

no/a.

AUTOR

AÑO



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESTUDIO ANATOMO-PATOLÓGICO DE POSIBLES CAUSAS DE MUERTE
EN ANFIBIOS DEL AÑO 2015 DE LA ESPECIE ATELOPUS SPP AFF
SPUMARIUS MEDIANTE NECROPSIA E HISTAPATOLOGÍA EN EL CENTRO
DE CONSERVACIÓN "LA Balsa DE LOS SAPOS"

Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Médico Veterinaria y Zootecnia

Profesor guía

Alexander Genoy-Puerto

Autor

Quito Guevara David Oswaldo

Año

2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, estudio anatómico-patológico de posibles causas de muerte en anfibios del año 2015 de la especie *Atelopus* spp aff *spumarius* mediante necropsia e histopatología en el centro de conservación "La Balsa De Los Sapos", a través de reuniones periódicas con el estudiante David Oswaldo Quito Guevara, en el semestre 2017-2018, 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".

Elmer Alexander Genoy-Puerto

Médico Veterinario

CI: 1757589278

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, estudio anatómico-patológico de posibles causas de muerte en anfibios del año 2015 de la especie *Atelopus* spp aff *spumarius* mediante necropsia e histopatología en el centro de conservación "La Balsa De Los Sapos", de David Oswaldo Quito Guevara, en el semestre 2017-2018, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

Carlos Alfonso Paz Zurita

Médico Veterinario

CI: 1702531748

DECLARACIÓN DE 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”

David Oswaldo Quito Guevara

CI: 1717122749

AGRADECIMIENTOS

Deseo mostrar mi más sincero agradecimiento hacia mi madre, padre, abuelita, hermanos y mis amigos Jonathan, Isabel, Henry y Estefanía por brindarme su apoyo en todo momento y ser un soporte fundamental durante toda la carrera.

Muchas gracias a todos.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo
Muy especialmente a mi familia y
amigos y maestros que me han
ayudado a superar mis límites y
mirar hacia un nuevo horizonte.

RESUMEN

La alta mortalidad de anfibios de la especie *Atelopus* sp aff *Spumarius* en el año 2015 fue preocupante debido a que es una especie endémica del Ecuador y que se encuentra en peligro de extinción, por lo cual un estudio que determine las causas de muerte de estos anfibios que se encontraron en cautiverio dentro del centro de conservación "La balsa de los sapos" perteneciente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador fue primordial.

Con la determinación de las posibles causas de muerte, se busca disminuir el número de muertes en anfibios pertenecientes a esta especie en años próximos. Para el estudio se consideraron 10 animales los mismos que pasaron por múltiples criterios de selección para ser tomados en cuenta, dejando un total de ocho hembras y dos machos adultos. Se realizó una anamnesis sobre las condiciones ambientales en las que vivieron los individuos que formaron parte del estudio, posteriormente se realizó un examen físico de los animales antes de realizar la técnica de necropsia y enviar muestras hacia el laboratorio de histopatología con la finalidad de realizar las placas histológicas. Se revisaron únicamente los órganos más importantes como son corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y vesícula biliar, mismos que se encontraron con varias afecciones entre las que destacan la congestión y edema, degeneraciones y necrosis. Las alteraciones encontradas de forma macroscópica y microscópica fueron relacionadas con los resultados del examen físico y ambiental. Después el análisis de resultados se llegó a la conclusión de que la posible causa de muerte en los animales fue debido a alteraciones de tipo compensativo crónico, por lo cual los órganos ven alterada su funcionalidad lo que conlleva a la muerte de los animales. Para obtener mayor información se recomienda continuar con el estudio, evaluando el resto de órganos.

ABSTRACT

The high mortality of amphibians of the species *Atelopus* sp aff *Spumarius* in 2015 was worrisome because it is endemic to Ecuador and is in danger of extinction, so a study to determine the causes of death of these amphibians who were found in captivity within the conservation center "The raft of the toads" belonging to the Pontifical Catholic University of Ecuador was paramount.

With the determination of the possible causes of death, the aim is to reduce the number of deaths in amphibians belonging to this species in years to come. For the study, 10 animals were considered the same ones that went through multiple selection criteria to be taken into account, leaving a total of eight females and two adult males. An anamnesis was made on the environmental conditions in which the individuals that were part of the study lived; afterwards a physical examination of the animals was performed before performing the necropsy technique and sending samples to the histopathology laboratory in order to perform the histological plates. We reviewed only the most important organs such as heart, lung, liver, kidney, spleen and gallbladder, which were found with several conditions among which are congestion and edema, degeneration and necrosis. The alterations found macroscopically and microscopically were related to the results of the physical and environmental examination. After the analysis of results, it was concluded that the possible cause of death in these animals was due to alterations of chronic compensative type, for which the organs are altered its functionality that leads to the death of the animals. To obtain more information it is recommended to continue with the study, evaluating the rest of the organs.

INDICE

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivos	3
1.2.1 Objetivo general.....	3
1.2.2 Objetivos específicos.....	3
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	4
1.3 Principales características de la especie <i>Atelopus</i>	4
1.4 Taxonomía	5
1.5 Características anatómicas y fisiológicas.....	6
1.5.1 Sistema respiratorio y piel	6
1.5.2 Sistema digestivo.....	7
1.5.3 Sistema circulatorio	8
1.5.4 Sistema linfático.....	9
1.5.5 Sistema Urinario	9
1.6 Manejo de anuros en cautiverio	10
1.6.1 Humedad	10
1.6.2 Temperatura	10
1.6.3 Medidas sanitarias.....	11
1.6.4 Alimentación	11
1.7 Principales enfermedades en anfibios.....	11
1.7.1 Enfermedades infecciosas.....	11
1.7.2 Enfermedades no infecciosas.....	12
1.8 Necropsia e histopatología	12

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	14
1.9 Área de estudio	14
1.10 Diseño de estudio.....	14
1.11 Animales.....	14
1.11.1 Tamaño de muestra	14
1.12 Diagrama de procesos	16
1.13 Biometría de los animales	16
1.14 Método de necropsia	17
1.15 Toma de muestras	18
1.16 Lectura de placas	19
1.17 Clasificación causas de muerte.....	19
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
1.18 Biometría	22
1.18.1 Largo boca -cloaca	22
1.18.2 Circunferencia abdominal.....	23
1.18.3 Peso	23
1.19 Hallazgos macroscópicos y microscópicos	24
1.19.1 Corazón - Análisis macroscópico	25
1.19.2 Corazón - Análisis microscópico	26
1.19.3 Diagnóstico – corazón	28
1.19.4 Análisis macroscópico-Pulmón.....	31
1.19.5 Análisis microscópico-Pulmón.....	32
1.19.6 Diagnostico anátomo-patológico de pulmón.....	34
1.19.7 Análisis macroscópico-Hígado	37

1.19.8	Análisis microscópico-Hígado	38
1.19.9	Análisis anátomo-patológico de hígado.....	39
1.19.10	Análisis macroscópico-Vesícula biliar.....	42
1.19.11	Análisis microscópico-Vesícula biliar.....	43
1.19.12	Análisis anátomo-patológico de vesícula biliar	44
1.19.13	Análisis macroscópico-Riñón	45
1.19.14	Análisis microscópico-riñón	46
1.19.15	Análisis anátomo-patológico de riñón.....	48
1.19.16	Análisis macroscópico-bazo	51
1.19.17	Análisis microscópico-bazo	52
1.19.18	Análisis anátomo-patológico de bazo	53
1.19.19	Congestión y edema.....	55
1.20	Causas de muerte	55
1.20.1	Falla multiorgánica	55
1.20.2	Colapso respiratorio	56
1.20.3	Colapso cardiorrespiratorio	57
1.21	Comparación de hallazgos histopatológicos.	58
1.22	Hipoxia ambiental.....	58
Conclusiones y recomendaciones		59
1.23	Conclusiones.....	59
1.24	Recomendaciones.....	60
REFERENCIAS.....		61

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

El Ecuador es un país considerado mega-diverso en fauna ya que es poseedor del 8% de las especies que habitan en el planeta, además es considerado el tercer país con la mayor diversidad en anfibios al poseer 582 especies caracterizadas hasta marzo del 2017. Esta gran biodiversidad se debe a la excelente ubicación geográfica del país ya que al encontrarse formando parte de la cordillera andina obtiene varios tipos de climas, microclimas y condiciones medio ambientales lo que equivale a una mayor cantidad de especies animales y vegetales (Museo de Zoología CQAZ, 2017).

Actualmente diversas causas comprometen la conservación de anfibios en el Ecuador. Las causas que han producido el declive de la población de anfibios pueden ser causadas por agentes infecciosos los cuales producen la presencia de nuevas enfermedades, otras causas de esta pérdida de anfibios en el país se debe a la relación con actividades humanas tales como: la modificación del hábitat y contaminación del agua y suelo con productos químicos que en su mayoría son usados para la siembra de diversos productos. Los factores antes nombrados han influido para que 152 especies de anfibios se encuentren en peligro de extinción, 52 especies en peligro crítico, 67 especies en peligro y 40 especies vulnerables dentro del país (Centro Jambatu de Investigación y Conservación de Anfibios, 2017).

Se ha considerado a la crianza ex situ como una de las opciones más viables para la conservación de poblaciones, debido a que se puede reproducir organismos sanos para posteriormente reintroducidos a sus hábitats naturales. La iniciativa de conservación “La Balsa de los Sapos”, es un ejemplo del manejo de la conservación de especies de anfibios en peligro de extinción, la cual mediante proyectos reincorpora estos animales a sus ecosistemas. (Museo de Zoología CQAZ, 2017).

En lo correspondiente a la conservación en cautiverio se ha podido identificar que esta modifica las condiciones naturales de los anfibios, debido a que en algunos casos no se puede llegar a igualar las condiciones medio ambientales

del lugar en el que habitan los animales, los cambios en presión, aporte de oxígeno y solutos del agua han provocado alteraciones en su adaptación y por lo tanto su fisiología, estos factores pueden ocasionar la presencia de enfermedades e incluso la muerte de los animales (Tala et al, 2004).

Se han realizado trabajos similares con otras especies de anfibios a nivel nacional e internacional, como es el caso del trabajo realizado por Pessier (2003) quien trabajo con ranas en Panamá con el fin de levantar información sobre las causas que producen mortalidad en ranas en estado de cautiverio. A nivel nacional se han descrito trabajos similares con un enfoque principal al edema (Quispe-Saico, Villacreses) y la enfermedad metabólica ósea (EMO) en ranas.

La alta mortalidad de los animales en la crianza ex situ ha originado varios problemas, los mismos que interfieren en los proyectos de conservación, por lo cual no es factible realizar la reintroducción de los animales a su hábitat natural, ya que los animales que serán reintroducidos deben estar completamente libres de enfermedades para asegurar así una población sana (Stevens et al, 2006).

El evaluar los cambios anátomo-patológico es importante ya que realiza un aporte de información que puede ser usado como línea base para el diagnóstico de causas de muerte en los animales, además de la información sobre los hallazgos macroscópicos y microscópicos de los procesos que ocasionaron la muerte de los animales. Se caracterizará las más importantes lesiones tanto principales como secundarias de todos los órganos, mediante la técnica de histopatología se hará un aporte a la patología comparada de este taxón.

El desarrollo de este trabajo es fundamental para cumplir con lo estipulado anteriormente, ya que posterior a la realización de este estudio se conocerá las causas que llevaron a la muerte a estos individuos, permitiendo así desarrollar estrategias para mitigar la presencia de patologías y mejorar la calidad de vida de las especies animales que se encuentran dentro de los programas de

conservación, lo cual representará un beneficio dentro del área de medicina de la conservación de anfibios.

Este estudio es parte de un proyecto de investigación de la Universidad de las Américas, el mismo que se encuentra liderado por el Doctor Alexander Genoy-Puerto y cuyo título es “Patología comparada de procesos no infecciosos e infecciosos de anfibios ecuatorianos en cautiverio”. El proyecto cuenta con una cantidad de recursos suficientes para su financiamiento y acceso a la infraestructura necesaria. Como co-ejecutor se encuentra la iniciativa de conservación “La Balsa de los Sapos” aporta con la manutención de los animales dentro de su sistema de archivo biológico.

1.1 Hipótesis

Las posibles causas de muerte en el centro de conservación la Balsa de los Sapos de la especie *Atelopus* sp. (*Aff. spumarius*) en el año 2015 son ocasionadas a procesos patológicos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Determinar la posible causa de muerte en ranas de la especie *Atelopus* sp. (*Aff. Spumarius*) en el año 2015 mediante necropsia e histopatología en el centro de conservación “La Balsa de los Sapos”.

1.2.2 Objetivos específicos

Identificar las lesiones primarias y secundarias más relevantes durante la caracterización histopatológica.

Determinar la compatibilidad de las lesiones encontradas con enfermedades infecciosas o no infecciosas.

Determinar si la posible causa de muerte es producto de enfermedades infecciosas o por cambios adaptativos.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

1.3 Principales características de la especie *Atelopus* sp. (*Aff. Spumarius*)

La especie *Atelopus* sp. (*Aff. Spumarius*) también conocida como Arlequín de Limón o Jambato de Limón hace parte de un grupo de ranas arborícolas terrestres de hábitos diurnos; posee un aspecto alargado de coloración negra o marrón acompañada manchas de vivos colores de amarillo, naranja e incluso verde, su vientre posee una coloración generalmente rojiza, aunque esta coloración puede variar entre amarillo, naranja y rojo (Ver Figura 1). Una de sus características más importantes es la producción de un veneno neurotóxico el cual es utilizado como medio de defensa ante predadores (Peña, 2010).

Su vida media es de 10 años. Los machos adultos pueden alcanzar un tamaño que se encuentra entre 2.6 a 4.5 centímetros, mientras que las hembras alcanzan un tamaño entre los 3.6 a 5.7 centímetros siendo más grandes que los machos (Peña, 2010).

Tienen un carácter agresivo y territorial, habitan en ramas y troncos cerca de estanques o arroyos durante el día, durante la noche buscan refugio entre la vegetación o grietas. Su alimentación se basa principalmente en hormigas y escarabajos a los mismos que caza en árboles o grietas cerca de grandes raíces (Tala, C., González, B., Zapata, B., González, G., & Maino, 2004).

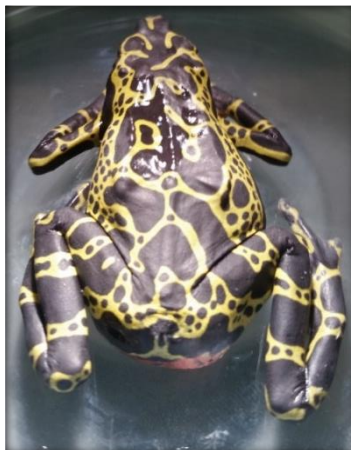


Figura 1. *Atelopus* sp. Aff. *Spumarius*

Se observa a un ejemplar de *Atelopus* sp. Aff. *Spumarius*, con su característica coloración de negro con franjas amarillas.

1.4 Taxonomía

El género *Atelopus* comprende un extenso grupo de individuos que habitan en ecosistemas neo-tropicales y tropicales, contando con 94 especies. En el año 2003 se descubrió una nueva especie del género *Atelopus*, la misma que fue encontrada al sur oriente del Ecuador, en la provincia de Morona Santiago, y fue nombrada inicialmente con el nombre de *Atelopus* Limon, actualmente se la conoce como *Atelopus* sp. (Aff. *Spumarius*).

Atelopus sp. (Aff. *Spumarius*) se encuentra dentro de la siguiente clasificación taxonómica según Angulo, L (2006):

Tabla 1

Clasificación de los Atelopus

<i>Reino</i>	<i>Animalia</i>
<i>Filo</i>	<i>Chordata</i>
<i>Clase</i>	<i>Amphibia</i>
<i>Orden</i>	<i>Anura</i>
<i>Sub-orden</i>	<i>Neobatrachia</i>

<i>Familia</i>	<i>Bufo</i> nidae
<i>Género</i>	<i>Atelopus</i>
<i>Especie</i>	<i>Atelopus</i> sp. (<i>Aff.</i> <i>Spumarius</i>)

Modificado de Angulo, La Marca, Rueda, & Rodríguez (2006).

1.5 Características anatómicas y fisiológicas

Los anuros poseen características diferentes de los otros grupos de anfibios, por lo cual es importante describir cada una de las características de los anuros. Se realizó una descripción por sistemas.

1.5.1 Sistema respiratorio y piel

Para el proceso de respiración los anfibios utilizan tres superficies básicas para el intercambio gaseoso entre las cuales se encuentran: la boca, pulmones y piel.

Pulmones: En lo anuros los pulmones se encuentran más desarrollados que en otros anfibios, por lo cual muestran una mayor dependencia pulmonar. Los pulmones de las ranas poseen una superficie respiratoria de $\pm 20 \text{ mm}^3$, (Hickman, Roberts, & Larson, 2001).

Piel: La piel no pertenece al sistema respiratorio, pero se ha considerado dentro de este sistema debido a la actividad que cumple dentro del intercambio gaseoso. La piel en los anfibios posee gran importancia dentro de respiración debido a que posee gran permeabilidad de oxígeno y dióxido de carbono; además de una red de vasos sanguíneos que le ayudan a transportar de mejor manera el oxígeno. (Padilla & Cuesta, 2003).

