQUE NACIONAL YASUNÍ, MEDIANTE
OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA.

Autora

Katherine Lorena Mullo Cañadas

Año

2020



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE
TORTUGAS CHARAPAS (*Podocnemis unifilis*) DE LAS COMUNIDADES
NUEVA PROVIDENCIA, SANI ISLA E INDILLAMA DEL PARQUE NACIONAL
YASUNÍ, MEDIANTE OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA.

“Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista”

Profesor Guía

MVZ. MSc. PhD Luis Fabián Núñez Naranjo

Autora

Katherine Lorena Mullo Cañadas

Año

2020

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Evaluación histopatológica del tracto gastrointestinal de tortugas charapas (*Podocnemis unifilis*) de las comunidades Nueva Providencia, Sani Isla e Indillama del Parque Nacional Yasuní, mediante observación microscópica, a través de reuniones periódicas con el estudiante Katherine Lorena Mullo Cañadas, en el semestre 2020-10, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.”



Luis Fabián Núñez Naranjo

MVZ. MSc. PhD

C.I.: 171282025-5

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Evaluación histopatológica del tracto gastrointestinal de tortugas charapas (*Podocnemis unifilis*) de las comunidades Nueva Providencia, Sani Isla e Indillama del Parque Nacional Yasuní, mediante observación microscópica, del estudiante Katherine Lorena Mullo Cañadas, en el semestre 2020-10, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.”



María Consuelo Torres de la Torre

MVZ. MSc.

CI. 170588066-2

DECLARACIÓN DE LA AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”



Katherine Lorena Mullo Cañadas

C.I.: 1726431347

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer, en primer lugar, a Dios, por las bendiciones recibidas, a mi familia que continuamente me apoya, a mis amigos quienes se han convertido en incondicionales, a los docentes, mismos que forjaron mis conocimientos profesionales y a mis tutores Luis Núñez y Alexander Genoy por ayudarme en la elaboración del presente estudio, que dará como resultado la culminación de mi vida universitaria, la cual es solamente el inicio de mi vida profesional.

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a mis padres y abuelitos quienes han sido mi pilar fundamental y han mantenido su apoyo incondicional a lo largo de mi vida. De la misma manera, va dedicado a mis mascotas Lucero, Brisa y Facundo quienes me motivan a superarme día a día y ser la mejor en la profesión que elegí.

RESUMEN

Las tortugas charapas (*Podocnemis unifilis*) son una especie de quelonios, la cual se encuentra en la lista roja de especies en peligro de extinción del Ecuador, donde se ha empezado a realizar programas de monitoreo y conservación con la finalidad de mitigar su estado actual, enfocándose principalmente en el Parque Nacional Yasuní, ubicado en las provincias de Orellana y Pastaza; dicho programa se instauró en las comunidades Nueva Providencia, Sani Isla e Indillama específicamente. Sin embargo, el programa de conservación posee varias falencias, debido a que, en la última fase, que consiste en la liberación de los animales no se lleva a cabo un reconocimiento del estado de salud del animal, ya que no existe un médico veterinario a cargo de realizar esta labor. Así debido a este particular se decidió efectuar en el año 2018 un estudio macroscópico del tracto gastrointestinal a 30 ejemplares juveniles a fin de determinar el estado de salud de los animales, analizando lengua, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y cloaca; el mismo que no presentó ninguna anormalidad y para confirmar estos resultados el presente trabajo tuvo como objetivo realizar un estudio microscópico del tracto gastrointestinal y confirmar que el estado de salud de los individuos sea normal. De esta manera, a partir de los órganos estudiados se procesaron un total de 100 muestras histológicas, las cuales pertenecen 34 a Nueva Providencia, 33 a Sani Isla y 33 a Indillama. Dichas muestras se sometieron a un estudio histopatológico, el cual determinó tejidos normales, sin la presencia de ninguna alteración, por lo cual se podría confirmar el normal estado de salud del sistema gastrointestinal de los individuos. Así este estudio brinda información de relevancia en cuanto a los parámetros histológicos normales del tracto gastrointestinal de tortugas semiacuáticas; además de servir como base para próximos estudios relacionados con la especie estudiada.

ABSTRACT

Charapa turtles (*Podocnemis unifilis*) are a species of chelonios, which is on the red list of endangered species in Ecuador, where it has begun to carry out monitoring and conservation programs in order to mitigate their current status, focusing mainly on the Yasuni National Park, located in the provinces of Orellana and Pastaza; This program was specifically established in the New Providence, Sani Isla and Indillama communities. However, the conservation program has several shortcomings, because, in the last phase, which consists in the release of animals, a recognition of the animal's health status is not carried out, since there is no veterinarian to charge of performing this work. Thus, due to this particular, it was decided to carry out a macroscopic study of the gastrointestinal tract in 30 juveniles in 2018 in order to determine the health status of the animals, analyzing the tongue, esophagus, stomach, small intestine, large intestine and cloaca; the same one that did not present any abnormality and to confirm these results the present work had as objective to carry out a microscopic study of the gastrointestinal tract and confirm that the health status of the animals is normal. In this way, from the organs studied, a total of 100 histological samples were processed, which belong 34 to New Providence, 33 to Sani Island and 33 to Indillama. These samples were submitted to a histopathological study, which determined normal tissues, without the presence of any alteration, so that the normal state of health of the gastrointestinal system of the animals could be confirmed. Thus, this study provides relevant information regarding the normal histological parameters of the gastrointestinal tract of semi-aquatic turtles; In addition to serving as a basis for future studies related to the species studied.

ÍNDICE

1	CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1.1	OBJETIVO GENERAL.....	3
1.1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
1.2	HIPÓTESIS	3
2	CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1	<i>PODOCNEMIS UNIFILIS</i>	4
2.1.1	CARACTERÍSTICAS DISTINTIVAS.....	4
2.1.2	HÁBITAT Y ECOLOGÍA	6
2.2	PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL TRACTO GASTROINTESTINAL	7
2.2.1	ENFERMEDADES INFECCIOSAS.....	7
2.3	ENFERMEDADES NO INFECCIOSAS.....	20
2.3.1	CUERPOS EXTRAÑOS	21
2.3.2	INTOXICACIÓN POR PETRÓLEO.....	21
2.3.3	DEFICIENCIAS NUTRICIONALES.....	22
2.3.4	PROLAPSO CLOACAL	23
2.4	NEOPLASIAS	23
2.4.1	LINFOSARCOMA	23

2.4.2	CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS.....	24
3	CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1	UBICACIÓN DEL ESTUDIO	25
3.2	POBLACIÓN Y MUESTRA	27
3.2.1	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	27
3.2.2	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	27
3.3	MATERIALES	28
	□ <i>DE LABORATORIO</i>	28
	□ <i>OFICINA</i>	28
3.4	METODOLOGÍA	29
3.4.1	LEVANTAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	29
3.4.2	TOMA DE MUESTRAS.....	31
3.4.3	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.....	32
3.4.4	DESCRIPCIÓN DE LAS LESIONES	32
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
3.6	VARIABLES	34
4	CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1	ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO	36
4.1.1	LENGUA.....	36
4.1.2	ESÓFAGO.....	38

4.1.3	ESTÓMAGO.....	40
4.1.4	INTESTINO DELGADO	43
4.1.5	INTESTINO GRUESO	48
4.1.6	CLOACA.....	51
4.2	DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	53
5	CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	60
6	CAPÍTULO VI RECOMENDACIONES.....	61
	REFERENCIAS.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Principales bacterias que afectan el tracto gastrointestinal</i>	14
Tabla 2 <i>Clasificación de la población de muestras</i>	27
Tabla 3 <i>Organización de placas histológicas</i>	30
Tabla 4 <i>Variables del estudio</i>	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	5
Figura 2	5
Figura 3.	6
Figura 4	9
Figura 5	10
Figura 6	11
Figura 7	11
Figura 8	13
Figura 9	18
Figura 10	20
Figura 11.	26
Figura 12.	37
Figura 13..	38
Figura 14.	40
Figura 15..	42
Figura 16..	43
Figura 17.	45
Figura 18.	46
<i>Figura 20.</i>	48

Figura 21.....	50
Figura 22.....	52
Figura 23.....	53

1 CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Las tortugas charapas (*Podocnemis unifilis*) se caracterizan por alcanzar una longitud de su caparazón de 40 a 50 cm, poseen un surco interparietal, una membrana timpánica de gran tamaño y 2 escamas frontales parietales (Carvajal, 2018). Las hembras poseen escamas en la cabeza de color café claro, mientras que los machos cuentan con escamas de color café oscuro. Poseen una alimentación mixta, basada en vegetales y carne (Carrillo *et al.*, 2005). Esta especie alcanza su madurez sexual a los 9 años; teniendo un período de incubación de 81 días (Cisneros-Heredia, 2006).

En el Ecuador se encuentran localizadas en la Amazonía, específicamente en los ríos Napo, Sucumbíos y Orellana (Costa, Rosivaldo, De Oliveira, Pignati, & Brito, 2018). Es una especie que se encuentra en la lista roja de especies en peligro de extinción, ya que, es comercializada como alimento y ciertas comunidades poseen tradiciones ancestrales de utilizarlas como medicina, precisamente para curar luxaciones y síntomas gripales (UICN, 2011). La cacería es considerada ilegal, debido a que, representa un peligro para la especie.

Es así que, existe un programa de conservación el cual fue creado con el objetivo de mitigar el estado actual de la especie. Este proyecto comunitario fue planteado en el año 2008 por la *Wildlife Conservation Society Ecuador*, llevado a cabo en el Parque Nacional Yasuní, específicamente en las comunidades Nueva Providencia, Sani Isla e Indillama. Este programa se enfoca en la prevención de la reducción de la población de tortugas charapas en el Ecuador, así como concientizar a la

población sobre el estado de vulnerabilidad de la especie, evitando la comercialización y consumo. Las actividades que se efectúan para su efecto son la creación de playas artificiales, recolección de huevos, diseminación de huevos por playas artificiales, monitoreo de eclosión, mantenimiento de ejemplares en piscinas artificiales hasta los 3 meses de edad, culminando con la liberación de los animales (Cueva, Utreras, & Muñoz, 2010).

Sin embargo, dicho programa presenta algunas debilidades, debido a que, con liberación no viene acompañada con un estudio del estado de salud de los animales, porque, no se cuenta con un equipo de médicos veterinarios especializados, ya que, existe escasez de recursos económicos y falta de capacitación.

A partir de esta problemática, se efectuó previamente en el año 2018 un estudio macroscópico del tracto gastrointestinal de los quelonios, el cual determinó como resultado que los órganos analizados se mostraban aparentemente normales, recomendando la realización de un estudio microscópico de estos mismos tejidos para la confirmación del estado de salud. Es por ello que se decidió llevar a cabo este estudio histopatológico a 30 ejemplares juveniles de las comunidades anteriormente mencionadas; se obtuvo un total de 100 muestras histológicas, las cuales se dividieron en 34 muestras de la comunidad Nueva Providencia, 33 muestras de la comunidad Sani Isla y 33 muestras de la comunidad Indillama, las muestras corresponden a tejido de lengua, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y cloaca, con la finalidad de verificar el estado de salud de los animales, a través de los hallazgos microscópicos patológicos o normales.

Objetivos

1.1.1 Objetivo General

- Realizar un estudio histopatológico del tracto gastrointestinal de tortugas charapas (*Podocnemis unifilis*) de las comunidades Nueva Providencia, Sani Isla e Indillama del Parque Nacional Yasuní, a través de observación microscópica, para la identificación de lesiones que pueden indicar procesos patológicos.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Recopilar información de las principales enfermedades infecciosas y no infecciosas que afectan el tracto gastrointestinal de tortugas, en el Parque Nacional Yasuní, mediante una compilación bibliográfica, para compararlo con las lesiones encontradas a nivel histológico.
- Reconocer las estructuras normales mediante visualización microscópica del tracto gastrointestinal de tortugas charapas del Parque Nacional Yasuní de tres diferentes comunidades para discernir de los hallazgos anormales, que pueden ser patológicos.

1.2 Hipótesis

Hipótesis alternativa

- Las 30 tortugas (*Podocnemis unifilis*) presentan alteraciones histológicas en el tracto gastrointestinal.

Hipótesis nula

- Las 30 tortugas (*Podocnemis unifilis*) no presentan alteraciones histológicas en el tracto gastrointestinal.

2 CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 *Podocnemis unifilis*

2.1.1 Características distintivas

Las tortugas charapas, cuyo nombre científico es *Podocnemis unifilis*, se caracterizan por poseer un tamaño promedio de 40 a 50 centímetros de longitud, considerándose una especie mediana, asimismo, consigue un peso entre los 9 a 12 Kg. Esta especie se diferencia de otras *Podocnemis*, ya que, su caparazón es ovalado y convexo, sutilmente más amplio por la parte posterior, además cuenta con la presencia de 12 escudos marginales, 8 costales y 5 vertebrales (Rivera, 2010). El plastrón es de dimensiones más pequeñas en comparación con el caparazón, presentando un color amarillo, el mismo que puede variar con la presencia de manchas oscuras (Páez, Morales, Lasso, & Bock, 2012), tal como se lo puede observar en la figura 1.

La cabeza es alargada, en la cual sobresale el hocico, teniendo además una barbilla bajo el maxilar inferior, mientras que, el maxilar superior posee 2 cuñas en la superficie de trituración, que a su vez carece de dentición (Páez *et al.*, 2012). De la misma manera se distingue por la posesión de un surco interparietal, una membrana timpánica de gran tamaño y 2 escamas frontales parietales (Carvajal, 2018). Las hembras poseen escamas en la cabeza de color café claro, mientras que los machos cuentan con escamas de color café oscuro (Espinosa-Blanco & Castillo, 2015). Esto se evidencia en el ejemplar, que se muestra en la figura 2.



Figura 1 Ejemplar de tortuga charapa, que muestra las características distintivas de la especie. Tomado de (Merlo, 2005).



Figura 2 Ejemplar de tortuga charapa, la cual representa las características propias de la especie con la coloración y manchas de la cabeza. Tomado de (Dupont, 2018).

El dimorfismo sexual es evidente, debido a que, los machos adultos poseen un tamaño menor en comparación con las hembras adultas, asimismo, el plastrón de las hembras es cóncavo, mientras que el de los machos carece de esta forma. Esta especie alcanza su madurez sexual a los 9 años, teniendo un período de incubación de 81 días (Cisneros-Heredia, 2006).

2.1.2 Hábitat y Ecología

Esta especie de quelonios se encuentra presente en Brasil, Bolivia, Ecuador, Colombia, Perú, Venezuela, Surinam y la Guayana Francesa. En el Ecuador se encuentran localizadas en la Amazonía, específicamente en los ríos Napo, Sucumbíos y Orellana. (Figura 3)

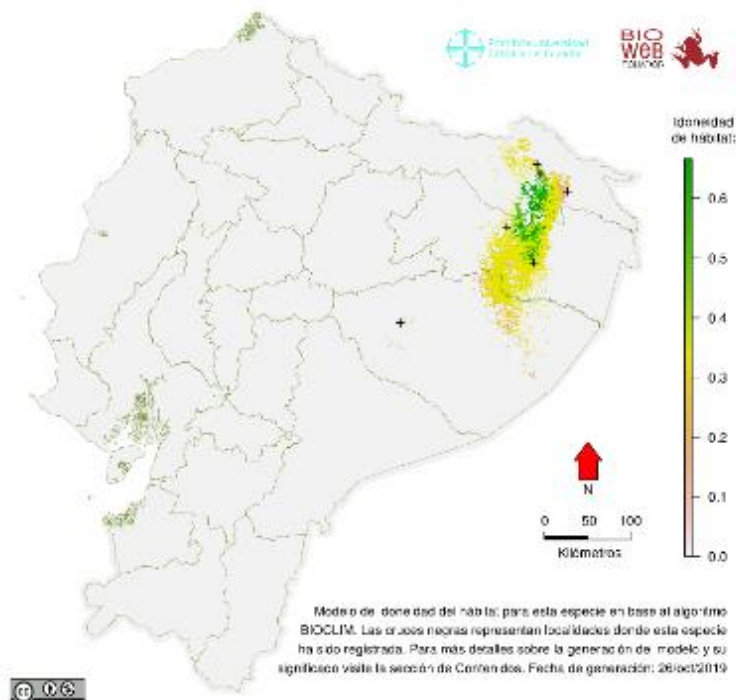


Figura 3. Distribución en el Ecuador de *Podocnemis unifilis*. Tomado de (Carvajal, 2018)

En cuanto se refiere a su hábitat se encuentran presentes en ríos, lagos, lagunas y bosques inundados (Carvajal, 2018).

La alimentación, se va a distinguir de acuerdo a la fase por la que el animal se encuentre atravesando, discerniendo de esta manera la etapa juvenil, pre adulta y madura. Durante la juvenil su alimentación se basará en el consumo de algas, hojas, raíces y frutos; durante la fase pre adulta se alimentará de semillas y finalmente en la etapa madura se ampliarán sus opciones, alimentándose de peces, carroña, frutas, algas y semillas (Páez *et al.*, 2012).

