



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARACTERIZACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE ÓRGANOS AFECTADOS POR EL SÍNDROME
DE EDEMA EN RANAS DE LA ESPECIE *Gastrotheca spp.* PROVENIENTES
DE CAUTIVERIO DE LA INSTITUCIÓN BALSA DE SAPOS

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

Profesor Guía

MV. M. Ph. D. Sc. Alexander Genoy-Puerto

Autora

Pamela Estefanía Quishpe Saico

Año

2016

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, 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.”

Alexander Genoy-Puerto
MV. M. Ph. D. Sc.
C.C.AQ409705

DECLARACIÓN DEL AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Declaro que este trabajo 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.

Pamela Estefanía Quishpe Saico
C.C. 1722784954

AGRADECIMIENTOS

Mi gratitud a mis padres, hermanas por su apoyo. Al Dr. Alexander Genoy por compartir sus conocimientos y guía durante el desarrollo de este trabajo.

A los miembros que conforman el Centro de Investigación y Conservación: Balsa de Sapos; al Sr. Andrés Ricardo Merino Viteri y al Sr. Freddy Almeida por el apoyo en la parte de logística y metodología.

A las directivas de Universidad De Las Américas, a la Dra. Mayra Rojas Carrillo y personal técnico, y al biólogo David Andrés Narváez.

DEDICATORIA

A mis padres, hermanas y amigos que con su apoyo me dieron la oportunidad de cumplir con todos mis objetivos profesionales, y a todas las personas que estuvieron brindándome apoyo durante mi etapa estudiantil, que me enseñaron valores de responsabilidad, gratitud, solidaridad y respeto a la vida.

RESUMEN

La presencia de enfermedades en anfibios en cautiverio es común, siendo una de las principales el síndrome de edema. En Ecuador, el Centro de Investigación y Conservación “Balsa de los Sapos” – PUCE, mantiene en condiciones de cautividad a ranas de la especie *Gastrotheca* spp. que presentaron la enfermedad mencionada. El presente estudio fue realizado en 10 individuos entre los que se encontraban la especie *Gastrotheca riobambae*, *Gastrotheca litonedis* y *Gastrotheca pseustes*, los mismos que fueron donados por el centro mencionado anteriormente.

El estudio se fundamentó en caracterizar lesiones encontradas en pulmón, corazón, riñón, piel, bazo, hígado y órganos reproductores. Para ello se seleccionaron a los individuos; se realizó un examen físico general valorando su estado de salud; medición de temperatura externa e interna del terrario, medición de distancia boca – cloaca en milímetros (mm), peso en gramos (g) y medidas de la circunferencia abdominal (mm). Al finalizar se procedió a la eutanasia, necropsia, lectura y análisis de placas histológicas.

Al finalizar, se identificaron alteraciones macroscópicas y microscópicas presentes en todos los animales muestreados. Correspondientes en su mayoría a lesiones vasculares, celulares, degenerativas e inflamatorias; derivándose de procesos crónicos y agudos. Por otro lado, la presencia de microorganismos como parásitos, hongos y bacterias, permitió sustentar los hallazgos encontrados.

La información recolectada es importante, puesto que no existen investigaciones sobre patología en anfibios en Ecuador, lo cual es un limitante para el adecuado manejo clínico en anfibios mantenidos en cautiverio. Así los resultados, de esta investigación y sus posibles factores desencadenantes se convierten en una importante recopilación anatomopatológica que podrá ser utilizada o ser un referente en Ecuador, para la elaboración de protocolos sanitarios y de manejo de poblaciones de anfibios en cautiverio que estén en peligro o no de extinción.

ABSTRACT

The presence of disease in amphibians in captivity is common, one of the main is edema syndrome. This problem has been diagnosed in *Gastrotheca* spp. frogs' species. This study was performed on 10 individuals including the *Gastrotheca riobambae* species, *Gastrotheca litonedis* and *Gastrotheca pseustes* the same that were donated by the Center for Research and Conservation "Balsa de los Sapos".

The purpose of this study was to characterize lesions found in lung, heart, kidney, skin, spleen, liver and reproductive organs. A series of processes were developed including the selection of animals, general physical examination, assessing their health status, measuring external and internal temperature of the terrarium, determination of the distance between mouth and cloacae in millimeter (mm), weight in grams (g), abdominal circumference measurements (mm), in addition to euthanasia, necropsy and histological plates reading.

At the end of the study macroscopic and microscopic alterations were identify in all animals corresponding mostly to vascular, cell, degenerative inflammatory lesions, and development chronic and acute infectious. This is supported by the findings in some of these organs, which were the presence of parasitic, fungal and bacterial forms.

The information collected in this study is important, since there are not investigations on pathology in amphibians in Ecuador. This limits, to appropriate clinical management in amphibians kept in captivity. This research will become an important pathological collection of amphibians that can be used as a reference in Ecuador, for the development of protocols health and population management amphibians in captivity that are in danger of extinction or not.

ÍNDICE

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1 Marco referencial	2
1.1.1 Hipótesis	2
1.1.2 Objetivos	2
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	3
2.1. Características generales de los anuros	3
2.2. Características generales del género <i>Gastrotheca</i> spp.	4
2.2.1 Taxonomía del género <i>Gastrotheca</i> spp.	5
2.2.2. Características morfológicas y morfométricas del género <i>Gastrotheca</i> spp.	5
2.3. Anfibios en cautiverio	8
2.3.1. Manejo	8
2.4. Fisiología	10
2.4.1. Función renal	10
2.4.3. Absorción del agua y almacenamiento	11
2.5. Síndrome de edema	12
2.5.1. Etiología	12
2.5.2. Manifestaciones clínicas	14
2.5.3. Diagnóstico ante y post mortem	14
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	15
3.1. Área de estudio	15
3.2. Animales	16
3.3. Necropsia e histopatología	16
3.3.1. Técnica de eutanasia	16
3.3.2. Necropsia	17
3.3.3. Histopatología	18
3.4. Método estadístico	18

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
4.1. Condiciones medioambientales.....	19
4.2. Biometría.....	19
4.3. Hallazgos macroscópicos	20
4.4. Hallazgos microscópicos.....	40
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES	71
RECOMENDACIONES	72
REFERENCIAS	73
ANEXOS	77

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

La fauna silvestre ecuatoriana se distingue por su gran biodiversidad, que está integrada, entre otros, por un número alto de anfibios, alrededor de 213 especies endémicas, siendo 156 de ellas clasificadas en la categoría de amenaza (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2015). La principal causa para el declive de estas especies es de tipo antropogénico, teniendo algunos factores como: pérdida de hábitats, comercio ilegal y contaminantes químicos (UICN, 2014). Su importancia en el equilibrio de ecosistemas, hace que su preservación sea el principal objetivo en centros de conservación. No obstante, un manejo inadecuado o poco eficiente, ocasionaría problemas de salud en los animales (Poole y Grow, 2009).

En el Ecuador, el centro de conservación de especies de anfibios, es la Balsa de los Sapos – PUCE (Pontificia Universidad Católica del Ecuador) que realiza cría *ex situ*. En este centro, fue evidente la manifestación de animales enfermos con edema. Una de las especies afectadas por esta enfermedad era la *Gastrotheca* spp., la cual se encuentra en peligro de extinción (UICN, 2014).

El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar histopatológicamente los órganos afectados por el síndrome de edema en la especie antes mencionada. Además de haber brindado nuevas herramientas para la educación e investigación en el ámbito de medicina de la conservación. Esta investigación forma parte de un proyecto entre la Universidad de las Américas y Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), titulado “Estudio preliminar de causas y enfermedades bacterianas, micóticas y parasitarias en *Atelopus*, sp. y *Gastrotheca riobambae* cautivas de la Balsa de los Sapos”. El cual está incluido dentro del proyecto del plan estratégico 2015-2019 de la Universidad de Las Américas, ajustándose al objetivo de asegurar la calidad académica a través de la generación de publicaciones científicas y promoción de participación conjunta entre estudiantes y docentes en investigaciones (Universidad de las Américas, 2015). El desarrollo de este estudio fue posible gracias al apoyo financiero por parte de la Universidad de las Américas.

Finalmente, este trabajo se alinea con estipulaciones del Plan Nacional del Buen Vivir 2013 – 2017, que busca nuevas herramientas para la conservación y manejo *in situ* y *ex situ* de la fauna silvestre (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo [SENPLADES], 2013, p 233- 234).

1.1 Marco referencial

1.1.1 Hipótesis

Los principales hallazgos histopatológicos del síndrome de edema pueden corresponder a lesiones crónicas en órganos como corazón, riñón, pulmón, bazo, piel, órganos reproductores e hígado.

1.1.2 Objetivos

Objetivo general

Caracterizar los principales hallazgos histopatológicos de órganos relacionados con el síndrome de edema en individuos de la especie *Gastrotheca* spp, encontrados en cautiverio en la “Balsa de los Sapos” – PUCE.

Objetivos específicos

- Describir las condiciones medioambientales y clínicas de los individuos con síndrome de edema en cautiverio en la “Balsa de los Sapos” – PUCE.
- Identificar macroscópicamente lesiones en los órganos de los individuos afectados por el síndrome de edema durante la necropsia.
- Caracterizar histopatológicamente lesiones primarias y secundarias que se encuentren directamente relacionadas con el edema en especies *Gastrotheca* spp. en cautiverio en la “Balsa de los Sapos” - PUCE.
- Compilar información de la lectura y análisis de placas histológicas contribuirá con nuevas herramientas para la medicina de conservación de anfibios.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Características generales de los anuros

El orden Anura son animales vertebrados, ranas y sapos ectodermos incapaces de termoregular su temperatura interna. Cuya vida se cumple en dos etapas, de larvas acuáticas (respiración por branquias) a adultos terrestres (respiración por pulmones) (Camargo y Rosa, 2008). Otra característica anatómica y funcional, es el cambio de larvas acuáticas con cola a anfibios sin cola y con cuatro patas, siendo que, las traseras son más largas que las delanteras (Gentz, 2007).

Una de las cualidades más notables de los anfibios es la piel de las ranas, que es más lisa a diferencia de los sapos. Es decir, que es carente de pelo y está conformada por glándulas mucosas (Camargo y Rosa, 2008). Se encuentra suelta y separada del cuerpo subyacente por sacos linfáticos subcutáneos (Pessier y Pinkerton, 2003). Su capacidad de alta permeabilidad le permite cumplir con funciones de defensa, osmorregulación, absorción y respiración. Haciéndola vulnerable a innumerables agentes externos de tipo físico, químico o infeccioso (Sallés, 2011).

Internamente los anfibios no presentan diafragma que separe los órganos de la cavidad torácica, y abdominal. Es decir, que se encuentran compartiendo los órganos dentro de una misma cavidad, denominada cavidad celomática (Pessier y Pinkerton, 2003).

El sistema cardiovascular en las larvas está constituido por dos cámaras, y tres cámaras (dos aurículas y un ventrículo) en la etapa adulta (Camargo y Rosa, 2008).

Los pulmones son órganos saculares generalmente simples que no presentan alveolos en algunas especies y en otras se encuentran acompañados de cartílago hialino y músculo liso (Wiechmann y Wirsig, 2003, pp. 47-56).

En el sistema digestivo, el estómago es simple y continua hacia un estrecho intestino que termina en la cloaca (Estrada y Uribe, 2002, pp.117-118). El

hígado posee los bordes redondeados y una coloración de rojo a marrón. El bazo es una estructura esférica pequeña, que varía en proporción al tamaño del animal; la cual se ve localizada en el mesenterio adyacente al estómago y duodeno (Pessier y Pinkerton, 2003).

Los riñones son órganos mesonéfricos, constituidos por un corpúsculo renal que aloja un glomérulo de capilares arteriales y alrededor de este, una cápsula de Bowman que se continúa con los segmentos: proximal, intermedio - análogo al asa de Henle en mamíferos - y segmento distal. Comunicándose hacia el conducto mesonéfrico, correspondiente al conducto colector, llamado conducto de Wolff (Estrada y Uribe, 2002, pp.117-118). La vejiga urinaria es una estructura presente como una pared delgada ventral al intestino grueso (Pessier y Pinkerton, 2003).

El aparato reproductor en hembras está constituido por ovarios, que a menudo se encuentran pigmentados de negro y pueden ocupar toda la cavidad celomática, cuando están reproductivamente activas. Los oviductos se hallan caudal a los ovarios. En el macho los testículos se ubican hacia medial de los riñones. Y se los observa como dos estructuras de forma ovalada (Pessier y Pinkerton, 2003).

2.2. Características generales del género *Gastrotheca* spp.

El género *Gastrotheca* spp. es endémico del Ecuador. Este se distribuye por todos los Andes del Ecuador. Dentro del género está la especie *Gastrotheca litonedis* de ocurrencia en Cañar, Azuay y Loja (Chasiluisa et al., 2010). La especie *Gastrotheca pseustes* se ubica en el norte y al sur del Ecuador (Pichincha y Loja) (Chasiluisa et al., 2010). La especie *Gastrotheca riobambae* se ha reportado entre la provincia de Carchi y Chimborazo. Estas especies actualmente están clasificadas según su estado de conservación en dos estatus: peligro de extinción y vulnerable. Para la especie *Gastrotheca riobambae* según la lista roja UICN, que se aplica a un ámbito internacional, la especie está en peligro de extinción. Y para el Museo Zoológico de la PUCE,

cuyo ámbito es más preciso por ser ecuatoriano, su estado de conservación es vulnerable (Chasiluisa et al., 2010).

2.2.1 Taxonomía del género *Gastrotheca* spp.

La *Gastrotheca* spp. es un anfibio que pertenece a la clase Amphibia, el cual corresponde a la familia Hemiphractidae (UICN, 2014). Como se muestra en la tabla 1.

Tabla1: Taxonomía de *Gastrotheca* spp.

Taxonomía	
Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Clase	Amphibia
Orden	Anura
Familia	Hemiphractidae
Género	<i>Gastrotheca</i>

Adaptada de UICN, 2014.

2.2.2. Características morfológicas y morfométricas del género *Gastrotheca* spp.

El dimorfismo sexual entre machos y hembras es fácilmente distinguible, ya que el macho posee un saco gular que le permite croar, y en la hembra es visible la bolsa marsupial, en donde a diferencia de otros géneros de anfibios, los huevos se desarrollan en el marsupio. Los mismos que alcanzarán un estado larvario, que se deposita en el agua para continuar su desarrollo hasta individuos adultos (Quitozoo, s.f.).

En cuanto a las variaciones de cada especie de *Gastrotheca* spp., la diferenciación entre cada una será adecuadamente distinguible de acuerdo a su biometría y coloración.

La *Gastrotheca riobambae* tiene una distinguible diferencia de biometría entre hembras y machos. La longitud Rostro-cloacal promedio del macho es de 43.0 milímetros (mm), y en hembras un promedio de 48.6 mm. En cuanto a la coloración, el dorso varía desde marrón a varios tipos de verde, con o sin manchas, o incluso rayas de colores diferentes a su dorso (marrón o verde oliva). El vientre que puede tener tonalidades entre crema o amarillo. Las tonalidades pueden variar de acuerdo a la provincia en la cual se encuentren, sin embargo estas características las diferencian de las demás especies (Chasiluisa et al., 2010). (Ver figura 1).



Figura 1: *Gastrotheca riobambae*.

La *Gastrotheca litonedis* presenta una longitud rostro cloacal en machos de 53.8 mm y en hembras 58.0 mm de promedio. Su coloración en el dorso es de un solo color (verde o marrón), y tiene pocas marcas dorsales color café, apreciable en ciertos individuos. La ingle, axilas y parte de los muslos son azul pálido, con un vientre gris con color crema (Chasiluisa et al., 2010). (Ver figura 2).



Figura 2: *Gastrotheca litonedis*.

La *Gastrotheca pseustes* presenta una longitud promedio en machos de 46.4 mm y en hembras 49.6 mm. La coloración de esta especie, al igual que la *Gastrotheca riobambae*, será distinta de acuerdo a la localidad en que se hallen. El dorso es verde ó marrón; incluso amarillento. Flancos de color gris o bronce, con una pequeña tonalidad verde azulada (Chasiluisa et al., 2010). (Ver figura 3).



Figura 3: *Gastrotheca pseustes*.

2.3. Anfibios en cautiverio

La contaminación ambiental y la fragmentación de hábitats han llevado a la disminución de especies de anfibios, poniéndolos en peligro de extinción. Es por ello, que los centros de conservación son importantes para mantener a la población de anfibios. La ventaja de mantener estas especies *ex situ* es que los requerimientos de espacio y recursos son mínimos a comparación de otras especies de animales. Aunque, el mantenimiento de estos especímenes exige un manejo específico para que los programas de crianza tengan éxito (Poole y Grow, 2009).

2.3.1. Manejo

Las especies de anfibios mantenidas en cautividad deben tener condiciones adecuadas de supervivencia; y es importante que sean monitoreados durante sus primeros días de permanencia en los centros de crianza *ex situ*. Por lo cual, es indispensable su permanencia en áreas de cuarentena por el lapso de al menos 90 días. Durante la estancia de estos especímenes, es vital el establecer protocolos de medicina preventiva, comprendiendo exámenes clínicos periódicos, valoración del peso, tamaño, comportamiento, apariencia física, y toma de muestras para exámenes hematológicos, bioquímica, coproparasitarios, histopatología o cultivos. Este tipo de exámenes rutinarios son de gran ayuda para revelar el estado de salud de los individuos (Ángulo, Rueda, Rodríguez y La Marca, 2006).

Dentro de las condiciones de cautividad se deben tomar en cuenta los siguientes aspectos:

- Desinfección, cambio y disposición de agua

La desinfección de terrarios se realiza con cloro al 5% con una duración de 10-15 minutos, y luego se deberá enjuagar varias veces antes de su uso (Ángulo, Rueda, Rodríguez y La Marca, 2006).

El agua provista para los terrarios de los anfibios debe mantener una calidad óptima que requiere filtración del 10% cada semana, o del 20% cada 15 días. Manteniendo en cuenta que la temperatura, pH, dureza y turbidez del agua deberán ser similares al estado silvestre y no deberán contener cloro u otros químicos (Ángulo, Rueda, Rodríguez y La Marca, 2006).

El agua utilizada para terrarios deberá ser mejorada y normalmente es tratada por medio de osmosis reversa (OR) o filtros de carbón. El sistema de osmosis reversa usa una membrana que retiene sales. El producto de la OR será agua libre de solutos. Es decir, que su alta pureza (poca cantidad de solutos) provocará en los animales una respuesta fisiológica del gradiente de concentración. Para así alcanzar el equilibrio osmótico; en donde, el agua relativamente pura que rodea al animal se movilizará hacia sus tejidos que tienen mayor cantidad de solutos. Lo cual, con el tiempo si no es corregido, ocasionará animales con edema y como consecuente, la manifestación de enfermedades sistémicas exclusivamente de riñón. Por ende, para compensar la pureza del agua se deberá añadir sales que creen una solución isotónica (Poole y Grow, 2009).

En cuanto a la temperatura, esta debe alcanzar una temperatura similar a la ambiental, antes de ser usada para los animales. Y se puede lograr mediante un calentador sumergible (Poole y Grow, 2009).

- Temperatura del aire

Es fundamental la temperatura ambiental para la supervivencia de los anfibios, puesto que ello determinaría en parte su comportamiento: hibernación o asoleamiento, y afectar su eficiencia reproductiva. Se debe considerar el micro hábitat natural de cada especie, ya que la temperatura cambiará dependiendo de las zonas geográficas en que se encuentren en vida libre. En ranas de clima templado y tropical en las montañas, deben tener una temperatura de 18 a 24 grados centígrados (°C). Y especies de clima tropical en temperaturas de 24 a 30°C (Poole y Grow, 2009).

- Iluminación

Los requerimientos de luz ultravioleta son importantes para procesos como el metabolismo del calcio, comportamiento y reproducción. A partir de esta iluminación, podrán sintetizar vitamina D3 necesaria para la absorción del Ca y crecimiento y fortalecimiento de los huesos (Poole y Grow, 2009).

- Alimentación

Una dieta adecuada para los anfibios en cautiverio debe ser lo más similar a su vida en estado silvestre, es decir, que debe ser en base a insectos; teniendo en cuenta los porcentajes de nutrientes para cada etapa de su desarrollo a su adultez. Un desbalance nutricional puede ser determinante para la aparición de varias enfermedades (Poole y Grow, 2009). La deficiencia o el exceso se reflejan en la afección de varias funciones del cuerpo como la piel, la visión, el olfato, metabolismo y función inmunitaria. Dentro de los principales componentes que debe regirse en la dieta de un anuro son: proteína, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales (calcio, vitamina D3). Las principales enfermedades de ocurrencia por una deficiencia o un exceso de alimentación son: la enfermedad metabólica ósea, hipovitaminosis D, A, E; hipervitaminosis A, E; lipidosis corneal con la presentación clínica de: pérdida de peso, letargia, parálisis, obesidad, tetania, edema, fracturas, problemas reproductivos, anemia, entre otros. Problemas que muchas veces repercuten en otros sistemas para la presentación de enfermedades secundarias a las mencionadas anteriormente (McWilliams, 2008).