Boca: La función de la boca dentro del sistema respiratorio es la de ingresar el aire hacia los pulmones y sacarlo en base a movimientos con lo cual ayuda a la respiración pulmonar (Maneyro, Camargo, & Rosa, 2008).

1.5.2 Sistema digestivo

El sistema digestivo en los anuros y anfibios en general es rudimentario, aún así tiene varias diferencias en comparación al sistema digestivo de los mamíferos, aves y reptiles. Las diferencias principalmente radican en la función que poseen los órganos y la relevancia de los mismos, ver Figura 2. Se encuentra conformado por varios órganos que serán divididos en tres porciones, boca, tracto gastrointestinal y órganos anexos.

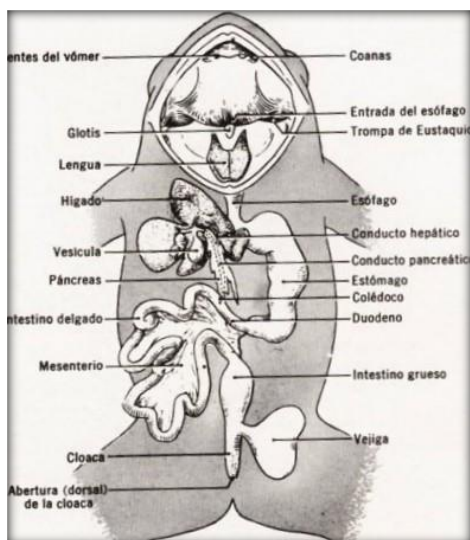


Figura 2. Tracto digestivo de los anfibios y sus órganos anexos. Se observan los órganos que se encuentran conformando el sistema digestivo. Tomado de Rabanal (2006)

1.5.2.1 Boca

Se encuentra en la parte inicial del sistema digestivo, conformada por dientes y lengua. A diferencia de los mamíferos los dientes de los anuros no sirven para triturar el alimento ya que son muy pequeños y su única función es la de retener a la presa para evitar que escape. La lengua es el órgano más importante localizado en la boca, debido a que se encuentra cubierta por saliva, lo que en los anfibios es viscoso y pegajoso por lo que facilita la captura de las presas. En los anuros la lengua es un órgano importante ya que una lesión

lingual puede provocar caquexia por falta de alimentación (Wright, & Whitaker, 2001).

1.5.2.2 Tracto gastrointestinal: Inicia con el esófago y termina en el esfínter anal. El esófago en los anuros es corto y ancho, el cual comunica directamente con el estómago. El estómago posee una digestión enzimática y su función principal es la de digerir los alimentos, los mismos que no se encuentran masticados. El estómago limita hacia la porción craneal con el esófago y se encuentran divididos por el cardias, hacia caudal limita con el duodeno y es limitado por el píloro. A continuación, están el intestino delgado (duodeno y yeyuno) e intestino grueso, los cuales poseen una estructura simple tubular y su función principal es la absorber los nutrientes que provenientes de la alimentación, al igual que en el caso de la lengua, las patologías en intestino (ya sea duodeno, yeyuno o colón) provocan caquexia y desnutrición (Maneyro et al., 2008).

1.5.2.3 Órganos anexos: Los órganos anexos al aparato digestivo son el hígado, páncreas y vesícula biliar. El hígado en conjunto con la vesícula biliar y el páncreas cumplen la función de secretar enzimas hacia el duodeno con la finalidad de aportar a la digestión de los alimentos.

1.5.3 Sistema circulatorio

El sistema circulatorio de los anfibios al igual que el de los peces es un sistema cerrado y está formado una gran red de capilares que se conecta con las venas y arterias.

2.3.3.1 Corazón: En los anuros el sistema circulatorio se encuentra conformado por un corazón simple, el mismo que está compuesto por dos aurículas y un ventrículo, las aurículas (derecha e izquierda) se contraen de forma casi simultánea por lo cual no existe una mezcla entre la sangre oxigenada y no oxigenada, "la válvula espiral en el cono arterioso puede desempeñar un papel importante en mantener una distribución selectiva" ya

que después de cada contracción la válvula espiral distribuye la sangre oxigenada hacia el organismo y la sangre no oxigenada hacia los pulmones (Hickman et al., 2001)

1.5.4 Sistema linfático

El sistema linfático se encuentra constituido principalmente por el timo y bazo, además de linfonodos regionales y células de defensa, entre las cuales se encuentran los neutrófilos, células dendríticas, linfocitos, macrófagos, entre otros. (Wiechmann, & Wiechmann, 2003).

Timo: Se ubica detrás del oído medio. Su estructura básica consiste en corteza y médula, su función es la de promover y madurar los linfocitos T. (Hickman et al., 2001)

Bazo: Se ubica en la curvatura mayor del duodeno, proximal al páncreas. Su estructura básica consiste de una corteza y una médula, su función principal es la de almacenar células sanguíneas además de ser un órgano hematopoyético. (Hickman et al., 2001)

1.5.5 Sistema Urinario

El sistema urinario se encuentra formado por dos riñones, uréteres, vejiga urinaria y uretra.

Riñones: Los riñones en los anfibios poseen una forma alargada con una medida estándar de 1 mm, corteza renal, médula renal, cáliz menor y mayor, papila renal, pelvis renal, nefrona, pirámide renal, columna renal, cápsula fibrosa, uréter, hilio renal, los mismos que se encuentran dispersos de forma aleatoria por todo el órgano, lo cual es una diferencia notable con los riñones de vertebrados superiores (mamíferos y aves), por tal motivo se describen como riñones rudimentarios. Su función es la de filtrar sangre y excretar sustancias hacia la vejiga a través de los uréteres.

Vejiga: Es un órgano hueco, cuya función principal es la de almacenar orina para después expulsarla (Richard , 1975)

1.6 Manejo de anuros en cautiverio

Generalmente se mantiene a los anfibios en terrarios ya sean individuales o grupales, los materiales de mayor uso son vidrio y plástico por su fácil manejo en cuanto a limpieza (Wright & Whitaker, 2001). Para mantener a los anfibios en cautiverio se deben tomar en cuenta tres aspectos importantes, humedad, temperatura y manejo sanitario del terrario.

1.6.1 Humedad

La humedad debe encontrarse en rangos estables según necesidades fisiológicas propias de cada especie. La humedad ambiental dependerá del lugar de origen de los anfibios que se vayan a mantener, en ranas de climas cálidos y tierras bajas la humedad debe ser del 70% o superior durante todos los días; en cambio, en ranas de climas templados y tierras altas se requiere una humedad de 40% a 60% (Poole & Grow, 2009).

Para mantener la humedad ambiental se pueden usar varias técnicas como son: sistema de aspersión, sistema de nebulización o sistemas de riego constante. El no mantener una humedad adecuada puede provocar variables en la fisiología del animal, como procesos de deshidratación, susceptibilidad a enfermedades infecciosas y la muerte (Aguilar, Hernández, Drivers, & Parpiñanan, 2010).

1.6.2 Temperatura

Al igual que la humedad la temperatura dentro del terrario debe de ser acorde al origen del animal que va ser alojado. En animales de tierras bajas y cálidas deben mantenerse a una temperatura de entre 25°C a 30°C y en anfibios de

tierras altas y climas fríos o templados la temperatura debe oscilar entre 16°C y 24°C (Poole & Grow, 2009).

1.6.3 Medidas sanitarias

Dentro de las medidas sanitarias se debe tener en cuenta que son todo el conjunto de procedimientos que tienen como objetivo el precautelar la salud de los animales. Dentro de estas medidas tenemos la limpieza y desinfección de los terrarios la cual debe ser utilizando productos que no afecten la salud de los animales. Medidas profilácticas, para los animales, entre las cuales se deben manejar biometrías periódicas, exámenes de gabinete como son: Hemograma (de ser posible), copro-parasitarios, examen del sustrato entre otros (Poole & Grow, 2009).

1.6.4 Alimentación

Dentro de la alimentación en anfibios es importante mantener dietas balanceadas y ofrecer presas vivas con la finalidad de mantener el instinto de cacería de los animales. Dentro de la alimentación se deben suministrar minerales dependiendo de la especie y su requerimiento. Se pueden suministrar como alimento vivo larvas, grillos, escarabajos entre otros, debido a su contenido alimenticio (Browne, 2009).

1.7 Principales enfermedades en anfibios

Dentro de los principales agentes que ocasionan enfermedades de tipo infeccioso que afectan a los anfibios se encuentran los virus, parásitos, hongos y bacterias, además de las enfermedades no infecciosas. Las principales enfermedades de los anfibios se dividen en dos grupos:

1.7.1 Enfermedades infecciosas

De gran importancia, ya que es una de las principales causas de los procesos de extinción que afectan a los anfibios. Dentro de este grupo se encuentran

enfermedades virales como el ranavirus, iridovirus, micóticas como el bd (*Batrachochytrium dendrobatidis*) y bacterianas como son infecciones por entamoeba, pseudomonas entre otros. Por lo tanto, el evaluar la prevalencia de estas enfermedades en cautiverio cobra una mayor importancia debido a que varios de los animales en cautiverio serán reintroducidos (Garner, 2012).

1.7.2 Enfermedades no infecciosas

Este tipo de enfermedades en su mayoría son producidas por la deficiencia en ciertos factores alimenticios, medio-ambientales, alteraciones en la función de los sistemas o factores iatrogénicos por lo cual se debe tomar en consideración el manejo que estos posean en cautiverio (Hill, Wyse, & Anderson, 2006). Entre las enfermedades más comunes se encuentran: por deficiencia de factores alimenticios: la enfermedad metabólica ósea, por deficiencia en el manejo medio ambiental: el edema no infeccioso, factores iatrogénicos traumatismos: alteraciones a nivel de sistemas como la insuficiencia cardíaca congestiva.

1.8 Necropsia e histopatología

La palabra necropsia está compuesta por el prefijo *Nekrós* que significa cadáver y de *Opsis* haciendo referencia a observar. Esta palabra define a la técnica diagnóstica practicada en cadáveres, la cual consiste en la realización de un examen completo que debe ser realizado de forma sistemática abarcando todos los órganos y tejidos del cuerpo.

Para la correcta realización de la técnica de necropsia se debe tomar en cuenta el estado de conservación del cuerpo ya que si se realiza en cuerpos con un marcado estado de descomposición la técnica no contará con un 100% de confiabilidad. Dentro de esta técnica es importante realizar una descripción morfológica de los procesos patológicos en un cadáver, lo cual facilita determinar la causa de muerte de los individuos (Aluja & Constantino, 2002).

La necropsia debe ser complementada con otra técnica diagnóstica para aumentar su confiabilidad, por lo cual es recomendable realizar histopatología.

La histopatología es una herramienta que nos permite aclarar el diagnóstico presuntivo y confirmar un diagnóstico final de las necropsias. La técnica de histopatología, es definida como el estudio de tejidos enfermos además es considerada un técnica fundamental para investigación debido a que complementa otras técnicas y sus resultados son más específicos(Sanabria & Rodríguez, 2015).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

1.9 Área de estudio

El presente estudio se realizó en el centro de conservación “Balsa de los Sapos”. Este centro se encuentra ubicado en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), en el edificio de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, dentro de la Escuela de Ciencias Biológicas. Se ubica en las coordenadas 0°12'36"S 78°29'29"O al norte de la ciudad de Quito-Ecuador.

1.10 Diseño de estudio

El proyecto de titulación planteado fue de tipo descriptivo, por lo cual no se plantea un diseño experimental como tal. El estudio buscó describir las lesiones anátomo patológicas presentes en ranas de la especie *Atelopus* sp. (*Aff. Spumarius*) en el año 2015, con el fin de determinar las posibles causas de muerte de estos ejemplares.

1.11 Animales

Existen 42 animales pertenecientes a la especie *Atelopus* sp. (*Aff. Spumarius*) muertos en año 2015 que se encuentran conservados en formol procedentes del Centro de Conservación la Balsa de los Sapos, que se encuentra ubicada en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Varias muestras se encontraban en estado de descomposición, presentaban alteraciones notables en piel y extremidades por lo cual no fueron consideradas para el estudio. Posterior a la aplicación de criterios de inclusión y exclusión fueron considerados para el estudio 10 animales.

1.11.1 Tamaño de muestra

El primer criterio de inclusión que se aplicó fue el de únicamente seleccionar animales que murieron en el año 2015, con el cual se obtuvo una población de 42 animales; tras aplicar el segundo criterio de inclusión en el cual se estipuló

que solo ingresaron al estudio animales de la especie *Atelopus* sp. (Aff. *Spumarius*), por tanto el número de muestras se limitó a 28 animales, de los cuales y según el tercer criterio de exclusión se descartaron todas las muestras que no posean un buen estado de conservación. Este último criterio de selección redujo el número de muestra a 10 animales. Los criterios aplicados y el número de animales pueden ser observados en la Tabla 1.

Tabla 2

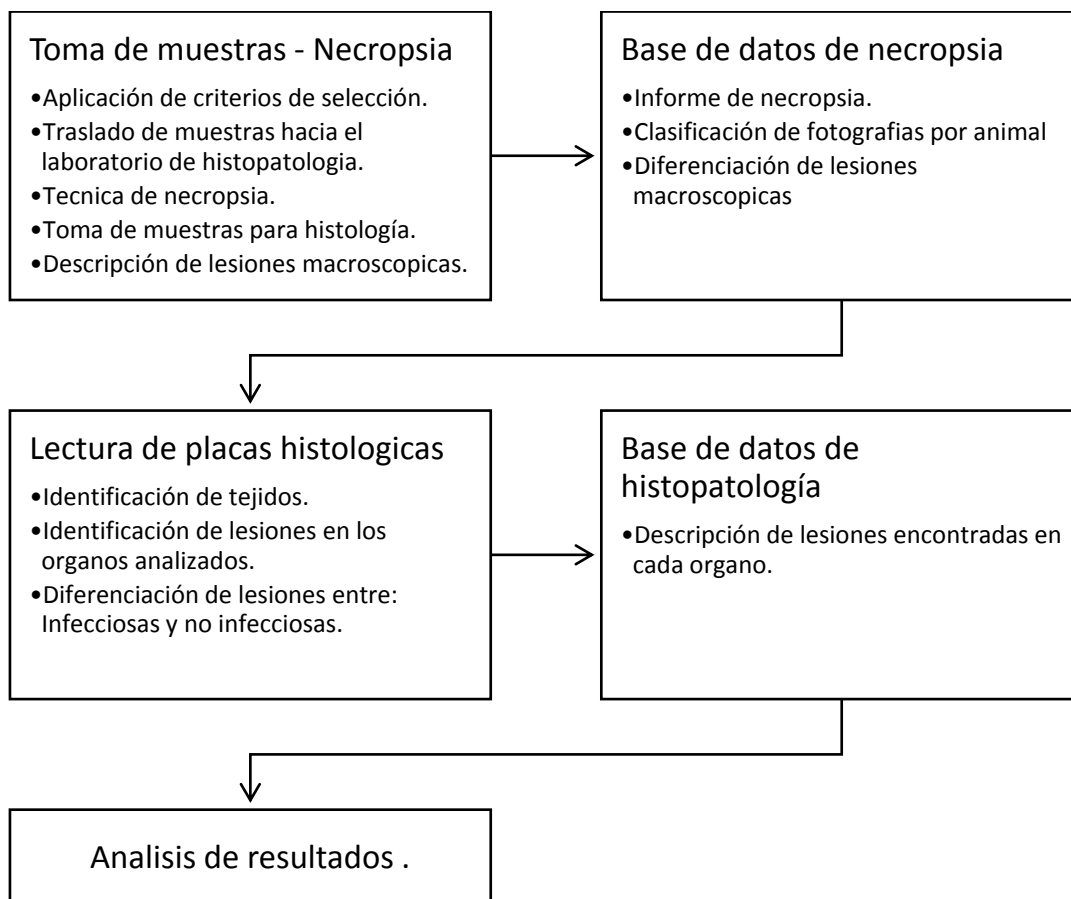
Criterios de selección de muestra. Criterios de inclusión y exclusión.

<i>Criterio</i>	<i>Criterio de exclusión</i>	<i>Criterio de Inclusión</i>	<i>Total de la muestra</i>
Año 2015	Animales muertos otros años.	Animales muertos el año 2015.	42
Especie <i>Atelopus</i> sp. (Aff. <i>Spumarius</i>)	No pertenece a la especie <i>Atelopus</i> sp. (Aff. <i>Spumarius</i>).	Pertenece a la especie <i>Atelopus</i> sp. (Aff. <i>Spumarius</i>).	28
Estado de conservación de la muestra	Muestras en mal estado de conservación.	Muestras en buen estado de conservación.	10

1.12 Diagrama de procesos

Tabla 3

Muestra el proceso que se realizó durante el estudio. Se muestra el proceso que se siguió de forma sistemática.



1.13 Biometría de los animales

Para la realización de la biometría de los 10 animales, dentro de esta se tomó en consideración la medición boca-cloaca, peso y circunferencia abdominal.

Estos parámetros analizados son importantes debido a que pueden aportar a la presencia de enfermedades como es en el caso del peso para el cual se necesitó una balanza automática y una libreta en la cual se registró el peso de cada animal, se determinó la distancia boca-cloaca y la circunferencia abdominal mediante la medición con cinta métrica.