2.2 Principales enfermedades del tracto gastrointestinal

2.2.1 Enfermedades Infecciosas

Las enfermedades infecciosas, son la consecuencia de la presencia de agentes biológicos, tales como, virus, bacterias y parásitos los cuales serán los responsables de generar una determinada infección. Entre las principales patologías que podemos destacar y las cuales afectan en un mayor porcentaje a los quelonios, podemos describir las siguientes:

2.2.1.1 Virus

Herpesvirus: En cuanto a la etiología, este virus pertenece a la familia Herpesviridae, misma que se caracteriza por pertenecer al grupo de virus de ADN de cadena doble. La replicación de los mismos se efectuará dentro del núcleo de las células diana, luego pasarán al citoplasma en donde obtendrán su envoltura lipídica, mediante la membrana nuclear (Murray, 2015). En cuanto a los lugares de

replicación intranuclear, se manifestarán como inclusiones intranucleares, las cuales podrán visualizarse, a través de microscopía óptica (Ramis, 2014).

- **Manifestaciones clínicas:** Las lesiones que los quelonios van a presentar son de apariencia visible, manifestando una estomatitis y glositis.

Boca y coana. – presentan una estomatitis, el cual tiene la peculiaridad de contar con la existencia de un proceso inflamatorio, el cual va a ocasionar daño a las membranas mucosas. Estas lesiones van a generar molestias en cuanto a la ingestión de alimentos, lo que conlleva al debilitamiento del animal.

Lengua. – los signos clínicos se manifiestan a través de una glositis, la cual se representa mediante la presencia de una capa blanca o amarillenta, de contextura serosa, la cual va a cubrir completamente al órgano (Marschang, 2012).

Principales causas: Es importante destacar, que una de las principales causas es la baja de defensas, la cual puede ser ocasionada por un mal manejo de los ejemplares, esto se manifiesta debido al estrés crónico, el cual puede ser originado por una mala alimentación, es así que, los ejemplares que se encuentren en óptimas condiciones de manejo y no presenten una baja de sus defensas, no serán susceptibles (Marschang, 2012). Sin embargo, cabe destacar que la evolución de las tortugas en una zona geográfica determinada va acompañada de la evolución de los herpesvirus originando una selección natural que posibilita la creación de estirpes de tortugas que son tolerantes a diversas cepas del virus, por lo contrario cuando un herpesvirus tiene contacto con estirpes distintas de tortugas, ocasionará signos clínicos devastadores, por ende, no es recomendable mezclar diversas especies de tortugas principalmente si las mismas se encuentran en condiciones de

cautiverio; para que de esta manera no se genere una contaminación cruzada (Sim, Norton, Bronson, Allender, Wellehan, 2014).

El diagnóstico, se puede dar a través de la observación directa de las lesiones en una necropsia y mediante un análisis histopatológico, en el cual se pueden apreciar las siguientes lesiones (figura 4 y 5):

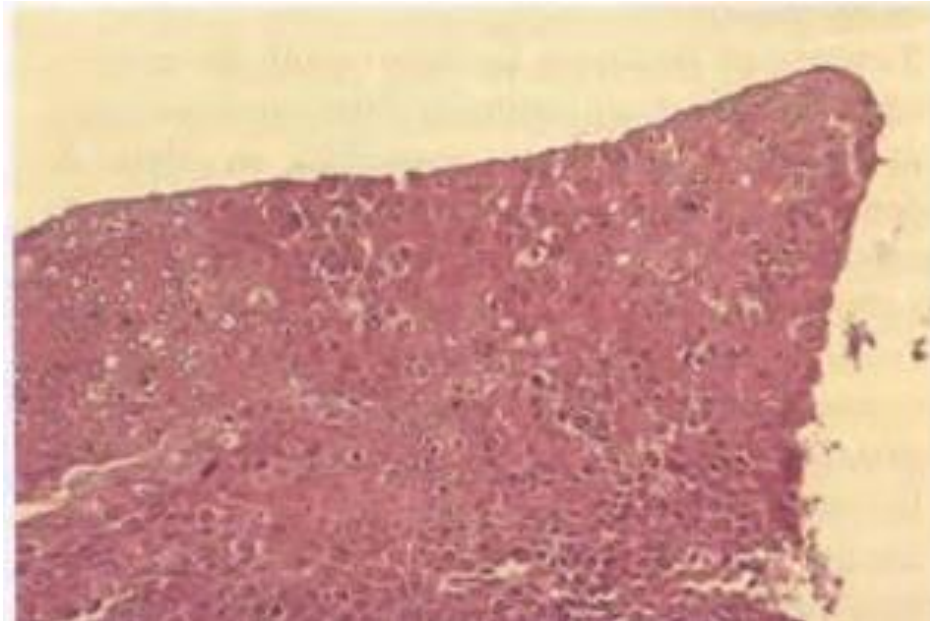


Figura 4 Corte histológico, lengua (HE), de tortuga mediterránea *T. graeca* en el cual se puede apreciar una hiperplasia del tejido epitelial, acompañada de necrosis en varias células aisladas, también se distinguen células epiteliales, las cuales poseen inclusiones eosinofílicas intranucleares. Tomado de (Ramis, 2014).

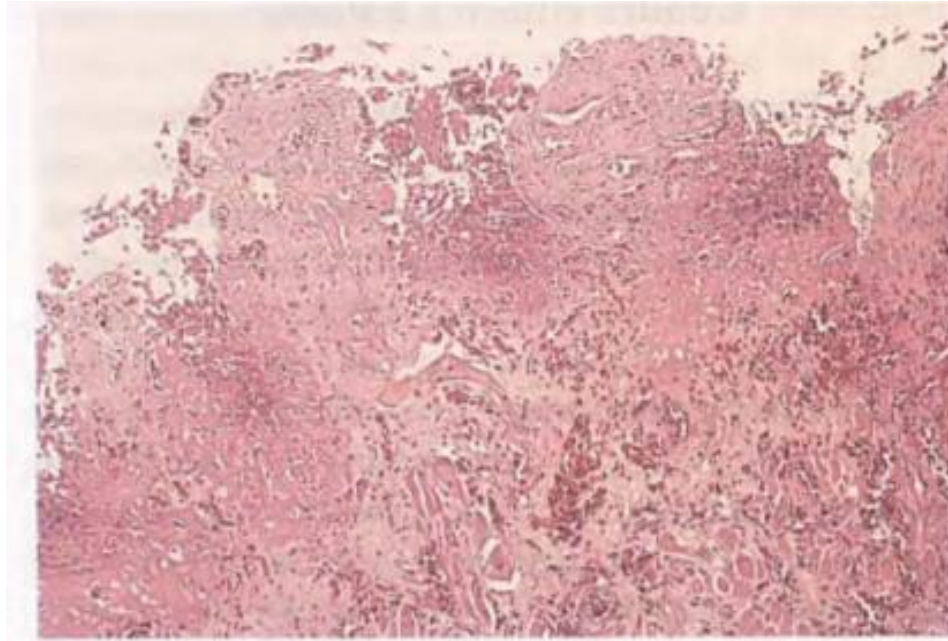
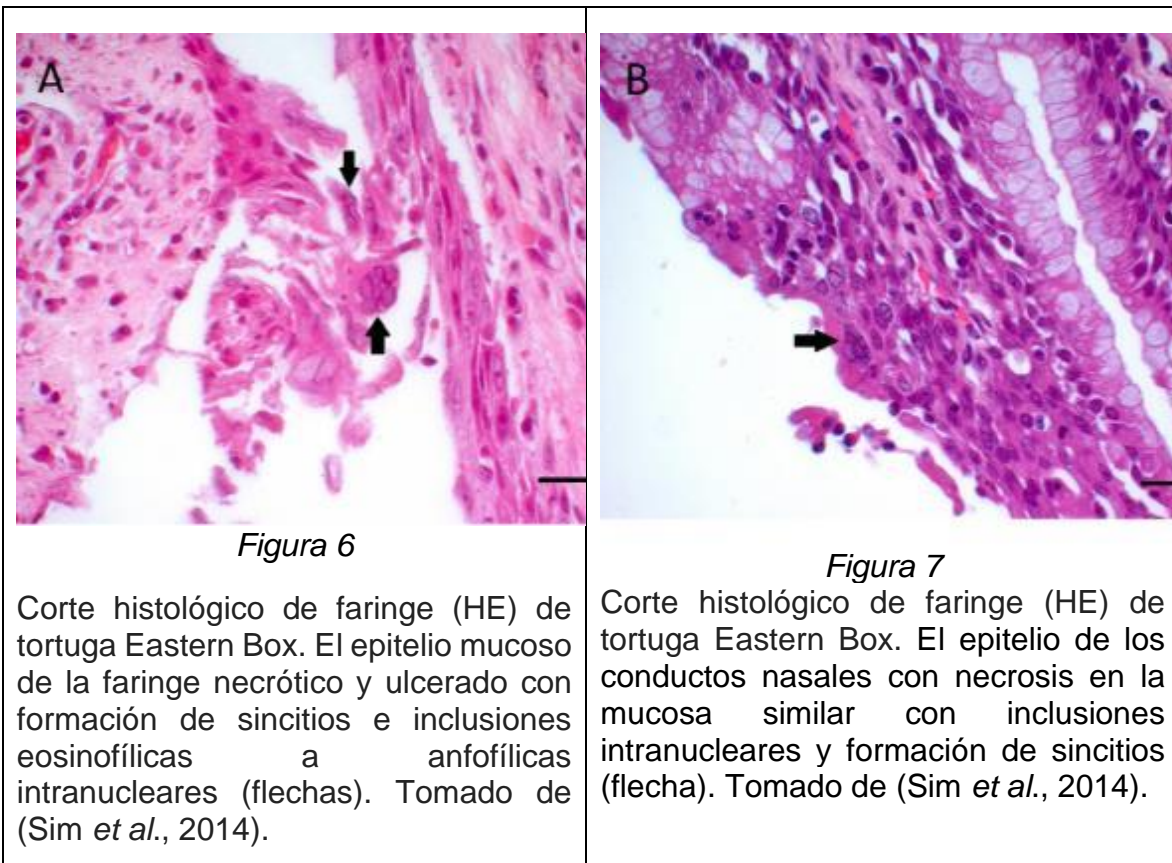


Figura 5 Corte histológico, lengua (HE), de tortuga mediterránea *T. graeca* en el cual se puede apreciar una hiperplasia del tejido epitelial, acompañada de una necrosis en varias células aisladas, además se distinguen células epiteliales, las cuales poseen inclusiones eosinofílicas intranucleares. Tomado de (Ramis, 2014).

También pueden ocurrir lesiones microscópicas a nivel del tracto respiratorio, las cuales, pueden ser:

- Epitelio mucoso de la faringe necrótico y ulcerado con formación de sincitios e inclusiones intranucleares eosinofílicas a anfófilas (Figura 6).
- Epitelio de los conductos nasales con necrosis mucosa similar a la mucosa faríngea con inclusiones intranucleares y formación de sincitios (Figura 7).



Adenovirus: En cuanto a su etiología, este virus pertenece a la familia Adenoviridae, mismo que se caracteriza por la ausencia de cápside, es un virus con cadena doble de ADN. Su ciclo difiere por la presencia de una fase inicial y una fase final, las cuales se encuentran divididas por la replicación del ADN, la misma que tiene su origen en el núcleo y se encuentra mediada por una polimerasa (Murray, 2015).

- **Manifestaciones clínicas.** – Los principales órganos que se ven afectados y los cuales funcionan como órganos diana son la lengua, el esófago y el estómago, produciendo inflamación. Asimismo, produce una inmunosupresión, la cual ocasiona un debilitamiento del animal, que puede

ocasionar la muerte, acompañada de una pobre condición corporal (García-morante, Pénzes, Costa, Martorell, & Martínez, 2016). Este virus puede diagnosticarse mediante la

valoración de los signos clínicos, de las lesiones en los órganos anteriormente mencionados, aunque no son específicas por lo que es necesario basarse en un diagnóstico histopatológico, así como también, mediante PCR (Szilvia, Farkos, & Jánas, 2009).

- **Principales causas.** – En reptiles, este virus se ha detectado principalmente en la familia de los squamates (iguanas, lagartos y camaleones), aunque también se ha reportado en una variedad de quelonios a nivel mundial, teniendo como principal característica de ser una enfermedad sistémica grave, con una elevada tasa de mortalidad que asciende al 82%. Estos se caracterizan por ser patógenos oportunistas, los cuales generalmente aparecen por infecciones concurrentes, las mismas que debilitan a su huésped. Sin embargo, existe una variedad de cepas, las cuales mediante evolución son capaces de producir una infección por sí mismas (Szilvia *et al.*, 2009)

Histopatológicamente, se pueden distinguir las siguientes lesiones proliferación del epitelio con la presencia en el núcleo de la célula de cuerpos de inclusión basofílicos (figura 8):

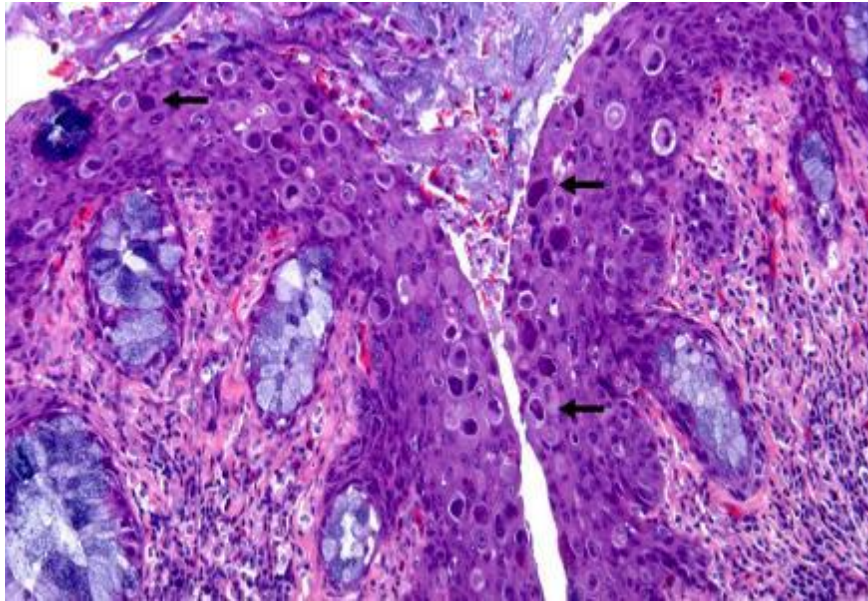


Figura 8 Corte histológico de esófago (HE) de una tortuga Mora, en el que se puede evidenciar una proliferación del epitelio con la presencia de cuerpos de inclusión basofílicos intranucleares (flechas). Tomado de (García-morante *et al.*, 2016)

2.2.1.2 Bacterias

Existe una variedad muy amplia de bacterias, las cuales son responsables de la generación de patologías en el tracto gastrointestinal, afectando diversos órganos como: lengua, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y cloaca, como se detalla a continuación en la siguiente tabla (tabla 1):

Tabla 1.

Principales bacterias que afectan el tracto gastrointestinal

Bacteria	Cavidad oral	Esófago	Estómago	Intestinos
<i>Achromobacter</i> spp	x			
<i>Aerococcus viridans</i>		x	x	
<i>Aeromonas</i> spp.	x	x		
<i>Bacillus</i> spp.				x
<i>Burkholderia cepacia</i>	x			
<i>Campylobacter</i> spp.				X
<i>Citrobacter</i> spp.		x		
<i>Escherichia coli</i>				
<i>Pasteurella</i> spp.				x
<i>Pseudomonas</i> spp.		x	x	x
<i>Proteus</i> spp.			x	x
<i>Salmonella</i> spp.				x
<i>Sthapylococcus</i> spp.		x	x	x
<i>Streptococcus</i> spp.				x
<i>Yersinia</i> spp.				x

De las bacterias mencionadas en la tabla, se han seleccionado los de mayor relevancia e impacto para quelonios que se encuentran viviendo en condiciones de cautiverio o semi cautiverio, para la realización del presente estudio.

Escherichia coli, Pasteurella spp, Aeromonas spp y Pseudomonas spp: Las bacterias relacionadas, con una de las principales afecciones, en reptiles como lo es la estomatitis infecciosa son *Escherichia coli, Pasteurella spp, Aeromonas spp y Pseudomonas spp* bacterias gram negativas, las cuales van a depender de diversos factores para virulentarse, el más importante es el estrés, estas bacterias forman parte de la flora bucal común de las tortugas. Al igual que la estomatitis de origen viral, el diagnóstico se fundamenta en la ejecución de cultivos y el tratamiento consiste en la aplicación de antibióticos (Avsever & Tunaligil, 2016)

- ***Manifestaciones clínicas.*** – La principal característica es la presencia de una estomatitis severa y con presencia de abscesos y septicemia, con elevada morbilidad (Cesar, Junior, Marinho, Táparo, & Bosco, 2015).
- ***Principales causas.*** – El principal factor que va a predisponer la presencia de dicha patología es el estrés, el cual acompañado por una sobre manipulación, condiciones inadecuadas en el ambiente en el que los animales viven, hipotermia e hipovitaminosis C, ocasionarán la proliferación de la flora bucal oportunista y desencadena la infección (Cesar *et al.*, 2015)

Pseudomona aeruginosa: Esta es una bacteria gram negativa, aeróbica, posee una motilidad unipolar, tiene como principal característica ser una bacteria oportunista, que ante una inmunosupresión, va a ser capaz de virulentarse (Roldán, 2018).