2.4. Fisiología

2.4.1. Función renal

En los anfibios el rango de filtración glomerular es alto. En casos de deshidratación o restricción de agua, la tasa de filtración glomerular se reducirá rápidamente, y los animales terminarán perdiendo orina. Estos animales no pueden concentrar la orina y reabsorber activamente una larga porción de

solutos filtrados como el sodio (Na^+) proveniente de los túbulos renales y la vejiga (Pessier, 2009).

2.4.2. Desechos nitrogenados

La mayoría de anfibios produce amonio o urea como principal producto de desecho primario. No obstante, los anfibios terrestres solo excretarán urea, el cual es menos tóxico que el amonio (Wright y Whitaker, 2001, p. 23, 31).

2.4.3. Absorción del agua y almacenamiento

La principal fuente de agua de los anfibios es la absorción de agua a través de la piel; mecanismo que solamente basta con el apoyar la región ventral del cuerpo contra sustratos húmedos. Para esta función, existe una zona especializada en una mayor y rápida captación de agua; localizada en la piel ventral del abdomen que avanza hacia la región pélvica, denominada “parche pélvico o parche de asiento” (Hill, Wyse y Anderson, 2006, p. 844).

Un importante sitio de almacenamiento de agua es la vejiga urinaria, la cual provee una reserva usada para el mantenimiento hidroelectrolítico cuando hay restricción de agua en el medio (Pessier, 2009). Los anfibios terrestres pueden reabsorber solutos como urea provenientes de este órgano. En restricción de agua sus paredes se tornarán permeables al agua. Cuando la orina se encuentra hipoosmótica en relación con el plasma, por osmosis el agua atravesará la vejiga hacia el exterior (Hill, Wyse y Anderson, 2006, p.844).

Todo el mecanismo de absorción y almacenamiento de agua en la piel es regulada por la hormona neurohipofisiaria arginina vasotocina (AVT), análoga a la hormona antidiurética. Como principales respuestas ante la presencia de deshidratación la acción de la AVT serán: el incrementar la permeabilidad osmótica de la piel y la vejiga para el agua, aumentar la absorción de la úrea desde la vejiga y dejar de producir orina (Pessier, 2009).

2.4.4. Absorción de electrolitos

Tanto el sodio como el cloro son activamente transportados a través de la piel por medio de pequeños compartimientos, limitados por membranas en las células epiteliales de la célula. Estos posteriormente son transportados y absorbidos por los túbulos renales y la vejiga urinaria (Pessier, 2009).

2.5. Síndrome de edema

Es una enfermedad que hace referencia al líquido a-celular de bajo contenido proteico en el espacio celómico y subcutáneo (Aguilar, Divers y Perpiñan, 2010, p.61).

2.5.1. Etiología

Esta patología es poco común en especies de anfibios que se encuentran en vida libre, siendo más frecuente en animales de cautiverio. Dentro de las causas principales se menciona las condiciones de sobrecarga de agua, a veces no filtrada o muy diluida (con poca cantidad de solutos); que con el tiempo y si no se corrige ocasionaría un desbalance osmótico. Este problema se lo caracteriza como una de las principales causas de manejo para la aparición de la enfermedad. Otras causas son la dermatitis, enfermedad renal, hepatopatías, iridovirus, neoplasias, parasitosis, hipocalcemia, entre otras. (Aguilar, Divers y Perpiñan, 2010, p.61). También se ha descrito la exposición a toxinas, micosis, falla de los corazones linfáticos, (asociado a bajos niveles de calcio), retención de huevos e infecciones bacterianas (Vannevel, 2006). A continuación se discuten algunas enfermedades o condiciones patológicas que pueden estar relacionados con este evento en anfibios.

Enfermedad de la piel

Ciertos microorganismos pueden causar una pérdida de la funcionalidad de la piel como reducción de la osmolaridad plasmática en casos de chytridiomicosis

que a nivel de tejido produce una hiperplasia e hiperqueratosis epidermal (Pessier, 2009).

En infecciones bacterianas las principales causas son traumatismos, pobre higiene del terrario y pobre calidad del agua. Siendo el microorganismo más común la micobacteria, ocasionando a nivel superficial la aparición de nodulaciones en la piel (Pessier, 2009).

En problemas virales como en el ranavirus, las células endoteliales resultan afectadas, pudiendo reconocer pérdida de integridad de la pared de los vasos sanguíneos, con la manifestación clínica de edema en algunos tejidos y además presencia de hemorragia (Pessier, 2009).

Las parasitosis también son otro problema para la integridad de la piel. Dentro de las manifestaciones presentes están: eritema, letargia y despigmentación de la piel. Histológicamente los parásitos adultos son apreciables en la epidermis, en donde se nota una especie de agujeros (Densmore y Green, 2007).

Enfermedad nutricional o por toxicidad

La exposición de metales pesados como zinc o cobre pueden inducir a una degeneración y necrosis tubular renal. Así también una alta cantidad de amonio pueden afectar al balance electrolítico (Pessier, 2009).

Los desórdenes nutricionales a menudo se ven presentes en desórdenes del tracto urinario o balance de fluidos. La deficiencia de Calcio o hipovitaminosis A, se puede asociar a la presencia de edema de los sacos linfáticos, como consecuencia de falla de los corazones linfáticos (Pessier, 2009).

Enfermedad renal

Cuando hay presencia de enfermedad renal crónica, la ascitis o anasarca presente en los animales es indicativo de glomerulonefritis (Vannevel, 2006).

Dentro de los cambios histopatológicos está: acumulación citoplasmática, infiltrado inflamatorio, atrofia y regeneración tubular, entre otros (Pessier, 2009).

2.5.2. Manifestaciones clínicas

Dentro de los signos clínicos apreciables se puede identificar el acúmulo de agua a nivel subcutáneo y en celoma conocido como hidroceloma. Esto provoca que haya un aumento de peso, haciendo que este se duplique o triplique (Aguilar, Divers y Perpiñan, 2010, p.61).

2.5.3. Diagnóstico ante y post mortem

La identificación del edema es fácil y rápida, ya que a la observación y palpación se nota una zona suave a nivel del abdomen y patas posteriores. Conjuntamente con la ayuda de una transiluminación con una lámpara o linterna se podrá observar una zona de contenido acuoso (Bertelsen y Crawshaw, 2003). Sin embargo, para un diagnóstico definitivo es necesario la implementación de exámenes complementarios como: análisis de fluido para recuento celular y medición de proteínas celulares, bioquímica sanguínea, cultivo, citología, hematología, biopsias de riñón e hígado, prueba de orina, necropsia e histopatología (Sallés, 2011).

Cuando se realiza un diagnóstico postmortem, es de utilidad que tanto la necropsia como la toma de muestra para histopatología, sea ordenada, para una mayor resolución del problema.

Para la toma de muestras se debe tomar a consideración los órganos más importantes como: la piel, corazón, pulmón, hígado, riñón, vejiga y corazones linfáticos caudales, estructuras que se encuentran en zonas lateral y ventral. No obstante, en la mayoría de casos los corazones linfáticos por ser muy delicados no se obtienen para muestra diagnóstica (Pessier, 2009).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Área de estudio

El proyecto Balsa de los Sapos de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), dió inicio en el año 2006. La instalación cuenta con cuatro áreas para mantener a ranas y sapos en cautiverio, y además una sala destinada para el bioterio de alimentos (Museo de zoología QCAZ, 2014). Esta alberga especies de anfibios como *Gastrotheca* spp. en estado de cautiverio, distribuidas en la sala A con una temperatura de 22° C y humedad de 50 a 60%. Esta sala tiene una dimensión de nueve metros de largo por seis metros de ancho y dos metros de alto. Dispone de cuatro columnas de anaqueles que tienen un ancho de 63 cm y 6.3 m de largo en las cuales se encuentran los terrarios, en donde habitan las diferentes especies de anfibios (Ver figura 4).

Intentando tener una evaluación de la condiciones de manejo de los individuos seleccionados se realizó una inspección y descripción ambiental del terrario. Para ellos fueron tomadas fotografías del terrario, y toma de temperatura ambiental interna, externa y humedad relativa del mismo.



Figura 4: Sala A. Balsa de sapos. En la fotografía se observa las diferentes disposiciones de los terrarios.

3.2. Animales

La especie *Gastrotheca* spp. en la Balsa de los Sapos tiene una población total de 236 animales; de los cuales, la Institución, cedió diez ejemplares. Este reducido número de animales se debió a que son animales en peligro de amenaza que se encontraban enfermos y estaban seleccionados para eutanasia.

La primera variable a evaluar fue el ambiente general de cada individuo, tomando en cuenta la medición de temperatura interna y externa; porcentaje de humedad y horas luz. Por otro lado, se consideró la valoración de parámetros de salud como: peso, estado de conciencia, examen de sistema respiratorio, digestivo y urinario. Además de observación de signos clínicos que permitan descartar la presencia de otras enfermedades.

Por otra parte, una valoración biométrica y de peso fue realizada dentro de la institución. Para la toma de peso en gramos (g) se calibró la balanza de marca BOECO BB I-41® con la ayuda de unos recipientes plásticos, y se colocó al animal allí directamente; puesto que, al tratarse de animales nerviosos estos pueden saltar y lastimarse. Después se tomó medidas del animal desde la punta de la boca hasta la cloaca con la ayuda de un calibrador Scala®. Durante este procedimiento se dispuso de una cámara de fotos para el registro por imágenes.

3.3. Necropsia e histopatología

3.3.1. Técnica de eutanasia

El método de eutanasia más apropiado para estos animales, va encaminado a provocarles el mínimo estrés posible. El método químico de sacrificio eficaz, rápido y no invasivo a elección fue la benzocaína (Close et al., 1997). Sin embargo, este método fue modificado y se utilizó Roxicaína® atomizador tópico al 10% de 80 g en 83 mililitros (ml) producto elaborado por Ropsohn Therapeutics Ltda, en Bogotá – Colombia. La dosis fue de 2 a 3 aspersiones,

que equivale a 30 a 40 miligramos (mg) las cuales fueron absorbidas por la piel del animal hasta que se logró un plano de inconsciencia completo que permitió realizar la necropsia.

3.3.2. Necropsia

Los animales eutanasiados fueron transportados y llevados al laboratorio 131 de la Universidad de las Américas para la correspondiente necropsia. Para su ejecución un modelo a seguir fue la metodología descrita por Cubas, Silva y Catão-Dias (2014, pp. 1565-1576) y Pessier y Pinkerton (2003), en la cual se realizó una evaluación completa de las partes externas como mucosas y piel, una exploración por palpación para detectar posibles masas anómalas, malformaciones o fracturas en las diferentes partes del cuerpo. Posteriormente se realizó una incisión en la línea ventral desde la región intermandibular hasta la cloaca con la ayuda de un escalpelo. Luego se incidió la musculatura; se identificaron y se evaluaron los órganos dentro de la cavidad celomática, mediante el uso de un estereoscopio marca KRUSS®. Cuidadosamente se separaron individualmente los órganos, comenzando por el hígado, luego por los pulmones, corazón, sistema digestivo (desde la lengua hasta el intestino grueso), también junto a ello, se desprendió de la cavidad, riñones y vejiga. Se procedió a separar el bazo de los demás órganos, después riñón y testículos en caso de ser macho y oviducto con ovarios en hembras, por último, con mucho cuidado se desprendió la vejiga de los demás órganos. Al final del procedimiento y siguiendo una guía de necropsia - Practical Gross Necropsy of Amphibians"- fueron dados los diagnósticos morfológicos correspondientes.

- Toma de muestras

Se realizó una colecta de muestras lo más completa posible, abarcando diferentes órganos como corazón, piel, pulmón, hígado, bazo, riñón, testículos, ovario y oviducto. Cada uno fue diseccionado tomando parámetros de localización, forma, tamaño, y coloración de los mismos. Se retiraron partes del tejido con alteraciones y sin ellas. Cabe resaltar que el tamaño de estos animales no superó los 50,00 mm de largo de distancia entre cabeza y cloaca,

lo que da una idea del tamaño de los órganos y del tamaño de la muestra para ser analizada, así ninguna superó los 5 mm de espesor o 10 mm de área para una correcta fijación por el formol.

Las muestras se fijaron con formaldehído bufferado al 10 % y fueron enviados a un servicio especializado para la preparación de las placas histológicas correspondientes, el cual tardó el tiempo de 1 semana aproximadamente, incluyendo los días de fijación de las muestras.

3.3.3. Histopatología

Una vez con las láminas de histopatología listas, se realizó la observación y evaluación de los tejidos colectados, mediante la ayuda de un microscopio de luz CX21® (Olympus) en los objetivos 4x, 10x y 40x. Cuando fue necesario se realizó observación con objetivo de inmersión 100X. Para la posterior interpretación de cada tejido y órgano observado, se tuvo la asesoría del director de la tesis, PhD. Genoy-Puerto. Como complemento fue necesario disponer de un atlas de histología en anfibios “Color Atlas of *Xenopus laevis* Histology”, puesto que esto facilitó la comparación y categorización entre un tejido sano y uno enfermo, permitiendo identificar su cronicidad como se plantea en la hipótesis de esta investigación. De esta forma se realizó un diagnóstico histopatológico de las principales lesiones observadas. Microfotografías de las lesiones encontradas fueron realizadas con microscopio de luz Axio Lab.A1® (Zeiss) y cámara AxioCamErc 5s® (Zeiss).

3.4. Método estadístico

Para este estudio se utilizó un método estadístico descriptivo, que se manejó mediante una base de datos en Microsoft Excel®, en donde se recopiló la descripción anatomopatológica de los especímenes de *Gastrotheca* spp. que fueron muestreados. Además, la base contó con las variables de peso, tamaño del animal y condiciones ambientales. Los datos anatomopatológicos a nivel macroscópico y microscópico fueron presentados a nivel de estadística descriptiva, y la cronicidad o no de las lesiones permitió establecer una mejor caracterización del síndrome de edema.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los resultados fue tomado de un grupo de 10 animales. Estos fueron divididos en tres partes: condiciones medio-ambientales de los terrarios, biometría (peso, distancia boca-cloacal y circunferencia abdominal), hallazgos macroscópicos y hallazgos microscópicos.

4.1. Condiciones medioambientales

En la Balsa de los Sapos los animales en cautiverio elegidos para el estudio, se mantienen bajo condiciones similares a vida libre. La temperatura y la humedad de la sala oscilaron, de acuerdo a las horas de riego en cada terrario (2 riegos en la noche y 3 en el día). Ver tabla 2.

Tabla 2. Resultados del seguimiento de las condiciones medioambientales

Especie	Sexo	Identificación	Temperatura interna (°C)	Temperatura externa (°C)	Humedad relativa (%)
<i>Gastrotheca riobambae</i>	Hembra	2337	23.00	20.90	47.00
<i>Gastrotheca riobambae</i>	Macho	1995	23.00	21.90	55.00
<i>Gastrotheca riobambae</i>	Hembra	1995 (2)	22.50	21.91	62.00
<i>Gastrotheca riobambae</i>	Macho	3087	22.70	23.00	64.00
<i>Gastrotheca litonedis</i>	Hembra	1133	22.70	22.80	66.00
<i>Gastrotheca litonedis</i>	Macho	1478	22.00	21.90	61.00
<i>Gastrotheca pseustes</i>	Hembra	1467	22.00	21.90	61.00
<i>Gastrotheca pseustes</i>	Macho	2329	23.00	23.80	60.00
<i>Gastrotheca pseustes</i>	Macho	1856	22.30	22.30	65.00
<i>Gastrotheca litonedis</i>	Macho	1133(2)	22.70	21.70	57.00

4.2. Biometría

Actualmente la literatura solo describe medidas de la longitud distancia boca a cloaca, pero no del peso y circunferencia abdominal. Por lo cual, los valores de estas dos últimas variables se relacionó con la cronicidad del síndrome de edema presentes en los animales objeto de este estudio. Es así que de

acuerdo a la cantidad de líquido que se observó se pudo dar un promedio aproximado de la variación entre una y otra especie.

Por otra parte, la longitud entre boca-cloaca también difiere entre uno y otro individuo, debido al dimorfismo sexual, en donde normalmente la hembra es la que tiene un tamaño mayor en comparación al macho. Sin embargo, el promedio de los animales muestreados se encontró en los rangos normales descritos en la literatura. Resultados obtenidos en el estudio que se exponen en la tabla 3.

Tabla 3. Peso y medidas distancia boca-cloaca y circunferencia abdominal (mm)

Espece	Distancia boca-cloaca (mm) Media (desviación estándar)	Circunferencia abdominal (mm) Media (desviación estándar)	Peso (g) Media (desviación estándar)
<i>Gastrotheca riobambae</i>	51.77 (± 3.40)	63.33 (± 32.53)	30.78 (± 7.96)
<i>Gastrotheca litonedis</i>	51.80 (± 5.38)	45.33 (± 64.69)	17.77 (± 7.90)
<i>Gastrotheca pseustes</i>	53.40 (± 8.55)	94.75 (± 10.81)	21.55 (± 7.84)

4.3. Hallazgos macroscópicos

La cantidad de líquido intracelómico y subcutáneo en los animales muestreados al momento de la necropsia no fue el mismo en todos los animales. Esto se debió al estado de salud en el cual se encontraron que va en relación con los hallazgos encontrados a nivel macro y microscópico. Para mejor entendimiento la cantidad se la clasifico de leve, moderado a severo. (Ver tabla 4).

Tabla 4. Clasificación de la cantidad de líquido intracelómico y subcutáneo en animales muestreados.

Especie	Sexo	Identificación	Cantidad de líquido intracelómico y subcutáneo
<i>Gastrotheca riobambae</i>	Hembra	2337	Leve
<i>Gastrotheca riobambae</i>	Macho	1995	Leve
<i>Gastrotheca riobambae</i>	Hembra	1995 (2)	Moderado
<i>Gastrotheca riobambae</i>	Macho	3087	Leve
<i>Gastrotheca litonedis</i>	Hembra	1133	Moderado
<i>Gastrotheca litonedis</i>	Macho	1478	Severo
<i>Gastrotheca pseustes</i>	Hembra	1467	Leve
<i>Gastrotheca pseustes</i>	Macho	2329	Leve
<i>Gastrotheca pseustes</i>	Macho	1856	Moderado
<i>Gastrotheca litonedis</i>	Macho	1133(2)	Moderado

Por otra parte, durante el examen físico se identificó que los animales muestreados presentaron otras manifestaciones clínicas de enfermedad. Mismas que se exponen en la tabla 5. Ver figura 5.

Tabla 5. Presentación de otras patologías encontradas en los anfibios en estudio.

Especie	Identificación	Estado general del animal
<i>Gastrotheca riobambae</i>	2337	Parálisis de miembros posteriores, prolapso de vejiga
<i>Gastrotheca riobambae</i>	3087	Parálisis de miembros posteriores
<i>Gastrotheca litonedis</i>	1133	Lipidosis corneal
<i>Gastrotheca litonedis</i>	1478	Lipidosis corneal
<i>Gastrotheca pseustes</i>	1467	Lipidosis corneal
<i>Gastrotheca pseustes</i>	2329	Lipidosis corneal y desarticulación de los miembros posteriores
<i>Gastrotheca pseustes</i>	1856	Lipidosis corneal



Figura 5: Lipidosis corneal. En la fotografía se observan ambos ojos cubiertos de un manto blanco, se nota que tiene un carácter crónico. *Gastrotheca pseustes* – 1856.

De los 10 animales la observación macroscópica se realizó tomando en cuenta los principales órganos en relación con el síndrome de edema. Sin embargo, dado el tamaño pequeño de los órganos de estos individuo, resultó difícil el poder identificarlos y describirlos.

Sacos pulmonares

Las principales alteraciones en pulmón fueron hemorragias, congestión y edema que corresponde al 60% y el 40% restante de los animales evaluados no tuvo cambios macroscópicos aparentes. (Ver la tabla 6).

Tabla 6. Principales hallazgos macroscópicos encontrados a nivel pulmonar

Diagnóstico morfológico	Tipo de lesión	Porcentaje (Fracción)	Identificación
Hemorragia	Vascular	20% (2/10)	<i>Gastrotheca riobambae</i> – 1995 <i>Gastrotheca litonedis</i> – 1133(2)
Congestión	Vascular	30% (3/10)	<i>Gastrotheca riobambae</i> – 2337 - 1995 (2) <i>Gastrotheca pseustes</i> – 2329
Edema	Vascular	10% (1/10)	<i>Gastrotheca pseustes</i> -1856

La congestión es un trastorno circulatorio, descrito como un proceso pasivo causado por la disminución de salida de sangre venosa, causando falla cardíaca e incluso edema (McGavin y Zachary, 2013, p. 496). Como indican Trigo y Elizondo (2004, p.32), en una congestión, el órgano se notará aumentado de volumen, a veces será visible observar los capilares dilatados y el órgano en general tendrá una coloración más oscura a la normal. Esta coloración se da por la hemoglobina acumulada en los tejidos afectados (Cirión y Herrera, 2005, p.127). El 30% (3/10) de los animales en estudio presentaron pulmones con una coloración más oscura de lo normal y se hallaron levemente aumentados de tamaño (Ver figura 6). Sin embargo, lo que no se encontró en dos de los tres animales fueron los capilares dilatados que rodean el tejido pulmonar.