1.14 Método de necropsia

El método que se empleó para realizar la necropsia consistió en realizar un corte transversal de la cavidad celómica, iniciando desde el maxilar hasta la región pélvica, posteriormente se realizó un corte horizontal al nivel del miembro anterior derecho. Se debrido la fascia que cubre a los órganos teniendo en cuenta que es delgada y se debe tener cuidado con alterar los órganos, con el fin de poder observar a todos los órganos internos como se aprecia en la Figura 3 (Pessier & Pinkerton, 2003).

Después de realizar la incisión se procedió de forma sistemática a retirar los órganos y diseccionar cada uno de ellos, posterior a este paso se empezó a describir las lesiones encontradas macroscópicamente mediante el uso de un estereoscopio Olympus SZX16 (Japón).

Para finalizar el proceso de necropsia tomó muestras para el estudio histopatológico, Pessier (2003) también estipula que en muestras grandes o en caso de muertes masivas se debe destinar la mitad de la muestra hacia un estudio de tipo toxicológico, microbiológico y análisis de tipo molecular.



Figura 3. Técnica de necropsia. Se muestra la técnica de necropsia que fue empleada. A. Se muestra al animal después de haber realizado el corte transversal y horizontal exponiendo los órganos. B. Se aprecian los órganos después de separarlos del resto del cuerpo. C. Separación de los órganos para realizar el análisis individual de los mismos.

1.15 Toma de muestras

Mientras se realiza la técnica de necropsia se tomaron muestras de todos los órganos con la finalidad de realizar un estudio histopatológico. Antes del proceso de recolección de muestras los órganos son observados y medidos como se puede observar en la Figura 4. La toma de muestras se dio de la siguiente manera; en el caso de órganos pares (pulmones, riñones, ovarios, testículos) se colocó uno de los órganos y se envió en un casete individual mientras que el otro órgano será almacenado como muestra de respaldo, en el caso de órganos tubulares (esófago, tráquea, estómago, intestino delgado y grueso) se tomaron muestras de cada órgano, en el caso de estómago de tres segmentos del órgano y fueron almacenados en cassetes, en todos los órganos que macroscópicamente se observen alterados se procederá a tomar una muestra del lugar de la lesión en conjunto con tejido no alterado (Miranda, 2014). Siguiendo a la recolección de muestras los cassetes fueron almacenados en envases plásticos de 50 ml, los cuales contuvieron formol buferado al 10%. Finalmente se etiquetó correctamente las muestras para la realización de los cortes, tinción y realización de placas histológicas (Trigo, 2011). Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Histología de la Universidad de las Américas como parte del proyecto "Patología comparada de procesos no infecciosos e infecciosos de anfibios ecuatorianos en cautiverio".

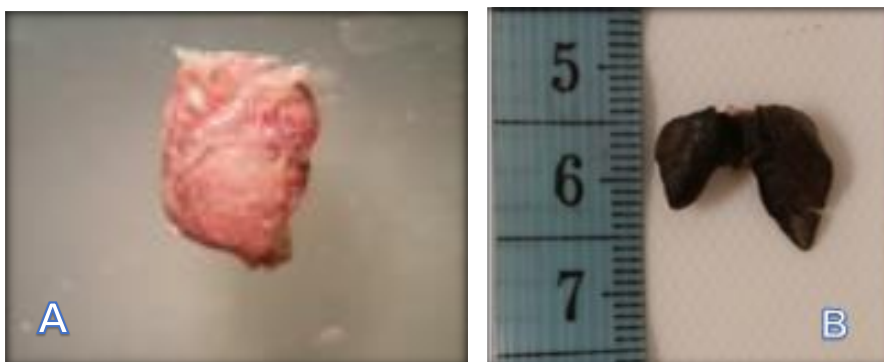


Figura 4. En los siguientes gráficos se muestra el proceso de recolección de muestras. A. Se representa la observación de órganos en el estereoscopio. B. Se aprecia la medición de los órganos antes de guardarlos.

1.16 Lectura de placas

El análisis histopatológico consistió en tres partes: Identificación del tejido normal y el tejido afectado, lectura de patologías encontradas en los diferentes tejidos y el levantamiento de una base de datos.

Posterior a la obtención de las placas histológicas se procedió a realizar un análisis de las mismas, los materiales utilizados para esta sección fueron las placas histológicas de los órganos que posteriormente se analizaron con microscopia de luz con ayuda de un microscopio Olympus CX31 (Zhejiang, China), realizando observaciones con objetivos x4, x10, x40 y x100 con aceite de inmersión.

Dentro de la identificación del tejido se emplea el atlas de histología de anfibios Color Atlas of *Xenopus Laevis* Histology y la orientación del Dr. Genoy-Puerto con lo cual se comparó lo normal con el tejido que se encontró en las láminas pasando así a la identificación de patologías mediante la utilización del libro de patología general y sistémica de Trigo el mismo que nos facilitó en la comprensión de las distintas patologías que se encontraron y se describen en la base de datos, de esta manera se obtienen resultados que posteriormente fueron analizados.

No se analizaron los siguientes órganos: intestino delgado, intestino grueso, lengua, esófago, piel y músculo, debido a que en el análisis macroscópico no presentaron alteraciones que aporten al dictamen de las posibles causas de muerte de los animales.

1.17 Clasificación causas de muerte

Para clasificar las causas de muerte se estableció un cuadro citando las causas de muerte, Ver cuadro 1, el mismo que se encuentra basada en el trabajo de Genoy-Puerto (2012).

Para llegar a la causa de muerte se analizaron de forma inicial los resultados de las lesiones encontradas de forma macroscópica y microscópica en los

órganos de los animales con lo que se recopiló un diagnóstico de cada órgano analizado (corazón, pulmón, riñón, hígado, bazo y vesícula biliar) en el animal.

Posteriormente se agrupó los diagnósticos que fueron encontrados en cada órgano para obtener un diagnóstico general del animal por ejemplo al encontrar falla valvular izquierda en corazón, edema generalizado en pulmón y nefritis en riñón se obtuvo como diagnóstico del animal insuficiencia valvular congestiva.

Cuando se obtuvo el diagnóstico del animal se juntó las lesiones macroscópicas y microscópicas para encajarlas con una de las causas de muerte que se encuentran expresadas en el cuadro 1, por ejemplo al tener falla valvular congestiva el posible mecanismo de muerte fue un colapso cardiorrespiratorio.

Tabla 4

Se muestran las causas de muerte en anfibios.

Clasificación	Causa de muerte	Mecanismo de muerte
No infeccioso	Trauma Craneal. Tóraco-abdominal. Dorso-caudal.	Choque cardiogénico. Choque neurogénico. Choque séptico. Choque Hipovolémico. Colapso Respiratorio. Colapso Cardiorrespiratorio. Muerte por aplastamiento. Síndrome de Caquexia. Falla multi-orgánica.
	Cambio de temperatura Hipertermia. Hipotermia.	
	Agente biológico Ataque de otros animales.	
	Alteración en sistemas Cardiovascular. Respiratorio. Digestivo. Endócrino. Sistema nervioso central. Urinario.	

Infeccioso	Virus y priones	Alteración de los órganos diana. Infestaciones masivas.
	Bacterias	
	Parásitos	

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el análisis de resultados se han considerado el grupo de 10 animales que formaron parte del estudio. Con el fin de explicar correctamente los resultados se los dividió en tres partes. Examen físico el cual comprende la medición de peso, longitud boca-cloaca y circunferencia abdominal. Hallazgos de las lesiones macroscópicas y microscópicas de los órganos analizados los cuales son: corazón, pulmón, riñón, hígado, bazo y vesícula biliar. Diagnóstico de posibles causas de muerte.

Este capítulo fue manejado de la siguiente manera:

Primero se realizó la descripción de datos numéricos, posteriormente se describió los resultados obtenidos después estos fueron discutidos.

1.18 Biometría

1.18.1 Largo boca -cloaca

La distancia boca cloaca se obtuvo una media general de 44,6 mm con una desviación estándar de ± 0.79 mm, para aclarar de mejor forma los resultados se dividió en machos y hembras obteniendo así los siguientes resultados: Los machos obtuvieron una media de 37,9 mm, con una desviación estándar de ± 0.14 mm. En hembras se obtuvo una media de 46,7 mm con una desviación estándar de ± 0.69 mm, Ver tabla 4.

Tabla 5

Resultados de la distancia boca-cloaca

<i>Parámetros</i>	<i>Número de animales</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar (mm)</i>
<i>Todo el grupo</i>	10	44,6 mm	± 0.79
<i>Machos</i>	2	37,9 mm	± 0.14
<i>Hembras</i>	8	46,7 mm	± 0.69

De acuerdo a la literatura las hembras poseen un mayor tamaño en relación a ya que llegan a tener un tamaño boca-cloaca de 36 mm a 57 mm, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en la biometría, ya que el promedio de distancia boca-cloaca de las hembras fue de 4,67 mm encontrándose en el rango descrito por Peña (2010).

1.18.2 Circunferencia abdominal

La media del grupo fue de 37,5 mm con una desviación estándar de ± 0.74 mm. En machos la media fue de 35,6 mm con una desviación estándar de ± 0.77 . En hembras se obtuvo una media de 38,0 mm con una desviación estándar de ± 0.76 . Ver tabla 5.

Tabla 6

Resultados del circunferencia abdominal de los animales bajo estudio.

<i>Parámetros</i>	<i>Número de animales</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar (mm)</i>
<i>Todo el grupo</i>	10	37,5 mm	± 0.74
<i>Machos</i>	2	35,6 mm	± 0.77
<i>Hembras</i>	8	38,0 mm	± 0.76

Peña (2010) describe que la circunferencia abdominal de las hembras es poco mayor a la de los machos, esta descripción es concordante a la información que fue obtenida en el estudio ya que las hembras presentaron una mayor circunferencia abdominal en comparación a la que presentaron los machos.

1.18.3 Peso

Los resultados del grupo en general fueron de 4.45 gramos con una desviación estándar de ± 1.67 gramos. Los machos obtuvieron una media de 4.79 gramos con una desviación estándar de ± 2.19 gramos; mientras que las hembras

obtuvieron una media de 4.37 gramos con una desviación estándar de ± 1.70 gramos, Ver tabla 6.

Tabla 7

Resultados del peso obtenido.

<i>Parámetros</i>	<i>Número de animales</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar (gramos)</i>
<i>Todo el grupo</i>	10	4.45 g	± 1.67
<i>Machos</i>	2	4.79 g	± 2.19
<i>Hembras</i>	8	4.37 g	± 1.70

En cuanto al peso, se describe que las hembras mantienen un peso mayor al de los machos lo cual es contrario a lo encontrado dentro del estudio ya que los machos presentaron un peso poco mayor al de las hembras, esto se debió a que algunos animales mostraron una baja condición corporal y por consiguiente un bajo peso, ejemplo de esto es el animal del terrario 2997/2 que presentó el peso más bajo entre todos los anfibios que formaron parte del estudio (Peña, 2010).

1.19 Hallazgos macroscópicos y microscópicos

En el 70% de los individuos (7/10) que formaron parte del estudio se observó que tenían alteraciones multi-sistémicas, mientras que en el resto de individuos no se observaron lesiones de forma evidente macroscópicamente.

En todos los animales se observó líquido dentro de su cuerpo al realizar la primera incisión con la que se ingresó a cavidad celómica. No se consideró este hallazgo como diagnóstico debido a que los animales se encontraban en formol y el líquido pudo ser formol que ingreso por la permeabilidad cutánea.

Se describirán los hallazgos macroscópicos por sistemas:

1.19.1 Corazón - Análisis macroscópico

Posterior al análisis de todos los corazones se observó que existieron tres lesiones predominantes observadas hipertrofia cardíaca, hemopericardio y corazón de coloración blanquecina.

Se presentó hipertrofia cardíaca en 7 (70% de la población) ver Figura 5. Se encontró hemopericardio en 3 animales (20% de la población). La otra lesión se observó en 2 animales (20% de la población) que presentaban palidez total del órgano (corazón de color blanco). El otro 30% de la población no presentó ningún cambio significativo de forma macroscópica, Ver tabla 7.

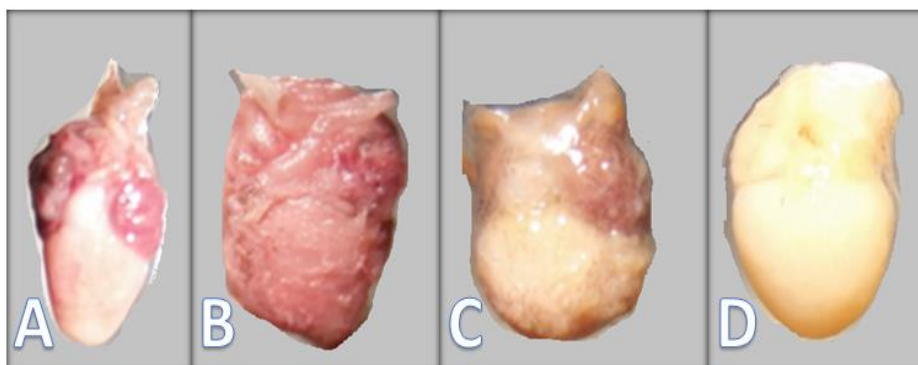


Figura 5. Se muestran todas las patologías encontradas en corazón de forma macroscópica. A. Corazón normal. B. Hipertrofia de corazón, se observa con aumento de tamaño y pérdida de la estructura normal del corazón. C. Corazón con hemopericardio, se observó sangre en el pericardio, también presenta aumento de tamaño. D. Corazón de coloración blanquecina con ligero aumento de tamaño compatible con enfermedad del músculo blanco.

Como se observa en la tabla 1 algunos animales presentaron más de una patología.

Tabla 8

Se representan los resultados de patologías encontradas de forma macroscópica en corazón.

<i>Identificación</i>	<i>Porcentaje de animales afectados</i>	<i>Diagnóstico macroscópico</i>	<i>Tipo de lesión</i>
T2859; T2832 T2997; T2928 T2994; T2984 T2894	70%	Hipertrofia cardíaca	Vascular
<i>Identificación</i>	<i>Porcentaje de animales afectados</i>	<i>Diagnóstico macroscópico</i>	<i>Tipo de lesión</i>
T2997; T2928	20%	Hemopericardio	Vascular
T2984; T2894	20%	Enfermedad del músculo blanco	Vascular
T2997/2; T2802 T2926	30%	Ninguna alteración macroscópica	

1.19.2 Corazón - Análisis microscópico

En el análisis microscópico se encontró seis lesiones, mismas que tienen relación con los hallazgos encontrados en el análisis macroscópico, dilatación cardíaca en el 60% de las muestras analizadas por lo que fue uno de los principales hallazgos. El edema en corazón se encontró en el 70% de los animales analizados. Se encontró falla valvular izquierda en el 50% de los animales analizados, falla valvular derecha en el 20%, hipertrofia cardíaca en el 20% de las muestras, el hemopericardio se observó en el 20% de la población. Los resultados se expresan en el gráfico 1. Ver Figura 6.