- **Manifestaciones clínicas.** – En cuanto a los signos clínicos que se van a manifestar son diarrea, inapetencia y caquexia, los cuales ocasionan la presencia de gastritis y una enterocolitis necrosante. Para un diagnóstico adecuado se incluye la utilización de PCR, así como estudios histopatológicos (Nuri, Unsaldi, Melek, & Centinkaya, 2018).
- **Principales causas.** - Como se mencionó anteriormente, dicha bacteria se caracteriza por ser oportunista, por ende, una de las principales causas para que se vuelva patógena, es el estrés ocasionado por las deficientes condiciones de manejo, sobre todo para ejemplares que se encuentran bajo condiciones de cautiverio (Cardona, Paredes, & Fernández, 2009).

Enterobacterias: Se caracterizan por ser bacterias gram negativas, las cuales van a encontrarse distribuidas en 30 géneros, de los cuales se dividen en más de 100 especies. Estas difieren en su forma, ya sean, cocos o bacilos, estas bacterias forman parte de la flora gastrointestinal normal del intestino, por lo cual resulta complicado establecer un control sobre las mismas. Las más importantes que tiene que ser mencionada son *Salmonella* spp, *Eschericha coli* y *Yersinia* spp (Avsever & Tunaligil, 2016).

- **Manifestaciones clínicas.** - Dichas bacterias, van a adherirse en el tejido y en la mucosa intestinal, ocasionando inflamación de los mismos, que en varias ocasiones va a ir acompañada por necrosis (Cesar *et al.*, 2015).
- **Principales causas.** - Las enterobacterias, pueden clasificarse de la siguiente manera: apatógenas, patógenas oportunistas y patógenas

importantes, distinguiéndose de éstas a las patógenas oportunistas las cuales, ocasionarán daños a nivel del tracto gastrointestinal (Pachón, 2009).

Aerococcus viridans: Es una bacteria gram positiva, cuya morfología se representa en forma de cocos, puede manifestarse aislado o en tétradas. Este patógeno va a ocasionar daños en el tracto gastrointestinal, específicamente en esófago y estómago, afectando también, órganos anexos como son el hígado y el bazo (Torrent, Déniz, Ruiz, Calabuig, Sicilia & Óros, 2002).

- ***Manifestaciones clínicas***: Esta bacteria, posee la capacidad de ocasionar la formación de un divertículo esofágico, esto se refiere a que, habrá la creación de tejido epitelial, mismo que se encontrará dispuesto hacia la parte externa, ocasionan desplazamiento de órganos aledaños al mismo, como consecuencia se presentarán cuadros inflamatorios en los órganos afectados. También se destaca el engrosamiento de la mucosa estomacal, así como también, de la serosa esofágica. Para el diagnóstico se recomienda la realización de una necropsia, estudio histopatológico y la ejecución de pruebas moleculares (Torrent *et al.*, 2002).
- ***Principales causas***. –Dicha bacteria es oportunista, siendo la responsable de la aparición de infecciones, y solamente causa enfermedad a partir de eventos traumáticos o lesiones en los individuos que se encuentran inmunodeprimidos. Cabe destacar que es un microorganismo que se encuentra distribuido de manera amplia desde aguas dulces, hasta aguas saladas en donde los quelonios conviven (Martin *et al.*, 2007).

Campylobacter spp: El *Campylobacter* spp es una bacteria gram negativa, que posee una forma distintiva de coma y se moviliza a través de la presencia de uno o dos flagelos, los mismos que son apolares.

- **Manifestaciones clínicas.** - Esta bacteria, es la responsable de ocasionar la llamada colitis bacteriana, caracterizada por la inflamación de la mucosa del intestino; puede ser diagnosticada, mediante PCR y análisis histopatológicos (Marin, Capaccioni, González, Jimenez, & Vega, 2013).
- **Principales causas.** - Esta bacteria se caracteriza, por ser oportunista, la misma que además de ocasionar infecciones en animales, también es capaz de afectar al ser humano, por lo cual se debe tener una especial monitorización y cuidado de los animales que se encuentren en condiciones de cautiverio, ya que, puede ser mortal y afectar tanto a animales como a humanos (*Patrick et al.*, 2013).

Las lesiones histopatológicas, que pueden ser apreciadas son las siguientes:

- Infiltración de diversos neutrófilos, indicándonos la presencia de una colitis (Figura 9).

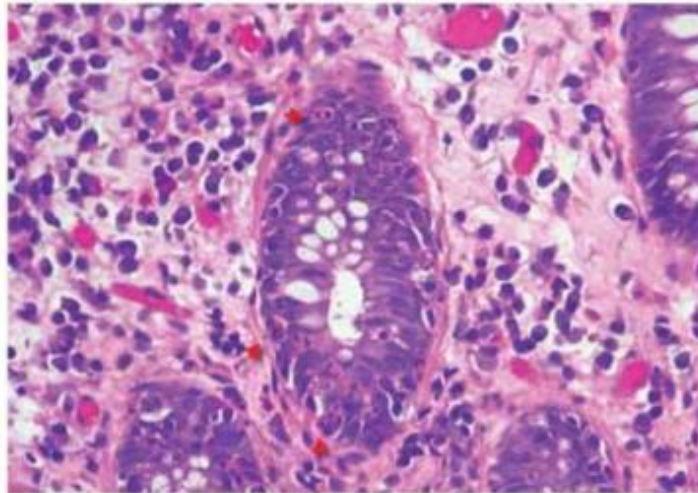


Figura 9 Corte histológico de intestino grueso (HE) de tortuga *Podocnemis expansa*, en el cual se puede apreciar la infiltración de diversos neutrófilos, mostrando la presencia de una colitis. Tomado de (Arévalo, Arias, Monge, & Arias, 2008).

2.2.1.3 Parásitos

Nemátodos y céstodos: Los nemátodos poseen como principal característica ser organismos pluricelulares con una longitud menor a 2 mm, con morfología alargada o cilíndrica, pese a su tamaño reducido se los considera como organismos complejos, ya que, los mismos tienen muy bien desarrollado todos los órganos y sistemas, tal y como los animales mayores (Gómez & Montes, 2007).

Mientras que los céstodos se caracterizan por poseer una simetría bilateral, con falta de esclarecimiento de superficies, debido a que, los mismos carecen de un tubo digestivo, además de ser aplanados y alargados dorsoventralmente. La reproducción es sexual presentando una fecundación interna, la cual se efectúa mediante la cópula, tienen la capacidad de generar diariamente hasta un millón de huevos (Moreno, 2015).

- **Manifestaciones clínicas.** - Generalmente, debido a la infestación con dichos parásitos, los quelonios presentan una variedad de signos clínicos, los cuales van acompañados con una inmunosupresión, de esta manera se genera anorexia, debilidad, déficit de reproducción y apatía (Martínez & Soler, 2008).
- **Principales causas.** – En estudios realizados a través de la utilización de exámenes coproparasitarios de heces frescas se han establecido que las tortugas, especialmente las terrestres son portadoras de una variedad de parásitos, de entre los cuales se destaca los grupos áscaris y oxiuros que, son gusanos blanquecinos y redondos de diversas longitudes. En las tortugas, la patogenia de diversos parásitos no se limita solamente al tracto gastrointestinal, sino que también, puede generar lesiones viscerales, debido a la migración al tejido hepático. Hay que tener en cuenta que la presencia de parásitos, no significa que el animal se encuentre enfermo y la presencia

de los mismos, puede enmascarar patologías existentes. En general los quelonios responden de manera adecuada y eficaz a los tratamientos, teniendo un buen pronóstico (Martinez & Soler, 2008).

La presencia de parásitos puede ser detectado, a través de la realización de exámenes coproparasitológicos, estudios histopatológicos o técnicas moleculares. Hallazgos histopatológicos se los puede apreciar en la figura 10.

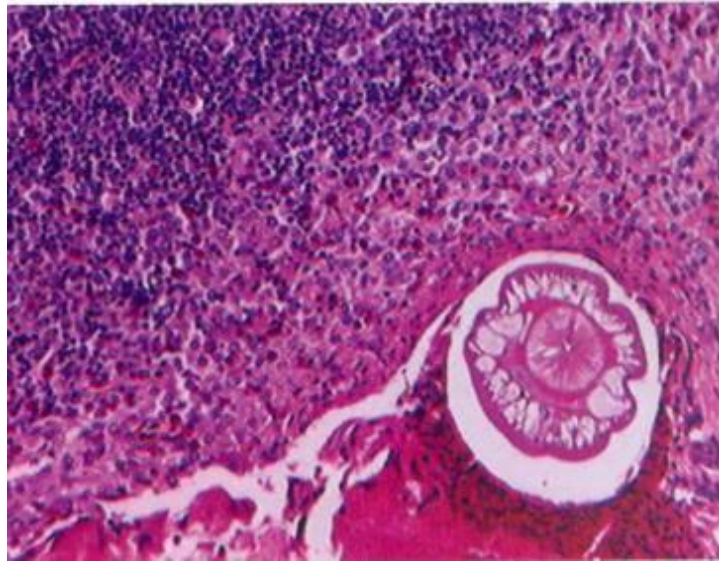


Figura 10 Corte histológico de páncreas (HE) de tortuga *Trachemys scripta*, en el que se puede presenciar un nemátodo, acompañado de un infiltrado inflamatorio. Tomado de (Martinez & Soler, 2008)

2.3 Enfermedades No Infecciosas

Dichas enfermedades, no poseen un agente etiológico que las ocasionen, ya que, estas vienen acompañadas de factores físicos externos o ambientales. A continuación, se detallarán las principales reportadas en quelonios.

2.3.1 Cuerpos extraños

Es común encontrarse con la presencia de cuerpos extraños, los cuales provienen principalmente de actividades realizadas por humanos, donde se han hallado hilos de pescar, anzuelos, contaminantes plásticos e incluso se ha evidenciado la presencia de proyectiles. Éstos van a alojarse en la mucosa de los órganos del tracto gastrointestinal, principalmente en esófago y estómago, ocasionando inflamación, la cual, puede hacerse crónica, llegando a ocasionar necrosis de los tejidos; generando una mortalidad alta sobre todo para ejemplares que se encuentran en su hábitat natural y la cual ha ido en aumento en los últimos años por

el incremento de desechos plásticos contaminantes (Orrego, 2005). El diagnóstico se lo lleva a cabo mediante el uso de radiología, así como también por medio de una necropsia. Histopatológicamente se observará la presencia de infiltrados inflamatorios. Existe el reporte de diversos casos de cuerpos extraños, como anzuelos en esófago, el mismo se encuentra con un proceso inflamatorio, ulcerativo, en casos severos existe fibrosis y perforación del tejido (Lescano, CHipayo, & Quevedo, 2015).

2.3.2 Intoxicación por petróleo

El petróleo se define como una combinación de compuestos de origen orgánico, de los cuales se destacan aquellos hidrocarburos que son insolubles en agua. En los últimos años han existido diversos accidentes relacionados con el derramamiento del mismo, principalmente en la Amazonía ecuatoriana, en donde se encuentran las principales extractoras del mismo. La intoxicación por petróleo es mortal, tanto para personas como animales que se encuentran dentro de este ecosistema y las principales lesiones que se han encontrado afectan de manera principal al tracto gastrointestinal, ocasionando necrosis de los tejidos que sufrieron la exposición.

Cuando se conozca de la presencia de uno de estos casos, se deben tomar acciones inmediatas, de lo contrario los niveles de mortalidad son elevados (Bravo, 2007).

2.3.3 Deficiencias nutricionales

Dichas enfermedades son de prevalencia común en quelonios que se encuentran en condiciones de cautiverio, debido a que, no se manejan los protocolos de alimentación necesarios para su adecuado desarrollo. Estas deficiencias van a generar diversas lesiones en el tracto gastrointestinal, entre las cuales se puede mencionar:

- Caquexia. - Ocasionará la dilatación de las asas intestinales, acompañada del incremento de líquidos, es ocasionada por la deficiencia de carbohidratos.
- Obesidad. - Ocasionada por el exceso de carbohidratos.
- Esteatitis. – Ocasionada por la deficiencia de vitamina E, en dietas ricas en ácidos grasos, esto se manifiesta con la presencia de enteritis acompañada de ascitis. Histopatológicamente se observa inflamación del tejido adiposo.
- Sobrecrecimiento del pico. - Ocasionado por la falta de vitaminas, especialmente la D3 (Rojas *et al.*, 2000).

2.3.4 Prolapso cloacal

En esta condición se observa inflamación de la cloaca, asimismo, existe la presencia de tejido eritematoso y edematoso que en diversos casos se ve acompañado de necrosis. Se debe efectuar un examen exhaustivo al animal, ya que, pueden existir complicaciones; generalmente se producen infecciones del tracto intestinal posterior, así como también, de las vías urinarias y el aparato reproductor (Cobos & Ribas, 2005).

2.4 Neoplasias

2.4.1 Linfosarcoma

Los signos clínicos en las tortugas se van a manifestar a través de la condición corporal del animal, habiendo una disminución de la misma, asimismo, esto vendrá acompañado de letargo y debilitamiento. En cuanto a los signos clínicos, se va a evidenciar la presencia de nódulos a nivel estomacal y entérico. La manera adecuada de diagnosticar es a través de histopatología con la respectiva necropsia. Un estudio llevado a cabo en Costa Rica, en el año 2015, efectuado por el Programa Regional de Manejo y Conservación de Vida Silvestre en Mesoamérica y el Caribe de dicho país, evaluó las causas de mortalidad de varias especies de quelonios, en donde se detectaron la presencia de varios ejemplares con linfosarcoma, confirmándolo mediante histopatología; los hallazgos se los realizaron en la cavidad abdominal específicamente en hígado e intestino; además de dicha neoplasia también fueron hallados granulomas con la presencia de huevos de parásitos (Orrego, 2005).

2.4.2 Carcinoma de células escamosas

Esta neoplasia, ocasiona en los quelonios lesiones ulceradas en la cavidad bucal, también se pueden hallar lesiones internas, especialmente las que afectan al hígado. La incidencia de los mismos es reducida, sin embargo, es importante, debido a que, los niveles de mortalidad que esta produce son elevados (Sánchez Lòpez, Chamorro Santos, Esquivias, & Valencia , 2006) El diagnóstico, se basa a través de la realización de necropsias, acompañado con un análisis histopatológico. Actualmente se han efectuado varios trabajos de investigación con el propósito de establecer protocolos, que puedan delimitar las características histopatológicas de dichas neoplasias, por lo cual se tomaron en cuenta los siguientes factores: grado

de diferenciación tumoral, número de mitosis, eosinofilia tisular asociada a la neoplasia, invasión perineural y vascular y finalmente se evalúa el patrón de infiltrado tisular (Sánchez *et al.*, 2006).

3 CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del estudio

El estudio histopatológico, se efectuó, en el cantón Quito, ciudad Quito, en la provincia de Pichincha, Ecuador en el Laboratorio de Histología de la Universidad de Las Américas sede Granados (Figura 11).

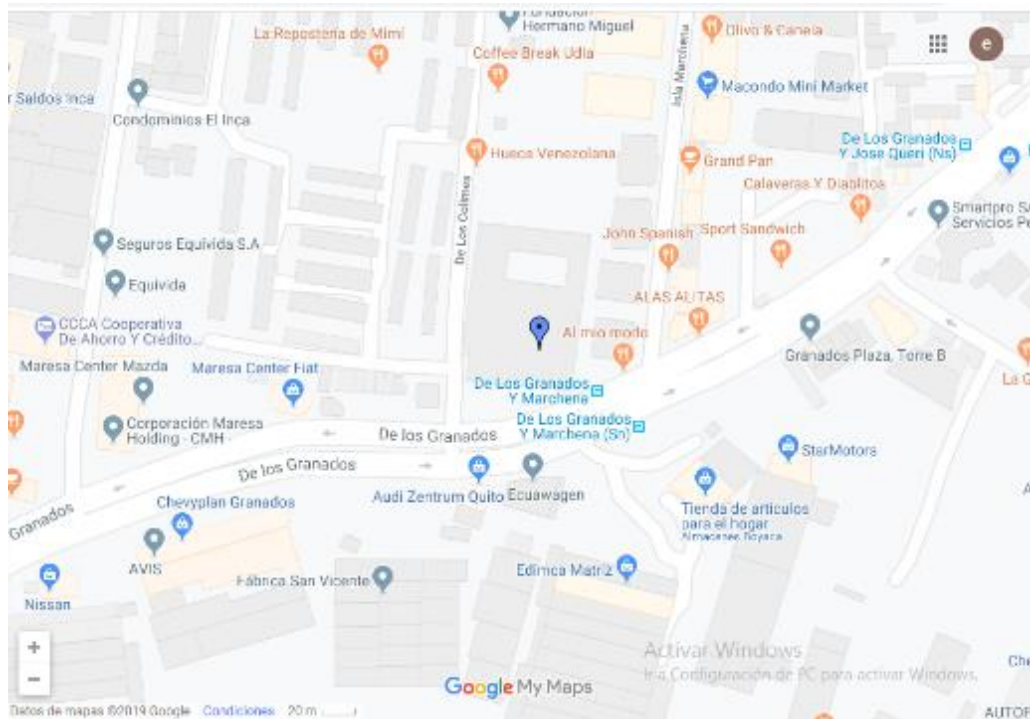


Figura 11 Mapa con la ubicación de la Universidad de las Américas sede Granados, laboratorio de histología. Tomado de (Google Maps, 2019).