Figura 6: Pulmón. Presenta una coloración oscura. *Gastrotheca pseustes* - 2329.

La manifestación de edema representó el 10% (1/10), en el que se encontró la presencia de un pulmón agrandado y contenido de consistencia espumosa a la incisión, hallazgo similar a lo descrito por Trigo y Elizondo en el 2004 (p.37) que describe al edema de pulmón, cuando no existe colapso de pulmón y se

encuentra material espumoso dentro de los bronquios, y en general un órgano agrandado y de aspecto espumoso. Debiéndose esta patología en gran parte a un problema circulatorio o un daño en capilares pulmonares (Cheville, 1994, p. 10). (Ver figura 7).

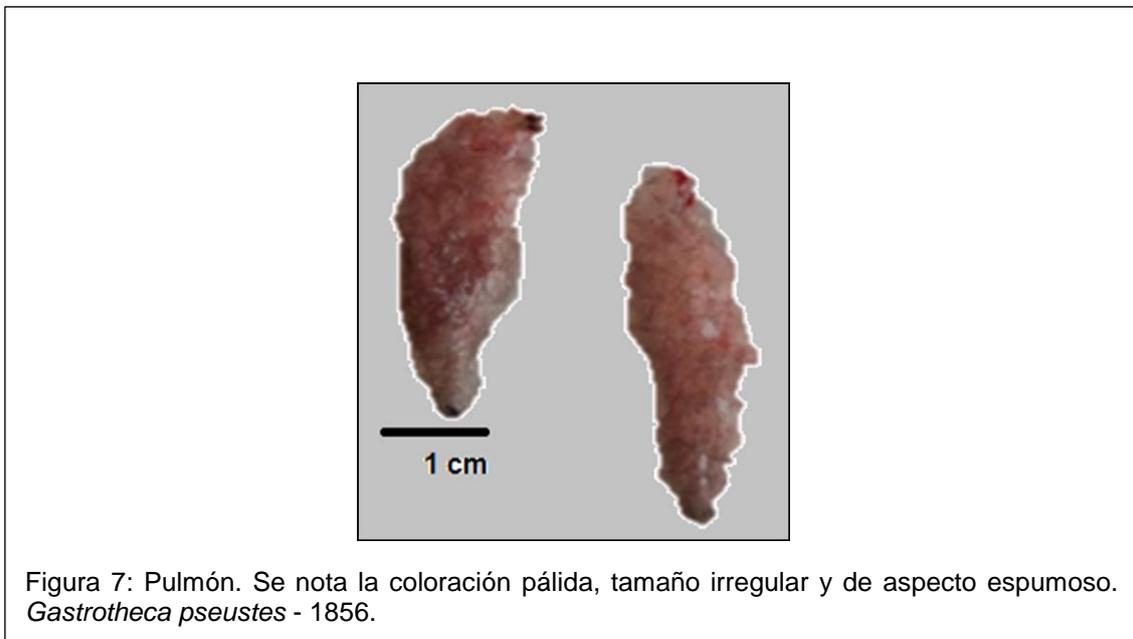


Figura 7: Pulmón. Se nota la coloración pálida, tamaño irregular y de aspecto espumoso. *Gastrotheca pseustes* - 1856.

También se observó en un animal focos hemorrágicos en sus pulmones en la zona caudal de manera difusa sin un tamaño específico, de color rojizo oscuro, y aumentado de tamaño y leve cantidad de sangre al corte. Ello nota compatibilidad con lo descrito por Cubillos y Paredes en el 2006, que indican que características como pequeñas zonas hemorrágicas y la presencia de sangre corresponden a una hemorragia pulmonar, resultados correspondientes al 20% (2/10) del total de los animales. Una hemorragia según McGavin y Zachary (2013, p.565) es la salida de sangre de los vasos sanguíneos, que es causada principalmente; por la hipoxia, lesión vascular e intoxicaciones principalmente. (Ver figura 8).

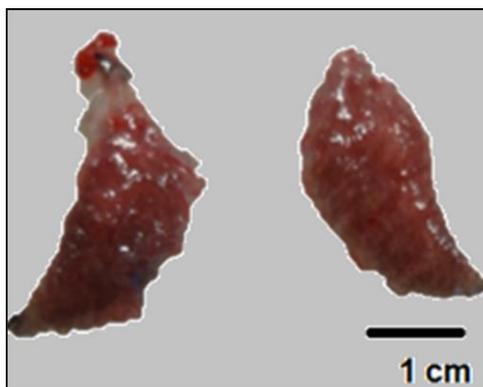


Figura 8: Pulmones. Tejido pulmonar con focos hemorrágicos. *Gastrotheca riobambae* - 1995.

Corazón

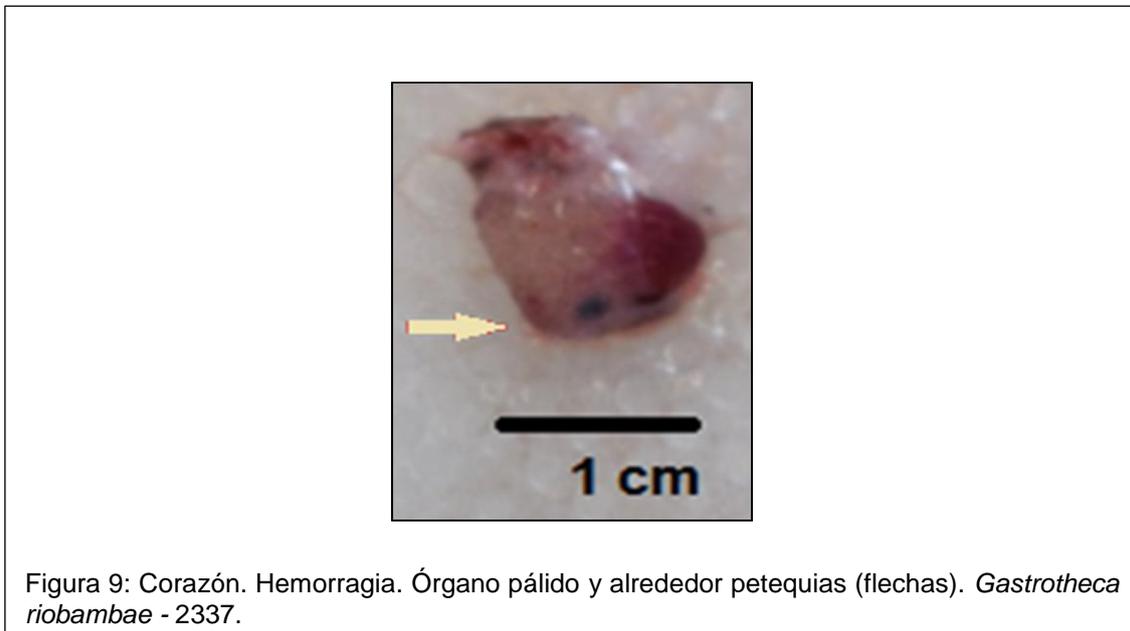
Los hallazgos más relevantes encontrados fueron principalmente hemorragia y necrosis, los cuales representan el 20% de animales con lesiones. El 80% restante no presentaron ninguna lesión macroscópica aparente. Tal y como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Lesiones encontradas en corazón

Diagnóstico morfológico	Tipo de lesión	Porcentaje (Fracción)	Identificación
Hemorragia	Vascular	10% (1/10)	<i>Gastrotheca riobambae</i> –2337
Necrosis	Celular	10% (1/10)	<i>Gastrotheca litonedis</i> – 1467

Las hemorragias son alteraciones vasculares que en el corazón, al igual que en otros órganos, presentan varias manifestaciones como las petequias de tamaño 1 a 2 milímetros (mm) (McGavin y Zachary, 2013, p.565). En este estudio los hallazgos correspondieron a hemorragias petequiales, que se identificaron como puntos redondos de hasta 1 mm, de aspecto liso y color oscuro, a negro (Ver figura 9). Como lo describen Cubillos y Paredes (2006),

primero debería existir congestión, y cuando las células lesionadas alcancen una presión venosa demasiado grande, estas se romperán y la hemorragia tomará lugar en dicho tejido u órgano observado.



Otro hallazgo observado fue la presentación de un corazón con una coloración rojo brillante, además de unos focos blanquecinos de menos de 0.5 mm y de continuidad al tejido cardíaco (Ver figura 10). Esta alteración se describió como una necrosis, que de acuerdo al color y la apariencia se lo denominó como tal. Según Trigo y Elizondo (2004), la necrosis es un daño que provoca muerte celular irreversible, y se la clasifica de acuerdo a la localización y componentes que forman el órgano al cual se encuentren. El hallazgo en corazón fue similar a lo descrito en una necrosis caseosa, en donde las lesiones son de color blanco-amarillento a veces encapsuladas formando un granuloma, y en ocasiones, puede haber calcificación y al corte pueden deshacerse. Por tanto, en comparación con lo observado en el órgano muestreado, esta estructura, a la palpación no constituye un encapsulamiento y tampoco calcificación. De tal modo que, también podría depender de la severidad y tiempo de la lesión.



Figura 10: Corazón. Nótese una coloración rojo brillante en todo el órgano y en el centro un punto color blanquecino (flecha), y adyacente otra estructura blanquecina. *Gastrotheca pseustes* - 1467.

Hígado

Las principales lesiones macroscópicas fueron: congestión en un 20% (2/10), necrosis 20% (2/10) y esteatosis hepática en un 60% (6/10) de animales afectados. Mismos resultados que son expuestos en la tabla 8.

Tabla 8. Hallazgos macroscópicos encontrados en Hígado.

Diagnóstico morfológico	Tipo de lesión	Porcentaje (Fracción)	Identificación
Congestión	Vascular	20% (2/10)	<i>Gastrotheca riobambae</i> – 1995 <i>Gastrotheca riobambae</i> -2337
Necrosis	Celular	20% (2/10)	<i>Gastrotheca riobambae</i> -3087 <i>Gastrotheca pseustes</i> -1467
Esteatosis hepática	Celular	60% (6/10)	<i>Gastrotheca riobambae</i> -1995 (2) <i>Gastrotheca litonedis</i> -1133 <i>Gastrotheca litonedis</i> - 1478 <i>Gastrotheca pseustes</i> -2329 <i>Gastrotheca pseustes</i> -1856 <i>Gastrotheca litonedis</i> - 1133(2)

La esteatosis hepática que otros autores denominan como hígado graso o cambio graso, corresponde a una patología en la cual los lípidos no son metabolizados adecuadamente. Según Trigo y Elizondo (2004, p.87), el hígado presenta un aspecto pálido, suave y grasoso a la palpación. Esta descripción es similar a los hallazgos encontrados en 6 de los 10 animales estudiados. Ver tabla 8.

Los patrones de presentación de estos cambios en hígado varían de un animal a otro, ello podría deberse a la cronicidad de los mismos. El parénquima hepático de tres animales se pudo observar aparentemente normal (Ver figura 11, 13 y 14), en tanto que en otro se encontró un hígado de consistencia frágil que fácilmente se podría deshacer al ejercer poca presión con las yemas de los dedos (Ver figura 12). Por otro lado, este hallazgo mantiene relación con lo descrito por Sallés (2011), en donde indica que la lipidosis hepática en anfibios es causada por anorexia, malnutrición, obesidad o enfermedad metabólica principalmente; manifestaciones que se presentan en pocos de los animales de este estudio.



Figura 11: Hígado. Áreas de color amarillo multifocal rodean la mayor parte del parénquima hepático. Vesícula con contenido amarillo. *Gastrotheca riobambae* - 1995 (2).

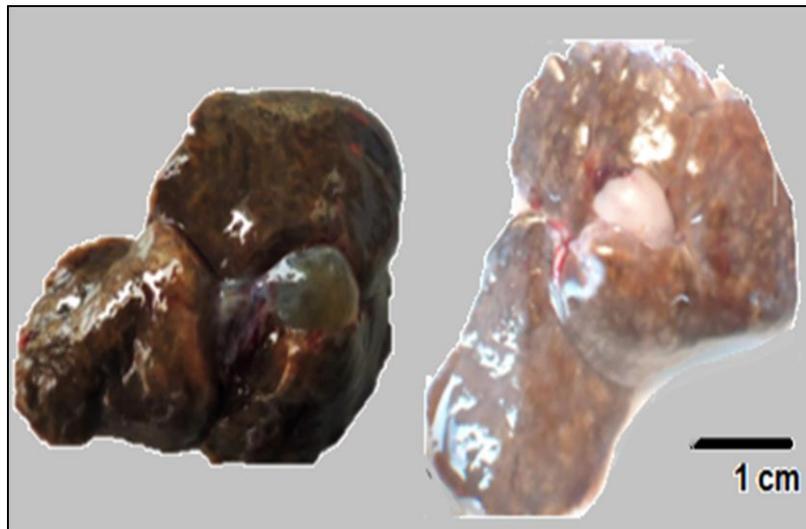


Figura 12: Hígado. Parénquima con áreas diseminadas de color amarillo – marrón, friable y con la vesícula pálida. *Gastrotheca litonedis* - 1133.

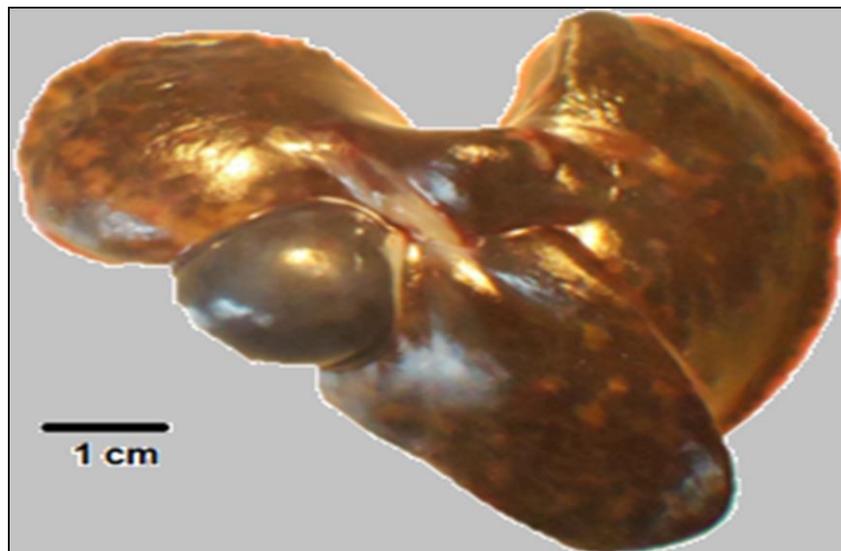


Figura 13: Hígado. Parénquima con áreas amarillas – anaranjado multifocales. *Gastrotheca pseustes* - 2329.



Figura 14: Se observan áreas amarillentas con una distribución generalizada en el parénquima, además la vesícula con una coloración amarillenta intensa y generalizada. *Gastrotheca litonedis* - 1133(2).

El hallazgo de necrosis representó el 30% (3/10) de animales afectados. En los cuales los animales presentaron un órgano pálido, algunas zonas de coloración más oscura, de apariencia negruzca, y friable. Características similares a lo descrito por Trigo y Elizondo (2004, p.127); en donde el tejido afectado tiene un aspecto pálido y a veces de color rojo oscuro a negro, producto de sangre hemolizada, y suave a la palpación. Las lesiones en estos animales difieren, puesto que el patrón de presentación no es el mismo en todas las necrosis. Por el aspecto que presentó, se concluyó que es una necrosis coagulativa por que el tejido se presenta de tonalidad gris. Como indica Cheville (1994, p.63) los cambios degenerativos a nivel celular se pueden presentar por alteraciones en la homeostasis hídrica y electrolítica, catabolismo excesivo, falla en el procesamiento y excreción celular. Esto representa un daño directo a los organelos celulares y a su función metabólica, seguido de tumefacción y lesión celular irreversible con colapso de la misma, proceso denominado necrosis coagulativa.

El otro 20% (2/10) corresponde a animales que presentaron congestión, identificándose un órgano oscuro y levemente agrandado. En la figura 15 se

puede identificar el hígado con sus lóbulos, el izquierdo presentando una textura moteada pálida y en el lóbulo contrario, una coloración más oscura del parénquima. Por otro lado, en otro hígado de diferente animal, al momento de incidir el parénquima se notó una leve cantidad de sangre lo cual alude a una congestión aguda que lo describen de la misma manera Cubillos y Paredes (2006). El hígado según lo indica Trigo (1998, pp.110-111), al ser un órgano que almacena en sus sinusoides cantidades de sangre considerables puede ser un indicador de insuficiencia cardíaca. Es entonces, que en casos agudos, el hígado se observará agrandado, y al corte habrá sangrado. En casos crónicos tendrá una apariencia de nuez moscada y lipidosis en células que rodean la vena central. De acuerdo a esta descripción, la relación directa en este estudio se encamino más a un proceso agudo que crónico.



Figura 15: Congestión hepática. Hígado que se presentó levemente aumentado y con una coloración más oscura a la normal multifocal. *Gastrotheca riobambae* - 2337.

Piel

Las zonas de enrojecimiento (eritema) cutáneo en áreas como patas delanteras y traseras (Ver figura 16), se presentaron en un 30% (3/10) de animales. Densmore y Green (2006), indican que el eritema en abdomen y extremidades se puede deber a vasodilatación, congestión o hemorragia. Que suelen presentarse en animales que padecen algún tipo de enfermedad bacteriana, la misma que puede ocasionar edema en los animales.



Figura 16: Piel. Eritema en las zonas de manos y muslos. Además de muda retenida (flecha). Correspondiente vista ventro dorsal. *Gastrotheca litonedis* - 1478.

Bazo

De los diez animales en estudio solo el 10% (1/10) presentó un bazo con alteración macroscópica de congestión (Ver figura 17). El bazo se encontró de coloración más oscura, y levemente aumentado de tamaño; manifestaciones que mantienen relación con la congestión. La congestión pasiva en bazo con aumento de tamaño puede deberse a problemas en corazón. Otra de las

causas más frecuentes, es un bloqueo de la circulación venosa provocando obstrucción de las venas portales extra hepáticas, así como también un trastorno dentro del hígado (intrahepático), como lo indican Mitchel, Kumar, Abbas y Fausto en el año 2007 (p. 422).



Figura 17: Bazo. Se observa el órgano de una coloración más oscura a la normal. *Gastrotheca litonedis* - 1133(2).

Riñón

Se encontraron cinco alteraciones en el riñón (50%). El 50% restante no presentaron alteraciones macroscópicas. Solamente un animal presenta dos alteraciones. Resultados que se encuentran en la tabla 9.

Tabla 9. Alteraciones patológicas observadas en riñón.

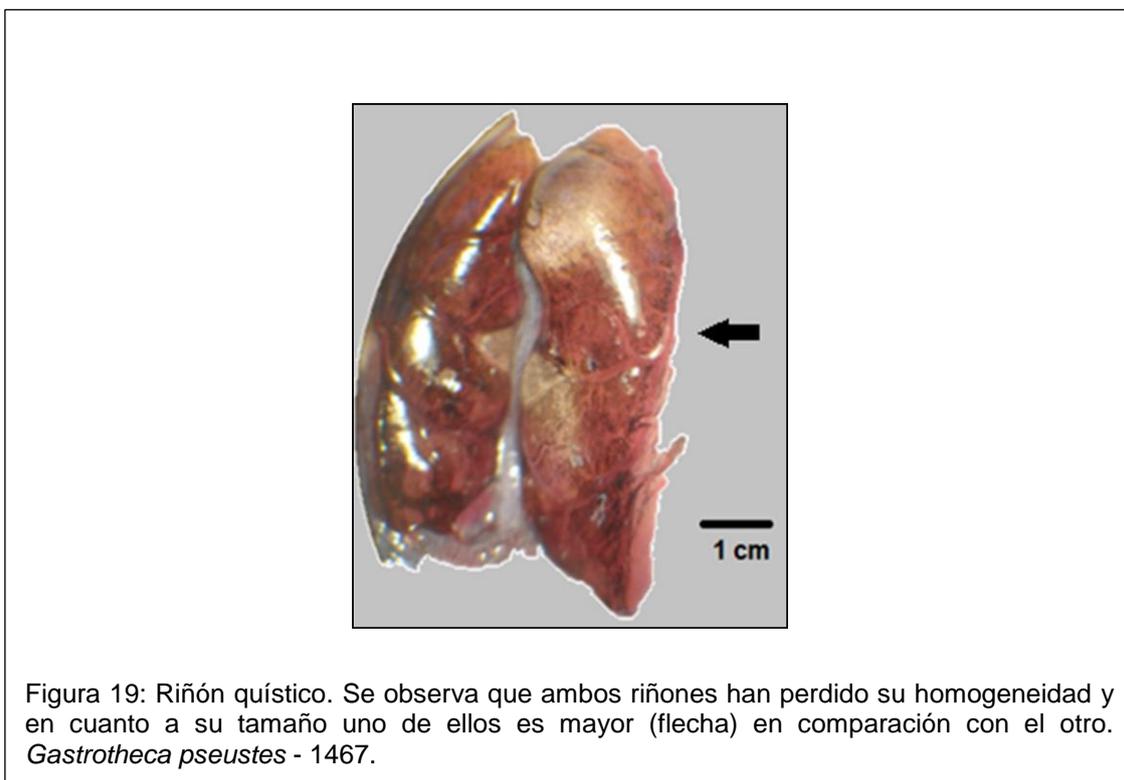
Diagnóstico morfológico	Tipo de lesión	Porcentaje (Fracción)	Identificación
Hidronefrosis		10% (1/10)	<i>Gastrotheca pseustes</i> - 2329
Quistes renales		10% (1/10)	<i>Gastrotheca pseustes</i> - 1467
Congestión	Vascular	10% (1/10)	<i>Gastrotheca litonedis</i> - 1133(2)
Necrosis	Celular	10% (1/10)	<i>Gastrotheca litonedis</i> - 1478
Hemorragia	Vascular	10% (1/10)	<i>Gastrotheca pseustes</i> - 2329

La necrosis en riñón es de tipo común. Por tanto, es importante identificar la localización de la lesión. Como indica Trigo (1998, p. 138-139), la necrosis puede manifestarse en la corteza renal, la misma que es causada por microtrombos que forman áreas de necrosis coagulativa y hemorragias. La necrosis medular renal se genera como respuesta a isquemia. Las áreas afectadas se encuentran de color verde, rosado o gris con amarillo, pueden ser firmes, friables, y desprenderse fácilmente. Por otro lado, la necrosis tubular como resultado de degeneración tubular, presenta cambios macroscópicos imprecisos, tales como riñones hinchados, la superficie capsular suele estar pálida, lisa al tacto y translúcida. Las lesiones de necrosis en este estudio representaron el 10% (1/10) del total de animales solo con patologías en riñón. El órgano se encontró pálido en continuidad con un área rosácea en la parte craneal del mismo, que parece perderse sin una adecuada observación de todo el riñón (Ver figura 18). Como lo indica Cheville en el año 1994 (p. 7), las áreas de necrosis en ocasiones, no se encuentran bien delimitadas debido a la inflamación o hemorragia que pueda presentar el tejido, lo cual puede ocultar las lesiones necróticas.