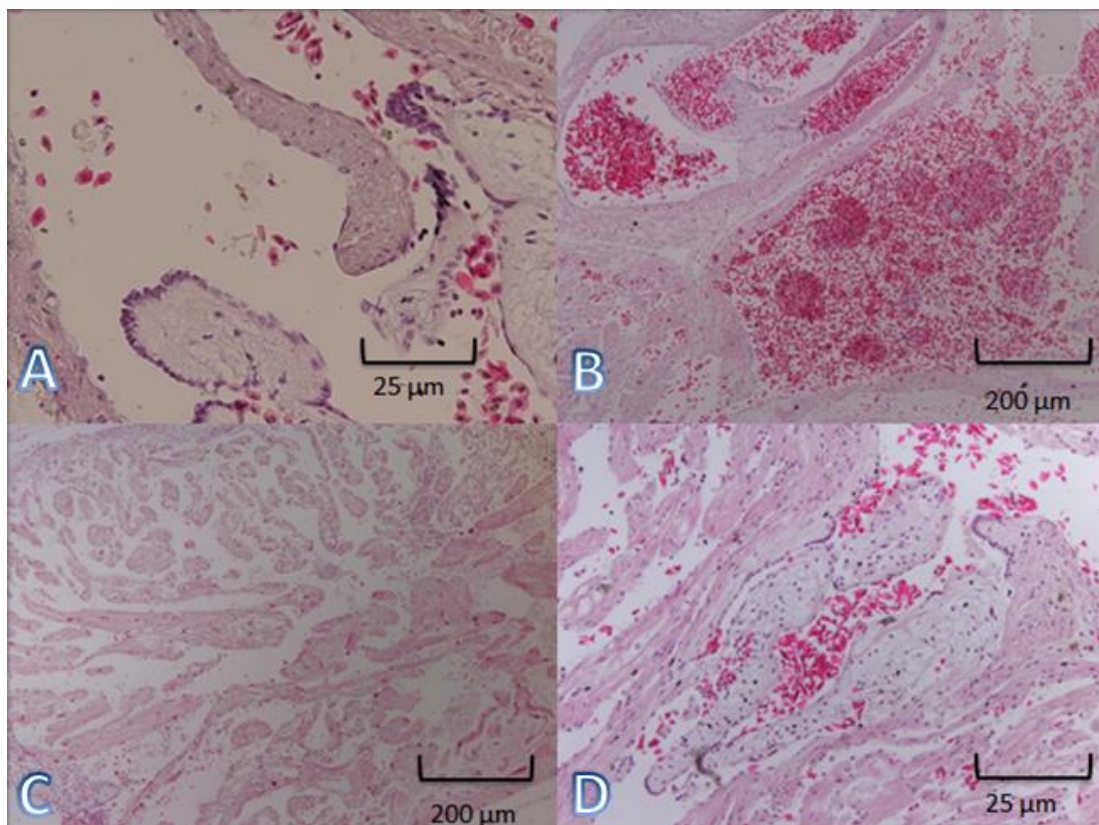
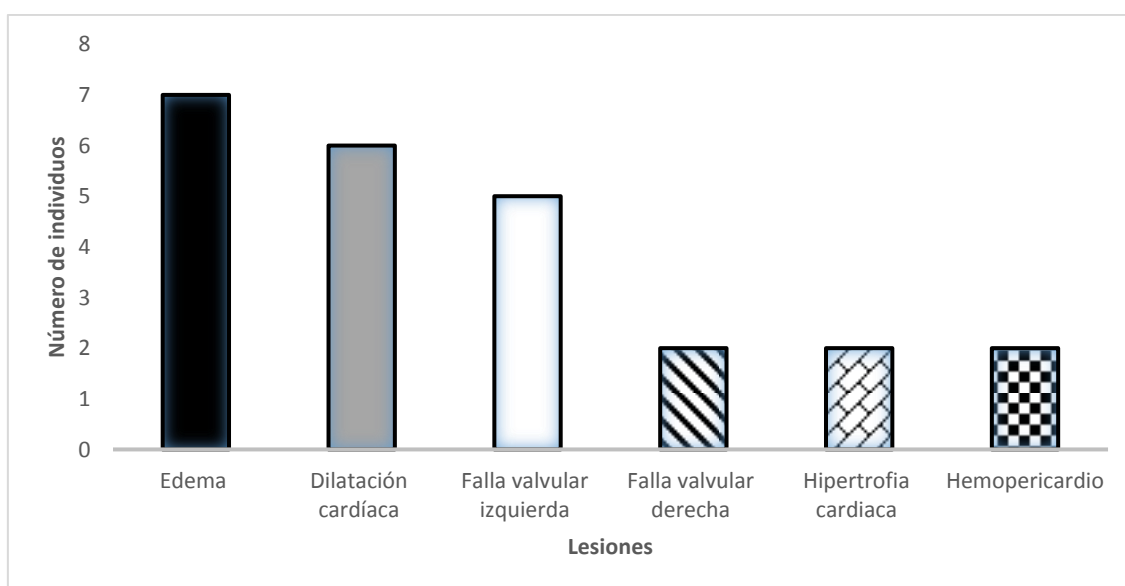


Figura 6. Resultados del análisis microscópico. A. Hiperplasia valvular 20x. Se observa un aumento en el número de células en la válvula espiral. B. Congestión a nivel atrial 4x. Se observa acúmulo de sangre a nivel de los atrios derecho e izquierdo. C. Dilatación cardíaca 4x. Se observa dilatación a nivel de las fibras musculares en pericardio. D. Estenosis valvular 20x. Se observa estenosis cerrada a nivel de válvula izquierda con eritrocitos en su interior.

Gráfico 1. Resultados de histopatología en corazón



1.19.3 Diagnóstico – corazón

1.19.3.1 Edema cardíaco

El edema cardíaco fue el hallazgo predominante en cuanto a patologías cardíacas ya que se presentó de forma macroscópica en 20% de los animales analizados, mientras que de forma microscópica se observó en el 70% de los animales. Esta alteración se observó acompañando a las otras patologías encontradas como es la congestión, el edema se define como un acúmulo de líquidos en el órgano, por lo general el líquido que se encuentra es un trasudado no infeccioso (Paredes, 2006).

El edema se presenta por una interrupción a nivel de los capilares y conductos linfáticos por lo que “no hay retorno del fluido intersticial hacia el sistema circulatorio” (Vaughan, Vitali, Payne, & Eden, 2006), lo que provoca una incapacidad de regular el equilibrio hídrico, la cual puede ser producto de una baja concentración de solutos en el agua y hay aumento de la captación de agua y por ende un acúmulo de líquido linfático. (Vaughan, Vitali, Payne, & Eden, 2006), esta patología se presenta con mucha frecuencia en animales que son trasladados a pisos altitudinales diferentes tal y como describe Moreno de Sandino & Hernández (1985), el cual relata que existe una relación entre la altura y la hipoxia que se presenta en los animales. Cabe considerar que el edema cardíaco se presenta por un proceso crónico asociado a insuficiencia cardíaca izquierda, por lo cual se debe considerar revisar los hallazgos en pulmón. Uno de los órganos con mayor relación en cuanto a las alteraciones electrolíticas es el riñón, ya que una medida compensatoria de este órgano es la de retener agua y sodio mediante el sistema renina-angiotensina. El agua que se retiene por este proceso compensatorio es enviada hacia el torrente sanguíneo provocando mayor cantidad de líquido que se dirige a corazón, el cual sufre una hipertrofia compensatoria para bombear mayor cantidad de sangre, provocando a su vez un proceso hiperplásico en la válvula espiral, al

mantenerse por un largo período de tiempo el atrio izquierdo sufre de insuficiencia provocando edema en pulmón y corazón.

Se ha descrito que su presentación en anfibios es producto de un aumento en la presión hidrostática e insuficiencia cardíaca. Su presentación en animales es poco común ya que en su mayoría mueren antes de presentar esta lesión.

1.19.3.2 Dilatación e hipertrofia cardíaca

El órgano estaba aumentado de tamaño con un mayor grosor del músculo cardíaco, de forma microscópica se observó a las fibras musculares que también estaban aumentadas de tamaño. Se define a la hipertrofia cardíaca como el aumento de tamaño de músculo cardíaco debido a un mayor esfuerzo del mismo como medida compensatoria, en el análisis microscópico este se encontró acompañado por hiperplasia de la válvula espiral y de la válvula izquierda, lo cual coincide con lo descrito por Trigo (2011) quien refiere que es posible encontrar hipertrofia e hiperplasia dentro del mismo órgano, además se observó dilatación cardíaca de forma microscópica, la misma que se encontró acompañada en la mayoría de casos de miocarditis con infiltrado mononuclear o polimorfonuclear similares a linfocitos y heterofilos, lo cual sugiere una inflamación a nivel del pericardio como manifiesta Paredes (2006).

La hipertrofia cardíaca puede producirse como un mecanismo compensatorio hacia una condición medio ambiental adversa. Prasse (2005) y Trigo (2011) refieren que la hipertrofia cardíaca también puede producirse por un aumento en la secreción hormonal, principalmente por las hormonas producidas en la médula renal (hormona antidiurética, catecolaminas, etc.) esto debido a que pueden estimular el metabolismo de determinadas células que poseen receptores para este tipo de sustancias, los desbalances a nivel de riñón contribuyen de forma directa para la presentación de este hallazgo, ya que un aumento en la retención de sodio o una disminución del potasio pueden

estimular a la presentación de esta respuesta adaptativa. Dentro de la dilatación e hipertrofia cardíaca se pueden encontrar fallas a nivel valvular.

Se ha descrito hipertrofia en ranas en distintos procesos de tipo compensativo en los animales, Pessier (2003) indica que es un hallazgo común en animales que han padecido hipoxia ambiental producida por un mal manejo. Osmany (2006) describe que al producirse hipertrofia se espera encontrar alteraciones valvulares, ya sea de atrio izquierdo o derecho.

1.19.3.2.1 Falla valvular izquierda

Se observó alteraciones a nivel de válvula izquierda, tales como estenosis valvular, dilatación, edema e hiperplasia valvular, esto se produce por un aumento en la presión hidrostática lo cual produce un aumento en la circulación venosa provocando un mayor número de contracciones cardíacas con el fin de compensar el aumento en el flujo sanguíneo, tal y como describe Trigo (2011). La falla valvular izquierda produce la aparición de patologías en otros órganos, especialmente en pulmón en donde se puede producir edema y congestión.

1.19.3.2.2 Falla valvular derecha

Se observó falla valvular derecha en menor proporción que en las válvulas del atrio izquierdo, en su mayoría los hallazgos a nivel de válvula derecha fueron congestión, estenosis valvular, edema. Según Trigo (2011) y Paredes (2006) la insuficiencia cardíaca derecha puede ser producto de una insuficiencia valvular izquierda y por un aumento en el flujo sanguíneo por lo que el atrio derecho disminuye su función provocando afectaciones sistémicas como son congestión en hígado, bazo y tracto digestivo. Estos hallazgos concuerdan con lo observado en otros órganos como son riñón e hígado.

1.19.3.3 Hemopericarditis

Esta afectación se define como presencia de sangre en el saco pericárdico, microscópicamente se observó acúmulo de eritrocitos acompañados por edema que en su mayoría se encontraban localizados en el ápice cardíaco, según Trigo (2011) la prevalencia de este hallazgo es bajo por lo que se debe diferenciar su origen, para su manifestación existen varias causas como son: la

punción cardíaca que es la mayor causa para la presencia de este hallazgo, otra causa son la presencia de neoplasias, pericarditis (infecciosas y no infecciosas).

El hemopericardio es una alteración que puede afectar a todas las especies animales, pese a esto la causa que lo provoca difiere dependiendo de las especies que son afectadas (Trigo, 2011).

Las causas de hemopericardio descritas en otras especies no son compatibles con las descritas en mamíferos, por lo cual se ha comparado con lesiones similares en aves, en las cuales el hemopericardio se presenta por un aumento en la presión hidrostática (Hernández, 1987).

1.19.4 Análisis macroscópico-Pulmón

El principal hallazgo macroscópico que fue el edema pulmonar el mismo que se encontró en el 40% de los animales analizados, mientras que el segundo hallazgo fue la hemorragia pulmonar que se presentó en el 20% de los animales analizados, mientras que en el 40% no se observaron alteraciones significativas para el estudio en forma macroscópica (Ver tabla 8), en la Figura 7 se aprecia algunas de las patologías encontradas de forma macroscópica.



Figura 7. Pulmón. Se observa 3 pulmones que presentaron afectaciones. A. Se muestran pulmones en estado normal. B. Se observa pulmones con edema multifocal. C. Se observan pulmones con áreas hemorrágicas.

Tabla 9

Se muestran los resultados de las patologías encontradas de forma macroscópica en pulmón.

<i>Identificación</i>	<i>Porcentaje de animales afectados</i>	<i>Diagnóstico macroscópico</i>	<i>Tipo de lesión</i>
<i>T2997; T2928 T2984; T2894</i>	40 %	Edema pulmonar	Vascular
<i>T2859; T2994</i>	20 %	Hemorragia pulmonar	Vascular
<i>T2997/2; T2802; T2832; T2926</i>	40 %	Sin alteraciones evidentes	

1.19.5 Análisis microscópico-Pulmón

Dentro del análisis microscópico de pulmón se observó como hallazgo predominante el edema pulmonar, mismo que se encontró acompañado de congestión encontrándose en el 90% de las muestras analizadas. El 30% de los animales mostraron aumento en el tamaño del intersticio áreas de infiltrado mientras que el 10% presentó enfisema pulmonar el cual también se vio acompañado de congestión como se observa en la Figura 8. Ver gráfico 2.

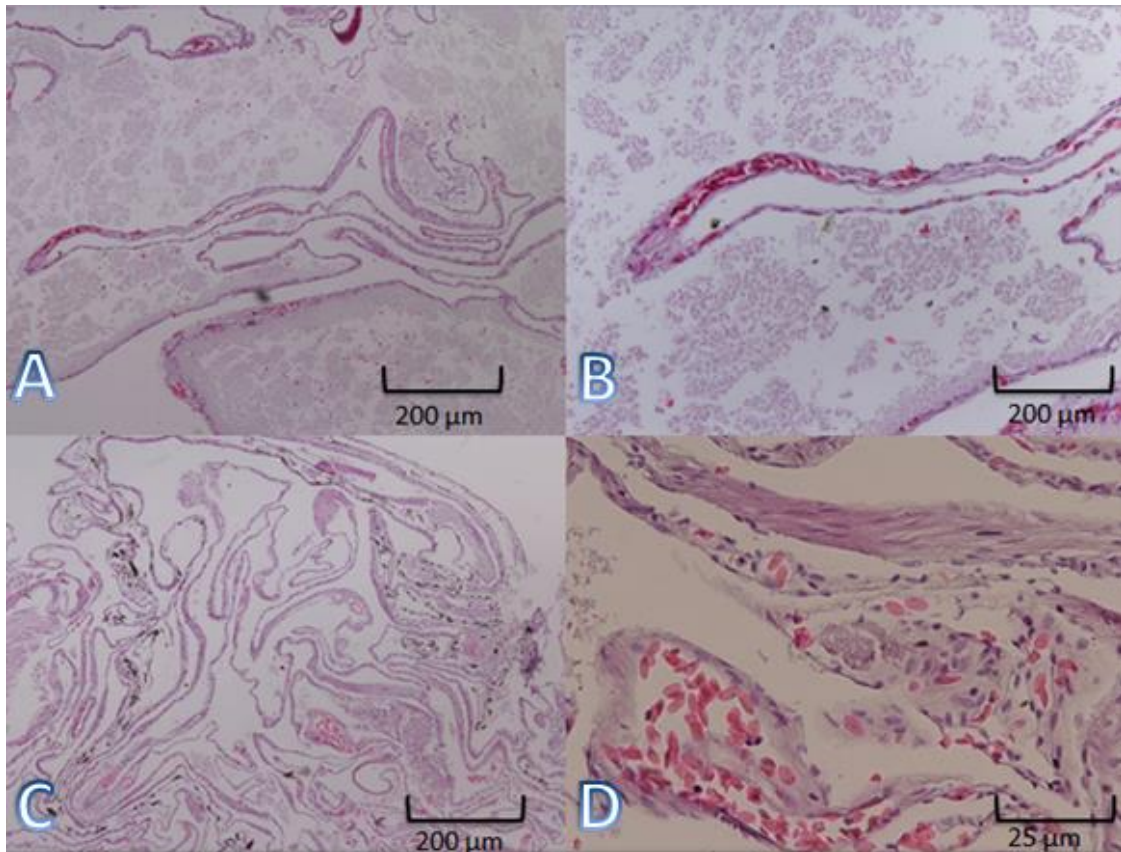
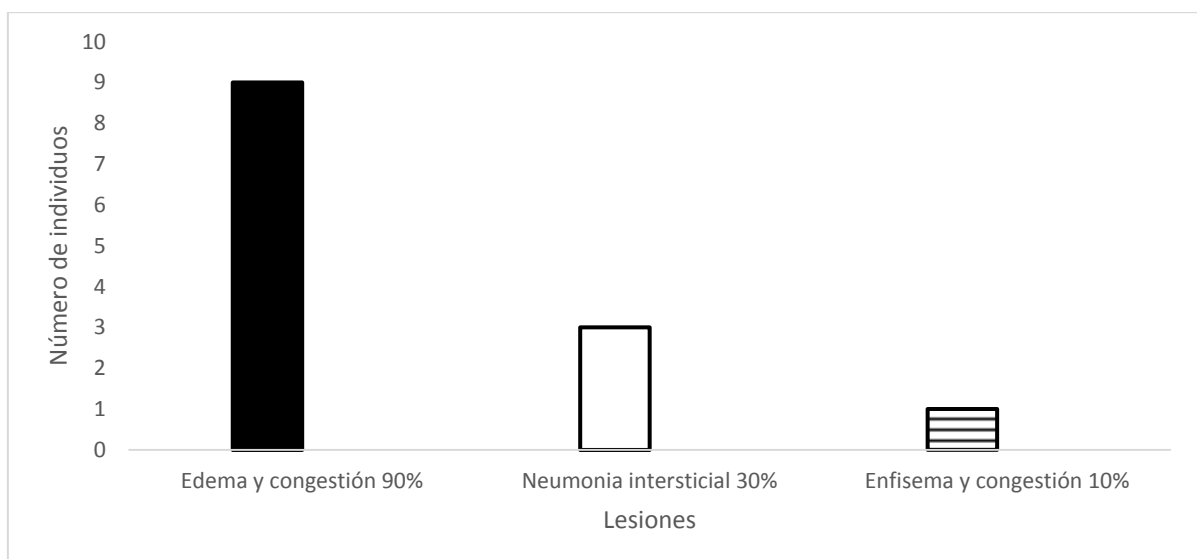


Figura 8. A. Edema generalizado 4x. Se observó edema y congestión en todo el órgano. B. Congestión y edema 4x. Se observó congestión multifocal acompañado de edema. C. Neumonía intersticial con infiltrado de melanómacrofagos 4x. Se observó múltiples áreas de melanómacrofagos en el órgano. D. Congestión pulmonar 20x.