3.2 Población y muestra

3.2.1 Población y muestra

El estudio, se realizó, a través de la lectura de 100 muestras histológicas, las cuales se encuentran clasificadas de la siguiente manera (Tabla 2):

Tabla 2.

Clasificación de la población de muestras.

Muestra histológica	Sani Isla	Indillama	Nueva Providencia
Lengua	5	5	5
Esófago	6	6	7
Estómago	6	5	6
Intestino delgado	5	6	6
Intestino Grueso	5	5	5
Cloaca	6	6	5
Total:	33	33	34
Total: 100 muestras			

3.2.2 Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión	Exclusión
Placas histológicas, pertenecientes al tracto gastrointestinal de tortugas charapas, de las comunidades Sani Isla, Indi llama y Nueva Providencia del Parque Nacional Yasuní.	Placas histológicas en precarias condiciones, rotas y manchadas.
Placas histológicas de lengua, estómago, esófago, intestino grueso, intestino delgado y cloaca de tortugas charapas juveniles, menores de 3 meses.	Placas histológicas con fijación no apropiada.
Placas histológicas en excelentes condiciones físicas, sin abolladuras que puedan distorsionar los resultados.	Placas histológicas con mala hidratación o mal montaje.
	Placas histológicas que presenten destrucción de células.

3.3 Materiales

- De laboratorio*

Microscopio óptico simple	Etanol
Papel para limpieza de lentes	Estuche para portaobjetos
Aceite de inmersión	

- Oficina*

Cuaderno universitario de 100 hojas	Lápiz portaminas	Bolígrafo de color azul
Resaltador	Borrador	Hojas de papel bond
Computador	Marcador permanente azul	Bolígrafo de color negro

3.4 Metodología

3.4.1 Levantamiento de la información

La información se encuentra organizada de la siguiente manera: De acuerdo al número de tortugas que fueron eutanaciadas para el estudio, por cada una de las comunidades dentro del Parque Nacional Yasuní (Sani Isla, Indillama y Nueva Providencia) y la muestra histológica que se obtuvo de la misma, ya sea, lengua, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso o cloaca. Para lo cual se implementaron las siguientes siglas. **SI**: Sani Isla, **I**: Indillama, **NP**: Nueva Providencia. A su vez cuenta con la letra **J** la cual indica que pertenece al sistema gastrointestinal y también posee numeración que nos indica el número de tortuga y el número de la muestra histológica.

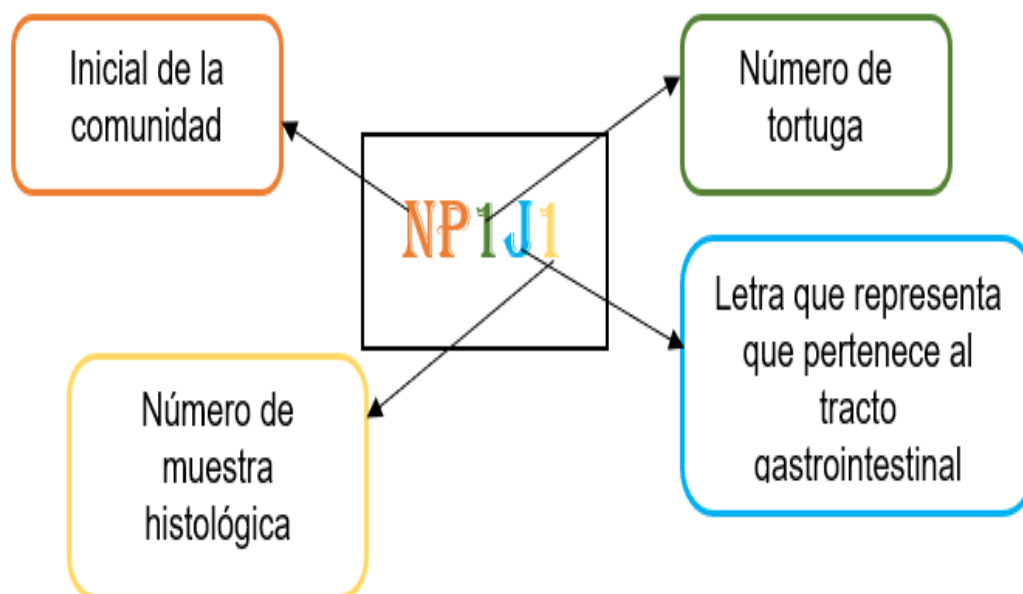


Tabla 3.
Organización de placas histológicas.

Sani Isla	SI1J1, SI2J2, SI3J3, SI4J4, SI5J5, SI6J6, SI7J7, SI8J8, SI9J9, SI1J2, SI2J1, SI3J1, SI4J1, SI5J1, SI6J1, SI7J1, SI8J1, SI9J1, SI1J3, SI2J3, SI4J3, SI5J3, SI5J3, SI6J3, SI7J3, SI8J3, SI9J3, SI1J4, SI2J4, SI3J4, SI4J4, SI5J4, SI6J4.
Indillama	I1J1, I2J2, I3J3, I4J4, I5J5, I6J6, I7J7, I8J8, I9J9, I1J2, I2J1, I3J1, I4J1, I5J1, I6J1, I7J1, I8J1, I9J1, I1J3, I2J3, I4J3, I5J3, I5J3, I6J3, I7J3, I8J3, I9J3, I1J4, I2J4, I3J4, I4J4, I5J4, I6J4.
Nueva Providencia	NP1J1, NP2J2, NP3J3, NP4J4, NP5J5, NP6J6, NP7J7, NP8J8, NP9J9, NP1J2, NP2J1, NP3J1, NP4J1, NP5J1, NP6J1, NP7J1, NP8J1, NP9J1, NP1J3, NP2J3, NP4J3, NP5J3, NP5J3, NP6J3, NP7J3, NP8J3, NP9J3, NP1J4, NP2J4, NP3J4, NP4J4, NP5J4, NP6J4, NP7J4.

3.4.2 Toma de muestras.

El protocolo para la toma de muestras fue tomado de (INSN, 2018).

Las placas fueron coloreadas mediante la tinción hematoxilina- eosina. La hematoxilina se caracteriza por ser un colorante básico, el cual tiene afinidad por las estructuras ácidas, en este caso específicamente a los ácidos nucleicos. Mientras que la eosina es un colorante de características ácidas el cual posee afinidad por las estructuras básicas, como son las proteínas. De esta manera aquellas estructuras que posean un pH intermedio se teñirán con ambos colorantes. A continuación, se especificarán cada uno de los pasos que se ejecutaron para la elaboración de las placas.

- a) **Fijación:** Elemento destinado a la prevención de la desnaturalización de elementos celulares, ya sea, por factores microbianos o por las propias proteínas

del tejido, motivo por el cual los tejidos deben atravesar este proceso inmediatamente al ser extraídos, de esta manera se conservará la adecuada estructura química y arquitectónica.

- b) **Deshidratación:** Proceso que se lleva a cabo con el propósito de eliminar en su totalidad restos de agua, de las muestras tisulares, con la finalidad de eliminar la condición hidrosoluble, para que de esta manera el tejido sea compatible con los medios de inclusión. Este paso se recomienda realizarlo de manera gradual para evitar daños.

- c) **Obtención de los cortes:** Aquí se utiliza una herramienta muy importante, el cual es el micrótopo, obteniendo de esta manera los cortes tisulares

deseados, los cuales deben ser precisos, delgados y parejos. Es recomendable que los cortes sean de 3 a 5 micrones.

- d) **Coloración:** Este proceso se realiza mediante la utilización de un determinado colorante, mismo que, no se despojará de su color ante la presencia de un disolvente. Existen diversos métodos que se pueden efectuar, entre los que cabe mencionar, la coloración directa, indirecta, regresiva, simple, combinada, panóptica y pancrómica.
- e) **Aclaración:** Este paso es considerado como el paso final de la tinción, cuyo objetivo se resume en la proyección de la transparencia celular, se recomienda la utilización de xilol o sus derivados.
- f) **Montaje:** Una vez que el tejido ya fue procesado se colocó sobre la una pequeña cantidad de bálsamo de Canadá, el cual debe encontrarse disuelto, se recomienda el uso de xilol o entellán, para cubrirlo posteriormente con el cubreobjetos correspondiente, dejándolo secar por varias horas, antes de poder realizar la observación en el microscopio (García, 2018).

3.4.3 Análisis de las muestras.

El análisis de las placas histológicas, con la finalidad de encontrar lesiones en los tejidos, se efectuó mediante la técnica de observación microscópica directa; ésta se caracteriza porque los materiales que se van a utilizar para la observación y estudio emplean colorantes, lo cual va a aumentar el contraste de la imagen, además de la revelación de detalles al ser analizadas por el microscopio (Guzmán, Ramirez, & López, 2009).

3.4.4 Descripción de las lesiones

La descripción de las lesiones microscópicas se fundamentó en la aplicación de un método sistemático que evaluó el corte histológico y se aplicó la ejecución de los siguientes puntos:

- Minimizar la omisión o sobrevaloración de las lesiones

- Organizar el proceso, a través de la elaboración de un listado el cual nos acerque hacia un diagnóstico morfológico.
- Realizar una descripción clara de las lesiones, así como, la elaboración de un escrito claro y conciso.

La descripción de las lesiones, se realizó de acuerdo a la experiencia que se adquirió, ya que, no existe una fórmula o ley universal para la ejecución de la misma. Al momento de la realización del estudio se deben responder las siguientes interrogantes, mismas que, son de importancia para evitar la omisión de información de relevancia (García, 2018).

- ¿Dónde se observa la alteración? Esta debe describirse de forma exacta, específicamente en la región anatómica del tejido en estudio.
- ¿Qué se observa? Esta es una de las interrogantes de mayor importancia, ya que, se debe considerar la descripción de las lesiones observadas.
- ¿En qué magnitud se observa? Esta parte nos indicará la gravedad o el grado de la lesión que se visualice.

El método adecuado para la observación de placas histológicas consiste principalmente en la evaluación de las condiciones normales histológicas, de esta manera se puede describir la presencia de lesiones focales (García, 2018). Para su efecto se deben seguir los siguientes pasos:

1. Para comenzar el estudio, se debe analizar completamente la placa histológica por lo que se recomienda empezar con el teleobjetivo 4X, teniendo una visión panorámica del mismo.
2. Para corroborar los hallazgos de lesiones se utiliza el teleobjetivo 10X, para tener una visión más cercana.
3. Para la evaluación más profunda, se utiliza el lente de 40X, específicamente para observar las alteraciones con detalle.

3.5 Análisis estadístico

El presente proyecto al considerarse como un estudio observacional, no se trabajó con un modelo estadístico propiamente dicho, ya que, se toma en consideración el reducido número de individuos en estudio, así como también, la heterogeneidad de la población. Así, se desarrolló un análisis observacional, esto quiere decir, que se organizó mediante los porcentajes de las lesiones, que se encuentren dentro de los tejidos de las placas en estudio y estos resultados se ordenaron mediante la utilización de Microsoft Excel (Figura 23).

3.6 Variables

Para la ejecución del presente estudio, se desarrollaron las siguientes variables:

Tabla 4.
Variables del estudio

Variables	Tipo de variable	Definición	Indicador	Unidad de medida	Ítems	Instrumentos
Lesiones histopatológicas en lengua, estómago, esófago, intestino grueso, intestino delgado y cloaca	Cualitativa Dicotómica	Valoración visual a través de estudio microscópico	Normal Anormal	n/a	Normal Anormal	Observación microscópica directa
Células Inflamatorias	Cualitativa Dicotómica	Valoración visual a través de estudio microscópico	Presencia Ausencia	n/a	Presencia Ausencia	Observación microscópica directa

Células Degenerativas	Cualitativa Dicotómica	Valoración visual a través de estudio microscópico	Presencia Ausencia	n/a	Presencia Ausencia	Observación microscópica directa
Células Neoplásicas	Cualitativa Dicotómica	Valoración visual a través de estudio microscópico	Presencia Ausencia	n/a	Presencia Ausencia	Observación microscópica directa
Disociación de estructura arquitectónicas	Cualitativa Dicotómica	Valoración visual a través de estudio microscópico	Presencia Ausencia	n/a	Presencia Ausencia	Observación microscópica directa
Depleción	Cualitativa Dicotómica	Valoración visual a través de estudio microscópico	Presencia Ausencia	n/a	Presencia Ausencia	Observación microscópica directa

4 CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis histopatológico

Este estudio, se basó en el análisis histopatológico del tracto gastrointestinal, específicamente de lengua, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y cloaca con un total de 100 muestras histológicas, las cuales provinieron de 30 ejemplares juveniles de tortugas charapas (*Podocnemis unifilis*) que se encuentran en la lista roja de especies en peligro de extinción del Ecuador, quienes conviven en condiciones de semicautiverio en tres comunidades del Parque Nacional Yasuní (Indillama, Nueva Providencia y Sani Isla) mostrando que los tejidos analizados se muestran aparentemente normales, ya que no se evidenciaron lesiones compatibles con procesos patológicos.

A continuación, se detallarán los hallazgos encontrados en cada uno de los órganos del tracto gastrointestinal, de forma descendente los cuales, confirman su condición normal.

4.1.1 Lengua

Se evaluó un total de 15 muestras histológicas, de dicho órgano, los cuales se dividieron de acuerdo a la comunidad que pertenecen de la siguiente manera:

Muestra histológica	Sani Isla	Indillama	Nueva Providencia
<i>Lengua</i>	5	5	5

Cada una de las muestras analizadas, mostró condiciones normales, ya que, no se evidenció la presencia de lesiones histológicas. Se puede destacar que la lengua se encuentra constituida por fibras musculares estriadas bien definidas (A), además se refleja la presencia de tejido conjuntivo intermuscular (B), el cual contiene una cantidad considerable de células adiposas, asimismo, en contacto con el tejido conjuntivo, se encuentra el tejido de la mucosa, formando una capa recia, que cubre el cuerpo muscular. Conjuntamente se observó la constitución de las papilas, las cuales se caracterizan por tener una estructura filiforme (C) y están estructuradas de una base conjuntiva procedente de la lámina propia de la mucosa y de un revestimiento epitelial con un estrato córneo relativamente grueso (Figura 12 y 13)

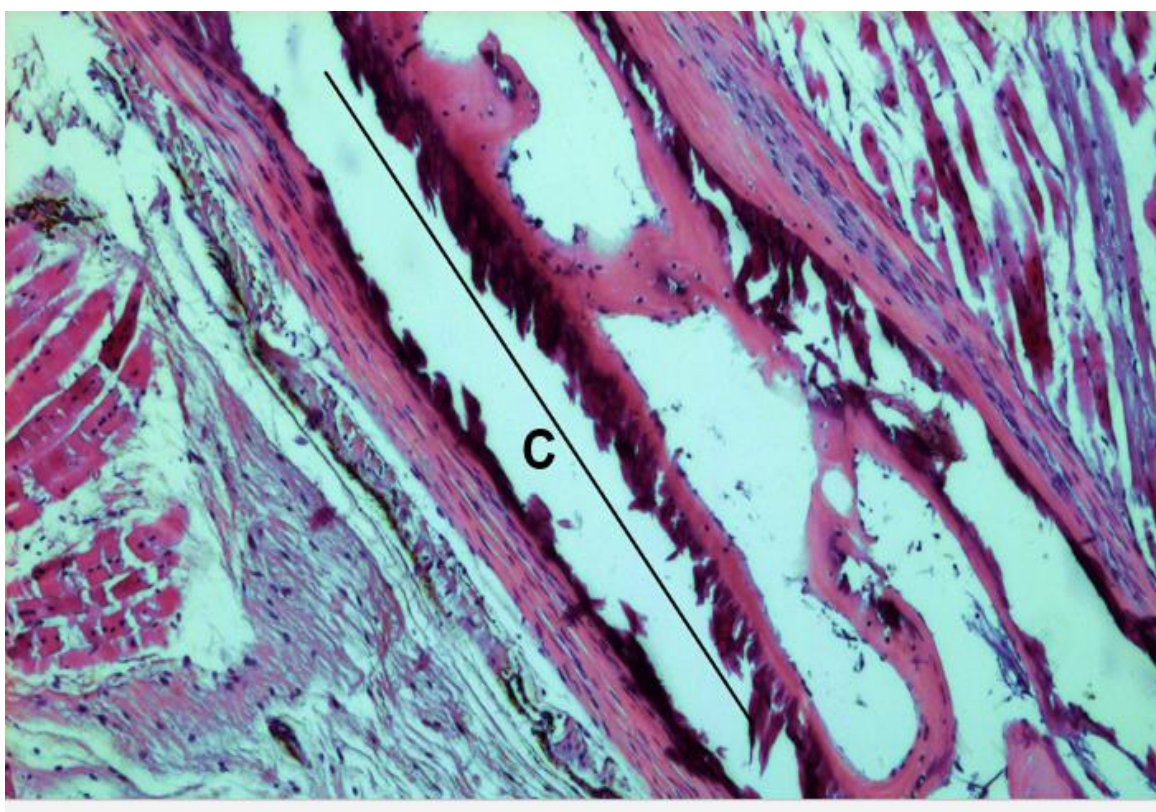


Figura 12. Corte histológico de lengua con coloración HE de una tortuga charapa juvenil (*Podocnemis unifilis*), en el cual se evidencia la presencia de papilas gustativas filiformes.