Figura 18: Necrosis de riñón. En la parte craneal presenta un área pálida (flecha), además se nota que el tamaño de uno de los riñones está aumentado. *Gastrotheca litonedis* -1478.

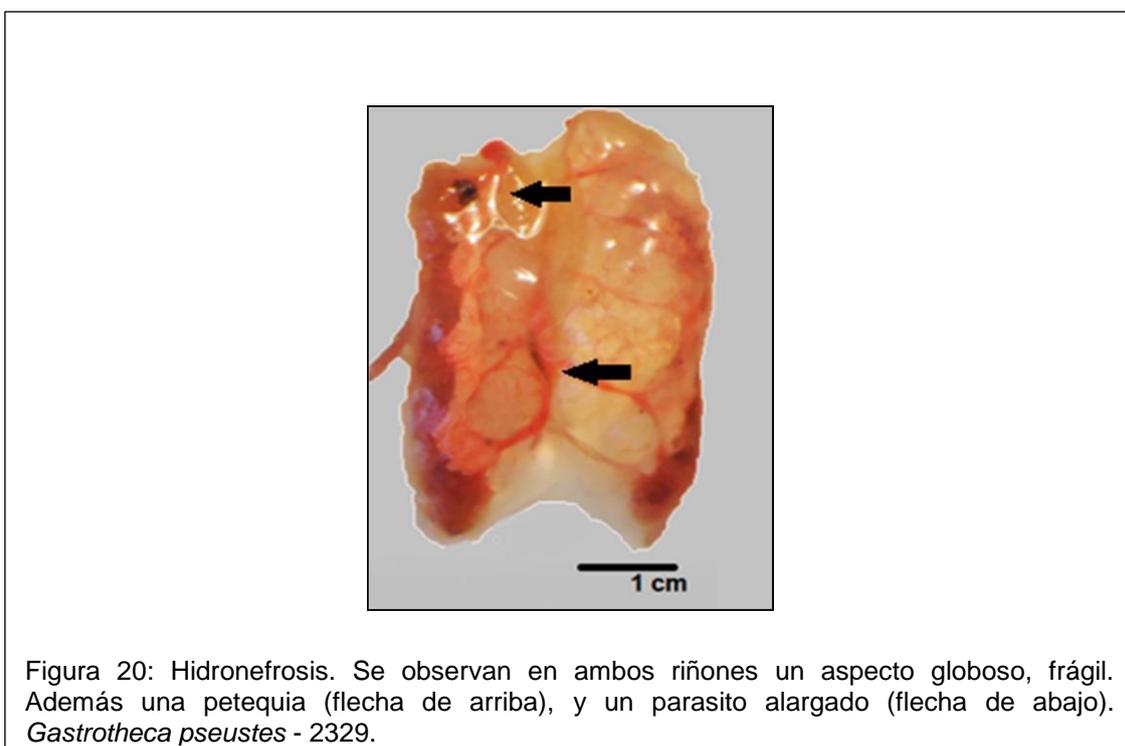
Las formaciones quísticas en riñones (Ver figura 19) de anfibios en este estudio fueron del 10% (1/10). Por lo general, ello se debe a problemas de desbalance electrolítico, que puede asociarse a las concentraciones de electrolitos y a enfermedades de la piel. El riñón se torna de apariencia irregular y con formaciones quísticas que pueden contener líquido, confiriéndole una apariencia heterogénea (Cheville, 1994, p. 70).



La hidronefrosis en este estudio representó el 10% de las alteraciones encontradas. Como lo indican Trigo (1998, p.149), McGavin y Zachary (2013, p. 667-668), esto se produce por la dilatación de la pelvis, con atrofia del parénquima y dilatación quística del riñón. Esta patología tiene dos formas de presentación, unilateral o bilateral. Siendo la bilateral la más severa, produciendo la muerte del animal. A comparación de los hallazgos encontrados en este estudio, se pudo evidenciar que la afección es bilateral. El riñón derecho izquierdo se encontró más afectado con pérdida de tejido significativa en comparación con su opuesto. Además se pudo evidenciar dos hallazgos: un punto petequiral y un parásito de forma alargada de menos de 0.5 mm en uno

de los riñones con mayor afectación. Según Cecil (2006), a menudo la enfermedad renal poliquística puede ser causada por parásitos como el Myxozoan. También se ha reportado que incluso pueden encontrarse en varios órganos, en especial dentro del riñón (Ver figura 20).

En el riñón es usual observar hemorragias de tipo petequiral en la superficie, el cual puede tener distintas causas de acuerdo al tipo de enfermedad que se esté presentando (Trigo, 1998, p.137). Como se mencionó anteriormente, una hemorragia petequiral cumple con un patrón, el mismo que se encontró en uno de los animales, en donde se observó un pequeño punto de máximo 2 mm de diámetro representando el 10% (1/10) de individuos afectados (Ver figura 20).



La apariencia macroscópica de congestión en riñones sigue el mismo fundamento que en otros órganos, un órgano agrandado y oscuro (Ver figura 21). Según McGavin y Zachary (2013, p.672) esta lesión puede ser: fisiológica, o secundaria a un shock tipo hipovolémico o por insuficiencia cardiaca.



Figura 21: Congestión renal. Se observa la diferencia de tamaño en ambos riñones, el izquierdo más grande (flecha). Tiene un aspecto globoso y arredondeado. *Gastrotheca litonedis* - 1133 (2).

Oviducto - Ovario

Las principales alteraciones encontradas en órganos reproductivos de hembras representaron el 40% (4/10) de animales afectados. Resultados detallados en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados de las principales alteraciones encontradas

Diagnóstico morfológico	Tipo de lesión	Porcentaje (Fracción)	Identificación
Hemorragia	Vascular	10% (1/10)	<i>Gastrotheca riobambae</i> - 2337
Quiste		10% (1/10)	<i>Gastrotheca pseustes</i> - 1467
Hidrosalpingitis	Inflamatoria	20% (2/10)	<i>Gastrotheca pseustes</i> - 1467 <i>Gastrotheca riobambae</i> - 2337

La hemorragia en ovario (Ver figura 22) presentó una formación irregular agrandada. Posiblemente se deba a algún tipo de traumatismo o ciclo reproductivo en el que se encuentre el animal.

En la salpingitis como lo indican Cubillos y Paredes (2006), el oviducto se notará agrandado y con exudado en la luz del mismo. Este se denominará como hidrosalpinx, cuando hay la presencia de exudado seroso o piosalpinx, o exudado purulento. Su manifestación en este estudio fue del 20% (2/10) de individuos con presencia de esta lesión, en donde, de acuerdo al tipo de coloración del exudado se asume que se trató de un hidrosalpínx con exudado seroso (Ver figura 22 y 23).

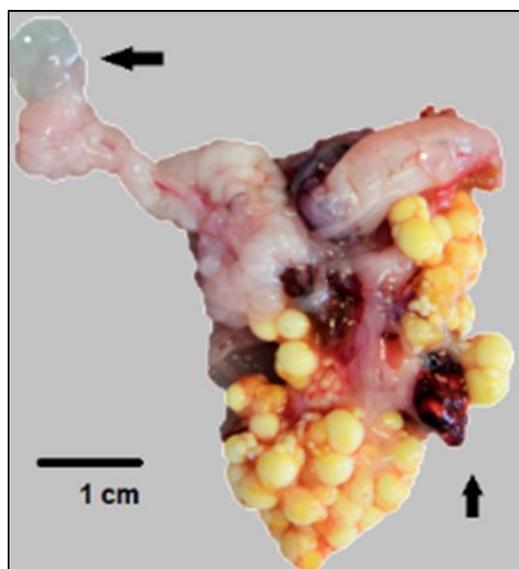


Figura 22: Oviducto (flecha de arriba) con presencia de líquido. Ovario (flecha de abajo). *Gastrotheca riobambae* - 2337.

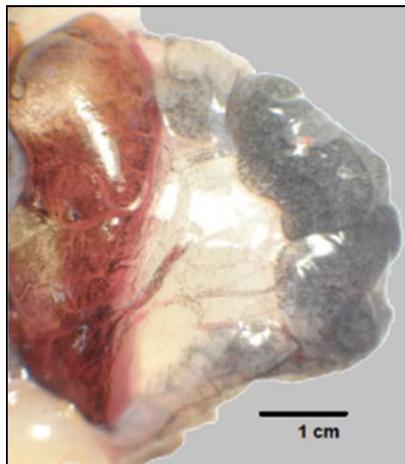


Figura 23: Oviducto. Se observa agrandado, de coloración grisácea. *Gastrotheca riobambae* -1467.

Los quistes ováricos constituyen una cavidad cerrada, que se rodea por células que producen líquido y pueden clasificarse dependiendo de la manera de manifestación en la que se encuentren (Trigo, 1998, p.163). Durante el estudio se identificó una estructura quística vascularizada (Ver figura 24), con presencia de líquido color verde; cuyo hallazgo representó el 10% (1/10) de animales afectados. Como lo indican Trigo y Elizondo (2004, p.16), la presencia de un líquido verde en el quiste, puede deberse a un exudado de tipo purulento o supurativo, el cual se presenta con una coloración cremosa, amarillenta o verdosa. Esta alteración en anfibios se debe a la formación de ovas maduras que se depositan en el oviducto y se quedan retenidas en ese lugar (Wright y Whitaker, 2001, p. 297).

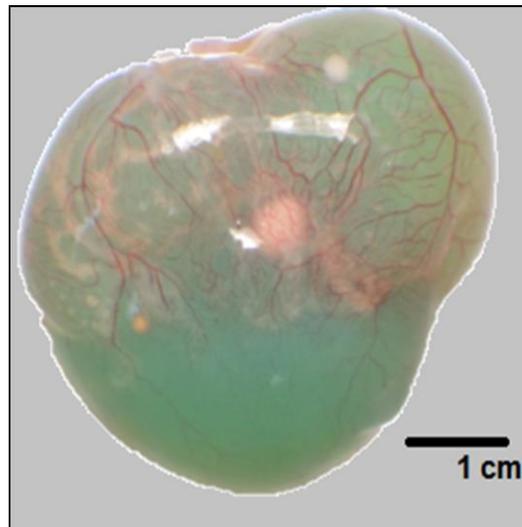


Figura 24: Ovario. Se encuentra agrandado y con un líquido verde y vascularizado. Imagen correspondiente al animal 1467.

4.4. Hallazgos microscópicos

Del grupo de 10 animales se tomó de cada uno muestras de cada órgano (piel, pulmón, corazón, riñón, bazo, hígado, órganos reproductores- ovarios, oviductos y testículos), es decir, se evaluaron 70 muestras. De cada órgano se obtuvieron distintos hallazgos, los cuales coinciden con el diagnóstico morfológico macroscópico. A continuación se detallan los diferentes resultados por cada muestra de órgano tomado.

Sacos pulmonares

Toda la población de animales presentó alteraciones. Mismos resultados que se exponen en la tabla 11.

Tabla 11. Principales alteraciones encontradas en pulmón

Alteración	Frecuencia hallazgos	Porcentaje de animales afectados	Identificación
Hemorragia	2/10	20%	3087, 1133(2)
Neumonía intersticial aguda	2/10	20%	2337, 1478
Neumonía intersticial crónica (N.I.C)	2/10	20%	1133, 2329
N.I.C y hemorrágica	2/10	20%	1995(2), 1856
Bronconeumonía supurativa crónica	1/10	10%	1467
Hemorragia y edema pulmonar	1/10	10%	1995
TOTAL	10	100%	

La neumonía intersticial produce daño en la pared del alveolo y en conjunto, daño en el intersticio bronquiolar que obedece a una patología en la cual se encuentra congestión alveolar, edema y fibrina como principales características (Trigo, 1998, p. 58). Como lo indican McGavin y Zachary (2013, p. 513-515), la manifestación de esta enfermedad, varía de acuerdo al proceso inflamatorio. Si se tratase de un proceso agudo existirá formación de material eosinofílico, homogéneo y amorfo, correspondiente a edema, en algunos casos se puede encontrar enfisema secundario.

En este estudio se evidenció neumonía intersticial de tipo agudo representando al 20% (2/10) de animales afectados, cuyos hallazgos fueron similares a lo anteriormente mencionado. Sin embargo, en ninguno de los animales se evidenció enfisema secundario (Ver figura 25).

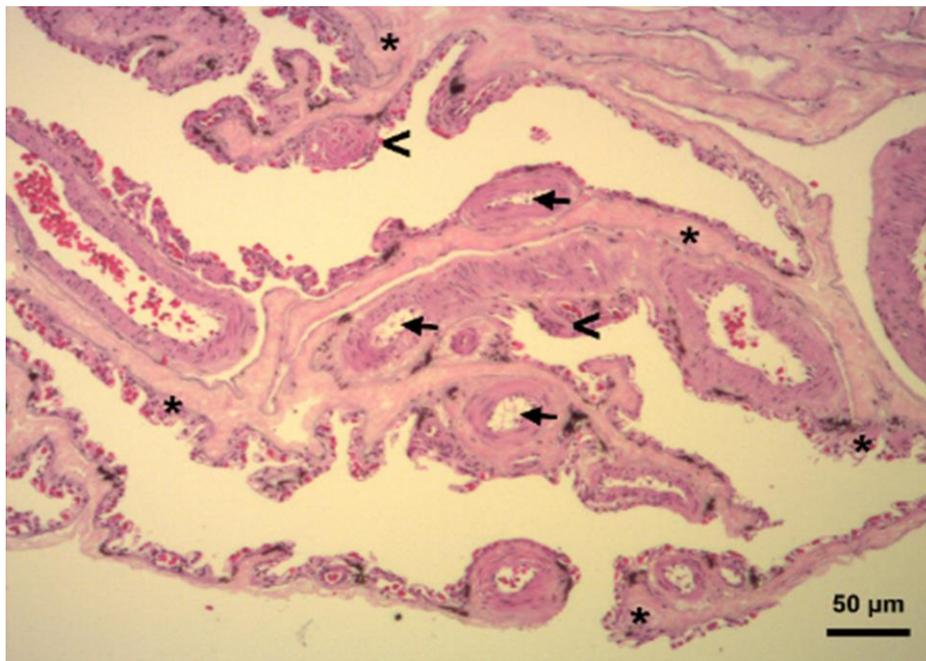


Figura 25: Neumonía intersticial aguda. Hiperplasia focalizada con material eosinofílico homogéneo y amorfo (apariencia hialina), infiltrado inflamatorio de macrófagos y agregados melanomacrófagos de distribución difusa (*). Fluido proteínico eosinofílico acelular focalizado en la luz de bronquiolos (flecha). Focos necróticos (<) y una congestión bronquiolar focalizada. Microfotografía pulmón (H y E). *Gastrotheca litonedis*. 1478-3. 10x.

A medida que la neumonía intersticial avanza, y se convierte en crónica, se identifica fibrosis en paredes alveolares conjuntamente con células inflamatorias mononucleares en intersticio, e hiperplasia en músculo liso (McGavin y Zachary, 2013, p. 513-515).

Esta patología representó el 20% (2/10) de individuos con lesión de este tipo. No obstante, este estudio difiere con lo enunciado, ya que en un animal no se pudo identificar células inflamatorias. Por otro lado, el restante 20% (2/10) correspondió a la misma patología, pero acompañada de hemorragia (Ver figura 26).

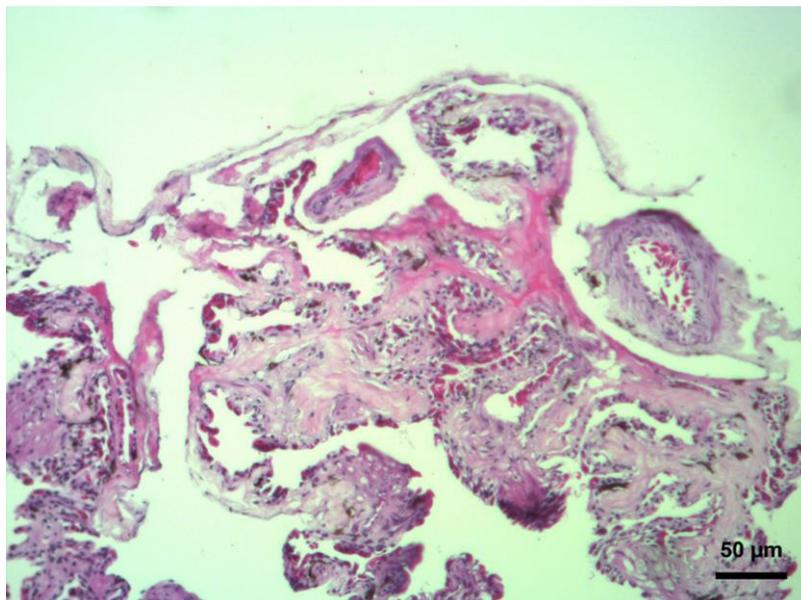


Figura 26: Pneumonia intersticial crónica hemorrágica. Microfotografía pulmón (H y E). *Gastrotheca riobambae*, 1995(2)-2. 10x.

La presentación de hemorragia (Ver figura 27) en este estudio representó el 20% de animales con dicha alteración en pulmón. Como lo indican Trigo (1998, p.51) y Trigo y Elizondo (2004, p. 44), la hemorragia se presenta por sangre extravasada, y puede deberse a hipoxia, septicemias y a fármacos para eutanasia, entre otros. Esto podría verse relacionado con la presentación de otras patologías en los demás órganos, como lo es en piel y corazón directamente.

El edema pulmonar (Ver figura 27) se debe a la presencia de un líquido con bajo contenido celular y de electrolitos; es decir, trasudado. En la microscopía se notará un material rosado o traslúcido, que se encontrará en los espacios alveolares (Trigo y Elizondo, 2004, p. 37). Dicha descripción se asemeja a lo observado en este estudio.

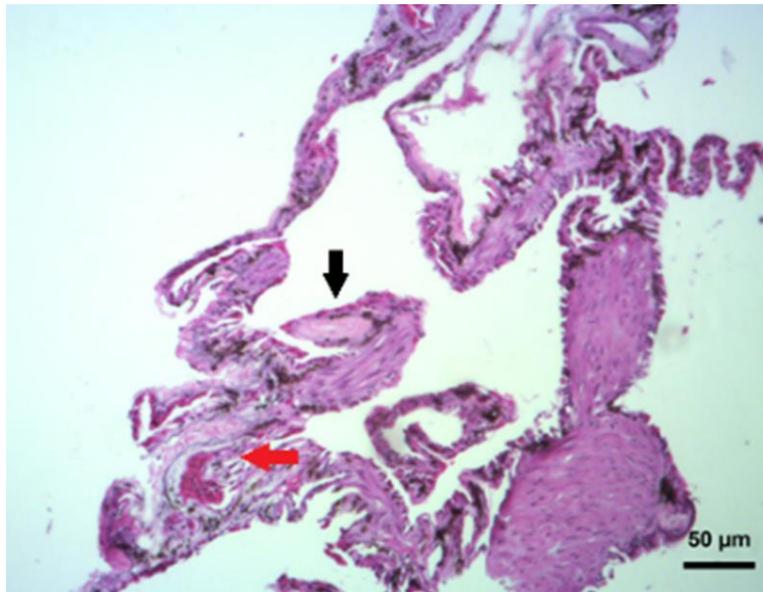


Figura 27: Hemorragia leve y focalizada (flecha roja) y edema pulmonar leve focalizado (flecha negra). Microfotografía pulmón (H y E). *Gastrotheca riobambae*, 1995-1. 10x.