Gráfico 2. Se aprecian los resultados microscópicos encontrados en pulmón



1.19.6 Diagnostico anátomo-patológico de pulmón

1.19.6.1 Edema pulmonar

El edema pulmonar fue encontrado en el 90% de los animales y se encontró acompañado de áreas congestivas, en la mayor parte de casos se encuentran estas patologías juntas aunque pueden existir casos en los que el edema se presenta solo, se observó el órgano aumentado de tamaño con apariencia globosa, al diseccionar se evidenció salida de líquido, de forma microscópica se comprobó la presencia de un material eosinofílico en el órgano el mismo que como se mencionó anteriormente se encontró acompañado por congestión, este hallazgo se encontró en la mayoría de casos generalizado y con afectación severa. La patología es concordante con los hallazgos encontrados en corazón ya que varias patologías que se producen a nivel de pulmón tienen un origen en corazón. El edema pulmonar puede ser de origen cardiogénico y no cardiogénico. Las causas cardiogénicas son las producidas por alteraciones cardíacas principalmente del atrio izquierdo tal y como describe Trigo (2011) quien afirma que “la presión sanguínea en el extremo venoso de los capilares pulmonares suele incrementarse en exceso respecto de la presión osmótica ejercida por la proteínas plasmáticas, de modo que el líquido pasa al espacio intersticial del pulmón y a los alvéolos”. Dentro de los resultados de corazón se describió hiperplasia valvular en la válvula espiral y en la válvula del atrio izquierdo además de dilatación e hipertrofia, lo que fundamentaría que el edema pulmonar fue causado por una falla de los mecanismos compensatorios cardíacos (Schwab, Pierre-Jayet, & Allemann, 2007).

Dependiendo de la severidad se puede conocer la cronicidad de las lesiones ya que en hallazgos severos en los que se encuentra comprometido del 70% al 90% del órgano, se puede decir que tuvo un curso crónico, mientras que una severidad leve en la que la afección no supera el 10% del órgano se dice que es un proceso agudo, por lo cual se deduce que todos los animales padecieron un proceso crónico con la enfermedad (Osmany, 2006).

Las causas no cardiogénicas se pueden producir por varias causas entre las cuales resaltan la hipoalbuminemia, ruptura de las membranas alveolares y bloqueo de nódulos linfáticos los cuales son producto de infecciones o de toxinas que se producen a nivel de pulmón, estos hallazgos suelen verse acompañados de células inflamatorias (linfocitos, macrófagos, neutrófilos), pese a esto no se observaron células inflamatorias dentro del análisis microscópico de los órganos analizados por lo cual se descarta que esta sea la causa que ocasiono el edema en pulmón. El aumento del intersticio es un complemento al diagnóstico de edema aunque no es específico de la misma debido a que también se la puede encontrar en enfisema (Paredes, 2006).

En anfibios se ha descrito el edema pulmonar como componente del síndrome de edema maligno en ranas, Pessier (2003) relata que es uno de los hallazgos más frecuentes al momento de realizar la técnica de necropsia y es fácilmente identificable en histopatología.

1.19.6.2 Neumonía intersticial

Se observó neumonía intersticial en tres animales dentro del estudio, macroscópicamente se encontró áreas hemorrágicas en el órgano. Microscópicamente se evidenció el intersticio aumentado de tamaño, acompañado por infiltrado mononuclear basofílico y áreas de congestión. Paredes (2006) relata que la principal causa de la neumonía intersticial es la congestión pulmonar, enfisema pulmonar y lesiones traumáticas a nivel torácico. Del conjunto de causas descritas por Paredes las más relacionadas con los hallazgos obtenidos en el estudio son la congestión pulmonar ya que fue un hallazgo que se encontró en todos los pulmones analizados y el enfisema pulmonar que fue descrito posteriormente. Trigo (2011) relata que en la neumonía intersticial existe presencia de macrófagos, linfocitos y neutrófilos, los mismos que causaran la inflamación, dicha mención es concordante con los resultados encontrados en el estudio ya que se observó la presencia de melanomacrófagos acompañados por células mononucleares basofílicas compatibles con linfocitos.

1.19.6.3 Enfisema pulmonar

El enfisema pulmonar se encontró en el 10% de los animales evaluados, macroscópicamente se observó áreas de hemorragia mientras que de forma microscópica se apreció ruptura de los sacos alveolares del órgano sin ningún tipo de material en su interior por lo que se interpretó como un acúmulo de aire en el tejido.

El enfisema pulmonar tiene causas muy diversas entre las que resaltan afecciones por choque anafiláctico producido por toxinas, falla cardíaca izquierda y parasitosis intestinal tal y como describe Osmany (2006), en cuanto a la causa que se acerca más hacia a la aparición de la afección se encuentra la falla cardíaca ya que al presentarse alteraciones a nivel del atrio izquierdo aumenta el flujo sanguíneo hacia pulmón provocando congestión pulmonar la misma que aporta para la aparición de enfisema.

El enfisema pulmonar se encuentra ampliamente descrito en varias especies animales pese a esto se conoce que la etiología cambia dependiendo de las mismas, por lo general las lesiones descritas son producto de parasitosis causadas por nematodos en pulmón o la presencia de leucocitos los mismos que producen inflamación (Trigo, 2011). En el estudio no se observó parasitosis a nivel de pulmón pero se encontró infiltrado mononuclear basófilico compatible con linfocitos cerca de las áreas que presentan enfisema por lo cual se coincide con lo enunciado por Trigo (2011) además se ha observado que en caninos, bovinos y porcinos se presenta el mismo patrón de presentación y es conocido como enfisema irregular.

Se encuentra poco descrito en anfibios por lo cual se realizó comparaciones con aves en las cuales se describe como un proceso agudo de falla cardíaca la misma que aumenta la cantidad de sangre y células inflamatorias hacia pulmón. Se ha descrito que se encuentra en conjunto con neumonía de tipo intersticial, lo cual concuerda con lo observado en los animales de este estudio.

1.19.7 Análisis macroscópico-Hígado

Dentro del análisis macroscópico se observó como hallazgo principal hepatitis en el 50% de las muestras analizadas y necrosis hepática en el 50% de muestras, como se observa en la Figura 9. Para una mayor comprensión de los resultados observar la Tabla 9.



Figura 9. Principales patologías encontradas de forma macroscópica en hígado. A. Se observa hígado normal y sin presencia de alteraciones de forma macroscópica. B. Se observa hepatitis, el órgano se encuentra aumentado de tamaño y con coloración amarillenta. C. Se aprecia hígado con necrosis, se observan áreas de necrosis en donde existe una coloración pálida a comparación del resto del órgano.

Tabla 10

Se observan los resultados obtenidos de forma macroscópica en hígado.

<i>Identificación</i>	<i>Porcentaje de animales afectados</i>	<i>Diagnóstico macroscópico</i>	<i>Tipo de lesión</i>
<i>T2997;T2859 T2926;T2984 T2994</i>	50 %	Hepatitis	Degenerativa
<i>T2997/2;T2802 T2832;T2928 T2894</i>	50 %	Necrosis hepática	Degenerativa

1.19.8 Análisis microscópico-Hígado

El análisis microscópico de hígado acotó información para determinar el Diagnóstico. Se congestión en el 80% de las muestras analizadas, fibrosis en el 80%, degeneración en el 40%, edema en un 30% y necrosis en el 30%. La congestión y la fibrosis hepática fueron los hallazgos predominantes de forma microscópica siendo concordantes con los hallazgos hechos de forma macroscópica ver Figura 10. En el Gráfico 3 se muestran los resultados.

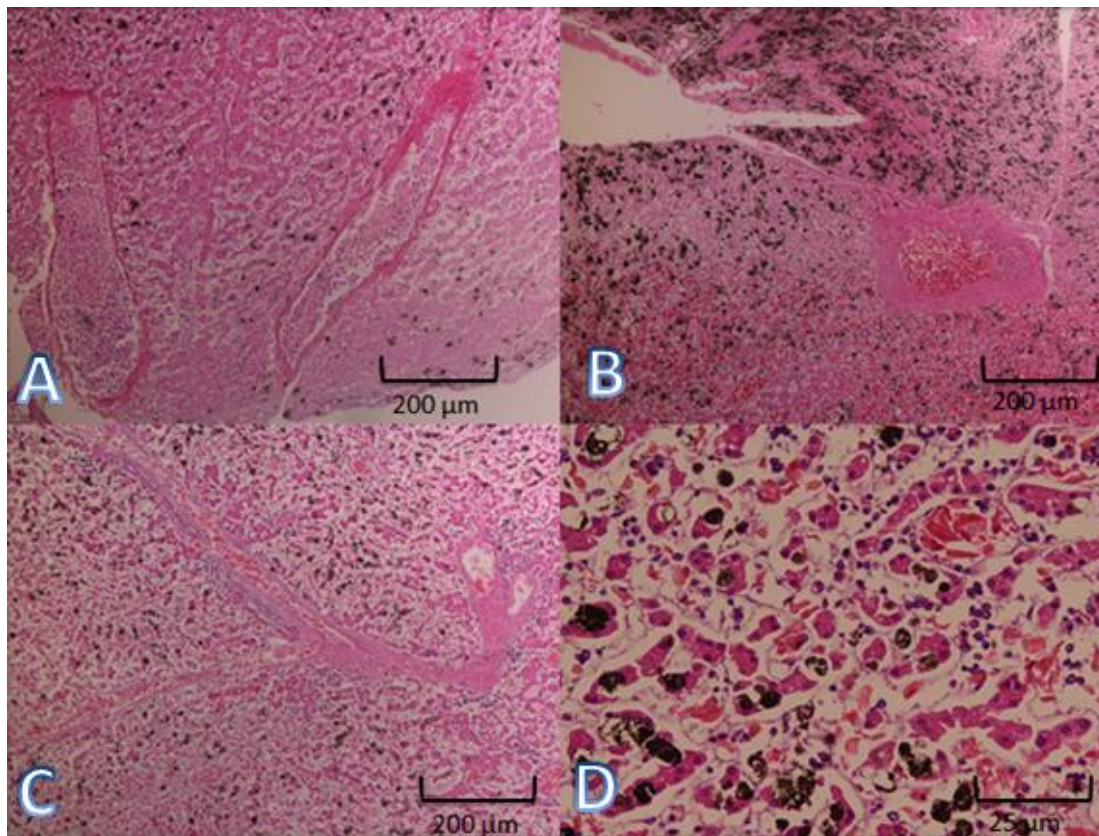
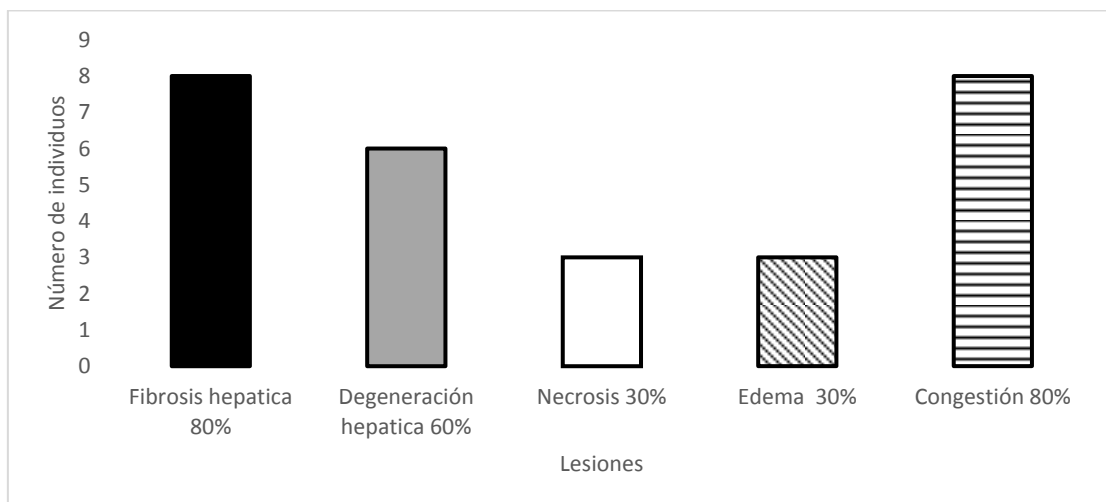


Figura 10. A. Edema 4x. Se observó edema dentro de vasos sanguíneos, se observa degeneración vacuolar. B. Infiltrado de melanómacrofagos en hígado 4x. Se observó infiltrado de melanómacrofagos junto a áreas de fibrosis hepática. C. Fibrosis hepática 4x. Se observó fibrosis en vasos sanguíneos. D. Degeneración vacuolar 20x. Se observó degeneración vacuolar de forma generalizada.

Gráfico 3. Resultados microscópicos encontrados en hígado



1.19.9 Análisis anátomo-patológico de hígado

1.19.9.1 Fibrosis hepática

El hígado se encontró con un ligero aumento de tamaño, coloración icterica y con un aumento de tamaño de las arterias y venas renales como se mostró en la Figura 10.B, mientras que otros mostraron áreas de infarto en el órgano las cuales se observaron con una coloración rosácea con distribución multifocal, revisar Figura 10.C. Dentro del análisis microscópico se encontró fibrosis hepática, la cual tuvo una distribución multifocal, se la encontró con mayor frecuencia en vasos sanguíneos y en menor proporción en otras partes del órgano, esta lesión se vio acompañada de congestión la misma que se encontró entre los sinusoides y alrededor de zonas vasculares y degeneración lipídica la cual tuvo una distribución multifocal en distintas áreas del órgano. La fibrosis hepática se describe como un estadio de degeneración hepática el mismo que es antecedido por una inflamación del órgano (hepatitis) y en casos de mantenerse la cronicidad puede llegar a un estadio terminal conocido como cirrosis hepática (Zachary & McGavin, 2014).

Se describe a la fibrosis hepática se encuentra caracterizada por un proceso de degeneración y fibrosis del hígado como detalla Zachary & McGavin (2014),

dentro de los hallazgos que se pueden encontrar en la fibrosis hepática se encuentran el edema, congestión, fibrosis, degeneración de los hepatocitos y en casos más severos necrosis del órgano. Dentro de la fibrosis hepática el encontrar edema el cual se encontró en el 30% de los animales analizados con una distribución focal cercana a los vasos sanguíneos, Romero & Hernández (1998) menciona que es normal encontrar edema en fibrosis y cirrosis hepática y esto es debido a que este se produce por un aumento de la presión de la vena portal, la misma que se produce por un aumento de la presión hidrostática, al aumentar la cantidad de sangre que llega a hígado se produce zonas de congestión, las áreas de congestión por lo general se encuentran cerca a grandes vasos sanguíneos y sinusoides (Jub, Kennedy, & Palmer, 2005), los resultados obtenidos son concordantes con los mencionados por Jub et al (2005). Zachary & Mcgavin (2014) afirma que “la congestión hepática pasiva o crónica finalmente conduce a la fibrosis cerca de las venas centrales” dicha afirmación respalda en gran parte los resultados obtenidos en cuanto a los hallazgos. La degeneración lipídica es uno de los hallazgos más importantes debido a que este tipo de degeneración limita la funcionalidad de las células y todo el órgano al mantenerse esta degeneración por un tiempo prolongado derivó en un proceso de fibrosis y en etapas terminales desemboca en necrosis de las áreas afectadas (Paredes, 2006), una de las causas para que se produzca degeneración grasa es la insuficiencia cardíaca derecha la cual produce también congestión generalizada en hígado y bazo (Jub et al., 2005).

Todos los autores antes mencionados concuerdan en que el proceso de necrosis se presenta en etapas terminales y de curso crónico.

En anfibios se ha descrito que la fibrosis tiene varias causas entre las cuales se encuentra la mala alimentación de los animales en cautiverio, el síndrome de edema y en fallas cardíacas del atrio derecho o falla renal. Lo más concordante con los resultados arrojados por el estudio es la falla de atrio derecho, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en corazón e hígado.

1.19.9.2 Degeneración hepática

Se observó de forma macroscópica al órgano con coloración pálida y áreas con cambios de coloración. Microscópicamente se observó en los hepatocitos al núcleo desplazado hacia la periferia por gotas de grasa en el citoplasma. Paredes (2006) describe que la de degeneración lipídica es la más común en órganos como corazón, riñón e hígado, además describe que de forma microscópica se observan micro vacuolas de grasa las mismas que desplazan al núcleo, mostrando una forma similar a un anillo, esta afirmación concuerda con lo encontrado en el estudio de forma microscópica tal como se observa en la Figura 10 D.

Osmany (2006) indicó que la degeneración hepática es un proceso de cronicidad entre aguda y crónica que por lo general se encuentra acompañada por áreas de congestión y fibrosis de moderada a severa a nivel de vasos sanguíneos, lo cual es concordante con los resultados arrojados por el estudio.

En anfibios en cautiverio se ha descrito que las causas predisponentes para la aparición de esta enfermedad son: alimentación alta en grasas y procesos de afectación cardíaca, siendo ambos compatibles con los resultados obtenidos en otros órganos (Wright & Whitaker, 2001)

1.19.9.3 Necrosis

Se observó macroscópicamente áreas multifocales con cambio de coloración y palidez del órgano. Microscópicamente se observaron áreas con pérdida de celularidad y coloración eosinofílica aumentada en el área de necrosis. Trigo (2011) describe a la necrosis como áreas de tejido muerto, en las cuales se observa degeneración del citoplasma y pérdida de los núcleos en las células, lo cual es concordante con los resultados obtenidos en el estudio. Trigo (2011) y Paredes (2006) describen que la necrosis hepática es poco usual debido al gran poder de regeneración que posee el hígado, además se describe que al presentarse necrosis en hígado se espera procesos de afectación multiorgánica por fallo hepático.