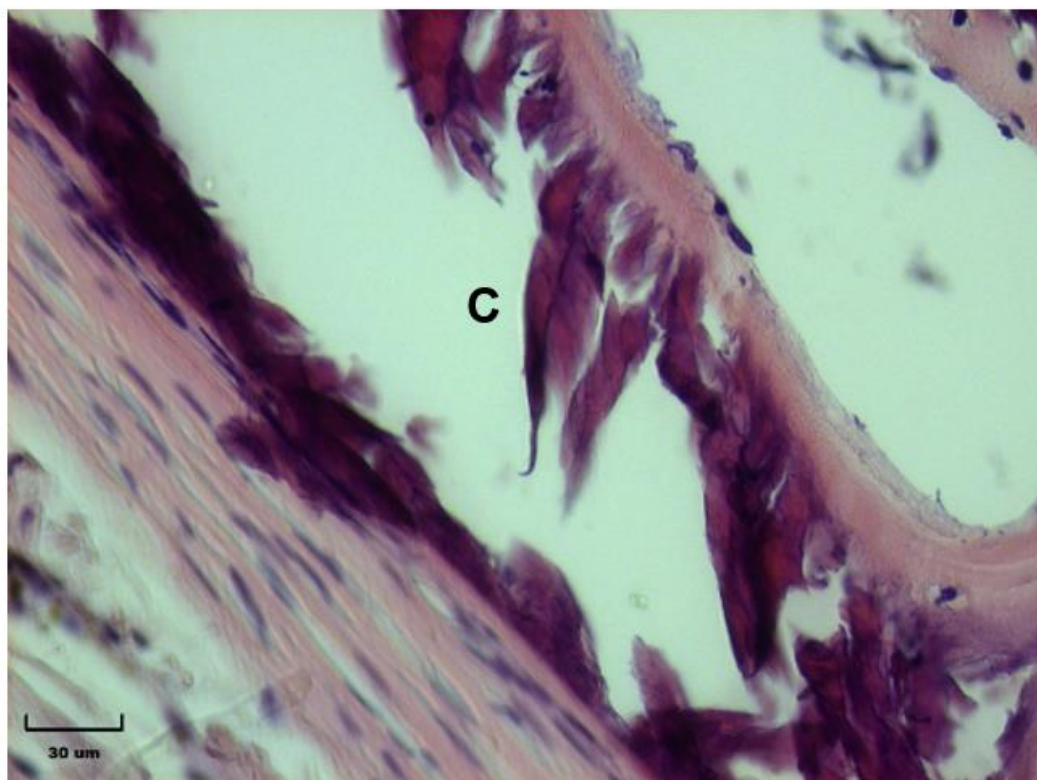


Figura 13. Corte histológico de lengua, con coloración HE perteneciente a una tortuga charapa, en donde se evidencia la presencia de papilas filiformes, compuesta por una base conjuntiva procedente de la lámina propia de la mucosa y un revestimiento epitelial con un estrato córneo relativamente grueso.

4.1.2 Esófago

Se evaluó un total de 19 muestras histológicas de dicho órgano, los cuales se encontraban divididos de acuerdo a la comunidad a la que pertenecen, de la siguiente manera:

Muestra histológica	Sani Isla	Indillama	Nueva Providencia
<i>Esófago</i>	6	6	7

Cada una de las muestras analizadas se encontraban normales, debido a que, reflejan características propias del tejido esofágico, y estaban carentes de lesiones. El esófago se constituye por tunicas, presentando un total de cuatro, pero en las placas histológicas estudiadas, solamente se puede apreciar la presencia de tres de ellas, debido a los cortes que se efectuaron al momento del procesamiento de las muestras. Teniendo así:

Túnica mucosa: La cual presenta pliegues longitudinales y a su vez se encuentra dividida en 3 capas.

- a) **Epitelio:** Posee un epitelio estratificado plano y cornificado (A).
- b) **Lámina propia o corion:** Constituida por fibras musculares, las cuales se encuentran muy juntas entre sí, evidenciándose la presencia de fibras elásticas (B).
- c) **Muscular de la mucosa:** Forma una capa discontinua de fibras lisas no longitudinales de manera incompleta, ya que, falta en ciertos puntos (Figura 14).

Túnica submucosa: Es laxa y se encuentra provista de glándulas mucosas y glándulas esofágicas, mismas que forman una capa continua (Figura 14).

Túnica muscular: Se encuentra formada por 2 capas, la interna provista de fibras circulares y la externa constituida por fibras longitudinales, siendo tejido muscular estriado (C) (Figura 14).

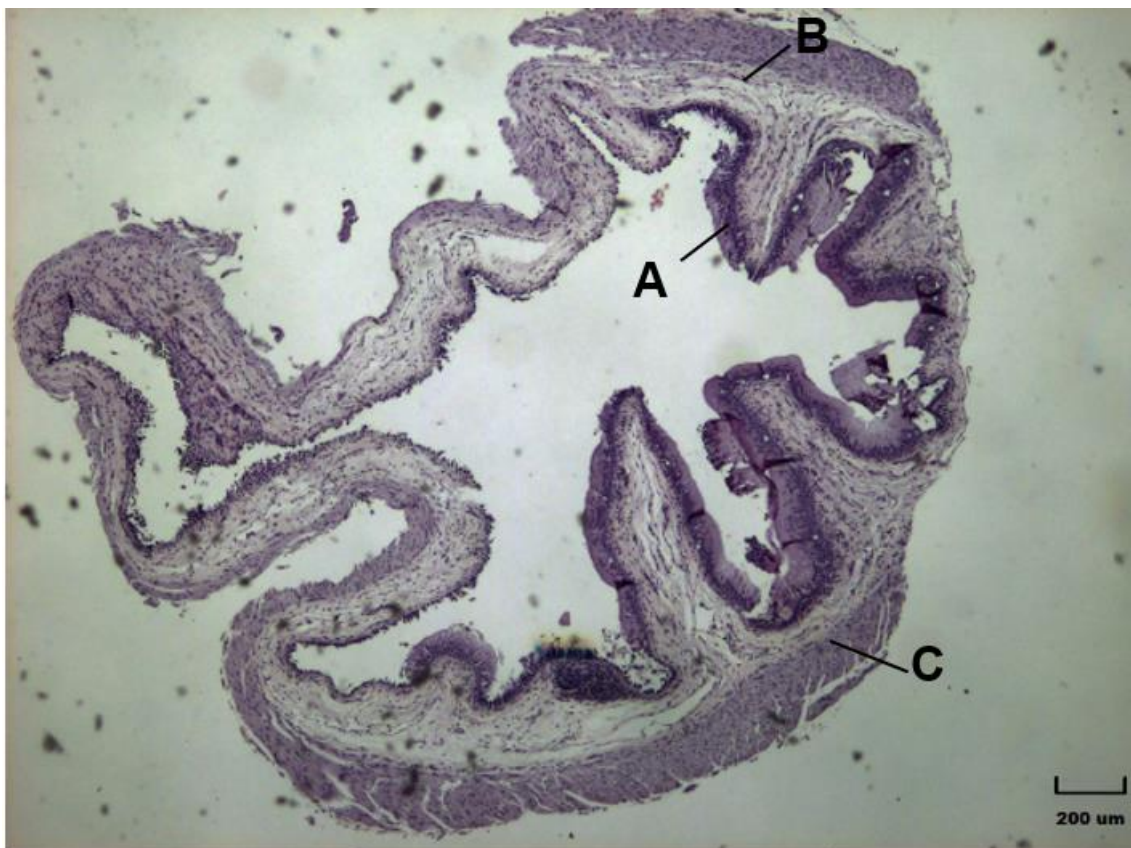


Figura 14. Corte histológico de esófago con coloración HE de una tortuga juvenil charapa (*Podocnemis unifilis*), en donde se puede evidenciar (A) el epitelio estratificado plano y cornificado, (B) corion o lámina propia, (C) capa muscular.

4.1.3 Estómago

Se evaluaron 17 muestras de tejido estomacal, las cuales de acuerdo a la comunidad perteneciente se dividieron de la siguiente manera:

Muestra histológica	Sani Isla	Indillama	Nueva Providencia
<i>Estómago</i>	6	5	6

De las 17 muestras estudiadas, todas arrojaron condiciones normales. Al igual que el esófago esta se encuentra conformada por cuatro tunicas.

Túnica mucosa: Presenta numerosos pliegues longitudinales, teniendo surcos poco marcados (TM).

- a) **Epitelio de revestimiento:** Conformado por células cilíndricas altas, dispuestas en una sola capa, presentando núcleos ovoides, situado en el tercio inferior de las células (Ep) Además posee células superficiales mucho secretoras (Cm) (Figura 16).

Túnica submucosa: Presenta células adiposas, además de la presencia de diversos vasos sanguíneos (TS) (Figura 15 y 16).

Túnica muscular: Formada capas de fibras musculares lisas, la circular interna y la longitudinal externa (TMu) (Figura 15 y 16).

Túnica serosa: Constituida por una capa de tejido conectivo laxo (TSe) (Figura 16).

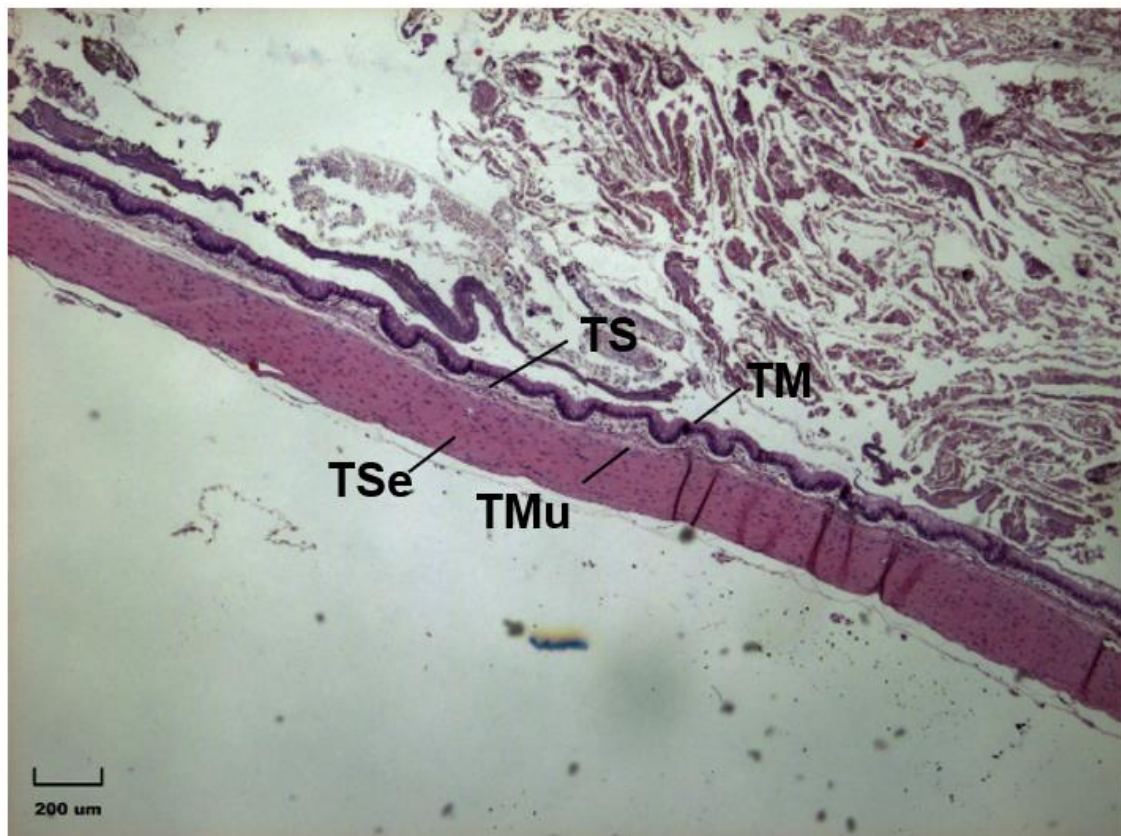


Figura 15. Corte histológico de estómago con coloración HE de una tortuga juvenil charapa (*Podocnemis unifilis*), en donde se puede evidenciar (TS) túnica mucosa, (TM) túnica submucosa, (TMu) túnica muscular y (TSe) túnica serosa.

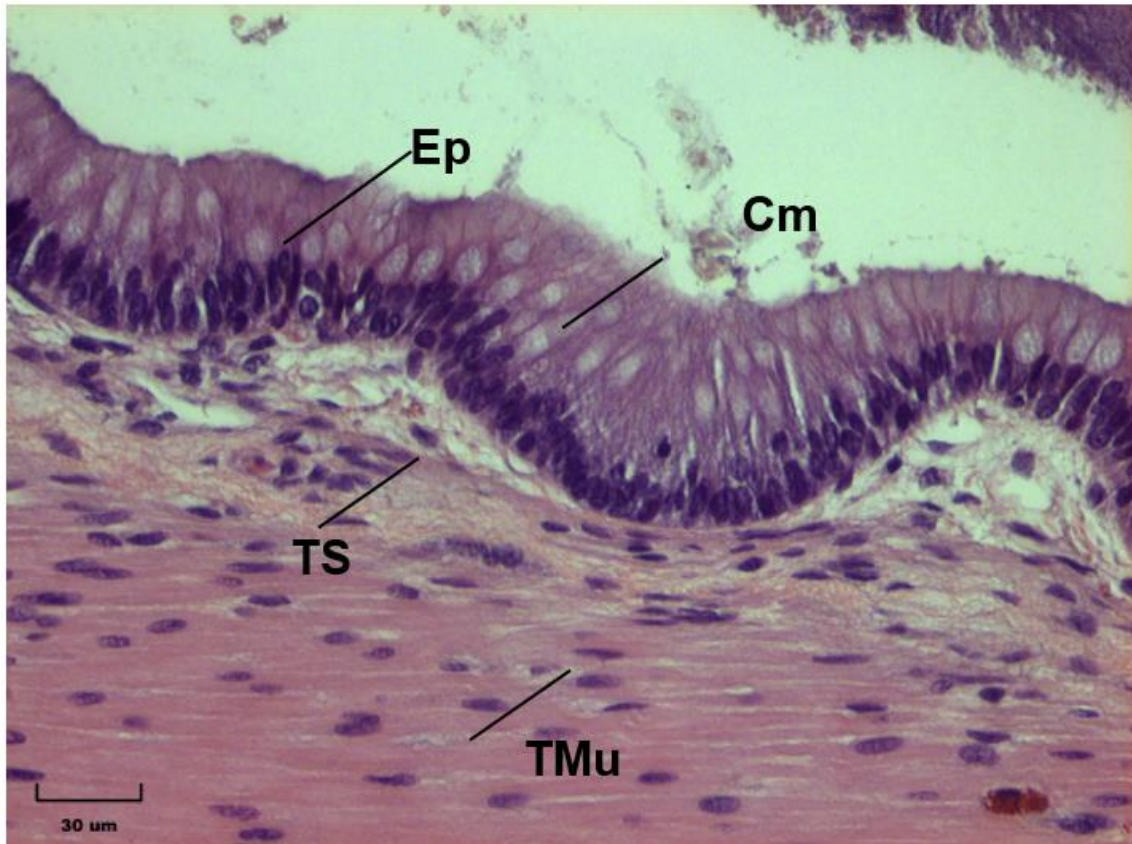


Figura 16. Corte histológico de estómago con coloración HE de una tortuga juvenil charapa (*Podocnemis unifilis*), en la que se puede apreciar (Ep) Epitelio de revestimiento simple conformado por células cilíndricas altas, (Cm) células superficiales mucho secretoras, (TS) túnica submucosa y (TMu) túnica muscular.

4.1.4 Intestino Delgado

Se analizaron un total de 17 muestras de tejido pertenecientes al intestino delgado, los cuales se clasifican de acuerdo a la comunidad respectiva de la siguiente manera:

Muestra histológica	Sani Isla	Indillama	Nueva Providencia
<i>Intestino delgado</i>	5	6	6

De las 17 muestras, ninguna evidenció la presencia de lesiones, destacándose las siguientes características que al igual que los órganos mencionados anteriormente, este se encuentra conformado por tres tunicas.

Túnica mucosa: Formado por pliegues circulares, denominados válvulas de Kerkring (Vk), asemejándose a una contextura aterciopelada. En esta túnica se destaca:

- a) **Epitelio:** Presenta un epitelio simple cilíndrico, con chapa estriada, en el que se presentan intercaladas células caliciformes (Ep) (Figura 17, 18 y 19).
- b) **Lámina propia (Lp):** Se encuentra conformada por (Lp) (Figura 17, 18 y 19):

Corion de la vellosidad: Presenta un tejido conectivo reticular, el cual presenta macrófagos e infiltrado de linfocitos y algunas células plasmáticas como neutrófilos y eosinófilos.