La bronconeumonía supurativa es una patología que comienza en bronquiolos terminales y continúa hacia los alvéolos. Los correspondientes resultados microscópicos que normalmente son identificables son la congestión, infiltrado inflamatorio en bronquiolos y alvéolos, presencia de neutrófilos destrucción de las paredes alveolares y áreas de edema (McGavin y Zachary, 2013, p.513) (Trigo, 1998, p.58). Estas características coinciden con los hallazgos encontrados en esta investigación, representando el 10% de individuos con la lesión de bronconeumonía. En los cuales, se observó congestión de los capilares alveolares generalizado de carácter crónico, material eosinofílico acelular amorfo, y destrucción de las paredes alveolares, con la consecuente formación de enfisema de tipo localizado. Además de áreas de fibrosis, infiltrado inflamatorio mononuclear y detritus celulares (Ver figura 28).

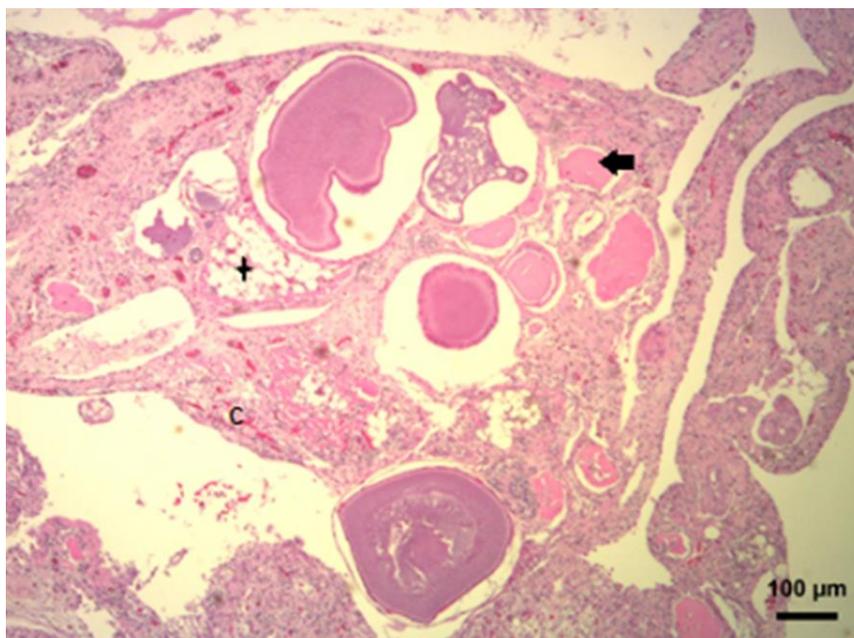


Figura 28: Bronconeumonía supurativa crónica. Exudado purulento (debris celulares) en bronquios, bronquiolos y alveolos con infiltrado mononuclear circunvecino. Difusa hiperplasia de las paredes bronquiales. Edema (flecha) en conjunto con destrucción de sacos alveolares y aumento de tamaño del espacio alveolar por enfisema localizado. Congestión multifocal moderada (c). Microfotografía pulmón (H y E), *Gastrotheca pseustes*, 1467-13. 4x.

Corazón

Se encontró que el 80% de animales presentaban alteración, y el restante 20% no tenía ningún hallazgo. Resultados que se exponen en la tabla 12.

Tabla 12. Resultados de alteraciones encontradas en Corazón.

Alteración	Frecuencia hallazgos	Porcentaje de animales afectados	Identificación
Hemopericardio	3/10	30%	1133, 1467, 1856
Necrosis fibrilar	3/10	30%	1995, 1995(2), 1133(2)
Endocarditis	2/10	20%	2337, 2329
TOTAL	8	80%	

En este estudio se identificó hemopericardio (figura 29) correspondiente al 30% (3/10) de animales con esta alteración. “El hemopericardio se refiere a la acumulación de sangre en el saco pericardico” (Trigo, 1998, p. 8).

Actualmente no existen estudios que mencionen esta patología en anfibios. No obstante, McGavin y Zachary (2013, p. 575), indican que este tipo de patologías en mamíferos produce ruptura atrial; característica que no se encontró en los anfibios muestreados (Ver figura 29).

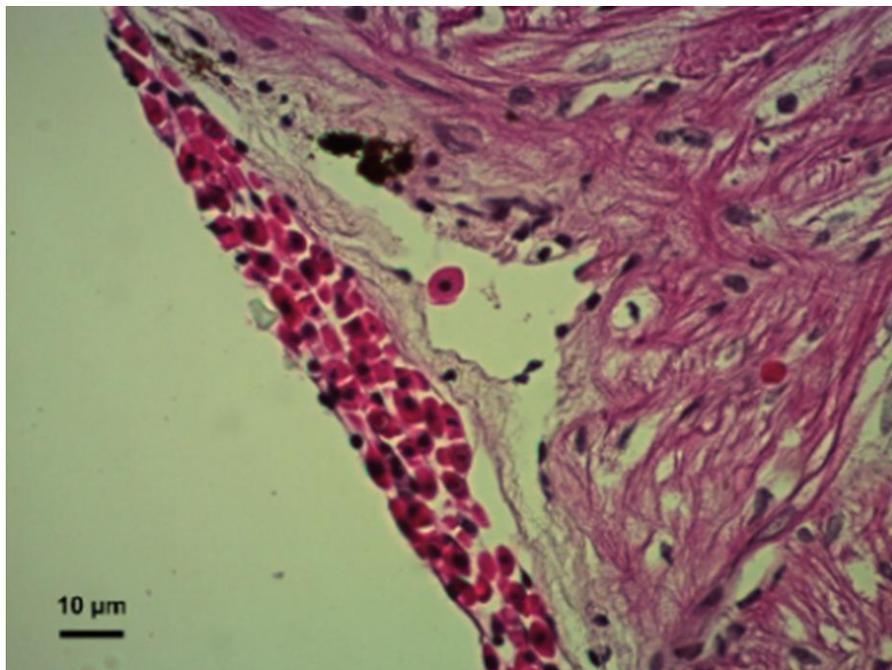


Figura 29: Hemopericardio. Microfotografía de corazón (H y E), *Gastrotheca litonedis*, 1133-3. 40x.

La necrosis fibrilar (Ver figura 30) identificado en este estudio correspondió al 30% del total de alteraciones en corazón. Como lo indican Hills, Wyse y Anderson (2006, p.750), el miocardio de un anfibio al igual que en un mamífero utiliza el total de oxígeno de la sangre que circula por los capilares cardíacos, que previamente se habrán oxigenado cuando recibió O_2 transportado desde las venas cutáneas. Sin embargo, este mecanismo lo hace vulnerable a la

hipoxia sistémica, en el cual, cualquier patología que altere la circulación ocasionaría daño en órganos circunvecinos, como por ejemplo: una mala circulación cutánea podría producir focos de necrosis en el músculo cardíaco (Cheville, 1994, p. 27) tal y como se apreció en este estudio.

El restante 20% de alteraciones correspondió a endocarditis valvular. En la que también se notó la presencia leve a moderada de tejido conectivo fibroso organizado y en él, colonias embebidas por un infiltrado leucocitario monocítico en uno de los animales. Además, se observó una hemorragia en el ventrículo de carácter leve y localizado (Ver figura 31). Este último hallazgo coincidió con el diagnóstico morfológico macroscópico de hemorragia. Por otro lado, como indican Wright y Withaker (2001, p. 452) infecciones bacterianas septicémicas, pueden ocasionar pericarditis y miocarditis, pero enfermedades bacterianas que produzcan enfermedad valvular no se han registrado en anfibios.

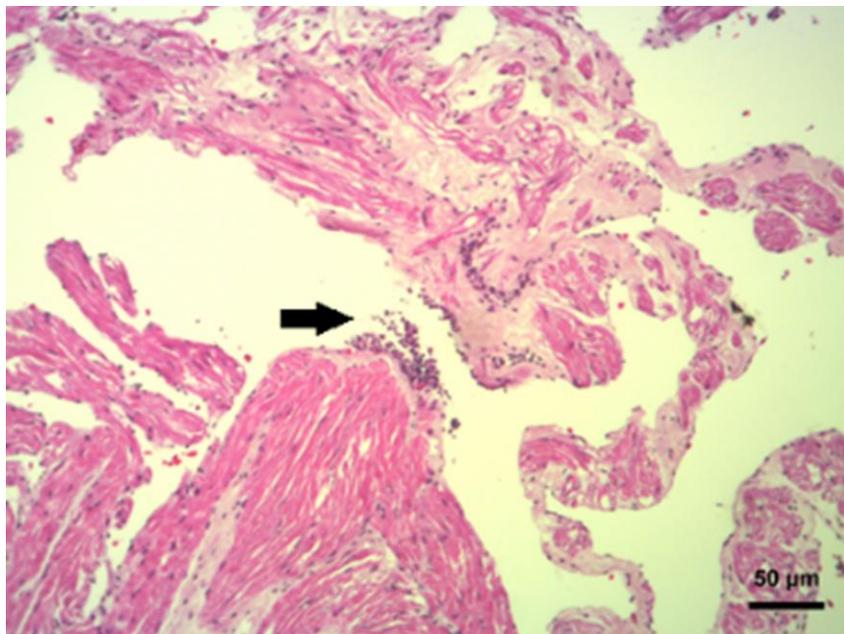


Figura 30: Necrosis fibrilar cardíaca. Infiltrado inflamatorio mononuclear (flecha). Microfotografía corazón-aurícula (H y E), *Gastrotheca litonedis*, 1133(2)-4. 10X.

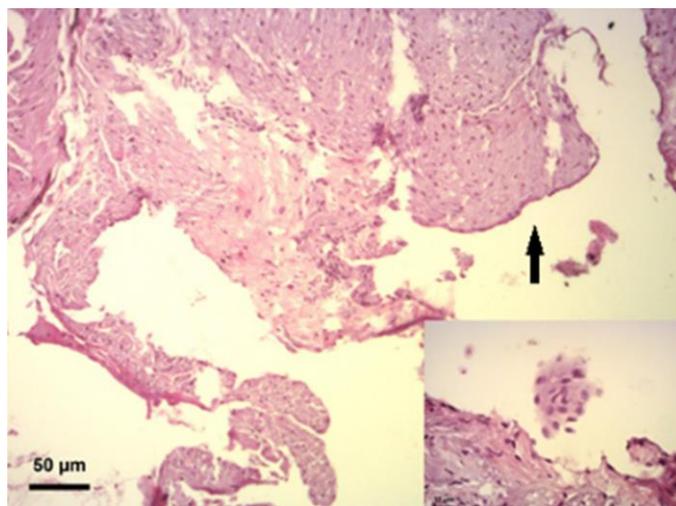


Figura 31: Endocarditis valvular vegetativa (flecha), acompañado de un foco de infiltrado leucocitario monocítico (recuadro): Microfotografía corazón (H y E), *Gastrotheca riobambae*, 2337-1. Recuadro. 40x.

Hígado

Toda la población presentó alteraciones. Resultados que se encuentran en la tabla 13.

Tabla 13. Principales alteraciones encontradas en hígado

Alteración	Frecuencia de hallazgos	Porcentaje de animales afectados	Identificación
Lipidosis hepática	6	60%	2337, 1995, 1995(2), 1133, 1478, 1133(2)
Congestión	3	30%	1467, 2329, 1856
Fibrosis	1	10%	3087
Total	10	100%	

El estudio histológico en hígado de anfibios como lo indican Wright y Whitaker (2001, pp. 438-439) es complejo debido a dos factores, en primer lugar, la presencia de hematolinfopoyesis extramedular en sinusoides y regiones subescapulares; que podría confundirse con hepatitis y segundo, por la gran

cantidad de agregados de melano macrófagos, que puede conferir al hígado un color negro, que en principio, durante el análisis macroscópico de este trabajo se pudo confundir con el diagnóstico de congestión.

Durante el análisis microscópico del presente trabajo, se encontró que el 30% (3/10) de animales presentaron congestión. Según Trigo y Elizondo (2004, p.33), a la histología se observa como las venas centrolobulillares y los sinusoides adyacentes se encuentran dilatados, conteniendo células hemáticas.

Los resultados de este estudio guardan similares hallazgos. No obstante, se pudo distinguir una congestión más severa acompañada por una fibrosis difusa leve (Ver figura 32). En donde, se encontró áreas con necrosis focales en conjunto con un infiltrado mononuclear y presencia notable de abundantes melano macrófagos con contenido fagocitado (hemosiderina) resultante de la lisis hemática derivada de la congestión crónica. Por otra parte, se evidenció la presencia leve de heterófilos (neutrófilos) y lipidosis de hepatocitos periportal leve. En la figura 33 se distingue una fibrosis difusa moderada acompañada de áreas de necrosis, y melano macrófagos en leve cantidad.

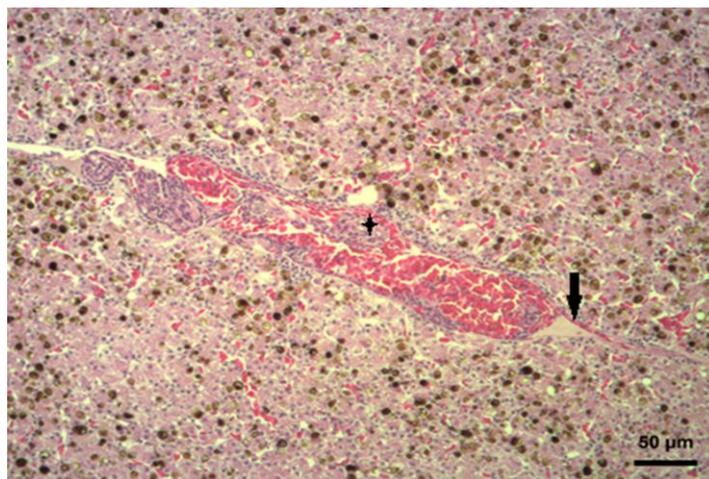


Figura 32: Congestión pasiva crónica. Fibrosis (flecha). Necrosis focal con infiltrado inflamatorio focal (estrella). Microfotografía hígado (H y E), *Gastrotheca pseustes*, 1467-1.10x.

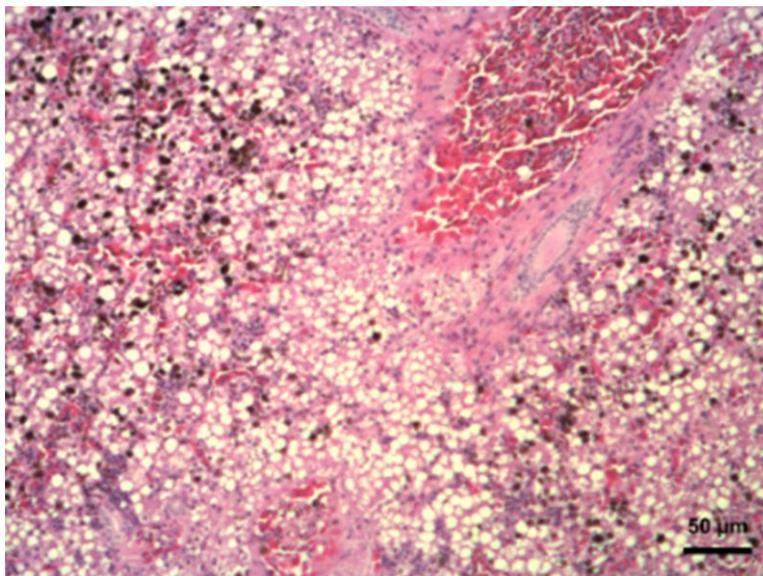


Figura 33: Congestión hepática moderada generalizada en conjunto con una degeneración grasa focalizada severa. Microfotografía hígado (H y E), *Gastrotheca pseustes*, 1856-6. 10x.

Como lo indican Trigo y Elizondo (2004, p. 87-88), en la lipidosis hepática se pueden distinguir dos formas de presentación dependiendo de cuán avanzado se encuentre este proceso. Se pueden encontrar dos menciones; una de gota fina, es decir, pequeñas vacuolas en el citoplasma celular, y a medida que avanza la enfermedad se puede notar como las vacuolas desplazan al núcleo; fenómeno conocido como lipidosis de gota gruesa.

Los resultados de este estudio correspondieron al 60% (6/10) de animales enfermos con lipidosis hepática de gota gruesa (Ver figura 34). Estos hallazgos en comparación con lo descrito por Wright y Whitaker, en el año 2001 (p.447) indican que ello se debe a la presentación de una hipoxia crónica, la cual solo se ha observado en especímenes esplenectomizados.

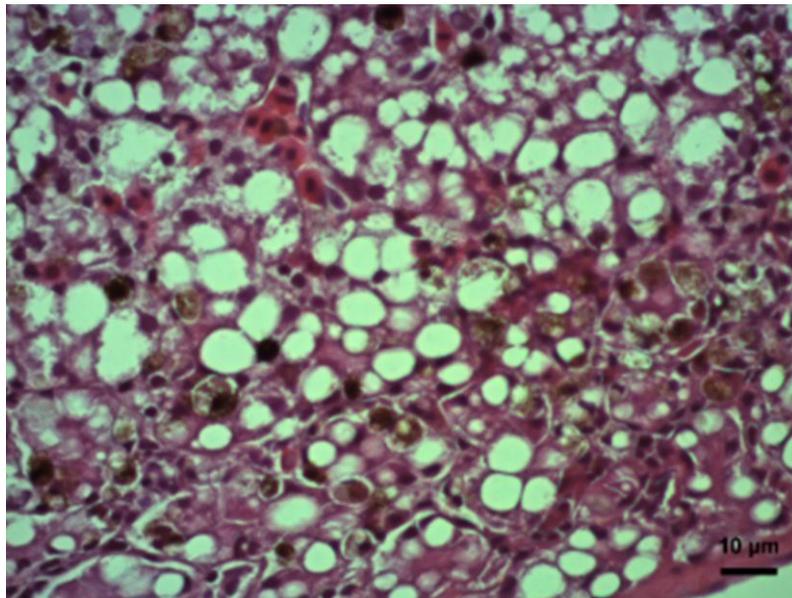


Figura 34: Lipidosis: Microfotografía hígado (H y E), *Gastrotheca litonedis*, 1133-13. 40x. F

Una de las manifestaciones más comunes cuando se habla de daño hepático crónico es la fibrosis (Ver figura 35), siendo el sitio de fibrosis el que podría determinar el tipo de daño hepático (McGavin y Zachary, 2013, p. 409). Manteniendo relación con los hallazgos macroscópicos en este mismo individuo se estableció necrosis, como diagnóstico morfológico, el cual se denominó de dicha manera por la apariencia que tenía el parénquima hepático. La secuencia de este hallazgo microscópico se puede explicar según lo enunciado por Trigo y Elizondo (2004, p. 33), que explican que la presencia de una congestión crónica afectará la integridad celular de los hepatocitos centrolobulillares, produciéndoles necrosis y posterior fibrosis en un intento de sustituir las células destruidas por tejido conectivo.

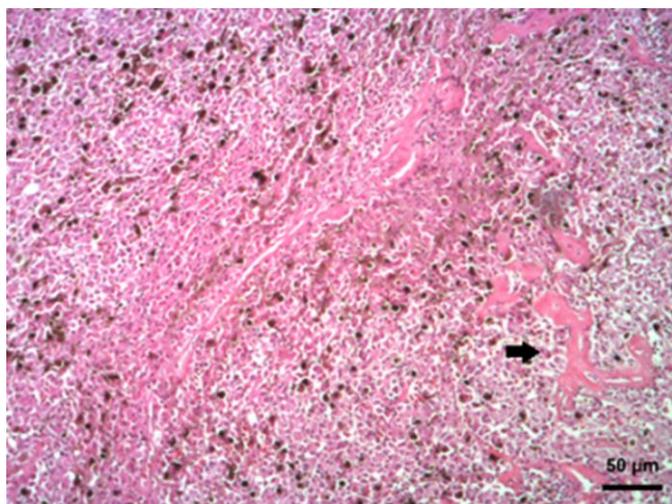


Figura 35: Fibrosis hepática. Zonas eosinofílicas dentro del tejido hepático de manera focalizada y crónica compatible con fibrina. Microfotografía de hígado (H y E). *Gastrotheca rimbambae*. 3087-1. 10x.

Piel

De los diez animales que representa el 100%, solo el 90% (9/10) de animales presentaron alteraciones, en el restante 10% (1/10) no se encontró nada. Mismos que se explican en la tabla 14.

Tabla 14. Resultados de alteraciones encontradas en piel.