1.19.10 Análisis macroscópico-Vesícula biliar

Los resultados arrojados después de realizar el análisis macroscópico señalan que la patología predominante en este órgano fue el edema de vesícula biliar el cual se encuentra presente en el 70% de los animales analizados, mientras que el 30% de la población no presentó cambios significativos ver Figura 11. Para una mayor comprensión se recomienda observar la Tabla 10.

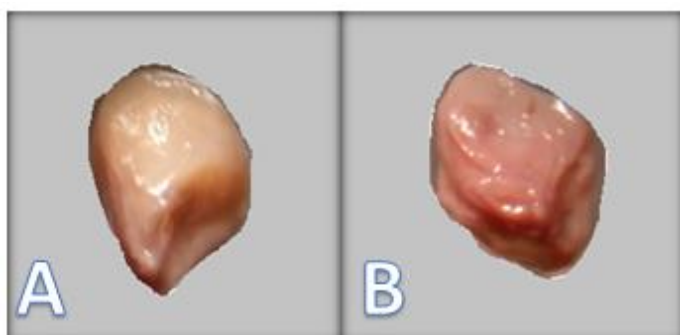


Figura 11. Resultados macroscópicos en vesícula biliar. A. Vesícula biliar sin cambios en su estructura. B. Vesícula biliar con cambio en su estructura se evidencia áreas hemorrágicas.

Tabla 11

Descripción de los hallazgos macroscópicos

<i>Identificación</i>	<i>Porcentaje de animales afectados</i>	<i>Diagnóstico macroscópico</i>	<i>Tipo de lesión</i>
<i>T2997; T2984 T2994; T2802 T2832; T2928 T2894</i>	70 %	Edema de vesícula biliar	Vascular
<i>T2997/2; T2859 T2926</i>	30 %	Sin cambios significativos	

1.19.11 Análisis microscópico-Vesícula biliar

El análisis microscópico de vesícula biliar arrojó resultados concordantes con las lesiones encontradas en hígado. Se observó edema y congestión en el 100% de los animales, hiperplasia en el 30%, cálculos biliares en el 20% y parásitos compatibles con *Giardia* en el 10%. Figura 12 y Ver gráfico 4.

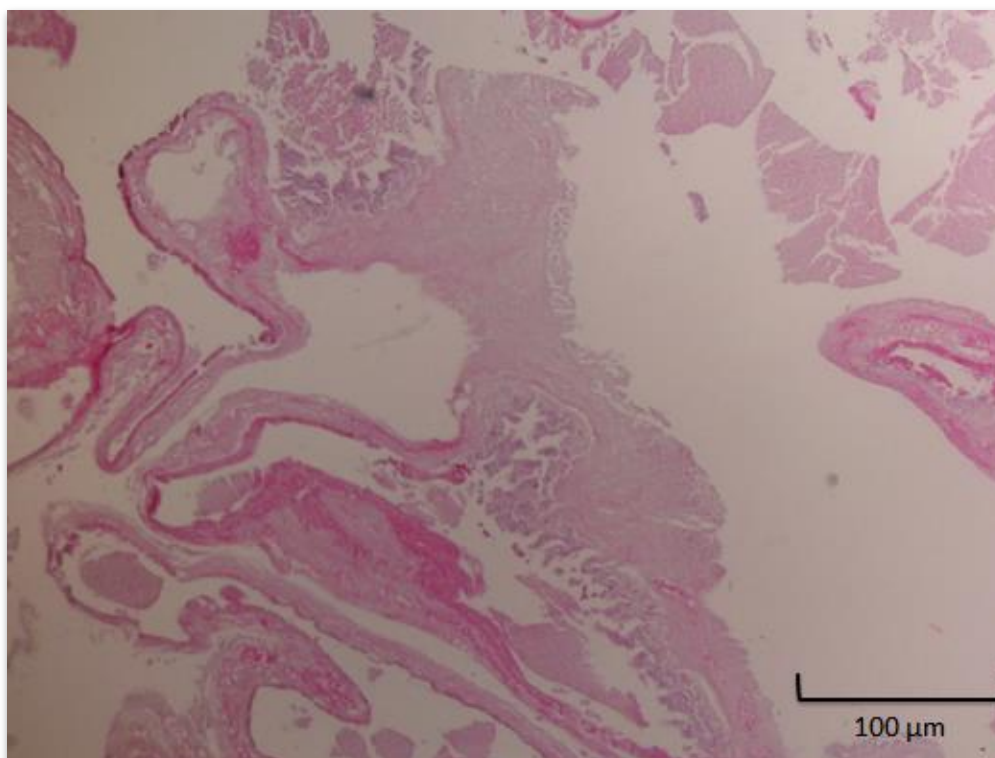
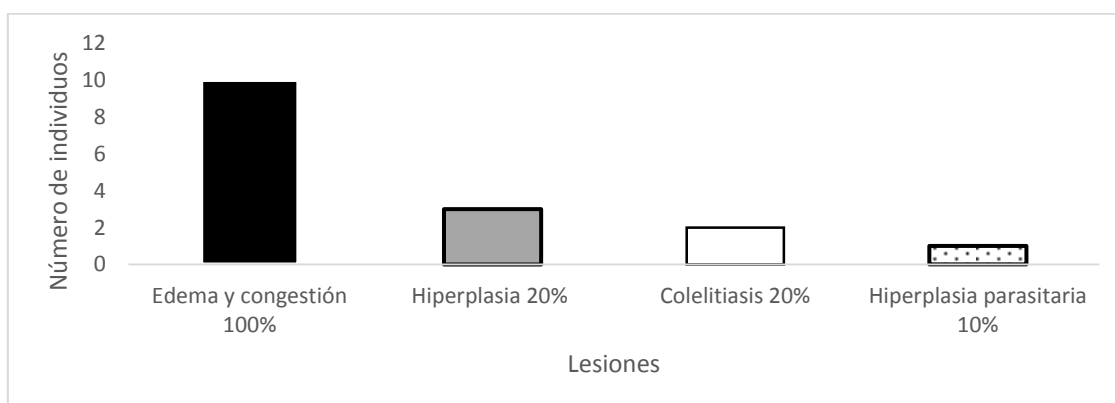


Figura 12. Edema vesicular 10x. Se observó edema dentro del órgano de forma generalizada, acompañada de congestión, se aprecia aumento en el tamaño del intersticio.

Gráfico 4. Resultados microscópicos encontrados en vesícula biliar



1.19.12 Análisis anátomo-patológico de vesícula biliar

1.19.12.1 Hiperplasia

De forma macroscópica no se observaron alteraciones que indiquen sobre un proceso de hiperplasia. Microscópicamente se observó aumento en el número de células acompañado con áreas de congestión. Osmany (2006) describe que se produce hiperplasia en vesícula biliar cuando se presentan procesos de daño hepático crónico. La hiperplasia descrita por Osmany es de tipo compensativo y se encuentra acorde con los resultados obtenidos en hígado. En anfibios no se encuentra descrito como un hallazgo principal, por lo cual no se tiene clara la causa que lo provoca. En aves se han descrito alteraciones similares las cuales son provocadas por medidas compensatorias en el síndrome de ascitis (Hernandez, 1987).

1.19.12.2 Colelitiasis

Se observó cálculos biliares en los animales analizados, la presencia de estas formaciones es común en animales, en anfibios no se describen las causas de cálculos en vesícula biliar en vida silvestre, en cautiverio se la puede relacionar con la alimentación con altas cantidades de colesterol en el alimento, también puede ser producto de inflamación e infecciones bacterianas. La prevalencia de colelitiasis se encuentra descrita en el 1% de los animales que padecen enfermedades hepáticas (Arias, Klima, Rodríguez, Cruz, & Bigeon, 2001).

Se ha observado colelitiasis en perros y gatos los cuales presentan alteraciones similares a las encontradas, pese a esto en la mayor cantidad de casos los cálculos biliares son provocados por una alimentación grasa (Arias et al., 2001), en anfibios la causa es similar a la descrita en animales de compañía ya que la mala alimentación en cautiverio provoca la presencia de este tipo de alteraciones (Poole & Grow, 2009).

1.19.12.3 Hiperplasia parasitaria

Durante la examinación de vesícula biliar se observó hiperplasia del tejido acompañada de infiltrado basofílico polimorfonuclear, en conjunto con estructuras eosinofílicas las cuales son compatibles con *Entamoeba*. Se describe a *Entamoeba* como un protozooario intestinal aunque este parásito puede migrar por circulación hacia órganos como hígado, pulmón, bazo, por lo cual pudo llegar hacia vesícula biliar de forma accidental mediante la circulación desde hígado (Diamond, 1993). Dicha afirmación discrepó de los resultados obtenidos debido a que en hígado no se observó la presencia de protozoarios, ni estructuras basofílicas. Trigo (2011) describe que la presencia de parásitos dentro del epitelio provoca inflamación y posteriormente hiperplasia ya que los parásitos liberan toxinas, mismas que inician la proliferación celular en el órgano. Dicha afirmación es la más acercada a los resultados obtenidos en el estudio.

1.19.13 Análisis macroscópico-Riñón

Dentro del análisis macroscópico en riñón se encontró como hallazgo predominante nefritis que se observó en el 60% de la población analizada mientras que el 20% presentó quistes renales, el 20% restante no presentó ninguna afectación ver Figura 13. Para una mayor comprensión revisar la Tabla 11.

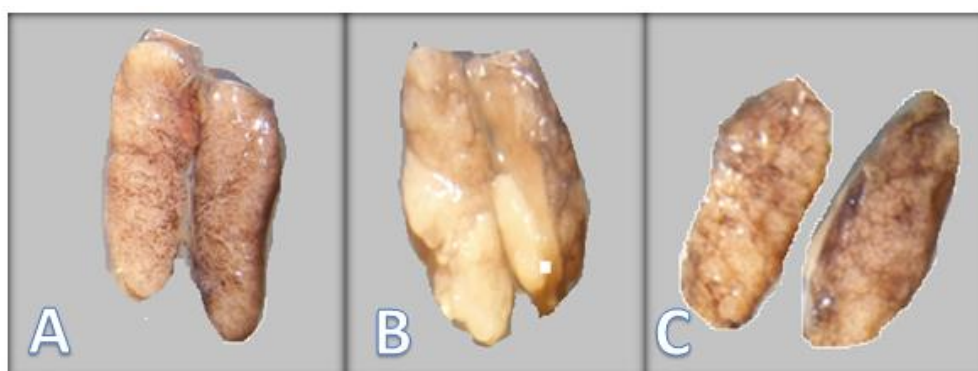


Figura 13. Hallazgos macroscópicos de riñón. A. Riñón normal sin cambios morfológicos evidentes. B. Riñón con nefritis, se observa con aumentó de

tamaño de los bordes. C. Riñón poli quístico, se observan quistes en la corteza renal.

Tabla 12
Hallazgos macroscópicos de riñón.

<i>Identificación</i>	<i>Porcentaje de animales afectados</i>	<i>Diagnóstico macroscópico</i>	<i>Tipo de lesión</i>
<i>T2997; T2928 T2984; T2894 T2859; T2994</i>	60 %	Nefritis	Inflamatorio/Vascular
<i>T2859; T2994</i>	20 %	Quistes renales	Neoplásico
<i>T2997/2; T2802</i>	20 %	Sin alteraciones evidentes	

1.19.14 Análisis microscópico-riñón

Tras realizar el análisis microscópico de riñón se encontró glomerulonefritis en el 100% de las muestras, dividiéndose en glomerulonefritis: Proliferativa 40%, membranosa 40% y membranoproliferativa 20%, también se encontró edema y congestión en el 90% y quistes renales en el 10% de los animales. En el Gráfico 5 se observan los resultados. Ver Figura 14.

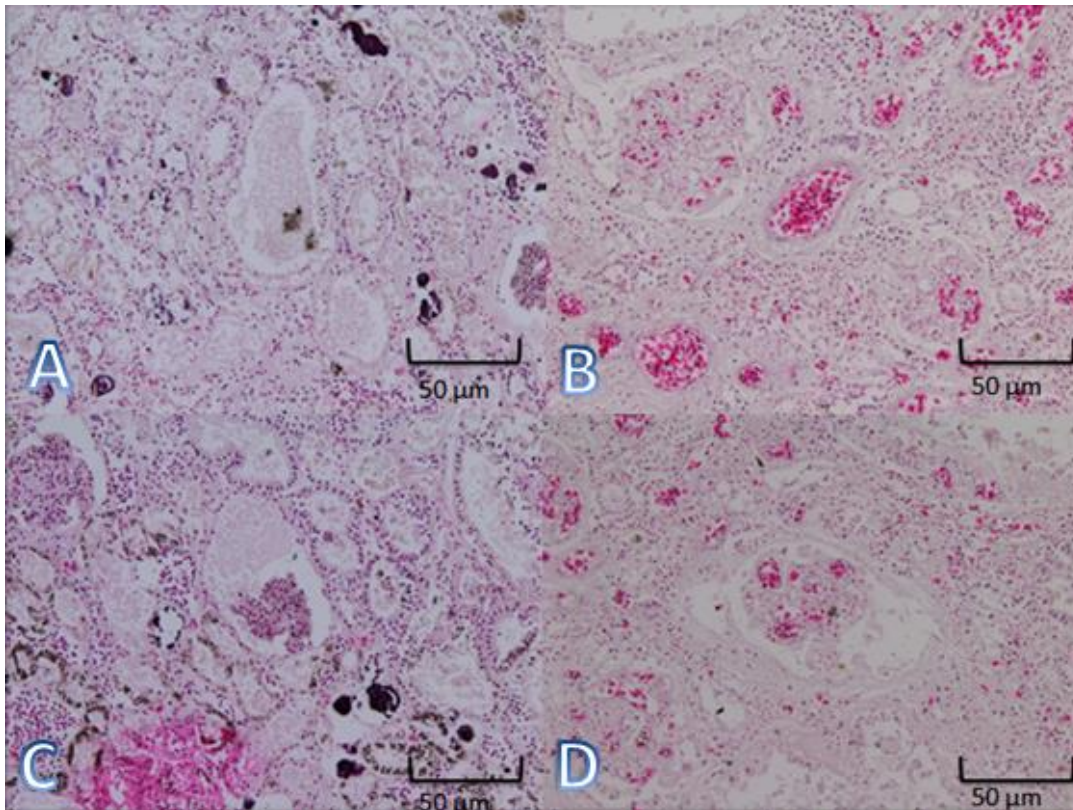
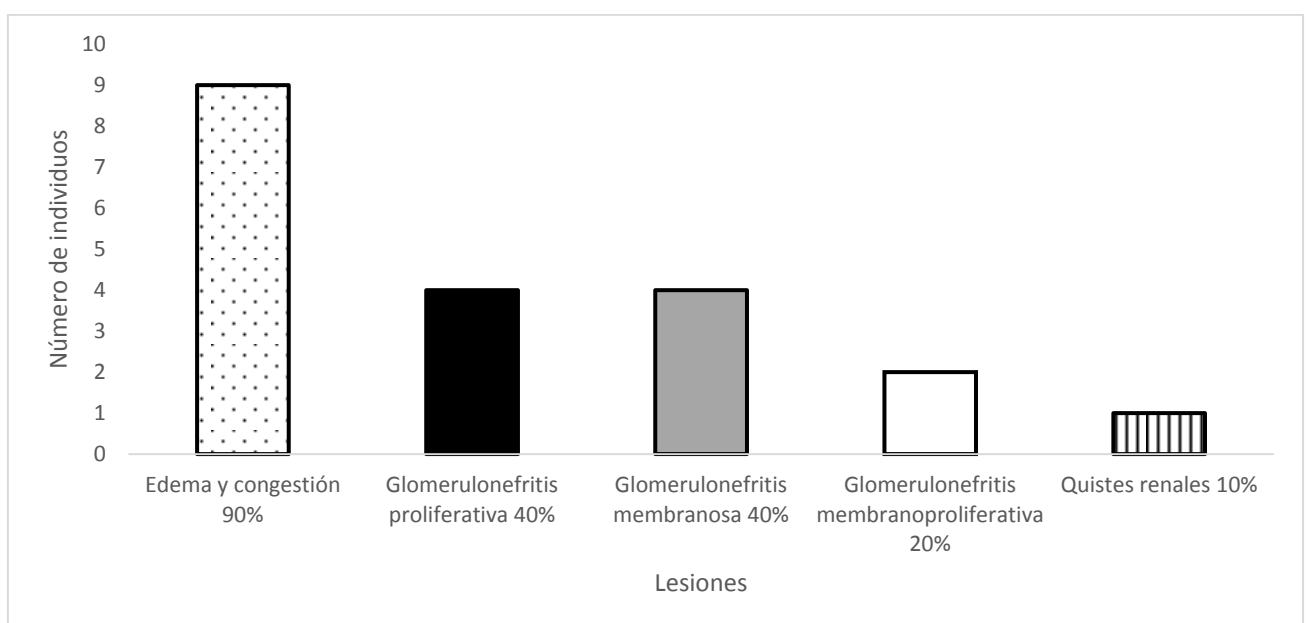


Figura 14. A. Edema renal 10x. Se observó edema en vasos sanguíneos de riñón. B. Congestión y glomerulonefritis 10x. Se observó congestión multifocal en el órgano. C. Glomerulonefritis 10x. Se observó glomerulonefritis proliferativa acompañada de edema. D. . Glomerulonefritis 10x. Se observó glomerulonefritis membranosa acompañada de edema y congestión.