Corion interglandular: Posee fibras de reticulina y elastina. En la zona subglandular se observa una infiltración linfoidea difusa. En esta capa se evidencia la presencia de las criptas de Lieberkuhn (CL), (Figura 20) las cuales tienen una estructura tubular simple y se disponen paralelas entre sí, ocupando todo el espesor del corion.

- c) **Muscular de la mucosa:** Presenta fibras musculares lisas, con fibras perpendiculares entre sí.
- d) **Túnica submucosa:** Se compone de tejido conjuntivo laxo, contiene células adiposas, nódulos linfáticos y numerosos vasos (TS) (Figura 17, 18 y 19).
- e) **Túnica muscular:** Interna de fibras circulares y externa de fibras longitudinales (TMu) (Figura 17, 18 y 19).



Figura 17. Corte histológico de intestino delgado con coloración HE de una tortuga juvenil charapa (*Podocnemis unifilis*), en donde se puede apreciar (Ep) el epitelio de la túnica mucosa simple cilíndrico, (Lp) lámina propia, (TS) túnica submucosa y (TMu) túnica muscular.

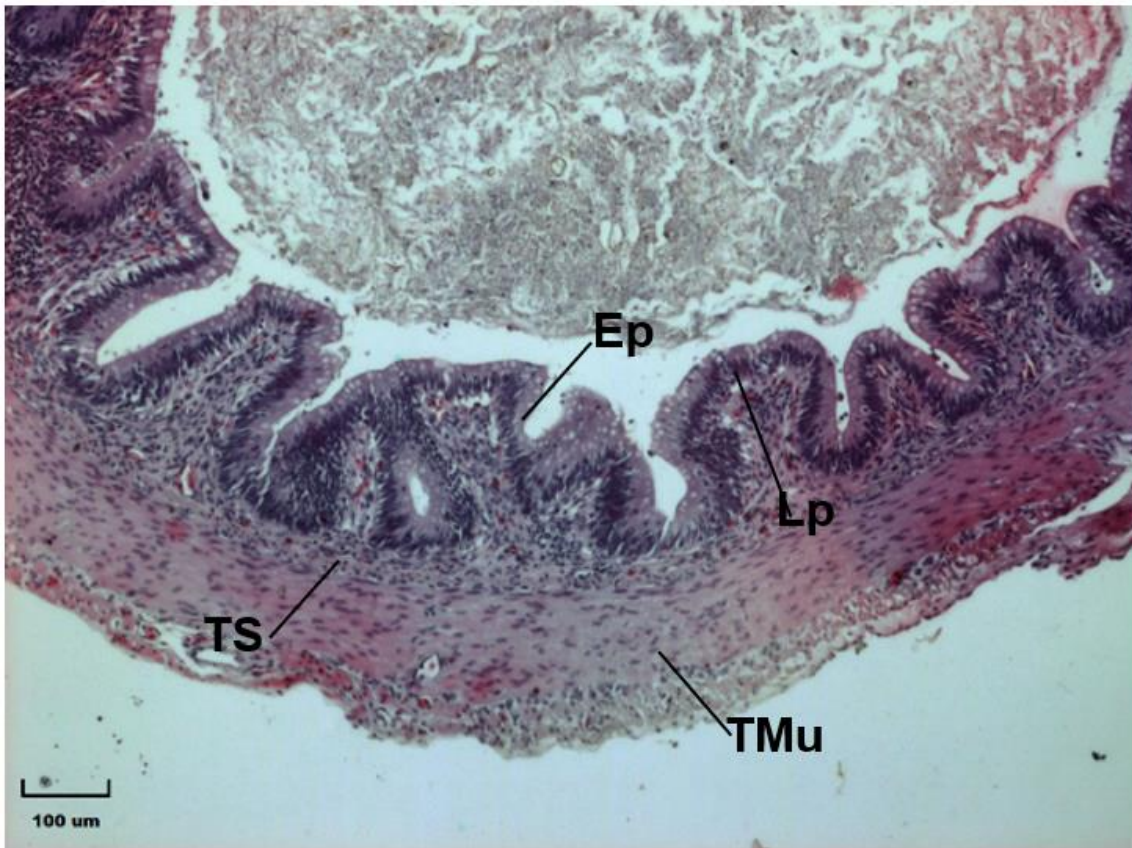


Figura 18. Corte histológico de intestino delgado con coloración HE de una tortuga juvenil charapa (*Podocnemis unifilis*), en donde se puede observar (Ep) el epitelio de la túnica mucosa simple cilíndrico, (Lp) lámina propia, (TS) túnica submucosa y (TMu) túnica muscular.

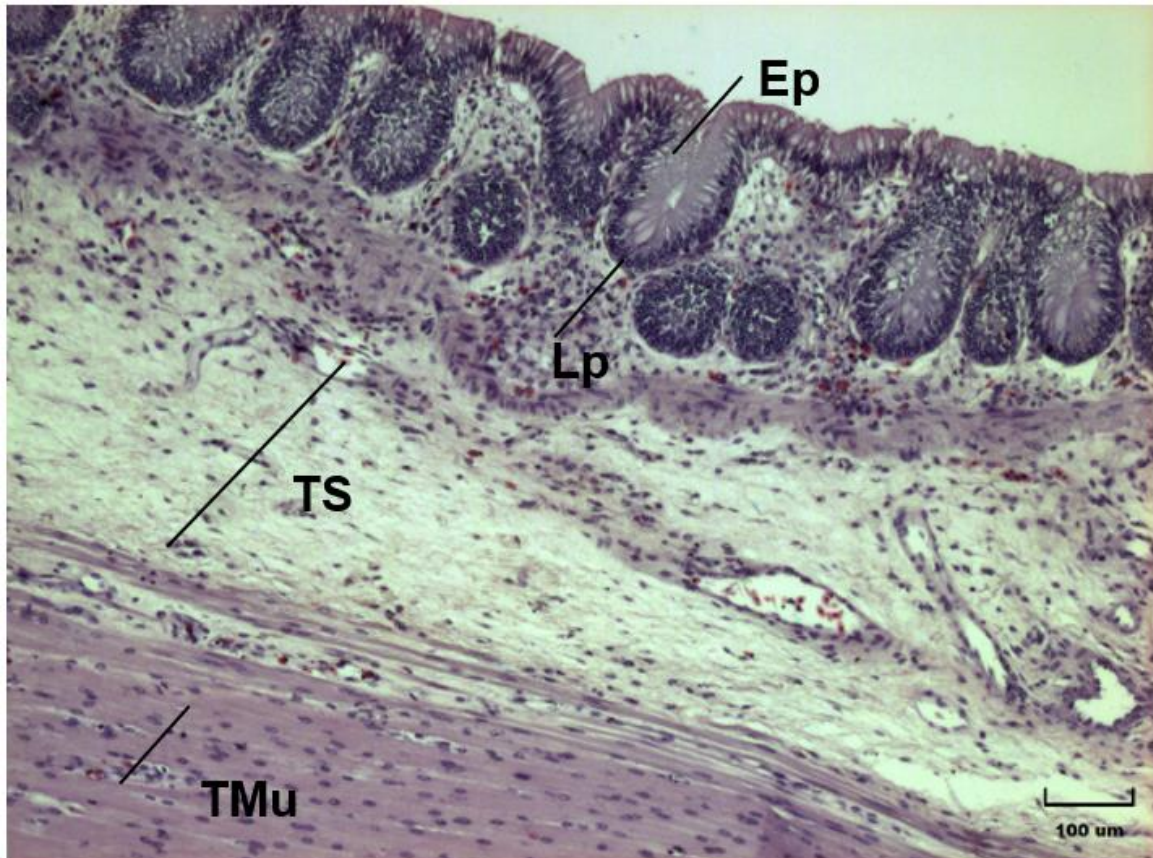


Figura 19. Corte histológico de intestino delgado con coloración HE de una tortuga juvenil charapa (*Podocnemis unifilis*), en donde se puede apreciar (Ep) el epitelio de la túnica mucosa simple cilíndrico, (Lp) lámina propia, (TS) túnica submucosa (TMu) túnica muscular.

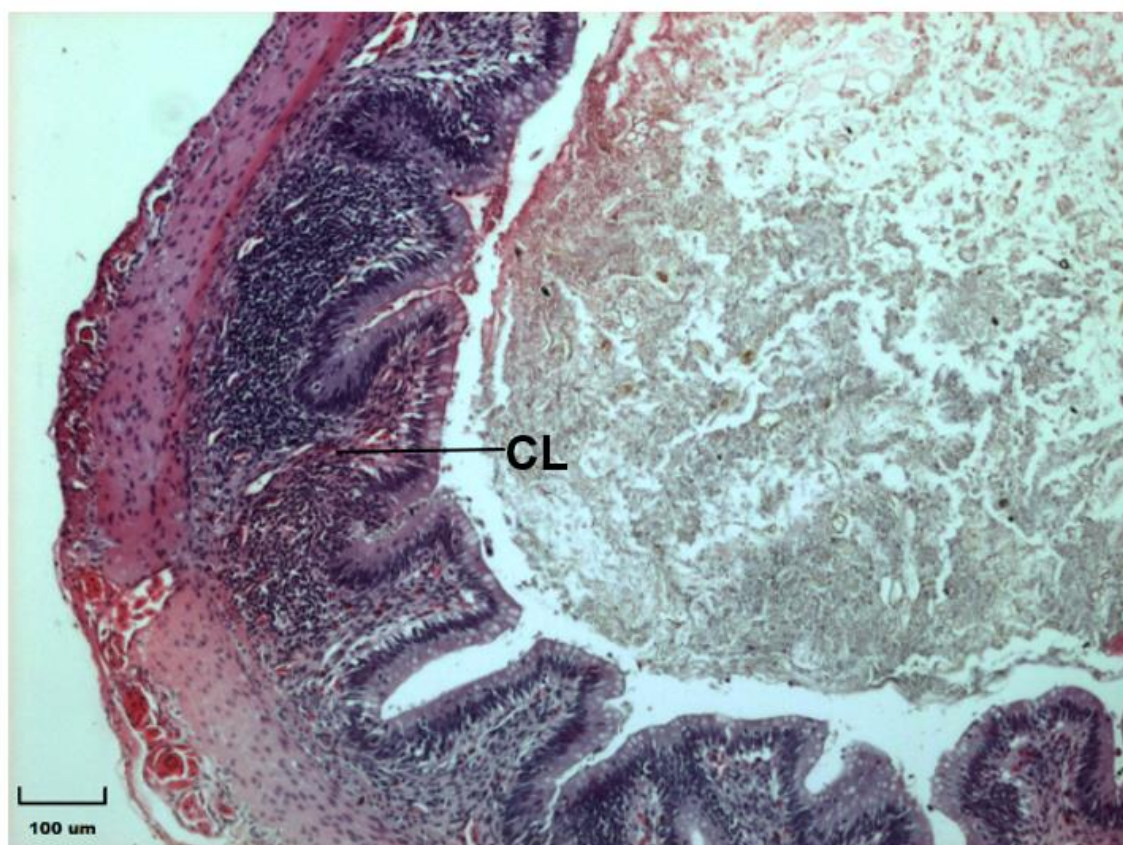


Figura 20. Corte histológico de intestino delgado con coloración HE de una tortuga juvenil charapa (*Podocnemis unifilis*), en el que se aprecia en la lámina propia, específicamente en el corion interglandular las criptas de Lieberkühn (CL).

4.1.5 Intestino Grueso

Se evaluaron 15 muestras de tejido, se dividieron de la siguiente manera:

Muestra histológica	Sani Isla	Indillama	Nueva Providencia
<i>Intestino Grueso</i>	5	5	5

Del total de las muestras estudiadas, ninguna presentó alteraciones ni lesiones lo que indica que los animales se encuentran en condiciones normales. Los hallazgos encontrados fueron los siguientes: estructura similar al intestino delgado, cuya principal diferencia es la ausencia de vellosidades y se encuentra constituida por tres tunicas, que muestran ciertas características.

Túnica mucosa: Compuesta por un epitelio cilíndrico simple, con chapa estriada delgada y escaza y con células caliciformes (Figura 21).

- a) **Lámina propia:** se encuentra conformada por glándulas de Lieberkühn, las cuales se caracterizan por ser rectas y regulares, ubicadas muy juntas entre sí.
- b) **Muscular de la mucosa:** conformada por fibras lisas, circulares internas y longitudinales externas.

Túnica submucosa: Se compone de tejido conjuntivo laxo, contiene células adiposas, nódulos linfáticos y numerosos vasos (Figura 21).

Túnica muscular: Consta de dos capas, la circular interna la cual se caracteriza por ser continua y la externa la cual forma franjas longitudinales (Figura 21).

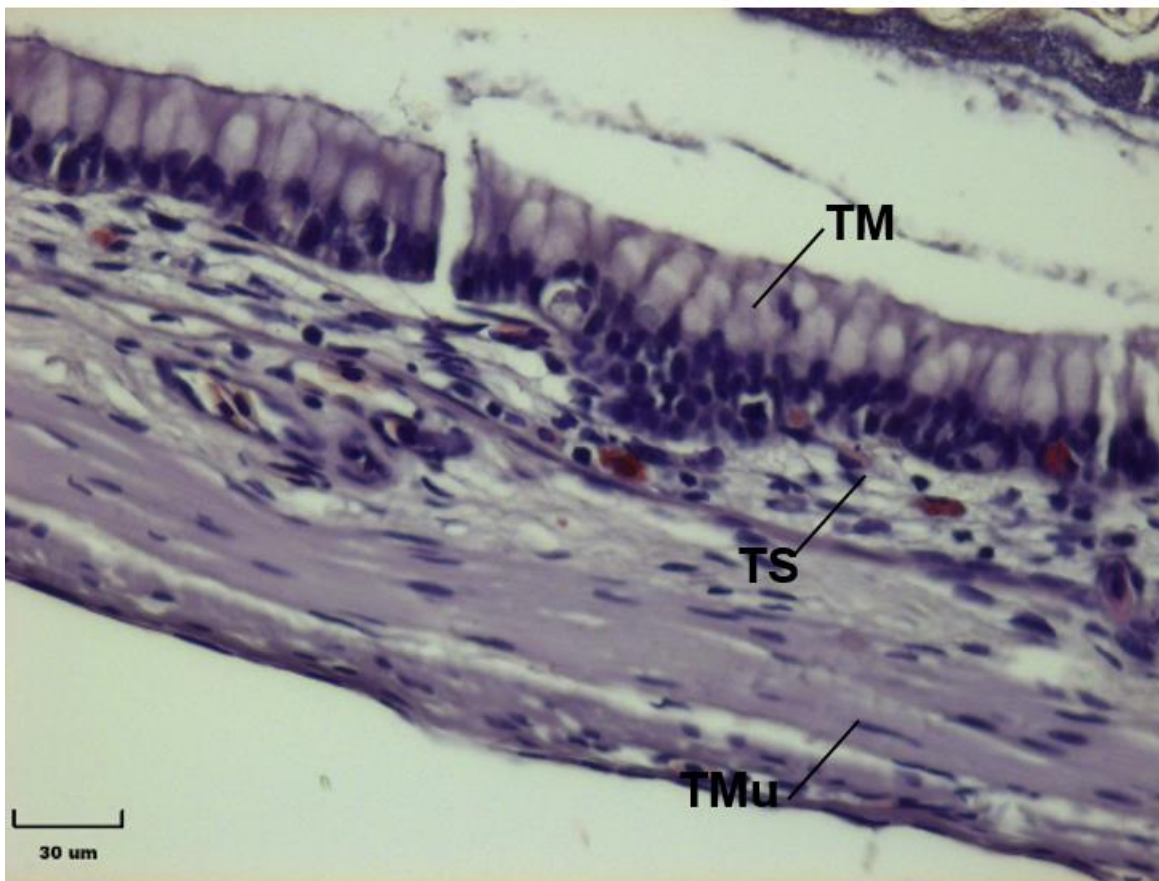


Figura 21. Corte histológico de intestino grueso con coloración HE de una tortuga juvenil charapa (*Podocnemis unifilis*), en donde se puede apreciar (TM) Ttúnica mucosa, (TS) túnica submucosa y (TMu) túnica muscular.

4.1.6 Cloaca

El estudio se basó en el análisis de 17 placas histológicas, mismas que, se encontraban clasificadas de la siguiente manera:

Muestra histológica	Sani Isla	Indillama	Nueva Providencia
<i>Cloaca</i>	6	6	5

Del total de las placas analizadas ninguna presentó condiciones anormales, ya que, no se evidenciaron lesiones compatibles con procesos patológicos, indicándonos de esta manera el buen estado de salud de los ejemplares juveniles.

La cloaca presenta una túnica mucosa (TM) conformada por epitelio cilíndrico pseudoestratificado, acompañado de células caliciformes, mientras que en las porciones terminales del mismo se evidencia un epitelio estratificado (Figura 22).

La túnica submucosa (TS), se caracteriza por la presencia de tejido linfoide y cercano al mismo se encuentra provisto por una capa muscular gruesa. Las porciones terminales se encuentran recubiertas por una túnica serosa externa (TSe) (Figura 22).