Alteración	Frecuencia de hallazgos	Porcentaje de animales afectados	Identificación
Congestión	3/10	30%	1467, 2337, 3087
Hiperplasia	5/10	50%	1995(2), 1995, 1133, 1478, 1856
Hiperplasia e hiperqueratosis	1/10	10%	1133(2)
TOTAL	9/10	90%	

Dentro de los hallazgos macroscópicos se reportó que el 30% de animales presentaron congestión, de la misma manera el porcentaje en hallazgos microscópicos fue igual al 30% (3/10) de individuos con la lesión. Como lo

indican Ciri3n y Herrera (2005, p. 128) las zonas congestionadas se ver3n dilatadas y con presencia de eritrocitos (Ver figura 36 y 37)

Con anterioridad en hallazgos macrosc3picos se infiri3 que por las manifestaciones cl3nicas, se pudo haber tratado de alguna enfermedad bacteriana. Sin embargo, en los resultados microsc3picos no se observ3 presencia de formas bacterianas en piel.

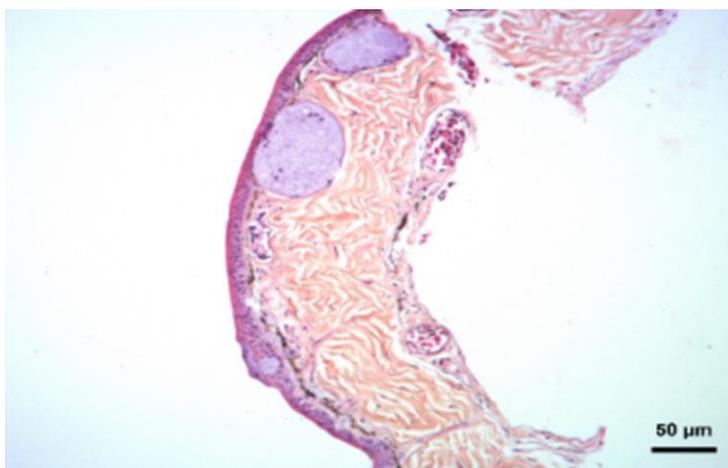


Figura 36: Congestión moderada focal de carácter agudo en vasos dérmicos. Microfotografía piel (H y E). *Gastrotheca riobambae*, 2337-4. 10X.

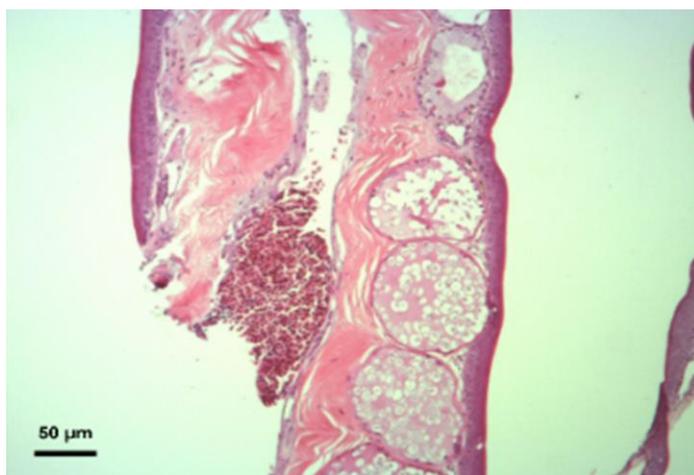


Figura 37: Congestión focalizada severa. Microfotografía piel (H y E). *Gastrotheca riobambae*, 3087-7. 10x.

La presentación de hiperplasia e hiperqueratosis epidermal en anfibios es común cuando se trata de Quitridiomicosis, causado por el hongo *Batrachomyxium dendrobatidis* (Pessier, 2009). Similar hallazgo se identificó en este estudio, representando el 10% (1/10) de animales con alteración de hiperplasia e hiperqueratosis, con la conjunta identificación de un zoosporangio (Ver figura 38). Pessier (2009) indica que un hallazgo como este, ayuda a esclarecer la etiología del síndrome de edema, puesto que estas lesiones en la piel influirían en la función dérmica, impidiendo una adecuada absorción de agua y electrolitos.

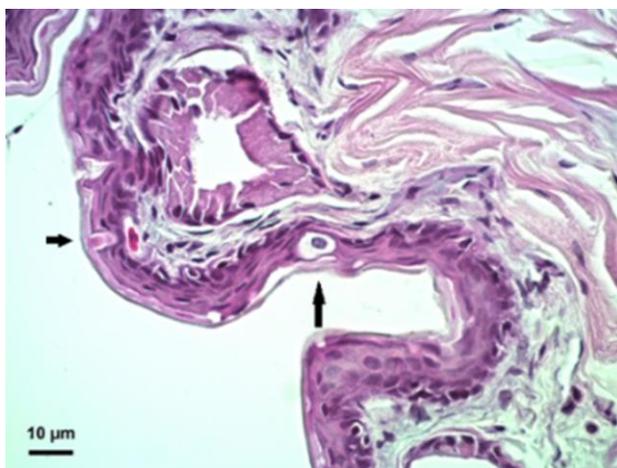


Figura 38: Hiperplasia epidérmica e hiperqueratosis difusa. Zoosporangio de *Batracoquitridium dendrobatidis* (flechas). Microfotografía piel (H y E), *Gastrotheca litonedis*, 1133(2)-15. 40x.

El otro 50% (5/10) de animales con lesiones, presentó hiperplasia epidérmica difusa. Sin embargo, de ese 50%, en un 10% se encontró hiperplasia dermal difusa con presencia de un parásito que se asemeja a un protozooario flagelado del género *Ichthyoboda* acompañados de reacción eosinofílica inflamatoria y conjuntamente agregado de melano macrófagos (Ver figura 39). Wright y Whitaker (2001, p.199), indican que la presencia de estos organismos provoca

la destrucción de células epidermales; hemodilución, falla en la circulación y osmoregularidad.

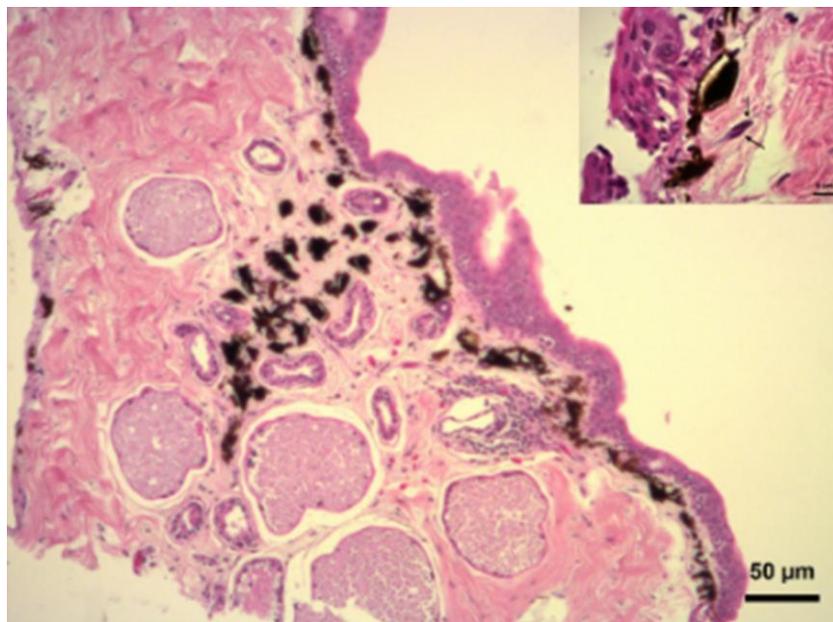


Figura 39: Hiperplasia dérmica difusa parasitaria de moderada a severa. Agregados de melano macrófagos reactivos. Protozoarios flagelados del género *Ichthyoboda* (recuadro, flechas). Microfotografía piel (H y E). *Gastrotheca litonedis*.1478-12. 4x – 100x (recuadro).

Bazo

El 70% (7/10) de los animales presentaron alteraciones. El 30% restante no presentó ningún hallazgo. Resultados expuestos en la tabla 15.

Tabla 15. Principales alteraciones encontradas en bazo.

Alteración	Frecuencia de hallazgos	Porcentaje de animales afectados	Identificación
Hiperplasia capsular	2/10	20%	1478, 1467
Depleción linfoide	2/10	20%	1133(2), 1133
Fibrina	1/10	10%	1995
Congestión	1/10	10%	1995(2)
Contracción esplénica	1/10	10%	2329
TOTAL	7/10	70%	

Se encontró hiperplasia capsular que correspondió al 20% (2/10) de animales con esta alteración. La forma de presentación de esta fue difusa y guarda una relación con la lesión en hígado encontrada en el mismo animal, en el cual se logró identificar una fibrosis hepática (*Gastrotheca pseustes*-1467).

Como lo indican Trigo y Elizondo (2004, p.331) la hiperplasia compensatoria, sucede cuando ha habido extirpación de un área del hígado, produciendo zonas de regeneración en el tejido hepático.

También se observó hemosiderina en el bazo, el cual obedece a un hallazgo normal. Según Cheville (1994, p. 126), este es un pigmento que se forma por la lisis de los eritrocitos correspondiente a procesos normales en bazo (Ver figura 40).

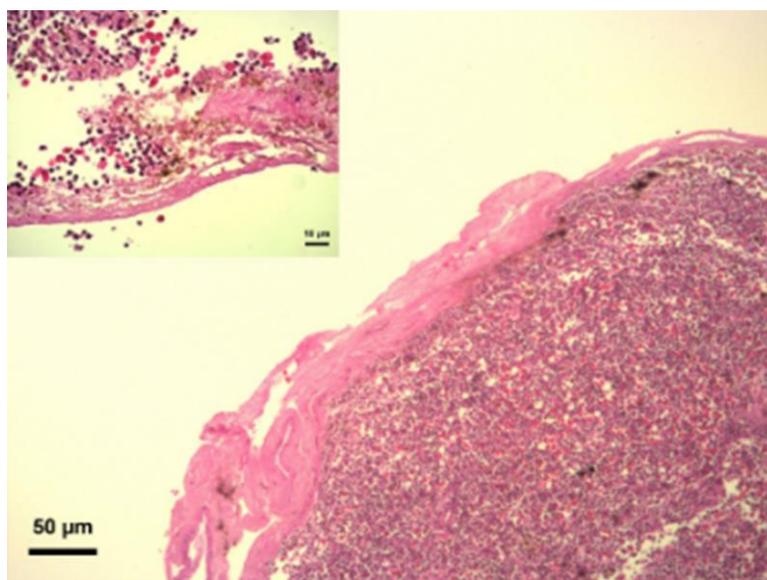


Figura 40: Hiperplasia capsular – hemosiderina: Microfotografías bazo (H y E). *Gastrotheca litonedis*. 1478-1. Incremento del tejido conectivo generalizado, en el recuadro se nota la presencia focal de material amarillento (hemosiderina) probablemente por hemorragia capsular y consecuentes lisis de glóbulos rojos. 10x. Recuadro: 40x.

La depleción linfoide (Ver figura 41) es una alteración encontrada en este estudio que representó el 20% (2/10) de individuos afectados. Esta se manifiesta, cuando se evidencia microscópicamente más pulpa roja que blanca y una marcada esplenomegalia apreciable macroscópicamente (Cubillos y Paredes, 2006).

De acuerdo a los hallazgos realizados en este trabajo durante la necropsia, se diría que lo anteriormente descrito tiene semejanza con el hallazgo macroscópico encontrado en el mismo animal que se describe depleción linfoide.

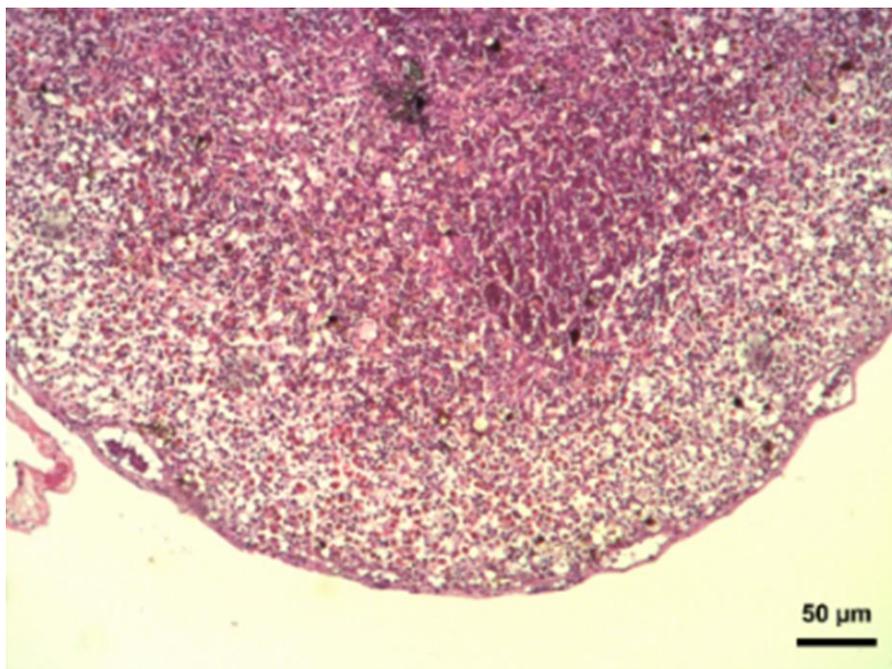


Figura 41: Depleción linfoide. Microfotografía de bazo (H y E), *Gastrotheca litonedis*, 1133-2. 10X.

La presentación de congestión en este estudio correspondió al 10% de presentación; el mismo que se caracteriza por ser de carácter severo. Según Trigo (1998, p. 375), esto se produce cuando existe un secuestro de glóbulos rojos, en la pulpa roja, por anemia hemolítica o cuando existe hipertensión secundaria a una fibrosis hepática (Ver figura 42).

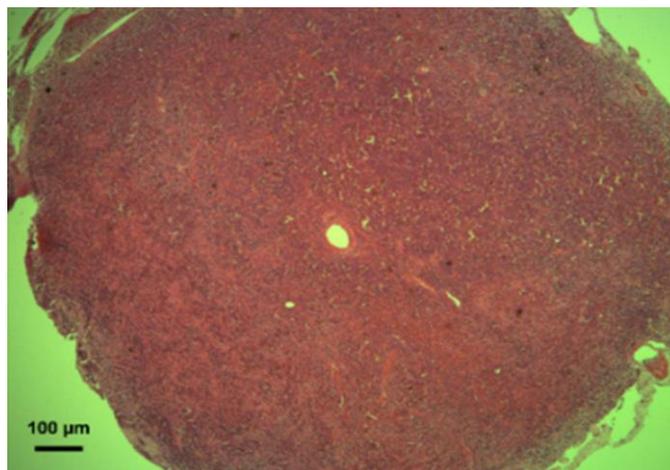


Figura 42: Congestión esplénica. Microfotografía bazo (H yE). *Gastrotheca riobambae*, 1995(2)-2. 4x.

La organización de fibrina representó el 10% (1/10) de animales afectados, el cual se debió de lesiones de tipo crónico. Como lo indica Cheville (1994, p. 91) es una alteración que formación de fibrina en la serosa esplénica. Esta descripción mantiene una relación con las características mencionadas anteriormente. Por otro lado, también se observa disminución de fibras elásticas y fibroblastos. La cual se va continuando dentro del parénquima afectando las trabéculas esplénicas (Ver figura 43).

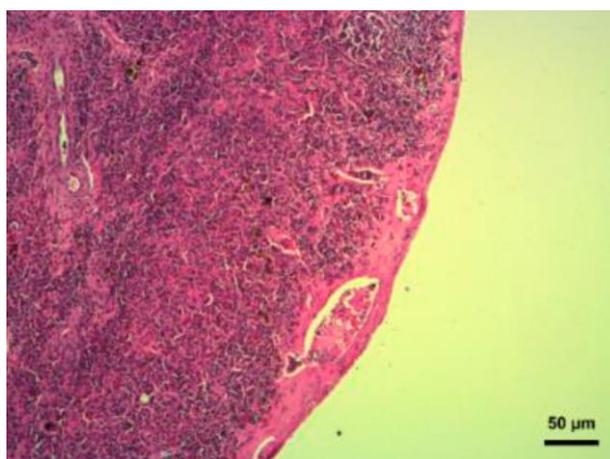


Figura 43: Fibrina esplénica. Microfotografía bazo (H y E). *Gastrotheca riobambae*, 1995-1. 10x.

La contracción esplénica (Ver figura 44) representando el 10% de animales afectados se manifestó con la contracción del músculo liso de la cápsula y trabéculas. Que probablemente tuvo lugar a una respuesta fisiológica de huida en casos de estrés. Algo que puede ser común en anfibios, puesto que, son animales nerviosos y que reaccionan ante la presencia de algún agente extraño. También la aparición de esta alteración se ve dada por falla cardíaca, shock séptico o como resultado de ruptura esplénica tipo agudo (McGavin y Zachary, 2013, p. 820).

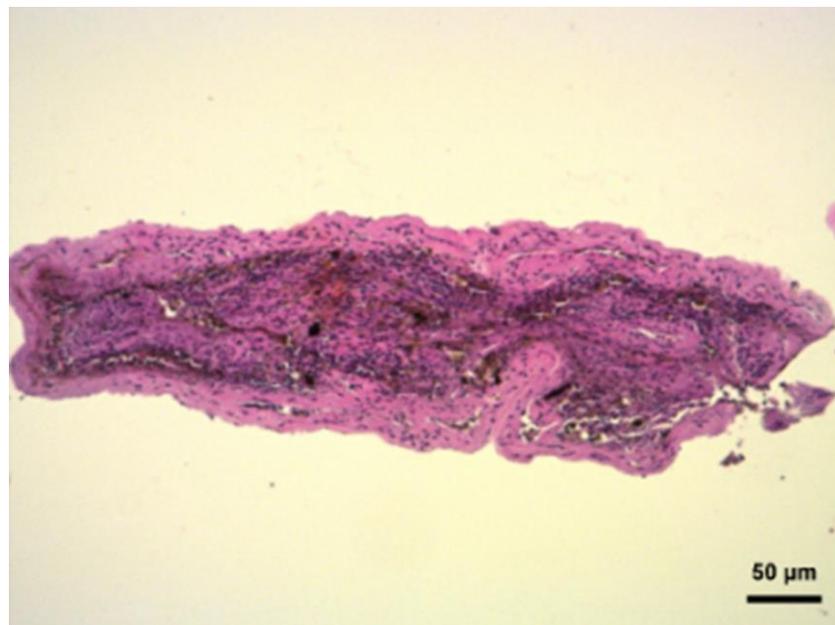


Figura 14: Contracción esplénica – hemosiderosis. Microfotografía bazo (H y E). *Gastrotheca pseustes*, 2329-1.10x.

Riñón

Los resultados de este estudio arrojaron que 70% de animales presentaron algún tipo de alteración, y el restante 30% no se encontró nada en el estudio microscópico. Mismos resultados que se encuentran en la tabla 16.

Tabla 16. Alteraciones presentes en riñón

Alteración	Frecuencia hallazgos	Porcentaje de animales afectados	Identificación
Nefritis intersticial crónica	2/10	20%	1995(2), 1133(2)
Necrosis tubular aguda	1/10	10%	1995
Glomerulonefritis intersticial hemorrágica crónica	1/10	10%	2337
Quiste renal	1/10	10%	1467
Amiloidosis	1/10	10%	1478
Hidronefrosis	1/10	10%	2329
TOTAL	7/10	70%	

La nefritis intersticial crónica (Ver figura 45 y 46) en anfibios no se ha descrito a detalle. Pessier et al., (2014) indican que la manifestación de esta patología puede encontrarse en animales de cautiverio, que se hayan encontrado muertos, mismos que fueron diagnosticados con nefropatía poliquística mediante histopatología. También esta lesión se puede encontrar en animales con enfermedades bacterianas, virales y parasitarias; siendo esta última la más común (Cecil, 2006). La presentación de esta enfermedad representó el 20% (2/10) de animales con dicha lesión.

Los parámetros que se tomaron en cuenta para identificar esta patología, fueron los mismos que se consideran en mamíferos. En procesos agudos, infiltración leucocitaria, necrosis tubular y edema intersticial como los hallazgos más característicos. En tanto que en procesos crónicos están la infiltración de células mononucleares, fibrosis intersticial y atrofia tubular generalizada (Trigo, 1998, p.145). El restante 20% (2/10) de animales correspondió a nefritis intersticial crónica. En la cual, se identificaron zonas de necrosis glomerular y una evidente dilatación acompañada de fibrosis (figura 45), lo cual podría indicar una fase de transición entre un proceso a otro. En otro animal correspondiente al 10% del 20% se encontró un infiltrado inflamatorio linfocítico severo, atrofia tubular, glomérulos hiper celulares y abundante fibrosis periglomerular rodeando estos glomérulos, caracterizado por ser moderado y de carácter multifocal. (Ver figura 46).