Gráfico 5. Resultados microscópicos encontrados en riñón



1.19.15 Análisis anátomo-patológico de riñón

1.19.15.1 Glomerulonefritis

Dentro del estudio se observó de forma microscópica glomerulonefritis en todos los animales analizados, pese a esto se observaron distintos tipos de esta alteración los como son glomerulonefritis proliferativa, membranosa, membrano proliferativo, por lo cual se describirá cada una por separado. Se ha descrito en anfibios que la causa de glomerulonefritis es la hipoxia ambiental y se produce con mayor frecuencia en animales que se encuentran en cautiverio (Poole & Grow, 2009).

1.19.15.1.1 Glomerulonefritis membranosa

Se observó aumento de tamaño en las membranas basales, se encontró también capilares dilatados y congestivos, 3 de los animales presentaron la alteración con afectación multifocal mientras que 1 presentó la patología de forma focal. La glomerulonefritis membranosa se observa como medida de compensación y suele tener un curso agudo (Trigo, 2011). Se ha descrito también que esta lesión se suele presentar acompañada de infiltrado mononuclear y polimorfonuclear lo cual coincide con los hallazgos encontrados en el estudio. El proceso de glomerulonefritis membranosa es la primera respuesta que tiene el órgano, en procesos que mantienen una mayor cronicidad se observa acompañada por glomerulonefritis proliferativa (Osmany, 2006).

1.19.15.1.2 Glomerulonefritis proliferativa

Se observó aumento en el número de células a nivel de glomérulo, se ha descrito que existe un aumento en el número de células en respuesta compensatoria ante retención de líquidos, en el 75% de los casos se observó glomerulonefritis proliferativa multifocal, se ha descrito que su presentación es rara en animales pero su causa principal es la insuficiencia renal aguda. Osmany (2006) describe que se encuentra relacionado con casos de hepatitis crónica, lo cual coincide con los resultados obtenidos al analizar hígado. En cuanto al infiltrado de células mononucleares Paredes (2005) describe que

estas células inflamatorias se presentan producto de la congestión, lo cual coincide con los hallazgos encontrados en el órgano ya que se observaron áreas de congestión rodeando a las áreas de glomerulonefritis.

1.19.15.1.3 Glomerulonefritis membranoproliferativa

Se observó un aumento de las membranas basales y aumento del número de células, además de áreas de congestión. Trigo (2011) describe que esta alteración en procesos crónicos puede desembocar en alteraciones conocidas como glomérulo creciente y en etapas más avanzadas termina en glomerulosclerosis. Esta afectación se describe en caninos, bovinos, porcinos y caprinos siendo la presentación más común entre los distintos tipos de glomerulonefritis antes descritos (Trigo, 2011).

El hallazgo de glomerulonefritis en su mayoría multifocal con afectación entre moderada y severa muestra que la mayoría de los animales tuvieron una disminución de la superficie de filtración tal como lo describe Osmany (2006). – También Osmany describe que la insuficiencia renal se produce al disminuir la cantidad de glomérulos funcionales.

Las glomerulonefritis son afectaciones primarias las cuales pueden ser causadas por diversos factores entre los cuales resaltan: Cirrosis aguda o crónica, mecanismos inmunológicos y cambios homeostáticos, siendo este último la más probable causa para la aparición de glomerulonefritis ya que se ha descrito que cuando existe hipoxia en el organismo se activa la enzima convertidora de angiotensina 1, la cual estimula la reabsorción de minerales y líquidos. Osmany (2006) respalda esta afirmación mencionando que “Los procesos de reabsorción ilimitada, que afectan al sodio, potasio, cloruro, bicarbonato, etc., desempeñan un importante papel en la homeostasis y cualquier trastorno de ellos tendrá graves consecuencias para el animal” con lo cual respalda los resultados descritos anteriormente.

1.19.15.2 Edema y congestión

El órgano tuvo una coloración abrigantada y aumento de tamaño. Microscópicamente se observó a los riñones con material eosinofílico entre los

glomérulos los mismos que presentaron inflamación (glomerulonefritis) y cercano a grandes vasos sanguíneos. Se describe edema a nivel renal por un aumento en la retención de líquidos lo cual puede ser producto de una glomerulonefritis y un fallo glomerular, Osmany (2006) cita que “El edema puede ser consecuencia de la retención renal hidrosalina”, para que se presente un problema de retención hídrica y posteriormente edema debe existir una disminución en el filtrado glomerular, lo cual concuerda con otro de los hallazgos predominantes en riñón el cual es glomerulonefritis la cual se presentó en todos los animales que fueron estudiados como se describió anteriormente y concuerda con lo descrito por Trigo (2011) quien afirma que la aparición de edema renal es el producto de cuadros inflamatorios con curso crónico con aumento en la celularidad del órgano como medida compensatoria.

En anfibios se ha determinado que el edema es un acompañante de la glomerulonefritis y es un hallazgo que se debe relacionar con las patologías cardíacas y pulmonares principalmente, de forma secundaria se las relaciona con alteraciones en hígado.

1.19.15.3 Quistes renales

Se observó de forma macroscópica bolsas con contenido líquido en riñón multifocal leve. Microscópicamente se observó una capa de epitelio cubriendo al lugar en donde se encontró el quiste. Paredes (2006) redacta que los quistes son producto de la no evacuación de la orina por afectaciones a nivel renal, además relata que son formaciones con apariencia de sacos con fluidos en su interior y microscópicamente se observan formados por una pared epitelial y en su interior contenido transparentoso que normalmente se observa de color blanquecino en el microscopio, lo cual es similar a lo encontrado en este estudio.

Osmany (2006) relata que en procesos de insuficiencia renal crónica en donde existen daños severos en riñón se presenta la formación de quistes los cuales tienen una distribución multifocal severa en todo el órgano, además relata que los procesos quísticos se limitan a riñón y no se observan en otros. El estudio

es concordante con la afirmación, ya que se observaron procesos de daño crónico en riñón que refieren a una posible insuficiencia renal crónica, pero se debe recalcar que se observaron quistes focalizados. Se concuerda con lo descrito por Osmany ya que no se observaron lesiones quísticas a nivel de otros órganos.

1.19.16 Análisis macroscópico-bazo

Los resultados del análisis macroscópico de bazo revelaron que el 60% de la población analizada fue afectada por esplenitis de forma macroscópica, viéndose el órgano agrandado y acartonado ver Figura 15, mientras que el 40% de la población no presentó alteraciones evidentes de forma macroscópica, ver tabla 11.

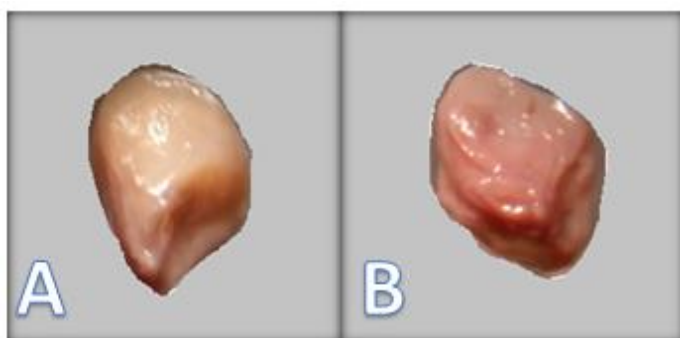


Figura 15. Resultados del análisis macroscópico de bazo. A. Bazo normal, sin alteraciones macroscópicas. B. Esplenitis, el bazo se observa aumentado de tamaño y con cambios en la coloración.

Tabla 13

Hallazgos macroscópicos en bazo

Identificación	Porcentaje de animales afectados	Diagnóstico macroscópico	Tipo de lesión
T2997; T2859; T2926; T2984 T2994; T2997/2; T2832; T2928; T2928	90 %	Esplenitis	Degenerativa

T2894

10%

Sin alteraciones

1.19.17 Análisis microscópico-bazo

Los resultados microscópicos que arrojó el estudio son congestión en el 50% de los animales, parasitosis en el 30% de las muestras, necrosis en el 20% y fibrosis en el 20% de las muestras analizadas. Ver el Gráfico 6 y Figura 16.

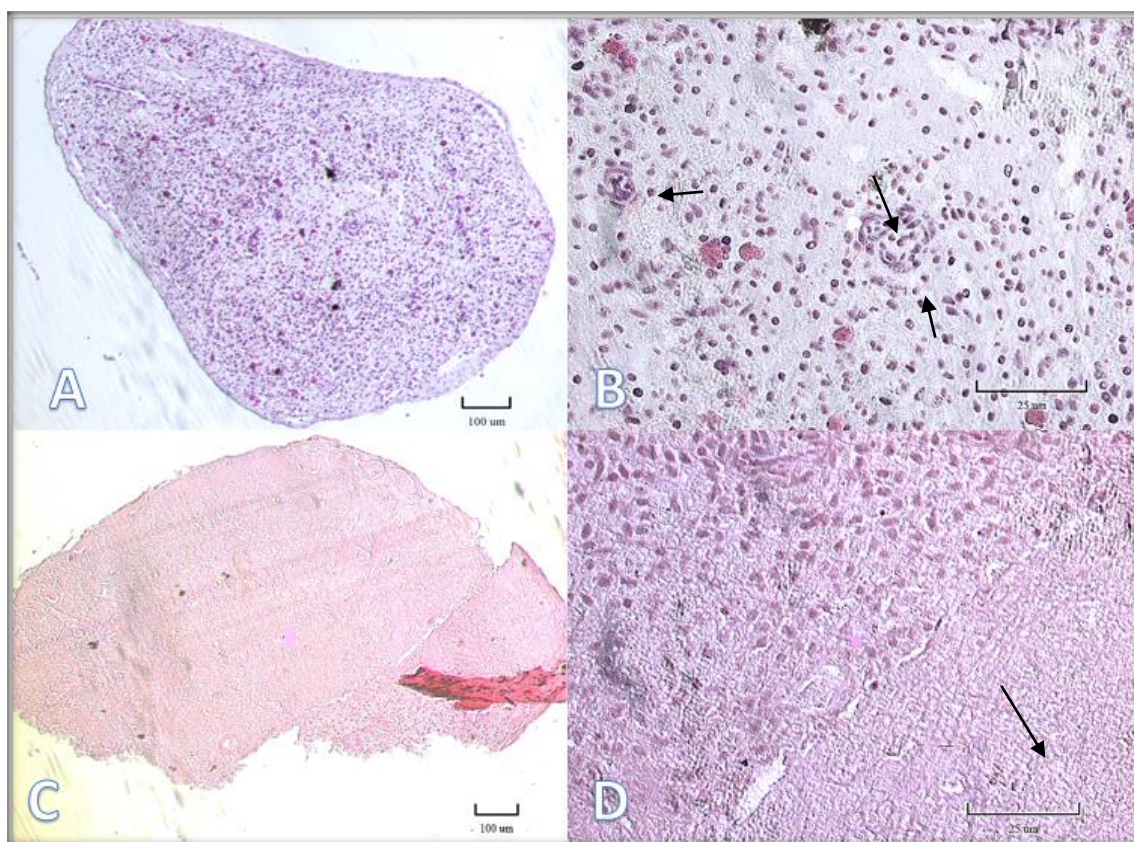
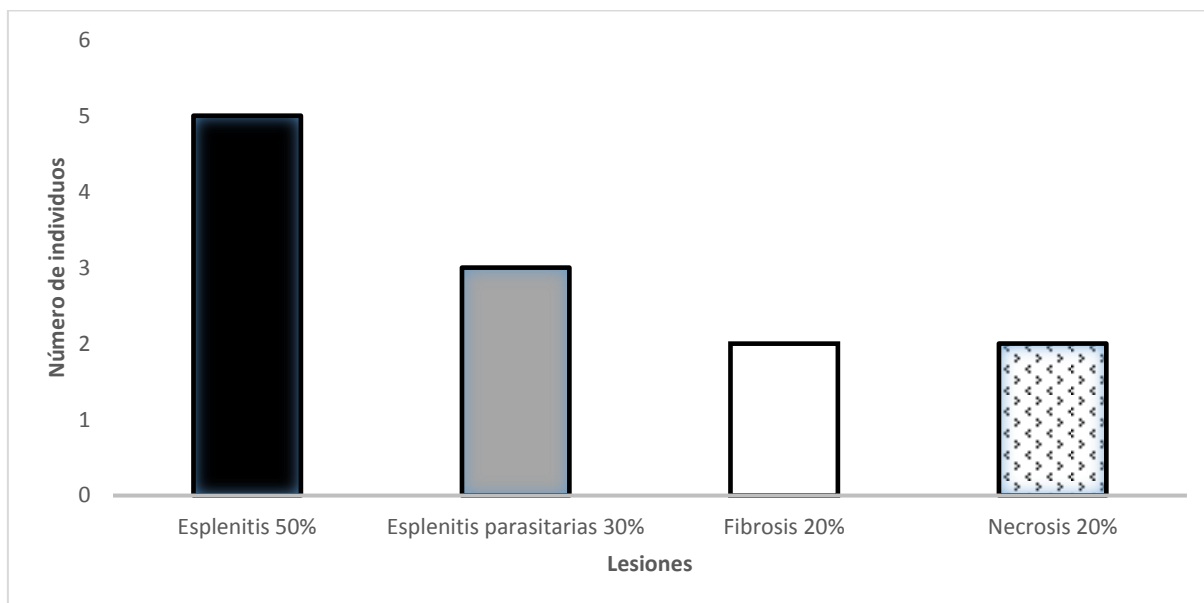


Figura 16. Análisis microscópico de bazo. A. Bazo con formaciones basofílicas 10x. B. Flechas negras señalan bazo con estructuras eosinofílicas 40x. C. Esplenitis necrótica 10x. D. Flechas negras señalan esplenitis necrótica 40x.

Gráfico 6. Resultados microscópicos encontrados en bazo.



1.19.18 Análisis anátomo-patológico de bazo

1.19.18.1 Esplenitis

Se observó esplenitis en los animales analizados, las causas que provocaron la aparición de esta enfermedad son diversas por lo cual los resultados serán divididos y descritos por la causa que lo produjo. Entre las causas más importantes se describen procesos de fibrosis, necrosis e infecciones parasitarias o bacterianas, Jub (2005) describe que las causas de esplenitis son variadas y en la mayor parte de los casos son provocados por infecciones de origen bacteriano y parasitario lo cual coincide con lo encontrado dentro del estudio ya que se observaron estructuras basofílicas largadas dentro de los órganos. Arismendi-Morrillo (2004) respalda con su estudio lo mencionado por Jub, ya que también describe que la esplenitis es causada por parásitos, además de afirmar que es un indicador de fallas sistémicas. En anfibios no se tiene una causa concreta para la para la presentación de esplenitis, en su mayoría las causas que lo provocan son infecciones a nivel de órganos adyacentes o causas infecciosas como parasitosis o infecciones bacterianas, lo cual coincide con los resultados obtenidos a excepción de infecciones bacterianas las cuales no se observaron en los órganos.

1.19.18.2 Esplenitis parasitaria

Se encontró de forma macroscópica al bazo aumentado de tamaño. Microscópicamente se encontraron estructuras basofílicas alargadas multifocales compatibles con *Entamoeba*. Se observaron áreas de linfopenia alrededor de las estructuras basofílicas y reducción de la pulpa roja. Jub (2005) relata que una de las causas más comunes de esplenitis es de tipo parasitario, ya que existen parásitos intestinales que pueden migrar de forma accidental desde intestino hacia órganos como hígado, vesícula biliar, bazo e incluso a pulmón por medio de la circulación. Los resultados obtenidos en el estudio se asemejan con los descritos por Jub ya que se observaron estructuras parasitarias en vesícula biliar, aunque no se observaron en el resto de órganos analizados. Las esplenitis parasitarias se encuentran ampliamente descritas en anfibios ya que en su mayoría son provocados por protozoarios provenientes del sistema gastro-intestinal, y se describe como aumento en el tamaño del órgano con múltiples áreas de fibrosis.

1.19.18.3 Fibrosis y necrosis

Se observó fibrosis a nivel de las arterias centrales acompañado de congestión, en el animal T2997 se observó necrosis en el 80% del órgano mientras que el otro animal afectado lo presentó multifocal de forma leve. Se ha descrito por Paredes (2006) que el proceso de necrosis se produce por varias causas, una de ellas es un secuestro y destrucción de eritrocitos y algunos glóbulos blancos por parte de linfocitos y macrófagos, otra de las opciones es la de una falla sistémica como lo describe (Arismendi-Morrillo et al., 2004) quien afirma que las lesiones primarias como esplenitis y secundarias como fibrosis y necrosis son producto de un proceso de daño sistémico. Se ha descrito la necrosis en porcinos que padecen de antracosis la cual es una enfermedad de origen bacteriano. Osmany (2006) describe que al presentarse uno de estos hallazgos ya sea necrosis o fibrosis se muestran en procesos crónicos de la enfermedad. En anfibios los procesos de fibrosis y esplenitis necrótica son poco comunes ya que evidencian procesos crónicos degenerativos a nivel de todo el organismo, sus causas más comunes y en donde existe linfopenia son las infecciones

parasitarias, bacterianas y micóticas, otra de sus causas se presenta en procesos de falla multi sistémica, siendo esta la causa de esplenitis más concordante con los resultados del estudio.