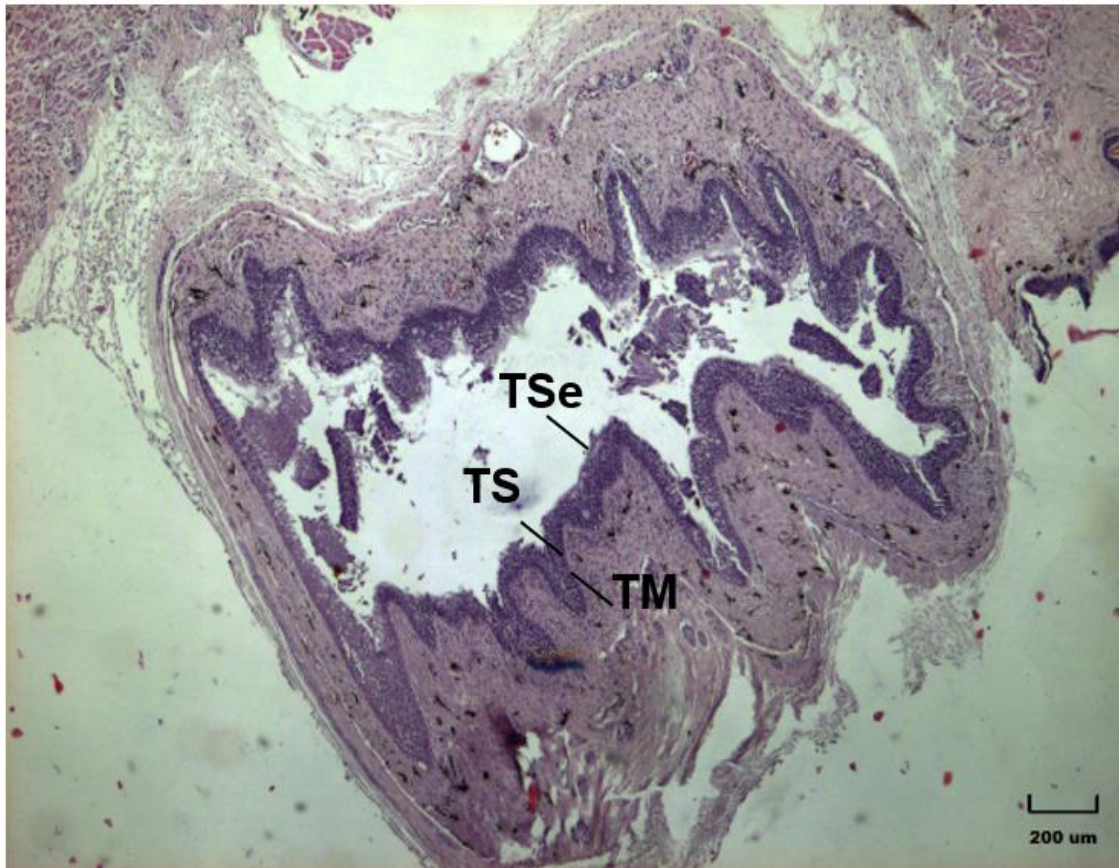


Figura 22. Corte histológico de intestino grueso con coloración HE de una tortuga juvenil charapa (*Podocnemis unifilis*), en el que se puede apreciar (TM) túnica mucosa, (TS) túnica submucosa, (TSe) túnica serosa.

Luego del análisis histopatológico de los órganos estudiados se determinó que no existen alteraciones patológicas en ninguno de los tejidos, indicando que el tracto gastrointestinal de las tortugas analizadas se muestra aparentemente sano o normal, en las tres poblaciones, sin señales microscópicas de alteraciones patológicas (figura 23).

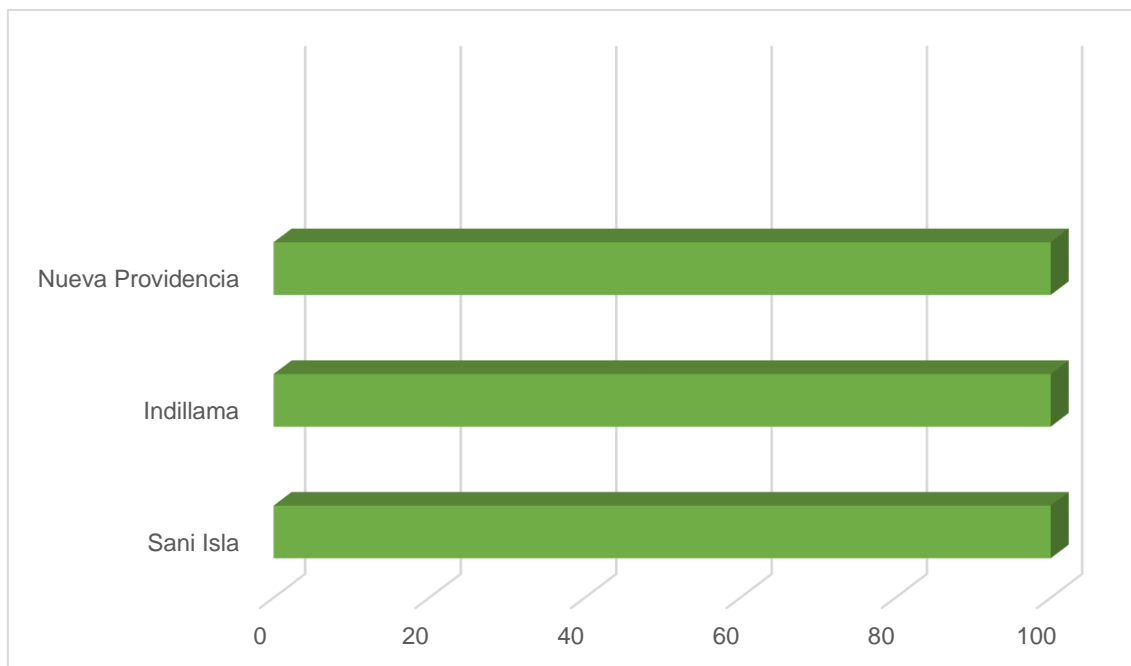


Figura 23. Diagrama de barras, que indica el porcentaje de normalidad presente en los tejidos de las placas histológicas que se estudiaron en la presente investigación, el cual muestra que el 100% de las muestras estudiadas muestran tejidos normales, debido a que, no se aprecian lesiones.

4.2 Discusión de los resultados

La histopatología es considerada una rama de la patología, la cual abarca el diagnóstico de diversas patologías, mediante el análisis microscópico de los tejidos, desempeñando de esta manera un importante rol en el diagnóstico veterinario, ya que, nos permite identificar alteraciones estructurales en los tejidos y determinar la naturaleza de los mismos (Yumusak, 2016).

Por ende, este estudio fue de vital importancia, debido a que, da la iniciativa hacia nuevas investigaciones en el Ecuador, sobre todo en la ejecución de estudios histopatológicos en ejemplares de quelonios. Estudios que deben ir acompañados de estudios macroscópicos, como se realizó previo a esta investigación en el año 2018, por Jacqueline Pasos, el cual determinó condiciones normales para los órganos y glándulas anexas del aparato digestivo

de los quelonios; de igual manera en esta investigación se abordó la parte microscópica, mediante el estudio de los tejidos pertenecientes a este sistema, mostrando de la misma manera resultados normales, los cuales corroboran el estado de salud de dichos ejemplares juveniles de tortugas charapas.

En cuanto a la lengua, para confirmar que se encuentra en condiciones normales se debe encontrar conformada por fibras musculares estriadas, acompañadas de tejido conjuntivo el cual se va a ubicar intermuscular, y contar con la presencia de un número considerable de células adiposas (Vásconez, Egas, & Ricaurte, 2017). Además, en contacto con dicho tejido se encontrará el tejido de la mucosa, el cual va a ser fuerte y va a cubrir todo el cuerpo muscular, esta se va a caracterizar por ser abundante en nervios, además de contribuir a la formación del cuerpo papilar. En este caso la especie *Podocnemis unifilis* va a contar con la presencia de papilas filiformes, las cuales se caracterizan por ser mecánicamente activas, estructuradas por una base conjuntiva la cual se origina de la lámina propia de la mucosa y posee un revestimiento epitelial, acompañada de un estrato córneo con textura amplia. En cuanto al esófago, de la misma manera, presentó una condición normal, lo que quiere decir que no se manifestaron la presencia de lesiones. Lo cual se puede confirmar, a través de las características representativas, propias y normales del tejido como tal. El esófago se encuentra constituido por una túnica mucosa, la cual va a presentar un epitelio pavimentoso estratificado, cuenta con una lámina propia conformada por fibras conjuntivas elásticas y una capa muscular propia de la túnica mucosa de características lisas discontinuas, siendo evidente en la cara profunda de la lámina propia (Ahmed, Hafez, & Zayed, 2009). La túnica submucosa es de característica laxa que en ciertos casos se evidencia la presencia de glándulas esofágicas y glándulas mucosas las cuales van a desembocar en la luz del esófago, además de estar provista de nervios, vasos linfáticos y sanguíneos (Rahman & Sharma, 2014). La túnica muscular se encuentra provista de una capa interna de fibras musculares estriadas circulares y una capa externa constituida por fibras musculares estriadas longitudinales, cuando estas capas

se aproximan hacia el estómago las fibras musculares van a cambiar de estriadas a lisas (Arcellos & Arlos, 2014). La túnica adventicia se halla provista por tejido conjuntivo laxo, las cuales al alcanzar porciones abdominales van a constituirse por una serosa (Vásconez *et al.*, 2017). En el caso de las láminas estudiadas esta última túnica no se pudo visualizar debido al corte efectuado en el procesamiento de las muestras.

El estómago, se mostró carente de lesiones a nivel microscópico. De acuerdo, a estudios previos, la estructura normal del tejido se caracteriza por estar compuesta por una túnica mucosa la cual presenta numerosos pliegues distribuidos longitudinalmente los cuales se aprecian cuando el estómago se encuentra vacío, mientras que, desaparecen cuando este se encuentra lleno, al momento de distenderse; el epitelio es simple cilíndrico, además de poseer células caliciformes especializadas, propias del estómago las cuales difieren de otros órganos del tracto gastrointestinal (Ivanova, Rossolko, & Puzyrev, 2007). El corion o lámina propia presenta glándulas según la zona del estómago en la que se encuentra; en este caso debido a que los ejemplares estudiados eran juveniles no se evidenció la diferenciación de las zonas por las que se encuentra conformado el estómago, como son, la región fúndica, cardíaca y pilórica, las cuales presentan una variedad de células como las principales, parietales y argentafines, mismas que en este estudio no se lograron apreciar (Arcellos & Arlos, 2014). La túnica submucosa se caracteriza por ser amplia de consistencia flácida, la cual es la responsable de la formación de los pliegues de la mucosa, a su vez ocasiona su desplazamiento, la cual también cuenta con la presencia de células adiposas, así como también de vasos y nervios (Pressler, Goodman, Harms, Hawkins, & Lewbart, 2003). La túnica muscular se encuentra conformada por fibras musculares lisas una circular interna y una externa longitudinal, la cual en diversos puntos se aprecia una capa discontinua de fibras musculares lisas oblicuas, que se encuentran situadas dentro de las anteriores, las mismas que en este estudio no se apreciaron por la longitud de los cortes obtenidos, la región pilórica del estómago además contiene fibras musculares

circulares y oblicuas, las cuales van a desarrollarse constituyendo el esfínter pilórico (Arcellos & Arlos, 2014). La túnica serosa es la más extensa y se conforma de tejido conectivo laxo, revestida por la presencia de células mesoteliales (Vásconez *et al.*, 2017).

El intestino delgado, no evidenció la presencia de lesiones. De acuerdo con estudios realizados a ejemplares afines a la especie *Podocnemis uniflis*, cabe mencionar que, debido a la longitud de los ejemplares juveniles estudiados, no se pudo diferenciar las regiones del duodeno, yeyuno e íleon. Histológicamente se encuentra conformado por una túnica mucosa la cual presenta pliegues circulares a los cuales se los denomina válvulas de Kerckring, teniendo una apariencia aterciopelada, ocasionado por las formaciones cónicas de las vellosidades intestinales, las cuales son características de dicho órgano, el epitelio va a ser simple cilíndrico con la presencia de chapa estriada con células caliciformes intercaladas, teniendo forma de copa, la porción superior va a ser dilatada, repleta de moco y en donde se va a encontrar las criptas de Lieberkhun las cuales tienen como característica ser simples tubulares, rara vez ramificadas, rectas y paralelas entre sí (Ontiveros Tlachi, Muñoz Tenería, & Anzaldúa Arce, 2014). La lámina propia va a componer el corion de la vellosidad que es tejido conectivo reticular el cual es rico en macrófagos, así como infiltrado de linfocitos, pueden presentarse algunas fibras musculares lisas las cuales van a ser dependientes de la musculatura de la mucosa, mientras que, el corion interglandular es rico en fibras elásticas y de reticulina, en ciertos casos se puede apreciar una infiltración linfoidea difusa y la capa muscular de la mucosa se halla provista de fibras musculares lisas (Arcellos & Arlos, 2014). La túnica submucosa, está compuesta por tejido conjuntivo laxo el cual a su vez contiene redes elásticas, numerosos vasos sanguíneos y nervios, así como también nódulos linfáticos. En la mucosa del duodeno se hallan las glándulas de Brunner, mismas que en este estudio no se pudieron identificar, por el tamaño longitudinal de los ejemplares estudiados los cuales fueron juveniles. La túnica muscular se

encuentra compuesta por fibras circulares internas y externas longitudinales (Rahman & Sharma, 2014).

El intestino grueso, de la misma manera que los órganos mencionados anteriormente no presentaron lesiones, debido a la longitud de los ejemplares seleccionados para este estudio, su condición de juveniles, así como la disposición de los tejidos en las placas histológicas que se procesaron, no se diferenció la parte ascendente, transversa y descendente del órgano. Histológicamente este órgano se encuentra compuesto por una túnica mucosa que presenta un epitelio cilíndrico simple que contiene una chapa estriada delgada y una escasa presencia de células caliciforme (Vàsconez *et al.*, 2017). La lámina propia se encuentra provista de criptas de Lieberkühn, mismas que no se pudieron evidenciar en las muestras histológicas analizadas, ya que, los cortes histológicos obtenidos del órgano, no las poseían; En condiciones normales en la parte terminal del órgano se manifiestan las columnas rectales o de Morgagni, las cuales no se evidenciaron por las razones anteriormente mencionadas. La muscular de la mucosa se encuentra conformada por fibras lisas internas circulares y externas longitudinales (Chen, Ye, Lu, Duan, & Li, 2015). La túnica submucosa es rica en vasos sanguíneos y en ella se encuentran los elementos del plexo simpático de Meissner. La túnica muscular va a encontrarse compuesta por una capa circular interna continua la cual tiene como característica su condensación en la parte terminal, cerca de la cloaca en tres franjas longitudinales posterolaterales y anterior (Vàsconez *et al.*, 2017). La túnica serosa presente en las partes dorsales del órgano, se transforma en adventicia en las partes terminales, que, en el presente estudio, no se identificó, debido a la disposición de los tejidos en las placas.

La cloaca no presentó alteraciones estructurales, normalmente esta se aloja sobre el pubis y se prolonga dentro de la cola, teniendo una apariencia cilíndrica, mientras que en la porción anterior se encuentra el urodelo, el cual proviene de la vejiga urinaria, del intestino posterior proviene el coprodeo y las bolsas cloacales, estas se ubican lateralmente a la cloaca, teniendo contacto con los

músculos abdominales (Chen et al., 2015), estas estructuras no se incluyeron dentro del estudio. Histológicamente la cloaca posee una túnica mucosa, la cual se encuentra compuesta por tejido epitelial, específicamente cilíndrico pseudoestratificado, el cual tiene células caliciformes, mientras que en las porciones finales el epitelio va a cambiar por un epitelio plano estratificado. La túnica submucosa se caracteriza por poseer tejido linfoide, la túnica muscular se caracteriza por ser gruesa para finalmente contar con una capa serosa externa (Hernández & Rodríguez, 2013).

Por otro lado, hay que destacar la trascendencia de las tortugas charapas en los ecosistemas, así como la importancia de los programas de conservación.

Uno de los principales motivos que justifica su conservación es su importancia ecológica, ya que, dicha especie se caracteriza por ser dispersora de semillas, especialmente de semillas frutales, lo que contribuye a la colonización de nuevos hábitats, así como a la distribución de semillas a los lugares donde la densidad de plantas es considerablemente menor, aumentando la probabilidad de sobrevivencia de plantas a través de la reducción de las tasas de predación, herbívoros y las infestaciones de patógenos. Cabe destacar que el paso a través del tracto digestivo de *Podocnemis unifilis* no afecta la viabilidad de la semilla a comparación de diversas especies de aves y mamíferos que cumplen la misma función (Jerozolinski, Ribeiro & Martens, 2012).

Asimismo, forman parte de la cadena alimenticia, ya que, sirven de alimento para otras especies de anfibios, aves, mamíferos, así como de reptiles, debido al consumo de su carne, así como de sus huevos. Considerando que a nivel nutricional posee un alto contenido proteico, baja proporción de grasa, acompañada de un alto nivel calórico (Casal et al., 2014). Concluyendo que la extinción de la especie podría afectar de manera representativa el funcionamiento de los ecosistemas, así como a la estructura de las comunidades biológicas mundiales.