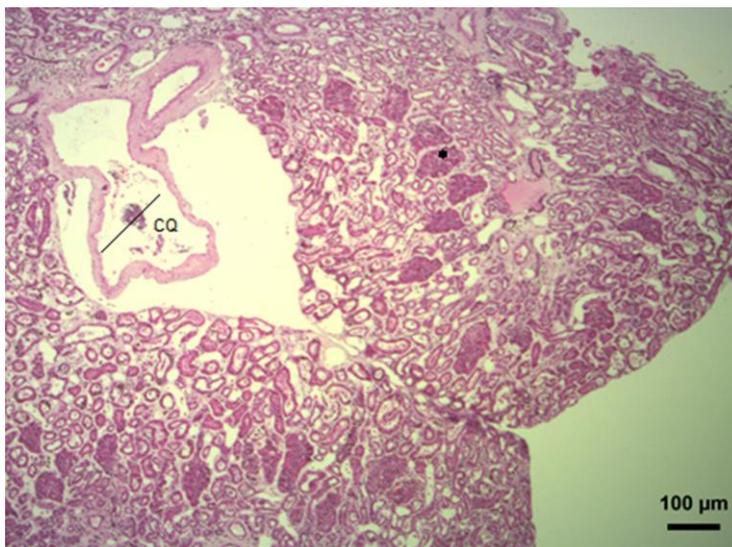


Figura 45: Nefritis intersticial crónica. Fibrosis (CQ). Se encontró Infiltrado inflamatorio mononuclear y necrosis glomerular (punto). Microfotografía riñón (H y E), *Gastrotheca litonedis*, 1133(2)-7. 4x.

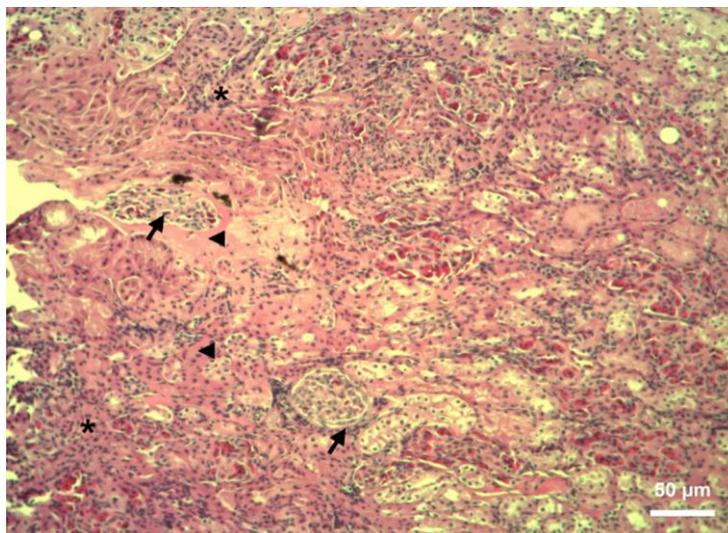


Figura 46: Nefritis intersticial crónica. Intensa fibrosis intersticial difusa (cabeza de flechas). Infiltrado linfocítico severo en el parénquima renal (*). Túbulo atrófico. A nivel del glomérulo se evidenció pérdida de la luz entre la cápsula y el glomérulo. Fibrosis periglomerular rodeando estos glomérulos hiper celulares (flechas) con un intenso infiltrado inflamatorio mononuclear multifocal. Microfotografía riñón (H y E). *Gastrotheca riobambae*, 1995(2)-3. 10x.

El porcentaje de animales afectados por necrosis tubular aguda en este estudio representó el 10% (Ver figura 47). Las lesiones de este tipo se caracterizaron por la presencia de necrosis de coagulación focalizadas en las células epiteliales de túbulos colectores, degenerados y circunvecinos a áreas de hemorragias periglomerulares. También se identificó infiltrado inflamatorio mononuclear de carácter leve, degeneración hidrópica y zonas de agrandamiento del glomérulo. Dichos resultados concordaron con lo descrito por Mitchel, Kumar, Abbas y Fausto (2007, p.562) y McGavin y Zachary (2013, p. 645), en donde las distintas presentaciones microscópicas influyen en el diagnóstico final. Las causas más comunes en animales domésticos y que guardan similitud con anfibios podrían ser: congestión, falla cardíaca, hemorragia y sepsis.

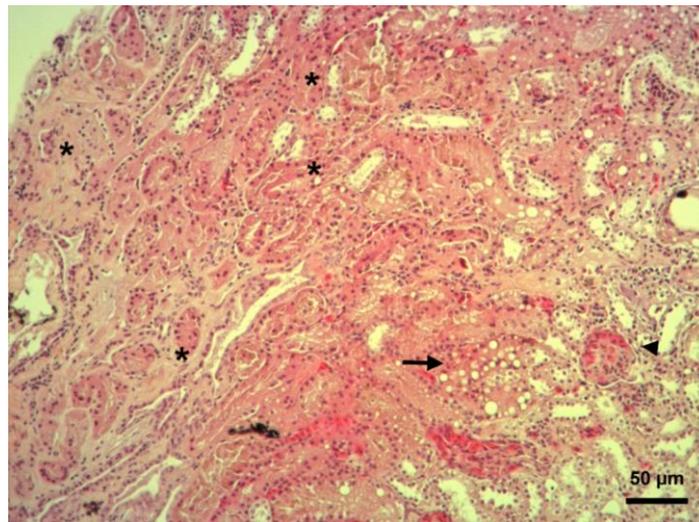


Figura 47: Necrosis hemorrágica tubular aguda. Áreas de necrosis de coagulación focalizadas en las células epiteliales de los túbulos colectores de la corteza (*). Lesiones acompañadas de un infiltrado inflamatorio mononuclear y degeneración hidrópica (flecha). A nivel glomerular se observó un leve y focalizada glomerulonefritis proliferativa (cabeza de flecha). Microfotografía riñón (H y E). *Gastrotheca riobambae*, 1995. 10x.

La amiloidosis renal como lo explica Cheville (1994, p. 145 y 150) en especies como mamíferos, suele ser mortal. Histológicamente se encuentra material

amiloide depositado en: el glomérulo renal, en arteriolas de menor calibre y en membranas basales. Esto difiere con los hallazgos encontrados en los animales muestreados representando el 10% (1/10). Puesto que, la lesión se encontró con mayor frecuencia en el intersticio medular y en menor frecuencia en glomérulos. Según indica Cheville (1994, p. 150) en algunos casos se pueden identificar focos de necrosis, resultado que compagina con lo identificado en la figura 48.

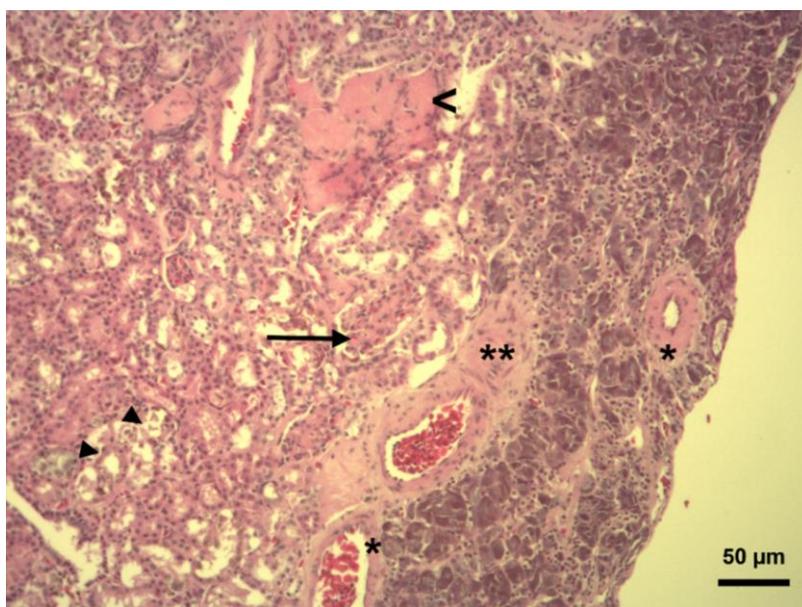


Figura 48: Amiloidosis. Se observa acúmulo de depósitos de material amiloide en el intersticio medular (**) y en algunos glomérulos (flecha). Atrofia o degeneración tubular (cabezas de flecha) y se notó dos áreas eosinofílicas compatibles con necrosis (<), también se observan algunos eosinófilos. Microfotografía riñón (H y E). *Gastrotheca litonedis*.1478-5. 10x.

Estudios realizados en anfibios de cautiverio indican que la patología de sistema urinario de mayor frecuencia es la glomerulonefritis. Y se ha visto presente en animales con exposición a una reacción antígeno-anticuerpo y a procesos de hiperglucemia asociado con estrés (Pessier, 2009). Vannevel (2006) indica que la presentación de animales con hidrocéloma o anasarca se presenta de manera secundaria en animales diagnosticados con glomerulonefritis. Este estudio coincide con los hallazgos de este estudio

representando el 10% (1/10). El cual está caracterizado por fibrosis intersticial y hemorrágica corticomédular, acompañado de un infiltrado linfocítico difuso de carácter moderado a severo, además de glomérulos escleróticos con pérdida del espacio de Bowman (cápsula y glomérulo) e hiperplasia leve de la matriz mesangial (Ver figura 49).

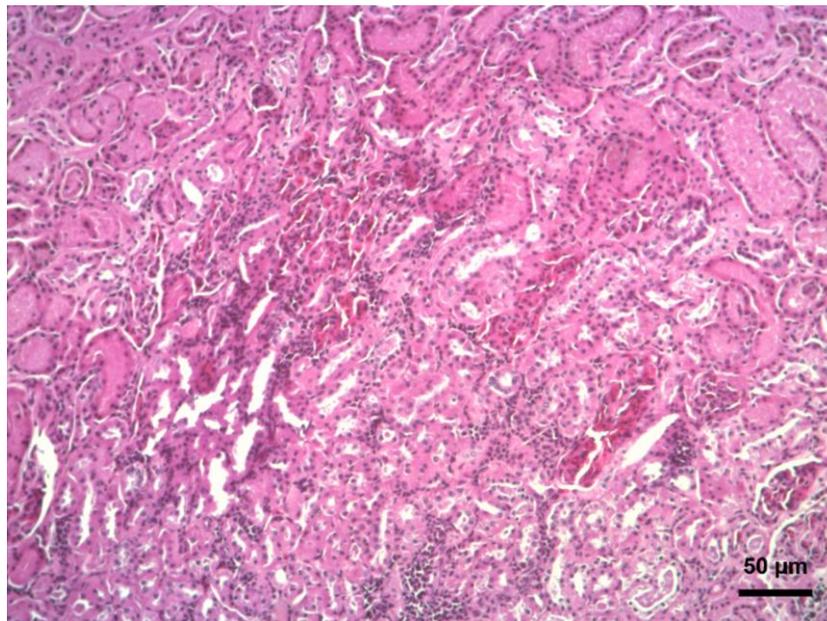


Figura 49: Glomerulonefritis intersticial hemorrágica crónica. Microfotografía riñón (H y E), *Gastrotheca riobambae*, 2337-6. 10X.

La hidronefrosis es una patología obstructiva, en la cual, poco a poco se van degenerando todas las estructuras que componen el riñón. Como cambios tempranos se puede observar obstrucción vascular intersticial, y a medida que el cuadro avanza se podrá apreciar necrosis de la cortical, degeneración tubular, entre otras (McGavin y Zachary, 2013, p. 667). Esto tiene similar relación con lo que se encontró en el presente estudio, que representó el 10% de individuos afectados con esta alteración. Las principales alteraciones encontradas fueron: degeneración y atrofia de túbulos. Concomitante con la lesión descrita, se observó condensación de tejido conectivo intersticial y

fibrosis del parénquima renal, además de focos hemorrágicos, alteraciones que se notaran con más detalle en la figura 50. Este hallazgo, no se ha reportado en anteriores estudios practicados en anfibios. Sin embargo, guarda relación con lo descrito en otras especies como los mamíferos.

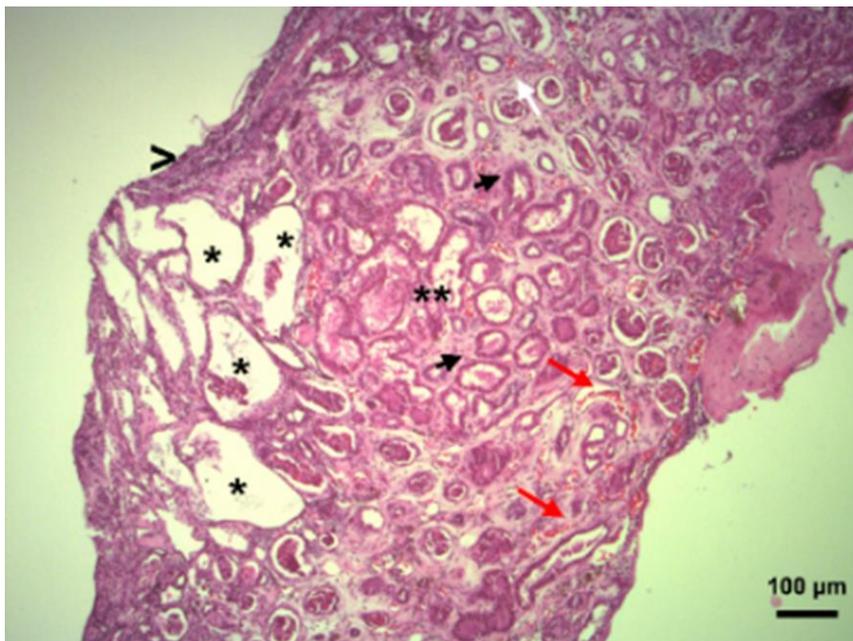


Figura 50: Hidronefrosis crónica. Dilatación progresiva de corteza a médula (*), con consecuente pérdida de túbulos por degeneración y atrofia (**). Condensación de tejido conectivo intersticial y fibrosis del parénquima renal (flecha negra). Focos hemorrágicos en túbulos multifocal moderada (flecha roja). La fibrosis intersticial entre los glomérulos y los túbulos fue difusa crónica con infiltrado inflamatorio mononuclear presencia de clústers de restos celulares, posiblemente de origen bacteriano (>). Microfotografía riñón. *Gastrotheca pseustes*, 2329-15. 4x.

Los quistes renales (Ver figura 51) que representaron el 10% de hallazgos en este estudio, se lo considera como formaciones de tamaño variable, de carácter desconocido incluso en humanos y mamíferos. Cuyas estructuras mayormente afectadas corresponden a túbulos renales (McGavin y Zachary, 2013, p. 627).

Estudios recientes en anuros de cautiverio identifican la presencia de quistes renales, conjuntamente con nefritis intersticial y fibrosis intersticial; patología que se denomina nefropatía poliquística. Sin embargo, este estudio solo

mantiene similaridad con respecto a la presencia de un quiste renal (Pessier et al., 2014).

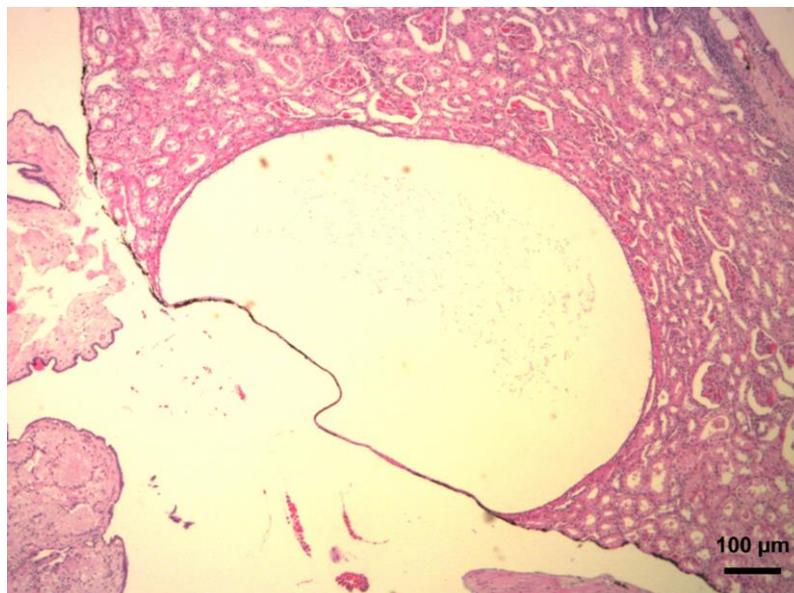


Figura 51: Quiste renal. Microfotografía riñón (H y E). *Gastrotheca pseustes*. 1467-14. 4x.

Órganos reproductores

El porcentaje de animales encontrados con patología reproductiva equivale al 40%, en los cuales el 20% representan a hembras que tienen alteración en ovario y oviducto. El 60% restante no registró alteración alguna. Los resultados de las alteraciones encontradas se presentan en la tabla 17.

Tabla 17. Principales alteraciones encontradas en órganos reproductores

Alteración	Frecuencia hallazgos	Porcentaje de animales afectados	Identificación
Hidrosalpingitis quística	2/10	20%	2337, 1467
Degeneración testicular	2/10	20%	2329, 1856
Hemorragia ovárica	1/10	10%	2337
Quiste ovárico	1/10	10%	1467
TOTAL	6/10	60%	

Las patologías reproductivas en anfibios no son del todo registradas. Puesto que a menudo el inadecuado manejo puede inducir a cambios reproductivos en estas especies. Una de las principales patologías registradas, son los quistes ováricos que en este estudio indicó el 10% de animales afectados. Esta patología obedece a la formación de adherencias acompañada de fibrosis, y dilatación quística (Wright y Whitaker, 2001, p. 297). En comparación a lo mencionado, los hallazgos pertenecen a un ovario multiquístico, con pérdida de la conformación normal de los oocitos, y de sus estructuras correspondientes (Ver figura 52).

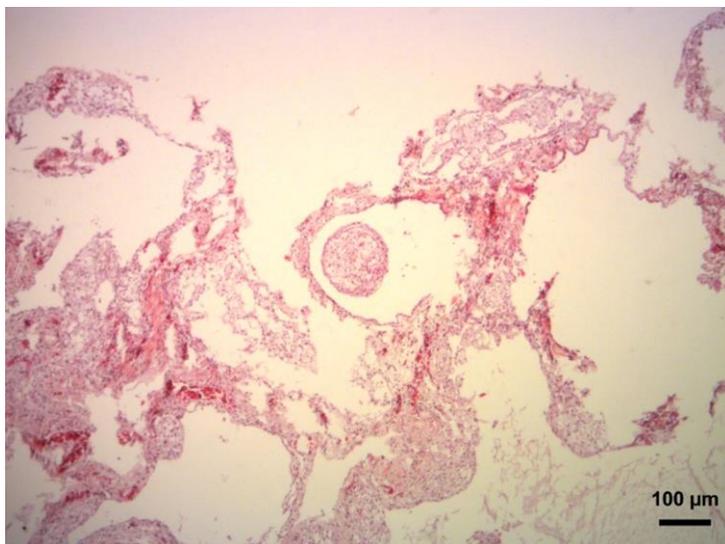


Figura 52: Ovario multiquístico. Hemorragia e infiltrado inflamatorio. Acompañado de áreas de fibrosis. Microfotografía ovario (H y E). *Gastrotheca pseustes*, 1467-13. 4x.

La hidrosalpingitis representó el 20% (2/10) de animales afectados. Histológicamente se pueden ver como se encuentran dilatadas las células glandulares, ocupando mayor espacio el citoplasma y desplazando al núcleo (Trigo y Elizondo, 2004, p 86). A medida que el proceso inflamatorio avance se podrá visualizar áreas quísticas (Trigo, 1998, p.170) (Ver figura 53 y 54).

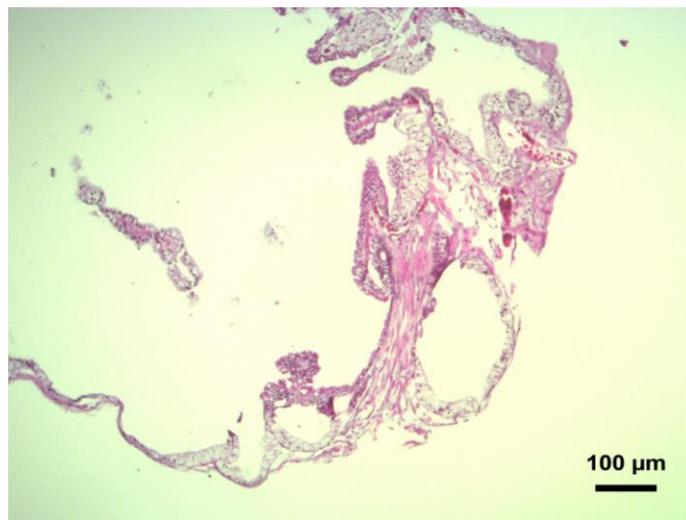


Figura 53: Hidrosalpingitis quística fibrosa. Se ven quistes en la mucosa tubular, con distensión uniforme de la luz del órgano, con la pared delgada. Además se notó fibrosis de tejido conectivo e infiltrado mononuclear. Microfotografía oviducto (H y E), *Gastrotheca riobambae*, 2337-3. 4x.