1.19.19 Congestión y edema

Se describe por separado a la congestión y edema debido a que fue un hallazgo encontrado en todos los animales que formaron parte del estudio.

La congestión es producto de un aumento en la cantidad de sangre que llega hacia un órgano, el exceso de sangre provoca extravasación de eritrocitos hacia el órgano, Paredes (2006) describe que también llegan linfocitos y línea blanca en general por lo cual se produce inflamación en el órgano. Tal afirmación concuerda con lo obtenido en el estudio ya que en órganos como hígado en donde se observó fibrosis cerca de las áreas que presentaron congestión.

El edema se encuentra relacionado con la congestión ya que por lo general aparecen juntos. Trigo (2011) describe al edema como trasudado sin células inflamatorias, lo es concordante de cierta manera con los resultados del estudio, ya que se observó edema principalmente en corazón acompañado por infiltrado de células mononucleares.

1.20 Causas de muerte

1.20.1 Falla multiorgánica

Se determina que la causa de muerte fue falla multiorgánica cuando todos los órganos del cuerpo se encuentran presentando afectaciones crónicas. Trigo (2011) redacta que para determinar falla sistémica debe encontrar cirrosis o fibrosis hepática, nefritis, esplenitis y edema pulmonar principalmente, lo cual coincide con lo encontrado en este estudio. Paredes (2006) describe que es poco usual que los animales lleguen a esta etapa ya que por lo general mueren antes de presentar lesiones crónicas en todos los sistemas.

T2997, T2994: Presentaron falla valvular bilateral la cual es descrita por Osmany (2006) como un proceso previo a la insuficiencia cardiaca. La falla valvular bilateral causa falla multiorgánica ya que provoca alteraciones en órganos principales como son edema pulmonar, fibrosis hepática, esplenitis e insuficiencias renales agudas (Trigo, 2006). Los animales T2997 y T2994 mostraron signos compatibles con los descritos por Trigo. En el caso del animal T2997 se observaron procesos compensatorios con mayor cronicidad a los presentados por el animal T2994, ya que se observó edema cardíaco acompañado de dilatación además de fibrosis moderadas en hígado. En el animal T2994 se observó dilatación cardíaca, y fibrosis leves en hígado.

T2859, T2928: Mostraron insuficiencia cardiaca congestiva, la cual es descrita por Trigo (2011) y Osmany (2006) como la causa más común de falla multiorgánica. La insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) produce falla multiorgánica ya que afecta a todos los órganos del cuerpo con alteraciones crónicas severas. La insuficiencia cardiaca congestiva provoca cirrosis hepática, edema pulmonar crónico, esplenitis e insuficiencia renal crónica. Dentro del estudio se observaron todas las patologías antes nombradas, pero se discrepa de la cirrosis hepática ya que únicamente se encontró fibrosis con distintos grados de severidad. El animal T2859 presentó estenosis valvulares y esplenitis necrótica a diferencia del animal T2928. El animal T2928 presento lesiones quísticas además de las antes mencionadas.

1.20.2 Colapso respiratorio

Se dictaminó como causa de muerte el colapso respiratorio ya que en base a lo descrito por Trigo (2011) quien mencionó que las lesiones en pulmón pueden ser la causa de muerte dependiendo del porcentaje de afectación que posea el órgano, ya que al presentar afectación en más del 50% se deduce que el aporte de oxígeno estuvo por debajo del necesario para completar funciones vitales. Zachary & McGavin (2014) describe que cuando la afectación es severa

las medidas compensatorias del cuerpo no son suficientes ante la hipoxia producida.

2997/2, T2802: Ambos animales presentaron como diagnóstico edema pulmonar. El edema pulmonar causa colapso respiratorio debido a que al tener una afectación mayor a la referida por Trigo el cuerpo no tiene la capacidad para compensar el bajo aporte de oxígeno.

1.20.3 Colapso cardiorrespiratorio

Se determinó que la causa de muerte fue colapso cardiorrespiratorio basado en lo descrito por Trigo (2011) quien relata que en casos de falla valvular de atrio izquierdo se presenta edema pulmonar e hipertrofia cardíaca, lo cual es concordante con lo visto en el estudio, aunque se debe agregar que se encontró glomerulonefritis lo cual no se encuentra descrito con el síndrome. Paredes (2006) ha descrito que se produce por un desequilibrio hidrostático y es la primera instancia antes de producirse insuficiencia cardíaca congestiva y posteriormente falla multiorgánica. Osmany (2006) redacta que otro de los hallazgos que se pueden encontrar son hepatitis y edema en vesícula biliar.

T2832, T2926, T2984, T2894: Todos los animales presentaron falla valvular de atrio izquierdo con distintas severidades y edema pulmonar en distinto grado de afectación. La falla cardíaca izquierda causa un colapso cardiorrespiratorio debido a que al aumentar la cantidad de sangre que se dirige a pulmón provoca congestión y posteriormente edema, el pulmón al encontrarse afectado limita el aporte de oxígeno hacia el organismo, el cual presenta cambios compensativos los mismos que son inefectivos (Paredes, 2006).

El animal T2832 mostró enfisema pulmonar en conjunto con edema pulmonar moderado además de degeneración y fibrosis hepática moderada. El animal T2926 presentó mayor severidad en cuanto a lesiones cardíacas ya que se observó edema cardíaco el cual estuvo relacionado con insuficiencia renal aguda. En el caso del animal T2984 se encontró mayores alteraciones en el organismo ya que se observó edema pulmonar, fibrosis hepática, glomerulonefritis y esplenitis, las cuales concuerdan con el enunciado de

Paredes quien resalta que este proceso se encuentra previo a una falla multiorgánica. El animal T2894 presento mayor alteración a nivel pulmonar ya que se observó edema acompañado de neumonía intersticial, mostrando afectación en el 40% del órgano.

1.21 Comparación de hallazgos histopatológicos entre especies.

Se han detallado hallazgos similares en otras especies como son las aves de engorde, caninos y bovinos, a los que se les somete a un cambio de altura provocándoles cambios en su fisiología. En lo referente a bovinos se describe que los animales al ser trasladados hacia un piso altitudinal mayor, el edema en pulmón es producido por una falla cardíaca izquierda y un aumento en la retención de líquidos y sodio por parte de los riñones, para posteriormente iniciar un proceso de insuficiencia cardíaca congestiva, se debe recalcar que no todos los animales llegan a padecer de procesos crónicos ya que normalmente mueren a causa de fallas cardiorrespiratorias(Nuncevay, Cueva, Vásquez, Ayón, & Lira, 2011) . En cuanto a las aves de corral la fisiopatología del edema pulmonar es la misma que en el caso de los bovinos aunque se debe acotar que en el caso de las aves también existe daño hepático el cual se encuentra en un proceso de fibrosis (Hernandez, 1987). Lo cual es concordante con lo encontrado en anfibios ya que Pessier (2003) describe que las ranas son susceptibles de presentar lesiones similares a las que produce el mal de altura en bovinos. (Schwab et al., 2007) redacta que todas las especies animales pueden padecer insuficiencia cardíaca debido a un proceso compensatorio del cuerpo a causa de la hipoxia ambiental.

1.22 Hipoxia ambiental

La hipoxia ambiental es un factor desencadene de algunas patologías mencionadas ya que al mantener un aporte mínimo por periodos prolongados de tiempo el organismo entra en un proceso de compensación. De mantenerse provocara procesos de falla multiorgánica.

Conclusiones y recomendaciones

1.23 Conclusiones

Se determinó que las posibles causas de muerte en ranas de la especie *Atelopus* sp. (*Aff. Spumarius*) del año 2015, tuvieron cuatro diagnósticos los cuales consisten en falla multi-orgánica que se observó en el 40% de los animales, colapso cardiorrespiratorio que se presentó en el 40% de los animales y colapso respiratorio en el 20% de los animales. Los diagnósticos antes mencionados revelaron que el 70% de los animales padecieron procesos crónicos.

Las principales lesiones encontradas en el estudio fueron edema, hipertrofia cardíaca, estenosis valvular, fibrosis hepática, nefritis, esplenitis necrótica. Mientras que las lesiones secundarias fueron congestión, hiperplasia valvular, litiasis a nivel de vesícula biliar, parasitosis en el bazo. Por lo cual se evidenció que varias de las lesiones tuvieron origen vascular, el cual fue producto de un mal manejo ambiental de los animales.

Se determinó que las lesiones encontradas son producto de la adaptación de los animales a un nuevo entorno por lo cual presentaron alteraciones de tipo adaptativo que dependiendo de la cronicidad afectaron a diferentes órganos. Las condiciones de manejo en las que se mantuvieron los animales pudo influir para la presentación de estas alteraciones, se supuso que la alimentación inadecuada, falta de luz solar y ambiente, fueron un factor determinante para la aparición de las ya mencionadas lesiones. Las lesiones encontradas en bazo que mostraban estructuras asociadas a entamoeba fueron leves y focalizadas únicamente en ese órgano por lo cual se descartó la existencia de procesos infecciosos. Por lo cual se determinó que las lesiones encontradas fueron producidas por causas no infecciosas.

Se concluye que las lesiones fueron provocadas por la hipoxia ambiental, la cual fue un factor desencadenante.

1.24 Recomendaciones

Se recomienda continuar con el estudio de los órganos que no fueron considerados para este estudio, además de utilizar un mayor número de animales y de grupos más homogéneos con la finalidad de obtener resultados más reales.

Para estudios posteriores se recomienda almacenar los órganos procedentes de necropsia en formol al 10% para fijación, cambiar al 4% para evitar degeneración de los mismos. Se debería realizar un protocolo de tinción para placas histológicas, con la finalidad de evitar problemas al momento de realizar la lectura de placas.

Para próximos estudios se recomienda analizar las condiciones ambientales reales en las que se encuentran los animales y no aproximados, debido a que pueden aportar información importante para el dictamen de las causas de muerte de los animales en estudio.

Debido a los hallazgos de parasitosis en órganos como bazo y vesícula biliar se recomienda realizar coproparasitarios y exámenes en los animales al menos 3 veces al año para precautelar la salud de los animales.

Se recomienda mantener a los animales de la especie *Atelopus* sp. *Aff spumarius* en condiciones semejantes a su lugar de procedencia, debido a que dentro del estudio se demostró que varias de las lesiones presentes en los animales fueron debido a cambios compensativos.

REFERENCIAS

- Aguilar, R., Hernández, S., Drivers, S., & Parpiñanan, D. (2010). Anfibios. In *Atlas de Medicina de Animales Exóticos* (Inter-médi, pp. 35–36). Buenos Aires.
- Aluja, A., & Constantino, F. (2002). Técnicas de Necropsia. In A. VelascoJorge (Ed.), *Técnicas de Necropsia de Animales Domésticos* (Segunda ed, pp. 22–62). México D.F.: JGH EDITORES.
- Angulo, A., La Marca, E., Rueda, J., & Rodríguez, J. (2006). *Técnicas de Inventario y Monitoreo para los Anfibios de la Región Tropical Andina*.
- Arias, D., Klima, L., Rodríguez, R., Cruz, A., & Bigeon, G. (2001). Peritonitis biliar por coledocitis con perforación de la vesícula biliar en un perro. *Sedici*, 1–4.
- Arismendi-Morrillo, G., Briceño-García, A., Romero-Amaro, Z., Fernández-Abreu, M., & Girón-Piña, H. (2004). ESPLENITIS AGUDA INESPECÍFICA COMO INDICADOR DE INFECCIÓN SISTÉMICA. EVALUACIÓN DE 71 CASOS DE AUTOPSIAS. *Scielo*, 45. Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332004000200004
- Browne, R. (2009). Amphibian Nutrition. Retrieved from Royal Zoological Society of Antwerp, Belgium
- Diamond, L. S. (1993). A Redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) Separating It From *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *Eukaryotic Microbiology*, 40(3), 340–344.
- Garner, M. (2012). Diseases of Amphibians Pathology of Laboratory Animals Amphibians: Why study them Noninfectious Diseases Cardiovascular Disease Lymph Sac or Coelomic Fluid Accumulation (Anasarca , “ Edema Syndrome ”), 1–45.

- Genoy-Puerto, A. (2012). Causas de mortem. *Universidade de São Paulo, São Paulo*.
- Hernandez, A. (1987). Hypoxic Ascites in Broilers: A Review of Several Studies Done in Colombia. *American Association of Avian Pathologists*. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/1590756> .
- Hickman C., Roberts, L., & Larson, A. (2001). *Zoología principios interales*. (F. Pardos, Ed.) (Novena edi). Interamericana MacGraw.
- Hill, R., Wyse, G., & Anderson, M. (2006). Homeostasis. In *Fisiología Animal*. Madrid: EDITORIAL MEDICA PARAMERICANA S.A., 2nd ed., 11–12.
- Jub, K. V. ., Kennedy, P. C., & Palmer, N. (2005). *Patología de los animales domesticos* (Tercera ed). Orlando-Florida: Editorial Agropecuaria Hemisferio sur.
- Maneyro, R., Camargo, A., & Rosa, I. (2008). Curso de biología animal. Retrieved from http://zvert.fcien.edu.uy/nuevos_cursos/practico_04_anfibios.pdf
- Miranda, F. (2014). Considerações para realização e documentação de necropsias. In J. S. Cubas, J. C. Silva, & J. L. Catão-Dias (Eds.), *Tratado de animais selvagens medicina veterinária*. ROCA S.A., 2nd, 1565–1576.
- Moreno de Sandino, M., & Hernández, A. (1985). Variacion cardiopulmonar y en los valores de hemoglobina y hematocrito durante la hipoxia en pollos comerciales y criollos, 38, 11–28.
- Nuncevay, O., Cueva, S., Vásquez, M., Ayón, M., & Lira, B. (2011). Valores hematológicos de bovinos jersey sometidos a condiciones de hipoxia crónica de la altura. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 12.
- Osmany, A. (2006). *Fisiopatología veterinaria* (Editorial). Habana-Cuba.
- Padilla, F., & Cuesta, A. (2003). Anato-fisiología de la Rana Común. In *Zoología Aplicada*. Madrid: DÍAS SANTOS S.A., 361. Retrieved from <https://avevret.firebaseio.com/14/Zoologia-Aplicada.pdf>

- Paredes, E. (2006). Patología general y sistémica. *Universidad Austral de Chile*, (Pani 141), 1–144.
- Peña, P. (2010). *Arlequín Limón, una Joya en extinción*.
- Pessier, A., & Pinkerton, M. (2003). Practical gross necropsy of amphibians. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 12. Retrieved from <https://doi.org/81-88>
- Poole, V. A., & Grow, S. (2009). Guía para el manejo de anfibios en cautiverio, 17–40. Retrieved from <https://www.aza.org/assets/2332/manualespanol.pdf>
- Prasse, W. Latimer, S. Mahaffey, A. (2005). *Patología clínica veterinaria*. (M. E. Vet., Ed.).
- Rabanal, F. (2006). Sistema digestivo. Retrieved from <http://perso.wanadoo.es/anuros/index.htm>
- Richard W, H. (1975). *Fisiología animal comparada: un enfoque ambiental* (7ma ed.). Barcelona-España.
- Romero, M., & Hernández, R. (1998). Trastornos edematosos. *Asociación Costarricense de Pediatría*.
- Sanabria, M., & Rodríguez, D. (2015). Importancia del Estudio Histopatológico de las Causas de Muerte de Defunción de Necropsias de Medicas de Muerte Natural. *Scielo*, 32(1), 2–15. Retrieved from <http://www.scielo.sa.cr/pdf/mlcr/v32n1/art03v32n1.pdf>
- Schwab, M., Pierre-Jayet, Y., & Allemann, Y. (2007). Edema pulmonar de altura. Modelo de estudio de la fisiopatología del edema pulmonar y de la hipertensión pulmonar hipóxica en humanos. *Scielo*, 67.
- Tala, C., González, B., Zapata, B., González, G., & Maino, M. (2004). Cría en cautividad de fauna chilena. SAG.
- Trigo, F. J. (1998). Patología sistémica. *Patología Sistémica*. Ciudad de Mexico-Mexico: McGraw-Hill Interamericana.
- Vaughan, R. J., 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(3), 583–587. Retrieved from <http://doi.org/10.1016/j.cvex.2006.05.015>
- Vaughan, R. J., 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(3), 583–587. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2006.05.015>
- Wiechmann, A., & Wiechmann, C. (2003). Systems Amphibian. In Leavi (Ed.), *Color Atlas of Xenopus Laevis Histology. Oklahoma: Springer Science Business Media New York.*, 27-28–29.
- Wright, K., & Whitaker, B. (2001). Captive Husbandry. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry. E.E.U.U: Krieger Publishing Company.*, 39–40.
- Wright, K. M., & Whitaker, B. R. (2001). Captive Husbandry. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry* (pp. 39–40). E.E.U.U: Krieger Publishing Company.
- Zachary, J., & McGavin, D. (2014). *Pathologic basis of veterinary disease* (Quinta edi). Saint Louis, Missouri: ELSEVIER.