Según la revista científica BioScience de la Universidad de Oxford, recalca que la conservación in situ de poblaciones viables en ecosistemas naturales es ampliamente reconocida como un requisito fundamental para el mantenimiento de la biodiversidad (Gaston et al., 2004). En este caso hay que tomar en cuenta, el programa de conservación, pautado por la Wildlife Conservation Society el cual está orientado a la conservación de la especie en las comunidades Nueva Providencia, Sani Isla e Indillama, trae consigo varios beneficios como la fomentación del turismo, así como, la generación de ingresos económicos. Esto a cambio de la mitigación de la disminución de las poblaciones de tortugas charapas, acompañada de una educación ambiental a los pobladores locales, mediante talleres de capacitación, recalcando su importancia en la conservación de los ecosistemas (Cueva, Utreras & Muñoz, 2010).

Para finalizar, cabe mencionar que el programa de conservación implantado por la WSC Ecuador, abarca diversos beneficios, tanto para la mitigación de la reducción de los ejemplares que se encuentran en la lista de roja de especies en peligro de extinción, como para la comunidad, trayendo consigo beneficios económicos, lo que fomenta la participación de la comunidad, así como la educación a futuras generaciones sobre la importancia del cuidado a los ecosistemas.

5 CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

Después de la realización del estudio histopatológico del tracto gastrointestinal de tortugas charapas (*Podocnemis unifilis*) de las comunidades Nueva Providencia, Sani Isla e Indillama del Parque Nacional Yasuní, a través de observación microscópica, para la identificación de lesiones que pueden indicar procesos patológicos, se determinó resultados negativos, es decir, que no se encontró la presencia de lesiones en los tejidos estudiados, lo que, en conjunto con el estudio macroscópico, llevado a cabo, en el año 2018, que también mostró resultados negativos, ante la presencia de anormalidades o lesiones, se puede aseverar, que los ejemplares juveniles, muestran un tracto gastrointestinal aparentemente sano, indicando que las condiciones de semi cautiverio en el que se encuentran y el programa de conservación de la especie ejecutado por la *Wildlife Conservation Society Ecuador* está siendo exitosa, sin embargo, hay que tomar en cuenta investigaciones de otros órganos y sistemas para confirmar dicha afirmación.

Durante la realización de esta investigación se recopiló información de enfermedades infecciosas, destacando las principales en cuanto a agentes infecciosos (virus, bacterias y parásitos), aquellas no infecciosas como alimentarias, traumáticas y las relacionadas con el daño a los ecosistemas de origen antropológico que afectan el tracto gastrointestinal de tortugas, en el Parque Nacional Yasuní, mediante una compilación bibliográfica, que puede servir como guía para compararlo con las lesiones encontradas a nivel histológico, y que en el presente estudio muestra que no hay compatibilidad con las muestras histológicas estudiadas, concluyendo que los hallados microscópicos no tienen relación con ninguna de estas patologías.

6 CAPÍTULO VI RECOMENDACIONES

Este estudio se enfocó en los ejemplares juveniles de tortugas charapas que se encontraban viviendo en condiciones de semicautiverio, con la finalidad de llevar a cabo un programa de conservación de la especie por encontrarse en peligro de extinción donde se mostró que los animales presentan un sistema gastrointestinal sano, sin embargo, se debería realizar un seguimiento de los ejemplares liberados, en cuanto al estado de salud una vez que se encuentren viviendo en su hábitat natural y así incentivar la investigación veterinaria en el país.

Además, se recomienda el estudio histopatológico de ejemplares adultos, ya que, se podría realizar la identificación de las estructuras en su totalidad, ya que en animales jóvenes es más difícil su identificación, por el tamaño de las estructuras.

Se recomienda también que, en estudios futuros, la monitorización del estado sanitario de la especie se efectúe con prontitud, así como el procesamiento de las muestras en el momento de la necropsia para la realización de estudios histopatológicos, para evitar la pérdida estructural y arquitectónica de ciertos tejidos.

REFERENCIAS

- Ahmed, Hafez, & Zayed. (2009). *Histological and Histochemical Studies on the Esophagus , Stomach and Small Intestines of Varanus niloticus* *Histological and Histochemical Studies on the Esophagus , Stomach and Small Intestines of Varanus niloticus.* (April). <https://doi.org/10.21608/jva.2009.45136>
- Arcellos, F. E. M. B., & Arlos, C. (2014). *MORPHOLOGY OF THE DIGESTIVE TUBE OF THE PODOCNEMIDIDAE IN THE MORPHOLOGY OF THE DIGESTIVE TUBE OF THE.* (July 2018).
- Arévalo, Arias, Monge, & Arias. (2008). *Scielo Perú.* Obtenido de Biopsia de colon: características histológicas en diferentes tipos de Colitis Crónica. : http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292008000200006
- Avsever, M. L., & Tunaligil, S. (2016). *First isolation of enteropathogenic Escherichia coli from land turtles (Testudo graeca iberica) cultured in Turkey.* (Figure 1), 407–410.
- Bravo, E. (2007). *Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad.* 1–61.
- Cardona, J., Paredes, E., & Fernández, H. (2009). *GASTRITIS ASOCIADA A LA PRESENCIA DE Helicobacter spp EN ESTÓMAGOS DE CABALLOS CHARACTERIZATION HISTOPATOLOGICAL OF GASTRITIS ASSOCIATED TO Helicobacter spp PRESENCE IN STOMACHES OF HORSES.* 14(2), 1750–1755.
- Carrillo, E., Aldás , M., Altamirano, F., Ayala, F., Cisneros, D., Endara, A., Zárate, P. (2005). *ista roja de los reptiles del Ecuador. Fundación Novum Milenium, UICN-Sur, UICN-Comité Ecuatoriano, Ministerio de Educación y Cultura, Serie Proyecto Peepe.* Quito.

- Carvajal, A. (2018). *PUCE*. Obtenido de Reptiles del Ecuador: <https://bioweb.bio/faunaweb/reptiliaweb/FichaEspecie/Podocnemis%20unifilis>
- Cesar, J., Junior, M., Marinho, M., Táparo, C. V., & Bosco, J. (2015). *Enterobacterias en tortugas silvestres y cautivas del Amazonas , Podocnemis expansa (Testudines: Podocnemididae)*. 63(December), 1083–1089.
- Chen, H., Ye, M., Lu, Y., Duan, J., & Li, P. (2015). Structure and Function of the Gastrointestinal Tract of the Green Turtle (*Chelonia mydas*) Hatchling. *Asian Herpetological Research*, 6(4), 317–330. <https://doi.org/10.16373/j.cnki.ahr.140074>
- Cisneros-Heredia. (2006). *Turtles of the Tiputini Biodiversity Station with remarks on the diversity and distribution of the Testudines from Ecuador*. Ecuador: Biota Neotropica.
- Cobos, R. M., & Ribas, R. (2005). *Reptiles : Tortugas , Serpientes , Lagartos*.
- Costa, L., Rosivaldo, D., De Oliveira, M., Pignati, W., & Brito, C. (2018). *PubMed*. Obtenido de Levels of organochlorine pesticides in Amazon turtle (*Podocnemis unifilis*) in the Xingu River, Brazil): <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03601234.2018.1505077?journalCode=lesb20>
- Cueva, R., Utreras, V., & Muñoz, I. (2010). *Manejo Comunitario de tortugas charapas en comunidades Kichwa y Waorani del Parque Nacional Yasuní*. Obtenido de WCS- ECUADOR: http://www.mdgfund.org/sites/default/files/ENV_MANUAL_Ecu_Manejo%20comunitario%20tortugas.pdf
- Danohue, Abril, Constandse, Gaitán, & Reyes. (2011). *Scielo*. Obtenido de Carcinoma de células escamosas en lengua en un paciente con síndrome de Plummer-Vinson. Presentación de un caso:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-199X2011000300009

Dupont, B. (10 de marzo de 2018). *Wikimedia Commons* . Obtenido de Yellow spotted Amazon River Turtle : [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Yellow-spotted_Amazon_River_Turtle_\(Podocnemis_unifilis\)_hatchling_..._\(Courtesy_of_Tony_Chevalier\)_\(39904219685\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Yellow-spotted_Amazon_River_Turtle_(Podocnemis_unifilis)_hatchling_..._(Courtesy_of_Tony_Chevalier)_(39904219685).jpg)

Espinosa-blanco, A. S., & Castillo, M. L. (2015). *Manejo de nidadas de terecay (Podocnemis unifilis) en los ríos Cojedes y Manapire , como medida para evitar su pérdida por inundación y depredación.*

Gallegos, Sánchez, Espinosa, & Hurtado. (2016). *Scielo*. Obtenido de Mediastinal lymphoma: a case report from Hospital Angeles del Pedregal: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-72032016000400240

García-morante, B., Péñzes, J. J., Costa, T., Martorell, J., & Martínez, J. (2016). *Hyperplastic stomatitis and esophagitis in a tortoise (Testudo graeca) associated with an adenovirus infection.* <https://doi.org/10.1177/1040638716659903>

García, L. (2018). Descripción de lesiones histopatológicas. *UNAM*.

Gómez, M., & Montes, M. (2007). *Manejo de Nematodos Endoparásitos: Proyecciones Futuras.*

Guzmán, X., Ramirez, P., & López, S. (2009). *Universidad Autónoma Metropolitana*. Obtenido de Manual de procedimientos estándares para el análisis histológico e histopatológico de organismos acuáticos: <http://www.parasitosypatogenos.com.ar/parasitosDePeces/Archivos/Tecnicas/Histopatologia.pdf>

Hernández, W., & Rodriguez, J. (2013). *Anatomía macroscópica y microscópica del sistema urogenital de la tortuga sabanera podocnemis vogli muller , 1935*

- . (*Testudines Pelomedusidae*) V \ VWHP RI WKH 6DYDQQDK VLGH QHFNHG WXUWOH 3RGRFQHPLV YRJOL *Anatomia macroscópica e microscópica do sistema u.* (January). <https://doi.org/10.22579/20112629.59>
- INSN. (2018). *Servicio de Anatomía Patológica*. Obtenido de Guía de Procedimientos del Área de Histología: file:///C:/Users/Rodrigo/Downloads/GUIA_DE_PROCEDIMIENTOS_DEL_AREA_DE_HISTO.pdf
- Ivanova, Rossolko, & Puzyrev. (2007). *PubMed*. Obtenido de The endocrine apparatus of the epithelium of the gastric mucosa in the steppe turtle (Testudo horsfieldi): <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9156762>
- Jerozolimski, Ribero, & Martins. (2012). Las tortugas son importantes distribuidores de semillas en los bosques amazónicos. *Universidad Científica Del Sur*.
- Lescano, CHipayo, & Quevedo. (2015). *Obstrucción Gastrointestinal por Cuerpos Extraños en una Tortuga Charapa (Podocnemis expansa) Mantenido en Cautiverio*. 26(2), 357–364.
- Marin, Capaccioni, González, Jimenez, & Vega. (2013). *Nacional Library of Medicine* . Obtenido de Free-Living Turtles Are a Reservoir for Salmonella but Not for Campylobacter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3737154/>
- Marschang, R. E. (2012). *Virología clínica*.
- Martin, V., Vela, A., Gilbert, M., Cebolla, J., Goyache, J., Domínguez, L., & Fernández-Garayzabal, J. (2007). *Nacional Library of Medicine*. Obtenido de Characterization of Aerococcus viridans Isolates from Swine Clinical Specimens: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2045271/>
- Martinez, A., & Soler, J. (2008). *Enfermedades infecciosas y parasitarias en tortugas*.
- Merlo, L. (2005). *Tortugas y algo más* . Obtenido de Cuidado de la tortuga (Podocnemis unifilis):

<https://tortugasyalgomas.wordpress.com/2012/04/07/cuidados-de-la-tortuga-terekay-podocnemis-unifilis/>

Moreno, A. (2015). *Céstodos*. 1–4.

Murray, P. (2015). *Microbiología Médica*. Madrid: Elsevier.

Nuri, Unsaldi, Melek, & Centinkaya. (2018). *First Isolation of Pseudomonas aeruginosa from Ear Abscess of a Red- Eared Slider (Trachemys scripta elegans) Kırmızı Yanaklı Bir Su Kaplumbağasının Kulak Apsesinden Pseudomonas*. (May), 1–4. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.19410>

Ontiveros Tlachi, R., Muñoz Tenería, F. A., & Anzaldúa Arce, S. R. (2014). Características histológicas e histoquímicas del intestino delgado en crías de la tortuga caguama (*Caretta caretta*). *Veterinaria México OA*, 1(1). <https://doi.org/10.21753/vmoa.2014.1.1.4>

Orrego, C. (2005). *Causas antrópicas y naturales en la mortalidad de las tortugas baula*. 1–29.

Pachón, D. (2009). *Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias del género Salmonella de testudinos mantenidos en cautiverio*.

Páez, V., Morales, M., Lasso, C., & Bock, B. (2012). *Rufford*. Obtenido de Biología y Conservación de las Tortugas Continentales: https://www.rufford.org/files/Biologia%20y%20conservacion%20de%20Las%20Tortugas%20Continetales%20de%20Colombia_0.pdf

Pressler, Goodman, Harms, Hawkins, & Lewbart. (2003). *BioOne Complete*. Obtenido de ENDOSCOPIC EVALUATION OF THE ESOPHAGUS AND STOMACH IN THREE LOGGERHEAD SEA TURTLES (*CARETTA CARETTA*) AND A MALAYSIAN GIANT TURTLE (*ORLITIA BORNEENSIS*): <https://bioone.org/journals/journal-of-zoo-and-wildlife-medicine/volume-34/issue-1/1042->

7260(2003)34%5b0088%3aEEOTEA%5d2.0.CO%3b2/ENDOSCOPIC-EVALUATION-OF-THE-ESOPHAGUS-AND-STOMACH-IN-THREE-LOGGERHEAD/10.1638/1042-

7260(2003)34[0088:EEOTEA]2.0.CO;2.short

Patrick, M. E., Gilbert, M. J., Blaser, M. J., Tauxe, R. V, Wagenaar, J. A., & Fitzgerald, C. (2013). *Human Infections with New Subspecies of Campylobacter fetus*. 19(10), 1678–1680.

Ramis, A. (2014). *Infección por herpesvirus en tortugas mediterráneas*.

Rivera, M. (2010). *Análisis de una estrategia de conservación para Podocnemis unifilis en la Estación de Biodiversidad Tiputini*.

Rojas, S., Suárez, C., Lozano-ortega, I., Duran, C., Zangen, S., Nassar-montoya, P. F., Arribo, P. A. L. (2000). *PROTOCOLO PARA EL MANEJO Y DISPOSICION DE TORTUGAS ICOTEAS (Trachemys scripta) EN EL CENTRO DE RECEPCIÓN Y REHABILITACIÓN DE FAUNA SILVESTRE DE ENGATIVA-DAMA*. 1–28.

Roldán, L. R. (2018). *Resistencia a antimicrobianos y virulencia en cepas no-clínicas de Pseudomonas aeruginosa*.

Sánchez López, J., Chamorro Santos, C., Esquivias, J., & Valencia, E. (2006). *Revista española de patología*. Obtenido de Factores histopatológicos en el carcinoma lingual de células escamosas Histopathologic factors in the squamous carcinoma of tongue: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1699885506700204>

Shah Rahman, M., & Kumar Sharma, D. (2014). Morphometric, Anatomical and histological features of Gastrointestinal Tract (GIT) of Freshwater Turtle, Pangshura tentoria. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5(7), 90–94. Retrieved from <http://www.ijser.org>

Sim, R. R., Norton, T., Sim, R. R., Norton, T. M., Bronson, E., Allender, M. C., ... Wellehan, J. F. X. (2014). Identification of a novel herpesvirus in captive Eastern box turtles (Terrapene carolina carolina) Identification of a novel

herpesvirus in captive Eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*).
Veterinary Microbiology, 175(2–4), 218–223.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.11.029>

Szilvia, Farkos, & Jánas. (2009). *Science Direct- Elsevier* . Obtenido de
 Adenovirus and mycoplasma infection in an ornate box turtle (*Terrapene
 ornata ornata*) in Hungary:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037811350900145X?via%3Dihub>

Torrent, A., Déniz, S., Ruiz, A., Calabuig, P., Sicilia, J., & Óros, J.. (2002). *Journal
 of Wildlife Disease* . Obtenido de Esophageal Diverticulum Associated
 with *Aerococcus viridans* Infection in a Loggerhead Sea Turtle (*Caretta
 caretta*): <https://www.jwildlifedis.org/doi/10.7589/0090-3558-38.1.221>

UICN. (2011). *Largest Park in Perú*. Obtenido de
<https://www.iucn.org/es/node/8177>

Vásconez, E., Egas, C., & Ricaurte, B. (2017). *Embriología, Histología y
 Anatomía microscópica comparada de los animales domésticos*. Quito :
 Karla Vasco.

Yumusak, N. (2016). *A comparative study between fine needle aspiration biopsy
 (FNAB) findings and histopathology in the evaluation of canine skin and
 skin adnexal tumors A comparative study between fine needle aspiration
 biopsy (FNAB) findings and histopathology in the evaluation of canine skin
 and skin*. (January).