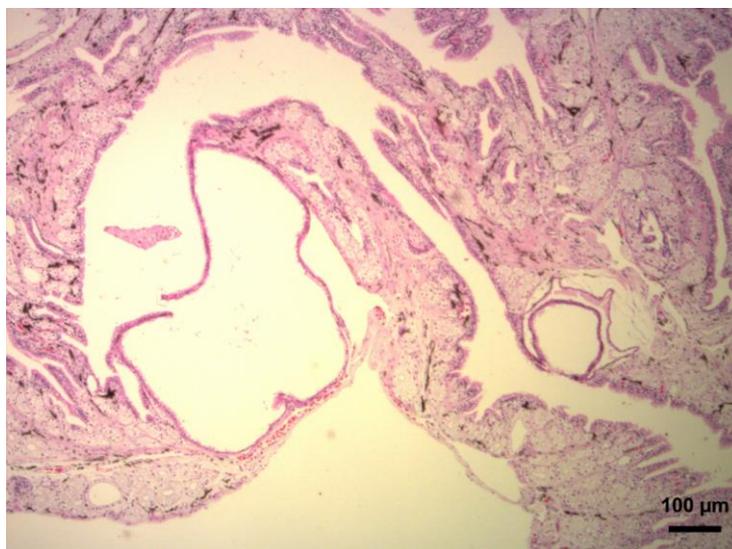


Figura 54: Hidrosalpingitis quística multiloculada. Se observan múltiples quistes en mucosa tubular, con una distensión uniforme en la luz del órgano, en donde la pared se encontró delgada. También se nota fibrosis del tejido conectivo multifocal y agregado de melano macrófagos multifocales. Microfotografía oviducto (H y E), *Gastrotheca pseustes*, 1467-15. 4x.

La degeneración testicular en anfibios se debe a factores de estrés, cambios de temperatura y problemas en la circulación. En este estudio la presentación de esta correspondió al 20% (2/10). Las alteraciones de este tipo en mamíferos se distinguen por cambios microscópicos de depósitos, correspondientes a granos de lipofuscina en túbulos seminíferos y células de sertoli, en cuyos estados avanzados la membrana basal se observará sin forma y fibrosis en algunos casos (Trigo, 1998, p. 200-201). En anfibios se puede encontrar similares hallazgos de fibrosis, daño de la integridad del túbulo seminífero y sus componentes, y en casos muy avanzados y severos estructuras multinucleadas; difiriendo con lo que dicta la literatura, en no encontrar depósitos de granos de lipofuscina. En uno de los animales también se pudo observar fibrosis que separo los túbulos seminíferos entre sí. Esto puede estar relacionado con la vacuolización leve de células de sertoli y ondulación de la membrana basal. También se identificó espermátidas multinucleadas, y en tejido intersticial se evidencio infiltrado mononuclear difuso y una leve infiltración de eritrocitos (Ver figura 55).

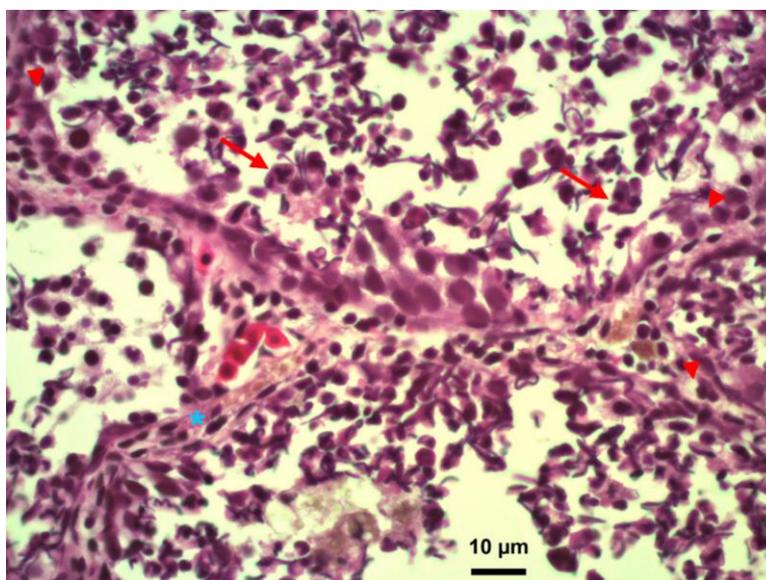


Figura 55: Degeneración testicular moderada crónica. Fibrosis intersticial (*). Vacuolización leve de células de Sertoli (punta de flecha). Espermátidas multinucleadas (flechas). Microfotografía testículo (H&E). *Gastrotheca pseustes*, 2329-14. 40x.

Evaluados todos los órganos macro y microscópicamente, los resultados indicaron la presentación de alteraciones de tipo vascular como congestión y hemorragia principalmente. Además de encontrarse lesiones degenerativas, celulares e inflamatorias. Según Vaughan, Vitali, Payne y Eden (2006), un mal funcionamiento del sistema circulatorio podría resultar de procesos infecciosos como parásitos, virus, hongos, y bacterias. Lo expuesto anteriormente guarda similitud, con los hallazgos encontrados accidentalmente, correspondientes a parásitos y hongos. También se presume de la existencia de algunas formas bacterianas, mismas que fueron encontradas en algunos tejidos como el corazón correspondiente al animal *Gastrotheca riobambae*, 2337-1. No obstante, los resultados encontrados en este estudio, muestran que una de las causas predisponentes para su manifestación es el manejo y la alimentación. En donde, el agua utilizada para el riego, las pocas horas luz, y alimento con déficits nutricionales juegan un rol importante en el mantenimiento de anfibios en cautividad.

De acuerdo a las lesiones encontradas, y a la cronicidad de los mismos se sustenta lo anunciado por Vaughan, Vitali, Payne y Eden (2006), que indican que el síndrome de edema en anuros se debe a varios procesos patológicos. Los hallazgos muestran patologías crónicas, que en mamíferos suele ser fatal. Sin embargo, en anfibios la alta capacidad de regeneración celular permite que las áreas de lesión puedan diferenciarse y reestablecer su función y anatomía (Mitchell, Kumar, Abbas y Fausto, 2007, p. 67-68). Según Vaughan, Vitali, Payne y Eden (2006), animales con síndrome de edema pueden encontrarse clínicamente saludables y vivir un largo periodo de tiempo, en el cual, la enfermedad cursa periodos de aparición y desaparición de la enfermedad.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

- Las animales objeto de estudio con síndrome de edema se encontraron en condiciones medioambientales de temperatura, humedad y alimentación similares al medio silvestre. No obstante, ciertas manifestaciones clínicas como obesidad, lipidosis corneal, prolapso de vejiga y parálisis en miembros posteriores, reflejan que el manejo al cual se encuentran los individuos influye en la aparición de otro tipo de enfermedades como las anteriormente mencionadas.
- En los animales muestreados con síndrome de edema se identificó lesiones macroscópicas que correspondieron principalmente a lesiones congestivas, hemorrágicas y necróticas en la mayoría de órganos. Además de lesiones específicas como degeneración testicular, hidrosalpinx y quistes en ovario y oviducto. La hidronefrosis en riñones, esteatosis en hígado y edema en pulmón. Mismas alteraciones que sugieren ser la causa desencadenante para el apareamiento de síndrome de edema.
- Los hallazgos encontrados correspondieron a lesiones vasculares degenerativas e inflamatorias de carácter crónico como lesiones primarias principales, mismas que mantienen relación directa con la presencia de patologías secundarias.
- Los resultados del estudio permitieron esclarecer el curso de la enfermedad; además de brindar información actual y oportuna para médicos y biólogos involucrados en el tema. Siendo una ayuda para los centros que mantienen anfibios en cautiverio.
- La persistencia de líquido en la cavidad celómica y espacios subcutáneos, ha sido el factor predisponente a que nuevas patologías se presenten en los animales en estudio, tales como la parálisis en los miembros posteriores.

RECOMENDACIONES

- Es importante que en el Centro de Investigación y Conservación “Balsa de los Sapos” se considere evaluar con mayor regularidad las condiciones ambientales como la calidad de agua, horas luz, tipo de alimento y exámenes clínicos principalmente.
- Dados los hallazgos accidentales de parásitos y en especial del hongo *Batrachotridium dendrobatidis* (Bd) es recomendable que en el Centro de Investigación y Conservación “Balsa de los Sapos”, se realice los exámenes pertinentes para identificar la existencia de estos en otros animales que hayan estado en contacto con el animal afectado con Bd. Puesto que se ha reportado que esta enfermedad puede producir una tasa de mortalidad demasiado alta en anfibios de cautiverio.
- Reportar cualquier tipo de información en medicina de anfibios, es de vital importancia para esclarecer cualquier tipo de patología, en la que la información es obsoleta o escasa.
- Esta investigación se basó fundamentalmente en caracterizar por histología las lesiones encontradas en órganos seleccionados (piel, corazón, riñón, órganos reproductores, pulmón, bazo e hígado). Por lo tanto, estudios posteriores en los que se pueda describir con más detalle la enfermedad mediante exámenes complementarios como recuento de proteínas o cultivos, entre otras son recomendados.

REFERENCIAS

- Aguilar, R., Hernández, S., Divers, S y Perpiñan, D. (2010). *Atlas de medicina de animales exóticos*. (2da. ed). Buenos Aires, Argentina: Intermédica.
- Ángulo, A., Rueda, J., Rodríguez, J y La Marca, E. (Eds). (2006). *Técnicas de Inventario y Monitoreo para los Anfibios de la Región Tropical Andina*. Bogotá, D.C.
- Bertelsen, M y Crawshaw, G. (2003). *5- Minute Guide to Amphibian Disease*. Recuperado el 12 de Enero de 2016 de <http://www.amphibianark.org/pdf/Husbandry/5-minute%20Guide%20to%20Amphibian%20Disease.pdf>
- Camargo, A y Rosa, I. (2008). *Anfibios*. Recuperado el 12 de Enero de 2016 de http://zvert.fcien.edu.uy/nuevos_cursos/practico_04_anfibios.pdf
- Cecil, T. (2006). Amphibian Renal Disease. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 9(1), 175-188. Doi: 10.1016/j.cvex.2005.10.001
- Chasiluisa, V., Coloma, L., Frenkel, C., Félix-Novoa, C., Guayasamin, J., Merino-Viteri, A., Nicolalde, D., Ortiz, D., Ron, S y Yanez-Muñoz, M. (2010). *Gastrotheca litonedis*. Recuperado el 28 de Abril de 2016 de <http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1129>
- Chasiluisa, V., Frenkel, C., Félix-Novoa, C., Guayasamin, J., Merino-Viteri, A., Nicolalde, D., Ortiz, D., Ron, S., Vallejo, A y Yanez-Muñoz, M. (2010). *Gastrotheca riobambae*. Recuperado el 28 de Abril de 2016 de <http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1136>
- Chasiluisa, V., Frenkel, C., Guayasamin, J., Merino-Viteri, A., Nicolalde, D., Ortiz, D., Ron, S y Yanez-Muñoz, M. (2010). *Gastrotheca pseustes*. Recuperado el 28 de Abril de 2016 de <http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1134>
- Cheville, N. (1994). *Introducción a la anatomía patológica general veterinaria*. Zaragoza, España: ACRIBIA.

- Ciri3n, G y Herrera, M. (2005). *Anatomía patol3gica*. (1ra.ed). La Habana, Cuba: Ciencias M3dicas.
- Close, B., Banister, U., Baumans, V., Bernoth, E., Bromage, N., Bunyan, J., Erhardt, W., Flecknell, P., Gregory, N., Hackbarth, H., Morton, D y Warwick, C. (1997). *Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentaci3n: Parte 2*. Recuperado el 24 de Mayo de 2016 de <http://sea.umh.es/files/2011/07/eutanasia2.pdf>
- Cubas, Z., Silva, J.C y Cat3o-Dias, J.(2014). *Tratado de animais selvagens: medicina veterin3ria*. (2da.ed.). S3o Paulo: Roca.
- Cubillos, V y Paredes, E. (2006). *Patología general y sist3mica*. Recuperado el 22 de Mayo de 2016 de <http://es.slideshare.net/nelu36v/patologia-general-y-sistemica-veterinaria>
- Densmore, C y Green, D. (2007). Diseases of Amphibians. *ILAR Journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources*, 48(3), 235–254. Doi:10.1093/ilar.48.3.235
- Estrada, E y Uribe, M. (2002). *Atlas de histología de vertebrados*. (1ra.ed). [versi3n electr3nica]. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=iNtQ6vM12HcC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Gentz, E. (2007). Medicine and Surgery of Amphibians. *ILAR Journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources* 48(3), 255-259 Recuperado <http://ilarjournal.oxfordjournals.org/content/48/3/255>
- Hill, R., Wyse, G y Aderson, M. (2006). *Fisiología Animal*. Madrid, España: EDITORIAL M3DICA PANAMERICANA S.A.
- McGavin, D y Zachary, J. (2013). *Pathologic basis of veterinary disease*. (4ta.ed). ELSEVIER.
- McWilliams, D. (2008). *Nutrition Recommendations for some Captive Amphibian Species (Anura and Caudata)*. Recuperado el 30 de Abril de 2016

de <http://www.amphibianark.org/pdf/Husbandry/amphibian%20nutrition%20report%20CAZA%202008.pdf>

Miller, E y Fowler, M. (2014). *Zoo and wild animal medicine*. Missouri, Estados Unidos: ELSEVIER.

Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2015). *Quinto informe nacional para el convenio sobre la diversidad biológica*. Recuperado el 23 de Octubre de 2015 de <https://www.cbd.int/doc/world/ec/ec-nr-05-es.pdf>

Mitchel, R., Kumar, V., Abbas, A y Fausto, N. (2007). *Patología estructural y funcional*. (7ma.ed). Madrid, España: ELSEVIER.

Museo de zoología QCAZ. (2014). *¿Quiénes somos?*. Recuperado el 23 de Noviembre de 2015 de <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/BalsaSapos/QuienesSomos.aspx>

Museo de zoología QCAZ. (2014). *AmphibiaWebEcuador*. Recuperado el 23 de Octubre de 2015 de <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/Vertebrata.aspx>

Pessier, A y Pinkerton, M. (2003). Practical Gross Necropsy of Amphibians. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 12(2), 81–88 Recuperado de <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055937X03800051>

Pessier, A. (2009). Edematous Frogs, Urinary Tract Disease, and Disease Disorders of Fluid Balance in Amphibians. *Journal of Exotic Pet Medicine*. 18(1), 4-13. Doi: <http://dx.doi.org/10.1053/j.jepm.2008.10.003>

Pessier, A., Baitchman, E., Crump, P., Wilson, B., Griffith, W y Ross, H. (2014). Causes of Mortality in Anuran Amphibians From An Ex situ Survival Assurance Colony in Panama. *Zoo Biology*, 33(6), 516-526. Doi: 10.1002/zoo.21166

Poole, A y Grow, S. (2009). *Guía para el manejo de anfibios en cautiverio*. Recuperado el 23 de Octubre de 2015 de <http://www.amphibianark.org/pdf/AZAAmphibianHusbandryManualEspañol.pdf>

- Quitozoo. (s.f.). *Ranas marsupiales*. Recuperado el 12 de Enero de 2016 de <http://www.quitozoo.org/index.php/zoo/zonas-de-interes/ranas-marsupiales>
- Sallés, J. (2011). *Sinópsis sobre la obtención, evaluación y anotaciones preliminares sobre patologías frecuentes de la fauna salvaje, exótica y de zoológico: anfibios, aves, mamíferos y reptiles*. Recuperado el 12 de Enero de 2016 de <http://www.veterinariosvs.org/pub/index.php/cima/article/view/101/pdf>
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo [SENPLADES] (2013). *Plan Nacional para el Buen Vivir 2013-2017*. (1ra.ed.). Quito: Ecuador.
- Trigo, F y Elizondo, V. (2004). *Patología general veterinaria*. (4ta.ed.). México D.F., México.
- Trigo, F. (1998). *Patología Sistémica Veterinaria*. (3ra.ed.). México, México D.F: McGRAW - HILL INTERAMERICANA.
- UICN (Union International for Conservation of Nature and Natural Resources). (2014). *Lista Roja*. Recuperado el 11 de Enero de 2016 de <http://www.iucnredlist.org/search>
- Universidad de las Américas. (2015). *Plan estratégico 2015-2019*. Quito, Ecuador: Universidad de las Américas.
- Vannevel, J. (2006). Glomerulonephritis and anasarca in a colony of frogs. *The Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 9(3), 609-616. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2006.05.034>
- Vaughan, R., Vitali, S., Payne, K y Eden, P. (2006). A Splendid Tree Frog with Edema Syndrome and Intestinal Adenocarcinoma. *Veterinary Clinics of North America – Exotic Animal Practice*, 9(3), 583-587. Doi:10.1016/j.cvex.2006.05.015
- Wiechmann, A y Wirsig, C. (2003). *Xenopus laevis Histology*. Boston: kluwer Academic Publishers.
- Wright, K y Whitaker, B. (2001). *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*. (1ra.ed.). Malabar, Florida: Estados Unidos de Norteamérica.

ANEXOS

ANEXO 1: Tablas

Tabla 18. Resumen de alteraciones macroscópicas y microscópicas

Órganos	Alteraciones macroscópicas	Número de afectados	Alteraciones microscópicas	Número de afectados		
Piel	Congestión	3	Congestión	3		
			Hiperplasia	5		
			Hiperqueratosis	1		
Pulmón	Hemorragia	2	Neumonía intersticial aguda	2		
	Congestión	3	Neumonía intersticial crónica (N.I.C)	2		
	Edema	1	N.I.C hemorrágica	2		
			Hemorragia	2		
			Bronconeumonía supurativa crónica	1		
			Edema pulmonar	1		
Corazón	Hemorragia	1	Hemopericardio	3		
	Necrosis	1	Endocarditis	2		
			Necrosis fibrilar	3		
Hígado	Congestión	2	Esteatosis hepática	6		
	Necrosis	2	Congestión	3		
	Cambio graso	6	Fibrosis	1		
Riñón	Necrosis	1	Glomerulonefritis intersticial hemorrágica crónica	1		
			Hidronefrosis	1		
			Quiste	1		
			Congestión	1		
			Hemorragia	1	Amiloidosis	1
					Quiste renal	1
Bazo	Congestión	1	Hidronefrosis	1		
			Hiperplasia capsular	2		
			Fibrina	1		
			Depleción linfoide	2		
			Congestión	1		
			Contracción esplenica	1		
Ovario	Hemorragia	1	Quiste ovárico	1		
	Quiste	1	Hemorragia	1		
Oviducto	Hidrosalpin	1	Hidrosalpingitisquisticamultioculada	1		
			Hidrosalpingitis quística fibrosa	1		
Testículos			Degeneración testicular	2		

ANEXO 2: Lista de materiales para el desarrollo del estudio.

Indumentaria

- Guantes.
- Mandil.
- Mascarillas.

Reactivos

- Agua destilada.
- Alcohol al 70%
- Formol al 10%.

Fármacos

- Lidocaína atomizador al 2%

Instrumental

- Canaleta.
- Hojas de bisturí número 22.
- Mangos de bisturí número 4.
- Pinza anatómica con diente.
- Pinza anatómica sin diente.
- Tabla plástica para cortar.
- Tijera de Mayo.

Extras

- Bolsas congeladoras Coleman de 15cm.
- Caja organizadora RIMAX de 20 pulgadas.
- Cámara fotográfica de alta resolución.
- Casetes plásticos para el envío de muestras.
- Cinta métrica.
- Cooler de espuma flex.

- Frascos de plástico con tapa rosca de 15cm.
- Toallas de papel.

Equipos

- Balanza en gramos BOECO BBi-41.
- Calibrador scala.
- Estereoscopio KRUSS®.
- Microscopio CX21®Olympus.

Animales (*Gastrotheca spp.*)

- *Gastrotheca riobambae*
- *Gastrotheca pseustes*
- *Gastrotheca litonedis*

ANEXO 3: Informe de necropsia

INFORME DE NECROPSIA.

Identificación: _____ No. Terrario: _____

Fecha de muerte: _____

Fecha de necropsia: _____

Nombre común: _____

Especie: _____ Orden/Familia: _____

Género (*M, F, ND*): _____ Edad: _____ Peso: _____

Distancia boca – cloaca (*mm*): _____ Circunferencia abdominal-miembros: _____

Muerte (*natural o eutanasia*): _____ Eutanasia (*fármaco – dosis*): _____

Grado de descomposición (*alto, mediano, bajo*): _____

Condiciones del terrario:

Temperatura del terrario: _____ Humedad relativa del terrario: _____

Historia (*enfermo, bajo tratamiento, etc*):

Condición general (*PIEL, mucosas, condición corporal, reflejos nerviosos*):

Sistema musculo esquelético:

Sistema cardiovascular:

Sistema hemolinfático:

Sistema respiratorio:

Sistema digestivo:

Sistema urinario:

Sistema reproductivo:

Órganos de los sentidos:

Muestras para histopatología:

Muestras para otros estudios:

Diagnósticos morfológicos:

Comentarios adicionales

1.2 Responsable: _____

Disposición del cadáver:

ANEXO 4: Figuras



Figura 56: Parche pélvico. Zona más oscura entre los muslos.
Adaptada de Pessier, 2009.



Figura 57: Parálisis. A la evaluación clínica del individuo se encontró que no hay respuesta de huida debido a la parálisis de los miembros posteriores. *Gastrotheca riobambae* – 3087.